

## 凡纳滨对虾摄食诺氟沙星强化卤虫的药代动力学研究

曹立民<sup>1,2</sup>, 李 健<sup>1</sup>, 刘 淇<sup>1</sup>, 王 群<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 上海水产大学 生命学院, 上海 200090)

**摘要:** 应用高效液相色谱法研究了凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 摄食诺氟沙星强化卤虫 (*Artemia*) 的药物代谢动力学。结果表明: 强化4~8 h, 卤虫体内的药物质量浓度达到最高, 此后卤虫体内药物摄入和排除达到一个动态平衡; 温度影响诺氟沙星在卤虫体内半衰期: 体长3 mm和6 mm的卤虫, 在4, 16, 28℃时的半衰期分别为51.33, 19.29, 18.64 h和39.67, 13.26, 12.6 h。对虾摄食诺氟沙星强化的卤虫后, 对虾组织中药物质量浓度经时过程符合一级吸收二室开放模型; 投喂剂量对  $T_{max}$  和  $C_{max}$  影响较大, 当对虾给药质量分数分别为800, 400, 200 mg/kg时, 肌肉中给药后出现最高血药的时间或达峰时间分别为0.403, 0.540, 0.481 h; 肝胰脏中给药后出现最高血药的时间或达峰时间分别为0.826, 1.839, 1.469 h; 肌肉中给药后的最高血药质量浓度分别为98.943, 46.752, 10.887 mg/L; 肝胰脏中给药后的最高血药质量浓度分别为738.267, 597.352, 415.268 mg/L。药物在对虾肌肉的消除半衰期(约26.688 h)明显长于肝胰脏中消除半衰期(约13.988 h)。

**关键词:** 凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*); 诺氟沙星; 卤虫 (*Artemia*); 药代动力学  
**中图分类号:** S948      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-3096(2006)05-0045-07

随着养殖环境的恶化, 水产养殖病害发生日趋严重, 为了有效地控制疾病的发生, 养殖生产上开始大规模使用渔药。在实际生产中, 一些常规施药方法存在着诸多的问题, 如药浴法多用于鱼虾育苗, 但因药物被鱼虾吸收较少, 难以达到抑菌浓度, 疗效不高且会造成养殖水体污染; 口服法及注射法只能应用于较大个体的鱼虾, 其它方法也存在着不同缺陷。90年代初, 由 Mohny 等<sup>[1]</sup> 提出利用活卤虫等作为药物载体, 将药物通过食物链由卤虫等转运到鱼虾体内, 从而达到防治疾病效果, 即“生物包裹法”。将药物包裹在鱼虾喜欢摄食的鲜活饵料中, 可以促进药物被鱼虾摄食, 同时不会因药物异味而改变对饵料的摄取; 而且由于药物在卤虫等体内浓缩后再被摄食, 避免药物流失, 不易引起水体污染, 也节省了用量, 具有省药、疗效高、操作简便等特点, 为水产动物的给药途径开辟了一条新的思路。本试验利用诺氟沙星对卤虫进行药物强化, 并将药物强化的卤虫投喂给凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*), 研究了药物在卤虫 (*Artemia*) 和凡纳滨对虾体内的药代学过程, 从而为生物包裹法这一新的给药方式在水产养殖中的应用提供了理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

卤虫卵, 产自新疆艾比湖, 新疆精河县艾比湖生物制品有限责任公司产品。将卤虫卵以2 g/L的密度放到脱脂棉滤过的海水中, 水温控制在  $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 盐度为  $25 \pm 2$ , 充气, 光照, 24 h后, 利用虹吸法将孵出的无节幼体吸出, 进行试验或将其饲养于50 L塑料桶中, 定期投喂扁藻、换水排污。

健康凡纳滨对虾, 体长  $1.8 \text{ cm} \pm 0.2 \text{ cm}$ , 体质量  $0.1 \text{ g} \pm 0.02 \text{ g}$ , 饲养于50 L的塑料桶中, 定期投喂卤虫初孵无节幼体, 其它条件同上。

收稿日期: 2004-01-06; 修回日期: 2004-05-10

基金项目: 农业部“948”项目(2003-Q09-05); 农业科技跨越计划; 山东省科技发展计划项目(2003-4-1)

作者简介: 曹立民(1977), 男, 山东青岛人, 硕士研究生, 研究方向: 水产药理学; 李健, 通讯作者, 男, 研究员, 从事海水健康养殖研究, 电话: 0532-85830183, E-mail: lijian@ysfri.ac.cn

### 1.1.2 药品及试剂

诺氟沙星胶囊: 山东罗欣药业股份有限公司; 含量为 0.1 g/粒; 批号: 国药准字 H37021801。

诺氟沙星标准品: 中国药品生物制品检定所提供, 纯度 99.3%, 批号: 130450 200203。

化学试剂: 乙腈 (HPLC)、柠檬酸 (AR)、乙酸铵 (AR)、正己烷 (AR)、乙腈 (AR) 等。

磷酸盐缓冲液: NaCl 7.02 g, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O 7.18 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.68 g, 加双蒸水 1 000 mL 溶解, 缓冲液 pH 为 7.4。

### 1.1.3 实验仪器

Agilent 1100 型高效液相色谱仪、荧光检测器、电子天平、漩涡混合器、冰箱、氮气瓶、恒温水浴锅、匀浆机等。

## 1.2 方法

### 1.2.1 色谱条件

流动相: 乙腈: 柠檬酸: 乙酸铵 = 20: 79: 1; 流速: 0.8 mL/min; 进样量: 20 μL; 荧光检测器: 激发波长 300 nm, 发射波长 450 nm; 柱温: 室温; 色谱柱: C18 ODS 柱, 25 cm × 4.6 mm。

### 1.2.2 标准曲线的制备

精确称取 0.01 g 诺氟沙星标准品, 加入 0.01 mol/L NaOH 溶解, 200 mL 容量瓶定容, 用流动相稀释成 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05, 0.02, 0.01, 0.005 mg/L 梯度标准液。空白组织中加入上述梯度标准液, 静置一段时间后, 按样品处理方法处理后进行样检测, 以质量浓度为纵坐标, 以峰面积为横坐标做标准曲线, 并求出回归方程和相关系数。

### 1.2.3 回收率与精密度

空白组织中加入质量浓度为 0.01, 0.05, 0.2, 1, 5 mg/L 的诺氟沙星标准液, 放置 2 h, 使药物充分渗入组织, 按样品处理方法处理后测定, 所得峰面积平均值与将上述标准液直接进样测得的峰面积平均值之比, 即为方法回收率。

将前面制得的 5 个不同质量浓度的样品于 1 d 内分别重复进样 5 次和分 5 d 测定, 计算 5 个质量浓度水平响应值峰面积的变异系数和总平均变异系数, 以此衡量定量方法的精密度。

### 1.2.4 给药及取样

#### 1.2.4.1 药物强化卤虫

将诺氟沙星干燥、磨细, 过筛, 得到直径小于 50 μm 的细药粉, 放到过滤的海水中, 配成质量浓度分别为 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 g/L 的混悬液, 充气, 以保持药物颗粒分布均匀。然后分别将体长约 0.6 (卤虫孵化后 24 h 的无节幼体), 2, 5, 8 mm 卤虫放到药液中进行强化, 水温约为 22℃, 分别于第 1, 2, 4, 8, 12, 16, 24, 36, 48 h 取样, 每个时间点取 100 尾卤虫, 于 -20℃ 冰箱中保存用于药物质量浓度分析。

### 1.2.4.2 卤虫体内药物消除

在 28℃ 的条件下, 分别将体长 3 mm 和 6 mm 卤虫放到质量浓度为 1.0 g/mL 诺氟沙星的混悬液中强化 8 h, 冲洗干净, 分别放到温度为 28℃, 16℃, 4℃ 的海水中, 分别于第 0, 1, 3, 6, 12, 24, 36, 48, 72, 96 h 取样, 每个时间点取 100 尾, 于 -20℃ 冰箱中保存。

### 1.2.4.3 凡纳滨对虾摄食药物强化的卤虫

将卤虫孵化后 24 小时的无节幼体在 1.0 g/L 质量浓度的诺氟沙星药液中强化 8 h 后, 冲洗干净, 取样检测每尾卤虫吸收药物的量, 再投喂给对虾。投喂前对虾先禁食 12 h, 然后将强化的卤虫无节幼体投喂给对虾, 对虾给药质量浓度分别为: 卤虫无节幼体: 对虾 = 1 000: 1, 500: 1, 250: 1, 卤虫无节幼体在质量浓度为 1.0 g/mL 的诺氟沙星的药液中强化 8 h 后, 体内的药物质量浓度平均为 0.08 μg/尾, 而对虾的体质量平均 0.1 g/尾, 因此相应的对虾给药质量分数平均为 800, 400, 200 mg/kg。1 h 后, 卤虫全部被对虾摄食完毕, 将对虾捞出, 放到过滤的海水中正常饲养, 分别于投喂卤虫后的第 0, 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 72, 96, 120, 144 h 取样, 每个时间点取 30 尾虾, 解剖取其肝胰脏和肌肉组织, 于 -20℃ 的冰箱中保存。

### 1.2.5 样品处理

#### 1.2.5.1 卤虫样品的处理

将样品解冻, 加入一定量的流动相, 用玻璃匀浆器匀浆, 10 000 r/min 离心 20 min, 取上清液, 经 0.22 μm 的微孔滤膜过滤后进行 HPLC 分析。

#### 1.2.5.2 对虾样品的处理

组织解冻后, 每个时间点 30 尾虾的组织分成 6 组, 将每组的 5 尾虾的肌肉和肝胰脏组织分别合并称质量后, 放于 7 mL 具塞离心管中, 加 1 mL pH 7.4 的磷酸盐缓冲液, 用玻璃匀浆器匀浆, 加乙腈振荡提取两次, 然后 10 000 r/min 离心 20 min, 取上清液并有机相; 于 70℃ 水浴 N<sub>2</sub> 流下吹干, 残渣用流动相溶解, 正己烷去脂肪, 下层液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后进行 HPLC 分析。

### 1.2.6 数据处理

将卤虫药物消除实验中体内药物质量浓度-时间数据进行非线性最小二乘法处理, 得消除曲线方程及相关参数; 对于凡纳滨对虾肌肉和肝脏中药物质量浓度-时间数据运用采用 M CP-KP 药动学程序进行分析处理, 得药时曲线方程及相关参数。

## 2 结果

### 2.1 标准曲线与线性范围、最低检测限

以测得的诺氟沙星平均峰面积  $A_i$  对每个质量浓度  $C_i$  做回归, 在 0.005~10 mg/L 的质量浓度范围内各种组织标准曲线及相关系数分别为: 卤虫中为

$C_{\text{卤虫}} = 0.00247 A_i - 0.04203$ ,  $r = 0.999$ ; 对虾组织中为  $C_{\text{肌肉}} = 0.00306 A_i - 0.01166$ ,  $r = 0.9991$ ;  $C_{\text{肝胰脏}} = 0.00334 A_i - 0.02258$ ,  $r = 0.9998$ 。采用荧光检测器, 本实验条件下, 最低检测限为  $0.005 \text{ mg/L}$ 。

## 2.2 回收率与精密度

测得在诺氟沙星分别为  $0.01, 0.05, 0.2, 1, 5 \text{ g/L}$  5个梯度水平时, 卤虫回收率在  $88.5\% \sim 94.8\%$ , 测得的日内精密性为  $1.85\%$ , 日间精密性为  $2.33\%$ ; 凡纳滨对虾的各组织的回收率为  $75.2\% \sim 92.5\%$ 。测得的日内精密性为  $2.57\%$ , 日间精密性  $3.64\%$ , 日内

及日间精密性均小于  $10\%$ 。

## 2.3 卤虫的药物强化

图1为诺氟沙星强化不同体长卤虫体内的药物质量浓度变化情况。从图中可以看出, 卤虫体内的药物质量浓度在  $4 \sim 8 \text{ h}$  内达到最高, 此后卤虫体内药物摄入和排除达到一个动态平衡, 变化趋于稳定; 在相同药物质量浓度下不同体长卤虫体内药物质量浓度不同: 体长  $0.6 \text{ mm}$  无节幼体 < 体长  $2 \text{ mm}$  卤虫 < 体长  $5 \text{ mm}$  卤虫 < 体长  $8 \text{ mm}$  卤虫。

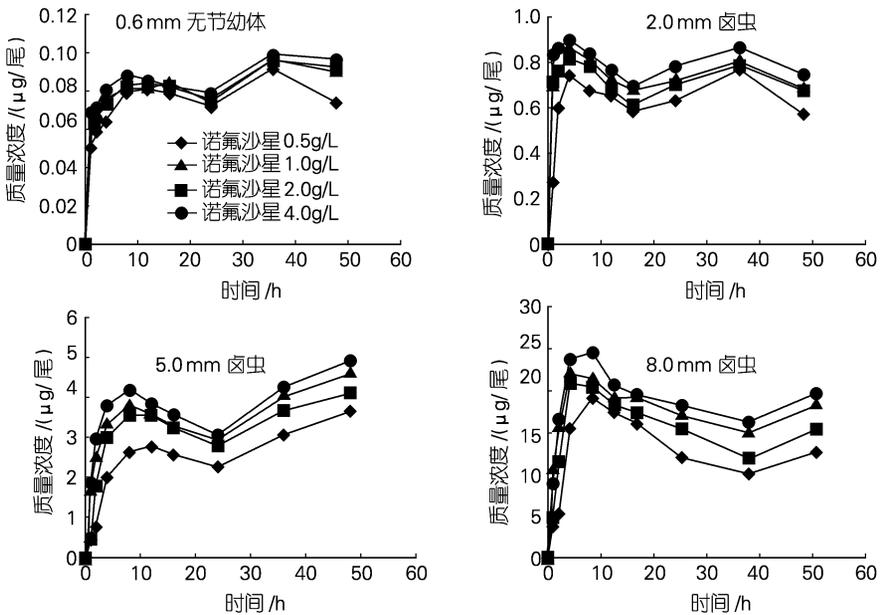


图1 诺氟沙星强化后卤虫体内的药时曲线

Fig. 1 The Concentration Time curve of norfloxacin in *Artemia*

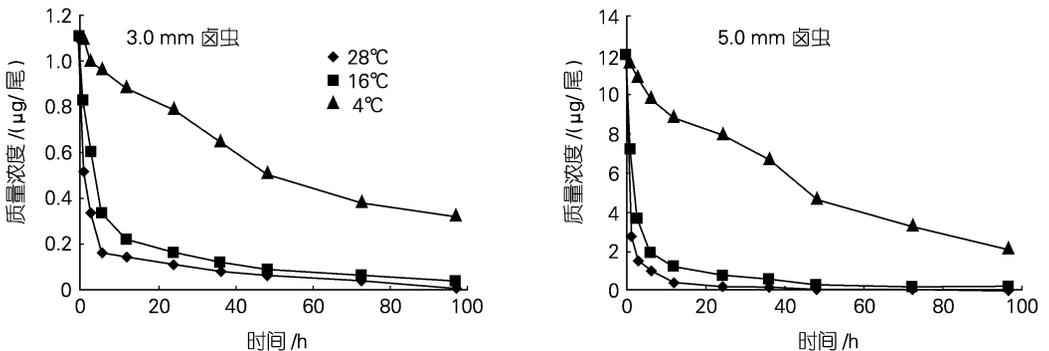


图2 卤虫经诺氟沙星强化后不同温度下消除曲线

Fig. 2 Elimination curve of norfloxacin in *Artemia* at different temperatures

### 2.4 卤虫体内的药物消除

图2为体长3.0 mm和6.0 mm卤虫经诺氟沙星强化后,在不同温度下药物在卤虫体内的消除曲线,对药物质量浓度-时间数据进行非线性最小二乘回归分析法处理,得消除曲线方程及相关参数,见表1。

线,对药物质量浓度-时间数据进行非线性最小二乘回归分析法处理,得消除曲线方程及相关参数,见表1。

表1 不同温度下诺氟沙星在卤虫体内的消除曲线方程及参数

Tab.1 Equation of elimination curve and parameters of norfloxacin in *Artemia* at different temperatures

温度 (°C)	3.0 mm 卤虫		6.0 mm 卤虫	
	消除曲线方程	$T_{(1/2)\beta}$ (h)	消除曲线方程	$T_{(1/2)\beta}$ (h)
4	$C = 1.0538e^{-0.0133t}$	52.105	$C = 11.969e^{-0.0175t}$	39.6
16	$C = 0.5308e^{-0.0522t}$	21.522	$C = 3.8731e^{-0.0479t}$	14.468
28	$C = 0.3756e^{-0.0561t}$	19.197	$C = 1.8402e^{-0.0583t}$	11.887

注: C为卤虫体内药物质量浓度( $\mu\text{g}/\text{尾}$ ); t为时间(h)

### 2.5 凡纳滨对虾摄食药物强化卤虫后体内药物质量浓度变化

采用MCPKP药动学程序对所得的药物质量浓度-时间数据进行分析,确定凡纳滨对虾摄食诺氟沙星强化的卤虫后,其组织药物质量浓度经时过程符合一级吸收二室开放模型,诺氟沙星在肌肉和肝脏组织中药物经时过程符合一级吸收三项指数方程,结果见表2,诺氟沙星在对虾体内二种组织中药时曲线见图3,药动学参数见表2。

合一级吸收二室开放模型,诺氟沙星在肌肉和肝脏组织中药物经时过程符合一级吸收三项指数方程,结果见表2,诺氟沙星在对虾体内二种组织中药时曲线见图3,药动学参数见表2。

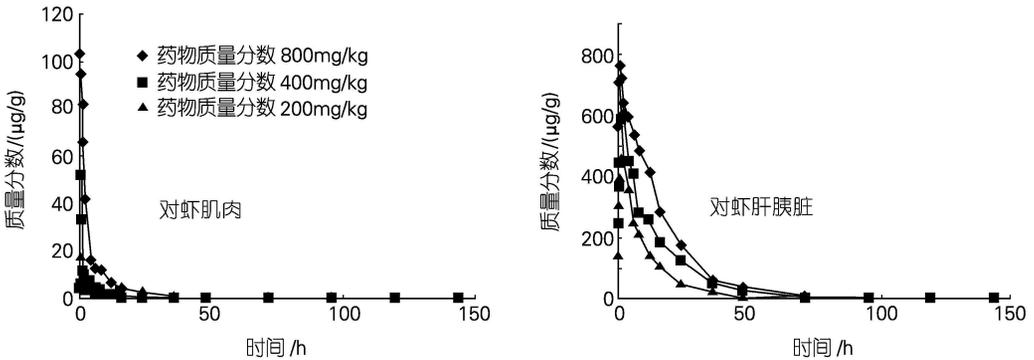


图3 凡纳滨对虾摄食诺氟沙星强化的卤虫后组织中的药-时曲线

Fig.3 The Concentration Time curve of norfloxacin in tissues of *Litopenaeus vannamei* fed *Artemia* enriched with norfloxacin

表2 诺氟沙星在凡纳滨对虾肌肉和肝脏组织中药时曲线方程

Tab.2 Equation of Concentration Time of norfloxacin in the muscle and hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei*

药物 质量分数 (mg/kg)	肌肉	肝胰脏
800	$C = 125.752e^{-0.482t} + 2.256e^{-0.027t} - 128.008e^{-7.2634t}$	$C = 734.423e^{-0.068t} + 54.837e^{-0.044t} - 789.260e^{-5.396t}$
400	$C = 160.560e^{-1.993t} + 1.142e^{-0.026t} - 161.702e^{-5.333t}$	$C = 586.102e^{-0.208t} + 299.650e^{-0.067t} - 885.752e^{-1.362t}$
200	$C = 18.548e^{-0.821t} + 0.748e^{-0.025t} - 19.296e^{-4.380t}$	$C = 452.340e^{-0.113t} + 48.926e^{-0.049t} - 501.266e^{-2.457t}$

注: C为对虾组织中药物质量分数( $\mu\text{g}/\text{g}$ ); t为时间(h)

表 3 诺氟沙星在凡纳滨对虾组织中药代动力学参数

Tab. 3 Pharmacokinetic parameters of norfloxacin in *Litopenaeus vannamei* tissues

对虾组织	肌肉			肝胰脏		
$D$ (mg/k g)	800	400	200	800	400	200
$C_0$ (mg/L)	119. 661	101. 664	15. 814	779. 611	783. 757	479. 538
$A$ (mg/L)	125. 752	160. 560	18. 548	734. 423	586. 102	452. 340
$B$ (mg/L)	2. 256	1. 142	0. 748	54. 837	299. 650	48. 926
$\alpha$ (h <sup>-1</sup> )	0. 482	1. 994	0. 821	0. 068	0. 208	0. 113
$\beta$ (h <sup>-1</sup> )	0. 027	0. 026	0. 025	0. 044	0. 057	0. 049
$K_A$ (h <sup>-1</sup> )	7. 263	5. 333	4. 380	5. 396	1. 362	2. 457
$K_{12}$ (h <sup>-1</sup> )	0. 107	0. 898	0. 481	0. 001	0. 047	0. 007
$K_{21}$ (h <sup>-1</sup> )	0. 036	0. 048	0. 060	0. 041	0. 112	0. 055
$K_e$ (h <sup>-1</sup> )	0. 366	1. 074	0. 303	0. 065	0. 106	0. 100
$T_{(1/2)K_A}$ (h)	0. 095	0. 130	0. 158	0. 128	0. 509	0. 282
$T_{(1/2)\alpha}$ (h)	1. 439	0. 348	0. 844	10. 196	3. 334	6. 148
$T_{(1/2)\beta}$ (h)	25. 499 0	26. 987	27. 577	15. 697	12. 136	14. 130
曲线下总面积 (mg/(L·h))	326. 52	94. 686	52. 255	12 059	7 417. 4	4 806. 7
$T_{max}$ (h)	0. 403	0. 540	0. 481	0. 826	1. 839	1. 469
$C_{max}$ (mg/L)	98. 943	46. 752	10. 887	738. 267	597. 352	415. 268

注:  $D$  为对虾给药质量分数;  $C_0$  为初始药物质量浓度;  $A, B$  为药物质量浓度对时间曲线对数图上直线在零时的截距;  $\alpha, \beta$  分别为分布相、消除相的一级速率常数;  $K_A$  为表现一级吸收速率常数;  $K_{12}$  为药物从第一室转运到第二室的一级速率常数;  $K_{21}$  为药物从第二室转运到第一室的一级速率常数;  $K_e$  为药物自体内消除一级速率常数;  $T_{(1/2)K_A}$  为吸收半衰期;  $T_{(1/2)\alpha}$  和  $T_{(1/2)\beta}$  分别为分布、消除半衰期;  $T_{max}$  为单剂量给药后对虾体内出现最高血药质量分数的时间或达峰时间;  $C_{max}$  为单剂量给药后对虾体内最高血药质量分数

### 3 讨论

#### 3.1 卤虫的药物强化

卤虫是一种非选择性滤食性动物, 凡大小在 50  $\mu\text{m}$  以下的颗粒均可摄食<sup>[2,3]</sup>, 本实验首次采用高效液相色谱法研究了诺氟沙星在卤虫的药代动力学情况。从图 1 可以看出: 体长相相同的卤虫在不同诺氟沙星强化质量浓度下体内的药物质量浓度不同: 随着药物质量浓度的增加, 卤虫体内的药物质量浓度也增加。强化药物质量浓度对卤虫体内药物的达峰时间影响较小, 强化 4~ 8 h, 卤虫体内的药物质量浓度可以达到峰值。Dixon 等<sup>[4]</sup> 将盐酸沙拉沙星按照不同的比例加到卤虫的强化饵料中, 微生物法测定结果表明: 强化 6 h 卤虫无节幼体体内的药物质量浓度可达最高值。Gomez Gil 等<sup>[5]</sup> 将恩诺沙星和土霉素分别以 40%, 80% 比例混饵强化 4 h, 卤虫体内药物质量浓度即可达到峰值: 恩诺沙星为 1. 10 ng/尾; 土霉素为 9. 30 ng/尾, 此后卤虫体内的药物质量浓度趋于稳定, 与本实验结果接近。因此, 在进行凡纳滨对虾摄食卤虫实验时, 首先将卤虫无节幼体在 1. 0 g/L 质量浓度的诺氟沙星药液中强化 8 h 后, 再投喂给对虾。

因为卤虫时刻不停地进行摄食和排泄活动, 体

内摄入药物很快被排到水中, 从图 2 可以看到, 卤虫体内的药物消除速度较快。温度对卤虫体内药物消除影响较大, 表 1 显示: 在 4℃ 时诺氟沙星在卤虫体内的半衰期明显长于在 16℃ 和 28℃ 时的半衰期, 体长 3 mm 和 6 mm 的  $T_{1/2, 4^\circ\text{C}}$  分别为 52. 105 h 和 39. 6 h, 而 16℃ 和 28℃ 时结果相近,  $T_{1/2, 16^\circ\text{C}}$  和  $T_{1/2, 28^\circ\text{C}}$  分别为 21. 522, 14. 468 h 和 19. 197, 11. 887 h, 温度越低, 半衰期差别越大, 这与 Tourkai 等<sup>[6]</sup> 的研究结果相似: 甲氧苄啶的半衰期:  $T_{1/2, 5^\circ\text{C}} = 62. 5$  h,  $T_{1/2, 18^\circ\text{C}} = 29. 7$  h,  $T_{1/2, 25^\circ\text{C}} = 28. 1$  h; 磺胺甲噁唑的半衰期:  $T_{1/2, 5^\circ\text{C}} = 42. 5$  h,  $T_{1/2, 18^\circ\text{C}} = 20$  h,  $T_{1/2, 25^\circ\text{C}} = 16. 5$  h。药物在体长不同的卤虫体内的半衰期也不同, 体长为 6 mm 的卤虫在各种温度下的半衰期要比体长 3 mm 相应的半衰期短。卤虫进行药物强化后, 应立即投喂给鱼虾, 或者在低温下短时间保存, 并且投喂要适量, 保证卤虫在短时间内被摄食完毕, 否则, 卤虫会将药物排到水中, 鱼虾不能摄取到。

#### 3.2 对虾摄食药物强化的卤虫的代谢动力学结果

凡纳滨对虾摄食诺氟沙星强化的卤虫后, 药物在体内吸收比较迅速, 从表 3 可以发现: 当对虾给药质量分数分别为 200, 400, 800 mg/kg 时, 肌肉中  $T_{max}$

为 0.481, 0.540, 0.403 h; 肝胰脏中  $T_{max}$  则要长于肌肉中  $T_{max}$ , 分别为 1.469, 1.839, 0.826 h。中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis* (Osbeck, 1765)) 肌注恩诺沙星后, 肝胰脏中  $T_{max}$  (0.40 h) 也要长于肌肉中  $T_{max}$  (0.20 h)<sup>[7]</sup>。对虾摄食氯霉素药饵后约 6 h, 在肌肉中达到峰值, 肝胰脏中  $T_{max}$  约 12 h<sup>[8]</sup>, 但是在相同的剂量下, 磺胺甲基异噁唑在对虾肌肉中  $T_{max}$  约 6 h, 明显长于肝胰脏中  $T_{max}$  (约 3 h)<sup>[8]</sup>, 这说明不同的药物在动物不同组织中达峰时间先后并不一致。

从图 3 和表 3 也可以看出, 对虾组织中药物质量浓度均达到了较高的水平, 超过了诺氟沙星对常见海水弧菌的最低 MIC 为 0.4 mg/L<sup>[9]</sup>, 并可以维持较长的时间, 以最低质量分数 200 mg/kg 为例, 肌肉中  $C_{max}$  为 10.088 7 mg/L, 16 h 后才降到 1 mg/L 以下, 而肝胰脏中  $C_{max}$  为 415.268 mg/L, 降到 1 mg/L 以下所用时间为 96 h。在相同给药剂量下, 药物在肌肉中  $C_{max}$  则远低于肝胰脏中  $C_{max}$ , 相差十几倍, 药物质量浓度-时间曲线下总面积的差别更是高达几十倍, 中国明对虾肌注恩诺沙星后, 也得出了类似的结果, 肌肉中  $C_{max}$  为 6.3 mg/L; 肝胰脏中  $C_{max}$  为 11.82 mg/L, 肌肉药物质量浓度-时间曲线下总面积为 73 mg/(L·h), 而肝胰脏为 320 mg/(L·h)<sup>[7]</sup>, 这说明对虾的肝胰脏对药物有较强的蓄积能力, 吸收后的药物大部分积蓄在肝脏, 而后缓慢释放到血淋巴并分布到肌肉组织等部位<sup>[10]</sup>。不同的组织间的  $T_{(1/2)\beta}$  差异则较大, 肌肉中  $T_{(1/2)\beta}$  (平均为 26.688 h) 要明显地长于肝胰脏中  $T_{(1/2)\beta}$  (平均为 13.988 h), 而采用肌注方式给药, 恩诺沙星在中国对虾成体肌肉中  $T_{(1/2)\beta}$  (约 19.7 h) 则短于肝胰脏中  $T_{(1/2)\beta}$  (约 52.7 h), 血液中  $T_{(1/2)\beta}$  为 7.03 h<sup>[7]</sup>。

### 3.3 生物包囊法在水产动物疾病防治中的应用展望

从上面的试验结果可以发现, 利用卤虫作为药物载体来防治水产动物疾病是可行的, 只要卤虫等的投喂量充足, 鱼虾体内药物质量浓度可以达到较高的水平并维持较长的时间, 从而可达到预期的疗效, 但是需要进一步的研究进行完善。除了利用卤虫作为药物载体外, 轮虫、枝角类、桡足类等均可作为载体, 还可将抗病毒药、抗寄生虫药、疫苗、免疫增强剂、维生素等作为填载体。Verpraet 等<sup>[11]</sup> 研究了甲氧苄啶和磺胺甲噁唑在卤虫和轮虫体内不同的药物代谢动力学情况, 对线虫和枝角类运载药物的情况也进行过研究<sup>[1,12]</sup>, Campbell 等<sup>[13]</sup> 则利用 ELISA 法研究了卤虫的无节幼体摄食鳃弧菌疫苗的情况。余俊红等<sup>[14]</sup> 将微胶囊疫苗以卤虫无节幼体携带法口服免疫接种鲈鱼鱼苗, 取得了良好免疫保护效果。也可以将营养物质和药物混合在一起让卤虫摄食, 同时达到

营养强化和药物强化的目的<sup>[15,16]</sup>。

但是, 我们应该看到, 卤虫除了作为药物和营养物质的载体之外, 也可能会成为某些病原菌的载体, 病原菌附着在卤虫的体表或体内, 通过鱼虾的摄食活动来进行传播。而且已经通过试验证明鳃弧菌可以通过卤虫传播给大菱鲆的幼鱼<sup>[17]</sup>, 一种致病性的酵母菌 (*Metschnikowia bicuspidata* var. *bicuspidata*) 也可通过卤虫感染大鳞大麻哈鱼<sup>[18]</sup>。除了病原菌之外, 某些病毒也可能通过卤虫来致病<sup>[19-21]</sup>。因此, 我们还需要对卤虫可能作为某些病原菌和病毒的传播媒介的情况进行研究, 在应用卤虫等作为载体之前, 应检测病原, 进行消毒, 杀死致病菌和病毒, 防止鱼虾被感染。总之, 生物包囊法为水产动物疾病防治提供了一条新的途径, 在水产养殖中有着广泛的应用前景, 应该进行更深入的研究, 使其能在水产养殖中发挥更大的作用。

### 参考文献:

- [1] Mohny L L, Lightner D V, Willans R R. Bioencapsulation of therapeutic quantities of the antibacterial romet 30 in nauplii of the brine shrimp *Artemia* and in the nematode *Panagrellus redivivus* [J]. *Journal of the world aquaculture society*, 1990, 21: 186-191.
- [2] Reeve M R. The filter feeding of *Artemia* II, in suspensions of various particles [J]. *The journal of experimental biology*, 1963, 40(1): 205-217.
- [3] 王荣, 孙松. 卤虫摄食的试验研究 I. 对食物粒度的选择性、清除率和摄食率 [R]. 青岛: 中国科学院海洋研究所实验海洋生物学开放研究实验室. 1991.
- [4] Dixon B A, Van Poucke S O, Chair M, et al. Bioencapsulation of the antibacterial drug sarafloxacin in nauplii of the brine shrimp *Artemia franciscana* [J]. *Journal of aquatic animal health*, 1995, 7: 42-45.
- [5] Gomez Gil B, Cabanillas Ramos J, Paez Brambila S, et al. Standardization of the bioencapsulation of enrofloxacin and oxytetracycline in *Artemia franciscana* Kellogg [J]. *Aquaculture*, 2001, 196: 1-2.
- [6] Touraki M, Niopas I, Kastritsis C. Bioaccumulation of trimethoprim, sulfamethoxazole and N-acetylsulfamethoxazole in *Artemia* nauplii and residual kinetics in seabass larvae after repeated oral dosing of medicated nauplii [J]. *Aquaculture*, 1999, 75: 15-30.
- [7] 方星星. 复方新诺明和恩诺沙星在两种水产动物体内的药物代谢动力学及残留研究 [D]. 青岛: 青岛海洋大学, 2003.
- [8] 王勇强, 赵增元, 李天宝, 等. 两种药物在对虾体内的动力学参数研究 [J]. *海水养殖*, 1995, 49, 50: 1-3.
- [9] 付国庆. 氟哌酸在黑鲷体内药代动力学的初步研究 [D]. 青岛: 青岛海洋大学, 1998.
- [10] 李兰生, 王勇强. 对虾体内氯霉素含量测定方法的研

- 究[J]. 青岛海洋大学学报, 1995, 25(3): 404-406.
- [11] Verpraet R, Chair M, Leger P, *et al.* Live food mediated drug delivery as a tool for disease treatment in larviculture: The enrichment of therapeutics in rotifers and *Artemia* nauplii[J]. **Aquaculture engineering**, 1992, 11: 133-139.
- [12] 张耀红, 韩占江, 韩平纪, 等. 生物胶囊在斑 苗种中的应用试验[J]. 河北农业大学学报, 1993, 19(2): 113-115.
- [13] Campbell R, Adams A, Tatner M F, *et al.* Uptake of *Vibrio anguillarum* vaccine by *Artemia salina* as a potential oral delivery system to fish fry[J]. **Fish & shellfish Immunology**, 1993, 3: 451-459.
- [14] 余俊红, 纪伟尚, 徐怀恕. 鲈鱼口服生物胶囊疫苗的研究[J]. 高技术通讯, 2001, 3: 15-18.
- [15] Ozkizilcik S, Chu F E. Uptake and metabolism of liposomes by *Artemia* nauplii[J]. **Aquaculture**, 1994, 128: 131-141.
- [16] Hongtoria F, Crowe J H, Crowe L M, *et al.* Potential use of liposomes in larviculture as a delivery system through *Artemia* nauplii[J]. **Aquaculture**, 1994, 127: 255-264.
- [17] Grisez L, M Chair, P Sorgeloos, *et al.* Mode of infection and spread of *Vibrio anguillarum* in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae after oral challenge through live feed[J]. **Disease Aquaculture or ganization**, 1996, 26: 18-187.
- [18] Moore M M, Strom M S. Infection and mortality by the yeast *Metschnikowia bicuspidata* var *bicuspidata* in chinook salmon fed live adult brine shrimp (*Artemia franciscana*) [J]. **Aquaculture**, 2003, 220: 43-57.
- [19] Mortensen S, Evensen O, Rodseth O, *et al.* The relevance of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in farmed Norwegian turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. **Aquaculture**, 1993, 115: 245-252.
- [20] Skliris G P, Richards R H. Assessment of the susceptibility of the brine shrimp *Artemia salina* and rotifer *Brachionus plicatilis* to experimental nodavirus infection [J]. **Aquaculture**, 1998, 169: 133-141.
- [21] Sahul H A S, Murthi B L M, Rasheed M, *et al.* An investigation of *Artemia* as a possible vector for white spot syndrome virus (WSSV) transmission to *Penaeus indicus* [J]. **Aquaculture**, 2002, 204: 1-10.

## Studies on pharmacokinetics of norfloxacin in *Litopenaeus vannamei* fed *Artemia* enriched with norfloxacin

CAO Lin<sup>1,2</sup>, LI Jian<sup>1</sup>, LIU Qi<sup>1</sup>, WANG Qun<sup>1</sup>

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. College of Life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Received: Jan. 6, 2004

**Key words:** *Litopenaeus vannamei*; norfloxacin; *Artemia*; pharmacokinetics

**Abstract:** The pharmacokinetics is studied norfloxacin in *Artemia* and *Litopenaeus vannamei* by high performance liquid chromatography. The result demonstrated that the concentration of norfloxacin in *Artemia* can achieve its maximum after 4~8 h. The homeostasis can be achieved between ingestion and elimination; temperature can infect  $T_{(1/2)\beta}$  of norfloxacin in *Artemia*:  $T_{(1/2)\beta}$  were 51.33, 19.29, 18.64 h in 3 mm long *Artemia* at 4, 16 and 28°C;  $T_{(1/2)\beta}$  were 39.67, 13.26 and 12.6 h in 6 mm long *Artemia* at 4, 16 and 28°C. The results showed that the tissue of *Litopenaeus vannamei* concentration time course of norfloxacin can be described by a two compartment open model with the first order absorption after fed *Artemia* was enriched with norfloxacin.  $T_{max}$  and  $C_{max}$  were infected with doses greatly, after oral administration at doses of 800, 400, and 200 mg/kg respectively,  $T_{max}$  were 0.403, 0.540, 0.481 h in the muscle;  $T_{max}$  were 0.826, 1.839, 1.469 h in the hepatopancreas;  $C_{max}$  were 98.943, 46.752, 10.887 mg/L in the muscle;  $C_{max}$  were 738.267, 597.352, 415.268 mg/L in the hepatopancreas.  $T_{(1/2)\beta}$  (about 26.688 h) in the muscle was longer than  $T_{(1/2)\beta}$  (about 13.988 h) in the hepatopancreas as obviously.

(本文编辑: 刘珊珊)