

双氟沙星在人工感染嗜水气单胞菌的 异育银鲫体内的药代动力学

章海鑫^{①②} 曹海鹏^{①#} 阮记明^① 胡 鲲^① 杨先乐^{①*}

① 上海海洋大学 国家水生动物病原库 上海 201306; ② 江西省水产科学研究所 南昌 330039

摘要:为了阐明双氟沙星在健康与处于患病状态下的异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 体内的药代动力学特征差异,为双氟沙星的正确合理用药提供参考,本研究通过人工创伤感染的方式采用最佳浓度的嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 感染异育银鲫,在此基础上进一步以双氟沙星在健康异育银鲫体内的药代动力学特征为对照,采用反相高效液相色谱法测定双氟沙星在感染嗜水气单胞菌的异育银鲫体内的药代动力学特征。实验结果表明,以鱼体重的 20 mg/kg 口灌给药后,双氟沙星在人工感染嗜水气单胞菌的异育银鲫与健康异育银鲫体内的总药时曲线均符合一级吸收开放性二室模型,其药动学方程分别为 $C = 6.227e^{-0.109t} - 8.074e^{-2.752t} + 1.847e^{-0.006t}$ 和 $C = 110.295e^{-0.331t} + 1.533e^{-0.01t} - 111.828e^{-0.412t}$,但与双氟沙星在健康异育银鲫体内的药代动力学参数相比,双氟沙星在人工感染嗜水气单胞菌的异育银鲫体内的吸收、分布、消除速度减慢,其在人工感染嗜水气单胞菌的异育银鲫体内的分布半衰期、消除半衰期、吸收速率常数、曲线下面积分别增加了 4.25 h、36.17 h、2.34 /h 和 74.52 mg·h/L,达峰时间延长了 5.75 h,峰浓度降低了 61.16%,且未出现重吸收现象。本研究证实嗜水气单胞菌感染能够导致异育银鲫肾功能损伤,因而双氟沙星在人工感染嗜水气单胞菌的异育银鲫体内的吸收、分布、代谢和消除均会减慢。

关键词:双氟沙星;嗜水气单胞菌;异育银鲫;药代动力学

中图分类号:Q953 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2012)06-72-06

Pharmacokinetics of Difloxacin in the *Aeromonas hydrophila*-infected *Carassius auratus gibelio*

ZHANG Hai-Xin^{①②} CAO Hai-Peng^{①#} RUAN Ji-Ming^① HU Kun^① YANG Xian-Le^{①*}

① National Pathogen Collection Centre for Aquatic Animals, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;

② Jiangxi Fisheries Research Institute, Nanchang 330039, China

Abstract: In order to clarify the difference in the pharmacokinetic parameters of difloxacin in diseased and healthy *Carassius auratus gibelio* and to provide the scientific data for the rational use of difloxacin, *C. a. gibelio* was infected in wound with the optimal concentration of *Aeromonas hydrophila*. The pharmacokinetic parameters of difloxacin in the diseased *C. a. gibelio* were tested through an established reversed-phase high performance liquid chromatography method, and data were compared to those obtained from the healthy control *C. a. gibelio*.

基金项目 国家 863 计划项目 (No. 2011AA10A216), 公益性行业 (农业) 科技专项资金项目 (No. 201203085), 现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (No. CARS-46-12);

* 通讯作者, E-mail: xlyang@shou.edu.cn;

第一作者介绍 章海鑫, 男, 硕士研究生; 研究方向: 水产药理学; E-mail: zhang73860@126.com。

#同等贡献第一作者介绍 曹海鹏, 男, 讲师; 研究方向: 水产动物病害学; E-mail: hpcao@shou.edu.cn。

收稿日期: 2012-05-15, 修回日期: 2012-07-05

The results showed that the concentration-time curves of difloxacin orally administered at a dose of 20 mg/kg body weight in the diseased and healthy *C. a. gibelio* were both in accordance with the first order absorption and open two-compartment models. The pharmacokinetic equations were $C = 6.227e^{-0.109t} - 8.074e^{-2.752t} + 1.847e^{-0.006t}$ and $C = 110.295e^{-0.331t} + 1.533e^{-0.01t} - 111.828e^{-0.412t}$, respectively. However, compared to the pharmacokinetic parameters of difloxacin in the healthy *C. a. gibelio*, the difloxacin's absorption, distribution and elimination speeds in the diseased *C. a. gibelio* were reduced. The distribution half-life, elimination half-life, absorption rate constant, area under a curve of difloxacin in the diseased *C. a. gibelio* were increased by 4.25 h, 36.17 h, 2.34/h and 74.52 mg·h/L, respectively, and its time on the break point was extended 5.75 h, its peak of plasma concentration was decreased by 61.16% and its reabsorption disappeared. The present study confirmed that the liver and kidney functions of *C. a. gibelio* could be damaged by *A. hydrophila* infection, and the absorption, distribution and elimination of difloxacin in the diseased *C. a. gibelio* could be slowed.

Key words: Difloxacin; *Aeromonas hydrophila*; *Carassius auratus gibelio*; Pharmacokinetics

双氟沙星(difloxacin),为第三代氟喹诺酮类抗菌药物,以其良好的抗菌效果以及与其他抗菌药物无交叉耐药性等特点已被广泛用于水产养殖细菌性疾病的防治,而且其在蟹(*Eriocheir sinensis*)、鲫鱼(*Carassius auratus*)、异育银鲫(*C. auratus gibelio*)等养殖动物体内的代谢及其残留消除规律也不断得到阐明^[1-3],为双氟沙星的合理防病使用和水产品安全提供了理论参考。然而,双氟沙星的这些药代动力学特征往往针对健康养殖动物,无法反映其在病原菌感染、中毒等亚健康状态下养殖动物体内的吸收、分布规律,更难以作为患病养殖动物合理用药的科学依据^[4-5],而且从现有文献资料来看,双氟沙星在患病水产动物体内的药代动力学特征尚未报道。因此,开展双氟沙星在患病养殖动物体内的药代动力学研究对完善双氟沙星在水产养殖中的合理使用具有重要的意义。鉴此,本实验以本研究中常规剂量(按照鱼体重计算为 20 mg/kg^[6])的双氟沙星在健康异育银鲫体内的药代动力学特征为对照,开展了其在人工感染嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)的异育银鲫体内的药代动力学研究,旨在阐明双氟沙星在健康与处于患病状态下的异育银鲫体内的药代动力学特征差异的同时,为双氟沙星在异育银鲫养殖中的正确合理用药提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料 双氟沙星标准品,有效含量

≥99.9%,购于Sigma公司;双氟沙星原料药,有效含量为98%,购于浙江国邦药业有限公司;嗜水气单胞菌菌株W₁-L(*Aeromonas hydrophila* strain W₁-L),由本实验室分离自患败血症的异育银鲫^[7];异育银鲫,体重为(40±5)g,健康无伤病,共300尾,由上海市水产养殖工程技术研究中心提供,于实验室暂养1个月。HPLC级的乙腈、四丁基溴化铵。分析纯的二氯甲烷、正己烷、柠檬酸、柠檬酸三钠、氯化钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、高氯酸,均购于国药集团(上海)化学有限公司;Agilent-1100型高效液相色谱仪(配荧光检测器),购于杭州红日仪器设备有限公司;SB-200全自动生化分析仪,购于上海迈瑞医疗器械有限公司。

1.2 嗜水气单胞菌菌液的制备 无菌条件下将嗜水气单胞菌菌株W₁-L接种于无菌营养肉汤中,于200 r/min、30℃摇床振荡培养18~24 h后,于4℃、8 000 r/min条件下离心20 min取菌沉淀,用无菌生理盐水洗涤菌沉淀3次后制成浓度为10¹³ colony forming unit (CFU)/L的菌悬液。

1.3 嗜水气单胞菌人工感染浓度的筛选 参照于兰萍等^[8]的方法用10⁹~10¹² CFU/L嗜水气单胞菌菌液浸浴感染健康异育银鲫,即将实验鱼的背部刮伤后放入含不同浓度嗜水气单胞菌的水中浸浴,同时以不加嗜水气单胞菌的健康异育银鲫作为对照,每个浓度各

放鱼 10 尾,水温为 25℃,各设 3 个平行。连续 9 d 观察各浓度组鱼体的发病及死亡情况,参照李圆圆等^[9]的方法对死亡异育银鲫进行病原菌的分离与鉴定,并在实验结束后参照秦方锦等^[10]的方法分离未发生鱼死亡的浓度组个体的血清,测定未发生鱼死亡浓度组个体的血清总蛋白(total serum protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、谷丙转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、 γ -谷氨酰转移酶(γ -glutamyltransferase, γ -GT)、肌酐(creatinine, CREA)、尿素氮(urea nitrogen, UREA)这些生化指标的变化。选取实验期间引起异育银鲫发病但未致其死亡的嗜水气单胞菌浓度作为最佳人工感染浓度。

1.4 双氟沙星在人工感染嗜水气单胞菌的异育银鲫体内的药代动力学参数的测定

1.4.1 给药与血样采集 选用最佳人工感染浓度的嗜水气单胞菌进行浸浴感染异育银鲫后立即以鱼体重的 20 mg/kg 剂量口灌双氟沙星,同时以口灌等量双氟沙星的健康异育银鲫作为对照。分别于给药后 0.017、0.25、0.5、1、3、6、12、24、48、72、96、120、168 和 216 h 各取实验鱼 5 尾,进行尾静脉采血(0.5 ml/尾),并将血样加入等体积酸性枸橼酸盐葡萄糖(acid citrate dextrose, ACD)抗凝($n=5$),于 4℃ 3 000 r/min 离心 10 min,取血浆置于 -70℃ 冰箱保存。

1.4.2 标准曲线的建立及药物含量的 HPLC 测定 分别取 1 ml 不含药物的异育银鲫血浆,加入不同量的双氟沙星标准母液(100.0 mg/L)配成浓度为 0、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、5.0、10.0、20.0 和 40.0 mg/L 含药血浆工作液,然后如下方法对含药血浆工作液进行处理,即取 1 ml 含药血浆工作液加入酸化乙腈(乙腈:盐酸:水=250:1:1)5 ml,漩涡混合 10 min,4℃ 条件下 8 000 r/min 离心 10 min,取上清液,45℃ 恒温氮气条件下吹干,加 1 ml 流动相溶解,经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤后参照阮记明等^[3]的方法进行高效液相色谱(high

performance liquid chromatography, HPLC)测定。以双氟沙星的峰面积(A_i)为纵坐标,质量浓度(C)为横坐标绘制标准曲线。另取不同量的双氟沙星标准母液添加到不含药物的异育银鲫血浆中至浓度为 2.0、8.0、15.0 mg/L 的含药血浆工作液,每个浓度做 3 个平行,每一个平行设一个空白对照,测定回收率、日内及日间精密密度。

1.4.3 药代动力学参数的测定 血浆样品按 1.4.2 方法进行处理测定血浆药时数据,使用 DAS 3.0 软件进行动力学房室模型拟合及药代动力学参数计算。

1.5 数据处理方法 所有数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 嗜水气单胞菌人工感染浓度的确定 实验结果表明,10¹⁰ ~ 10¹² CFU/L 嗜水气单胞菌引起 20% ~ 90% 异育银鲫死亡(表 1),死亡鱼体出现典型的败血症症状:体表出血,眼球突出,腹部膨大,腹鳍和胸鳍充血,解剖后发现肝充血、出血,腹膜及鳃出血,肠壁发红,而且从死亡鱼体中又分离到了与嗜水气单胞菌菌株 W₁-L 形态及生理生化特性相同的菌株。此外,10⁹ CFU/L 嗜水气单胞菌虽未引起异育银鲫死亡,但引起异育银鲫血清总蛋白、白蛋白、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、 γ -谷氨酰转移酶、肌酐、尿素氮这些生化指标发生明显升高($P < 0.05$)(表 2),导致了异育银鲫肝肾功能严重损伤。因此,选择 10⁹ CFU/L 作为嗜水气单胞菌人工感染异育银鲫的最佳浓度。

2.2 双氟沙星标准曲线及回收率 实验结果表明,双氟沙星在色谱条件下能够较好地分离,基线平稳,特异性强,重现性好,在血浆中的保留时间为 10.147 ~ 10.523 min(图 1),峰面积(y)与血浆中双氟沙星浓度(x)关系的标准曲线为: $y = 16.501x - 1.8915$, $R^2 = 0.9993$ (图 2),最低检出限为 0.01 mg/L,绝对回收率均大于 92.5%;日内精密密度均小于 0.99%,日间精密密度均小于 0.84%。

表 1 嗜水气单胞菌人工感染异育银鲫的结果

Table 1 The infection result of *Aeromonas hydrophila* in *Carassius auratus gibelio*

组别 Group	菌含量 Dose (CFU/L)	鱼尾数 Fish number	死亡率 Mortality (%)					累计死亡率 Total mortality (%)
			1 d	3 d	5 d	7 d	9 d	
1	1×10^9	10	0	0	0	0	0	0
2	1×10^{10}	10	0	10	10	10	20	20
3	1×10^{11}	10	10	20	30	40	40	40
4	1×10^{12}	10	20	40	70	80	90	90
5	0	10	0	0	0	0	0	0

表 2 10^9 CFU/L 嗜水气单胞菌感染的异育银鲫的血液生化指标Table 2 The blood biochemical parameters in *Carassius auratus gibelio* infected with 10^9 CFU/L *Aeromonas hydrophila* ($n = 5$)

血液生化指标 Blood biochemical parameters							
组别 Group	总蛋白 Total serum protein (g/L)	白蛋白 Albumin (g/L)	谷丙转氨酶 Alanine aminotransferase (U/L)	谷草转氨酶 Aspartate aminotransferase (U/L)	γ -谷氨酰转氨酶 γ -glutamylt ransferase (U/L)	肌酐 Creatinine (μ mol/L)	尿素氮 Urea nitrogen (mmol/L)
感染组 Infection	$59.34 \pm 0.51^*$	$12.36 \pm 0.18^*$	$1285.20 \pm 17.73^*$	$28.98 \pm 0.56^*$	$33.36 \pm 0.56^*$	$34.8 \pm 0.94^*$	$2.23 \pm 0.06^*$
对照组 Control	44.76 ± 0.23	14.04 ± 0.31	794.10 ± 9.21	16.35 ± 0.46	20.25 ± 0.82	20.08 ± 0.21	1.90 ± 0.03

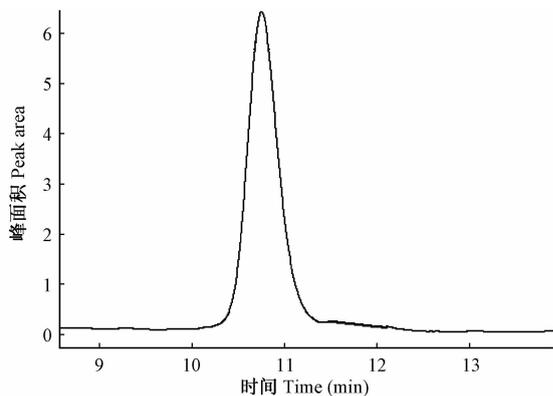
* 表示表中同列数值比较差异显著 ($P < 0.05$)。* means significant difference by comparison between the values in the same column of the table ($P < 0.05$).

图 1 双氟沙星添加到血浆后的高效液相色谱图

Fig.1 HPLC chromatograms of difloxacin in plasma

2.3 双氟沙星在嗜水气单胞菌感染的异育银

鲫体内的药代动力学参数 实验结果表明,双氟沙星在人工感染嗜水气单胞菌的异育银鲫与健康异育银鲫体内的总药时曲线均符合一级吸收开放性二室模型,其药动学方程分别为 $C = 6.227e^{-0.109t} - 8.074e^{-2.752t} + 1.847e^{-0.006t}$ 和 $C = 110.295e^{-0.331t} + 1.533e^{-0.01t} - 111.828e^{-0.412t}$ (图

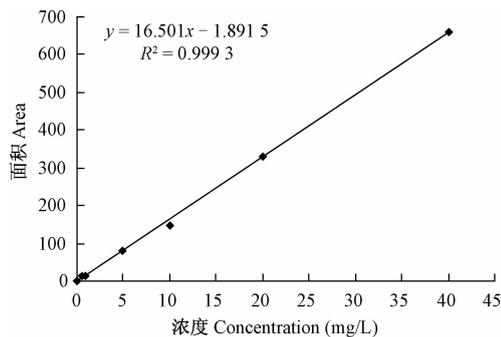


图 2 峰面积与血浆中双氟沙星浓度关系的标准曲线

Fig.2 The relationship between peak area and difloxacin concentration in the plasma

3)。与双氟沙星在健康异育银鲫体内的药代动力学参数相比,双氟沙星在人工感染嗜水气单胞菌的异育银鲫体内的分布半衰期 ($T_{1/2\alpha}$)、消除半衰期 ($T_{1/2\beta}$)、吸收速率常数 (K_a)、曲线下面积 (area under the curve, AUC) 分别增加了 4.25 h、36.17 h、2.34/h 和 74.52 mg·h/L,达峰时间延长了 5.75 h,峰浓度降低了 61.16% (表

3), 未出现重吸收现象。说明双氟沙星在人工感染嗜水气单胞菌的异育银鲫体内的吸收、分布、消除速度减慢。

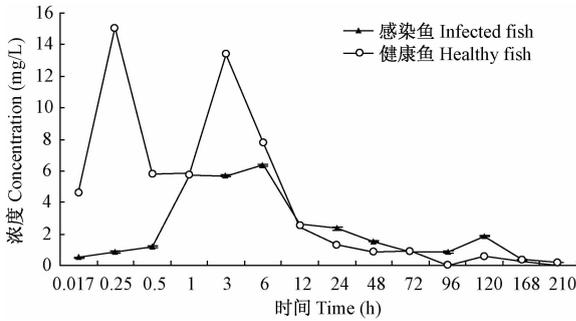


图3 感染嗜水气单胞菌的异育银鲫与健康异育银鲫血浆中双氟沙星的药时曲线

Fig. 3 The concentration-time curve of difloxacin in the *Aeromonas hydrophila*-infected and healthy *Carassius auratus gibelio* ($n = 5$)

3 讨论

血清总蛋白、白蛋白、以及谷丙转氨酶、谷草转氨酶、 γ -谷氨酰转移酶、肌酐、尿素氮等含量是否恒定是衡量机体健康与否的重要指标。例如, 当肝功能受损时, 体内血清白蛋白的含量会下降; 当鱼体渗透压改变造成血液失水时, 血清总蛋白以及谷丙转氨酶、谷草转氨酶、 γ -谷氨酰转

移酶等酶活性会升高; 肾单位滤过、重吸收功能失调等肾功能发生障碍会导致肌酐、尿素氮滞留于血液中^[11-14]。本实验发现, 嗜水气单胞菌人工感染异育银鲫后, 异育银鲫肝肾发生损伤, 血清总蛋白、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、 γ -谷氨酰转移酶、肌酐、尿素氮含量均显著增加, 血清白蛋白含量显著降低, 这与郭松林等^[15]关于患气单胞菌病的鱼体出现肝肾病变的研究结论相同。

本实验发现, 双氟沙星在健康异育银鲫体内的吸收较好, 血药浓度较高, 但消除较慢, 这些结果与阮记明等^[3]的研究结论基本相同。此外, 双氟沙星在人工感染嗜水气单胞菌的异育银鲫体内的吸收、分布、代谢与消除速率均减慢, 这与刘彦等^[16]、Uno^[17]、姜建石等^[18]的观点相同, 可能是因为嗜水气单胞菌人工感染异育银鲫后, 分别作为药物代谢与排泄重要器官的肝、肾^[15]生理功能受损, 从而导致肝代功能以及肾小球的滤过与重吸收功能失调, 使血液中过多的含氮物质在体内积蓄, 使药物吸收与消除速率减慢^[18]。然而, 本实验结果与高绘菊等^[19]报道的细菌感染动物致使药物曲线下面积(AUC)和表观分布容积(apparent volume of distribution, V_d/F)下降的结果不同, 与李明堂等^[20]认为的感染条件下与健康条件下药物曲线下面积(AUC)与表观分布容积(V_d/F)不

表3 感染嗜水气单胞菌的异育银鲫与健康异育银鲫在单次口服灌鱼体重计量 20 mg/kg 的双氟沙星后的药代动力学参数

Table 3 The pharmacokinetic parameters of difloxacin in *Aeromonas hydrophila*-infected and healthy *Carassius auratus gibelio*

参数 Parameter	单位 Unit	组别 Group	
		感染组 Infected fish	健康组 Healthy fish
吸收半衰期 Absorption half-life $T_{1/2K_a}$	h	0.25	1.68
分布半衰期 Distribution half-life $T_{1/2\alpha}$	h	6.34	2.09
消除半衰期 Elimination half-life $T_{1/2\beta}$	h	107.92	71.75
表观分布 Volume of distribution Vd	l/kg	2.65	0.87
体内清除 Body clearance CL	l/(h · kg)	0.07	0.09
吸收速率常数 Absorption rate constant K_a	1/h	2.75	0.41
消除速率常数 Elimination rate constant β	1/h	0.006	0.010
达峰时间 Peak time T_{max}	h	6.00	0.25
达峰浓度 Peak concerting maximum C_{max}	mg/L	6.39	15.06
药时曲线下面积 Area under the concentration-time curve AUC	mg · h/L	303.65	229.13

发生变化的观点也不同,可能与药物本身的性质、受试动物种类以及实验条件不同有关。

C_{\max}/MIC_{90} 和 AUC_{0-24}/MIC_{90} 是评价渔药临床效果的基本指标, $C_{\max}/MIC_{90} > 10$ 或 $AUC_{0-24}/MIC_{90} > 120$ 表明渔药有效^[21-22]。本实验结果表明,双氟沙星在人工感染嗜水气单胞菌的异育银鲫体内的达峰浓度(C_{\max})是其在健康异育银鲫体内时的 0.42 倍,由此说明在控制嗜水气单胞菌引起的异育银鲫病害时,双氟沙星的治疗用量应至少是预防用量的 2.36 倍,以维持有效药物浓度水平而起到良好的疗效,这同时也为双氟沙星治疗其他养殖鱼类嗜水气单胞菌的用量提供了参考。

参 考 文 献

- [1] 李海迪, 杨先乐, 胡鲲, 等. 双氟沙星及其代谢产物在中华绒螯蟹体内药物代谢及残留消除规律. 动物学杂志, 2009, 44(2): 12-20.
- [2] Ding F K, Cao J Y, Ma L B, et al. Pharmacokinetics and tissue residues of difloxacin in crucian carp (*Carassius auratus*) after oral administration. *Aquaculture*, 2006, 256(1/4): 121-128.
- [3] 阮记明, 胡鲲, 章海鑫, 等. 两种水温条件下异育银鲫体内双氟沙星药代动力学比较. 上海海洋大学学报, 2011, 20(6): 858-865.
- [4] 刘开永, 李英伦, 胡廷秀. 二氟沙星的研究概况. 中国兽药杂志, 2004, 38(6): 27-31.
- [5] Plakas S M, El Said K R, Musser S M. Pharmacokinetics, tissue distribution, and metabolism of flumequine in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 2000, 187(1/2): 1-14.
- [6] 农业部新编渔药手册编辑委员会. 新编渔药手册. 北京: 中国农业出版社, 2005: 211-212.
- [7] 李怡, 曹海鹏, 杨先乐, 等. 异育银鲫气单胞菌病的初步研究. 渔业现代化, 2007, 34(1): 40-43.
- [8] 于兰萍, 王斌, 李艳, 等. 大菱鲂出血性败血症病原菌的分离与鉴定. 大连水产学院学报, 2008, 23(5): 335-340.
- [9] 李圆圆, 曹海鹏, 邓璐, 等. 西伯利亚鲟源嗜水气单胞菌致病菌的分离及其全菌苗的免疫效果. 动物学杂志, 2008, 43(6): 1-9.
- [10] 秦方锦. 氟苯尼考在健康和弧菌感染梭子蟹体内的药理学比较研究. 宁波: 宁波大学硕士学位论文, 2009.
- [11] 金珊, 王国良, 赵青松, 等. 鲈细菌性类结节病的病原及血液病理研究. 水产学报, 2004, 28(6): 703-708.
- [12] 郑伟文, 宋铁英, 刘利华, 等. 中华鳖暴发性传染病研究 III: 嗜水气单胞菌感染症的血液生化和细胞病理. 福建农业学报, 1999, 14(4): 47-52.
- [13] 曾振灵, 袁宗辉, 缪小群, 等. 药物代谢动力学猪链球菌病模型的研制. 畜牧兽医学报, 1994, 259(5): 430-435.
- [14] 周玉, 郭文场, 杨振国, 等. 欧洲鳊“狂游病”血液生化指标研究. 水生生物学报, 2002, 26(3): 314-316.
- [15] 郭松林, 关瑞章, 冯建军, 等. 嗜水气单胞菌感染对美洲鳊血液和生化指标的影响. 集美大学学报: 自然科学版, 2010, 14(2): 93-97.
- [16] 刘彦, 李健, 王群, 等. 达氟沙星在健康和鳊弧菌感染牙鲈体内的药物代谢动力学比较. 水产学报, 2006, 30(4): 509-514.
- [17] Uno K. Pharmacokinetic study of oxytetracycline in healthy and vibriosis-infected ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Aquaculture*, 1996, 143(1): 33-42.
- [18] 娄建石, 刘昌孝, 钟大放. 实用药物动力学. 北京: 中国医药科技出版社, 2003: 10-18.
- [19] 高绘菊, 苏振霞, 窦学娥, 等. 盐酸诺氟沙星在健康及细菌感染家蚕中的药代动力学研究. 蚕业科学, 2008, 34(2): 280-283.
- [20] 李明堂, 贾冬舒, 马红霞, 等. 恩诺沙星在健康兔和人工感染巴氏杆菌兔体内的药代动力学研究. 吉林农业大学学报, 1999, 21(4): 6-11.
- [21] Abo-El-Sooud K, Goudah A. Pharmacokinetics and intramuscular bioavailability of difloxacin in dromedary camels (*Camelus dromedarius*). *The Veterinary Journal*, 2009, 179(2): 282-286.
- [22] Ismail M, El-Kattan Y A. Comparative pharmacokinetics of marbofloxacin in healthy and *Mannheimia haemolytica* infected calves. *Research in Veterinary Science*, 2007, 82(3): 398-404.