

头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌的药动/药效学研究

张尤贞¹, 颜秀梅², 汤春莲¹, 李琿¹, 蔡一杰¹, 许晓靖¹, 吴勋²

(1. 安徽省兽药饲料监察所, 安徽合肥 230091; 2. 安徽华澳生物技术有限公司, 安徽合肥 230001)

摘要 [目的]测定头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌的半体内药动-药效学数据, 以为临床提供合理的给药方案。[方法]利用半体内 PK/PD 模型, 研究头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌的药动学参数。[结果]体外抗菌活性测定结果表明, 头孢喹肟在血清中和肉汤中的 MIC 值均为 0.008 $\mu\text{g}/\text{mL}$, MBC 值均为 0.016 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。单次剂量肌肉注射 1 mg/kg 头孢喹肟后, 血药浓度-时间曲线符合一级吸收二室模型。硫酸头孢喹肟通过肌肉注射, 吸收迅速并且在体内的持续时间较长。非线性回归分析表明, 头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌的抗菌效应与 PK/PD 指数 ($\text{AUC}_{0-24}/\text{MIC}$) 的相关性最强 ($R^2=0.9967$), $C_{\text{max}}/\text{MIC}$ 为 0.8056。产生抑菌、抗菌和清除效应时的 $\text{AUC}_{0-24}/\text{MIC}$ 值分别为 116.0、175.5 和 218.5。[结论]单次注射 1 mg/kg 头孢喹肟, 即可对胸膜肺炎放线杆菌起到清除作用。

关键词 头孢喹肟; 仔猪; 胸膜肺炎放线杆菌; 药动/药效模型

中图分类号 S855 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)12-0098-04

Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Study on Cefquinome against *Actinobacillus pleuropneumoniae*

ZHANG You-zhen¹, YAN Xiu-mei², TANG Chun-lian¹ et al (1. Anhui Institute of Veterinary Drug and Feed Inspection, Hefei, Anhui 230091; 2. Anhui Huaao Biotechnology PTY Ltd., Hefei, Anhui 230001)

Abstract [Objective] To determine the semi-*in vivo* PK/PD data of cefquinome against *Actinobacillus pleuropneumoniae* and provide a rational administration scheme in the clinic. [Method] Using semi-*in vivo* PK/PD model, the pharmacokinetic parameters of cefquinome against *A. pleuropneumoniae* were studied. [Result] The determination results of antibacterial activity *in vitro* showed that the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of cefquinome in the serum and broth was 0.008 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 0.016 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectively. After single dose (1 mg/kg) of cefquinome by intramuscular injection, the drug concentration-time curve was accordant with the first-order absorption two-compartment model. Cefquinome by intramuscular injection could be absorbed rapidly and persistently effective. Nonlinear regression analysis showed that the antibacterial effect of cefquinome against *A. pleuropneumoniae* had the strongest relation ($R^2=0.9967$) with PK/PD index ($\text{AUC}_{0-24}/\text{MIC}$), $C_{\text{max}}/\text{MIC}$ was 0.8056. $\text{AUC}_{0-24}/\text{MIC}$ for producing the bacteriostatic effect, antibacterial effect and scavenging effect was 116.0, 175.5 and 218.5 respectively. [Conclusion] After single dose (1 mg/kg) of cefquinome, *A. pleuropneumoniae* could be cleared.

Key words Cefquinome; Piglet; *Actinobacillus pleuropneumoniae*; PK/PD model

目前, 抗生素耐药性的产生已严重威胁人类和动物的健康。一些观点认为, 抗生素的不规范使用(包括不合理的剂量、给药途径、给药间隔等), 是导致细菌耐药性产生的主要原因。因此, 为了设计更合理的给药方案, 笔者将药动学与药效学数据进行整合, 以期在提高疗效的同时, 减少耐药菌株的产生。

胸膜肺炎放线杆菌(*Actinobacillus pleuropneumoniae*)是猪细菌性肺炎的一种重要病原菌, 能够引起猪的胸膜肺炎, 是猪的一种严重的呼吸系统传染病。病猪呈现发热(可高达 42 $^{\circ}\text{C}$), 呼吸困难, 剖检时可发现纤维素性胸膜肺炎, 多感染肺部两侧, 65% 的肺尾叶感染严重, 发病率达到 2% ~ 10%, 致死率约 10%^[1]。耐过猪可以携带病原持续几个月^[2], 感染后仍保持健康的动物就成为亚临床病原携带者。一旦暴发该病, 推荐尽快采用抗生素治疗方法, 早期及时治疗是提高疗效的重要条件。头孢类、四环素类等抗生素都可用于临床治疗^[3]。

头孢喹肟是第 4 代头孢菌素类抗生素, 也是兽医专用药, 目前已被用于治疗由嗜血杆菌、克雷伯氏肺炎杆菌等引起的呼吸道疾病以及由大肠杆菌和链球菌引起的乳房炎等疾病。目前, 头孢喹肟已在兔^[4]、猪^[5]等动物体内进行药动学试验。然而, 关于头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌的半体内药动药效学研究鲜见报道。

PK/PD 同步模型可以反映药物浓度与杀菌效应之间的

关系, 能反映给药后出现的时间-浓度-效应过程, 真实模拟宿主、药物以及细菌三者的动态相互变化关系。PK/PD 模型^[6]可大致分为体外 PK/PD 模型、半体内 PK/PD 模型、体内 PK/PD 模型 3 种。笔者利用半体内 PK/PD 同步模型, 研究头孢喹肟在动物体内的药动学过程和药动学参数, 旨在为治疗由胸膜肺炎放线杆菌引起的呼吸道疾病提供合理的治疗方案并减少临床上耐药菌的出现。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 硫酸头孢喹肟注射液(2.5% Cobacton), 批号 A621B01, 购自英特威国际有限公司; 头孢喹肟对照品, 含量 80.9%, 批号 k0321205, 购自中国兽医药品监察所; 乙腈, HPLC 级, 含量 $\geq 99.9\%$, 购自美国 Fisher 公司; 甲酸, HPLC 级, 含量 $\geq 99.9\%$, 购自美国 Fisher 公司; 胰蛋白胍大豆肉汤培养基 Tryptic Soy Broth (TSB)、胰蛋白胍大豆琼脂培养基 Tryptic Soy Agar (TSA)、新生牛血清和 NAD 氧化辅酶 I 均购自于国产生化试剂公司。

1.2 试验动物及试验菌株

1.2.1 试验动物及其饲养管理。健康杂种猪(长白 \times 大白 \times 杜洛克)10 头, 体质量 25 ~ 30 kg, 购自安徽省某种猪场。整个试验期间, 全部猪只自由饮水和采食, 饲料为不含任何抗菌药物的全价日粮。

1.2.2 试验菌株。胸膜肺炎放线杆菌来自临床分离菌株(生物 I 型中的 1 型), 保存于大豆卵磷脂肉汤(含 5% NAD)中。质控菌株为金黄色葡萄球菌 ATCC29213, 购自中国兽医药品监察所。

1.3 菌液的复苏和制备 将冷冻保存的多杀性巴氏杆菌接种到含 5% 新生牛血清的 TSB 肉汤培养基中, 37 °C 摇床过夜培养, 复苏后的细菌划线接种在含 5% NAD 的琼脂培养基上, 传代培养 5 代, 待细菌活力完全恢复后, 再取单个菌落接种于含 5% NAD 的 TSB 肉汤培养基中扩菌培养, 以获取对数生长期的细菌。

1.4 胸膜肺炎放线杆菌在肉汤培养基和血清中的最小抑菌浓度 (MIC) 的测定 采用微量肉汤稀释法测定最小抑菌浓度 (MIC), 具体试验步骤参考 CLSI。先将头孢喹肟储备液 (1 280 μg/mL) 用含 5% NAD 的 TSB 肉汤培养基和血清在 10 mL 无菌玻璃管中倍比稀释成试验所需的工作液。然后, 再将稀释好的工作液与处于对数期的菌悬液按照 1:1 的体积比加入 96 孔板中, 使 96 孔板中的菌液终浓度为 5×10^5 CFU/mL 左右。同时, 在 96 孔板上设置阳性对照孔 (只含菌液, 不含药物) 和阴性对照孔 (只含培养基, 不含菌液), 置于 35 °C 恒温培养箱中培养 16 ~ 24 h, 读取结果。试验重复 3 次, 药敏结果根据美国临床实验室标准化研究所 CLSI 标准进行判定。

1.5 头孢喹肟在血清中的静态杀菌动力学曲线 取 1 mL 空白血清稀释的抗菌药液, 将处于对数生长期的细菌原液用空白血清稀释到 1×10^6 CFU/mL 后, 取 1 mL 加到已知浓度抗菌药的 TSB 肉汤和血清中, 制得药物浓度分别为 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0 MIC 和菌液终浓度约为 5×10^7 CFU/mL。置于 37 °C 恒温培养箱中培养, 然后分别在孵育 0、2、4、6、8、12 和 24 h 后进行菌落计数。

1.6 给药和采样 5 头健康猪采用静脉注射 1 mg/kg 的头孢喹肟, 5 头健康猪肌肉注射 1 mg/kg 头孢喹肟, 在给药前和给药后 5、15、30、45 min 及 1、2、3、4、6、8、12、24 h 采集前腔静脉血样 5 mL 置于不含抗凝剂的塑料离心管中, 室温静置 30 min 并避免阳光照射, 随后在 4 °C 冰箱中放置 2 h, 以加速血块凝缩, 然后在 4 °C 下 4 000 r/min 离心 10 min, 分离血清。血清样品分装成 2 份, 保存于 -80 °C 下, 一份用于药物浓度检测, 另一份用于药效学试验。

1.7 头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌的半体内药效学研究 将采集的空白血清和给药后不同时段采集的样品解冻后, 使用孔径 0.22 μm 的灭菌针式过滤器过滤除菌, 取适量除菌血清加入对数期的胸膜肺炎放线杆菌悬液, 使血清样品中胸膜肺炎放线杆菌的最终浊度为 5×10^6 CFU/mL 左右, 置于 37 °C 恒温培养箱中培养, 分别于培养后 0、2、4、6、8、12 和 24 h, 采用平板菌落计数确定血清中活菌数。

1.8 数据处理 药动学数据采用 WinNonlin 5.2 药动学软件 (Pharsight Corporation, Mountain view, CA, USA) 进行分析。组织液中药物浓度 - 时间数据采用非房室模型进行处理, 用梯形积分法计算药时曲线下面积 (AUC); 每次给药后的药物峰浓度 (C_{max}) 从拟合出的药时曲线中直接读取; 药物浓度大于 MIC 的时间占给药间隔的百分比, 是通过结合 MIC 对组织液中药物浓度进行分析后计算得到的。

以细菌变化量 (E) 为纵坐标, 分别以 PK/PD 指数 % T >

MIC、 C_{max}/MIC 及 AUC/MIC 为横坐标, 选用 WinNonlin 中合适的药效学模型对 3 组数据进行拟合后, 根据相关性得到用于预测抗菌效应的最佳 PK/PD 指数。

运用 WinNonlin 软件中的抑制性 Sigmoid E_{max} 模型对头孢喹肟的抗菌效应与 PK/PD 指数的关系进行分析, 模型方程式为:

$$E = E_{max} - \frac{(E_{max} - E_0) \times C_e^N}{EC_{50}^N + C_e^N} \quad (1)$$

式(1)中, E 为抗菌效应, 是 24 h 内细菌数量的变化值, 即 $\Delta \lg CFU/mL$; E_{max} 为不含药对照组中细菌量的变化值; E_0 为药物与细菌作用 24 h, 药物产生最大抗菌效应时的细菌变化量; C_e 为 PK/PD 指数, 包括 % T > MIC、AUC/MIC 和 C_{max}/MIC ; EC_{50} 为药物产生最大抗菌效应的 50% 所需的 PK/PD 指数值; N 为 Hill 系数, 表示 PK/PD 指数作用的药效曲线的斜率。

临床给药剂量可以整合猪体内药动学参数和体外抗菌试验的结果, 并结合抑制型 Sigmoid E_{max} 模型拟合的 Ex - vivo AUC₀₋₂₄/MIC 值, 获得不同抗菌效果需要的日给药剂量, 计算公式^[7]如下:

$$\text{Dose (per day)} = \frac{(AUC/MIC)_{\text{breakpoint}} \times MIC_{90} \times CL_{\text{per hour}}}{f_u \times F} \quad (2)$$

式(2)中, Dose (per day) 为日给药剂量; $(AUC/MIC)_{\text{breakpoint}}$ 为产生不同抗菌效应所需的 Ex - vivo AUC/MIC 临界点; MIC_{90} 为抑制受试细菌群体 90% 的菌株所需的 MIC; $CL_{\text{per hour}}$ 为给药后每小时的体清除率; f_u 为猪血清中的游离药物分数; F 为头孢喹肟的绝对生物利用度。

2 结果与分析

2.1 胸膜肺炎放线杆菌在肉汤和血清中的 MIC 和 MBC 根据美国临床实验室标准化研究所 CLSI 标准, 可知头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌在肉汤和血清中的 MIC 值均为 0.02 μg/mL, MBC 值均为 0.032 μg/mL。

2.2 静脉注射和肌肉注射给药后头孢喹肟在猪体内的药物浓度 猪单剂量 (1 mg/kg) 静脉注射和肌肉注射给药后, 头孢喹肟在猪血清的药物浓度 - 时间数据采用 WinNolin 5.2.1 药动学软件提供的非房室模型进行处理。药物浓度 - 时间曲线见图 1。从图 1 可以看出, 组织液中药物浓度在 0.5 h

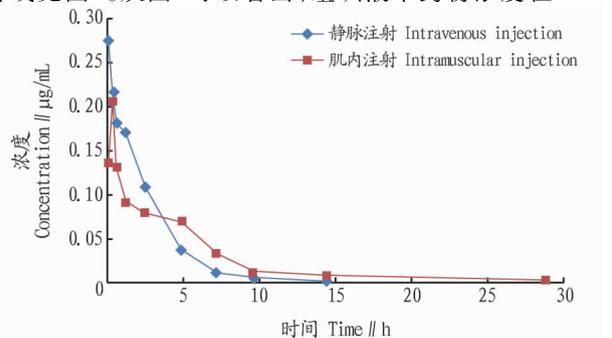


图 1 单剂量 (1 mg/kg) 静脉注射和肌肉注射头孢喹肟后猪的药时曲线

Fig. 1 The drug concentration-time curve of pig after single dose (1 mg/kg) of cefquinome by intravenous injection and intramuscular injection

左右达到峰值,在体内的消除半衰期更长。

2.3 头孢喹肟在体内的药动学参数 通过静脉注射和肌肉注射头孢喹肟(1 mg/kg)所测得的药动学数据分别符合二室

模型和一级吸收二室模型,具体药动学参数见表1。血清中药物浓度与时间的关系式如下: $C = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}$, $C = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} - (A+B)e^{-kat}$ 。

表1 静脉注射和肌肉注射头孢喹肟(1 mg/kg)后血清中的药动学参数

Table 1 The pharmacokinetic parameters in the serum after single dose(1mg/kg) of cefquinome by intravenous injection and intramuscular injection

注射方式 Injection methods	A//mg/L	$\alpha//h^{-1}$	B//mg/L	$\beta//h^{-1}$	Ka//h ⁻¹	V//L/kg
静脉注射 Intravenous injection	3.61 ± 0.58	9.25 ± 1.27	2.17 ± 0.38	0.62 ± 0.08		0.25 ± 0.09
肌肉注射 Intramuscular injection	1.83 ± 0.51	1.21 ± 0.43	0.83 ± 0.21	0.42 ± 0.09	13.21 ± 2.78	0.46 ± 0.07
注射方式 Injection methods	$t_{1/2\alpha}//h$	$t_{1/2\beta}//h$	$t_{1/2Ka}//h$	$K_{10}//h^{-1}$	$K_{12}//h^{-1}$	$K_{21}//h^{-1}$
静脉注射 Intravenous injection	0.16 ± 0.04	1.52 ± 0.43		3.35 ± 0.87	4.87 ± 1.53	3.23 ± 0.81
肌肉注射 Intramuscular injection	0.78 ± 0.25	2.76 ± 0.46	0.08 ± 0.02	0.58 ± 0.21	0.55 ± 0.09	0.21 ± 0.04
注射方式 Injection methods	CL//L/(kg·h)	$C_{max}//\mu g/mL$	$T_{max}//h$	$AUC_{0-24}//(\mu g \cdot h)/mL$	F//%	
静脉注射 Intravenous injection	0.28 ± 0.07					
肌肉注射 Intramuscular injection	0.24 ± 0.03	0.237 ± 0.056	0.31 ± 0.08	3.8 ± 0.68	104.57 ± 11.28	

2.4 头孢喹肟在血清中的静态杀菌动力学曲线 从图2可以看出,头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌具有明显的抗菌活性,并且随着药物浓度的增加,头孢喹肟的抗菌效应增强。在血清中,经过2 h的培养,菌液浓度已呈梯度性变化,0.5 MIC时无明显的抑菌效应,1.0 MIC时对细菌的生长有抑制作用,当浓度大于2.0 MIC时呈现杀菌效应,并且浓度越大,杀菌速率越快;当浓度超过4.0 MIC时,细菌数量下降幅度不大。

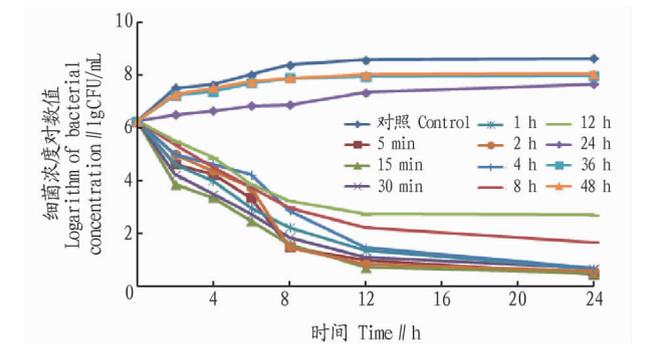


图3 肌肉注射头孢喹肟(1 mg/kg)后体外24 h 杀菌曲线

Fig. 3 The bactericidal curve *in vitro* after intramuscular injection of 1 mg/kg cefquinome 24 h

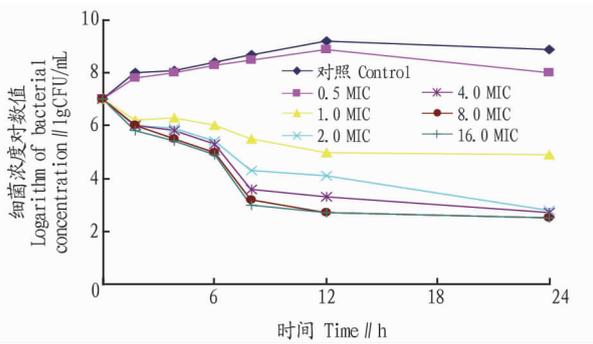


图2 头孢喹肟在血清中对胸膜肺炎放线杆菌的体外抗菌效应

Fig.2 The antibacterial effect of cefquinome in the serum of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in vitro

2.5 半体内模型中头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌的抗菌效应 肌肉注射和静脉注射头孢喹肟(1 mg/kg)后,在11个时间点采集的猪血清中头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌的半体内抗菌效应分别见图3和图4。从图3和图4可以看出,肌肉注射后,在0~6 h内采集的血清样品能够达到清除效应作用(细菌浓度下降 1×10^4 CFU/mL);8 h采集的血清样品,可达到杀菌效应(细菌浓度下降 1×10^3 CFU/mL);12 h后细菌数量低于检测限。12 h采集的血清样品可达到抑菌作用。静注后,在0~8 h内采集的血清样品均具有清除效应。12 h后,细菌数量低于检测限。12 h采集的血清样品,可达到抑菌作用。

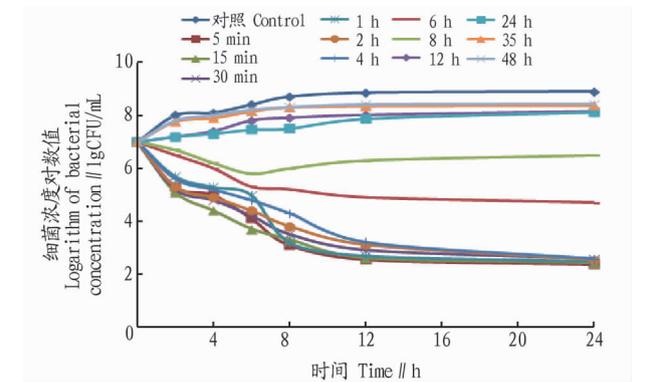


图4 静脉注射头孢喹肟(1 mg/kg)后体外24 h 杀菌曲线

Fig.4 The bactericidal curve *in vitro* after intravenous injection of 1 mg/kg cefquinome 24 h

头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌的PK/PD指数之间的关系见图5。由图5可知,血清中PK/PD指数 AUC_{0-24}/MIC 和 C_{max}/MIC 与细菌变化量 E 的拟合效果均良好。由相关系数 R^2 可知, AUC_{0-24}/MIC ($R^2 = 0.9967$) 是预测头孢喹肟的抗菌效应最合适的PK/PD指数。分别产生抑菌、抗菌和清除的效应时,相对应的 AUC_{0-24}/MIC 分别为116.0、175.5和218.5。

2.6 头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌的PK/PD关系 头孢

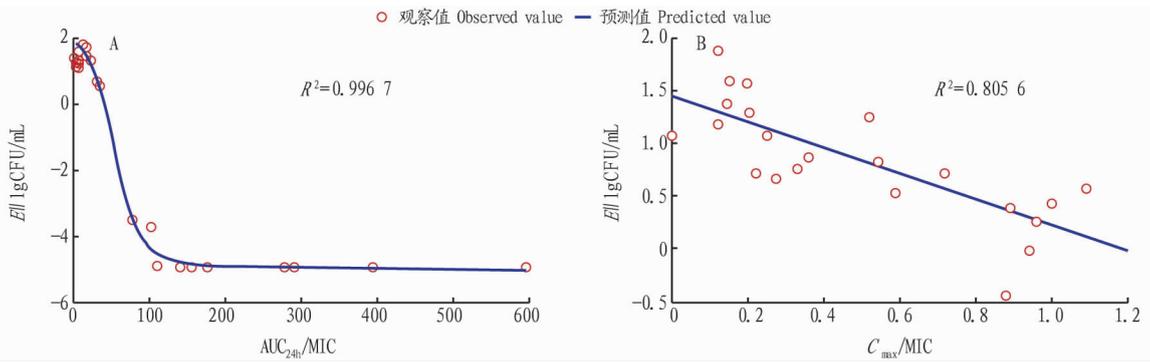
图5 PK/PD 参数与细菌变化量(E)的关系

Fig. 5 The relationship between PK/PD parameters and variable quantity of bacteria

3 讨论与结论

目前,头孢喹肟的药动学数据已经在猪、牛^[8]等动物体内进行了研究。该试验结果表明,肌内注射硫酸头孢喹肟符合一级吸收二室模型,其主要的药动学参数如下:血药达峰时间(T_{max})为0.31 h,峰浓度(C_{max})为0.237 $\mu\text{g}/\text{mL}$, $t_{1/2\beta}$ 为2.76 h, AUC_{0-24} 为3.8($\mu\text{g}\cdot\text{h}$)/mL与杨大伟等^[9]研究结果相一致。但是,该试验测得的药动学数据与刘利锋等^[10]的数据存在差异,这可能是由于动物的大小或者头孢喹肟的生产厂家的工艺的不同造成的。

测定在不同培养介质的条件下,药物对细菌体外的MIC和MBC值,对研究药动/药效学同步模型具有重要的意义。Shan等^[11]研究发现在不同的基质中,能够引起MIC和MBC不一致,结果表明头孢喹肟在血清、组织液和炎症渗出液对多杀性巴氏杆菌的MIC和MBC比MH肉汤中高3倍左右。Zhang等^[12]研究发现头孢喹肟在MHB和血清中对大肠杆菌的MIC值分别为0.030和0.032 $\mu\text{g}/\text{mL}$,MBC值分别为0.060和0.064 $\mu\text{g}/\text{mL}$,基质效应无明显差异。该试验通过测定头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌在肉汤和血清中的MIC和MBC,结果发现无论在肉汤还是血清中,头孢喹肟对胸膜肺炎放线杆菌均具有相同的抗菌活性。这些研究结果对于治疗胸膜肺炎放线杆菌有着一定的指导作用。但是,如果测定体内的MIC和MBC,可能会对临床具有更合理的指导作用。

半体内PK/PD模型属于PK/PD研究的一种有效方法,可为临床疾病的治疗提供一定的合理建议。头孢喹肟属于时间依赖性药物,其最有预测效果的PK/PD的参数是%T>MIC^[13],但是由于在半体内研究中药物的浓度是恒定不变的,因此,获得%T>MIC的意义不大。因此选择测定 AUC_{0-24}/MIC 来拟合数据。该试验结果表明,当 AUC_{0-24}/MIC 达到116.0、175.5和218.5时,细菌变化量 E 分别下降

2 lgCFU/mL、3 lgCFU/mL和4 lgCFU/mL。参考上述公式,细菌变化量 E 下降2 lg CFU/mL、3 lg CFU/mL和4 lg CFU/mL所需每天的给药剂量分别为0.56、0.84和1.0 mg/kg。因此,当颈部肌内注射硫酸头孢喹肟(1.0 mg/kg),可达到清除细菌的效果。

参考文献

- [1] 廖延雄. 胸膜肺炎(嗜血杆菌)放线杆菌[J]. 江西畜牧兽医杂志, 1994(1): 1-9.
- [2] DESROSIERS R. Epidemiology, diagnosis and control of swine diseases [C]. Proc Annu Meet Am Assoc Swine Vet. [s.l.]: [s.n.], 2004: 9-37.
- [3] 张立昌. 猪传染性胸膜肺炎研究进展[J]. 养猪, 2001(1): 40-42.
- [4] HWANG Y H, SONG I B, LEE H K, et al. Pharmacokinetics and bioavailability of cefquinome in rabbits following intravenous and intramuscular administration [J]. Journal of veterinary pharmacology and therapeutics, 2011, 34(6): 618-620.
- [5] GU M X, ZHANG N, ZHANG L F, et al. Response of a clinical *Escherichia coli* strain to repeated cefquinome exposure in a piglet tissue-cage model [J]. BMC Veterinary Research, 2015, 11(1): 1-8.
- [6] 高延玲, 陈杖榴, 王付民. 抗微生物药物PK-PD研究在优化兽药给药方案中的应用[J]. 中国兽药杂志, 2005, 39(8): 27-31.
- [7] TOUTAIN P L, DEL CASTILLO J R E, BOUSQUET-MÉLOU A. The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics [J]. Research in veterinary science, 2002, 73(2): 105-114.
- [8] 陈晓兰, 蒋春茂, 朱丽霞, 等. 牛单剂量肌注硫酸头孢喹肟的药代动力学研究[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(5): 173-174.
- [9] 杨大伟, 陈杖榴, 丁焕中, 等. 头孢喹肟在猪体内的药动学及生物利用度[J]. 中国兽医学报, 2009, 29(9): 1182-1185.
- [10] 刘利锋, 张军忍, 覃少华, 等. 硫酸头孢喹肟在猪体内的药动学研究[J]. 南京农业大学学报, 2009, 32(2): 102-106.
- [11] SHAN Q, YANG F, WANG J, et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship of cefquinome against *Pasteurella multocida* in a tissue-cage model in yellow cattle [J]. Journal of veterinary pharmacology and therapeutics, 2014, 37(2): 178-185.
- [12] ZHANG B X, LU X X, GU X Y, et al. Pharmacokinetics and ex vivo pharmacodynamics of cefquinome in porcine serum and tissue cage fluids [J]. The veterinary journal, 2014, 199(3): 399-405.
- [13] AHMAD I, HAO H H, HUANG L L, et al. Integration of PK/PD for dose optimization of Cefquinome against *Staphylococcus aureus* causing septicemia in cattle [J]. Frontiers in microbiology, 2015, 6: 1-11.

(上接第80页)

- [27] LI H C, ZHANG J S, WANG T, et al. Elemental selenium particles at nano-size (Nano-Se) are more toxic to Medaka (*Oryzias latipes*) as a consequence of hyper-accumulation of selenium; A comparison with sodium selenite [J]. Aquatic toxicology, 2008, 29(4): 251-256.
- [28] MANZO L, CASTOLDI A F, COCCINI T, et al. Mechanisms of neurotoxicity: Applications to human biomonitoring [J]. Toxicology letters, 1995, 77(1/2/3): 63-72.
- [29] MODESTO K A, MARTINEZ C B R. Roundup causes oxidative stress in

liver and inhibits acetylcholinesterase in muscle and brain of the fish *Prochilodus lineatus* [J]. Chemosphere, 2010, 78(3): 294-299.

- [30] BRETAUD S, TOUTANT J P, SAGLIO P. Effects of carbofuran, diuron and nicosulfuron on acetylcholinesterase activity in goldfish (*Carassius auratus*) [J]. Ecotoxicology & environmental safety, 2000, 47(2): 117-124.
- [31] 张彩明. 几种常见重金属对日本黄姑鱼和脊尾白虾的毒性效应研究[D]. 舟山: 浙江海洋学院, 2013.