

土霉素在红鳍东方鲀体内的残留及休药期研究

孙绪文¹ 王群^{2*} 颜显辉¹ 常乃生¹ 张霖¹ 王敬祥¹

(¹中华人民共和国荣成出入境检验检疫局, 264300)

(²中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘要 在 $14\pm 2^{\circ}\text{C}$ 水温条件下,连续5d对红鳍东方鲀口灌剂量为 $100\text{mg}/\text{kg}$ 的土霉素,采用高效液相色谱法测定了停药后血清、肌肉、肝脏组织中的药物含量、消除速率常数和消除半衰期,提出了该温度下的休药期。研究表明,在停药2d后红鳍东方鲀血清和肌肉中的药物浓度达到峰值,分别为 $1.092\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 $0.806\mu\text{g}/\text{g}$;停药3d后肝脏内土霉素浓度达到峰值 $1.229\mu\text{g}/\text{g}$,土霉素在血清、肌肉和肝脏中的消除半衰期分别为23.8、22.4和26.8d;土霉素在红鳍东方鲀肌肉组织中降到 $0.1\mu\text{g}/\text{g}$ 残留限量的时间为58d,降到 $0.05\mu\text{g}/\text{g}$ 残留限量的时间为81d。

关键词 土霉素 红鳍东方鲀 残留 休药期

中图分类号 S948 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2009)06-0075-06

Residues and withdrawal period of oxytetracycline in globefish *Fugu rubripes* Temmincket schlegel

SUN Xu-wen¹ WANG Qun^{2*} YAN Xian-hui¹

CHANG Nai-sheng¹ ZHANG Lin¹ WANG Jing-xiang

(¹The People's Republic of China Rongcheng Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, 264300)

(²Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT Residues and withdrawal periods of oxytetracycline (OTC) was evaluated by HPLC in globefish *Fugu rubripes* following multi-oral administration of $100\text{mg}/\text{kg}$ weight body per day for 5 days at $14\pm 2^{\circ}\text{C}$. The result showed that the highest concentrations of OTC in blood and muscle were found in 2 days after the last administration, which were $1.092\mu\text{g}/\text{ml}$ and $0.806\mu\text{g}/\text{g}$, respectively. While the highest level found in liver was $1.229\mu\text{g}/\text{g}$, 3 days post-administration. It was revealed that the elimination half-lives of OTC in blood, muscle and liver were 23.8, 22.4 and 26.8 days respectively, indicating that the elimination rate of OTC in globefish was very low. OTC concentrations in the muscle of globefish fell below the $0.1\mu\text{g}/\text{g}$ and $0.05\mu\text{g}/\text{g}$ residue limits at day 58 and day 81 post-administration, respectively.

KEY WORDS Oxytetracycline *Fugu rubripes* Temmincket schlegel Residues
Withdrawal periods

山东省出入境检验检疫局项目(SK06-2003)资助。

* 通讯作者。E-mail: xuwangqun@gmail.com

收稿日期:2008-11-07;接受日期:2008-12-30

作者简介:孙绪文(1969-),男,助理工程师,主要从事进出口动植物及产品检验检疫工作。E-mail: sxw2911@126.com; Tel: (0631)7586678

红鳍东方鲀 *Fugu rubripes* Temmincket schlegel 隶属于硬骨鱼纲、鲀形目、鲀科、东方鲀属,在北方又称腊头、红鳍东方鲀和黑艇巴,南方称之为龟鱼。该鱼肉质细嫩、味道鲜美、蛋白质含量高和营养丰富,素有“鱼类之王”的美称,分布于中国黄海、渤海及日本海域,是鲀科鱼类中可进行养殖的优良品种之一。全国年成品鱼产量达 4 500 t 左右,每年出口日本约 2 500 t,出口韩国约 1 300 t。日本“肯定列表制度”于 2006 年 5 月 29 日起已开始实施,新限量标准的实施必将给我国出口水产品带来严峻考验。目前韩国对来自中国的河鲀鱼检验项目主要有:铅、汞、孔雀石绿、结晶紫和呋喃 4 项,恩诺沙星、环丙沙星、土霉素、氯霉素、噁喹酸和氟甲喹等。因此,研究水产常用抗菌药物在红鳍东方鲀体内的代谢和残留规律,做好应对贸易磨擦的准备具有重要意义。

土霉素(Oxytetracycline, OTC)具有免疫抑制作用,能导致肝损害,长期使用会使细菌的抵抗力增强(Elema *et al.*, 1996)。本文研究了红鳍东方鲀口服 OTC 后,药物在体内残留和消除规律,目的最大限度地减少 OTC 残留对人的危害和在养殖过程中对环境的影响,为制定合理的停药期提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验鱼

健康红鳍东方鲀来自山东荣成市东滨水产有限公司养鱼厂,体重约 612 ± 145 g,室内水泥池饲养,充氧,水温为 $12.7 \sim 13^\circ\text{C}$,投喂小杂鱼。

1.2 试验药品及试剂

土霉素标准品为 SIGMA 公司生产,纯度 $\geq 99.0\%$;土霉素药片系潍坊医药集团生产〔批号:(1995)043025〕。使用的试剂有:磷酸氢二钠(A. R)、三氟乙酸(A. R)、乙二胺四乙酸钠(EDTANa_2)(A. R)、柠檬酸钠(A. R)、乙酸铵(A. R)、草酸(A. R)、甲醇(HPLC)和乙腈(HPLC)。C18 小柱(3ml,500mg)由 Supelco 生产。

1.3 实验仪器和设备

Agilent 1100 型高效液相色谱仪,包括四元泵、真空脱气机、紫外吸收检测器、ODS 柱(Agilent, $5\mu\text{m}$; $150\text{mm} \times 4.6\text{mm}$ I. D.)、电子天平、冷冻离心机、漩涡振荡器、冰箱、氮气瓶、恒温水浴锅和匀浆机等。

1.4 标准溶液的配制、标准曲线方程和线性范围的确定

准确称取 25.0mg OTC 标准品溶于流动相中,定容到 250ml,配成 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 的母液,再把母液用流动相依次稀释成 5.0、2.0、1.0、0.5、0.2、0.1、0.05、0.02 和 $0.01\mu\text{g}/\text{ml}$ 的标准溶液,于冰箱中 4°C 保存。

以上述几个水平的浓度 C_i 为因变量,以各水平浓度的平均峰面积 A_i 为自变量,作线性回归,根据相关系数估计紫外检测对 OTC 的线性范围。

1.5 样品的处理及色谱条件

1.5.1 样品的处理

准确吸取 1 ml 血清或称取 5.0 g 组织(肌肉和肝脏)于 50 ml 离心管中,每个样品中加入 20ml 的 McIlvaine 溶液(McIlvaine 缓冲液、 $0.1\text{mol}/\text{L}$ EDTA)。均质 $15 \sim 30$ s。用 4ml McIlvaine 溶液冲洗转头,将冲洗液加入离心管中。盖上离心管,涡旋混和器上振荡 10 min。在 15°C 下,5 000 r/min 的离心 10 min。将上清液倒入另一个离心管中,尽量不要移入任何组织。 $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 冷藏保存。

加 20 ml McIlvaine 溶液于第一个离心管中,盖紧盖,激烈振荡,重悬残留物。漩涡混合器上剧烈振荡 10 min,再离心,取上清,合并提取液。加入 5ml $0.34\text{mol}/\text{L}$ 的硫酸和 5ml 的 7% 的钨酸钠,盖上盖,激烈振荡 30 s。 15°C ,5 000 r/min 离心 20 min。用滤纸过滤,收集滤液。先用 10 ml 的甲醇,再用 20 ml 的水以 $1.5 \sim 2.5\text{ml}/\text{min}$ 的流速冲洗 SPE 小柱。柱子最后保留部分水,不要吹干。丢弃冲洗液。将提取液加入 SPE 小柱内,施加一定的压力使液体以 $1.5 \sim 2.5\text{ml}/\text{min}$ 的流速通过小柱。待提取液完全流过小柱时,用 20 ml 的蒸馏

水冲洗柱子。之后,充入空气将柱子吹干。用15 ml的刻度离心管作为收集容器,用5 ml的洗脱溶液(甲醇草酸溶液,0.01 mol/L)将土霉素从柱子中洗脱下来,洗脱液流尽后,将柱子吹干以收集柱子中残留的溶液。血清样品用氮气吹干,再用1 ml甲醇溶解残留物。

柱子:C₁₈ ODS柱;柱温:25℃;流速:1.0 ml/min;进样量:10 μl;紫外检测:波长为360 nm;流动相:乙酸胺溶液(pH 3.0, 0.01 mol/L):乙腈=77:23。

1.6 给药方式及取样

将试验用红鳍东方鲀随机分组,每组6尾,连续5 d口灌剂量为100 mg/kg的OTC。口服药物后,按1、2、3、5、7、10、14、18、22、26、30、35、45、58和70 d的时间间隔采取血液、肌肉和肝脏组织,每一时间点取1组鱼。

1.7 分析方法评价

1.7.1 回收率

空白组织中加入浓度为0.05、0.1、1.0、2.0和5.0 μg/ml的OTC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,即为药物提取回收率。

1.7.2 精密度

将上述OTC的5个浓度样品在1 d内分别重复进样5次和分5 d测定,计算5个浓度水平响应值峰面积的变异系数(C.V.%)和总平均变异系数(Σ C.V.%),以此评价定量方法的精密度。

1.7.3 检测限(Limit of detection, LOD)

取空白样品,按样品处理程序处理后测定,另将空白组织制成低浓度药物含量的含药组织,预处理后测定,对比二者,将引起2~3倍基线噪音的药物浓度定义为最低检测限。

1.7.4 标准曲线与线性范围(Linear range)

取空白组织,加入标准溶液配制项下的梯度标准液,静置一段时间后,按样品处理方法处理后进样,每个浓度水平重复3次,以浓度为纵坐标,以平均峰面积为横坐标做标准曲线,并求出回归方程和相关系数。

1.8 数据处理与计算

将高效液相色谱测得的峰面积代入标准曲线所绘制的回归方程,就可以求出药物在各组织中的浓度值。药物浓度数据用平均值±标准差表示,据药物浓度-时间数据可用微机自动模拟出药物的消除曲线方程和消除速率常数,消除半衰期 $t_{1/2}=0.693/\beta$ 表示,根据消除曲线方程计算出组织药物浓度在各水平所对应的时间。

2 结果

2.1 标准曲线与最低检测限

OTC标准溶液浓度为(5.0、2.0、1.0、0.5、0.2、0.1、0.05、0.02和0.01 μg/ml)时,标准曲线为 $C=0.066A+0.004$,相关系数 $R^2=0.9998$,相关性良好。

根据标准曲线,以引起两倍基线噪音的药量为最低检测限,本方法的检测限为0.01 μg/ml。

2.2 回收率与精密度

表1为OTC在血液、肌肉和肝脏3种组织中5个浓度水平的回收率,回收率均达到90%以上,表明样品的前处理方法较好。

本实验中OTC的日内变异系数和日间变异系数的平均值见表2,各浓度组的日间和日内精密度均可控制在2%~4%之间,表明本方法的精密度较高。

表1 OTC在红鳍东方鲀3种组织中的回收率

Table 1 Recoveries of OTC in 3 tissues of *Fugu rubripes*

| 样品浓度 Concentration(μg/mL) | 0.05 | 0.1 | 1.0 | 2.0 | 5.0 |
|------------------------------|------|------|------|------|------|
| 血清 Serum | 97.5 | 97.3 | 98.2 | 98.5 | 98.3 |
| 肌肉 Muscle | 96.4 | 95.7 | 97.2 | 98.3 | 97.6 |
| 肝脏 Liver | 94.2 | 94.5 | 95.4 | 95.8 | 94.5 |

表2 OTC的精密度的

Table 2 Precision of OTC test

| 样品浓度 Concentration (μg/ml) | 0.05 | 0.1 | 1.0 | 2.0 | 5.0 |
|----------------------------------|------|------|------|------|------|
| 日内精密度(%)RSD | 2.27 | 3.01 | 2.54 | 2.46 | 2.71 |
| 日间精密度(%)RSD | 2.81 | 2.96 | 3.04 | 3.11 | 3.64 |

2.3 OTC在组织中的残留和消除规律

表3列出了红鳍东方鲀口服OTC后,肌肉、血清和肝脏中的药物浓度的实测值。

图1~图3为OTC在红鳍东方鲀组织中的拟合消除曲线,肌肉中的消除速率最快,其次为血清,肝脏最慢。

将药物浓度-时间数据进行非线性最小二乘法回归处理后,各组织药物消除曲线方程可用数学表达式描述,消除速率常数和消除半衰期见表4。

表4 OTC在红鳍东方鲀组织中的消除方程及消除参数

Table 4 Elimination equation and parameters of OTC in *Fugu rubripes* tissues

| 组织 Tissue | 方程 Equation | β | $t_{1/2}$ (d) | r^2 |
|-----------|----------------------------|---------|---------------|-------|
| 血液 Blood | $C(t)=1.117 e^{-0.029 1t}$ | 0.029 | 23.8 | 0.898 |
| 肌肉 Muscle | $C(t)=0.604 e^{-0.030 9t}$ | 0.031 | 22.4 | 0.937 |
| 肝脏 Liver | $C(t)=0.685 e^{-0.025 9t}$ | 0.026 | 26.8 | 0.949 |

注: β 最终消除速率常数, $t_{1/2}$ 为消除半衰期, r^2 为相关系数

表3 红鳍东方鲀口服OTC后,3种组织中的药物残留

Table 3 OTC residues in 3 tissues of *Fugu rubripes* after oral administration

| 时间 Time(d) | 血清 Serum (μg/ml) | 肝脏 Liver (μg/g) | 肌肉 Muscle (μg/g) |
|---------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1 | 1.054±0.397 | 0.545±0.223 | 0.629±0.323 |
| 2 | 1.092±0.575 | 1.12±1.025 | 0.806±0.391 |
| 3 | 0.86±0.445 | 1.229±0.949 | 0.569±0.246 |
| 5 | 0.822±0.56 | 0.965±0.538 | 0.553±0.509 |
| 7 | 0.819±0.384 | 0.662±0.359 | 0.483±0.396 |
| 10 | 0.811±0.334 | 0.575±0.286 | 0.47±0.332 |
| 14 | 0.709±0.385 | 0.427±0.265 | 0.436±0.198 |
| 18 | 0.705±0.294 | 0.417±0.124 | 0.391±0.157 |
| 22 | 0.645±0.225 | 0.413±0.171 | 0.311±0.215 |
| 26 | 0.571±0.172 | 0.367±0.134 | 0.249±0.116 |
| 30 | 0.564±0.35 | 0.291±0.108 | 0.242±0.161 |
| 35 | 0.483±0.088 | 0.226±0.124 | 0.134±0.061 |
| 45 | 0.464±0.214 ^a | 0.185±0.06 ^a | 0.131±0.106 ^a |
| 58 | 0.133±0.115 ^b | 0.179±0.097 ^b | 0.096±0.083 ^b |
| 70 | 0.13±0.226 ^c | 0.118±0.029 ^c | 0.094±0.082 ^c |

注:a表示只有4条鱼可检测到肌肉中的OTC;b表示只有3条鱼可检测到肌肉中的OTC;c表示只有2条鱼可检测到肌肉中的OTC

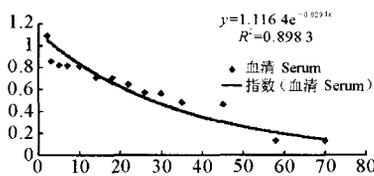


图1 OTC在红鳍东方鲀血清中的拟合曲线

Fig.1 The curve of OTC in serum of *Fugu rubripes*

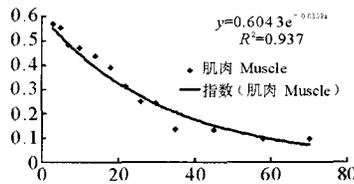


图2 OTC在红鳍东方鲀肌肉中的拟合曲线

Fig.2 The curve of OTC in muscle of *Fugu rubripes*

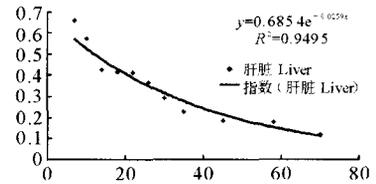


图3 OTC在红鳍东方鲀肝脏中的拟合曲线

Fig.3 The curve of OTC in liver of *Fugu rubripes*

表5列出了OTC在红鳍东方鲀3种组织中降到0.01、0.02、0.05、0.1和0.2μg/g时对应的理论时间。

3 讨论

3.1 土霉素在红鳍东方鲀体内的残留规律

土霉素作为一种重要的抗菌药物广泛地应用于水产养殖业,治疗各种细菌性疾病,也是目前我国允许使用

的几种抗菌药物之一(NY5071,2001)。有关 OTC 在水产养殖动物体内的代谢和残留的研究国外报道较多,如淡水鲤鱼 *Cyprinus carpio* (Grondel *et al.* 1987)、虹鳟 *Oncorhynchus mykiss* (Jacobsen 1989; Björklund *et al.* 1990,1991; Abendini *et al.* 1998, Namdari *et al.* 1999)、斑点叉尾鲷 *Ictalurus punctatus*、香鱼 *Plecoglossus altivelis* (Uno *et al.* 1996) 等;海水鱼的报道多见于大西洋鲑 *Salmon sal-*

ar (Bruno 1989; Elema *et al.* 1996; Namdari *et al.* 1998)、大鳞大麻哈鱼 *Oncorhynchus tshawytscha* (Abedini *et al.* 1998; Namdari *et al.* 1999)、舌齿鲈 *Dicentrarchus labrax* (Rigos *et al.* 2002)。国内相关的报道有:鳗鲡 *Anguilla japonica* (李美同等 1997)、鲤鱼(幸福言等 1995)、黑鲷 *Sparus macrocephalus* (王群等 2001)和鲫鱼 *Carassius auratus* (李雪梅等 2004)等,未见红鳍东方鲀鱼体内的相关报道。

本试验采用 100mg/kg 剂量连续饲喂红鳍东方鲀 5d 的方法(参考渔药手册),发现停药 2d 后血清和肌肉中的药物浓度达到峰值,分别为 1.092 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和 0.806 $\mu\text{g}/\text{g}$;肝脏在停药 3d 后达到峰值 1.229 $\mu\text{g}/\text{g}$,与土霉素在大菱鲆中的吸收情况相比,土霉素在红鳍东方鲀体内的吸收效果较差。近年来,随着土霉素在水产养殖中的使用,其对常见致病菌的最小抑菌浓度也在不断提高。陈昌福等(1996)采用试管稀释法测得土霉素对福建爱德华氏菌的最小抑菌浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$,所以在本试验条件下采用土霉素治疗常见的细菌性疾病应该效果不大。本试验各组织中 OTC 达到峰浓度时,其含量依次为肝脏>血清>肌肉,这与大菱鲆组织中的 OTC 浓度依次为肝脏>肾脏>皮肤>血液>肌肉(王群等 2008)以及 Namdari 等(1996)报道的大鳞大麻哈鱼肝脏>骨>肾脏=皮肤>肌肉的结果较一致。药物达到峰值后,随着时间的推移,在各组织中的浓度逐渐降低,其消除的速度可用消除半衰期来表示。消除半衰期是药代动力学的基本参数,是一个固定的数值,不因药浓度的高低而改变,也不受渔药剂量和给药方式的影响,但在水生动物的生理和病理情况下有所变化(农业部编撰委员会 2005),本试验中土霉素在红鳍东方鲀血清、肌肉和肝脏中的消除半衰期分别为 23.8、22.4 和 26.8d,而土霉素在大菱鲆血清、肌肉和肝脏中的消除半衰期分别为 47.79、53.31 和 56.34h(王群等 2008),表明土霉素在红鳍东方鲀鱼体内消除的很慢,分析原因一则可能与动物的种属特性有关,二则试验温度较低也可能是造成组织内药物消除半衰期较长的重要原因。

3.2 土霉素在红鳍东方鲀体内的休药期

休药期是指动物从用药后到允许上市的一段时间,药物在组织中的残留限量,是制定休药期的依据。OTC 属于四环素类抗菌药,能与新形成的骨和牙齿中沉积的钙相结合,长期大量服用能造成严重的肝损害。另有报道 OTC 具有免疫抑制作用,针对这些情况,人们对食品动物中抗生素的残留越来越关注。目前,欧盟、美国及我国《兽药残留限量大全》都限定 OTC 在鱼组织中的最高残留限量为 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。本试验 OTC 在红鳍东方鲀肌肉组织中要降到 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 残留限量的时间为 58d,降到 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 残留限量的时间为 81 d,相对于其他已报道的养殖鱼类而言,土霉素在红鳍东方鲀体内的残留时间较长。Namdari 等(1996)研究在 15 $^{\circ}\text{C}$ 和 9 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,OTC 在肌肉组织中降低到检测限 0.05 $\mu\text{g}/\text{g}$ 时所需休药期分别为 41 d 和 65 d。Salte 等(1983)建议在 7 $^{\circ}\text{C}$ 和 9 $^{\circ}\text{C}$ 时,OTC 在虹鳟肌肉组织中的休药期分别为 65d 和 42d。Jacobsen(1989)建议在低于 6 $^{\circ}\text{C}$ 时,OTC 在虹鳟体内的休药期为 90d,而王群等(2008)发现 22 $^{\circ}\text{C}$ 时 OTC 降到 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 残留限量的时间为 17 d。李雪梅等(2004)连续 3 d 给鲤鱼口灌土霉素,发现温度 10 $^{\circ}\text{C}$ 时的休药期为 12 d。综上所述,影响休药期长短的因素有很多,除了动物本身外,还有温度、给药方式、剂量和周期以及动物规格等。

本试验使用的红鳍东方鲀在 500 g 左右、接近于成品鱼重量。另外,试验时间为 10~11 月,接近于河鲀出口期。所以,本试验条件下所得出的休药期对养殖企业比较有参考价值。

表 5 OTC 在红鳍东方鲀 3 种组织中降低到 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 和 0.2 $\mu\text{g}/\text{g}$ 的理论时间

Table 5 Withdrawal time of OTC with the concentrations in 3 tissues were 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 and 0.2 $\mu\text{g}/\text{g}$

| 组织 Tissue | 时间 Time | | | | |
|-----------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | 0.01 $\mu\text{g}/\text{g}$ | 0.02 $\mu\text{g}/\text{g}$ | 0.05 $\mu\text{g}/\text{g}$ | 0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ | 0.2 $\mu\text{g}/\text{g}$ |
| 血清 Serum | 162 | 138 | 107 | 83 | 59 |
| 肌肉 Muscle | 133 | 110 | 81 | 58 | 36 |
| 肝脏 Liver | 163 | 136 | 101 | 74 | 48 |

参 考 文 献

- 无公害食品. 2001. 渔用药物使用准则. NY5071
- 王 群, 孙修涛, 刘得月, 刘 淇, 李 健. 2001. 土霉素在黑鲷体内的药物代谢动力学研究. 海洋水产研究, 22(1): 43~47
- 王 群, 刘 淇, 李 健, 雷霖霖, 孙绪文. 2008. 3 种抗菌药物在大菱鲆体内的残留消除规律比较. 海洋水产研究, 29(5): 19~26
- 农业部编撰委员会. 2005. 新编渔药手册. 第 1 版. 北京: 中国科学技术出版社
- 李美同, 郑国兴. 1997. 土霉素在鳊鲈组织中残留的消除规律. 水产学报, 21(1): 39~43
- 李雪梅, 张其中, 祝顺琴, 冉江波. 2004. 土霉素残留在鲫鱼体内的消除规律. 西南师范大学学报, 29(6): 1 027~1 031
- 辛福言, 李晓川, 陈四清, 尚德荣, 李美同, 仲 锋, 郭 玲. 1996. 高效液相色谱法分析鲤鱼体内土霉素残留的研究. 海洋水产研究, 17(1): 71~74
- 陈昌福, 毛芝娟, 王 敏. 1996. 福建爱德华氏菌对土霉素、氯霉素和链霉素的感受性、耐药性研究. 淡水渔业, 26(3): 1~4
- Abedini, S. *et al.* 1998. Comparative pharmacokinetics and bioavailability of oxytetracycline in rainbow trout and chinook salmon, *Aquaculture*, 162: 23~32
- Barron, M. G., Hansen, S. C., and Ball, T. 1991. Pharmacokinetics and metabolism of triclopyr in the crayfish (*Procambarus clarki*). *Drug. Met. Dis.* 19(1): 163~167
- Björklund, H. V., and Bylund, G. 1991. Comparative pharmacokinetics and bioavailability of oxolinic acid and oxytetracycline in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Xenobiotica*, 21: 1 511~1 520
- Björklund, H. *et al.* 1990. Temperature-related absorption and excretion of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture*, 84: 363~372
- Bruno, D. W. 1989. An investigation into Oxytetracycline residues in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis.* 12: 77~86
- Elema, M. O., Hoff, K. A., and Kristensen, H. G. 1996. Bioavailability of oxytetracycline from medicated feed administered to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater. *Aquaculture*, 143: 7~14
- Ellis, A. E. *et al.* 1978. The anatomy and physiology of teleosts. In: R. J. Roberts (Editor), *Fish Physiology*. Bailliere Tindall, London, 13~54
- Ezzet, F., Krishna, G., Wexler, D. B. *et al.* 2001. A population pharmacokinetic model that describes multiple peaks due to enterohepatic recirculation of ezetimibe. *Clin. Therap.* 23(6): 871~885
- Farkad Ezzet, Gopal Krishna, D., Wexler B. *et al.* 2001. A population pharmacokinetic model that describes multiple peaks due to enterohepatic recirculation of ezetimibe. *Clin. Therap.* 23(6): 871~885
- Grondel, J. L., Nouws, J. F. M., DeJong M., Schutte, A. R., and Driessens F. 1987. Pharmacokinetics and tissue distribution of oxytetracycline in carp, *Cyprinus carpio* L., following different routes of administration. *J. Fish Dis.* 10: 153~163
- Grondel, J. L., Nouws, J. F., Schutte, A. R., *et al.* 1989. Comparative pharmacokinetics of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and African catfish (*Clarias gariepinus*). *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 12: 157~162
- Jacobsen, M. D. 1989. Withdrawal times of freshwater rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, after treatment with oxolinic acid, oxytetracycline and trimetoprim. *J. Fish Dis.* 12: 29~36
- James, M., and Barron, M. 1988. Disposition of sulphadimethoxine in the lobster (*Homarus americanus*). *Vet. Hum. Toxicol.* 30 (1): 36~40
- Namdari, R., Abedini, S., and Law, F. C. P. 1999. A comparative tissues distribution and elimination of oxytetracycline in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). *Aquacult. Res.* 30: 276~286
- Namdari, R., Abedini, S., and Law, F. C. P. 1996. Tissue distribution and elimination of oxytetracycline in seawater Chinook and coho salmon following medicated-feed treatment, *Aquaculture*, 144: 27~38
- Rigos, G., Alexis, M., Andriopoulou, A., and Nengas, I. 2002. Pharmacokinetics and tissue distribution of oxytetracycline in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, at two water temperatures. *Aquaculture*, 210: 59~67
- Salte, R. *et al.* 1983. Drug withdrawal from farmed fish. Depletion of oxytetracycline, sulfadiazine and trimethoprim from muscular tissue of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Acta. Vete. Scand.* 24: 418~430
- Sumano, L. H., Gutierrez, O. L., and Zamora, A. 2001. Bioequivalence of four preparations of enrofloxacin in poultry. *J. Vet. Pharmacol Therap.* 24: 309~313
- Uno, K. 1996. Pharmacokinetics study of oxytetracycline in healthy and vibriosis-infected ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Aquaculture*, 143: 33~42