

海鱺體內紅黴素藥物動力學研究

涂堅^{1*}、程健智¹、張紹光²、張正芳³、邱芮瑜¹、黃淑敏¹、張惟茗¹

行政院農業委員會家畜衛生試驗所生物研究組¹

國立臺灣大學獸醫學系²

行政院農業委員會水產試驗所東港生技研究中心³

摘要 本研究為瞭解紅黴素 (50 mg/kg) 在海鱺體內的殘留時間，評估現有口服投予一日與三日後體內消長情形。本試驗使用硬質胃管餵食的投藥方法，可使投藥劑量準確並明顯減少魚隻緊迫。由結果得知：紅黴素在血清中的濃度，於口服投藥後，分別於約 0.5-1 小時與 18-24 小時，兩次達到最高血中濃度 (46.7-95.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)。一日投藥組與三日投藥組的血中濃度結果均出現雙峰模式，即以第一次為高，但第二次維持的時間較長，此現象與腸肝循環有關。本試驗最後一次採樣，216 小時血中藥物濃度約在 0.6-1.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 間。在行政院衛生署「動物用藥殘留標準」中並無本藥在水產動物的殘留標準，故無法直接與現有標準比較。但因本藥物於水產動物的停藥期在 14-30 天間，因此，在參考家畜殘留標準 (0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 後，使用者如能遵循法定停藥期，應無殘留的疑慮。

關鍵詞：海鱺；紅黴素；停藥期；硬質胃管

緒言

海鱺為一種肉質甘美廣受國人與日人喜愛的新興魚類，又由於其生長快速，相關之繁殖及飼養方法均已研發完成，遂形成一具內外銷潛力的優勢產品，故見其產值逐年提高。細菌性及寄生蟲性疾病為海鱺養殖的主要病害，其防治均靠藥物治療。然依照我國「水產動物用藥使用規範」之規定，可用於水產之藥品種類為 14 種，適用的水產動物種類為 26 種，其中並規定未列者不得使用。但依照我國水產動物養殖現況，此規範所列藥劑明顯不足，因此，造成某些現行或新興養殖魚類在藥物的使用上無所依循。再觀現場，當魚群遭受細菌性疾病侵害時，業者為避免經濟損失，仍需要使用藥物治療，但由於資訊不明或不易取得，反而容易造成用法用量不當、停藥期不足等情形，除了違反相關法規外，更顯事倍功半易造成疾病的散播、消費者食品安全與公共衛生上的疑慮。

歐美國家為解決上述問題，均就其主要食用鮭鱒魚類常使用臨床常用藥物的殘留加以研究，其中紅黴素的藥物殘留及動力學亦成為各國進行的工作之一，但是此種研究並不及於東南亞方國家溫帶常見的食用魚 (如海鱺)，因為該等研究不符合其國家利益，無法獲得官方補助計畫。海鱺為我國新興魚類具外銷潛力，因此責無旁貸應進行相關的研究，除了可以建立藥物使用的資訊、提供藥物殘留檢驗方法外，相對更提升我國養殖漁業的產品品質，避免輸歐吳郭魚與輸日鰻魚藥物殘留之窘境再次發生。因此，年度計畫以巨環類中的紅黴素為研究主題，並以現場使用之投藥方法進行研究，建立海鱺體內紅黴素藥物動力學之模式。

*抽印本索取作者
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

材料及方法

材料：

1. 標準品與試藥

紅黴素 (erythromycin, $\geq 95\%$, Fluka, USA)、FMOc sodium (Fluka, USA)、磷酸、磷酸二氫鉀、三水磷酸一氫鉀、單水檸檬酸、三水三鈉檸檬酸鹽、氫氧化鈉氨水等為試藥級藥品 (Merck, Germany)。萃取使用的正己烷、二氯甲烷；移動相使用的甲醇及乙腈 (acetonitrile) 均為液相層析級溶劑 (Merck, Germany)。試驗中所用之水均為去離子之超純水 (Milli Q-treated water, Millipore, USA)。

2. 儀器及器具

微量天秤。電子天秤。氮氣吹乾裝置 (N₂ evaporator)。恆溫水浴槽。離心機。超音波震盪器。酸鹼度測定器。過濾裝置：Millipore® all-glass filter holder for 47 mm filters。過濾膜：Millipore® Durapore membrane filter, 0.45 μm 。針筒過濾膜 (syringe filter)：Millipore® 13 mm Millex-HN filters, 0.45 μm 。可調式微量吸管。玻璃吸管：1 mark, Blaubrand® Class AS 1、2、3、4、5、10、20 及 25 mL。玻璃褐色定量瓶：Blaubrand® Class A 10、20、50、100 及 2000 mL。固相萃取匣 (solid phase extract cartridge)：Oasis® MCX 3 mL/60 mg Extraction cartridge (Waters, USA)。螺旋樣本瓶 (12 x 32 mm, Waters, USA)。

高效液相層析儀 (HPLC Separation Modules) 係採用美商沃特斯公司生產 (Waters 2695, USA)。配件包括：除氣泡裝置 (In-Line Degasser AF)、移動相幫浦 (600E Controller Multisolvant Delivery System)、樣品自動注射器 (717 Plus Autosampler)、檢測器 (2996 Photodiode Array Detector)、多波長螢光偵測器 (2475 Multi λ Fluorescence Detector)、資料分析軟體 (Empower)、保護管柱 (μ Bondapak® Precolumn insert (C18, 5 μm))、分析管柱 (Xbridge™ C18 column (5 μm , I.D. 4.6 \times 150 mm))

方法

1. 動物試驗

試驗用藥物(紅黴素)均於實驗前 30 分鐘以無菌的二次蒸餾水新鮮泡製存於暗色瓶，以確保藥效。本實驗中，實驗魚之體重，約在 100 \pm 20 克之間，體長界於 24-30 公分，魚隻購入後即分別豢養在試驗所流水式海水 FRC 槽中，每日餵飼一次人工浮料，待適應一週後再行分組，分組則是採隨機方式，每個採樣時間點以 3 隻魚為原則，另於 0 時間點採取空白魚隻 15 隻以為實驗對照組，確認魚隻無任何與實驗相關之藥物殘留。魚隻定時以 3 隻 1 組方式投與所知濃度藥物 (50 mg/kg 紅黴素) 後，分別飼養在不同的飼養槽內，飼養槽內之環境控制在水溫 20 $^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，並以泵浦打氣維持水中充氧程度。

2. 試樣採集

當採藥時間點到達時，由 6 位實驗人員 2 人一組，先行以 MS-222 鎮定，再以 5 ml 針筒對實驗動物進行心臟採血，採血量以愈多愈佳為原則，採血完畢後，以骨剪剪斷魚之頸椎，進行安樂死，再剪開魚腹小心且仔細採取所需器官 (肝臟與腎臟)，然後再採取魚體兩側肌肉並仔細將魚皮剝除；於每隻魚採樣完畢後，所使用的刀剪等器具，均經清洗後以酒精消毒備用，採樣盤中的墊紙，則以每個樣本一張的原則每次更換，降低交互污染的可能性。依上述採樣流程所得的樣本均分別標示，儲存於夾鏈袋中，然後立即冷凍至-70 度冰箱，直到運送至本實驗室分析為止。血液樣本則以每分鐘 3500 轉(4 $^{\circ}\text{C}$)，離心 20 分鐘後，抽取上層血清，亦分別標示儲存於-70 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱，直到分析為止。殘餘魚體則統一收集至標示有生物危害性清潔袋中，冷凍於-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰櫃中，於實驗結束後，統一交由簽約的合格廠商焚化處理。針頭於抽血完畢後，均以高熱針頭銷毀器銷毀，另放置於固定尖銳物盒中統一銷毀，針管另集中於相關生物危害收集盒中，由合格簽約公司統一處理。

3. 溶液配製

紅黴素標準液：

直接以 1000 $\mu\text{g/mL}$ 濃度溶解在乙腈中。

0.1 M 檸檬酸溶液 pH 6.0 (0.1 M citric acid solution, pH 6.0, w/v)：

將 5.25 g 單水檸檬酸及 7.35 g trihydrated trisodium citrate 溶解在 500 ml 超純水，並以 NaOH 調 pH 至 6.0。

0.1 M 磷酸緩衝液，pH7.5 (0.1 M phosphate buffer, pH 7.5, w/v)：

將 2.28 g $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 及 1.37 g KH_2PO_4 溶解在 1000 ml 超純水，並以 NaOH 調 pH 至 7.5。

0.1 M 磷酸緩衝液，pH9.3 (0.1 M phosphate buffer, pH 9.3, w/v)：

將 4.6 g $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 溶解在 200 ml 超純水，pH 約在 9.2-9.3。

0.03 M 磷酸緩衝液，pH7.0 (0.03 M phosphate buffer, pH 7.0)：

將 3.426 g $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 與 2.04 g 溶解在 KH_2PO_4 溶解在 1000 ml 超純水，並以 NaOH 調 pH 至 7.0。

HPLC 移動相 A：

取 360 ml 0.03 M 磷酸緩衝液與 640 ml 乙腈混合，然後以 5 M HCl 調 pH 至 7.2。

HPLC 移動相 B：

為 100%乙腈。以上溶液每日以標準操作程序新鮮配製為原則，若使用舊溶液則以不超過二日為原則。

4. 魚肉及血清萃取

(1) 萃取

依 Edder 等人 (2002) 的方法並稍作修飾，取 5 g 已去皮肌肉置於 50 mL 離心管內均質 (均質機：中等速度 20-30 秒；高速 2 分鐘)，加入 10 ml acetonitrile 再次均質 (10000 rpm, 90 秒)，然後離心 (4°C, 3500 rpm, 10 分)。取上清液 8 ml 加入另一 15 mL 玻璃試管備用；然後在 40°C 下以氮氣吹乾。取吹乾試管加入 4 ml citrate buffer, pH 6.0，震盪 10

秒，再加入 4 mL 正己烷去脂，震盪 30 秒。離心 (4°C, 3500 rpm, 5 分) 後，取上清液備用 (約 3.5 mL)。若樣品為血清則取 0.5 ml 加入 5 ml acetonitrile，其餘步驟同於肌肉萃取。

(2) 淨化：

取 Oasis® MCX 3 mL/60 mg Extraction cartridge (Waters, USA) 依序淨化檢體。先以 2 mL MeOH，再加 2 mL 水，然後加入 3.5 mL 樣本液體 (以自然滴下速度流出)，再加 2 mL 0.1 N HCl 清洗，加 2 mL MeOH (過盡至乾並等待 5 分) (以上液體部分全部丟棄)。最後加入 3 mL 含 5% NH_4OH 的 MeOH 沖提，收集流出液至 15 mL 玻璃試管中，然後在 40°C 下以氮氣吹乾。最後加入 2 ml 0.1 M Phosphate buffer, pH 9.3，震盪 30 秒。

(3) 衍化步驟

衍化是依 Edder 等人 (2002) 的方法進行，其衍化步驟如下：取 2 mL 標準品或樣品溶液置於玻璃試管中，加入 2 mL 二氯甲烷，震盪 30 秒，靜置 1 分鐘，吸取下層有機溶液至新的玻璃試管。將原管再加入 2 mL 二氯甲烷，震盪 30 秒，靜置 1 分鐘，吸取下層有機溶液並加入前一次收集的玻璃管中，然後在 40°C 下以氮氣吹乾。依次加入 0.2 mL 乙腈、0.2 mL 乙腈、0.2 mL 0.1 M 磷酸緩衝液 pH7.5，震盪 10 秒，以鋁箔封住玻璃管，45°C 加溫一小時。再加入 0.4 mL (0.03 M 磷酸緩衝液 (pH7.0) 與乙腈 1:1 的混合溶液)，震盪 10 秒，短暫離心後，以 1 mL 注射針筒吸取全部液體，將回溶產物經 0.45 μm 濾膜過濾後分別裝入螺旋蓋樣本瓶 (12 x 32 mm) 備用。

(4) 高效液相層析儀之檢測條件

先以移動相 B (100%乙腈) 沖洗 10 分鐘；然後進行線性梯度；在 2 分鐘內由移動相 B 轉換至 75%移動相 A (0.03 M 磷酸二氫鉀緩衝液 (pH 7.0)：乙腈 = 36:64 (v/v, pH 7.2)) 及 25% 移動相的組合；依此條件繼續沖洗 7 分鐘；最後在 5 分鐘內轉換至 100%移動相 A。流速：1 mL/min。螢光檢測器： $\lambda_{\text{ex}} = 260 \text{ nm}$ 、 $\lambda_{\text{em}} = 305 \text{ nm}$ 、Gain = 10、ATT = 128。樣品注入量：50 μL 。

結果與討論

目前有關巨環類藥品分析主要以電霧離子化液相層析串聯質譜 (liquid chromatography with ion-spray mass spectrometry) 為主，本方法靈敏度及準確度均高，唯一缺點為儀器成本過高，一般實驗室無法建立。現有關於紅黴素在魚類的研究主要重點為食品殘留問題。Lucchetti 等(2005)指出利用 liquid chromatography with electrospray ionization mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS)，檢測 erythromycin 在鱒魚殘留量，其回收率為 85-97%，檢測範圍為 0-1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 檢體。Billedeau 等(2003)利用層析定量鮭魚組織的 Erythromycin A 殘留量，並以液相層析電化學 (liquid chromatography using electrochemical detection, LC-ED) 或電霧離子化質譜儀 (electrospray ionization mass spectrometry, ESI/MS) 偵測，發現二者檢測極限類似，惟前者回收率(63.8)略低於後者(75.5)。Bajic 等(2000)利用 atmospheric pressure ionization 克服移動相中的非揮發成份，以液相層析串聯質譜 (liquid chromatography/mass spectrometry, LC/MS) 進行雞肉及牛肉中 erythromycin 分析，最低可檢測極限至 100 ppb，顯示 API-MS ion source 可用來克服 mobile phase 中的非揮發性添加物。Edder 等(2002)以液相層析法 (liquid chromatography, LC) 配合螢光檢測肉、乳、肝、腎及蛋中 erythromycin，雖然回收率為 50-60%，但其檢量線重複性，線性及偵測極限均佳。由上述研究可知欲達到 0.1-100 ppb 靈敏度的紅黴素殘留檢出，液相層析串聯質譜儀 (LC-MS) 乃為實驗室必要的檢測工具。欲瞭解魚體藥品殘留問題前，須先瞭解該藥品的藥物動力學，由於魚種不同其體內藥物動力學模式亦不相同，上述研究均以歐美食用的鮭鱒魚類為主，無法將結果直接應用於我國的海鱸魚種。因此對於僅具備高效液相層析儀及螢光偵測器的本實驗室，我們決定修飾 Edder 等(2002)發展的液相層析配合螢光偵測的紅黴素檢測方法。我們以標準品測試其最低檢測濃度雖未達 0.1 mg/kg，但可達到 0.25

mg/kg，推測可能本次實驗使用分析管柱 Xbridge™ C18 column (5 μm , I.D. 4.6 \times 150 mm, Waters) 其填充組成為無機成份 (silica) 及有機成份 (organsiloxanes) 兩種，與前人使用 Inertsil 150-5 ODS-2 column (5 μm , C content: 18.5%, ID 4 \times 125 mm, Vercopak) 其中填充組成僅含有無機成份不同，造成分析物在管柱中吸附分佈及強弱有關 (Edder et al., 2002)。

人類飼養的經濟魚類，其投藥方法常以經口或浸泡方式為主，除為避免魚隻緊迫、拒食而影響其正常的生理與生長外，對現場實際日常操作而言，上述方法亦較為可行。以注射方式投藥除少數觀賞魚種外，更因易導致魚隻緊迫、拒食與降低免疫使病情更加嚴重。於本實驗之預備試驗中，研究者初期嘗試將藥物與飼料混合或以軟質胃管投藥，經分析預備實驗魚隻血清、肌肉與肝腎樣本的結果發現，將藥品與飼料混合或以軟質胃管投藥，在上述所有樣本中所得的數據其變異性非常的大，明顯表示應是由於以飼料混合藥物投藥時，由於實驗族群過大，無法似部份陸生動物實驗，單獨將魚隻一一分開投藥，投藥時魚群搶食飼料，造成投藥不均所致；試驗者亦曾經嘗試使用多種材質的軟管投藥，但在考量不傷及魚隻消化道與材質兩者間，常無法獲得平衡，並且軟管插入食道，由於魚隻的保定不當或掙扎，可能造成軟管彎曲而不自知，致使未能將藥物直接投至胃內的狀況。因此，實驗再現性極差，而無法分析。後經相互討論與試驗，研究者建立以硬質胃管方式投藥，改善其他研究者將藥物與飼料混合後，經口投予試驗的方法，此法明顯可降低藥物與飼料混合不均、標的藥物融於水中污染實驗水體與實驗魚隻、或實驗魚隻攝食量不均差異等缺點。此法除達到快速均勻投藥的目的外，並且由於操作時間短暫，明顯減少魚隻緊迫，這可由投藥 2 小時後平等的例行性餵食，魚隻即會開始進食得知。

雖然紅黴素殘留在人類僅可能會引起輕微的胃腸炎，但當養殖過程中不當使用，卻會引起環境中細菌的抗藥性產生，而透過食物鏈關係造成人類醫療上

的困擾，因此檢測食物中的藥品殘留至為重要。酵素結合免疫吸附法檢測雖具有靈敏度及快速篩選的優點，但是仍需進一步以定量方法確認。因此質譜儀成為目前分析主流工具。本實驗中藥物經衍生後，偵測其衍化產物，其主要原因是巨環類缺乏產生紫外線的官能基 (chromophore groups)，因此無法在紫外線低波長下偵測吸光值，若無衍生則無法被偵測到。此外此類藥物普遍具有三級氫及氫氧基 (tertiary amines, hydroxyl groups)，但缺乏如初級氫 (primary amines) 類的選擇性官能基 (selective functional group)，此種官能基經化學作用後形成紫外線或螢光的衍生物。在本實驗中，採取 Edder 等 (2002) 衍生化的方式進行，以 FMOC (9-fluomethylchloroformate) 作為衍生劑，本劑可與多種官能基作用 (例如初級氫、次級氫等) (Einarsson et al. 1983)，作用時間雖需一小時，但對檢測的敏感性而言，則會因此檢測螢光而明顯提升，因此廣泛為使用於以高效液相層析儀分析紅黴素的前處理衍生步驟，其可能作用機制為與紅黴素的氫氧基結合 (Edder et al. 2002)。惟 FMOC 作用並無特異性，因此樣品前處理淨化非常重要，以避免與有機樣品中 (例如肝、腎、牛奶等) 的小分子發生非特異性結合而造成偵測時的干擾。我們發現此實驗中所使用陽離子交換萃取層析匣作為樣品前處理淨化應為最佳選擇，因可消除大部分的干擾物質，其結果優於 C18 萃取層析匣，此點同於前人的研究 (Edder et al., 2002)。

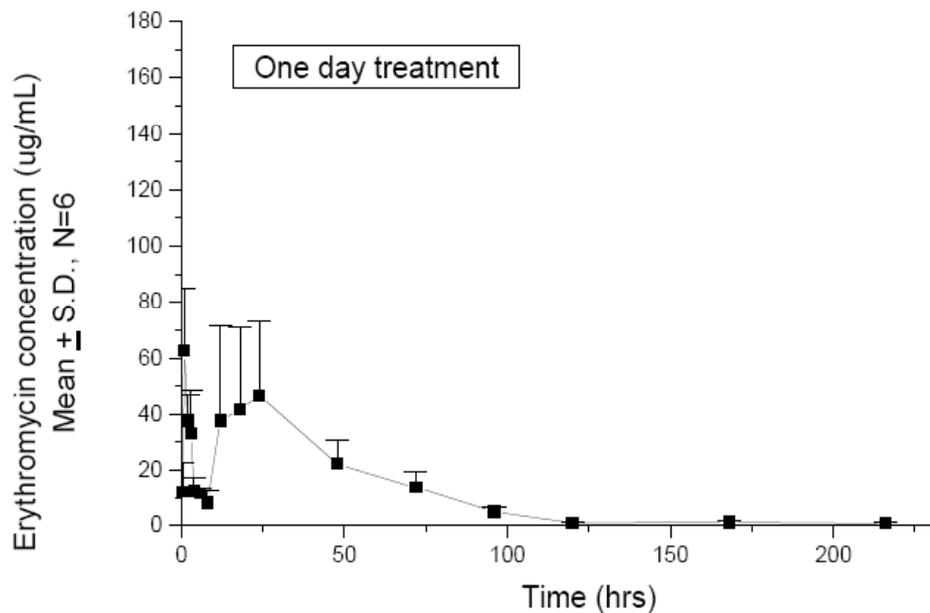
試驗數據變異性的問題在單一動物重複採樣較容易控制。基本上，水產動物藥物動力學資料原已較陸生動物為少，並且由於試驗時不易以陸生動物同一動物連續採血的模式進行，因此，在執行上更為困難。在本試驗中每一時間點的採樣，均為單獨魚隻，故分析各樣本時，會見到數據變異性較大的情形，這主要是因為樣品非來自同一隻魚，個別魚隻存在個體代謝差異，再加上藥物適口性差，魚隻灌入後易嘔吐排出，因此數據變異性較大。研究者於預備試驗時使用較大魚隻，以類似陸生動物單隻連續方式採血，惟

因海鱸屬大型運動性高，需氧量高的魚種，常因缺氧死亡，造成試驗中斷。另外於採血時導管使用在魚體上不易固定，容易鬆脫；若限制魚隻活動範圍，又易造成魚類緊迫死亡等不便。因此，研究者最後決定採用單一時間點採取單一魚隻各種樣本的方式，進行試驗與分析，此對於試驗過程而言較易控制，但亦可能由於魚隻個體差異而使藥物動力學的變異性加大，至於最終資料的可能影響，則需要爾後將兩種方式同時進行，互相對照評估，才可以清楚了解。未來試驗仍須朝向瞭解海鱸生理特性，克服大型魚隻飼養管理及設計特殊採血技術層面進行，才能解決數據變異性過大的問題。

圖一至圖二所示為紅黴素以時間對藥物平均濃度作圖。由實驗數據計算得知，對紅黴素投藥一日組而言 (表一)，血中藥物約在 1.0 小時的時候達到第一次最高平均血中濃度 (62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，在八小時均降到 8.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；但於投藥後第 12 小時，又見血中濃度再度爬升，至 24 小時時，則可達到另一血中濃度的高峰 (46.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，然後再次緩慢下降，但對此第二次升降而言，血中濃度雖不如第一次為高 (62.5 對 46.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，但相對而言，其下降的趨勢亦較第一次為緩慢，在 72 小時時，血中仍有 17.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的濃度，在 216 小時，亦仍能見可測的血中濃度 (圖一)。

表一、經口投予紅黴素後不同時間的血中濃度（一日組）

Time (h)	Concn*. ($\mu\text{g/ml}$)	Time (h)	Concn*. ($\mu\text{g/ml}$)
0.5	12.0 \pm 10.6	96.0	4.9 \pm 1.9
1.0	62.5 \pm 22.4	120.0	1.0 \pm 0.4
2.0	37.7 \pm 9.4	168.0	1.1 \pm 0.8
3.0	33.1 \pm 15.4	216.0	0.8 \pm 0.7
4.0	12.5 \pm 5.1		
6.0	11.4 \pm 2.0		
8.0	8.2 \pm 4.3		
12.0	37.7 \pm 34.0		
18.0	41.7 \pm 29.4		
24.0	46.7 \pm 26.3		
48.0	22.1 \pm 8.5		
72.0	13.8 \pm 5.8		

* Mean \pm S.D., N= 6

圖一、海鱺經口投予紅黴素後血中濃度變化（一日組）

對紅黴素投藥三日組而言（表二），於連續投藥三日後，開始犧牲動物。由實驗結果計算得知，血中紅黴素亦在 0.5 小時，達到第一次最高平均血中濃

度（95.5 $\mu\text{g/mL}$ ），於八小時均降到 27.3 $\mu\text{g/mL}$ ；但在投藥後 12 小時，又見血中濃度再度爬升，到 18 小時，達到另一血中濃度的高峰（83.0 $\mu\text{g/}$

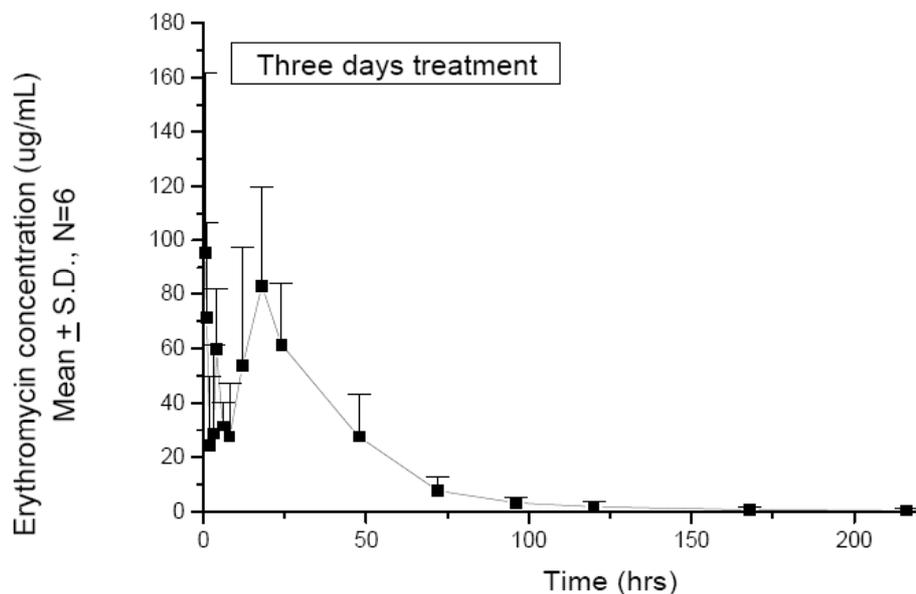
mL)，然後再次緩慢下降。對第二次血中藥物濃度升降而言，血中最高濃度雖不如第一次為高（95.5 對 83.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ），但相對而言，其下降的趨勢亦較第

一次為緩慢，在 72 小時時，血中仍有 7.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的濃度，在 216 小時，亦仍能見可測的血中濃度（圖二）。

表二、經口投予紅黴素後不同時間的血中濃度（三日組）

Time (h)	Concn*. ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Time (h)	Concn*. ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
0.5	95.5±52.9	96.0	3.2±2.0
1.0	71.3±35.1	120.0	1.7±2.0
2.0	24.2±22.6	168.0	0.6±0.9
3.0	28.7±13.4	216.0	0.3±0.8
4.0	59.9±22.0		
6.0	18.6± 31.4		
8.0	27.3±16.8		
12.0	53.7±43.6		
18.0	83.0±36.5		
24.0	61.4±22.4		
48.0	27.3±16.0		
72.0	7.6±5.0		

* Mean \pm S.D., N= 6



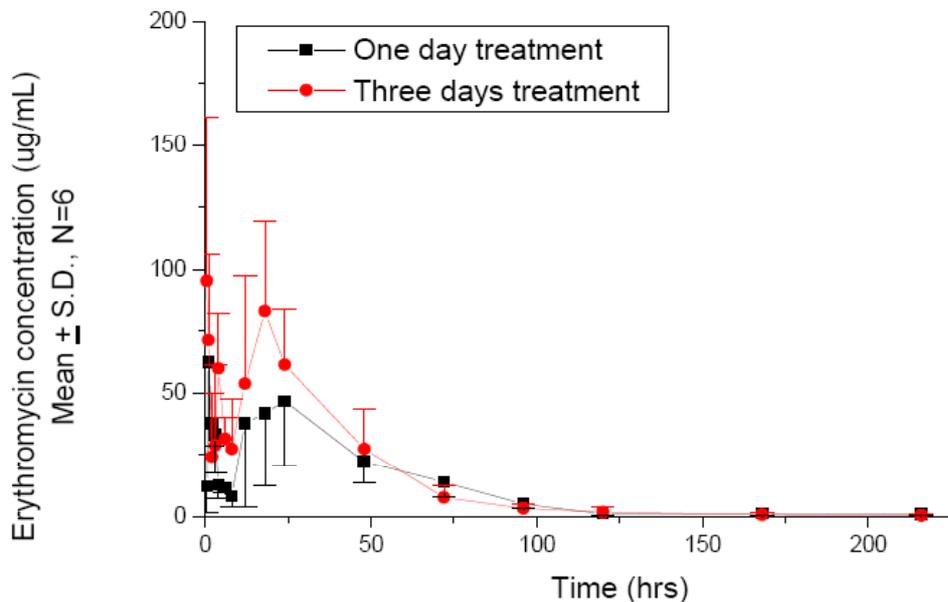
圖二、海鱷經口投予紅黴素後血中濃度變化（三日組）

經由比較紅黴素的二種投藥方法得知，血中濃度雖有高低不同，但卻均以相同的雙高峰型態存在

（圖三），即是會在第一次血中濃度下降後，亦可見到第二次血中濃度的上升，且此血中濃度維持較第一

次為久；此一現象的產生，應該與本藥物的脂溶性有關，研究者推測，魚體內腸肝循環（Enterohepatic circulation）應是合理的機制之一。許多早期研究發現脂溶性藥物（如 nadolo、digoxin 及 steroid contraceptives）體內代謝與腸肝循環有關，腸內容環境改變（口服抗生素、菌叢改變、口服活性炭）均會影響到此藥物的血中代謝濃度（du Souich et al., 1983; Norregaard-Hansen et al., 1986; Hassan, 1987）。有關雙峰血清濃度現象在研究與紅黴素類似的 Azithromycin 藥物動力學時發現，14 個人口服 1 g Azithromycin 後，以微生物法測其血清及淋巴液中藥物濃度，結果在 1.7 ± 0.5 小時出現平均最高濃度為 0.82 ± 0.23 ，然後血清濃度逐漸下降，稍後受測者中有 9 位血清中又發現第二個濃度高峰，推測與腸肝循環有關（Bergan, 1992）。所謂「腸肝循

環」，乃是指肝臟利用血液中膽固醇及脂質合成的膽汁酸，經由膽道系統分泌至腸道，協助脂肪乳化及吸收，但是大部份膽汁酸在到達迴腸末端前會被重吸收，經由門靜脈回到肝臟。推測第二次出現的濃度上升，應是血液中脂溶性紅黴素，經由膽汁分泌到腸道，經由腸肝循環再吸收回到肝臟造成。但真正造成的原因，則需要進行靜脈注射與其它代謝相關試驗，才能真正釐清。無論如何，此一現象將有助藥物的臨床治療效果，相對而言，本藥在標籤/非標籤使用時，更應注意其停藥期地掌握，避免殘留的發生。在行政院衛生署「動物用藥殘留標準」中並無本藥在水產動物的殘留標準，故無法直接與現有標準比較，但因本藥物於水產動物的停藥期在 14-30 天間，因此，在粗略參考禽畜標準（ $0.3 \mu\text{g}/\text{mL}$ ）情況下，使用者如能遵循法定停藥期，應無殘留的疑慮。



圖三、海鱸經口投予紅黴素經口投予血中濃度變化比較（一日、三日組）

致謝

本計畫（94 農科-13.2.5-衛-H4）有關實驗魚飼養、操作、採樣及資料分析承蒙本實驗室研究人

員、水產試驗所生物技術組張正芳博士魚病研究室及臺灣大學獸醫學系藥理研究室張紹光博士協助，在此一併致謝。

參考文獻

1. Bajic S, Doerge DR, Lu L and Hansen EB Jr. 2000. Analysis of erythromycin by liquid chromatography/mass spectrometry using involatile mobile phase with a novel atmospheric pressure ionization source. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 14: 156-160.
2. Bergan T, Jorgensen NP, Olszewski W and Zhang Y. 1992. Azithromycin pharmacokinetics and penetration to lymph. *Scand J Infect Dis Suppl.* 83:15-21.
3. Billedeau SM, Heinze TM and Siitonen PH. 2003. Liquid chromatography analysis of erythromycin A in salmon tissue by electrochemical detection with confirmation by electrospray ionization mass spectrometry. *J Agri Food Chem.* 51: 1534-1538.
4. du Souich P, Caille G and Larochelle P. 1983 Enhancement of nadolol elimination by activated charcoal and antibiotics. *Clin Pharmacol Ther.* 33(5):585-90.
5. Edder P, Coppex L, Cominoli A and Corvi C. 2002. Analysis of erythromycin and oleandomycin residues in food by high-performance liquid chromatography with fluorometric detection. *Food Addit Contam.* 19: 232-240.
6. Einarsson S, Josefsson B, and Lagerkvist S. 1983. Determination of amino acids with 9-fluorenylchloroformate and reversed phase high performance liquid chromatography. *J Chromatogr.* 282: 609-618.
7. Hassan T. 1987 Pharmacologic considerations for patients taking oral contraceptives. *Conn Dent Stud J.* 7:7-8.
8. Janecek M, Quilliam MA, Bailey MR and North DH. 1993. Determination of erythromycin A by liquid chromatography and electrochemical; detection, with application to salmon tissue. *J Chromatogr.* 19: 63-69.
9. Lucchetti D, Fabrizi L, Esposito A, Guandalini E, Di Pasquale M, and Coni E. 2005. Simple confirmatory method for the determination of erythromycin residues in trout: a fast liquid-liquid extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Agri Food Chem.* 14: 9689-9694.
10. Norreqaard-Hansen K, Klitgaard NA and Pedersen KE. 1986 The significance of the enterohepatic circulation on the metabolism of digoxin in patients with the ability of intestinal conversion of the drug. *Acta Med Scand.* 220(1):89-92.

The pharmacokinetics of erythromycin in cobia

Tu C^{1*}, Cherng JC¹, Chang SK², Chand CF³, Chiou RY¹, Huang SM¹ and Chang WM¹

Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan¹,
Veterinary Medicine Department, National Taiwan University² and Tungkang
Technology Research Center, Fisheries Research Institute, Council of Agriculture,
Executive Yuan³

Abstract The erythromycin concentration in the serum of cobia *Rachycentron canadum* were monitored following oral administration of erythromycin once daily, or once every three days. Our results showed that two-peak erythromycin concentrations (46.7--95.5 µg/mL) occurred at 0.5-1 hr and 18-24 hr post oral dosing, respectively. The two-peak pattern of erythromycin concentration in serum, indicating an enterohepatic circulation, was found in both once-a-day and once every three days regimens, which reached the highest concentration at 0.5-1 hr, and retained its highest concentration longer at 18-24 hr. The serum erythromycin concentration decreased to 0.6--1.8 µg/ mL at 216 hr after oral administration. Due to the lack of antibiotic residue standards for erythromycin in fish in the Guidelines for Animal Drug Residues by Department of Health in Taiwan, we can not compare our data to that of the present regulation. If the farmers would follow the withdrawal time of 14--30 days for erythromycin recommended by the Aquatic Animal Drugs Guidelines, the antibiotic residues in cobia should be less than 0.3 µg/g, which was equal to the maximal residue of erythromycin in pig and cow tissues allowing for human consumption in the Guidelines for Animal Drug Residues in Taiwan.

Key words: *cobia Rachycentron canadum, erythromycin, withdrawal period, hard stomach tube*

*Corresponding Author
Animal Health Research Institute