

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.12.06

氟苯尼考注射液在鸡体内残留消除研究

宋志超, 张崇威*, 陈 蔷, 朱 雷, 邱富娜, 吴宁鹏, 吴志明

(河南省兽药饲料监察所, 郑州 450008)

[收稿日期] 2018-08-15 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2018) 12-0035-09 [中图分类号] S859.796

[摘 要] 为研究氟苯尼考注射液在鸡体内的残留消除规律, 采用 35 只约 3 kg 左右的健康白羽鸡, 随机分为 2 组, 给药组 30 只, 对照组 5 只。给药组用药量为每次 20 mg/kg, 每隔 48 h 用药 1 次, 连用 2 次, 对照组不给任何抗菌药物, 与给药组同环境饲养。在最后一次给药后 6、24、72、120、168 h 采集肉、肝、肾、皮脂样本, 经 LC-MS/MS 法测定组织中的氟苯尼考及其标示物氟苯尼考胺残留量, 并利用 WT1.4 软件计算休药期。结果显示: 氟苯尼考注射液在鸡肌肉、肝脏、肾脏及皮脂中的休药期分别是 3.41、2.06、2.25、1.47 d。为保证兽药使用安全、消费者健康和食品安全, 推荐氟苯尼考注射液在鸡体内的休药期为 4 d。

[关键词] 氟苯尼考; 鸡; 残留; 休药期

Residue Depletion Study of Florfenicol Injection in Chicken

SONG Zhi-chao, ZHANG Chong-wei*, CHEN Qiang, ZHU Lei, QIU Fu-na, WU Ning-peng, WU Zhi-ming

(Henan Institute of Veterinary Drug and Feed Control, Zhengzhou 450008, china)

Corresponding author: ZHANG Chong-wei, E-mail: zhangwei4@163.com

Abstract: To study the rule of depleting of florfenicol in chickens, 35 healthy white broilers of about 3 kg were divided into 2 groups randomly, 30 in treatment group and 5 in control group. The dose of the drug for treatment group was 20 mg/kg/time, and the drug was injected 2 times consecutively, once in every 48 hours. The control group was not taken any antibacterial drugs and was kept under the same condition as the treatment group. Chicken meat, liver, kidney and sebum samples were collected at 6 h, 24 h (1 day), 72 h (3 days), 120 h (5 days), and 168 h (7 days) after the last injection, and these tissues was tested by LC-MS/MS to evaluate the amount of residues of florfenicol and its marker florfenicol amine, and the drug withdrawal period was calculated by WT1.4 software. The results showed that the drug withdrawal periods for florfenicol injection in chicken muscle, liver, kidney and sebum were 3.41 d, 2.06 d, 2.25 d and 1.47 d, respectively. In order to ensure the safety of veterinary drugs, consumer health and food safety, it is recommended that the withdrawal period for florfenicol injection in chicken body is 4 d.

Key words: florfenicol; chicken; residue; withdrawal period

作者简介: 宋志超, 硕士, 兽医师, 从事兽药残留检测工作。E-mail: SZC96@163.com

通讯作者: 张崇威。E-mail: zhangwei4@163.com

氟苯尼考属动物专用氯霉素类广谱抗菌药物, 由美国 Schering-Plough 公司于 1988 年研制成功, 并在 1999 年被我国批准为国家二类新兽药^[1]。因其吸收好、体内分布广、安全高效, 并且无再生障碍性贫血的特点, 氟苯尼考被广泛用于治疗猪、禽、牛及水产等养殖动物的细菌性疾病^[2-4], 但氟苯尼考对哺乳动物具有胚胎毒性, 人体用药后还出现厌食、腹泻等不良反应, 长期食用含有氟苯尼考及其代谢物的动物源食品将会对人体产生严重的安全隐患^[5]。因此, 严格控制动物源食品中氟苯尼考残留量、合理制定氟苯尼考休药期就显得尤为重要。

本实验以自制 10 mL : 0.5 g 氟苯尼考注射液为研究对象, 按照《中国兽药典 (2015 年版)》兽药制剂品种说明书范本中有关氟苯尼考注射液的规定给药, 并建立氟苯尼考及氟苯尼考胺的液相色谱-串联质谱检测方法。对各个组织中的氟苯尼考及代谢物氟苯尼考胺进行检测, 计算相应休药期, 为正确用药提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 5% 氟苯尼考注射液: 自制。氟苯尼考对照品: 含量 99.3%, 批号 K0301305, 中国兽医药品监察所提供; 氟苯尼考氘代物对照品: 含量 98.0%, 批号 F405751, TRC 公司; 氟苯尼考胺对照品: 含量 99.1%, 批号 262329, Witega 公司提供; 氟苯尼考氘代物: 含量 98.0%, 批号 21-SHG-115-1, TRC 公司提供; 甲醇、乙腈为色谱纯; 氨水 25% ~ 28%; 乙酸乙酯、无水硫酸铵、甲酸铵、氯化钠、正己烷为分析纯。

1.2 仪器设备 Waters Acquity UPLC-Xevo TQ-S 液质联用仪 (配电喷雾离子源); 高速冷冻离心机; 氮吹仪; 分析天平; Milli-Q 超纯水仪。

1.3 溶液配制 2% 氯化乙酸乙酯: 取氨水 20 mL, 加乙酸乙酯 980 mL, 混匀; 4% 氯化钠溶液: 取氯化钠 4 g, 用水溶解并稀释至 100 mL; 4% 氯化钠溶液饱和的正己烷: 取一定量 4% 氯化钠溶液, 加入过量的正己烷, 混合, 静止分层; 20% 甲醇溶液: 取甲醇 20 mL, 加水 80 mL, 混匀; 10 mmol/L 甲酸铵溶液:

取甲酸铵 0.63 g, 用水溶解并稀释至 1000 mL。

1.4 试验动物 白羽鸡 35 只, 体重 2.5 ± 0.5 kg, 购于河南大用实业有限公司。给药组 30 只, 公母各半, 对照组 5 只, 公鸡 3 只, 母鸡 2 只。试验前预饲养 1 周, 期间不给任何抗菌药物, 试验前后各组饲养条件相同。

1.5 给药与样本采集 给药组按照 20 mg/kg (按氟苯尼考计), 肌肉注射, 每隔 48 h 给药 1 次, 连用 2 次, 并于最后一次给药 0 (6 h)、1、3、5、7 d 分别随机宰杀 6 只 (给药组) 及 1 只 (空白对照组), 采集胸脯鸡肉 (非注射部位)、鸡全肝、鸡全肾、鸡皮脂, 做好标记, 于 -20°C 保存。

1.6 试验方法 本研究根据具体情况, 采用实验室自建残留检测方法对样品进行测定, 内标法定量^[6]。

1.6.1 样品前处理 称取试样 (2 ± 0.02) g, 置于 50 mL 塑料离心管, 添加氟苯尼考及氟苯尼考胺混合内标工作液 (50 $\mu\text{g/mL}$) 100 μL , 加 2% 乙酸乙酯-氨水溶液 10 mL, 涡旋混匀, 涡旋振荡 10 min, 8000 r/min 离心 10 min, 取上清液于另一离心管中; 残渣用 2% 乙酸乙酯-氨水溶液 10 mL 重复提取一次, 合并上清液, 于 50°C 水浴氮气吹干。

在残留物中加入 4% 氯化钠溶液 3 mL, 涡旋使溶解, 再加入 4% 氯化钠溶液饱和的正己烷 5 mL, 涡旋混合 30 s, 8000 r/min 离心 5 min, 弃去正己烷, 用 5 mL 4% 氯化钠溶液饱和正己烷重复脱脂一次。在下层水相中加入 2% 乙酸乙酯-氨水溶液 5 mL, 涡旋振荡 5 min, 8000 r/min 离心 5 min, 吸取上层有机相于 10 mL 离心管中, 残渣用 2% 乙酸乙酯-氨水溶液 5 mL 重复萃取一次, 合并有机相, 50°C 水浴吹干, 残渣加入 20% 甲醇溶液 1.0 mL, 涡旋混匀, 过 0.22 μm 滤膜供液相色谱-串联质谱测定。

1.6.2 液相色谱参考条件 色谱柱: C18 柱, 2.1×100 mm, 粒径 1.7 μm , 或相当者; 流动相 A: 乙腈, B: 水 (氟苯尼考及氟苯尼考氘代物)/10 mmol/L 的甲酸铵溶液 (氟苯尼考胺及氟苯尼考胺氘代物), 梯度洗脱程序见表 1; 30°C ; 进样量 5 μL 。

表 1 梯度洗脱条件

Tab 1 Procedure of gradient elution

时间/min Time	流速/(mL · min ⁻¹) Flow rate	A/%	B/%	曲线 Curve
0	0.300	2	98	/
0.5	0.300	2	98	6
3.5	0.300	60	40	6
4.0	0.300	2	98	1

1 为即时变化,6 为线性变化

1.6.3 质谱参考条件 离子源:电喷雾(ESI)离子源;扫描方式:正离子(氟苯尼考胺及氟苯尼考胺氘代物),负离子同时扫描(氟苯尼考及氟苯尼考氘代物);检测方式:多反应离子监测(MRM);电离电压:负离子模式 3.0 kV,正离子模式 1.5 kV;锥孔电

压:负离子模式 20 V,正离子模式 8 V;源温:150 ℃;脱溶剂气温度:500 ℃;锥孔气流速:150 L/h;脱溶剂气流速:1000 L/h;定性、定量离子对、离子源、锥孔电压和碰撞能量见表 2。

表 2 定性、定量离子及对应的锥孔电压和碰撞能量

Tab 2 Qualitative and quantitative ion pair, the corresponding cone volt and collision energy

化合物名称 Compound	离子源 Ion source	定性离子对(<i>m/z</i>) Qualitative	锥孔电压/V Cone volt	碰撞能量/eV Collision energy
氟苯尼考	ESI-	356.096>184.972	50	18
		* 356.096>335.962		8
氟苯尼考胺	ESI+	248.164>130.298	26	20
		* 248.164>230.116		10
氟苯尼考 D3	ESI-	* 359.16> 338.96	22	6
氟苯尼考胺 D3	ESI+	* 251.16>233.11	18	12

标“*”为定量离子对

2 结果与分析

2.1 标准曲线 氟苯尼考在 0.5~20 μg/L(内标浓度为 5 μg/L)浓度范围内、氟苯尼考胺在 0.5~50 μg/L(内标浓度为 5 μg/L)呈现良好的线性关系,其线性方程分别为: $y = 1.8691x + 1.2865$ 和 $y = 0.8570x + 0.0166$,相关系数 *R* 分别为 0.9991 和 0.9999,如图 1 及图 2。标准溶液和组织中氟苯尼考及氟苯尼考胺色谱图见图 3 及图 4。

2.2 组织中药物残留及消除规律 按照实验室自建方法对所采集各组鸡肉、鸡肝、鸡肾、鸡皮脂中氟苯尼考及代谢物氟苯尼考胺进行检测,内标法定量。不同时间点各残留量见表 3 及表 4,残留消除曲线见图 5、图 6。

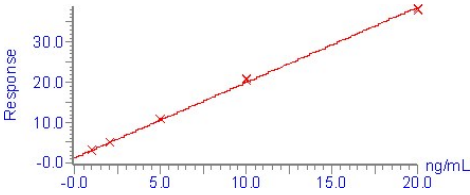


图 1 氟苯尼考标准曲线

Fig 1 Standard curve of florfenicol

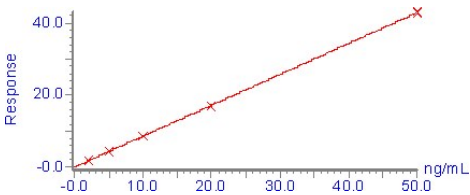


图 2 氟苯尼考胺标准曲线

Fig 2 Standard curve of florfenicol amine

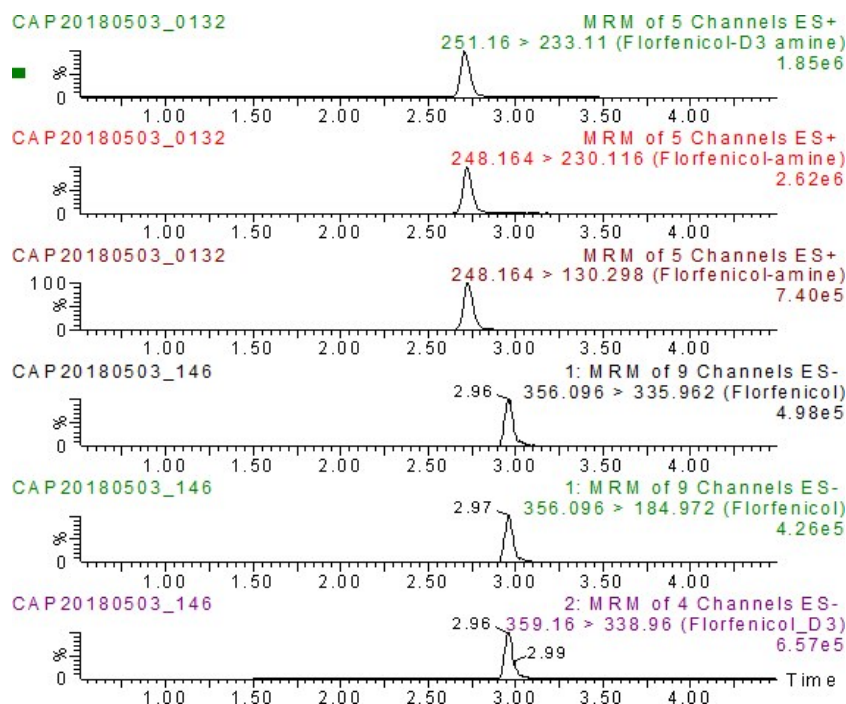


图 3 氟苯尼考及氟苯尼考胺混合标准溶液色谱图

Fig 3 Chromatogram of mixed standard solution of florfenicol and florfenicol amine

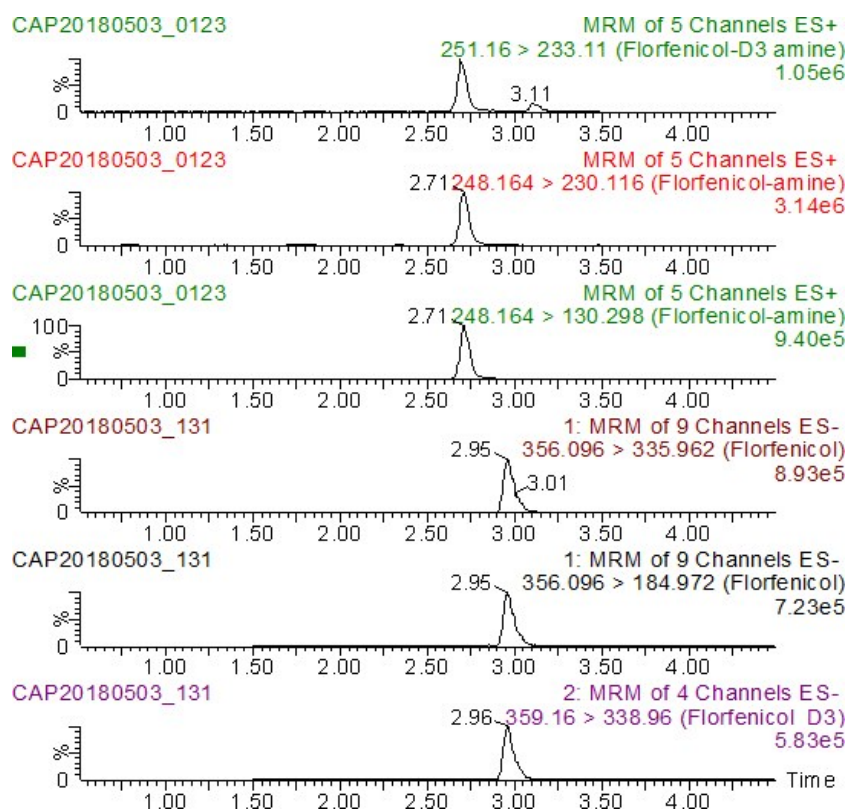


图 4 鸡肾中残留的氟苯尼考及氟苯尼考胺色谱图 (停药后第 0 天)

Fig 4 Chromatogram of florfenicol and florfenicol amine residues in chicken kidney (day 0 after withdrawal)

2.3 休药期计算 按照农业农村部关于氟苯尼考 95%置信区间),对自制 5%氟苯尼考注射液在鸡组织残留标示物最大残留限量^[7]和欧盟对休药期计算的有关规定,用 CVMP 制定的统计方法(双单侧

组织中休药期进行计算。氟苯尼考在各组织中的休药期见表 5,残留消除拟合图见图 7~图 10。

表 3 不同时间点氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺在鸡各组织中残留量(μg·kg⁻¹)

Tab 3 Residues of florfenicol and its metabolite florfenicol amine in chicken tissues at different time (μg·kg ⁻¹)													
组织 Tissue	停药后时间/d Time	不同编号鸡组织中氟苯尼考胺残留量 Residues of florfenicol amine in different numbers of chicken tissues						不同编号鸡组织中氟苯尼考残留量 Residues of florfenicol in different numbers of chicken tissues					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
肌肉 Muscle	0(6h)	191.5	211.3	269.4	152.4	175.9	220.5	142.0	309.0	199.8	110.8	146.4	182.3
	1	3.15	7.90	3.04	2.69	3.19	9.68	49.2	79.3	35.1	36.8	57.0	17.9
	3	ND	ND	1.80	ND	ND	ND	6.36	3.08	14.3	7.68	5.94	11.4
	5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.73	2.63	1.92	2.66	2.22	2.15
	7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.71	12.1	4.45	3.61	2.27	3.95
肝脏 Liver	0(6h)	134.1	135.3	85.6	108.9	159.0	79.6	24.7	96.1	71.1	27.0	23.5	33.7
	1	153.9	182.4	133.4	99.3	148.2	117.9	3.65	2.40	5.46	9.31	34.2	4.05
	3	34.9	53.6	95.0	122.6	144.8	69.8	2.13	2.78	4.96	5.20	1.02	1.47
	5	25.2	55.6	33.2	42.6	69.1	33.9	3.67	2.68	ND	ND	ND	ND
	7	ND	12.3	ND	2.85	0.83	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
肾脏 Kidney	0(6h)	723.0	1271.6	1008.2	936.9	896.4	1124.9	165.6	278.3	355.2	274.2	180.2	269.1
	1	26.9	22.2	16.1	12.7	24.1	22.8	12.4	13.0	8.0	4.83	7.25	10.6
	3	1.96	3.11	5.00	1.96	2.74	2.30	1.83	5.46	8.35	1.71	11.9	4.3
	5	1.23	1.41	0.918	1.34	1.46	2.15	1.78	0.64	ND	ND	0.50	ND
	7	7.52	2.01	ND	ND	6.59	ND	8.00	2.25	2.70	0.50	7.80	1.90
皮+脂 Sebum	0(6h)	91.8	93.2	88.4	112.0	123.9	115.6	179.3	435.1	379.7	571.2	152.8	332.6
	1	26.3	41.7	8.25	2.23	6.72	8.64	668.8	587.5	176.2	120.4	113.3	269.9
	3	2.02	1.55	14.4	3.84	1.54	3.00	31.2	12.8	75.3	81.6	23.7	37.2
	5	2.29	1.44	ND	ND	2.47	2.46	21.5	9.45	1.90	2.83	18.7	9.93
	7	ND	0.512	0.848	0.574	0.994	0.663	10.8	5.04	3.80	17.7	13.2	9.60

ND 为未检出

表 4 停药期间氟苯尼考胺及氟苯尼考在各组织中的残留量($\bar{X}\pm S,n=5$) (μg·kg⁻¹)

Tab 4 Residues of florfenicol amine and florfenicol in various tissues during withdrawal ($\bar{X}\pm S,n=5$) (μg·kg ⁻¹)										
组织 Tissue	氟苯尼考胺					氟苯尼考				
	0 d	1 d	3 d	5 d	7 d	0 d	1 d	3 d	5 d	7 d
肌肉 Muscle	203.50±40.52	4.94±3.04	0.30±0.73	ND	ND	181.72±69.83	45.88±21.13	8.13±4.06	2.55±0.64	4.85±3.64
肝脏 Liver	117.08±31.12	139.18±29.13	86.78±41.95	43.27±16.34	2.66±4.85	46.02±30.37	9.85±12.17	2.93±1.77	1.06±1.67	ND
肾脏 Kidney	993.5±190.07	20.80±5.32	2.85±1.15	1.42±0.41	2.69±3.48	253.77±70.33	9.35±3.19	5.59±3.96	0.49±0.69	3.86±3.22
皮脂 Sebum	104.15±14.85	15.64±15.2	4.39±4.98	1.44±1.18	0.60±0.34	341.78±158.10	322.68±244.51	43.63±28.24	10.72±8.03	10.02±5.16

ND 为未检出

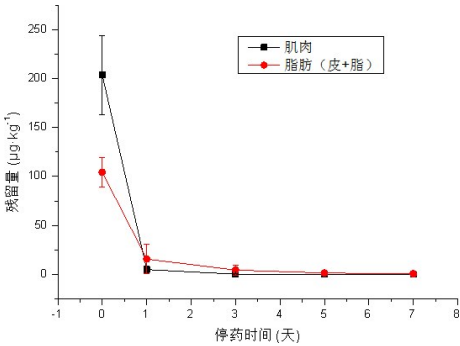


图 5 肌肉、皮脂中氟苯尼考胺的残留消除曲线
Fig 5 Depletion curve of florfenicol amine residue in muscle and sebum

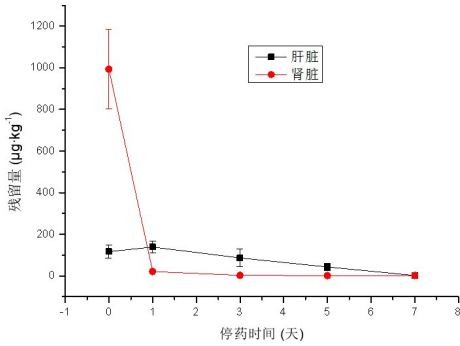


图 6 鸡肝、鸡肾中氟苯尼考胺的残留消除曲线
Fig 6 Depletion curve of florfenicol amine residue in chicken liver and kidney

表 5 氟苯尼考在各组织中休药期

Tab 5 Withdrawal periods for florfenicol in different tissues

组织 Tissue	肌肉 Muscle	肝脏 Liver	肾脏 Kidney	皮+脂 Sebum
休药期/d Withdrawal period	3.41	2.06	2.25	1.47

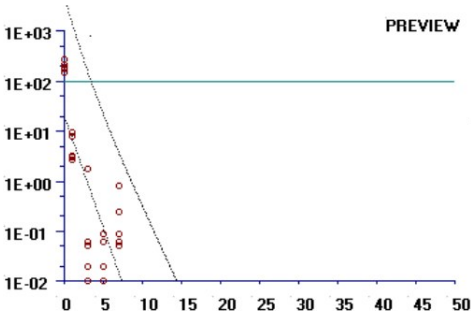


图 7 氟苯尼考注射液在鸡肉中残留消除拟合图
Fig 7 Fitting diagram of depletion of residue of florfenicol injection in chicken

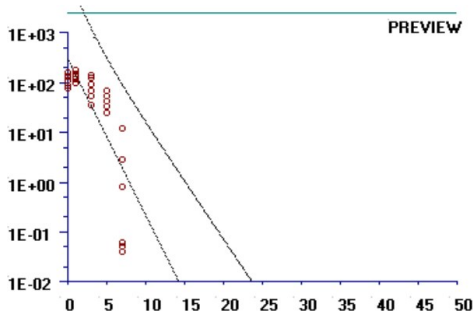


图 9 氟苯尼考注射液在鸡肝中残留消除拟合图
Fig 9 Fitting diagram of depletion of residue of florfenicol injection in liver

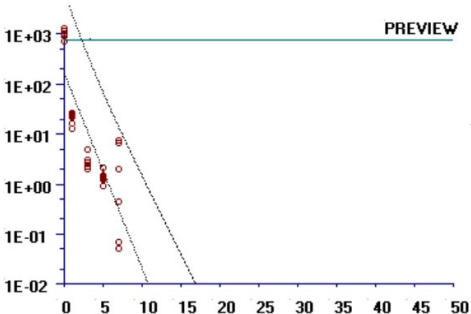


图 8 氟苯尼考注射液在鸡肾中残留消除拟合图
Fig 8 Fitting diagram of depletion of residue of florfenicol injection in kidney

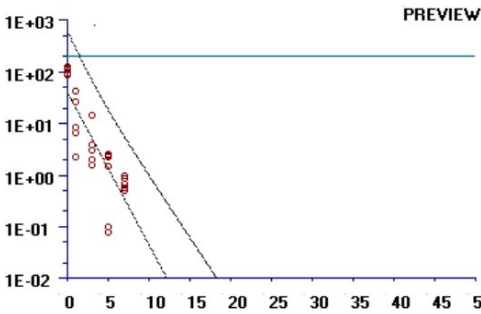


图 10 氟苯尼考注射液在鸡皮脂中残留消除拟合图
Fig 10 Fitting diagram of depletion of residue of florfenicol injection in sebum

如表 5、图 7~图 10 所示,根据 WT1.4 软件计算出氟苯尼考在鸡肉、肝脏、肾脏、油脂的休药期分别为 3.14、2.06、2.25、1.47 d。

3 讨论与结论

3.1 检测方法 目前,氟苯尼考及代谢物氟苯尼考胺的检测方法主要有高效液相色谱法^[8-10]、气相色谱法^[11-12]、气相色谱-质谱联用法^[13-14]、液相色谱-串联质谱法^[15-16]和酶联免疫法^[17]等。由于高效液相色谱灵敏度低,气相色谱、气相色谱-质谱联用法需经衍生化后方能检测,操作繁琐,酶联免疫法准确度低等缺点均无法满足要求,本研究根据实验室具体条件,在碱性环境下使以有机盐形式存在的代谢物以有机分子形式游离出来,并以毒性较小溶解性较好的乙酸乙酯作为提取溶剂,经正己烷脱脂净化,前处理操作简便快捷。采用具有高灵敏度的超高效液相色谱-串联质谱法对氟苯尼考及氟苯尼考胺进行残留检测,同时考虑到基质效应对准确度的影响,因此,采用内标法校正,不但使低残留能被检测到,同时准确度也大大提高,保证了所得残留数据的可靠性。

3.2 检测结果 如表 3、图 5、图 6 所示,在停药后第 0 天(6 h),鸡肉、肾脏、油脂中的氟苯尼考胺残留量达到最大值,鸡肉中为 $(203.5 \pm 40.52) \mu\text{g}/\text{kg}$,鸡肾中为 $(993.5 \pm 190.07) \mu\text{g}/\text{kg}$,鸡油脂中为 $(104.15 \pm 14.85) \mu\text{g}/\text{kg}$ 。鸡肝中氟苯尼考胺在停药后第 1 天达到最大值,为 $(139.18 \pm 29.13) \mu\text{g}/\text{kg}$ 。鸡肉、肾脏、油脂中的氟苯尼考胺残留量在停药后均呈下降趋势。停药后第 1 天各组织中氟苯尼考胺残留量均低于农业部公布的 MRL。停药第 5 天时肌肉中检测不到氟苯尼考胺。可见,在停药后第 0 天及第 1 天时,肝脏及肾脏中的氟苯尼考胺残留量明显较高,说明氟苯尼考主要经肝、肾代谢及排泄,在停药后第 1 天时,肉、肾、油脂中氟苯尼考胺在鸡各组织中均低于 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$,可见其代谢迅速,以上两点与丁飞^[18]及卢运战^[19]报道结果一致。

3.3 休药期 有文献报道^[20],氟苯尼考残留休药期计算以氟苯尼考及氟苯尼考胺残留量之和为依据,以及给药疗程单剂量 $20 \text{ mg}/\text{kg}$ (以氟苯尼考

计)连续给药 3 d 的情况。本研究按照《中国兽药典(2015 年版)》兽药制剂品种说明书范本中有关氟苯尼考注射液的给药规定,以及农业部 235 公告规定的氟苯尼考残留标识物为氟苯尼考胺的规定^[7],故本研究给药量为每次 $20 \text{ mg}/\text{kg}$ (以氟苯尼考计),隔 48 h 用药 1 次,连用 2 次,在计算氟苯尼考休药期时以氟苯尼考胺的残留量为依据。

丁飞^[18]以氟苯尼考磺酸盐注射液按照 $20 \text{ mg}/\text{kg}$ 对鸡进行肌内注射,每天 1 次,连续给药 3 d,给出推荐休药期为 5 d。与本实验的以氟苯尼考注射液为研究对象,给药剂量 $20 \text{ mg}/\text{kg}$,肌内注射,每隔 48 h 给药 1 次,连用 2 次所计算出的休药期略有差异,考虑主要是由于给药剂量、剂型不同等原因造成。

按照 $20 \text{ mg}/\text{kg}$ (按氟苯尼考计),肌内注射,每隔 48 h 给药 1 次,连用 2 次,建议休药期为 4 d,但考虑到鸡各组织内同时存在氟苯尼考及氟苯尼考胺以及其他有害代谢产物,例如氟苯尼考醇和一些未知代谢物形式^[21],给动物性产品的质量安全带来风险。因此,实际休药期应高于 4 d。

参考文献:

- [1] 潘红艳,宫智勇. 氟苯尼考的研究进展及临床应用[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(2): 229-232.
Pan H Y, Gong Z Y. Advance in the Research and Clinical Application of Florfenicol[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2011, 50(2): 229-232.
- [2] 陈杖榴,邱银生,曾振灵. 国内外兽药研制开发与市场动态[J]. 中国兽药杂志, 2002, 36(3): 42-46.
Chen L Z, Qiu Y S, Zeng Z L. Veterinary drugs research and development and market dynamics at home and abroad[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2002, 36(3): 42-46.
- [3] 徐力文,廖昌容,刘广锋. 氟苯尼考用于水产养殖的安全性[J]. 中国水产科学, 2005, 12(4): 512-518.
Xu L W, Liao C R, Liu G F. Safety of florfenicol for aquaculture[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2005, 12(4): 512-518.
- [4] Fitzpatrick S C, Amost V, Gerard L, et al. Dietary Intake Estimates as a Means to the Harmonization of Maximum Residue Levels for Veterinary Drugs. Proposed Application to the Free Trade Agreement between the United States and Canada[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 1996, 24(2): 177-183.

- [5] 刘永涛,艾晓辉,李荣,等. 鱼组织中氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺的检测[J]. 分析实验室, 2008, 27(3): 34-37.
- Liu Y T, Ai X H, Li R, *et al.* Detection of florfenicol and its metabolite florfenicol amine in fish tissues[J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2008, 27(3): 34-37.
- [6] 陈蔷,宋志超,张崇威,等. 动物源食品中酰胺醇类药物及其代谢物残留检测超高效液相色谱-串联质谱法研究[J]. 中国兽药杂志, 2015, 49(8): 28-34.
- Chen Q, Song Z C, Zhang C W, *et al.* Determination of Amphenicols and Metabolite Residues in Animal Derived Food by UPLC-MS/MS[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2015, 49(8): 28-34.
- [7] 中华人民共和国农业部公告第 235 号. 动物性食品中兽药最高残留限量[S].
- No. 235th Announcement of the Ministry of Agriculture of the PRC.: Maximum limits of veterinary drugs residue in animal derived foods[S].
- [8] Nagata T, Saeki M. Simultaneous determination of thiamphenicol and chloramphenicol residues in muscles of animals and cultured fish by liquid chromatography[J]. J Lip Chromatogr, 1992, 15(2): 2045-2056.
- [9] Kemkens H, Beek W, Aerts M. High-performance liquid chromatographic screening and confirmation methods for chloramphenicol residues in meat with off-line cartridge sample clean-up and on-line diode array UV-VIS detection[J]. Journal of Chromatography, 1986, 352(6): 445-453.
- [10] 杨方,陈国南. 高效液相色谱法同时检测水产品中氯霉素、甲砒霉素与氟甲砒霉素残留[J]. 福建分析测试, 2005, 14(1): 2112-2113.
- Yang F, Chen G N. Simultaneous determination of Chloramphenicols residues in fisheries products by UPLC[J]. Fujian Analysis & Testing, 2005, 14(1): 2112-2113.
- [11] Zhang S X, Sun F Y, Li J C, *et al.* Simultaneous determination of florfenicol and florfenicol amine in fish, shrimp, and swine muscle by gas chromatography with a microcell electron capture detector[J]. J AOAC International, 2006, 89(5): 1437-1441.
- [12] Ding S Y, Shen J Z, Zhang S X, *et al.* Determination of chloramphenicol residue in fish and shrimp tissues by gas chromatography with a microcell electron capture detector[J]. J AOAC International, 2005, 88(1): 57-60.
- [13] Nagata T, Oka H. Detection of residual chloramphenicol, florfenicol and thiamphenicol in elow tail fish muscles by capillary gas chromatography-mass spectrometry[J]. J Agric Food Chem, 1996, 44: 1280-1284.
- [14] 李鹏,邱月明,蔡慧霞,等. 气相色谱-质谱联用法测定动物组织中氯霉素、氟甲砒霉素和甲砒霉素的残留量[J]. 色谱, 2006, 24(1): 14-18.
- Li P, Qiu Y M, Cai H X, *et al.* Simultaneous Determination of Chloramphenicol, Thiamphenicol, and Florfenicol Residues in Animal Tissues by Gas Chromatography/Mass Spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2006, 24(1): 14-18.
- [15] 彭涛,李淑娟,储晓刚,等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定虾中氯霉素、甲砒霉素和氟甲砒霉素残留量[J]. 分析化学, 2006, 33(4): 463-466.
- Peng T, Li S J, Chu X G, *et al.* Simultaneous Determination of Residues of Chloramphenicol, Thiamphenicol and Florfenicol in Shrimp by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2006, 33(4): 463-466.
- [16] 殷平,陈舜胜,邓小军,等. 液质联用检测水产品中氯霉素、氟苯尼考和甲砒霉素的残留量[J]. 现代食品科技, 2007, 23(10): 83-87.
- Yin P, Chen S S, Deng X J, *et al.* Determination of Chloramphenicol, Florfenicol and Thiamphenicol Residues in Aquatic Product by Lipid Chromatography-mass/mass Spectrometry[J]. Modern Food Science and Technology, 2007, 23(10): 83-87.
- [17] 刘智宏,黄耀凌,汪霞,等. 水产品中甲砒霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺酶联免疫多残留测定[J]. 中国兽药杂志, 2010, 44(12): 1-5.
- Liu Z H, Huang R L, Wang X, *et al.* Multi-residue Detection of Thiamphenicol, Florfenicol and Florfenicol-amine in Aquatic Product by ELISA[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2010, 44(12): 1-5.
- [18] 丁飞. 氟苯尼考磺酸盐在肉鸡体内的药动学和残留初步研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2009: 1-66.
- Ding F. preliminary studies on the pharmacokinetics and residues of florfenicol fulfonate in broiler chickens[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2009: 1-66.
- [19] 卢运战. 鸡组织中甲砒霉素和氟苯尼考残留的检测方法及消除规律[D]. 安徽: 安徽农业大学, 2007: 1-40.
- Lu Y Z. The Determination Method of Thiamphenicol and Florfenicol Residues and their Elimination in Chicken Tissues[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2007: 1-40.
- [20] 李建成. 氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺在猪和鸡组织中检测方法及其残留消除规律的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2007: 1-95.
- Li J C. Study on the detection method and residue elimination of florfenicol and its metabolite florfenicol amine in pig and chicken tissues[D]. Beijing: China Agricultural University, 2007: 1-95.

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.12.07

玉屏风多糖对小鼠肠黏膜免疫应答和免疫损伤的调控作用

邓桦, 杨鸿, 蒋焱平, 陈刚, 王少杰, 周兆海, 梁浩钊, 卢玉葵

(佛山科学技术学院生命科学与工程学院, 广东 佛山 528231)

[收稿日期] 2018-07-21 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2018) 12-0043-06 [中图分类号] S853.7

[摘要] 为研究玉屏风多糖对肠黏膜免疫应答和免疫损伤的调控作用,以黄芪多糖为对照药物,以正常小鼠和免疫抑制小鼠为动物模型,150 只 SPF 小鼠随机分为空白对照组、环磷酰胺免疫抑制对照组、玉屏风多糖治疗组、玉屏风多糖阳性对照组和黄芪多糖对照组,每组 30 只。多糖剂量为 200 mg/kg/d,连续灌服 7 d,环磷酰胺剂量为 80 mg/kg,隔日腹腔注射。检测 SIgA、IL-2、TGF- β 1 和 IL-6 以及小肠黏膜相关淋巴组织的变化。结果发现,玉屏风多糖和黄芪多糖均可显著提高小鼠 SIgA、IL-2、TGF- β 1 和 IL-6 水平($P<0.05$ 或 $P<0.01$),小鼠肠上皮细胞增生,杯状细胞增多,肠绒毛长度、宽度和隐窝深度均显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$),肠上皮细胞间淋巴细胞和黏膜固有层淋巴细胞数量明显增多($P<0.05$ 或 $P<0.01$),肠黏膜下集合淋巴结(PP结)体积增大,淋巴细胞增生。与黄芪多糖比较,玉屏风多糖对肠黏膜免疫应答的正向调节作用更为明显。对免疫抑制小鼠,玉屏风多糖可有效拮抗环磷酰胺诱导的 SIgA 降低($P<0.05$),并可通过调节 TGF- β 1($P<0.05$)和 IL-6($P<0.01$)水平,调控 Th1/Th2 漂移状态,缓解环磷酰胺所致的免疫损伤,对免疫抑制小鼠小肠黏膜相关淋巴组织也有明显的保护和恢复作用。结果表明,玉屏风多糖可从多方面调控小鼠肠黏膜的免疫应答,可有效增强肠黏膜免疫功能,缓解和改善免疫抑制小鼠肠黏膜免疫屏障的损伤。

[关键词] 玉屏风多糖;肠黏膜免疫;细胞因子;SIgA;黏膜相关淋巴组织

Regulatory Effects of Yupingfeng Polysaccharides on Intestinal Mucosal Immune Response and Immune Injury in Mice

DENG Hua, YANG Hong, JIANG Yan-ping, CHEN Gang, WANG Shao-jie,

ZHOU Zhao-hai, LIANG Hao-zhao, LU Yu-kui

(College of life science and engineering, Foshan University, Guangdong 528231, China)

基金项目: 广东省科技计划项目(2016A020210140)、广东省教育厅预防兽医学重点实验室项目(2014KTSPT037)

作者简介: 邓桦,教授,博士。研究方向:基础动物医学。E-mail: denghua@fosu.edu.cn

[21] 谢恺舟,张小杰,陈学森,等. 氟苯尼考及其代谢物氟苯尼酰胺在鸡肌肉中的残留消除规律[J]. 畜牧兽医学报, 2012, 43 (8): 1298-1305.

Xie K Z, Zhang X J, Chen X S, et al. Florfenicol and Its Metabolite

Florfenicol Amine Residue Depletion in Chicken Muscle [J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2012, 43 (8): 1298-1305.