

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2022.12.05

盐酸多西环素片在猪体内的残留消除规律研究

赵富华¹, 陆连寿¹, 刘自扬¹, 李萌¹, 李思奇¹, 郭桂芳¹, 吴琴尧^{2,3}, 曹玉颖^{2,3},
邱基程^{2,3}, 李淑媛^{2,3}, 张璐^{2,3}, 龚晓会^{2,3}, 郭燕荧^{2,3}, 张希墨^{2,3*}, 曹兴元^{2,3*}

(1 中国兽医药品监察所, 北京 100081; 2 中国农业大学动物医学院, 北京 100193; 3 国家兽药残留基准实验室, 北京 100193)

[收稿日期] 2022-10-17 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2022) 12-0037-07 [中图分类号] S859.79

[摘要] 研究盐酸多西环素片按说明书给药后在猪体内的残留消除规律并确定休药期。将多西环素片以 5 mg/kg 体重口服给药, 间隔 24 h, 连续给药 5 次。最后一次给药之后分别在第 0 日 (12 h)、1 日、3 日、6 日和 8 日时间点采集猪的肌肉、肝脏、肾脏和脂肪, 采用建立并验证的 HPLC-VWD 法测定猪不同组织中多西环素的含量。方法学考察结果表明, 在 0.05-5 μg/mL 添加范围内的线性方程和相关系数为 $Y = 0.044x - 0.414$, $R^2 = 0.999$ 。不同组织中的盐酸多西环素的平均回收率在 60.32%~116.80%。为保证兽药使用安全、食品安全与人民健康, 建议按照休药期计算结果确定盐酸多西环素片在猪体内的休药期为 7 日。

[关键词] 多西环素; 猪; 残留消除; 休药期

Residues Depletion Study of Doxycycline Hydrochloride Tablets in Pig

ZHAO Fu-hua¹, LU Lian-shou¹, Liu Zi-yang¹, LI Meng, LI Si-qi, GUO Gui-fang, WU Qin-Yao^{2,3},
CAO Yu-Ying^{2,3}, QIU Ji-cheng^{2,3}, LI Shu-yuan^{2,3}, ZHANG Lu^{2,3}, GONG Xiao-hui^{2,3},
GUO Yan-ying^{2,3}, ZHANG Xi-mo^{2,3*}, CAO Xing-yuan^{2,3*}

(1. China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China; 2. College of Veterinary Medicine China Agricultural University, Beijing 100093, China; 3. Reference Laboratory for the test of Veterinary Drug Residues, Beijing 100093, China)

Abstract: In this study, it was determined the residual elimination rule of doxycycline hydrochloride tablets in pigs after administration according to the instructions and the drug withdrawal period. Doxycycline hydrochloride tablets were administered orally at 5 mg/kg of body weight, at an interval of 24 hours, for 5 consecutive doses. After the last administration, fat, muscle, liver and kidney were collected at 12 h, 1 d, 3 d, 6 d and 8 d respectively, and the content of doxycycline hydrochloride tablets in tissues was determined by HPLC-VWD. The linear range of doxycycline hydrochloride tablets in pig fat, muscle, liver and kidney tissues is 0.05-5 μg/ml. The linear equation and correlation coefficient are $Y = 0.044x - 0.414$, $R^2 =$

基金项目: 动物源性细菌耐药性监测及兽药国家安全标准修订 (16190158)

作者简介: 赵富华, 副研究员, 从事兽药检验检测工作

通讯作者: 张希墨, E-mail: 1084959981@qq.com; 曹兴元, E-mail: cxy@cau.edu.cn

0.999. The average recovery rate of doxycycline hydrochloride in different tissues is 60.32% ~ 116.80%. To ensure food safety and people's health, it was suggested that the withdrawal time of doxycycline hydrochloride tablets in pig tissues should be no less than 7 days according to the calculation results.

Key words: doxycycline; pigs; residue depletion; withdrawal time;

多西环素为第二代半合成的四环素衍生物,为广谱、高效抗生素,对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、螺旋体、立克次体、支原体、衣原体等均有抑制作用^[1]。盐酸多西环素的组织穿透力强、体内分布广和生物利用度高^[2],与同类产品比较,它有价格便宜,胃肠道副作用小,静脉给药不会造成静脉炎等优点,已被广泛用于兽医临床。农业农村部、国家卫生健康委员会和国家市场监督管理总局联合发布的《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》(GB 31650-2019),多西环素在猪组织中的最高残留限量(MRL):肌肉 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肝 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、肾 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、皮+脂肪 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[3]。同时,农业部《兽药停药期规定》规定了盐酸多西环素片的休药期为 28 日,但未明确动物的类型^[4]。本试验的主要目的在于研究口服给予盐酸多西环素片后,多西环素在猪组织中的残留消除规律,并计算出休药期,为盐酸多西环素片在临床应用提供科学的依据,保障动物性食品安全和人民健康。

1 材料与方法

1.1 试剂与药物 盐酸多西环素片:10 mg/片,批准文号为兽药字 030462604,河北远征禾木药业有限公司提供。多西环素对照品:含量 $\geq 98.7\%$,批号为 20104,购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;Oasis HLB 固相萃取柱(HLB 柱):500 mg/6 mL, Waters 公司;超纯水:由 Milli-Q 超纯水仪制取;乙腈、甲醇色谱纯;三氟乙酸、二氯甲烷、乙二胺四乙酸二钠、枸橼酸、磷酸氢二钠、草酸、硫酸、钨酸钠,均为分析纯。

1.2 仪器设备 高效液相色谱仪:Agilent 1260 高效液相色谱串联紫外检测器;分析天平,R200D,德国 Sartorius 公司;天平,MP2002,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;研磨杯,SQ2119 N,上海帅佳电子科

技公司;高速冷冻离心机,Centrifuge 5804R,德国 Eppendorf 公司;多管涡旋混合器,VX-III,北京踏锦科技有限公司;固相萃取装置:Waters 200606,美国 Waters 公司;氮吹仪,N-EVAP-112,美国 Organomation Associate 公司;无油真空泵,F-50,天津市科亿隆实验设备有限公司。

1.3 试验动物 三元杂交健康猪 30 头,去势雄性猪,3-4 月龄,体重约 50 kg,由莱西市某猪养殖场提供。其中对照组 5 头,给药组 25 头。

1.4 给药方案 用 EXCEL 随机数字表法对 30 头猪进行随机分组,分为 6 组,每组 5 头,其中 1 组为不用药的空白对照组,另外 5 组猪以口服方式给药,每头猪给药剂量为 0.5 片/kg。

1.5 标准溶液的制备 标准储备液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$):准确称取适量的多西环素,用甲醇溶解后转移至 100 mL 容量瓶,再用甲醇定容。标准工作溶液:根据需要用流动相将多西环素标准储备液稀释成浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准工作溶液。

1.6 组织采集 最后一次给药后分别在 12 h、1 d、3 d、6 d 和 8 d,随机抽取 5 头猪进行屠宰,快速取其肌肉、脂肪、肝脏和肾脏等组织(每种组织样品均 250 g),用滤纸吸取脏器表面血液。所取样本做好标记、包装,于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。未用药猪在 12 h 后屠宰,采用上述方法采集相同组织作为空白对照。

1.7 样品前处理

1.7.1 提取 脂肪:称取均质试料 1 ± 0.01 g 于 10 mL 离心管中,加 ACN: H_2O = 1:9 的溶液 2 mL,涡旋混匀 1 min,40 $^{\circ}\text{C}$ 超声 5 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 下 12000 rpm 高速离心 10 min,取上清液于另一离心管。将残渣重复上述步骤重复提取一次,合并两次上清液,-80 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻除脂 5 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 下 12000 rpm 离心 5 min,取上清液,直接过滤膜,上机检测。

肌肉、肝脏:称取均质试料 5 ± 0.05 g 于 50 mL 离心管中,加 EDTA · 2 Na – Mcllvaine 缓冲溶液 20 mL,涡旋 1 min,振荡 10 min,加 0.34 mol/L 硫酸溶液 5 mL、7% 钨酸钠溶液 5 mL,涡旋 1 min,4 ℃ 下 8500 rpm 离心 5 min,取上清液。残渣用 EDTA · 2 Na – Mcllvaine 缓冲溶液 20 mL、10 mL 重复提取,合并三次上清液,中性滤纸过滤后,备用。

肾脏:称取均质试料 2 ± 0.02 g,于 50 mL 离心管中,加 EDTA · 2 Na – Mcllvaine 缓冲溶液 10 mL,涡旋 1 min,振荡 10 min,加 0.34 mol/L 硫酸溶液 2 mL、7% 钨酸钠溶液 2 mL,涡旋 1 min,4 ℃ 下 8500 rpm 离心 5 min,取上清液。残渣用 EDTA · 2 Na – Mcllvaine 缓冲溶液 10 mL、10 mL 重复提取,合并三次上清液,中性滤纸过滤后,备用。

1.7.2 净化 HLB 柱依次用甲醇 5 mL、水 5 mL 和 EDTA · 2 Na – Mcllvaine 缓冲溶液 5 mL 活化,取备用液过柱,待备用液全部流出后,依次用水、5% 甲醇溶液各 10 mL 淋洗,抽干 30 s,用甲醇 5 mL 洗脱,收集洗脱液于刻度试管中,于 40 ℃ 水浴氮气吹至 0.5 ~ 1.0 mL,用 0.01 mol/L 草酸溶液定容至 2.0 mL,过滤,供高效液相色谱测定。

1.8 色谱条件 色谱柱:C18 (150 mm × 4.6 mm, 粒径 5 μm);流动相:A:0.01 mol/L 三氟乙酸溶液, B:乙腈;梯度洗脱;流速:1.0 mL/min;柱温:30 ℃;检测波长:350 nm;进样量:50 μL。见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱条件

Tab 1 Gradient elution program				
时间 (min)	流速 (mL/min)	A (%)	B (%)	Curve
0	1.0	90	10	6
5	1.0	80	20	6
15	1.0	65	35	6
16	1.0	90	10	6
17	1.0	90	10	1

2 结果与分析

2.1 方法学验证

2.1.1 线性与范围 精密量取浓度为 0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、5 μg/mL 的标准液各 50 μL,供高效液相色谱测定。以测得峰面积为纵坐标,对应的标准溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线。其线性方程为 $Y = 0.044x - 0.414$, $R^2 = 0.999$,多西环素在 50 μg/mL ~ 5000 μg/mL 范围内线性关系良好。

2.1.2 检测线与定量限 取 6 个空白组织样品,按照上述样品前处理的方法处理,测得基线噪音值,按照信噪比 (S/N) = 3 为检测限 (LOD), S/N = 10 为定量限 (LOQ)。本方法在猪的肌肉组织中检测限为 20 μg/kg,定量限为 50 μg/kg;在猪的肝脏组织、肾脏组织、皮 + 脂肪的检测限为 50 μg/kg,定量限为 100 μg/kg。

2.1.3 准确度与精密度 在空白组织中添加多西环素标准工作溶液,使肌肉组织中的浓度为 50 μg/kg,100 μg/kg,200 μg/kg 时,肾脏组织中的多西环素浓度为 100 μg/kg,600 μg/kg,1200 μg/kg 时,肝脏组织和脂肪组织中浓度为 100 μg/kg,300 μg/kg,600 μg/kg 时,平均回收率在 60.32% ~ 116.80% 之间,批内、批间变异系数均小于 15%,表明该方法符合组织中药物分析的准确度和精密度要求,见表 2。盐酸多西环素标准溶液在 1.8 色谱条件下,待测药物盐酸多西环素在图谱中能够呈现较好的峰形,并与其他杂质峰达到良好的分离效果,详见图 1。

2.2 药物残留的测定 每个采样时间的每个组织的多西环素残留量如表 3 所示。

2.3 休药期计算 使用 WT 1.4 软件按 95% 置信区间计算盐酸多西环素在猪肌肉、肝脏和肾脏组织中的休药期分别为 2.4 日、6.5 日、3.5 日,见图 2 – 图 4。

表 2 多西环素在猪肌肉和肾脏中的回收率及变异系数

Tab 2 Recovery and coefficient of variation of doxycycline in pig muscle and kidney									
组织	添加 浓度(μg/kg)	回收率(%)					平均回 收率(%)	批内变 异系数 (n=5,%)	批间变 异系数 (n=15,%)
肌肉	50	78.07	88.61	79.22	81.08	83.21	82.04	5.07	6.55
		76.93	74.93	74.98	75.34	73.6	75.16	1.59	
		67.83	74.13	77.21	70.65	75.14	72.99	5.12	
		69.11	83.43	85.57	76.05	84.56	79.74	8.81	
	100	90.61	72.43	68.91	88.98	74.82	79.15	12.58	8.84
		73.25	78.63	74.99	73.95	76.22	75.41	2.81	
		86.86	76.59	85.38	82.65	79.74	82.24	5.07	
		68.83	86.65	86.62	67.13	88.88	79.62	13.42	
	200	75.56	80.36	75.09	79.25	75.5	77.15	3.19	8.32
		99.37	77.88	82.03	88.76	79.23	85.46	10.34	
		77.05	75.40	76.46	73.10	76.21	75.64	2.04	
		67.07	73.51	76.32	70.50	76.23	72.73	5.44	
肾脏	100	78.11	95.15	66.60	86.33	79.99	81.24	12.98	10.67
		72.64	74.45	83.56	72.52	79.13	76.46	6.26	
		92.54	84.77	89.36	88.25	86.57	88.30	3.33	
		81.62	71.87	77.02	79.92	74.50	76.98	5.13	
	600	79.57	82.29	83.87	80.30	83.03	81.81	2.23	6.42
		87.59	84.03	91.17	87.66	88.13	87.72	2.89	
		69.13	67.07	67.39	63.61	67.73	66.99	2.04	
		63.64	61.48	62.94	63.64	68.14	63.97	2.49	
	1200	65.14	76.85	72.93	62.93	75.76	70.72	6.32	8.70
		68.25	65.45	82.89	60.42	60.97	67.60	9.14	
		83.64	80.82	77.72	74.23	68.25	76.93	5.99	
		81.35	77.36	84.14	78.43	80.22	80.30	2.65	
肝脏	300	60.87	64.41	80.40	65.03	60.39	66.22	8.19	11.83
		78.24	65.50	60.32	64.42	60.39	65.77	7.35	
		90.37	82.19	86.02	78.78	80.63	83.60	4.63	
		96.43	103.43	105.75	93.71	94.48	98.76	5.47	
	600	92.83	100.47	105.70	104.06	101.17	100.85	4.96	14.89
		102.87	109.25	102.55	89.31	97.85	100.37	7.39	
		97.43	79.38	97.50	99.22	79.59	90.62	10.19	
		97.31	92.92	100.81	102.45	105.38	99.77	4.81	
	100	116.80	87.78	105.94	109.77	88.63	101.79	13.00	10.76
		72.12	92.62	84.51	84.20	79.12	82.51	7.56	
		84.20	87.17	83.95	89.45	91.64	87.28	3.33	
		81.18	102.45	92.72	92.86	86.78	91.20	7.93	

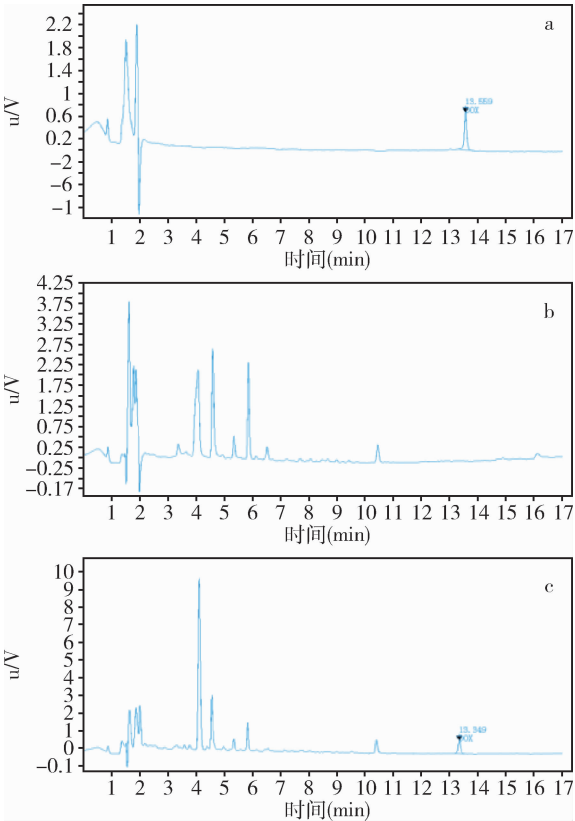


图 1 盐酸多西环素标准溶液色谱图 (100 ng/mL) (a)、空白肌肉组织色谱图 (b)、空白肌肉组织添加 100 ng/mL 色谱图 (c)

Fig 1 Chromatography of doxycycline hydrochloride standard solution (100 ng/mL) (a)、
Chromatography of blank muscle tissue (b)、Chromatography of blank muscle with 100 ng/mL (c)

表 3 猪组织样品中多西环素在各组织中的残留量

Tab 3 Residues of doxycycline in tissues

after administration						续表					
时间	动物号	肌肉	脂肪	肝脏	肾脏	时间	动物号	肌肉	脂肪	肝脏	肾脏
停药后 12 h	7	377.06	48.45	1600.07	1097.93	停药后 3 d	8	1.07	14.92	60.02	38.31
	3	329.38	107.07	1278.51	1074.61		10	3.05	14.43	206.16	28.96
	19	361.25	68.24	1632.89	1001.30		9	BLOQ	16.86	105.78	35.71
	25	369.11	56.74	1149.12	1111.43		22	BLOQ	26.75	92.63	12.43
	20	352.23	87.85	1536.92	1075.79		21	BLOQ	12.36	67.20	14.84
	14	152.02	41.98	252.83	574.30		平均值	0.76	17.06	106.36	26.05
	23	113.92	45.79	462.72	338.85		方差	1.96	31.88	3457.45	140.81
	平均值	293.57	65.16	1130.44	896.32	停药后 6 d	11	BLOQ	20.98	71.63	7.53
	方差	12381.89	590.57	312759.55	96067.70		2	BLOQ	24.06	70.16	8.28
停药后 1 d	17	137.31	43.58	582.17	426.67		15	BLOQ	19.23	71.91	10.28
	12	129.68	45.01	476.38	378.48		6	BLOQ	15.16	39.21	4.35
	4	139.60	43.74	522.45	442.65		18	BLOQ	8.41	59.40	BLOQ
	5	BLOQ	7.78	53.61	2.05		平均值	—	17.57	62.46	6.09
	1	12.17	21.67	200.54	74.11		方差	—	35.55	195.65	6.07
	平均值	83.75	32.36	367.03	264.79	停药后 8 d	24	BLOQ	11.60	44.39	0.20
	方差	3822.41	283.47	52087.26	44038.98		16	BLOQ	13.70	58.43	BLOQ
							13	BLOQ	9.83	48.54	BLOQ
							平均值	—	11.71	50.45	—
							方差	—	3.75	52.03	—

注: BLOQ 表示低于定量限
Note: BLOQ means below the limit of quantification

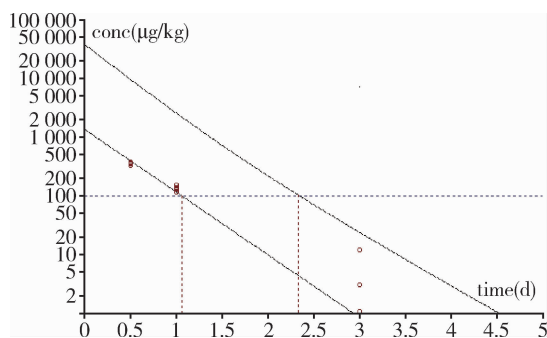


图 2 盐酸多西环素片在猪肌肉中休药期计算图

Fig 2 Calculation chart of drug withdrawal period of doxycycline hydrochloride tablets in pig muscle

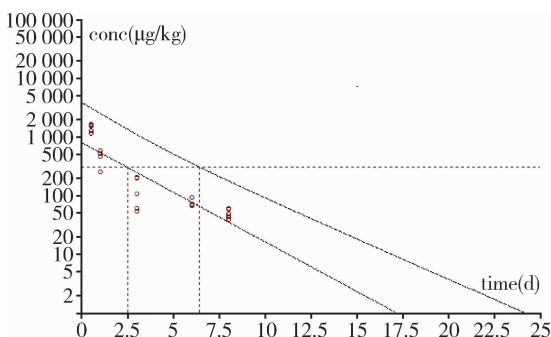


图 3 盐酸多西环素片在猪肝中休药期计算图

Fig 3 Calculation chart of drug withdrawal period of doxycycline hydrochloride tablets in pig liver

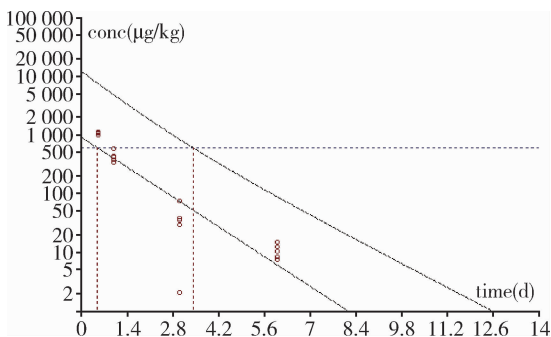


图 4 盐酸多西环素片在猪肾脏中休药期计算图

Fig 4 Calculation chart of drug withdrawal period of doxycycline hydrochloride tablets in pig kidney

3 讨论与结论

我国动物性食品生产量居世界前列,但质量与世界先进水平相比还存在差距,兽药残留超标是其中之一。因此在严格规范兽药使用原则的前提下,

还要加强动物性食品中兽药残留检测技术及方法的研究。目前,抗生素已被广泛用于预防或治疗牲畜传染病^[5],加大对抗生素及其代谢物检测研究力度,有助于积累其对环境持久性和生态毒性的科学证据^[6-7],为兽药使用安全、食品安全与人民健康提供保障。

目前,已有研究报道了盐酸多西环素在动物体内的残留消除规律,杨秋实^[8]以 10 mg/kg 体重剂量给猪颈部肌肉注射盐酸多西环素,隔天再次注射,发现组织中多西环素残留由高到低顺序为:肾脏>肝脏>肌肉>皮+脂肪;黄聚杰^[9]以 20 mg/kg 的剂量给花鲈口服盐酸多西环素,发现组织中多西环素残留由高到低顺序为:血浆>肾脏>肝脏>肌肉;翟克影^[10]等人给猪单次灌服 5 mg/kg 体重剂量连续给药 4 日,发现组织中多西环素残留由高到低顺序为:肾脏>肝脏>肌肉>皮+脂肪;王金花^[11]等人以 2.5 mg/kg 单剂量肌肉注射猪,发现组织中多西环素残留由高到低的顺序为:肾脏>皮+脂肪>肌肉>肝脏;本次试验结果与上述试验结果基本一致,给药后残留浓度顺序依次为:肾脏>肝脏>肌肉>脂肪。

此外,有研究报道了不同剂型的盐酸多西环素在猪体内的休药期,黄耀凌^[12]等人的试验中,自制盐酸多西环素注射液以 10 mg/kg 体重剂量对猪肌肉注射给药,连续给药 3 日,建议休药期为 42 日,休药期较长;李媚^[13]等人以 10 mg/kg 体重剂量于试验猪颈部肌内注射长效盐酸多西环素注射液,给药 2 次,给药间隔时间为 48 h,建议休药期为 28 日;刘欣^[1]等人以 10 mg/kg 体重剂量服用盐酸多西环素颗粒后,连续给药 5 日,建议休药期为 12 日。本文采用 HPLC-VWD 方法检测了猪按照 5 mg/kg 体重剂量口服盐酸多西环素片后在不同时间点各组织中多西环素的残留量,使用 WT 1.4 软件按 95% 置信区间计算出盐酸多西环素片的休药期为 7 日。上述试验中的休药期均比本试验的休药期长,但是残留结果与本试验结果基本相似,其原因可能与剂型和给药方式不同有关,盐酸多西环素在猪体内主要通过肝脏和肾脏进行代谢,且消除

速度较慢,不同剂型和给药方式对其影响明显。

综上所述,建议盐酸多西环素片在猪体内的休药期为 7 日。

参考文献:

- [1] 刘欣,魏丽娟,瞿红颖,宋婷婷,等. 盐酸多西环素颗粒在猪体内残留消除的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017(23):201-203.
- Liu X, Wei LJ, Qu HY, Song Tingting, *et al.* Study on the Elimination of Doxycycline Hydrochloride Granules Residue in Pigs[J]. Heilongjiang Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2017(23):201-203.
- [2] 陆莹梅,李建林,吕华林. 多西环素药理学及新型制剂的研究进展[J]. 湖南畜牧兽医, 2015(06):8-10.
- Lu YM, Li JL, Lv HL. Research progress of doxycycline pharmacology and new preparation[J]. Hunan Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2015(06):8-10.
- [3] GB 31650-2019. 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量[S]. 农业农村部,国家卫生健康委员会,国家市场监督管理总局 北京:中国标准出版社,2019.
- GB 31650-2019. National food safety standard - Maximum residue limits for veterinary drugs in foods[S]. Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Health Commission, State of administration for Market Regulation Beijing: Standards Press of China, 2019.
- [4] 中华人民共和国农业部,中华人民共和国农业部公告第 278 号[S]. 2003.
- Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Announcement No. 278 of Ministry of Agriculture of the People's Republic of China[S]. 2003.
- [5] Martínez - Carballo Elena; González - Barreiro Carmen; Scharf Sigrid; Gans Oliver, Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria, Environ. Pollut. 148 (2007) 570 - 579.
- [6] Noelia Cambeiro - Pérez, Xiana González - Gómez, Leticia Rey - Salgueiro, etc. Rapid liquid chromatographic method for the control of doxycycline and tiamulin residues and their metabolites in vivo assays with pigs; Treatment and depletion[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2020. Vol. 190, 113428

- [7] Rodríguez - Comesaña Mirian; Cancho - Grande Beatriz; Simal - Gándara Jesús, Screening method for detecting cross - contamination residues of tiamulin in swine feeds, J. AOAC Int. 86 (2003) 449
- [8] 杨秋实. 猪可食用组织中盐酸多西环素长效注射液残留检测方法及其消除规律的研究[D]. 江苏:南京农业大学,2012.
- Yang QSh, Study on Detection Method and Elimination Rule of Doxycycline Hydrochloride Long acting Injection Residues in Edible Tissue of Pigs[D]. Jiangsu: Nanjing Agricultural University
- [9] 黄聚杰. 六种抗菌药物在花鲈体内的药代动力学及残留消除规律[D]. 福建:集美大学,2016.
- Huang JJ, Pharmacokinetics and residual elimination regularity of six antibacterial drugs in the body of sea bass (*Lateolabrax japonicus*) [D]. Fujian: Jimei University, 2016.
- [10] 翟克影,王春梅,李晶,等. 盐酸多西环素可溶性粉在猪体内药物动力学及残留研究[J]. 实验动物与比较医学, 2009, 29(6):385-389.
- Zhai KY, Wang ChM, Li Jing, *et al.* Study on pharmacokinetics and residues of doxycycline hydrochloride soluble powder in pigs [J]. Laboratory Animal and Comparative Medicine, 2009, 29(6):385-389.
- [11] 王金花. 猪肌注盐酸多西环素的药物动力学和残留的研究[D]. 湖北:华中农业大学,2007.
- Wang JH, Study on pharmacokinetics and residues of Intramuscular doxycycline hydrochloride in pigs[D]. Hubei: Huazhong Agricultural University, 2007
- [12] 黄耀凌,王亦琳,徐倩,等. 盐酸多西环素注射液在猪体内残留消除规律研究[J]. 中国兽药杂志, 2015, 49(06):28-32.
- Huang YL, Wang YL, Xu Q *et al.* Residue Depletion Study of Doxycycline Hydrochloride Injection in Swine[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2015, 49(06):28-32.
- [13] 李媚,刘伟坚,黄显会,等. 长效盐酸多西环素注射液在猪体内残留的消除规律[J]. 中国兽医学报, 2011, 31(02):227-231-236.
- Li M, Liu WJ, Huang XH, *et al.* Residual elimination of long - acting doxycycline hydrochloride injection in swine[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2011, 31(02):227-231-236.

(编辑:陈希)