

氟苯尼考在罗非鱼体内的药物动力学

冯敬宾^{1,2}, 李刘冬¹, 贾晓平¹

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业部渔业生态环境重点开放实验室, 广东省渔业生态环境重点实验室,
广东广州 510300; 2. 上海水产大学海洋学院, 上海 200090)

摘要: 氟苯尼考属于动物专用的氯霉素类抗生素, 罗非鱼是我国主要养殖品种之一, 开展氟苯尼考在罗非鱼体内的药物动力学研究对正确用药具有指导意义和实用价值。在22℃水温条件下, 采用药饵给药, 剂量为10 mg·kg⁻¹体重, 研究氟苯尼考在罗非鱼体内的药物动力学。采用非房室模型统计矩原理计算药物动力学参数, 血浆和肌肉峰药物浓度(C_{max})分别为4.46 μg·mL⁻¹和6.88 μg·g⁻¹, 达峰时间(T_{max})均为12 h, 血浆和肌肉的药物浓度-时间曲线下面积(AUC)分别为86.68 h·μg·mL⁻¹和112.71 h·μg·g⁻¹, 消除半衰期($T_{1/2\beta}$)分别为10.03和10.97 h。本实验条件下, 血浆和肌肉中药物维持在有效治疗浓度(MIC取0.8 μg·mL⁻¹)以上的时间均在40 h以上。在给药后168 h, 血浆中药物浓度为0.04 μg·mL⁻¹, 而肌肉中已经检测不到氟苯尼考(检出限为0.03 μg·g⁻¹)。试验数据表明, 氟苯尼考不仅治疗效果良好, 而且在罗非鱼体内消除快、残留少, 具有良好的应有价值。

关键词: 药物动力学; 氟苯尼考; 罗非鱼; 血浆; 肌肉

中图分类号: S948

文献标识码: A

文章编号: 1673-2227-(2006)05-0025-05

Pharmacokinetics of florfenicol in tilapia

FENG Jingbin^{1,2}, LI Liudong¹, JIA Xiaoping¹

(1. South China Sea Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Key Lab. of Marine Fishery Ecology Environment and Pollution Monitoring & Control Techniques, Ministry of Agriculture, Key Lab. of Marine Fishery Ecology Environment and Pollution Monitoring & Control Techniques, Guangdong Province, Guangzhou 510300, China; 2. Marine College, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: Florfenicol, the latest generation chloramphenicols, has been specifically developed for veterinary use. Tilapia is a very important cultured fish species in China. Therefore the studies on pharmacokinetics of florfenicol in tilapia will be very helpful to guide the use of the drug. The pharmacokinetics of florfenicol was studied in plasma of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) in freshwater at 22℃. The fish weighing about 98 g were forced-fed with medicated feed containing a single dose of 10 mg·kg⁻¹ bodyweight of florfenicol. The pharmacokinetic data derived from the experiment were analyzed by non-compartmental methods based on statistical moment theory. The peak drug concentrations (C_{max}) in plasma and muscle were estimated to be 4.46 μg·mL⁻¹ and 6.88 μg·g⁻¹, respectively, and the time to the peak drug concentration (T_{max}) in both plasma and muscle was 12 h. And correspondingly the elimination half-lives during elimination phase ($T_{1/2\beta}$) were 10.03 h in plasma and 10.97 h in muscle. The drug concentrations in both plasma and muscle maintained above the effective concentrations (MIC≤0.8 μg·mL⁻¹) beyond 40 h following a single oral dose of 10 mg

收稿日期: 2006-05-31; 修回日期: 2006-08-23

资助项目: 广东省科技计划项目(2003D21501); 珠海市科技计划项目(BC200320016)

作者简介: 冯敬宾(1978-), 男, 硕士, 从事渔业水域环境评价与保护及水产动物药理学及残留研究。E-mail: fengjb0618@126.com

作者简介: 贾晓平, E-mail: Jiaxiaoping53@163.com

florfenicol·kg⁻¹, and at 168 h after administration, the drug level, was 0.04 μg·mL⁻¹ in plasma and was below detection limit (0.03 μg·g⁻¹) in muscle, which indicated florfenicol was effective against pathogens and rapidly eliminated, resulted in low residue in tilapia, so it was safe to be used. Therefore, florfenicol was of great value for the control of bacterial diseases in fish.

Key words: pharmacokinetics; florfenicol; tilapia; plasma; muscle

氟苯尼考是甲砜霉素的氟化衍生物，属于动物专用的氯霉素类抗生素。药效学研究表明，氟苯尼考对多种革兰氏阴性和阳性致病菌显示出了良好的抗菌活性，抑菌效果非常显著^[1,2]。目前，美国、日本和欧盟等国家已对水产动物体中氟苯尼考的药物动力学进行了一系列相关研究。而在国内，氟苯尼考在水产动物体内的药物动力学研究却鲜有报道，水产养殖中用药比较盲目，这不但影响疾病防治效果，亦导致药物残留，影响水产品质量。

罗非鱼是世界性的重要养殖品种之一，我国是世界上最大的罗非鱼养殖国，2004年我国罗非鱼产量达89.7万t，出口量为8.5万t，罗非鱼产业在我国具有巨大的发展前景。可见，开展氟苯尼考在罗非鱼体内的动力学研究对正确用药具有指导意义和实用价值。在此背景下，我们研究了22℃淡水条件下氟苯尼考在罗非鱼体内的吸收、分布和消除规律，以期为合理用药提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器及色谱条件

1.1.1 仪器 日本日立LC-6200高效液相色谱仪；KL512型氮吹仪（配备数控恒温水浴装置）；FJ-200高速分散均质机；TDL-500B调温离心机等。

1.1.2 色谱条件 流动相乙腈-水(25:75, v/v), 经0.45 μm滤膜过滤后，置于棕色试剂瓶中，超声波脱气10 min后，备使用；流速1.0 mL·min⁻¹；Nucleodur C18色谱柱(4.6×250 mm, 粒度5 μm)，柱温20℃；紫外检测波长223 nm。

1.2 药品、试剂及配制方法

氟苯尼考标准品，Sigma公司；氯霉素标准品，含量99.6%，中国生物制品检定所；乙腈，色谱纯，Fisher公司；氟苯尼考水溶性粉，华南农业大学实验兽药厂提供。

标准液和内标液配制方法：准确称取0.050 g干燥恒重的氟苯尼考标准品，置于50 mL烧杯中，用适量乙醇溶解后，转移到50 mL容量瓶中，用流

动相乙腈-水(25:75, v/v)稀释至刻度，即成1000 μg·mL⁻¹母液，置于-20℃避光保存备用。准确称取0.050 g氯霉素标准品，于100 mL烧杯中用流动相溶解，转移到100 mL容量瓶中，配制成500 μg·mL⁻¹溶液，-20℃保存。

1.3 实验鱼驯养

健康奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)100尾，平均体重98 g，由广东省国家级罗非鱼良种场提供。

试验前罗非鱼暂养于室外3.5 m×1 m×1.6 m的水池中，供氧充足。试验时，将罗非鱼转移到实验室玻璃水族箱(50 cm×30 cm×30 cm)内。转移罗非鱼具体方法为：转移前停喂1 d，将鱼装入双层胶囊袋中，袋中鱼和水体积比约为1:1，充氧密封运输至实验室，鱼+水与纯氧体积比约为1:3。转移过程中，保证转移水体间温差在5℃以内。采用电热棒调节和控制水温，以每天2~3℃的速度调至实验温度22℃，禁食驯养3 d后开始实验。

实验期间自然光照，供氧充足，并及时清除残饵以及罗非鱼粪便。每天换水1次，每次更换各水族箱水体的1/3。给药后24 h后投喂未加药物的空白饲料，每天投喂1次。

1.4 药饵配制及给药方法

氟苯尼考可溶性粉悬浊液配制方法：可溶性药粉用蒸馏水溶解，搅拌均匀至悬浊状，使浓度为5 mg·mL⁻¹，备用（使用时搅拌均匀）。

将1 mL注射器输出端切除，抛光，然后装入0.2 g空白颗粒饲料(Φ3.5 mm)，然后用定量加液器将可溶性药粉悬浊液(5 mg·mL⁻¹)加入注射器，每克鱼体重2 μL，相当于剂量10 mg·kg⁻¹鱼体重，使药液充分浸入饲料。小心地将注射器通过食道，然后推动活塞将药饵送入鱼胃，注意观察注射器插入食道的长度，以免将鱼胃捅破。给药后将鱼单独放入一个水盆中观察5 min，反胃回吐药饵的鱼弃去。

1.5 样品的采集与制备

给药前先采一组空白样，然后从给药后2 h开始取样至168 h，每个时间点取5尾鱼。每尾鱼用2.5 mL静脉注射器（肝素钠抗凝剂处理）在尾静脉内采血，以3 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min，分离血浆。将鱼处死，取背脊两侧肌肉。在同一采样点，将同一组织的各样品合并，-20℃保存至分析。

1.6 样品分析

血浆和肌肉样品分析方法详见冯敬宾等^[3]的报道。在1 mL血浆或1 g肌肉组织中加入5 μg 氯霉素作内标，加入磷酸盐缓冲液，8 mL乙酸乙酯提取药物，氮气吹干，1 mL流动相溶解，0.5 mL正己烷去除脂肪，过滤，20 μL 进样检测。标准曲线浓度范围为0.03~16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，以0.125、1和8 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 3个浓度的加标样品计算回收率和精密度。

1.7 数据处理

标准曲线回归分析应用Microsoft Excel软件进行分析，药物动力学参数应用非房室模型的统计矩原理进行计算^[4]。

2 结果

2.1 方法确证

在线性范围0.03~16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($n=8$)内，所得标准曲线相关系数 $R=0.9999$ 。本试验所用仪

器噪声为0.0193 mAU，按信噪比 $S/N=3$ 计算，并根据线性范围，确定本方法的检出限为0.03 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。血浆和肌肉组织中3个浓度水平的药物回收率均在99%以上。测得的批内精密度($n=5$)和批间精密度($n=6$)均小于6.5%。满足药物动力学分析要求。

2.2 氟苯尼考在罗非鱼体内的药物动力学

在22℃水温条件下，以剂量10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给罗非鱼一次口服氟苯尼考药饵后，血浆和肌肉药物浓度-时间曲线见图1，有关药物动力学参数详见表1。

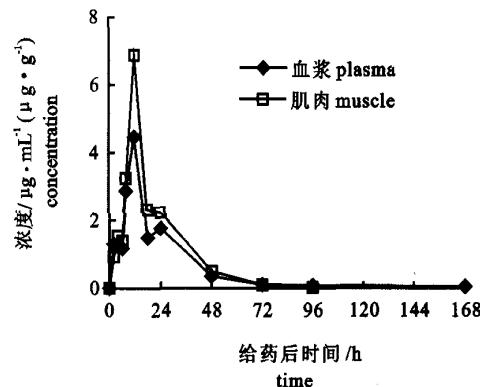


图1 22℃水温下氟苯尼考在罗非鱼血浆和肌
肉内的药-时曲线

Fig. 1 Concentration of florfenicol in the plasma and muscle of tilapia after single oral administration of 10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ body weight at 22°C

表1 22℃水温条件下氟苯尼考在罗非鱼体内的药物动力学参数

Tab. 1 Pharmacokinetic parameters for florfenicol in tilapia after oral administration at 22°C

组织 tissue	剂量 /mg·kg ⁻¹ dose	药-时曲线下面积 /h·μg·mL ⁻¹ (h·μg·g ⁻¹) AUC	峰药物 浓度/μg·mL ⁻¹ (μg·g ⁻¹) C_{max}	达峰时 间/h T_{max}	消除速率 常数β /h ⁻¹	消除半衰 期/h $T_{1/2\beta}$	AUC与时间的乘积 /h ² ·μg·mL ⁻¹ (h ² ·μg·g ⁻¹) AUMC	平均滞留 时间/h MRT
血浆 plasma	10	86.68	4.46	12	0.0691	10.03	1864.34	21.51
肌肉 muscle	10	112.71	6.88	12	0.0632	10.97	2234.85	19.83

结果显示，血浆和肌肉组织中的药物浓度随时间变化的趋势基本相似。从总的的趋势来看，在给药后0~12 h，是药物的吸收过程，在这一时段内血浆和肌肉组织中的药物浓度呈升高趋势。其中，在

0~2 h时段血浆和肌肉中的药物浓度分别迅速上升，在给药后2 h时分别达到1.30 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和0.92 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。在2~6 h时段，药物吸收似乎减缓，药物浓度上升相对缓慢，在6 h时肌肉的药物浓度

仅上升至 $1.54 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，上升幅度不大，而血浆中药物浓度还略有下降，由 $1.30 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 降为 $1.18 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。在 6~12 h，血浆和肌肉组织中药物浓度又显著升高，并且在 12 h 时血浆和肌肉组织中药物浓度达到峰值，其浓度分别为 $4.46 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $6.88 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，肌肉组织中的药物浓度明显高于血浆中药物浓度（1.54 倍）。

在给药 12 h 以后进入药物消除阶段，在 12~18 h，血浆和肌肉组织中药物浓度均迅速下降，在 18 h 时药浓度分别下降到 $1.49 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $2.32 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，分别为 12 h 峰值药浓度的 33% 和 34%。在 18~24 h 时段，药浓度似乎存在一个相对停滞或缓慢下降阶段，在 24 h 时血浆和肌肉中药物浓度分别为 $1.77 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $2.24 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，肌肉中药物浓度仅略有下降，而血浆中药物浓度略有回升。在 24~48 h 时段，血浆和肌肉中药物浓度又迅速下降，至 48 h 时分别下降到 $0.36 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $0.49 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，仅分别为 12 h 峰值药浓度的 8.1% 和 7.1%。48 h 以后血浆和肌肉中药物浓度下降速度均逐渐变缓，至 72 h 时血浆中药物浓度下降为 $0.11 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，至 96 h 下降为 $0.08 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，至 168 h，药物浓度下降为 $0.04 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。比较而言，肌肉中药物在 48 h 以后下降速度快于血浆，至 72 h 时药物浓度分别下降为 $0.10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，至 96 h 下降为 $0.03 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ，至 168 h 肌肉组织中已经检测不到药物。根据以上试验结果可知，在 22℃ 淡水条件下给罗非鱼口服药饵后 12~72 h 时段，药物在血浆和肌肉组织中消除速率分别符合指数方程 $C_t = 10.617e^{-0.0691t}$ 和 $C_t = 11.652e^{-0.0632t}$ 所描述的规律，其消除半衰期 ($T_{1/2\beta}$) 分别为 10.03 和 10.97 h，血浆中药物的消除速率约略快于肌肉组织。

3 讨论

3.1 氟苯尼考的吸收

本研究数据表明，在 22℃ 水温条件下罗非鱼血浆的峰药物浓度 (C_{\max}) 和达峰时间 (T_{\max}) 分别为 $4.46 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 12 h，肌肉的药峰浓度 C_{\max} 和达峰时间 T_{\max} 分别为 $6.88 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 12 h。由于目前尚未见到其他有关罗非鱼体内氟苯尼考的药物动力学研究的报道，因此将本试验数据与同类药物氯霉素在罗非鱼体内的吸收和消除作比较。杨先乐

等^[5]采用 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 单剂量口灌给药，研究了氯霉素在尼罗罗非鱼血浆内的药物动力学。其研究结果表明，在 26 和 18℃ 水温条件下，2 龄罗非鱼（平均体重 241 g）的药物达峰时间 T_{\max} 分别为 3.49 和 7.76 h，18℃ 水温条件下 1 龄罗非鱼（平均体重 65 g）的 T_{\max} 为 4.20 h。与他们的试验相比，无论是在低于本试验的水温（18℃）条件下，还是在高于本试验的水温（26℃）条件下，氯霉素的达峰时间均比较短，即罗非鱼对氯霉素的吸收速度均快于对氟苯尼考的吸收速度，也表明水温不是影响 2 种药物在罗非鱼体内吸收速度差别的主要因素。同样，由于本实验采用的罗非鱼的平均体重（98 g）介于他们实验选用的 1 龄和 2 龄罗非鱼的平均体重之间，因此，实验鱼的平均体重也不是影响氟苯尼考和氯霉素在罗非鱼体内的吸收速度差别的主要因素。基于以上分析，我们认为罗非鱼对氟苯尼考的吸收速度低于氯霉素的主要原因除药物结构差异外，另一个主要原因可能是由于 2 种口服药物的剂型不同造成的。杨先乐等^[5]的实验采用口灌给药，胃肠道对溶液药剂的吸收比较迅速，呈一级吸收，因此药物达峰时间短。另外，唐雪莲等^[6]在 24℃ 水温下给海水鲈鱼以 $80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 单次口灌氯霉素后，得到的 T_{\max} 为 3.96 h，同样说明鱼胃肠道对溶液药剂的吸收比较迅速。而本实验采用的是口服颗粒药饵给药，药饵在胃肠道内的运动速度比较慢，药物需要经历崩解、分散和溶出等复杂的过程，因此药物的吸收相对较慢，到达最高药物浓度需要的时间较长。因此，建议在用药时应根据鱼类对不同类型和剂型药物的吸收特点，考虑采用适当的给药方式和药物剂型。

3.2 氟苯尼考的消除

本研究结果显示，氟苯尼考在罗非鱼血浆和肌肉内的消除半衰期 ($T_{1/2\beta}$) 分别为 10.03 和 10.97 h，这表明氟苯尼考在罗非鱼体内的消除较快。杨先乐等^[5]的研究发现，在 26 和 18℃ 水温条件下，2 龄罗非鱼血浆内氯霉素的 $T_{1/2\beta}$ 分别 50.72 和 65.40 h，在 18℃ 水温条件下 1 龄罗非鱼的 $T_{1/2\beta}$ 为 118.48 h。比较而言，本实验氟苯尼考在罗非鱼血浆内的消除半衰期仅相当于 2 龄罗非鱼血浆内氯霉素 $T_{1/2\beta}$ 的 1/5，相当于 1 龄罗非鱼 $T_{1/2\beta}$ 的 1/11，表明罗非鱼体内氟苯尼考的消除速度远远快于氯霉素。

的消除速度。我们认为，罗非鱼对氟苯尼考消除速率快于氯霉素的主要原因除药物结构不同外，可能是2种口服药物的剂量不同造成的。这是因为当体内药物量增加到一定程度，即达到“阈值”药量时，机体内药物的消除过程不再符合一级消除动力学规律，药物的代谢和消除速度不再和剂量成正比例关系，相反甚至会抑制药物代谢而使消除速度减慢。本实验采用的剂量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，氟苯尼考的代谢消除速度和剂量成正比，因此药物的消除速度较快。而杨先乐等^[5]的实验采用的剂量为 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，2龄和1龄罗非鱼体内的血浆峰药物浓度分别为 20.51 和 $24.07 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，这一较高的剂量水平使2龄罗非鱼体内药物的消除呈较慢速度($T_{1/2\beta}$ 为 65.40 h)，并且在1龄罗非鱼体内的消除速度则更慢，其 $T_{1/2\beta}$ 长达 118.48 h 。机体内较高的血药浓度，可能会引起药物中毒反应或者潜在的毒性作用，因此在实际生产中用药时，应根据药物治疗效果控制剂量，减少残留。

3.3 对氟苯尼考应用的建议

对于抗菌药物氟苯尼考，SHOJAAE ALIABADI 和 LEES^[7]认为，在整个用药期间感染部位药物浓度维持在 MIC 以上即可达到治疗的效果。抗菌活性研究结果表明，氟苯尼考对常见致病菌鳗弧菌、杀鲑气单胞菌、巴斯德氏菌和迟钝爱德华氏菌等的 MIC 值为 $0.5 \sim 0.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[2,8-10]。按本试验获得的数据计算，罗非鱼血浆和肌肉中氟苯尼考的浓度维持在 $0.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) 以上的时间可达 40 h ，维持在 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以上的时间亦在 36 h 以上。使用 SHOJAAE ALIABADI 和 LEES^[7]推荐的标准，可以采取以 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量每隔 36 h 进行多次给药的方式，使罗非鱼体内药物浓度维持在 $1.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以上，即可有效治疗上述致病菌引起的罗非鱼感染。

氟苯尼考在罗非鱼体内消除速率快，给药 48 h 后，罗非鱼血浆和肌肉中药物浓度可分别下降至 $0.36 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $0.49 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ，即已低于加拿大推

荐的最高残留限标准即 $0.8 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ；至 168 h 时，血浆中药物浓度可下降至 $0.04 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，而肌肉组织中药物浓度已低于检测限。如果以本试验采取的 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量每隔 36 h 进行多次给药，以日本制定的鲈形目鱼类（罗非鱼属鲈形目鱼类）氟苯尼考停药期 5 d 为限，商品罗非鱼血浆和肌肉中的药物残留将低于日本、加拿大推荐的最高残留限量标准。

参考文献：

- [1] CANNON M, HARFORD S, DAVIES J. A comparative study on the inhibitory actions of chloramphenicol, thiamphenicol and some fluorinated derivatives [J]. J Antimicrob Chemotherapy, 1990, 26: 307 - 371.
- [2] FUKUI H, FUJIHARA Y, KANO Y. In vitro and in vivo antibacterial activities of florfenicol, a new fluorinated analog of thiamphenicol, against fish pathogens [J]. Fish Pathol, 1987, 22: 201 - 207.
- [3] 冯敬宾, 贾晓平, 李刘冬. 罗非鱼体内氟甲砜霉素的高效液相色谱测定方法研究 [J]. 南方水产, 2005, 1 (1): 35 - 42.
- [4] 宋振玉. 药物代谢研究—意义、方法、应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 134 - 146.
- [5] 杨先乐, 湛嘉, 胡铌. 氯霉素在尼罗罗非鱼血浆中的药代动力学研究 [J]. 水产学报, 2005, 29 (1): 60 - 65.
- [6] 唐雪莲, 王群, 李健. 氯霉素在鲈鱼体内的药代动力学及残留的研究 [J]. 海洋水产研究, 2003, 24 (2): 45 - 50.
- [7] SHOJAAE ALIABADI F, LEES P. Antibiotic treatment for animals: effect on bacterial population and dosage regimen optimization [J]. Int J Antimicrob Agents, 2000, 14 (4): 307 - 313.
- [8] SAMUELSEN O B, BERGH Ø, ERVIK A. Pharmacokinetics of florfenicol in cod *Gadus morhua* and *in vitro* antibacterial activity against *Vibrio anguillarum* [J]. Dis Aquat Org, 2003, 56 (2): 127 - 133.
- [9] INGLIS V, RICHARDS R H. The *in vitro* susceptibility of *Aeromonas salmonicida* and other fish-pathogenic bacteria to 29 antimicrobial agents [J]. J Fish Dis, 1991, 14 (6): 641 - 650.
- [10] KIM E-H, YOSHIDA T, AOKI T. Detection of R plasmid encoded with resistance to florfenicol in *Pasteurella piscicida* [J]. Fish Pathol, 1993, 28 (4): 165 - 170.