

Állatorvostudományi Egyetem

Aujeszky Aladár Elméleti Állatorvostudományok Doktori Iskola



**A florfenikol és az enrofloxacin farmakokinetikai és
farmakodinámiai vizsgálata sertés ízületi folyadékban és
vérplazmában**

PhD értekezés

dr. Somogyi Zoltán

2023

Témavezető és témabizottsági tagok:

Dr. Jerzsele Ákos Ph.D., egyetemi docens

Tudományos és innovációs rektorhelyettes, tanszékvezető

Állatorvostudományi Egyetem

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék

Témavezető

Dr. Makrai László Ph.D., egyetemi docens

Állatorvostudományi Egyetem

Járványtani Tanszék

Témabizottság tagja

Dr. Gyuranecz Miklós, tudományos tanácsadó

Témacsoport vezető

Állatorvostudományi Kutatóintézet

Zoonotikus Bakteriológiai és Mycoplasmatológiai Témacsoport

Témabizottság tagja

Készült 2 példányban. Ez a n. sz. példány.

dr. Somogyi Zoltán

Tartalomjegyzék és rövidítések

1. Összefoglalás	7
2. Bevezetés és célkitűzés	10
3. Irodalmi áttekintés	12
3.1 Florfenicol.....	12
3.1.1 Szerkezet	12
3.1.2 Hatásmechanizmus és hatásmód	13
3.1.3 Antibakteriális spektrum és indikációk	13
3.1.4 Rezisztencia	14
3.1.5 Farmakokinetika	14
3.1.6 Mellékhatások.....	17
3.2 Enrofloxacin.....	18
3.2.1 Szerkezet	18
3.2.2 Hatásmechanizmus és hatásmód	19
3.2.3 Antibakteriális spektrum és indikációk	19
3.2.4 Csoportosítás	20
3.2.5 Rezisztencia	21
3.2.6 Farmakokinetika	22
3.2.7 Mellékhatások.....	24
3.3 <i>Streptococcus suis</i>	25
3.3.1 Morfológia	25
3.3.2 Járványtan.....	25
3.3.3 Klinikai tünetek	26
3.3.4 Megelőzés, gyógykezelés	27
3.4 Farmakokinetikai/farmakodinámiai analízis	28
4. Anyagok és módszerek	33
4.1 Sertéseken végzett farmakokinetikai vizsgálatok.....	33
4.1.1 A kísérletek összefoglalása.....	33
4.1.2 A kísérleti állatok	33
4.1.3 Gyógyszerbeadás, mintavétel és tárolás	34
4.1.4 LC-MS/MS-mérés	37
4.1.5 Farmakokinetikai paraméterek meghatározása	38
4.1.6 Populációs farmakokinetikai analízis	40
4.1.7 Monte Carlo szimuláció.....	43
4.1.8 PK/PD határértékek meghatározása	43

4.2	A florfenikol farmakodinámiai paramétereinek vizsgálata egy <i>S. suis</i> izolátumon.....	48
4.2.1	<i>In vitro</i> ölési görbék vizsgálata három különböző tápközegben.....	48
4.2.2	Farmakodinámiai célérték meghatározása	50
4.3	Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok.....	51
5.	Eredmények.....	52
5.1	Sertéseken végzett farmakokinetikai vizsgálatok.....	52
5.1.1	Florfenikol 15 mg/kg-os, egyszeri im. beadását követő farmakokinetikai vizsgálatok.....	52
5.1.2	Florfenikol 30 mg/kg-os, egyszeri im. beadását követő farmakokinetikai vizsgálatok.....	67
5.1.3	A florfenikol ízületi folyadék és vérplazma aránya	82
5.1.4	Florfenikol PK/PD _{CO} értékek összehasonlítása.....	83
5.1.5	Enrofloxacin 7,5 mg/kg-os, egyszeri sc. beadását követő farmakokinetikai vizsgálatok.....	84
5.2	A florfenikol farmakodinámiai paramétereinek vizsgálata egy <i>S. suis</i> izolátumon.....	97
5.2.1	<i>In vitro</i> ölési görbék.....	97
5.2.2	Farmakodinámiai célérték meghatározása	99
5.3	Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok.....	101
6.	Megbeszélés	102
6.1	Florfenikol.....	102
6.2	Enrofloxacin.....	109
6.3	Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok	113
7.	Új tudományos eredmények	115
8.	Irodalom.....	116
9.	A doktori kutatás eredményeinek közlései	127
10.	Köszönetnyilvánítás	129

Rövidítések jegyzéke

-2LL – log likelihood

AIC – akaike információs kritérium

AUC_{0-∞} – plazmakoncentráció-idő görbe alatti terület végtelenre extrapolálva

AUC_{24h} – plazmakoncentráció-idő görbe alatti terület 24 órára kiszámítva

AUC/MIC – a két gyógyszerbeadás közötti időintervallum azon része órában kifejezve, amely során az antibakteriális szer koncentrációja meghaladja a baktériumszaporodás gátlásához szükséges koncentrációt

BSV – egyedek közötti változékonyság

CA-MH – kationadjuvált Mueller-Hinton leves

C_{avg24h} – 24 órára vetített átlagos plazmakoncentráció a vérplazmában és az ízületi folyadékban

CBP – klinikai határérték

CFU – telepfomrázó egységek

CI – teljes test clearance

CLSI – Klinikai és Laboratóriumi Szabványügyi Intézet

C_{max} – maximális plazmakoncentráció

C_{max}/MIC – az antibakteriális szer maximális plazmakoncentrációjának és a vizsgált baktérium MIC-értékének aránya

CWRES – feltételes súlyozott maradékérték

DV – függő változó

E₀ = kezdeti log₁₀ alapú élő baktériumsejtszám

EC₅₀ = florfenikol *in vitro* koncentráció-idő összefüggése, amely a maximális ölési képesség felét képes kifejteni

ECDC – Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ

EFSA – Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság

EMA – Európai Gyógyszerügynökség

E_{max} = maximális (válasz) ölési képesség

FDA – Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hivatala

γ = Hill-koefficiens (a görbe meredeksége)

HPLC – nagy teljesítményű folyadékkromatográfia

im. – intramuszkuláris

IPRED – az egyéni etákon alapuló előrejelzett érték

iv. – intravénás

K_{ab} – felszívódás sebességi állandó Ke – eliminációs sebességi állandó

LC-MS/MS – folyadékkromatográfiával kapcsolt tandem tömegspektrometria

LOD – kimutatási határ

LOQ – meghatározási határ

MIC – minimális gátló koncentráció

MIC₅₀ – az a koncentráció, amely az adott fajba tartozó izolátumok 50%-át gátolja

MIC₉₀ – az a koncentráció, amely az adott fajba tartozó izolátumok 90%-át gátolja

NLME – nem lineáris vegyes hatású modell

PK/PD analízis – farmakokinetikai/farmakodinámiai analízis

PK/PD_{CO} – farmakokinetikai/farmakodinámiai határérték

PDT – farmakodinámiai célérték

p.o. – szájon át

PRED – populációs paraméterbecsléseken alapuló populációs előrejelzett érték

PRRS – a sertések reprodukciós zavarokkal és légzőszervi tünetekkel járó szindrómája

PTA – a célérték elérésének valószínűsége

QRPEM – quasi-random parametric expectation maximization

RSD – relatív standard eloszlás

sc. = szubkután

SD – standard eloszlás

t_{1/2ab} – felszívódási felezési idő

t_{1/2el} – eliminációs felezési idő

t_{max} – a C_{max} eléréséhez szükséges idő

V_d – látszólagos megoszlási térfogat

VPC – vizuális prediktív ellenőrzés

%T>MIC – a két gyógyszerbeadás közötti időintervallum azon része százalékban kifejezve, amely során az antibakteriális szer koncentrációja meghaladja a baktériumszaporodás gátlásához szükséges koncentrációt

1. Összefoglalás

Az antibakteriális szerekkel szembeni rezisztencia korunk egyik legnagyobb kihívása a köz- és állategészségügy számára egyaránt. Amellett, hogy több világszervezet is az antibakteriális szerek felhasználásának csökkentésére hívja fel a figyelmet, ezeknek a készítményeknek az alkalmazása azonban az intenzív állattartási rendszerekben könnyebben állategészségügyi problémává váló fakultatív patogének miatt elkerülhetetlen. Ennek következtében fontos, hogy minél több információval rendelkezünk a telepi körülmények között alkalmazott antimikrobiális szerek szervezeten belüli viselkedéséről, azaz azok farmakokinetikai és farmakodinámiai tulajdonságairól. A farmakokinetika szempontjából kiemelkedően fontos, hogy ne csak a vérplazmában, hanem a hatás, tehát tulajdonképpen a fertőzés helyéről is legyenek ilyen jellegű információink. Mindez azért nagy jelentőségű, mert az antibakteriális terápia így tehető még célzottabbá, vagyis kórokozóra, állatfajra és hatás helyre szabottá. Ezekkel a paraméterekkel az antibakteriális terápia során alkalmazott dózis, a két beadás közötti időtartam és a kezelés hossza pontosan meghatározhatók. Minderre azért van szükség, hogy a klinikai- és mikrobiológiai hatékonyság mellett, minél kisebb esélyt biztosítsunk az adott antibakteriális szerrel szemben rezisztens baktériumtörzsek szelekciójára.

Jelen kutatómunka során a florfenikol és enrofloxacin farmakokinetikai tulajdonságait vizsgáltuk sertés vérplazmában és ízületi folyadékban. A sertésegészségügyben nagy kihívást jelent a fertőző eredetű sántaságok gyógykezelése amellet, hogy nagy gazdasági kártétellel is járnak és állatjóléti hatásuk sem elhanyagolható. A fertőző eredetű sántaságok hátterében gyakran fordul elő *Streptococcus (S.) suis*, így vizsgálataink során ezzel a baktériumfajjal kapcsolatban vizsgáltuk a két hatóanyagot.

A florfenikol esetében két különböző-, míg az enrofloxacinnál az engedélyezett dózisban elemeztük a gyógyszerkoncentrációkat sertés vérplazmában és ízületi folyadékban. Elsőként a florfenikolt vizsgáltuk, az engedélyezett 15 mg/kg-os dózisban, egyszeri intramuszkuláris (im.) alkalmazást követően, majd ugyanezt a hatóanyagot, a nagyobb 30 mg/kg-os dózisban, egyszeri im. alkalmazást követően. Utóbbit, az indikációs kör esetleges bővítése céljából tanulmányoztuk. Harmadik kutatásunkban az enrofloxacint 7,5 mg/kg-os dózisban, egyszeri szubkután (sc.) beadást követően vizsgáltuk.

Mindhárom esetben az LC-MS/MS technikával meghatározott koncentráció értékek alapján értékeltük a hatóanyagok koncentráció-idő görbéit sertés vérplazmában és ízületi folyadékban, majd nemrekeszes farmakokinetikai analízissel egyedenként számítottuk ki a főbb farmakokinetikai paramétereket (C_{max} , t_{max} , $t_{1/2el}$, K_e , AUC_{24h} , $AUC_{0-\infty}$, V_d , Cl).

Ezt követően, egy nem lineáris vegyes hatású modell alkalmazásával meghatároztuk a megfelelő populációs farmakokinetikai modellt, amelyet a log likelihood legalacsonyabb értékei, az Akaike információs kritérium, a grafikonok vizuális vizsgálata, a vizuális prediktív ellenőrzés grafikonjai és a Phoenix modell-összehasonlító eszköze alapján választottunk ki, amelyek minden esetben egyrekeszes farmakokinetikai modellt eredményeztek. A következő lépésben Monte Carlo szimulációval minden esetben célpopulációt hoztunk létre, amelyek értékeit ismét nemrekeszes analízissel értékeltük.

A florfenikol 15 mg/kg-os alkalmazása során sertés vérplazmában a maximális plazmakoncentráció $3,02 \pm 1,7 \mu\text{g/ml}$ -nek bizonyult, amelyet $1,18 \pm 0,44 \text{ h}$ alatt ért el. A vérplazmában a teljes test clearance $0,18 \pm 0,04 \text{ (l/h)/kg}$, míg a látszólagos megoszlási térfogat (V_d) $6,44 \pm 3,68 \text{ l/kg}$ volt. A görbe alatti terület végtelenre extrapolálva $84,82 \pm 18,91 \text{ (h} \times \mu\text{g)/ml}$ -nek bizonyult. Ebben az alkalmazási módban a florfenikol C_{max} -ja $1,81 \pm 0,82 \mu\text{g/ml}$ volt sertés ízületi folyadékban, amelyet $2,71 \pm 1,32 \text{ h}$ alatt ért el. Az ízületi folyadékban a CI $0,28 \pm 0,12 \text{ (l/h)/kg}$ -nak, míg V_d $9,18 \pm 3,88 \text{ l/kg}$ -nak bizonyult. A $\text{AUC}_{0-\infty}$ $64,69 \pm 28,12 \text{ (h} \times \mu\text{g)/ml}$ volt.

A florfenikol 30 mg/kg-os kísérlete során a vérplazmában a C_{max} $7,57 \pm 2,89 \mu\text{g/ml}$ -nek bizonyult, amelyet $1,05 \pm 0,21 \text{ h}$ (t_{max}) alatt ért el. A vérplazmában a CI $0,19 \pm 0,04 \text{ (l/h)/kg}$ -nak, míg a V_d $4,51 \pm 2,07 \text{ l/kg}$ -nak bizonyult. A $\text{AUC}_{0-\infty}$ $166,94 \pm 33,74 \text{ (h} \times \mu\text{g)/ml}$ volt. Ebben az alkalmazási módban a florfenikol C_{max} -ja $2,54 \pm 0,67 \mu\text{g/ml}$ volt az ízületi folyadékban, amelyet $1,00 \pm 0,00 \text{ h}$ alatt ért el. Ezen a hatás helyen a CI $0,47 \pm 0,16 \text{ (l/h)/kg}$ -nak, míg a V_d $12,45 \pm 3,56 \text{ l/kg}$ -nak bizonyult. A $\text{AUC}_{0-\infty}$ $71,42 \pm 23,89 \text{ (h} \times \mu\text{g)/ml}$ volt.

Az enrofloxacin 7,5 mg/kg-os alkalmazása során a vérplazmában a C_{max} $1,66 \pm 0,33 \mu\text{g/ml}$ -nek bizonyult, amelyet $5,03 \pm 1,62 \text{ h}$ alatt ért el. A vérplazmában a CI $0,19 \pm 0,02 \text{ (l/h)/kg}$ -nak, míg a V_d $3,57 \pm 0,64 \text{ l/kg}$ -nak bizonyult. A $\text{AUC}_{0-\infty}$ $38,89 \pm 3,89 \text{ (h} \times \mu\text{g)/ml}$ volt. Az enrofloxacin C_{max} -ja $1,67 \pm 0,49 \mu\text{g/ml}$ volt sertés ízületi folyadékban, amelyet $8,60 \pm 2,09 \text{ h}$ alatt ért el. Az ízületi folyadékban a CI $0,18 \pm 0,05 \text{ (l/h)/kg}$ -nak, míg a V_d $2,96 \pm 0,97 \text{ l/kg}$ -nak bizonyult. A $\text{AUC}_{0-\infty}$ $45,26 \pm 12,68 \text{ (h} \times \mu\text{g)/ml}$ volt.

A célpopulációk adatai és a farmakodinámiai célértékek alapján meghatároztuk ezek elérésének 90%-os vagy a feletti valószínűségét. A florfenikol esetében a vizsgálataink során meghatározott $\text{AUC}_{24\text{h}}/\text{MIC}$ arányokat (bakteriosztatikus hatás esetén az ízületi folyadékban és vérplazmában is 22 h, míg baktericid hatás esetén az ízületi folyadékban 76 h, míg a vérplazmában 86 h), illetve a szakirodalomra alapozva a $\%T > \text{MIC}$ összefüggést (40-50%) alkalmaztuk. Az enrofloxacin esetében a szakirodalmi adatok alapján csak az $\text{AUC}_{0-\infty}/\text{MIC}$ arányt ($>50 \text{ h}$) vettük alapul. Végül minden esetben javaslatot tettünk a farmakokinetikai/farmakodinámiai határértékre.

A florfenikol 15 mg/kg-os dózisa esetében, egyszeri im. beadását követően a javasolt farmakokinetikai/farmakodinámiai határérték (PK/PD_{CO}) a florfenikol minimális gátló koncentrációjában (MIC-érték) kifejezve sertés vérplazmára vonatkoztatva ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ -nek, míg sertés ízületi folyadékra vonatkoztatva $\leq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$ -nek bizonyult, *S. suis* okozta septicémia és ízületgyulladás során. A florfenikol 30 mg/kg-os dózisének egyszeri im. beadását követően a javasolt PK/PD_{CO} érték MIC-értékben kifejezve sertés vérplazmára vonatkoztatva ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$, míg sertés ízületi folyadékra vonatkoztatva ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$, ugyanezen *S. suis* okozta bántalmak esetében. Az enrofloxacin 7,5 mg/kg-os dózisban történő, egyszeri sc. beadását követően a javasolt PK/PD_{CO} érték MIC-értékben kifejezve sertés vérplazmára és sertés ízületi folyadékra vonatkoztatva egységesen $\leq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$ *S. suis* okozta septicémia és ízületgyulladás során.

A florfenikol farmakodinámiai célértékeit három különböző közegben (sertés ízületi folyadék, sertés vérplazma, CA-MH (kationadjuvált Mueller-Hinton) leves) határoztuk meg, szaporodási és ölési görbék felvételével, különböző florfenikol-koncentrációk (0, 0,5; 1, 2, 3,2; 4, 6,4; 8, 16 $\mu\text{g/ml}$) mellett. A vizsgálatok eredményeit alkalmaztuk a florfenikol PK/PD_{CO} értékeinek meghatározásához. Mindemellett, 100, klinikai esetből származó, magyarországi *S. suis* izolátum florfenikol és enrofloxacin MIC-értékeit határoztuk meg, majd a CLSI határértékei (CLSI, 2020) alapján besoroltuk érzékeny, mérsékelten érzékeny és rezisztens kategóriákba - florfenikolra és enrofloxacinra nézve. Az izolátumok 60%-a érzékenynek, 23%-a mérsékelten érzékenynek, míg és 17%-uk rezisztensnek bizonyult florfenikollal szemben ($\leq 2, 4, \geq 8$ $\mu\text{g/ml}$), továbbá az izolátumok 66%-a érzékenynek, 18%-a mérsékelten érzékenynek, 16%-uk pedig rezisztensnek minősült enrofloxacinnal szemben. A MIC₅₀ és MIC₉₀ értékek florfenikol esetében 2 $\mu\text{g/ml}$ és 8 $\mu\text{g/ml}$, míg enrofloxacin esetében 0,5 $\mu\text{g/ml}$ és 2 $\mu\text{g/ml}$ voltak.

Ezt követően kiszámítottuk az érzékeny izolátumok arányát az általunk meghatározott PK/PD határértékek alapján. Ennek megfelelően, a florfenikol 15 mg/kg-os dózisban, egyszeri im. beadását követően sertés vérplazmára (≤ 1 $\mu\text{g/ml}$) vonatkoztatva az általam vizsgált *S. suis* izolátumok 36%-a tekinthető érzékenynek, míg ugyanebben az adagolási rendben sertés ízületi folyadékra ($\leq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$) vonatkoztatva csak az izolátumok 23%-a tekinthető érzékenynek. A 30 mg/kg-os dózis esetén sertés vérplazmára (≤ 2 $\mu\text{g/ml}$) vonatkoztatva az izolátumok 60%-a tekinthető érzékenynek a CLSI határértékek alapján meghatározott arányokkal megegyező módon, míg a sertés ízületi folyadékra (≤ 1 $\mu\text{g/ml}$) vonatkoztatva csak az izolátumok 36%-a tekinthető érzékenynek. Az enrofloxacin esetében az általunk meghatározott PK/PD_{CO} értékek esetén (sertés vérplazma és sertés ízületi folyadék = 0,5 $\mu\text{g/ml}$) a CLSI határértékekkel megegyező arányt kaptuk az érzékenynek tekinthető *S. suis* izolátumokra nézve (66%).

2. Bevezetés és célkitűzés

Jelen korban a humán populáció egészségét érintő egyik legsúlyosabb probléma az antimikrobiális szerekkel szembeni rezisztencia. A közegészségügyi gond fő oka az állategészségügyben keresendő, ahol az antibiotikum-használat gyakorlata mellett a patogén és fakultatíve patogén kórokozók egyre nagyobb arányban válnak rezisztenssé egyes antibakteriális szerekkel szemben. A helyzet súlyosságára hívja fel a figyelmet az Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ (ECDC), az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) és az Európai Gyógyszerügynökség (EMA) által kiadott jelentés, amelyben az állatorvoslásban használt antibakteriális kezeléseket és ezeknek a közegészségügyben jelentkező káros következményeit mutatják be. Az egyik kiemelt feladat az, hogy állategészségügyi vonalon jelentősen vissza kell fogni az antibakteriális szerek felhasználását, illetve a lehető legtöbb esetben ezen készítményeket alternatív készítményekkel (pl. probiotikumok, prebiotikumok, gyógynövénykivonatok) kell helyettesíteni, továbbá csak az indokolt és megfelelő antibiotikum-érzékenységi vizsgálatokkal alátámasztott esetekben kelljen alkalmazni antibakteriális szereket oki terápia céljából.

Az antibakteriális szerek állategészségügyi felhasználása során, a különböző megbetegedésekhez kapcsolt terápiák pontos dózisa, a két beadás közötti időintervallum és az adagolás hosszának meghatározása kulcsfontosságú. A florfenikol és az enrofloxacin széles antibakteriális spektrummal rendelkező hatóanyagok, amelyeket az állategészségügyben igen sok területen alkalmaznak. Annak érdekében, hogy ez minél tovább fenntartható maradjon, körültekintő használatuk kiemelt jelentőségű. A florfenikolt az EMA a „C” kategóriába sorolta, így fontos szerepet tölt be a „B” kategóriában szereplő hatóanyagok helyettesítésében. Az enrofloxacin, mivel „B” kategóriába sorolt hatóanyag, így humán terápiás kulcsszerepe miatt kiemelten fontos, hogy csak akkor alkalmazzák a gyakorlatban, ha sem a „D”, sem pedig a „C” kategóriában nem található hatékony antibakteriális szer és alkalmazását előzetesen teljes bizonyossággal hatékonyan minősítjük. A körültekintő felhasználás a gyakorlatban dolgozó állatorvosok kiemelt feladata, és ez irányú tevékenységüket a tudományos oldalról szükséges támogatni. Ezt a célt szolgálja az antibakteriális szerek farmakokinetikai és farmakodinámiai paramétereinek széles körű vizsgálata. Ezen új eredmények alapján, amennyiben lehetséges, új terápiás javaslatok kibocsátása szükséges.

Mind a farmakokinetika, mind a farmakodinámia területén az egyik legfontosabb kérdés, hogy a hatás helyén (fertőzés helyén), milyen koncentrációban jelennek meg az antibakteriális szerek, illetve ezen közegekben a hatóanyag-baktérium expozíció, hogy valósul meg, illetve milyen válaszreakció várható a fertőzést okozó baktériumpopulációtól, vagyis a közeg, amelyben az expozíció megvalósul milyen irányba befolyásolja az antibakteriális szerek hatékonyságát.

Jelen munka célja, hogy a sertés egészségügyben igen gyakran alkalmazott florfenikol és enrofloxacin farmakokinetikai tulajdonságairól több adatot nyerjünk, azaz azok konkrét farmakokinetikai paramétereinek meghatározása a hatás helyén. Vagyis kutatásunkban a hatóanyagok ízületi folyadékban való megoszlását vizsgáltuk, annak érdekében, hogy ízületi fertőzéssel járó megbetegedések antibakteriális terápiájára javaslatot tehesünk florfenikol és enrofloxacin hatóanyagokra. A kiválasztott baktériumfaj a sertéságazatban nagy gazdasági kárt okozó *S. suis*, amely kifejezetten gyakran okoz mind heveny, mind pedig idült formában ízületgyulladását sertésekben, leggyakrabban a 4-10 hetes életkorban.

Célunk a florfenikol engedélyezett 15 mg/kg dózisban, im. beadást követő farmakokinetikájának vizsgálata volt sertés vérplazmában és sertés ízületi folyadékban, valamint a nagyobb 30 mg/kg dózisban, im. beadást követően. Az enrofloxacin esetében az engedélyezett 7,5 mg/kg dózisban, sc. beadást követően vizsgáltuk a hatóanyag farmakokinetikai tulajdonságait sertés vérplazmában és -ízületi folyadékban. Mind a három esetben, a nemrekeszes farmakokinetikai analízis és a koncentráció-idő görbék felállítását követően nem-lineáris keverthatású modell alkalmazásával, populációs szinten egyrekeszes farmakokinetikai analízissel értékeltük a hatóanyagok farmakokinetikai tulajdonságait az *in vivo* vizsgált helyeken, sertésben. Az NLME alkalmazását azért választottuk, hogy robusztusabb adatokat kapjunk az ezt követő Monte Carlo szimulációhoz és ezzel minél pontosabb adatok álljanak rendelkezésünkre egy mesterségesen felállított populációra nézve. Vagyis a megfelelő populációs farmakokinetikai modellek kiválasztása után Monte Carlo szimuláció segítségével nagyszámú malacból álló elméleti populációt hoztunk létre és ezek alapján vizsgáltuk a hatóanyagok antibakteriális aktivitását a florfenikol esetében az általunk meghatározott farmakodinámiai célértékek tekintetében, illetve enrofloxacin esetében az irodalomban fellelhető PDT tekintetében. A florfenikol és *S. suis* vonatkozásában a fertőzés helyét modellező ízületi folyadékban célunk volt meghatározni a PDT-t, amelyet három különböző közegben, különböző florfenikol-koncentrációk mellett történő ölési görbék felállításával kívántunk meghatározni. A populációs farmakokinetikai adatok és a PDT értékek tekintetében célunk volt meghatározni a hatóanyagok PK/PD_{CO} határértékét *S. suis*-ra nézve sertés vérplazmában és ízületi folyadékban.

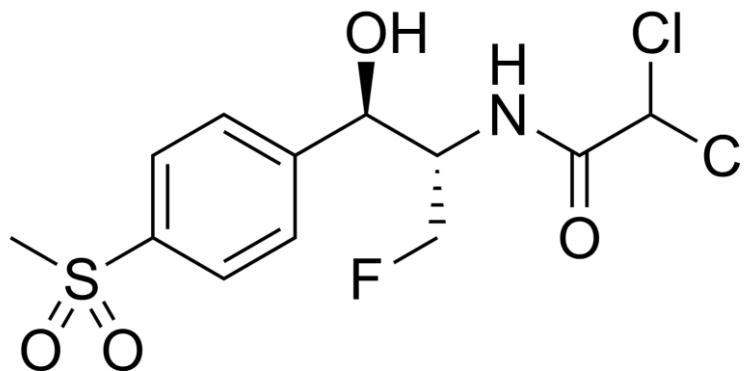
Emellett a célunk volt 100 db klinikai eredetű *S. suis* izolátum fenotípusos antibiotikum-érzékenységének kvantitatív meghatározása leves mikrohígításos módszerrel florfenikollal és enrofloxaccinnal szemben, illetve a MIC-értékek alapján a MIC₅₀ és MIC₉₀ értékek kiszámítása. Továbbá, meghatároztuk, hogy a magyarországi *S. suis* izolátumok florfenikol- és enrofloxacin-érzékenysége, milyen arányban oszlik meg a CLSI által meghatározott klinikai határértékek (CBP) szerint, majd ezen adatokat a saját PK/PD_{CO} határértékek alapján újra számítottuk.

3. Irodalmi áttekintés

3.1 Florfenikol

3.1.1 Szerkezet

A florfenikol az antibakteriális szerek közül a fenikolok csoportjába tartozó hatóanyag. A csoport elsőként leírt tagja a klóramfenikol volt, amelyet először 1947-ben mutattak ki. A klóramfenikolt a *Streptomyces venezuelae* baktériumfaj termeli, míg a florfenikolt szintetikus úton állítják elő (EHRlich és Mtsai., 1947; RIVIERE – PAPICH, 2017). A florfenikol a tiamfenikol fluorozott analógja. A florfenikolban C-3 pozícióban a hidroxil-csoport helyett egy fluor atom van (**1. ábra**) (ABD EL-ATY és Mtsai., 2004a; DOWLING, 2013; SWITaŁA és Mtsai., 2007). Ennek köszönhetően a florfenikol jobban ellenáll a bakteriális acetilezésnek, így *in vitro* körülmények között kifejezettebb az aktivitása az érzékeny baktériumfajokkal szemben, mint szerkezeti analógjainak, a tiamfenikolnak és a klóramfenikolnak (VARMA és Mtsai., 1986). A florfenikol és klóramfenikol molekula szerkezetében jelentős különbség, hogy a florfenikol nem rendelkezik aromás nitro-csoporttal, ami az arra érzékeny embereknél dózis-független aplasztikus vérszegénységet okoz, így ideális alternatívája lett a klóramfenikolnak az élelmiszertermelő használatok antibakteriális terápiájában (DE CRAENE és Mtsai., 1997; JIANZHONG és Mtsai., 2004; RIVIERE – PAPICH, 2017).



1. ábra: A florfenikol kémiai szerkezete.

A florfenikol fizikai-kémiai tulajdonságait tekintve lipofil vegyület, nem ionizált formában van jelen az oldatokban, vízben rosszul oldódik, oldhatósága az 1,3 mg/ml-es nagyságot közelíti meg. Oldhatósága mikroemulziós vagy nanoemulziós technikákkal növelhető (SCHWARZ és Mtsai., 2004; ZHANG és Mtsai., 2016).

3.1.2 Hatásmechanizmus és hatásmód

Hatásmechanizmusát tekintve a florfenikol reverzibilis módon kötődhet a bakteriális riboszóma 50S alegységéhez, ennek következtében gátolja a bakteriális fehérjeszintézist. Hatásmódja így bakteriosztatikus, de nagyobb dózisban alkalmazva akár baktericid hatást is képes kifejteni, a kifejezetten érzékeny baktériumfajokkal szemben (SINGER ÉS MTSAI., 2004).

3.1.3 Antibakteriális spektrum és indikációk

A florfenikol egy széles-spektrumú antibakteriális szer, amely a legtöbb Gram-pozitív, Gram-negatív, aerob és anaerob baktériumfajjal szemben hatékony (SHIN ÉS MTSAI., 2005). A toxicitás és a florfenikollal szembeni rezisztencia kisebb mértékének következtében a florfenikol hatékonysága és gyakorlati alkalmazhatósága számos állatfajban eléri, vagy akár meg is haladja a klóramfenikolét (LOBELL ÉS MTSAI., 1994). Az Egészségügyi Világszervezet elsőként 2005-ben szervezett találkozót a kritikus fontosságú antimikrobiális szerek kapcsán. Itt született egy megállapodás, amelynek keretein belül az antibakteriális szereket három csoportba osztották úgy, mint a kritikusan fontos, a kiemelten fontos és a fontos hatóanyagok. Az amfenikolok a kiemelten fontos csoportba kerültek és a florfenikolt javasolták állatgyógyászati alkalmazásra (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2012). Ennek a listának a figyelembevételével, 2014-ben az EMA antimikrobiális tanácsadó *ad hoc* szakértői csoportja (AMEG) adta ki elsőként az antibakteriális szerek három kategóriába javasolt felosztását. Később, javasoltak egy negyedik kategóriát is, amelyeken belül a florfenikol a „C” kategóriába tartozik. Az ide tartozó hatóanyagokat csak abban az esetben szabad alkalmazni, ha a közegészségügyi szempontból kevésbé fontos kategóriába („D” kategória) tartozó antibakteriális szerek mindegyikével szemben rezisztens a megbetegedést okozó baktériumfaj (EMA, 2015, 2019).

A florfenikol elsődleges indikációja a légúti fertőzések. Sertéseknél az *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis* és *Bordetella bronchiseptica* (DOWLING, 2013), míg szarvasmarhánál a *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* és *Histophilus somni* okozta légzőszervi fertőzések kezelésére vesszük igénybe (SINGER ÉS MTSAI., 2004). Ezek mellett a nem tejtermelés céljából tenyésztett juhok és kecskék *Bacteroides melaninogenicus* és *Fusobacterium necrophorum* által okozott bűdös sántaságának kezelésére is alkalmazható antibakteriális szer (GILLIAM ÉS MTSAI., 2008). Alpakák és lámák foggyökértályogának, csontvelőgyulladásának, húgy-nemi szervi fertőzésének, illetve egyes légúti megbetegedéseik kezelésére is használnak florfenikolt (PENTECOST ÉS MTSAI., 2013), míg kutyák és macskák *Staphylococcus pseudintermedius* és *Malessezia pachydermatitis* okozta külső hallójárat gyulladásának kezelésére is alkalmazzák, antifungális szerekkel kombinálva (KING ÉS MTSAI., 2018).

Halakban az *Aeromonas salmonicida* okozta furunkulózis kezelésére alkalmas (FAZLUL HUQ, é. n.; RIVIERE – PAPICH, 2017), baromfi fajok esetében pedig *Riemerella anatipestifer* okozta megbetegedésének-, valamint *Pasteurella multocida* okozta baromfikolera kezelésére használható (XIAO ÉS MTSAI., 2021).

Az antibakteriális szerekkel szembeni rezisztencia terjedése miatt egyre több kutatás foglalkozik ezen hatóanyagok farmakokinetikájával, annak érdekében, hogy a hatás helyén megjelenő gyógyszerkoncentrációkról minél pontosabb adatok álljanak rendelkezésre. A gazdasági haszonállatok körében a lábvég betegségek súlyos állategészségügyi problémát okoznak, amely a közvetlen gazdasági kár mellett állatjóléti szempontból is jelentős, így ezen területek vizsgálata kiemelkedő jelentőségű. Kérődzők esetében már vannak vizsgálatok, amelyekben a florfenikol koncentrációját tanulmányozták az ízületi folyadékban (GILLIAM ÉS MTSAI., 2008; JONES ÉS MTSAI., 2015). A sertéságazatban hasonló negatív hatással járó ízületgyulladásos kórképek vonatkozásában eddig nem történtek még vizsgálatok a célállatfajban.

3.1.4 Rezisztencia

Egyes Gram-negatív baktériumoknál – *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Pasteurella multocida*, *Vibrio cholerae*, *Mannheimia haemolytica* – azonban korábban azonosítottak egy plazmid-közvetítette gént (*floR*), amely egy olyan, membránhoz kapcsolódó fehérjét kódol, amely efflux-pumpák szintézise révén segíti a klóramfenikol és a florfenikol baktériumsejtből való kiáramlását (CLOECKAERT ÉS MTSAI., 2000; DOUBLET ÉS MTSAI., 2005; DOWLING, 2013; SCHWARZ ÉS MTSAI., 2004).

A florfenikollal szembeni rezisztenciát kódoló géneket sok esetben kapcsoltak más antibiotikumokkal szemben rezisztenciát kódoló génekkel, illetve a fentebb leírt efflux-pumpák bizonyos esetekben több antibakteriális szer eltávolítására is képesek a baktériumsejtből. Közegészségügyi szempontból meg kell említeni a *poxtA* gént, amely a fenikolok mellett, az oxazolidonokkal és a tetraciklinekkel szembeni rezisztenciáért felelős (TÓTH ÉS MTSAI., 2020). Hízósertésekből származó *Enterococcus* fajokból is kimutatták már ezen géneket, illetve potenciális rezervoárjukként tartják számon (NÜESCH-INDERBINEN ÉS MTSAI., 2022).

3.1.5 Farmakokinetika

A florfenikol farmakokinetikáját számos állatfajban (alpaka, juh, kecske, teve, szarvasmarha, sertés, házityúk, házi kacsa, házi nyúl, különböző halfajok) vizsgálták már (A. M. Abd El-Aty et al., 2004; B. H. Ali et al., 2003; Anadón et al., 2008a; Atef et al., 2000; Balcomb et al., 2018a; Cook et al., 2004a; Gaikowski et al., 2003a; Holmes et al., 2012a; Xiao et al., 2020). A florfenikol sertésben vizsgált fontosabb farmakokinetikai paraméterei az **1. táblázatban** láthatók.

1. táblázat: Sertésben alkalmazott **florfenikol farmakokinetikai értékei** (átlag ± szórás), az eddig megjelent publikációk alapján.

Szövet	Beadási mód	Dózis	C_{max}	t_{max}	$t_{1/2}$	$AUC_{0-\infty}$	Forrás
		mg/kg	$\mu\text{g/ml}$	h	h	(h × μg)/ml	
vérplazma	im.	5	2,97 ± 1,04	2,17 ± 0,52	5,26 ± 2,61	30,3 ± 9,43	(KIM ÉS MTSAI., 2008)
vérplazma	im.	20	5,93 ± 1,20	2,27 ± 0,55	5,29 ± 2,58	60,9 ± 18,9	
tüdő ISF	im.	20	4,88 ± 0,54	3,25 ± 0,32	9,47 ± 6,84	51,18 ± 20,11	(YANG ÉS MTSAI., 2017)
vérplazma	im.	30	4,44 ± 1,02	4,0 ± 1,34	14,46 ± 1,84	158,56 ± 13,46	(LEI ÉS MTSAI., 2018)
tüdő ISF	im.	50	10,36 ± 2,52	3,50 ± 0,27	7,75 ± 3,23	88,78 ± 27,58	(YANG ÉS MTSAI., 2017)
vérplazma	iv.	30	-	-	6,54 ± 0,75	159,93 ± 13,28	(LEI ÉS MTSAI., 2018)
vérplazma	p.o.	30	9,12 ± 0,78	1,32 ± 0,56	10,58 ± 1,08	52,33 ± 4,33	(LEI ÉS MTSAI., 2019)

C_{max} – maximális plazmakoncentráció, t_{max} – C_{max} kialakulásához szükséges idő, $t_{1/2}$ – felezési idő, $AUC_{0-\infty}$ – végtelenre extrapolált koncentráció-idő görbe alatti terület, im. – intramuszkuláris, iv. – intravénás, p.o. – *per os* (szájon át), ISF – intersticiális folyadék.

A florfenikol biológiai hasznosulása minden állatfajban kimagasló, de állatfajonként és beadási módonként is eltéréseket tapasztaltak (ABD EL-ATY ÉS MTSAI., 2004a; BRETZLAFF ÉS MTSAI., 1987; DOWLING, 2013; JIANG ÉS MTSAI., 2006; SOBACK ÉS MTSAI., 1995; VARMA ÉS MTSAI., 1986; VOORSPOELS ÉS MTSAI., 1999). Sertések esetében az intramuszkuláris beadást követően a florfenikol biológiai hasznosulása 96% feletti is lehet (JIANG ÉS MTSAI., 2006; LEI ÉS MTSAI., 2018; VOORSPOELS ÉS MTSAI., 1999). Sertésekben a gyomor teltsége nem befolyásolja a florfenikol biológiai hasznosulását (JIANG ÉS MTSAI., 2006).

A florfenikol alkalmazása során a megfelelő gyógyszerkoncentráció fenntartásához egyes állatfajok esetében, mint például a kutya és macska, gyakori gyógyszer újraadagolásra van szükség (PARK ÉS MTSAI., 2008; TOUTAIN – BOUSQUET-MÉLOU, 2004). Sertésekben és szarvasmarhákban az im. és sc. beadási módot követően, a hosszú hatástartamú készítmények esetén, az elnyújtott felszívódásból adódó, úgynevezett flip-flop kinetikát használjuk ki, amelynek következtében elegendő egyszer vagy 24 óránál hosszabb időtartammal újra adagolni a florfenikol tartalmú készítményeket (DOREY ÉS MTSAI., 2017; TOUTAIN ÉS MTSAI., 2021, 2019).

Lipofilitása miatt, a florfenikol megoszlása számos szövetben kiváló, ideértve a tüdőt, az izmokat, az epét, a vesét és ez utóbbi miatt a vizeletet is. Sertéseknél intravénás beadást követően az antibiotikum megoszlási térfogata 0,65-0,80 l/kg között változott (FOSTER ÉS MTSAL., 2016; LIU ÉS MTSAL., 2018; VARMA ÉS MTSAL., 1986; YANG ÉS MTSAL., 2017). A gyógyszerek megoszlását nagymértékben befolyásolja a plazmafehérjéhez való kötődésük mértéke. A florfenikol plazmafehérje kötődése, az eddigi tanulmányok alapján, minden állatfajban kis mértékű, a legtöbb esetben elhanyagolható, sertésekben 5-15% közötti értéket írtak le (BRETZLAFF ÉS MTSAL., 1987; LEI ÉS MTSAL., 2018). A plazmafehérjéhez való kötődés mértéke független a beadott dózistól, bár a plazmafehérjéhez való kötődés mértéke befolyásolhatja a gyógyszer látszólagos megoszlási térfogatát, valamint a hatás helyére történő transzportot és a szervezetből történő eliminációt is. Az olyan kismértékben kötődő gyógyszerek, mint a florfenikol, ezen tulajdonság klinikai jelentősége elhanyagolható (BRETZLAFF ÉS MTSAL., 1987; LEI ÉS MTSAL., 2018; LOBELL ÉS MTSAL., 1994; TOUTAIN ÉS MTSAL., 2019).

A florfenikol képes átlépni a vér-agy gáton, vagyis megjelenik az agy-gerincvelő folyadékban (DE CRAENE ÉS MTSAL., 1997). Szarvasmarhák esetében iv. beadást követően az agy-gerincvelő folyadék florfenikol koncentrációja 46%-a volt a vérplazma koncentrációjának, ami lehetőséget biztosít az idegrendszeri fertőzések antibakteriális terápiájára, például szarvasmarháknál a *Histophilus somni* okozta agyburokgyulladás kezelésében (DOWLING, 2013). A maximális plazmakoncentrációk állatfajonként és beadási módonként változnak a florfenikol esetében is. Sertések esetében p.o. beadást követően háromszor nagyobb C_{max} -ot írtak le ($9,9 \pm 2,4 \mu\text{g/ml}$), mint az im. alkalmazást követően ($3,5 \pm 0,5 \mu\text{g/ml}$), ez a különbség a beadást követő 12 órán keresztül marad fenn (JIANG ÉS MTSAL., 2006; LIU ÉS MTSAL., 2003). A gyógyszeres takarmánnyal történő florfenikol kezelést követően, a florfenikol rövidebb időn belül eléri a maximális plazmakoncentrációt, mint im. beadást követően, de utóbbi esetben hosszabb ideig nagyobb lesz az átlagos plazmakoncentráció, ami az izomszövet depóhatásának és a hosszú hatástartamú készítményeknek köszönhető (VOORSPOELS ÉS MTSAL., 1999). Szarvasmarha esetén az ízületi folyadékban, mint hatás helyén vizsgálták a florfenikol farmakokinetikai paramétereit, regionális iv. perfúziót követően, amely esetben kimagasló értékeket írtak le: C_{max} $39,2 \pm 29,4 \mu\text{g/ml}$, amit a beadást követő $0,88 \pm 0,38$ órában (t_{max}) érte el (GILLIAM ÉS MTSAL., 2008). Egy másik tanulmányban sc. beadást követően írták le, hogy a kisebb koncentrációt az ízületi folyadékban ellensúlyozza, hogy a florfenikol felezési ideje ~ 65 óra, szemben a vérplazmával, ahol csak 38 óra, vagyis az ízületi folyadékból lassabban eliminálódik, mint a vérplazmából (JONES ÉS MTSAL., 2015).

A fenikol-csoportba tartozó hatóanyagok metabolizációja a májban zajlik. A florfenikolból több metabolit is képződik úgy, mint a florfenikol-amin, florfenikol-alkohol és a mono-kloro-florfenikol. A három metabolit közül a florfenikol-amin rendelkezik a leghosszabb felezési idővel, maradékanyag-vizsgálatokban ennek a koncentrációját szokták mérni. A metabolitok antibakteriális aktivitással nem rendelkeznek (ANADÓN ÉS MTSAI., 2008b).

A florfenikol főleg vizelettel ürül, nagyobb mértékben változatlan formában, ezért a teljes test clearance (total Cl_B) nagyobb hányadát a vese clearance (Cl_R) teszi ki (BRETZLAFF ÉS MTSAI., 1987; LI ÉS MTSAI., 2006; VARMA ÉS MTSAI., 1986). Kisebb mértékben a bélsárral is ürül mind az anyamolekula, mind annak metabolitjai (RIVIERE – PAPICH, 2017). Li és munkatársai (2006) kimutatták, hogy sertésben 24 órával az im. beadást követően a vesében mérhető a legnagyobb florfenikol-koncentráció, ezzel szemben a legkisebbet a májban mérték. A gyógyszerkoncentráció 6 nappal a beadás után a maradékanyag szint alatt volt, de a statisztikai hibahatárok miatt 8 napos várakozási időt javasoltak (LI ÉS MTSAI., 2006).

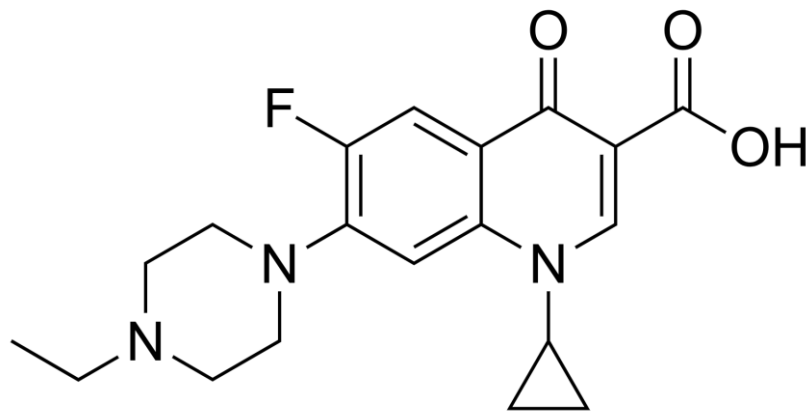
3.1.6 Mellékhatások

A florfenikol mellékhatásainak megjelenése nem gyakori, azonban egyes állatfajokban, illetve korosztályokban több mellékhatást leírtak. Szarvasmarhában hasmenés és anorexia, alpakáknál, sc. többszöri beadást követően hematológiai eltérések tapasztalhatóak, mint például a csökkent totál protein, globulin, albumin, fehérvérsejt és hematokrit értékek (Dowling, 2013; Holmes et al., 2012; Pentecost et al., 2015). Halakban szintén hemopoetikus eltérésekről számoltak be, hosszútávú p.o. alkalmazás esetén (Gaikowski et al., 2003), de beszámoltak már florfenikol alkalmazása után fellépő immunszuppresszióról is (SIEROSLAWSKA. ÉS MTSAI., 1998). Malacokban csontvelő depléciót és a limfoid szövetek átmeneti károsodását írták le, amely a kezelés megszüntetésével visszafordítható folyamat (HU ÉS MTSAI., 2014). Szoptató kocák kezelése ebből következően nem lehetséges, illetve tenyészkacák kezelését sem engedélyezték.

3.2 Enrofloxacin

3.2.1 Szerkezet

Az enrofloxacin a fluorokinolon-karboxilsav származékok osztályába tartozó szintetikus kemoterápiás szer. A kinolonok, másnéven 4-kinolonok, a szintetikus antibakteriális szereknek egy csoportja, amelyet az állategészségügyben is gyakran alkalmaznak. A csoportba tartozó hatóanyagoknak 4-oxo-1,4-dihidrokinolin alapváza van (WOLFSON – HOOPER, 1985). Az alapvázához egy fluor atom kötődik a C-6 pozícióban, amely növeli a molekula bakteriális sejtfalon át történő penetrációjának a képességét (PETERSEN – SCHENKE, 1998). Ennek következtében nőtt az antibakteriális spektrum, vagyis a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumokkal szemben is hatékonyak ezen hatóanyagok. A C-7 pozícióban a metil-csoport helyett piperazinil-csoport kötődik, ami növelte a Gram-negatívok – köztük a *Pseudomonas aeruginosa* – elleni baktericid hatást. A Gram-pozitívok elleni aktivitás is nőtt a fluorokinolonok esetében, köztük az enrofloxacinnál is, mivel az N-1 pozícióban etil-csoport helyett ciklopropil-csoport kötődik (GIGUÈRE – DOWLING, 2013). A molekula szerkezetének a különböző módosításai az antibakteriális spektrum mellett a felszívódást és a toxicitást is befolyásolják, ennek következtében az enrofloxacin piperazil-csoportjához kötődő etil-csoport növeli a p.o. beadást követő felszívódást, de csökkenti a *Pseudomonas* fajokkal szembeni aktivitást (2. ábra) (MARTINEZ ÉS MTSAL., 2006).



2. ábra: Az enrofloxacin kémiai szerkezete.

3.2.2 Hatásmechanizmus és hatásmód

Az enrofloxacin célpontjai a giráz (topoizomeráz-II) és a topoizomeráz-IV enzimek, amelyek elősegítik a DNS-replikációt, a rekombinációt és a génexpresszió folyamatait. A giráz két GyrA és két GyrB alegységből, a topoizomeráz IV pedig a ParC és ParE alegységekből áll. A GyrA és a ParC alegységek a DNS-szálak törésében vesznek részt, míg a GyrB és a ParE alegységek a DNS-szálak újra összekapcsolásában. A DNS és a giráz vagy a topoizomeráz IV közötti komplexek kialakulása ezen enzimatikus folyamatok végbemenetelét akadályozza meg. A konformációs változások bekövetkezésekor a kinolon megakadályozza a szétszakadt DNS-szálak egyesítését, és az enzim csapdába esik a DNS-en. A giráz esetében gyors gátlás következik be, míg a topoizomeráz IV esetében ez egy lassabb folyamat. A komplexképződés reverzibilis, ami a fluorokinolonok bakteriosztatikus hatásáért felelős. A baktericid hatást a komplexképződéstől elkülönülő jelenségnek tekintik (GIGUÈRE – DOWLING, 2013; GRABOWSKI ÉS MTSAI., 2022; RIVIERE – PAPICH, 2017).

Két enrofloxacin molekula nem-kovalens módon kötődik a DNS-topoizomeráz komplexhez (II vagy IV) az aktív központban. A kötődést követően az enrofloxacin konformációs változásokat idéz elő az enzimben. Ennek eredményeképpen enrofloxacin-giráz/topoizomeráz IV-DNS komplex alakul ki. Ennek a folyamatnak a következménye a DNS-replikáció gátlása. Az enrofloxacin kis koncentrációi bakteriosztatikus hatást, míg a nagyobb koncentrációi fragmentálhatják a bakteriális kromozómát, ami sejthalálhoz vezet (baktericid hatás) (BLONDEAU, 2004; GRABOWSKI ÉS MTSAI., 2022; RIVIERE – PAPICH, 2017).

Gram-negatív baktériumok esetében az előbbi, míg Gram-pozitív baktériumok esetében az utóbbi célponton fejtik ki aktivitásukat elsődlegesen. A Gram-pozitív baktériumok közül a *Staphylococcus* és a *Streptococcus* fajokkal szembeni aktivitását kell kiemelni. Az emlősök sejtjei védettek a fluorokinolonok aktivitásával szemben, mivel az emlős topoizomeráz-II működése csak 100-1000 µg/ml-es koncentráció jelenlétében gátolt, míg a baktericid hatásmód 0,1-10 µg/ml vagy kisebb koncentrációnál is megjelenik (GRABOWSKI ÉS MTSAI., 2022; RIVIERE – PAPICH, 2017).

3.2.3 Antibakteriális spektrum és indikációk

A fluorokinolonok második generációján belül, a második csoportba sorolt hatóanyagok széles antibakteriális spektrummal rendelkeznek. Az érzékeny baktériumfajok az *Actinobacillus pleuropneumoniae*, a *Mannheimia haemolytica*, a *Pasteurella* fajok és az Enterobacteriaceae család több képviselője is (*Salmonella*, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella* és *Enterobacter* fajok). Kiemelkedő a hatékonyságuk az intracelluláris baktériumfajokkal szemben is, mint például *Rickettsia*, *Chlamydia*, *Mycobacterium* és *Mycoplasma* fajok.

Továbbá *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pseudintermedius*, egyéb *Staphylococcus* és *Streptococcus* fajok okozta megbetegedések kezelésére is alkalmazhatóak ezen csoport tagjai, azonban ezeknél a baktériumfajoknál nagyobb gyógyszerkoncentráció szükséges, mint a Gram-negatív baktériumok esetében. A *Pseudomonas aeruginosa* csak a marbofloxacinnal, ciprofloxacinnal és az enrofloxacinnal szemben érzékeny. Az obligát anaerob baktériumfajokkal szemben csak 3. és 4. generációs kinolonok képesek baktericid hatást kifejteni. Az enrofloxacin ciprofloxacinhoz képest nagyobb aktivitással rendelkezik a *Staphylococcus* fajokkal szemben, mint a Gram-negatív baktériumokkal szemben (EFTHIMIADOU ÉS MTSAL., 2008; GIGUÈRE – DOWLING, 2013; MARTINEZ ÉS MTSAL., 2006; RIVIERE – PAPICH, 2017; TROUCHON – LEFEBVRE, 2016).

3.2.4 Csoportosítás

A kinolonokat négy generációba sorolják, amelyek közül az enrofloxacin (6-fluoro-7-piperazinil-4-kinolon) a másodikba tartozik (MARTINEZ ÉS MTSAL., 2006), amelyre jellemző a széles antibakteriális spektrum, vagyis a β -laktámokkal és szulfonamidokkal szemben rezisztens baktériumfajokat is magába foglalja, mint például a *Mycoplasma* fajok (MITCHELL, 2006). A fluorokinolonok közül az enrofloxacin volt az első hatóanyag, amelyet állategészségügyi célra fejlesztettek ki és széles körben alkalmazták (EFTHIMIADOU ÉS MTSAL., 2008; MITCHELL, 2006). Az állategészségügyben úgymond a legfiatalabb antibakteriális szer, amelyet ma már csak korlátozásokkal vehetnek igénybe az állatorvosok. A korlátozások még csak az élelmiszertermelő haszonállatokra vonatkoznak (sertés, baromfi, szarvasmarha), amelyeknek köre országonként változik.

Az Egyesült Államokban és Kanadában csak szarvasmarhák légzőszervi betegségének antibakteriális terápiájára van engedélyezett enrofloxacin tartalmú készítmény. Emellett a fluorokinolonok „off-label” alkalmazása élelmiszertermelő haszonállatok esetében szigorúan tilos (GIGUÈRE – DOWLING, 2013). A felhasználás szigorú korlátozása az egyre gyakrabban megjelenő és terjedő antibakteriális szerekekkel szemben rezisztens baktériumtörzseknek köszönhető. Az Egészségügyi Világszervezet 2005-ben megrendezett találkozásán a fluorokinolonok második generációjának egy részét, valamint a harmadik és negyedik generációba tartozó hatóanyagokat a kritikusan fontos csoportba sorolták. Az EMA által létrehozott AMEG besorolás alapján az enrofloxacin több második generációs fluorokinolonnal együtt a B kategóriába tartozik, amely azt jelenti a Magyarországon jelenleg hatályos jogszabályok értelmében, hogy az élelmiszertermelő haszonállatok kezelésére csak abban az esetben alkalmazhatóak, ha 30 napon belüli antibiotikum-érzékenység vizsgálat eredményével tudják igazolni, hogy az alacsonyabb kategóriákba (C és D) tartozó hatóanyagok mindegyikével szemben rezisztens a megbetegedést okozó baktériumtörzs (EMA, 2019).

3.2.5 Rezisztencia

A fluorokinolonokkal szembeni rezisztenciáról az utóbbi években számos tanulmány született, mivel kiemelkedő jelentőségük van a köz- és állategészségügyben a multirezisztens baktériumtörzsek okozta megbetegedések terápiájában (TAYLOR – CHAU, 1997; YOSHIDA ÉS MTSAI., 1991). A fluorokinolonokkal szembeni rezisztenciamechanizmusok a következők lehetnek: a kötőhelyek módosítása, védelme, és kisebb mértékű expresszációja, az efflux pumpák fokozott expressziója, a sejtfal permeabilitás megváltoztatása és a fluorokinolonok inaktivációja. Ezen mechanizmusok kromozómán vagy plazmidon lehetnek kódolva. Kromozómáisan kódolt a kötőhely módosulása, míg plazmid mediálta rezisztencia a fluorokinolonok inaktiválása. A kötőhely védelme és mérsékelt expresszációja, illetve az efflux pumpák fokozott expressziója mindkét típusú rezisztencia esetében előfordul (RUIZ ÉS MTSAI., 2012). A fluorokinolonokkal szembeni rezisztenciamechanizmusok egyidejűleg megjelenhetnek ugyanazon baktériumsejtben, majd populációban, ezáltal szinte exponenciálisan növelve ellenállóképességüket a fluorokinolonokkal szemben. Az egyidejűleg csökkent permeabilitással és megnövekedett efflux mechanizmussal rendelkező baktériumok esetében a fluorokinolonok MIC-értéke 2-8-szorosára növekedhet, míg egyetlen giráz mutáció akár 64-szeresére is emelheti a MIC-értéket (TROUCHON – LEFEBVRE, 2016). Leggyakrabban a baktérium giráz-enzim A alegységét (topoizomeráz-II), kódoló *gyrA* génen következik be a mutáció. Továbbá a topoizomeráz-IV enzimet kódoló *parC* génen is végbe mehet mutáció. A *parC* és *gyrA* gének együttes mutációja a baktériumpopuláció nagyobb ellenálló képességét eredményezi (GIGUÈRE – DOWLING, 2013; MARTINEZ ÉS MTSAI., 2006; RIVIERE – PAPICH, 2017).

A *gyrB* génen is fedeztek fel mutációkat, azonban kimutatták, hogy ezen mutációk kevésbé hatékony rezisztenciát eredményeznek az első generációs kinolon, nalidixsavval szemben, mint a *gyrA* génmutációk (RØMER VILLUMSEN ÉS MTSAI., 2023). A kötőhely védelméért a *qnr* gén felelős, amely gyakran megtalálható a kromozomális DNS-en vagy plazmidokon. A *qnr* fehérje a DNS-giráz komplexhez kötődve képes gátolni a kinolonok kötődését a girázhoz és, destabilizálhatja a már kialakult DNS-giráz-kinolon komplexeket (TROUCHON – LEFEBVRE, 2016). A fluorokinolonok a Gram-negatív baktériumsejtekbe protein csatornákon (OmpF) keresztül jutnak be. A sejtfal permeabilitás csökkenése, kevesebb porin csatorna expresszióját jelenti, így az adott baktériumsejtek rezisztensek lesz a fluorokinolonokkal szemben. Ennek során nem csak az influx, hanem az efflux is változáson megy keresztül, vagyis az efflux mechanizmus up-regulációja jellemző, amelynek következtében a baktériumsejt a sejthártyáján keresztül több toxint és antibakteriális szert képes kipumpálni. Az utóbbi rezisztenciamechanizmusok megjelenésének következtében a baktériumsejteknek nemcsak a fluorokinolonokkal, hanem más hatóanyagokkal szembeni érzékenysége is jelentősen csökken (GIGUÈRE – DOWLING, 2013; MARTINEZ ÉS MTSAI., 2006).

3.2.6 Farmakokinetika

Az enrofloxacin biológiai hasznosulásában p.o. beadást követően eltérés van a monogasztrikus állatok, ideértve a fejletlen gyomorrendszerű fiatal kérődzőket is, és a kifejlett előgyomorrendszerrel rendelkező kérődzők között. Az előbbieknél a biológiai hasznosulás 80%, míg utóbbiaknál csak 10%. Ennek következtében sertések, baromfifajok, borjak és húsevők kezelésére orális készítmények, míg kifejlett szarvasmarhák számára kizárólag parenterális készítmények vannak engedélyezve (MARTINEZ ÉS MTSAI., 2006; TROUCHON – LEFEBVRE, 2016; VANCUTSEM ÉS MTSAI., 1990). A gyomor teltsége sertésekben nem befolyásolja szignifikánsan az enrofloxacin biológiai hasznosulását (NIELSEN – GYRD-HANSEN, 1997). A p.o. készítmények kellemetlen ízének elfedésére és a molekula stabilitásának megtartására több eljárást is kifejlesztettek, amelyek közül a lipid burkok és nanokapszulák a legelterjedtebbek (LI ÉS MTSAI., 2019; MARTINEZ ÉS MTSAI., 2006). Az enrofloxacin im. és sc. beadását követően a felszívódás elnyújtottabb (flip-flop hatás), ennek következtében a felezési idő nő, az iv. alkalmazáshoz képest. A beadás helyéről történő lassú felszabadulást az enrofloxacin lipofil tulajdonsága okozza, mivel jelentős a szövetekhez való affinitása, illetve a haszonállatokra engedélyezett készítmények esetében az alkalikus kémhatás okozta szövetirritáció is elnyújtja az enrofloxacin felszívódását (ANADÓN ÉS MTSAI., 1999).

A felszívódást követően a fluorokinolonok megoszlása széleskörű, vagyis szinte minden szövetben megjelennek, ezt részben a plazmafehérjékhez történő kismértékű (<50%) kötődésük okozza. Az enrofloxacin kötődésének a mértéke a plazmafehérjékhez a különböző állatfajok esetében eltérő. Magas lipofilitásának következtében nagy koncentrációt ér el a szövetekben, úgy, mint a bőrben, a csontban, az izomzatban, a vizeletben, az epében, a májban, a belekben, a húgy- és nemi szervekben, köztük a prosztatában, valamint agyhártyagyulladás esetén a központi idegrendszerben is (BIDGOOD – PAPICH, 2005; MESSENGER ÉS MTSAI., 2012). Az enrofloxacin erősebben kötődik a plazmafehérjékhez, mint az aktív metabolitja a ciprofloxacin, de érdekes módon az enrofloxacin nagyobb arányban megoszlik a szövetekben, mint az említett aktív metabolitja. Mindkét hatóanyag megoszlási térfogata az egyes állatfajokban meghaladja az 1,0 l/kg-ot, ennek következtében nem csak a szövetközi folyadékban jelennek meg, hanem képesek a sejtekbe is bejutni. Sertésekben az enrofloxacin megoszlási térfogata elérheti a 6,0 l/kg-ot is (MESSENGER ÉS MTSAI., 2012; NIELSEN – GYRD-HANSEN, 1997; TROUCHON – LEFEBVRE, 2016).

A fluorokinolonok májban és bélfalban történő metabolizmusában jelentős különbségek vannak hatóanyagoként és állatfajonként is (ALVAREZ ÉS MTSAI., 2008). A metabolizmusuk főként glükuronidáció útján zajlik, amelynek célpontja a 3-karboxil csoport, ennek következtében a legtöbb hatóanyag inaktívulódik. A piperazin gyűrű metabolizációjával pedig csökken az antibakteriális aktivitás (SHARMA ÉS MTSAI., 2009).

Egyes állatfajok esetében az enrofloxacin metabolizmusa során aktív metabolit, a ciprofloxacin, képződik, mivel a biotranszformáció során N-deacetiláció megy végbe (FAZLUL HUQ, é. n.). Az enrofloxacin metabolizmusa során képződő ciprofloxacin mennyisége állatfajonként és korosztályonként eltérő, sertésben ennek mértéke nem kifejezett, így antibakteriális aktivitása elhanyagolható (MESSENGER ÉS MTSAL., 2012).

Az enrofloxacin eliminációja a vizeleten és epén keresztül valósul meg, aktív formában. A vesében a glomeruláris filtráció és a tubuláris exkréció választja ki az enrofloxacint, utóbbi szerepét probeniciddel demonstrálták, amely képes volt csökkenteni egyes fluorokinolonok vese clearancét, közöttük az enrofloxacinét is (BREGANTE ÉS MTSAL., 1999; NEUMAN, 1987; RAO ÉS MTSAL., 2002). Az enrofloxacin főként a vizelettel ürül. A metabolizmus a bélfalban is végbemehet, amelynek eredményeként az elimináció a bélhámsejtek membránján keresztül valósul meg, amely növeli az epével ürülő gyógyszerkoncentrációt a bélben. Az enrofloxacinra jellemző enterohepatikus recirkuláció növeli az eliminációs felezési időt (PHAM ÉS MTSAL., 2019). Az enrofloxacin eliminációs felezési ideje sertésekben 26,6 óra, ami hosszabb a többi állatfajhoz hasonlítva (NOUWS ÉS MTSAL., 1988). Az enrofloxacin sertésben vizsgált fontosabb farmakokinetikai paraméterei a **2. táblázatban** láthatók.

2. táblázat: Sertésben alkalmazott enrofloxacin farmakokinetikai értékei (átlag ± szórás), az eddig megjelent publikációk alapján.

Szövet	Beadási mód	Dózis	C _{max}	t _{max}	t _{1/2}	AUC _{0-∞}	Forrás
		mg/kg	µg/ml	h	h	(h × µg)/ml	
vérplazma	im.	2,5	0,74 ± 0,38	0,74 ± 0,11	5,17 ± 1,65	15,87 ± 3,39	(HAO ÉS MTSAL., 2013)
vérplazma	im.	2,5	1,09 ± 0,11	1,27 ± 0,35	6,69 ± 1,71	12,70 ± 2,72	(WANG ÉS MTSAL., 2016)
vérplazma	im.	2,5	0,57 ± 0,14	2,50 ± 0,84	-	6,88 ± 1,93	(DE SMET ÉS MTSAL., 2020)
vérplazma	im.	2,5	0,36 ± 0,07	1,57 ± 0,25	6,07 ± 2,14	3,58 ± 0,94	(YANG ÉS MTSAL., 2022)
vérplazma	im.	5	1,02 ± 0,15	4,00 ± 2,10	-	12,26 ± 1,83	(DE SMET ÉS MTSAL., 2020)
<i>ileum</i>	im.	2,5	7,07 ± 0,26	5,54 ± 0,42	8,50 ± 1,66	136,18 ± 12,50	(WANG ÉS MTSAL., 2016)
vérplazma	sc.	7,5	1,10 ± 0,28	4,11 ± 1,73	26,59 ± 2,23	47,86 ± 20,50	(MESSENGER ÉS MTSAL., 2012)
vérplazma	iv.	4	-	-	16,1 ± 5,7	31,2 ± 18,2	(HOWARD ÉS MTSAL., 2014)
vérplazma	p.o.	1,25	0,18 ± 0,01	2,00 ± 0,63	-	2,02 ± 0,18	(DE SMET ÉS MTSAL., 2020)
vérplazma	p.o.	2,5	0,45 ± 0,08	2,25 ± 1,48	-	5,93 ± 1,16	
vérplazma	p.o.	10	3,39 ± 0,12	2,01 ± 0,09	2,50 ± 0,23	13,57 ± 0,96	

C_{max} – maximális plazmakoncentráció, t_{max} – C_{max} kialakulásához szükséges idő, t_{1/2} – felezési idő, AUC_{0-∞} – végtelenre extrapolált koncentráció-idő görbe alatti terület, im. – intramuszkuláris, iv. – intravénás, p.o. – *per os* (szájon át).

3.2.7 Mellékhatások

A fluorokinolonok biztonságos antibakteriális szerek (ARAL ÉS MTSAI., 2008; SÁRKÖZY, 2001). Az enrofloxacin legjellemzőbb mellékhatásai a juvenilis porcfejlődést, a húgy-nemi szerveket, a béltraktust, a szemet és a központi idegrendszert érintik (MITCHELL, 2006). Sertésben kiemelhető az im. vagy sc. beadás helyén megjelenő kifejezett immunválasz (ARAL ÉS MTSAI., 2008; WESTROPP ÉS MTSAI., 2012). A porckárosító hatás a fiatal, nagy növekedési eréllyel jellemezhető állatfajok (pl.: csikók, nagytestű kutyák) bántalma, amely során a teherviselő ízületekben gyulladás alakul ki (ARAL ÉS MTSAI., 2008; HAYEM ÉS MTSAI., 1994; LIM ÉS MTSAI., 2008; SÁRKÖZY, 2001). Yoon és munkatársai (2004) leírása alapján a fiatal lovak érintettsége fokozottabb figyelmet igényel, mint a felnőtt egyedeké (YOON ÉS MTSAI., 2004). Az enrofloxacin ízületi károsító hatásairól eddig még nem számoltak be sertés vonatkozásában. Macskák esetében az enrofloxacin a szemben is okozhat elváltozást, ami a retina degenerációját eredményezi, sertésekben erről a mellékhatásról sem számoltak még be (MESSIAS ÉS MTSAI., 2008; WIEBE – HAMILTON, 2002).

3.3 *Streptococcus suis*

3.3.1 Morfológia

A *Streptococcus suis* fakultatív patogén baktériumfaj, amely jelentős gazdasági kárt okoz a sertéságazatban (LEI ÉS MTSAI., 2018; LUNHA ÉS MTSAI., 2022; WEI ÉS MTSAI., 2009; ZHANG ÉS MTSAI., 2008). Az USA-ban évenete több, mint 300 millió dolláros kárért tartják felelősnek (STAATS ÉS MTSAI., 1997). Gram-pozitív, kokkoid alakú, fakultatív anaerob baktérium (GOTTSCHALK – SEGURA, 2000). Tenyésztése 37 °C-on, 24-48 órán keresztül, véres agaron, aerob körülmények között a legideálisabb (ZHANG ÉS MTSAI., 2008). A véres agaron α - vagy β -hemolízis látható a telepek körül (GOTTSCHALK – SEGURA, 2000). A sejtfalban található csoport-specifikus antigének (Lancefield-antigének) alapján különböző csoportokat különíthetünk el. A *S. suis* a Lancefield-D csoportba tartozik (GOTTSCHALK – SEGURA, 2000; STAATS ÉS MTSAI., 1997). A poliszacharid tartalmú burok-antigének alapján eddig 35 szerotípust írtak le (LEI ÉS MTSAI., 2018; PERCH ÉS MTSAI., 1983; ZHANG ÉS MTSAI., 2008), amelyek többségét klinikai tüneteket mutató sertésekből izoláltak, de más állatfajok és az ember is hordozója lehet. Immunszupresszált embereknél szívbelhártya-gyulladást és szepszist is okozhat, így zoonotikus baktériumként tartjuk számon (DEVRIESE ÉS MTSAI., 1991; GOTTSCHALK – SEGURA, 2000; KERDSIN ÉS MTSAI., 2017). Leggyakrabban a 2-tes szerotípus fordul elő és ez az, amely legtöbb esetben felelős a klinikai megbetegedésekért (Lei et al., 2018; Touil et al., 1988). A szerotípus-eloszlás földrajzi területenként eltérő lehet, egyes országokban a 9-es és 14-es szerotípusok prevalenciája nagyobb (HIGGINS – GOTTSCHALK, 2001; MESSIER ÉS MTSAI., 2008; WEI ÉS MTSAI., 2009). A virulencia szerotípuson belül is változhat, ami azt jelenti, hogy nem minden 2-tes szerotípusú *S. suis* izolátum okozhat megbetegedést (VECHT ÉS MTSAI., 1989). Egy egyedben akár többféle baktérium is jelen lehet, amelyek akár különböző szerotípusúak is lehetnek (GOTTSCHALK – SEGURA, 2000; STAATS ÉS MTSAI., 1997).

3.3.2 Járványtan

A kórokozó ellenállóképessége jó, a sertések számára megfelelő technológiai viszonyok között (22-28 °C, 70-75%-os páratartalom) 8 napig is túlélhet a környezetben. Továbbá, az istálló porában 24 óráig, elhullott sertésekben 12 napig, míg 4 °C-on 1-2 hétig is életképes maradhat (CLIFTON-HADLEY, 1984). Terjedésében a ragályfogó tárgyaknak fontos szerepe van (ROBERTSON ÉS MTSAI., 1991). Habár közvetlen kontaktus útján a legvalószínűbb. Az újszülött malacok akár a szülőútban is fertőződhetnek (BERTHELOT-HÉRAULT ÉS MTSAI., 2001). A baktérium a sertések felső légutainak, húgy-nemi szerveinek és a bélrendszer nyálkahártyáján egészséges állatokban is megtalálható. A megbetegedés járványtanában kiemelt szerepe van a tünetmentesen fertőződött sertéseknek (CLOUTIER ÉS MTSAI., 2003; ZHANG ÉS MTSAI., 2008).

Az 1-es szerotípus 10-14 napos korú szopós malacokban okoz leggyakrabban megbetegedést. Az általában virulensebb 2-tes szerotípus a 4-12 hetes választott malacokat betegíti meg, amikor a kolosztrumból származó anyai ellenanyagok kiürülnek (VECHT ÉS MTSAI., 1989). Bár a fertőzésre minden korosztály fogékony, ez a fogékonyság az idősebb sertésekben csökken (STAATS ÉS MTSAI., 1997).

A *S. suis* elsősorban a garatmandulákban képes megtelepedni. Ennek következménye tünetmentes hordozás, gennyesedéssel járó helyi elváltozás vagy bakterémia, illetve szeptikémia lehet (GOTTSCHALK – SEGURA, 2000). Generalizált fertőzés esetén, a bakétrium *lymphohaematogen* úton jut el más szervekbe vagy a vérpályába (WILLIAMS ÉS MTSAI., 1973). A klinikai tünetekben megnyilvánuló megbetegedések kialakulásához hajlamosító tényezők szükségesek, amelyek közül a legfontosabbak a nem megfelelő tartási viszonyok, illetve más patogén kórokozók (STAATS ÉS MTSAI., 1997). A generalizált fertőzés során a baktérium a megtelepedhet a savóshártyákon, ízületekben és az agyhártyán is, ahol gyulladást alakít ki.

A morbiditás akár az 50%-ot is elérheti, viszont csak ritkán haladja meg az 5 %-os értéket. A betegség általában pár hét alatt lezajlik (STAATS ÉS MTSAI., 1997). A mortalitás megfelelő antibakteriális terápia alkalmazásával 5% alatt lehet tartani, azonban ennek hiányában akár a 20%-ot is elérheti (ZHANG ÉS MTSAI., 2008).

3.3.3 Klinikai tünetek

A fertőzés lefolyása lehet túlheveny, de gyakoribb a heveny lefolyás, amelyet magas láz, levertség és étvágytalanság mellett az alábbi tünetek kísérhetnek, attól függően, hogy a kórokozó elsősorban hol telepszik meg: agyhártyagyulladás esetén *ataxia*, inkoordináció, görcs, *opisthotonus*, paralízis; ízületgyulladás esetén sántaság, illetve belsőfül-gyulladás esetén süketség és ferdefejtartás. A heveny forma átmehet idült formába, ez leggyakrabban az ízületgyulladás során történik meg, amely tartós sántaságot okoz (CLIFTON-HADLEY, 1984; STAATS ÉS MTSAI., 1997). Az ízületi érintettség első detektálható jele a szinoviális erek tágulata, és bővérűség (GOGOLEWSKI ÉS MTSAI., 1990). Az érintett ízületeknél az ízületi burok megvastagodhat, az ízületi folyadék mennyisége megnövekszik és artrocentézis során sejtekben szegény, gennyes vagy fibrines tartalmat nyerhetünk. *Polyarthrititis* esetén általában a *carpalis* és a *tarsalis* ízületek az érintettek (STAATS ÉS MTSAI., 1997). Az eltérő szerotípusok által okozott megbetegedés csupán a klinikai kép alapján nem különíthető el, egyik sem okoz patognomisztikus tünetet (REAMS ÉS MTSAI., 1996). Emberekben, Kínában több járványkitörés is előfordult, amelyeket a 2-tes szerotípussal hoztak összefüggésbe. A humán tünetek között, a sertéshez hasonlóan megtalálhatjuk a agyhártyagyulladást, ízületgyulladást és a szepszist (DONG ÉS MTSAI., 2021; NICHOLSON ÉS MTSAI., 2021; PRADOS DE LA TORRE ÉS MTSAI., 2020).

A diagnózis felállításához mindenképp a klinikai tüneteket kell értékelni, elhullott sertések esetén a patológiai vizsgálat eredményeit is. Azonban a *S. suis* esetében patognomisztikus tünetek, illetve kórbonctani elváltozások nem jellemzőek. A pontos diagnózishoz laboratóriumi kiegészítő vizsgálatok szükségesek. Ezek közül a baktérium izolálása az elváltozott területekről vett mintákból kézenfekvő megoldás (WEI ÉS MTSAI., 2009). A *S. suis* önállóan és más kórokozókkal, társfertőzés formájában is képes megbetegedést okozni. Ez utóbbi leggyakrabban a sertések légúti tünetegyüttese esetén (PRDC) fordul elő, amelyben *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Trueperella pyogenes*, *Glässerella parasuis*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis* baktériumfajokkal és a sertésekben légúti megbetegedést okozó vírusokkal (sertés influenza, PRRS) egy időben okozhat megbetegedést a *S. suis* (HIGGINS – GOTTSCHALK, 2001).

3.3.4 Megelőzés, gyógykezelés

A betegség kialakulásának megelőzésére a legfontosabb lépés a megfelelő tartási és takarmányozási feltételek megteremtése a sertések számára. Emellett ma már forgalomban vannak vakcinák is, amelyekkel a kocák vakcinázhatóak a vemhesség harmadik trimeszterében, így megfelelő mennyiségű ellenanyagot biztosítva a malacoknak, a fertőzésre legfogékonyabb időszakban. Azonban figyelembe kell venni, hogy a védettség szerotípus-specifikus (FITIPALDI ÉS MTSAI., 2007; WANG – WANG – ÉS MTSAI., 2018; YAO ÉS MTSAI., 2015). Továbbá lehetőség van telepspecifikus vakcinák előállítására is (FRIENDSHIP – POLJAK, 2020; HOPKINS ÉS MTSAI., 2019). Abban az esetben, ha a *S. suis* okozta megbetegedések megjelennek egy állományban, meg kell kezdeni az antibakteriális terápiát a gazdasági kár csökkentése érdekében (van Hout et al., 2016). Jóllehet, az elmúlt évtizedeket jellemző túlzott antibiotikum felhasználás következtében több antibakteriális szerrel szemben rezisztens *S. suis* törzs is megjelent, ezek általában a makrolidokkal, linkozamidokkal, szulfonamidokkal vagy fluorokinolonokkal szemben ellenállóak (LEI ÉS MTSAI., 2018). Bár a β -laktám antibiotikumokkal szemben eddig csak elenyésző számú rezisztens *S. suis* törzset izoláltak, ennek ellenére, a helyes kezelési protokollok kidolgozásához elengedhetetlen az előzetes és teljes spektrumot felölelő antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok elvégzése (STAATS ÉS MTSAI., 1997).

3.4 Farmakokinetikai/farmakodinámiai analízis

A PK/PD analízis egyre inkább előtérbe kerül a különböző hatóanyagok dózisának optimalizálása során. Az antibakteriális szerek pontos dózisának és adagolási gyakoriságának meghatározásához ez a legmegfelelőbb módszer. Az így meghatározott dózisok és adagolási időintervallumok, illetve időtartamok csökkentik az antibakteriális szerekkel szemben rezisztens baktériumtörzsek szelekciójának esélyét (DOREY ÉS MTSAI., 2017; LEI ÉS MTSAI., 2018; MESSENGER ÉS MTSAI., 2012; TOUTAIN ÉS MTSAI., 2021, 2019). A gyógyszerek farmakokinetikai paramétereit alapvetően a központi rekesz, vagyis a plazmakoncentráció adatai alapján határozzák meg. A vérpályába betörő fertőzések (szeptikémia, bakterémia) kivételével azonban a legtöbb esetben a fertőzés helye ettől eltérő. Ezekben az esetekben, ha nincs pontos szervi adatunk, akkor a vérplazmából meghatározott farmakokinetikai paraméterek alapján becsülhetjük meg a gyógyszerkoncentrációkat. Ennél sokkal pontosabb eljárás, ha a fertőzés helyén határozzuk meg a koncentráció értékeket, amelyekre alapozva még kifinomultabb előrejelzéseket tehetünk az antibakteriális terápiára vonatkozóan. Számos leírásban találhatunk eredményeket tüdőben, agy-gerincvelő folyadékban vagy éppen ízületi folyadékban meghatározott farmakokinetikai paraméterekről (de Craene et al., 1997; Foster et al., 2016; Holmes et al., 2012; Messenger et al., 2012).

A megfelelő dózis megállapításához a farmakodinámiát is figyelembe kell vennünk, vagyis meg kell határozni a kórokozó baktériumtörzsek érzékenységét is (KOWALSKA-KROCHMAL – DUDEK-WICHER, 2021; TOUTAIN ÉS MTSAI., 2019). Az antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok egyik módja a korongdiffúziós teszt, amely nem szolgáltat kvantitatív adatokat (GARNER ÉS MTSAI., 1975). A leves mikrohígítós módszerrel ezzel szemben meghatározható az antibakteriális szerek minimális gátló koncentrációja (MIC), amely alapján pontos adatokat kapunk a baktériumizolátumok érzékenységéről, valamint a születő kvantitatív adatokat felhasználhatjuk a PK/PD analízisek során (KOWALSKA-KROCHMAL – DUDEK-WICHER, 2021).

Adott hatóanyag hatékonyságát kvantitatíve is ábrázolhatjuk ölési görbe készítésével (PELLIGAND ÉS MTSAI., 2019). *In vitro* körülmények között egy olyan hígítási sort állítanak fel, amely a hatóanyag különböző koncentrációit a legjobban jellemzi a fertőzés helyén (Lei et al., 2018). Ezt követően az inkubációs idő leteltével összehasonlítják a kezdeti élő baktériumsejtszámot (CFU/ml) a 24 óra utáni élő baktériumsejtszámmal. Bakteriosztatikus hatású lesz az a koncentráció, amiben a kezdeti baktérium mennyiség megegyezik a kísérlet végén mért mennyiséggel, baktericid hatás esetén a telepformáló egységek száma milliliterenként 3 nagyságrendű csökkenést, eradikáció esetén legalább 4 nagyságrendű csökkenést eredményez (LEI ÉS MTSAI., 2019). Ezen adatok alapján határozható meg a farmakodinámiai célérték (PDT) (EMA, 2015).

A florfenikolt és az enrofloxacin széles körben alkalmazzák sertések különféle bakteriális megbetegedéseinek terápiájára (Lei et al., 2018; Messenger et al., 2012). Körültekintő felhasználásukat az antibiotikum-érzékenységi vizsgálat eredményei alapján kell elvégezni. Az úgynevezett klinikai töréspontok (CBP) alapján az antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok eredményeit, vagyis a MIC-értékeket ($\mu\text{g/ml}$), minőségileg be lehet sorolni érzékeny, mérsékelt érzékeny vagy rezisztens (nem érzékeny) kategóriába (KOWALSKA-KROCHMAL – DUDEK-WICHER, 2021). A farmakokinetikai/farmakodinámiai határérték (PK/PD_{CO}) egy kritikus MIC-érték, amelyet a farmakodinámiai célréték (PDT) és a populációs farmakokinetikai adatok alapján határoznak meg a következők szerint: a farmakodinámiai célérték elérésének valószínűségét (PTA) általában 90% vagy a feletti értékek határozzák meg. Ezek alapján megvizsgálják a populációs farmakokinetikai adatok figyelembe vételével, hogy a kórokozónak, mely MIC-értéke esetén képes a PDT-t 90%-os valószínűséggel meghaladni a vizsgált antibakteriális szer (EMA, 2015). Az Antimikrobiális Szerekkel Szembeni Érzékenységgel Foglalkozó Állatorvosi Bizottság (VetCAST) az Európai Unió Érzékenységvizsgálattal Foglalkozó Bizottságának (EUCAST) albizottsága. Az EUCAST az EU humángyógyászati antibiotikum-érzékenységi tesztjeinek referenciabizottsága, amelyen belül a VetCAST az EUCAST iránymutatásai és struktúrája alapján működik. A VetCAST hatáskörébe tartozik az állati eredetű kórokozó baktériumfajok és a zoonotikus baktériumfajok antibiotikum-érzékenységének vizsgálatai (TOUTAIN ÉS MTSAI., 2017). A VetCAST *S. suis* esetében a vad-típusok lehetséges florfenikol MIC-értékei 0,25 és 4 $\mu\text{g/ml}$ (ECOFF = 4 $\mu\text{g/ml}$) között vannak, míg enrofloxacin esetében ezen értékeket még nem határozták meg (EUCAST, 2023).

Egy európai szintű felmérés szerint a *S. suis* lehetséges MIC-értékei florfenikollal szemben vizsgálva 0,5 és 4 $\mu\text{g/ml}$ között voltak, míg enrofloxacinnal szemben vizsgálva 0,125 és 16 $\mu\text{g/ml}$ között voltak (EL GARCH ÉS MTSAI., 2016). A Klinikai és Laboratóriumi Szabványügyi Intézet (CLSI) Állatorvosi Antimikrobiális Érzékenységvizsgálati (VAST) albizottsága, a továbbiakban CLSI/VAST, jóváhagyta a florfenikol és az enrofloxacin CBP-jét a *S. suis* okozta megbetegedések kezelésére. A CLSI/VAST által meghatározott értékek 2, 4 és 8 $\mu\text{g/ml}$ florfenikol esetében, míg enrofloxacinnál 0,5; 1 és 2 $\mu\text{g/ml}$ voltak (CLSI, 2020). Az állatgyógyászatban az antibakteriális szerek hatékonyságára vonatkozó nyilvánosan elérhető klinikai adatok általában ritkák vagy nem hozzáférhetőek. A florfenikol és az enrofloxacin esetében is vannak vizsgálatok, amelyek a hatékonyságukat alátámasztják (LEI ÉS MTSAI., 2018; MESSENGER ÉS MTSAI., 2012).

A VetCAST, mivel nem fér hozzá a klinikai hatékonysági vizsgálatok eredményeit leíró vállalati aktákhoz, másokhoz hasonlóan úgy véli, hogy a CBP megállapításához szükséges információk a PK/PD töréspontokban vannak (TURNIDGE – PATERSON, 2007). Ennek az az oka, hogy a PK/PD töréspont egy olyan származtatott érték, amely magában foglalja mind a három fő komponenset. A három komponens közül az első a mikrobiológiai komponens vagyis a vizsgált baktériumfaj érzékenysége az adott antibakteriális szerrel szemben kvantitatív módon kifejezve, ez leggyakrabban a MIC-érték szokott lenni. A második a komponens a farmakológiai komponens vagy helyesebben komponensek vagyis a vizsgált antibakteriális szer farmakokinetikai és farmakodinámiai tulajdonságai. A harmadik komponens a klinikai komponens, amelybe hatékonyságvizsgálatok eredményeit vonják be. A három komponens együttes alkalmazásával lehet a legpontosabban előrejelezni egy antibakteriális szer hatékonyságát, illetve a rezisztens baktériumtörzsek megjelenésének esélyét, annak felhasználása során. Ennek következtében az EUCAST az ilyen PK/PD töréspontokra támaszkodik a CBP-k megállapítása során. A PK/PD töréspontokat egyértelműen meg kell különböztetni a PK/PD_{CO}-tól, mivel ez utóbbiak csak farmakokinetikai és farmakodinámiai adatokból származnak, klinikai adatok nélkül. Továbbá a PK/PD_{CO}-t kizárólag a lehetséges MIC-értékek tartományának (kritikus MIC-érték) feltárásával állapítják meg. A VetCAST módszertan pedig a cél elérésének valószínűségét (PTA) a vérplazma, illetve néhány esetben a fertőzés helyéről származó koncentráció-idő profilok alapján számítja ki a PK/PD_{CO}-t a PDT figyelembe vételével. Ezt az eljárást a CLSI/VAST is elfogadta PD_{CO} néven (CLSI, 2020).

A VetCAST megközelítése szerint fontos PK/PD_{CO} becslés első lépése egy megfelelő populációs farmakokinetikai modell felállítása. Ez alapján számszerűsíteni lehet a tipikus farmakokinetikai paramétereket és a vizsgálati alanyok közötti változékonyságokat (BSV). A nem lineáris vegyeshatás-modelleket (NLME) a nagy eltéréseket tartalmazó adatok elemzésére alkalmazzák (SCHOEMAKER – COHEN, 1996), amely alapján a tipikus farmakokinetikai paraméterek és a BSV-k jól megbecsülhetők (SIDHU ÉS MTSAI., 2014). Az állatgyógyászatban különösen gyakran kell alkalmazni ezt a módszert, mivel a hosszú hatástartamú készítmények esetében, sokszor a terminális felezési időt is meg kell becsülni, ha nem elégséges a mintavételi időpontok száma (TOUTAIN – BOUSQUET-MÉLOU, 2004).

A PK/PD analízisnek három módszere van (**3. táblázat**). Az első a C_{max}/MIC, amely az antibakteriális szer maximális plazmakoncentrációjának és a vizsgált baktériumtörzs MIC-értékének arányát adja meg. A %T>MIC és AUC/MIC megadja, hogy a vizsgált hatóanyag mennyi ideig fordul elő nagyobb koncentrációban, mint a szaporodás gátlásához szükséges koncentráció. Ezt a %T>MIC a vizsgált időtartamra vonatkoztatott százalékos értékben, míg az AUC/MIC órában fejezi ki (KOWALSKA-KROCHMAL – DUDEK-WICHER, 2021; MOUTON ÉS MTSAI., 2005; TOUTAIN ÉS MTSAI., 2021).

3. táblázat: Az antibakteriális szerek esetében alkalmazott farmakokinetikai/farmakodinámiai analízisek.

PK/PD analízis	Mértékegység	Antibakteriális szerek
%T>MIC	%	β -laktám antibiotikumok, tetraciklinek, makrolidok, linkozamidok, fenikolok
AUC/MIC	h	tetraciklinek, azalidok, fluorokinolonok
C _{max} /MIC	nincs	aminoglikozidok, fluorokinolonok

%T>MIC – A két gyógyszerbeadás közötti időintervallum azon része százalékban kifejezve, amely során az antibakteriális szer koncentrációja meghaladja a baktériumszaporodás gátlásához szükséges koncentrációt.
AUC/MIC – A két gyógyszerbeadás közötti időintervallum azon része órában kifejezve, amely során az antibakteriális szer koncentrációja meghaladja a baktériumszaporodás gátlásához szükséges koncentrációt.
C_{max}/MIC – Az antibakteriális szer maximális plazmakoncentrációjának és a vizsgált baktérium MIC-értékének aránya.

A florfenikolt a bakteriosztatikus antibakteriális szerek közé sorolják, ezért ebben az esetben megfelelő PK/PD mutató a %T>MIC és az AUC/MIC. Az utóbbi egyes szerzők szerint jobban kifejezi a florfenikol klinikai hatékonyságát, ami különösen igaz a florfenikol hosszú hatástartamú készítményei esetében (LEI ÉS MTSAI., 2018; SIDHU ÉS MTSAI., 2014; TOUTAIN ÉS MTSAI., 2019). Az eddigi publikációkban megjelent, florfenikolra vonatkozó PK/PD elemzések eredményei sertések vonatkozásában a **4. táblázatban** láthatók.

4. táblázat: Florfenikollal végzett farmakokinetikai/farmakodinámiai analízisek az irodalmi adatok alapján.

Dózis mg/kg	Vizsgálat helye	Baktérium	PK/PD index	Hatás	Mérték- egység	PDT (átlag \pm szórás)	Forrás
15	tápfolyadék	APP	%T>MIC	n.a.	%	37,3 \pm 19,6	(DOREY ÉS MTSAI., 2017)
15	szérum	APP	%T>MIC	n.a.	%	37,3 \pm 19,6	
15	tápfolyadék	<i>P. multocida</i>	%T>MIC	n.a.	%	35,6 \pm 18,3	
15	szérum	<i>P. multocida</i>	%T>MIC	n.a.	%	41,4 \pm 22,5	
30	<i>ileum</i>	<i>E. coli</i>	%T>MIC	n.a.	%	15,23 \pm 2,10	(LEI ÉS MTSAI., 2019)
30	vérplazma	<i>S. suis</i>	AUC/MIC	bakteriosztatikus	h	37,89	(LEI ÉS MTSAI., 2018)
30	vérplazma	<i>S. suis</i>	AUC/MIC	baktericid	h	44,02	
30	vérplazma	<i>S. suis</i>	AUC/MIC	eradikáció	h	46,42	
30	<i>ileum</i>	<i>E. coli</i>	AUC/MIC	n.a.	h	67,31 \pm 7,12	(LEI ÉS MTSAI., 2019)

APP – *Actinobacillus pleuropneumoniae*, n.a. – nincs adat, PDT – farmakodinámiai célérték
%T>MIC – A két gyógyszerbeadás közötti időintervallum azon része százalékban kifejezve, amely során az antibakteriális szer koncentrációja meghaladja a baktériumszaporodás gátlásához szükséges koncentrációt.
AUC/MIC – A két gyógyszerbeadás közötti időintervallum azon része órában kifejezve, amely során az antibakteriális szer koncentrációja meghaladja a baktériumszaporodás gátlásához szükséges koncentrációt.

Az enrofloxacint a koncentráció-függő baktericid antibakteriális szerek közé sorolják. Ennek következtében korábban elsősorban a C_{max}/MIC összefüggést javasolták, de az újabb publikációkban az enrofloxacin esetében is az AUC/MIC összefüggést tartják alkalmasabbnak a klinikai hatékonyság kifejezésére (MESSENGER ÉS MTSAI., 2012; MOUTON ÉS MTSAI., 2005). Az eddigi publikációkban megjelent, enrofloxacinra vonatkoztatott PK/PD elemzések eredményeit sertések vonatkozásában a **5. táblázat** tartalmazza.

5. táblázat: Enrofloxacinnal végzett farmakokinetikai/farmakodinámiai analízisek az irodalmi adatok alapján.

Dózis mg/kg	Vizsgálat helye	Baktérium	PK/PD index	Hatás	Mérték- egység	PDT (átlag ± szórás)	Forrás
2,5	ileum	<i>E. coli</i>	C_{max}/MIC	n.a.	n.a.	14,14	(WANG ÉS MTSAI., 2016)
2,5	vérplazma	<i>G. parasuis</i>	C_{max}/MIC	n.a.	n.a.	2,88 ± 0,56	(YANG ÉS MTSAI., 2022)
2,5	ileum	<i>E. coli</i>	%T>MIC	n.a.	h	33,54 ± 1,47	(WANG ÉS MTSAI., 2016)
2,5	ileum	<i>E. coli</i>	AUC/MIC	n.a.	n.a.	272,36	
2,5	vérplazma	<i>G. parasuis</i>	AUC/MIC	n.a.	n.a.	28,64 ± 7,52	(YANG ÉS MTSAI., 2022)
2,5	ileum	<i>E. coli</i>	AUC/MIC	bakteriosztatikus	n.a.	21,37 ± 3,78	(WANG ÉS MTSAI., 2016)
2,5	ileum	<i>E. coli</i>	AUC/MIC	baktericid	h	52,65 ± 3,78	
2,5	ileum	<i>E. coli</i>	AUC/MIC	eradikáció	h	78,06 ± 2,41	
2,5	vérplazma	<i>G. parasuis</i>	AUC/MIC	bakteriosztatikus	h	5,10	(YANG ÉS MTSAI., 2022)
2,5	vérplazma	<i>G. parasuis</i>	AUC/MIC	baktericid	h	7,34	
2,5	vérplazma	<i>G. parasuis</i>	AUC/MIC	eradikáció	h	8,65	

n.a. – nincs adat, PDT – farmakodinámiai célérték

C_{max}/MIC – Az antibakteriális szer maximális plazmakoncentrációjának és a vizsgált baktérium MIC-értékének aránya.
%T>MIC – A két gyógyszerbeadás közötti időintervallum azon része százalékban kifejezve, amely során az antibakteriális szer koncentrációja meghaladja a baktériumszaporodás gátlásához szükséges koncentrációt.

AUC/MIC – A két gyógyszerbeadás közötti időintervallum azon része órában kifejezve, amely során az antibakteriális szer koncentrációja meghaladja a baktériumszaporodás gátlásához szükséges koncentrációt.

4. Anyagok és módszerek

4.1 Sertéseken végzett farmakokinetikai vizsgálatok

4.1.1 A kísérletek összefoglalása

A florfenikol és az enrofloxacin farmakokinetikai tulajdonságait sertéseken vizsgáltuk. A florfenikol esetében két különböző dózisban (15 mg/kg és 30 mg/kg), im. beadást követően, míg az enrofloxacin esetében egy dózisban (7,5 mg/kg), sc. beadást követően végeztük el a vizsgálatainkat. Minden esetben vér és ízületi folyadék mintát vettünk az állatoktól, majd a minták florfenikol, illetve enrofloxacin koncentrációját LC-MS/MS módszerrel, többszörös reakciófigyelő (MRM) üzemmódban azonosítottuk. Az eredmények alapján nemrekeszes analízissel, illetve a legjobban illeszkedő – mind a három esetben – egyrekeszes nyitott modellel meghatároztuk a vérplazmára és ízületi folyadékra jellemző farmakokinetikai paramétereket. Ezt követően populációs becslést végeztünk mind a három esetben, a vérplazma és ízületi folyadék eredmények alapján, vagyis Monte Carlo szimuláció segítségével célpopulációkat hoztunk létre.

4.1.2 A kísérleti állatok

A kísérletekbe 6 (florfenikol, 15 mg/kg, im.), 8 (florfenikol, 30 mg/kg, im.) és 10 (enrofloxacin, 7,5 mg/kg, im.) darab, DanBred genetikájú (Lapály x Nagyfehér x Duroc) ártány sertést vontunk be. A kísérleti állatok járványügyi besorolás szerint konvencionális státuszúak voltak, és igazoltan mentesek voltak PRRS, Aujeszky-féle betegség, *Brucella suis*, *Leptospira* spp., *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* dermanekrotoxint termelő törzseitől és *Brachyspira hyodysenteriae* okozta sertésdizentériától, emellett sertés circovírussal szembeni immunizálásban részesültek. Az állatokon a kísérletek kezdete előtt fizikális vizsgálatot végeztünk, amely során különös tekintettel voltunk az ízületek épségére, illetve a szisztémás fertőzések esetleges jeleire. A kísérletet megelőző, úgynevezett adaptációs időszakban és a kísérlet ideje alatt is, az állatok folyamatos állategészségügyi felügyeletben részesültek. Az állatok mind a három kísérlet során az Állatorvostudományi Egyetem Tangazdaságának sertéstelepén kerültek elhelyezésre, legalább egy héttel a kísérletet megelőzően. Mind a származási helyen, mind pedig a Tangazdaságban gyógyszermentes takarmányt kaptak, illetve gyógyszermentes ivóvizet fogyasztottak. A takarmány és ivóvíz a kísérleteket megelőzően és a kísérletek ideje alatt is *ad libitum* volt elérhető a malacok számára.

A tartási helyen 21 ± 3 °C teremhőmérsékletet, 70-75%-os páratartalmat biztosítottunk folyamatos ventiláció mellett, illetve a fényprogram 12 óra/nap beállításon működött. Mindhárom vizsgálatot az Állatorvostudományi Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottsága és a Pest Megyei Kormányhivatal Élelmiszerlánc-biztonsági, Növényvédelmi és Talajvédelmi Igazgatósága engedélyezte, a florfenikol 15 mg/kg dózisban történő vizsgálatát a PE/EA/288-7/2020 ügyiratszámú határozatban, míg a florfenikol 30 mg/kg dózisban, illetve az enrofloxacin 7,5 mg/kg dózisban történő vizsgálatát a PE/EA/00367-6/2022 ügyiratszámú határozatban.

4.1.3 Gyógyszerbeadás, mintavétel és tárolás

Florfenikol 15 mg/kg, im.

A kísérletben hat darab, hat hetes $12,8 \pm 1,66$ kg testtömegű sertést alkalmaztunk. Ebben a kísérletben az állatok kis mérete miatt a mintavételeket teljes anesztéziában végeztük el, ennek megfelelően az anesztéziát megelőző 12 órában a takarmányt, illetve 6 órában az ivóvizet is megvontuk a malacoktól. Az állatok pontos testtömegének meghatározását követően premedikációt Lu és munkatársai (LU ÉS MTSAI., 2012) leírása alapján tiletamin és zolazepam kombinációját 3,5 mg/kg-os dózisban (Zoletil 100 [50 mg/ml tiletamin és 50 mg/ml zolazepam] liofilizátum és oldószer oldatos injekcióhoz A.U.V., Virbac), xilazint 1,32 mg/kg-os dózisban (Sedaxylan injekció A.U.V, Eurovet Animal Health B.V.) és tramadolt 1,8 mg/kg-os dózisban (Contramal 50 mg/ml oldatos injekció, Stada Arzneimittel AG) alkalmazva valósítottuk meg, im. beadási móddal.

A vizsgálat első órájában, az artrocentézis és a vérvétel során az anesztéziát intravénásan beadott propofollal (Propofol 2 % MCT/LCT Fresenius emulzió injekcióhoz vagy infúzióhoz, Fresenius Kabi) tartottuk fenn. Az iv. út biztosításához az állatoknak, a testtömegmérést követően, mindkét fülébe 24G-s vénakanült helyeztünk el, a *v. auricularis lateralis*-ba. A továbbiakban a teljes anesztézia fenntartása nem volt indokolt, ezért csupán a tiletamin-zolazepam, xilazin és tramadol gyógyszer-kombinációt alkalmaztuk, minden mintavételt megelőzően 10 perccel.

A premedikációt követően vért és ízületi folyadékot vettünk a sertésektől, ezek szolgáltak vakmintaként. A vér és ízületi folyadék minták levételét megelőzően az adott mintavételi területet szőrtelenítettük, klórhexidines szappannal (Lifo-Scrub, 500 ml, fertőtlenítőszer B Braun, 40 g/l Chlorhexidine digluconate) tisztítottuk, majd alkohol tartalmú készítménnyel (Bradoderm soft 500 ML kézfertőtlenítő és bőrfertőtlenítő) fertőtlenítettük, a kontamináció elkerülése érdekében.

A vért minden alkalommal a *v. cava cranialis*-ból vettük, 21G x 2"-os tű és 2 ml-es fecskendő alkalmazásával. A vért lítium-heparinos vérvételi csövekben hűtve (2-8 °C) tároltuk, majd a mintavételeket követően 3000/perces fordulatszámon, 5 percen keresztül centrifugáltuk. Ezt követően szeparáltuk a vérplazmát, amelyet „low bind” Eppendorf csövekbe helyeztünk el (Low protein binding microcentrifuge tubes, Pierca™, Thermo Scientific) és a mérések elvégzéséig -80 °C-on tároltuk. A „low bind” Eppendorf csövek alkalmazására azért volt szükség, mert azok belső felületén lévő speciális polipropilén bevonat meggátolja a florfenikol felülethez való kötődését, amely a méréseinket negatívan befolyásolhatta volna.

A vakmintákat követően hajtottuk végre a florfenikol (Floron 300 mg/ml oldatos injekció szarvasmarha és sertés részére A.U.V, KRKA, Novo Mesto, Szlovénia) 15 mg/kg dózisban történő im. beadását (ez a dózis és gyógyszerbeadási mód megegyezik a hosszú hatástartamú florfenikol tartalmú engedélyezett állatgyógyászati készítmények összefoglaló tanúsítványában leírt dózissal sertésekre vonatkozóan). A gyógyszerbeadás pontos helye a fültőtől számított 2-3 cm-re, *caudalisan*, mélyen a nyakizomzatba történt. Ezt követően 10, 20, 30, 40 és 50 percnél, illetve 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 24, 48 és 72 óránál vért vettünk, a szinoviális folyadék mintavételi időpontjai pedig 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 48 és 72 órával a gyógyszerbeadást követően történtek meg. Az ízületi folyadék mintákat a *carpalis* és a *tarsalis* ízületek artrocentézisével gyűjtöttük, folyamatos rotációban, ami elegendő időt biztosított ahhoz, hogy az ízületi nedv az először pungált zsákban újratermelődjön, így megfelelő mennyiségű mintát biztosítson számunkra.

A *carpus* esetében az ízületi punkciót az *articulatio antebrachio-carpea*-n végeztük, a *vena cephalica*-tól mediálisan, kézzel kitapintva az ízületi mélyedést (**3. ábra**). A *tarsalis* ízület esetében az artrocentézist a *dorsalis* oldalon hajtottuk végre. Kézzel kitapintottuk a *trochlea tali proximalis et distalis* határán lévő mélyedést, ahova a *tarsalis* ízület egy részének, az *articulatio talocalcaneocentralis*-nak az ízületi zsákja beterjed, és innen vettünk szinoviális folyadékmintát. Itt a punkció során figyeltünk, hogy a tűt az ezen a területen áthaladó két izomi ín, a *m. extensor digitorum longus* és a *m. extensor digitorum laterale* inai között vezessük be az ízületi zsákba. Az artrocentézisek elvégzéséhez minden esetben 22 x 1 1/2"-os tűt és 1 ml-es fecskendőt használtunk és a vérvételhez hasonlóan az ízületi folyadékot is „low bind” Eppendorf csövekbe gyűjtöttük, és a mérésekig -80 °C-on tároltuk.



3. ábra: A *carpalis* ízület artrocentézise.

Florfenikol 30 mg/kg, im.

Ebben a vizsgálatban a nagyobb testtömegű sertések anesztéziájára nem volt szükség, mivel éber állapotban is rögzíthetőek voltak a vér és ízületi folyadék minták gyűjtésének idejére. A kísérletben nyolc darab tíz hetes, $28,93 \pm 3,64$ kg testtömegű sertést vontunk be. Az előző vizsgálattól eltérően egy másik florfenikol készítményt alkalmaztunk (Nuflor injekció A.U.V., Intervet International B.V., Boxmeer, Hollandia), amely a hosszú hatástartamú florfenikol készítmények eredeti készítménye, így ezen vizsgálataink eredményei ezen készítmény generikumaira is érvényesek, ennek értelmében az előző vizsgálatban alkalmazott Floron (Floron 300 mg/ml oldatos injekció szarvasmarha és sertés részére A.U.V, KRKA, Novo Mesto, Szlovénia) készítményre is. A florfenikolt nagyobb dózisban (30 mg/kg, im.) alkalmaztuk, mint az előző vizsgálatban (15 mg/kg, im.), amely megegyezett a florfenikol tartalmú engedélyezett állatgyógyászati készítmények tanúsítványában leírt dózissal.

A mintavételek, a centrifugálás és a mintatárolás azonos módszerrel történt a fentebb leírtak alapján, azzal az eltéréssel, hogy ebben az esetben a gyógyszerbeadást követő 10 órás ízületi folyadék mintavételeket elhagytuk.

Enrofloxacin 7,5 mg/kg, sc.

Ebben a vizsgálatban sem alkalmaztunk anesztéziát a sertéseken. A kísérletben tíz darab, tíz hetes, $29,51 \pm 1,71$ kg testtömegű sertést vontunk be. Ebben a vizsgálatban az enrofloxacin (Baytril Max oldatos injekció szarvasmarháknak és sertéseknek A.U.V., Bayer Animal Health GmbH, 51368 Leverkusen, Németország) 7,5 mg/kg dózisú, sc. gyógyszerbeadást követő farmakokinetikai paramétereit vizsgáltuk sertések vérplazmájában és ízületi folyadékában. Az általunk alkalmazott engedélyezett állatgyógyászati készítmény az eredeti készítménynek számít, vagyis minden generikumára vonatkoztathatóak ezen vizsgálat eredményei. A vizsgálatban alkalmazott dózis és gyógyszerbeadási mód (7,5 mg/kg, sc.) megegyezik a készítmény összefoglaló tanúsítványában leírtakkal. A mintavételek során ebben a vizsgálatban is a gyógyszerbeadást megelőzően gyűjtöttük a vakmintákat, majd a gyógyszerbeadást követően 15, 30, 45, 60, 90 perccel és 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 24, 48 órával vért vettünk, illetve 1, 2, 3, 4, 8, 12, 24 és 48 órával ízületi folyadék mintákat. A mintavételek helye, a centrifugálás és a mintatárolás megegyezett a florfenikol két dózisánál leírtakkal.

4.1.4 LC-MS/MS-mérés

Florfenikol 15 és 30 mg/kg, im.

A florfenikol mennyiségi meghatározása Agilent 1100 HPLC rendszerrel összekapcsolt Sciex 6500 QTrap tandem tömegspektrométerrel történt. A minták előkészítést követően kerültek mérésre. A mintákat mérés során Phenomenex Kinetex XB C18 (50 x 2,1 mm, 2,6 μ m) HPLC oszlopon választottuk el a mátrix komponenseitől. Eluensként 0,1% hangyasavat tartalmazó vizet (eluens A) és 0,1% hangyasavat tartalmazó acetonitrilt (eluens B) alkalmaztunk gradiens elúciós módban. A kiindulási 10%-os szerves összetételt 0,5 percig tartottuk, majd 2,5 perc alatt megemeltük 90%-ra, ahol újabb 0,5 percig tartottuk. Onnan 0,3 perc alatt hoztuk vissza a kiindulási összetételt, amit 2,2 percig tartottunk. A teljes futási idő így 6 perc volt. Az eluens áramlási sebessége 0,5 ml/perc volt. Ez a folyadékáram került bevezetésre a tömegspektrométer elektroporlasztásos ionforrásába, ahol 5000 V spray feszültség, 40 készülékegység porlasztó és 35 készülékegység 450 °C-os szárító gázt alkalmazva MRM módban történt a mennyiségi meghatározás. A florfenikol mérése során a 358,2/241 és a 358,1/170 átmeneteket használtuk. Az ütközési energia 35 eV volt. 5 pontos kalibrációs oldatsort használtunk a koncentrációk meghatározásához. A mérés során alkalmazott QC minták 96-102%-nak adódtak. A módszer LOQ értéke 0,1 ng/ml, illetve az LOD értéke 0,05 ng/ml volt. A mérés során Analyst 1.6.3 szoftvert használtunk a vezérléshez és a kiértékeléshez.

Enrofloxacin 7,5 mg/kg, sc.

A kvantitatív méréseket egy Agilent 1100 HPLC rendszerhez kapcsolt Sciex 6500QTrap tandem tömegspektrométeren végeztük. A méréseket elektropray körülmények között, pozitív ion MRM detektálási módban végeztük. A forrásfeltételek a következők voltak: párologtató (GS1), szárító (GS2) és függöny (CUR) gázok 40, 40 és 45 önkényes egység. A permetezési feszültséget 5500 V-ra, a forrás hőmérsékletét pedig 450 °C-ra állítottuk be. Az MRM átmenetek a következők voltak (Q1/Q3): 332,1/245,1 és 332,1/288,0 a ciprofloxacin esetében és 360,09/316 és 360,09/244,9 az enrofloxacin esetében. Az átmenetek ütközési energiái a következők voltak: 33, 35, 27 és 27 eV. A tartózkodási idő 80 ms volt az egyes átmeneteknél. Az elválasztáshoz egy Agilent XDB C18 (75 x 4,6 mm, 0,5 µm) HPLC oszlopot használtunk, amely vizet (A eluens) és acetonitrilt (B eluens) tartalmazott, mindkettő 0,1% hangyasavat. A gradiens a következő volt: A:B 90:10 kezdeti összetétele, majd a B koncentrációját 3 perc alatt 95%-ra növeltük, és 1 percig tartottuk. A kezdeti összetételt 0,2 percre állítottuk be, és 2,8 percig tartottuk egyensúlyban. Az áramlási sebesség 0,7 ml/perc volt. A minták fehérje kicsapását 3-szoros térfogatú metanol hozzáadásával végeztük. A mintákat vortexeltük és 13000 rpm-en 5 percig centrifugáltuk, majd a felülúszót egy fiolába mértük. Ebből a felülúszóból 5 µl-t injektáltunk és mértünk. A módszer LOQ értéke 0,1 ng/ml volt. A műszereket Analyst szoftverrel vezéreltük. Az adatok feldolgozását a Miltiquant szoftver végezte.

4.1.5 Farmakokinetikai paraméterek meghatározása

A vérplazma és az ízületi folyadék gyógyszerkoncentrációi lineáris és féllogaritmikus grafikonokon ábrázoltuk a vizuális és farmakokinetikai elemzéshez szükséges megfelelő modellek kezdeti kiválasztásához, illetve mindkét hatáshely gyógyszerkoncentrációi alapján nemrekeszes analízissel számítottuk ki a főbb farmakokinetikai paramétereket az EMA és az FDA által is elismert Phoenix 64 8.3.5.340 (Certara®, Princeton, NJ, USA) szoftverrel. Az analízis főbb beállítási paraméterei a következők voltak: a plazmakoncentráció-idő görbe alatti terület kiszámításhoz linear log trapezoid beállítást választottunk, vagyis a maximális plazmakoncentrációig a lineáris-trapézszabály alapján, majd az azt követő időpontokban a log-trapézszabály alapján számoltunk. A λ_Z sebességállandóját, illetve az egyenes meredekségét a szoftver becsülte és határozta meg. A farmakokinetikai görbe illesztéséhez $1/Y^2$ súlyozási tényezőt használtunk, ahol Y a vérplazma vagy az ízületi folyadék gyógyszerkoncentrációját jelentette.

Az alábbiakban a nemrekeszes analízissel meghatározott farmakokinetikai paraméterek sora látható:

- C_{max} = maximális plazmakoncentráció; maximális ízületi folyadék-koncentráció
- t_{max} = a C_{max} eléréséhez szükséges idő a vérplazmában és az ízületi folyadékban
- $t_{1/2el}$ = eliminációs felezési idő a vérplazmában és az ízületi folyadékban
- K_e = eliminációs sebességi állandó
- AUC_{24h} = koncentráció-idő görbe alatti terület 24 órára kiszámítva a vérplazmában és az ízületi folyadékban
- $AUC_{0-\infty}$ = koncentráció-idő görbe alatti terület végtelenre extrapolálva a vérplazmában és az ízületi folyadékban
- V_d = látszólagos megoszlási térfogat
- Cl = teljes test clearance

Mindezekre azért volt szükség, hogy a saját eredményeinket az irodalmi adatokkal összevethessük, valamint a lentebb részletezett egyrekeszes nyitott modell fejlesztéséhez az előzetes becsléseket ezen adatokra alapozva adhatjuk meg a populációs farmakokinetikai analízis során. A kapott eredmények alapján a leíró statisztika módszereit alkalmazva meghatároztuk a farmakokinetikai paraméterek átlagát, szórását és standard hibáját a vérplazma és ízületi folyadék tekintetében is. Ezen statisztikai számításokat a Phoenix 64 8.3.5.340 szoftverrel végeztük el.

A fenti adatok alapján határoztuk meg az ízületi folyadék és a vérplazma koncentrációiból számított $AUC_{0-\infty}$ és C_{max} értékek arányát, hogy van-e szignifikáns eltérés, a két hatáshely között. A két hatáshely $AUC_{0-\infty}$ és C_{max} értékeinek eloszlását Shapiro-Wilk teszttel ellenőriztük, 95%-os valószínűségen, majd kétmintás t-próbával vizsgáltuk, hogy szignifikáns-e a különbség. Szignifikánsnak vettük azokat az eredményeket, ahol a $p < 0,05$. A statisztikai próbák elvégzéséhez a Knime (Knime AG, Zürich, Svájc) szoftvert alkalmaztuk.

Egy nemrégiben megjelent tanulmány alapján kis koncentrációban elhanyagolható, nagy koncentrációban pedig legfeljebb 5%-os fehérjekötődést mutattak ki **florfenikol** esetében szarvasmarhákban (FOSTER ÉS MTSAI., 2016). Ez megerősíti a korábban leírt kismértékű fehérjekötődést (15% alatti), amelyet *in vitro* vizsgálatokban határoztak meg (BRETZLAFF ÉS MTSAI., 1987; LOBELL ÉS MTSAI., 1994). Ehhez hasonló eredményt kaptak Lei és munkatársai is sertések esetében (LEI ÉS MTSAI., 2018), következésképpen a florfenikol esetében a fehérjekötődést számításainkban figyelmen kívül hagytuk.

A farmakokinetikai/farmakodinámiai értékelése során általában javasolt, hogy a fehérjekötődés okozta kiigazítást kell elvégezni, hogy figyelembe vegyünk a szöveti és a vérplazmában a plazmafehérjékhez történő kötődés miatt feltételezhető különbségeket a hatóanyagok koncentrációjában. Mouton és munkatársai (2005) tanulmányukban a vérplazmában mért koncentrációkra alapozott C_{max} és AUC értékek esetében javasolják a szabad plazmakoncentrációkkal történő korrekciót a PK/PD index meghatározása során (MOUTON ÉS MTSAI., 2005). Ezzel ellentétben Messenger és munkatársai (2012) munkája alapján nem vettük figyelembe a plazmafehérjékhez való kötődést **enrofloxacin** esetében sem, mivel kimutatták, hogy a szövetekben mérhető koncentrációja az enrofloxacinak nagyobb, mint a vérplazmában (MESSENGER ÉS MTSAI., 2012).

4.1.6 Populációs farmakokinetikai analízis

A populációs farmakokinetikai analízist is a Phoenix 64 8.3.5.340 szoftverrel végeztük. A vizsgálatok során a sertések adatait egy nemlineáris vegyes hatású modell segítségével elemeztük. A populációs farmakokinetikai paramétereket kvázi-random parametrikus várakozás-maximalizálás becslési eljárással (Quasi-Random Parametric Expectation Maximization = QRPEM) számítottuk ki. Először több modellt értékeltünk mindhárom kísérletben a vérplazmában és az ízületi folyadékban meghatározott koncentrációk eredményei alapján. Minden sertésre vonatkozóan teljes adatsor állt rendelkezésre és ezeket használtuk a végleges modell kiválasztásához és a populációs paraméterek kiszámításához. Az értékelt modellek közül egy elsőrendű felszívódást és eliminációt tartalmazó egyrekeszes farmakokinetikai modellt választottunk ki mindhárom vizsgálatban, és végül azt használtuk az adatok illesztésére mindkét hatáshely esetében. A paraméterezés a felszívódási sebességállandó (K_{ab}), az eloszlási térfogat (V) és a clearance (Cl) volt. A végleges populációs modellt a log likelihood (-2LL) legalacsonyabb értékei, az Akaike információs kritérium (AIC) (YAMAOKA ÉS MTSAI., 1978), a grafikonok vizuális vizsgálata, a vizuális prediktív ellenőrzés (VPC) grafikonjai és a Phoenix modell-összehasonlító eszköze alapján választottuk ki minden vizsgálatban. A testtömegnek, mint társváltozónak a hatását, a populáció variabilitás forrásának meghatározására vizsgáltuk. A vizsgált társváltozó egyik hatóanyag esetében sem javította a modellt, ezért kizártuk a végleges populációs farmakokinetikai modellből mind a két hatáshely esetében. Az alkalmazott hibamodellel multiplikatív hibából állt minden vizsgálatban. A biológiai változékonyságot leíró, a vizsgált egyedek közötti változékonyság (BSV) becslésére exponenciális modellt alkalmaztunk.

Az előzetes elemzések alapján a florfenikol 30 mg/kg-os vizsgálatánál az ízületi folyadék esetében nagy értéket vett fel a felszívódási sebesség állandó, mivel az első mintavételi időpontban (1-2 órával a gyógyszerbeadást követően), már elérte a florfenikol az ízületi folyadékban a C_{max} -ot, ebből következően a felszívódási sebesség állandó becsléséhez szükséges minimum 3 pont nem volt meg a mintavételeink alapján. Ennek érdekében bootstrap-et hajtottunk végre, amellyel modelleztük a meglévő adatok alapján a 0,15; 0,5 és 0,75 órával a gyógyszerbeadást követő florfenikol-koncentrációt az ízületi folyadékban.

A farmakokinetikai paramétereket (K_{ab} , V és Cl) minden egyes alanyra (i -edik állat) a következő szerkezeti modellel határoztuk meg (**1. egyenlet**):

$$\theta_{1i} = \theta_1 \times \text{Exp}(\eta_{1i}) \quad (1.)$$

ahol θ_1 a théta tipikus populációs értéke (K_{ab} , V , Cl), θ_{1i} a théta értéke az i -edik állatban, és η_{1i} (η) az i -edik állathoz tartozó eltérés a megfelelő théta populációs értéktől. Ez az exponenciális modell a paraméterek log-normális eloszlását feltételezi, vagyis azt, hogy az éták eloszlása normális a log-tartományban, átlaga 0 és szórása ω^2 , ahol:

$$\eta \approx N(0, \omega^2)$$

Minden egyes théta-hoz tartozó, saját varianciával rendelkező ω^2_{Ka} , ω^2_V és ω^2_{Cl} éta eloszlást számoltunk. Az omega és az éta értékek a véletlenszerű hibák (hatások) leírására szolgálnak. Az omega érték a populációs szintű változók közötti változékonyságot írja le, míg az éta érték az egyedspecifikus változók közötti változékonyságot jellemzi.

A vizsgált egyedek közötti variabilitást (BSV) az eredeti skála variációs együtthatójaként írtuk le a következő egyenlet (**2. egyenlet**) segítségével, amely a variancia kifejezéseket (ω^2) variációs együtthatóvá (CV%) vagy más néven relatív standard eloszlássá (RSD) alakítja.

$$CV(\%) = 100 \times \sqrt{\exp(\omega^2) - 1} \quad (2.)$$

Ezzel nem a modell megfelelőségét értékeltük, hanem az egyes paraméterek egyedek közötti változékonyságát becsültük meg a modell alapján.

Az éták zsugorodását (*shrinkage*) a következő egyenlet **(3. egyenlet)** alapján becsültük meg:

$$\eta \text{ shrinkage} = 1 - \frac{SD(\eta_j)}{\omega_{j,j}} \quad (3.)$$

ahol $SD(\eta_j)$ a j -edik (megfigyelés) szórása az összes alanyra vonatkozóan, és $\omega_{j,j}$ a j -edik véletlen hatás populációs szórásának becslése, $j = 1, 2, \dots, N$ stb.

A különböző diagnosztikai ábrák (illeszkedési diagramok) áttekintésével állapítottuk meg, hogy egy modell megfelelő-e vagy sem. Ezek a diagramok arra szolgáltak, hogy vizuális alapon bírálhassuk, hogy a valós (megfigyelt) adatok mennyire illeszkednek a modell által létrehozott elméleti eloszláshoz. Ezek az ábrák a következők voltak: a populációs paraméterbecsléseken alapuló populációs előrejelzett értékek (PRED) és az egyéni étákon alapuló előrejelzett értékek (IPRED), a függő változó (DV), amely a gyógyszerkoncentráció volt a vérplazmában vagy az ízületi folyadékban, függvényében vizsgáltuk lineáris és logaritmikus diagramon. A gyógyszerkoncentrációk (vérplazmában és ízületben) feltételes súlyozott maradékértékeit (CWRES) ábrázoltuk a gyógyszerbeadást követő idő függvényében, ahol a CWRES értékeinek megközelítőleg $N(0,1)$ -nek kell lenniük, vagyis $y = -2$ és $y = +2$ közé kell koncentrálniuk.

Az egyrekeszes nyitott farmakokinetikai modell általános megfelelőségét a vizuális prediktív ellenőrzés (VPC) ábrájával vizsgáltuk meg, azaz a megfigyelt adatok (gyógyszerkoncentráció a vérplazmában és az ízületi folyadékban) és a szimulált adatokból levezetett prediktív intervallumok grafikus összehasonlításával.

A másodlagos paramétereket, mint az $AUC_{0-\infty}$ (koncentráció-idő görbe alatti terület végtelenre extrapolálva), $t_{1/2ab}$ (felszívódási felezési idő), K_e (eliminációs sebességi állandó) és a $t_{1/2e}$ (eliminációs felezési idő) a következő képletek alapján számítottuk ki:

$$AUC_{0-\infty} = \frac{D}{\theta_V}$$

$$t_{1/2ab} = \frac{\ln 2}{\theta_{K_{ab}}}$$

$$K_e = \frac{\theta_{Cl}}{\theta_V}$$

$$t_{1/2e} = \frac{\ln 2}{K_e}$$

A másodlagos paraméterek meghatározását azért végeztük el, hogy összevethessük az előzetesen elvégzett nemrekeszes analízis vérplazma és ízületi folyadék eredményeivel, illetve a lentebb tárgyalt, Monte Carlo szimulációval létrehozott célpopuláció nemrekeszes analízissel meghatározott eredményeivel.

4.1.7 Monte Carlo szimuláció

A létrehozott populációs farmakokinetikai modellt használtuk alapul célpopulációk létrehozásához a Phoenix 64 8.3.5.340 programban végzett Monte Carlo szimuláció segítségével. A florfenikol 15 mg/kg-os vizsgálata során mindkét hatáshely esetében 6000 malacból álló célpopulációkat hoztunk létre, míg a másik két vizsgálat esetében a célpopulációk 5000 malacból épültek fel. A florfenikol 15 és 30 mg/kg-os vizsgálatában a koncentrációk hibaterminus nélküli szimulációját a gyógyszerbeadást követő 0 és 72 óra között, 1 órás lépésekkel végeztük el, mindkét hatáshely esetében. Az enrofloxacin esetében ugyanezt a szimulációs lépést a gyógyszerbeadást követő 0 és 48 óra között határoztuk meg, 1 órás lépésekkel.

4.1.8 PK/PD határértékek meghatározása

Florfenikol

A **florfenikol 15 és 30 mg/kg-os vizsgálataiban** a Monte Carlo szimulációval létrehozott célpopulációk egyedeire vonatkozó koncentráció-idő görbéket a Phoenix 64 8.3.5.340 program nemrekeszes felületével elemeztük tovább, hogy megkapjuk egyedenként a görbe alatti területek értékét 24 órára extrapolálva (AUC_{0-24h}) és ebből kiszámítva az átlagos plazma- és ízületi folyadék-koncentrációk (C_{avg24h}) értékét, illetve a kiválasztott MIC-értékek (0,25; 0,5; 1 és 2 $\mu\text{g/ml}$) feletti idő kiszámítását 0 órától a végtelenre extrapolálva, amelyből kiszámoltuk, hogy 24 és 48 órára vetítve az adott időtartam hány százalékában van a florfenikol koncentrációja a vérplazmában és az ízületi folyadékban az adott MIC-érték felett.

A $\%T > \text{MIC}$ összefüggéshez alapértelmezett farmakodinámiai célértékének (PDT) 40-50%-ot választottunk 24 és 48 óra esetén is, mivel nincs teljes egyetértés a szakirodalomban a florfenikol értékelését tekintve (BURGESS ÉS MTSAI., 2007; MOUTON ÉS MTSAI., 2012), illetve az összefüggést nem írták még le *S. suis* baktériumfajra a florfenikol esetében. A $\%T > \text{MIC}$ elv alapján vizsgáltuk a 24 és 48 órás időtartamot, mivel a florfenikolt tartalmazó hosszú hatástartamú állatgyógyászati engedélyezett készítmények esetén egy gyógyszerbeadást követően 48 órás hatástartam kerül megjelölésre a készítmények összefoglaló tanúsítványában (SPC), így az általunk vizsgált készítményekben is (15 mg/kg-os vizsgálat - Floron 300 mg/ml oldatos injekció szarvasmarha és sertés részére A.U.V., KRKA, Novo Mesto, Szlovénia, 30 mg/kg-os vizsgálat - Nuflor injekció A.U.V., Intervet International B.V., Boxmeer, Hollandia).

Az AUC/MIC összefüggéshez alapértelmezett farmakodinámiai célértékeknek (PDT) a saját – *S. suis*-ra vonatkozó – kutatásunk eredményeit használtuk fel [AUC_{24h}/MIC bakteriosztatikus hatás eléréséhez (E = 0) 22 óra sertés vérplazmában és ízületi folyadékban, illetve baktericid hatás eléréséhez (E = -3) 87 óra sertés vérplazmában, míg ízületi folyadékban 77 óra], amelynek vizsgálata a továbbiakban kerül részletezésre (SOMOGYI ÉS MTSAI., 2023). A %T>MIC összefüggéshez hasonlóan ebben az esetben is a 0,25-2 µg/ml-es tartományt vizsgáltuk.

Az AUC_{24h}/MIC értékek közül a bakteriosztatikus hatás eléréséhez szükséges 22 órás értéket (sertés vérplazmában és ízületi folyadékban), úgy kell értelmeznünk, hogy a florfenikol AUC_{0-24h} értékének a *S. suis* törzs MIC-értékének legalább a 22-szeresét el kell érnie. Például, ha a vizsgált MIC-érték 0,5 µg/ml, akkor a florfenikol AUC_{0-24h} értékének legalább 11 (h × µg)/ml-es értéket kell felvennie, hogy a bakteriosztatikus hatás kialakuljon. Abban az esetben jelöltünk meg egy MIC-értéket PK/PD_{CO} értéként, ha a célpopulációban a florfenikol AUC_{0-24h} értékek legalább 90%-a elérte a 22-szeresét a MIC-értéknek.

Emellett az AUC_{24h}/MIC értékek közül a baktericid hatás eléréséhez szükséges 86 órás értéket (sertés vérplazmában), úgy kell értelmeznünk, hogy a florfenikol AUC_{0-24h} értékének a *S. suis* törzs MIC-értékének legalább a 86-szorosát el kell érnie. Például, ha a vizsgált MIC-érték 0,5 µg/ml, akkor a florfenikol AUC_{0-24h} értékének legalább 43 (h × µg)/ml-es értéket kell felvennie, hogy a baktericid hatás kialakuljon. Abban az esetben jelöltünk meg egy MIC-értéket PK/PD_{CO} értéként, ha a célpopulációban a florfenikol AUC_{0-24h} értékek legalább 90%-a elérte a 86-szorosát a MIC-értéknek. Az ízületi folyadék esetében ugyan ezen összefüggéseket alkalmaztuk az ott meghatározott 76 órás PDT figyelembevételével.

Az AUC_{0-24h} értékekből számított C_{avg24h} értékek alapján is vizsgáltuk a florfenikol hatékonyságát a következők szerint. A célpopuláció AUC_{0-24h} értékeit elosztottuk 24-gyel, így megkaptuk a célpopuláció minden egyedének a C_{avg24h} értékét a vérplazmában és ízületi folyadékban. A bakteriosztatikus hatás PDT-ja 22 óra, 24 órával elosztva 0,92 értéket kapunk. Utóbbi azt jelenti, hogy a florfenikol C_{avg24h} értékének legalább a 0,92-szorosának kell lennie a bakteriosztatikus hatás eléréséhez a C_{avg24h}/MIC index értelmében. Például, ha a *S. suis* törzs MIC-értékét 0,5 µg/ml-nek vesszük, akkor a C_{avg24h} értéknek legalább 0,46 µg/ml-nek kell lennie. Ennél a vizsgálati módszernél is a legalább 90%-os PTA értéket határoztuk meg, vagyis a 0,5 µg/ml-es példát folytatva a célpopuláció legalább 90%-ban 0,46 µg/ml vagy a feletti értéket kell felvennie a C_{avg24h}-nak. A fentebbi összefüggéseket a különböző MIC-értékek, hatáshelyek és PDT-értékek figyelembevételével a **6. táblázatban** láthatók.

6. táblázat: A florfenikol *S. suis* törzsekkel szembeni MIC-értékeihez szükséges AUC_{0-24h} és C_{avg24h} értékek.

Hatás és PDT	vérplazma és ízületi folyadék					
Bakteriosztatikus	MIC	µg/ml	0,25	0,5	1	2
$AUC_{24h}/MIC = 22 \text{ h}$	AUC_{0-24h}	(h × µg)/ml	5,5	11	22	44
$C_{avg24h} = 0,92 \times MIC$	C_{avg24h}	µg/ml	0,23	0,46	0,92	1,84
Hatás és PDT	vérplazma					
Baktericid	MIC	µg/ml	0,25	0,5	1	2
$AUC_{24h}/MIC = 86 \text{ h}$	AUC_{0-24h}	(h × µg)/ml	21,5	43	86	172
$C_{avg24h} = 3,85 \times MIC$	C_{avg24h}	µg/ml	0,895	1,93	3,85	7,7
Hatás és PDT	ízületi folyadék					
Baktericid	MIC	µg/ml	0,25	0,5	1	2
$AUC_{24h}/MIC = 76 \text{ h}$	AUC_{0-24h}	(h × µg)/ml	19	38	76	152
$C_{avg24h} = 3,17 \times MIC$	C_{avg24h}	µg/ml	0,793	1,59	3,17	6,34

AUC_{0-24h} – plazmakoncentráció-idő görbe alatti terület 24 órára kiszámítva, C_{avg24h} – 24 órára vetített átlagos plazmakoncentráció a vérplazmában és az ízületi folyadékban, MIC – minimális gátló koncentráció, AUC/MIC – a két gyógyszerbeadás közötti időintervallum azon része órában kifejezve, amely során az antibakteriális szer koncentrációja meghaladja a baktériumszaporodás gátlásához szükséges koncentrációt

A fenti értékeket ezt követően statisztikailag elemeztük, hogy kiszámítsuk a PK/PD_{CO} határérték megállapításához szükséges percentiliseket és ezeket figyelembe véve a célérték elérésének valószínűségét (PTA), amelynek 90% vagy a feletti eredménye esetén tekintettük hatékonynak a florfenikol 15 vagy 30 mg/kg dózisban, im. beadását követő alkalmazását a vérplazma és az ízületi folyadék tekintetében.

Az AUC és C_{avg} értékek közül azért választottuk a 24 órára extrapolált értékeket, mivel saját kutatásunkban is 24 órás időtartamban vizsgáltuk a florfenikol farmakodinámiai tulajdonságait, illetve a szakirodalomban is ezen időtartamra vonatkozó adatok találhatóak *S. suis* fertőzésekre nézve (Lei et al., 2018). A humán egészségügyben minden esetben állandósult állapotban, 24 órás időtartamra értékelik az antibakteriális szerek farmakodinámiai tulajdonságait és a PK/PD_{CO} értékeket is ez alapján határozzák meg (MOUTON ÉS MTSAI., 2012), mivel a legtöbb antibakteriális engedélyezett készítményt több napon keresztül adagolják. Az állatgyógyászatban a hosszú hatástartamú készítmények esetén feltételezhetjük (amelyek esetén egy vagy 48 órás időközzel két kezelést is elegendőnek tartanak), hogy egy gyógyszerbeadást követően kialakul az állandósult állapot a vérplazmában, illetve más folyadékterekben is, mint például az ízületi folyadék (TOUTAIN ÉS MTSAI., 2002, 2021).

Egy korábbi vizsgálatunkban az egyedi nemrekeszes elemzéssel kapott eredményeinket mi is eszerint értékeltük (SOMOGYI ÉS MTSAI., 2022), de mivel erre még nincs teljes bizonyíték a florfenikol ezen készítményeire sertésben, így ebben az esetben a populációs farmakokinetikai modellek (vérplazma, ízületi folyadék) eredményeit a humán gyógyászatban elfogadott módon értékeltük. Csak a %T>MIC elv esetén vizsgáltuk a 48 órás hatástartam figyelembevételével lehetséges eredményeket, amellyel a rezisztens törzsek megjelenésének esélyét vizsgáltuk. Emellett arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a *S. suis* okozta fertőzések (szepszémia, ízületi fertőzés) esetében is fennáll a florfenikol tartalmú készítmények összefoglaló tanúsítványjaiban leírt 48 órás hatástartam.

Ezt követően végeztük el a florfenikol 15 mg/kg-os vizsgálatából származó eredmények (%T>MIC, AUC_{0-24h}, C_{avg24h}) összehasonlítását a florfenikol 30 mg/kg-os vizsgálatából származó azonos eredményekkel. Az AUC_{0-24h} értékek esetén 24 órára kiszámítottuk az átlagos plazmakoncentrációk értékét mindkét vizsgálat esetén a vérplazma és ízületi folyadék tekintetében is és ezen eredményeket hasonlítottuk össze statisztikai módszerekkel. Az összehasonlítás során a két különböző dózis eredményeit vetettük össze az azonos hatáshelyeken (vérplazma, ízületi folyadék). Az eredmények eloszlását Shapiro-Wilk teszttel ellenőriztük, 95%-os valószínűségen, majd kétmintás t-próbával vizsgáltuk a különbségek szignifikanciáját. A statisztikai próbák elvégzéséhez a Knime szoftvert alkalmaztuk ebben az esetben is. Ezen összehasonlító statisztikai analíziseket azért végeztük el, hogy a két különböző dózis alkalmazását követő *S. suis*-ra vonatkozó PK/PD_{CO} értékek (kritikus MIC-értékek) között, ha van eltérés, akkor azok szignifikánsak-e.

Enrofloxacin

Az **enrofloxacin vizsgálata** során a célpopuláció 5000 malacára vonatkozó koncentráció-idő görbéket a Phoenix 64 8.3.5.340 program nemrekeszes felületével elemeztük tovább, hogy meghatározzuk egyedenként a görbe alatti területek értékét végtelenre extrapolálva ($AUC_{0-\infty}$). Az AUC/MIC összefüggéshez alapértelmezett PDT értéknek >50 arányt állapítottunk meg a szakirodalmi adatok alapján (TOUTAIN ÉS MTSAI., 2002; WRIGHT ÉS MTSAI., 2000). Ami azt jelenti, hogy a vizsgált MIC-értékek legalább 50-szeres értékét kell felvennie az $AUC_{0-\infty}$ értékének a baktericid hatás kialakuláshoz az enrofloxacin esetében. Például, ha a vizsgált MIC-érték 0,25 $\mu\text{g/ml}$, akkor az $AUC_{0-\infty}$ értékének legalább 12,5 ($\text{h} \times \mu\text{g}$)/ml értéket kell felvennie.

Mivel az enrofloxacint a koncentráció-függő baktericid antibakteriális szerek közé sorolták, így az AUC/MIC összefüggés során az egyszeri beadást követő összes gyógyszer mennyiséggel számoltunk, vagyis ennek következtében az $AUC_{0-\infty}$ alkalmaztuk a számításainkban Mouton és munkatársainak (2005) javaslatától eltérően (MOUTON ÉS MTSAI., 2005). A MIC-értékek vizsgált tartományát 0,03-8 $\mu\text{g/ml}$ között határoztuk meg. Ezeket figyelembe véve vizsgáltuk a PTA értékét, amelynek 90% vagy a feletti eredménye esetén tekintettük mikrobiológiai szempontból hatékonynak az enrofloxacin 7,5 mg/kg dózisban, sc. beadását követő alkalmazását a vérplazma és az ízületi folyadék esetén. Ezen adatok alapján határoztuk meg az enrofloxacin PK/PD_{CO} határértékét.

4.2 A florfenikol farmakodinámiai paramétereinek vizsgálata egy *S. suis* izolátumon

4.2.1 *In vitro* ölési görbék vizsgálata három különböző tápközegben

A tápközegek leírása

A szérumot és az ízületi folyadékot klinikailag egészséges és kezeletlen, konvencionális sertésekből gyűjtöttük a farmakokinetikai vizsgálatokban leírtakkal megegyező eljárással. A vérvétel aszeptikusan, zárt rendszerben történt. A vért alvadásában nem gátoltuk, és 2 órán keresztül szobahőmérsékleten tároltuk, majd steril fülke alatt szeparáltuk a szérumot steril centrifugacsövekbe, és a kísérletek megkezdéséig -20 °C -on tároltuk.

Az ízületi folyadékot 24 órával a vizsgálatot megelőzően gyűjtöttük. Az ízületi folyadék levétel is aszeptikusan, zárt rendszerben történt. A fecskendőket $+4\text{ °C}$ -ra lehűtve szállítottuk, és a tűket laboratóriumi körülmények között steril fülke alatt távolítottuk el a fecskendőkről, hogy elkerüljük az ízületi folyadék szennyeződését. Ezt követően minden mintából $10\ \mu\text{l}$ -t véres-agar lemezre (Bak-Teszt Kft., Budapest, Magyarország) oltottunk, és 37 °C -on 24 órán át inkubáltuk a ízületi folyadékok sterilitásának ellenőrzése céljából. A fennmaradó részt steril centrifugacsövekbe helyeztük, és a kísérlet megkezdéséig $+4\text{ °C}$ -on tároltuk, mivel előzetes vizsgálatok során, ha az ízületi folyadékot lefagyasztottuk (-20 °C -on történő tárolás), erős gélesedést figyeltünk meg, ami alkalmatlanná tette a további vizsgálatok elvégzésére. A kísérlet megkezdése előtt a véres-agarok szemrevételezésével ellenőriztük az ízületi folyadékok szennyezettségét. Azokat az ízületi folyadékokat kizártuk a kísérletből, amelyekhez tartozó véres-agaron növekedést tapasztaltunk. Ezt követően az ízületi folyadékokat 9:1 arányban elegyítettük steril fiziológiás sóoldattal (Salsol oldatos infúzió, TEVA Gyógyszergyár Zrt., Debrecen, Magyarország), amellyel a kontroll ($0\ \mu\text{g/ml}$ florfenikol) minta kivételével bevittük a megfelelő florfenikol mennyiséget a 2-es alapú hígítási sor kialakításához ($0,125$; $0,25$; $0,5$; 1 ; 2 ; 4 ; 8 ; $16\ \mu\text{g/ml}$). Ezeket az oldatokat alkalmaztuk az ölési görbék felállításához.

Harmadik közegként a CLSI által a mikrohígítási módszer elvégzéséhez ajánlott kationadjuvált Mueller-Hinton (CA-MH) (Mueller-Hinton Broth 2, Merck KGaA, Darmstadt, Németország) levest alkalmaztunk (CLSI, 2020).

***In vitro* ölési görbék elkészítése**

Az ölési görbék elkészítéséhez egy *S. suis* izolátumot vontunk be (a továbbiakban SS96). Az SS96-os izolátumot sertés ízületgyulladásból tenyésztettek ki Magyarországon, 2022-ben. Első lépésként meghatároztuk az izolátum MIC-értékét sertés vérplazmában, sertés ízületi folyadékban és CA-MH levesben. Az SS96 izolátum növekedését florfenikol mentes CA-MH levesben, sertés vérplazmában és sertés ízületi folyadékban vizsgáltuk, amelyek a vizsgálatban kontrollként szerepeltek. A florfenikol hatékonyságát is teszteltük ugyanezekben a közegekben a következő koncentrációkban: 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; és 16 µg/ml. A vizsgálat előtt az SS96 izolátumot CA-MH levesben 18 órán át inkubáltuk, +37 °C-on a megfelelő kezdeti csíraszám eléréséhez. Az inkubációt követően a csíraszám meghatározásához a baktériumsuszpenziót 10 percig 3000/perc fordulatszámon centrifugáltuk, a felülúszót eltávolítottuk, és steril fiziológiás sóoldatban reszuszpendáltuk a baktériumokat. Ezt ismét egy 10 perces centrifugálás követte 3000/perc fordulatszámon. A továbbiakban a felülúszó eltávolítását követően steril fiziológiás sóoldattal reszuszpendáltuk, úgy hogy a baktériumsuszpenzió 0,5 McFarland standarnak feleljen meg. Az, így reszuszpendált szuszpenzió baktériumsűrűségét $1,5 \times 10^8$ CFU/ml-nek vettük. Ezt követően a kiindulási csíraszámot $6,5 \times 10^4$ CFU/ml-re állítottuk be CA-MH levesben, sertés vérplazmában és sertés ízületi folyadékban. Ezek az oldatok ekkor még nem tartalmaztak florfenikolt. Ennek megfelelően a kiindulási csíraszám pontos meghatározásához mindhárom közegből tízes alapú hígítási sort készítettünk, amelyekből véres agarra oltottunk, majd 37 °C-on, 24 órán keresztül, 5% CO₂ jelenlétében inkubáltunk. A baktériumsuszpenziókban beállítottuk a megfelelő florfenikol-koncentrációkat, a kontrollok kivételével. A továbbiakban a florfenikol mentes és a különböző florfenikol-koncentrációkat tartalmazó három eltérő közegben, +37 °C-on, 24 órán át inkubáltuk a baktériumot. Az inkubációt követően tízes alapú hígítási sorokat készítettünk, amelyekből véres agarra oltottunk, majd 37 °C-on, 24 órán keresztül, 5% CO₂ jelenlétében inkubáltuk, és végül ezek alapján meghatároztuk a 24 órás csíraszámot, minden közeg, minden florfenikol koncentrációja esetében.

4.2.2 Farmakodinámiai célérték meghatározása

A szigmoidális E_{max} gátlási egyenletet (4. egyenlet, Hill-egyenlet) használtuk fel az AUC_{24h}/MIC adatok modellezésére a SS96-os izolátum ölési görbéi alapján meghatározott eredményekből (TOUTAIN ÉS MTSAL., 2021). A számításokat a Phoenix 64 8.3.5.340 szoftverrel végeztük el. Ez alapján határoztuk meg az élő baktériumsejtszám \log_{10} alapú változását (\log_{10} CFU/ml) az AUC_{24h}/MIC függvényében. A PDT-t a 24 órás inkubációt követő növekedésgátlás három szintjére határoztuk meg: $E = 0$, bakteriosztatikus, ami a CFU/ml 0 \log_{10} változását jelentette; $E = -3$, baktericid, a CFU/ml 3 \log_{10} -es csökkenését jelentette; és $E = -4$, eradikáció, a baktériumszám 4 \log_{10} -es csökkenését jelentette (TOUTAIN ÉS MTSAL., 2021).

$$E = E_0 - \frac{E_{max} * C(t)^\gamma}{EC_{50}^\gamma + C(t)^\gamma} \quad (4.)$$

A Hill-egyenletben (4. egyenlet), amelyben $E = \log_{10}$ alapú élő baktériumsejtszám változás, E_0 = kezdeti \log_{10} alapú élő baktériumsejtszám, E_{max} = maximális (válasz) ölési képesség, $C(t) = AUC_{24h}/MIC$, EC_{50} = florfenikol *in vitro* koncentrációja, amely a maximális ölési képesség felét képes kifejteni, γ = Hill-koefficiens (a görbe meredeksége) (TOUTAIN ÉS MTSAL., 2021). A fentebb már részletezett módon, ezen vizsgálat PDT eredményeit alkalmaztuk a florfenikol 15 mg/kg-os és 30 mg/kg-os dózisa esetén a PTA eredmények alapján a PK/PD_{CO} határértékek meghatározásához.

4.3 Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok

Kutatásom során 100 db *S. suis* izolátum antibiotikum-érzékenységét határoztam meg florfenikollal és enrofloxaccinnal szemben. A *S. suis* izolátumokat az Állatorvostudományi Egyetem Járványtani Tanszékétől és az SCG Diagnosztika Kft.-től kaptuk. A *S. suis* izolátumokat 2018 és 2022 között, minden esetben sertések klinikai elváltozásaiból (agyhártyagyulladás, ízületgyulladás, vérfertőzés, szívburokgyulladás, mellhártyagyulladás, szívbelhártya-gyulladás) tenyésztettek ki magyarországi sertéstelepekről kapott mintákból. Az izolátumokat 2018 és 2022 között gyűjtöttük.

A baktériumok antibiotikum-érzékenységét leves mikrohígítási módszerrel határoztuk meg. A vizsgálatokig $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tárolt *S. suis* baktériumokat CA-MH levesbe oltva 18 óra inkubációval szaporítottuk fel, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on. Ezt követően a farmakodinámiai vizsgálatokban leírt módon beállítottuk a baktériumszuszpenziók élősejtszámát úgy, hogy a leves mikrohígítási módszer kiinduló élő baktériumsejtszáma 5×10^5 CFU/ml volt. A florfenikol esetében $32\text{ }\mu\text{g/ml}$ és $0,06\text{ }\mu\text{g/ml}$ közötti tartományban, az enrofloxacin esetében $16\text{ }\mu\text{g/ml}$ és $0,03\text{ }\mu\text{g/ml}$ közötti tartományban vizsgáltuk a *S. suis* izolátumok antibiotikum-érzékenységét. A baktériumszuszpenziók beoltását követően 24 órán át, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on inkubáltuk az izolátumokat, majd az eredmények leolvasása szabad szemmel történt.

A 100 db *S. suis* florfenikol és enrofloxacin minimális gátló koncentrációi (MIC) alapján számítottuk ki a MIC_{50} - és MIC_{90} -értékeket, vagyis azokat a legkisebb gátló koncentrációkat mindkét antibakteriális szer esetén, amelyek képesek voltak a *S. suis* izolátumok 50%-nak és 90%-nak a növekedését gátolni.

5. Eredmények

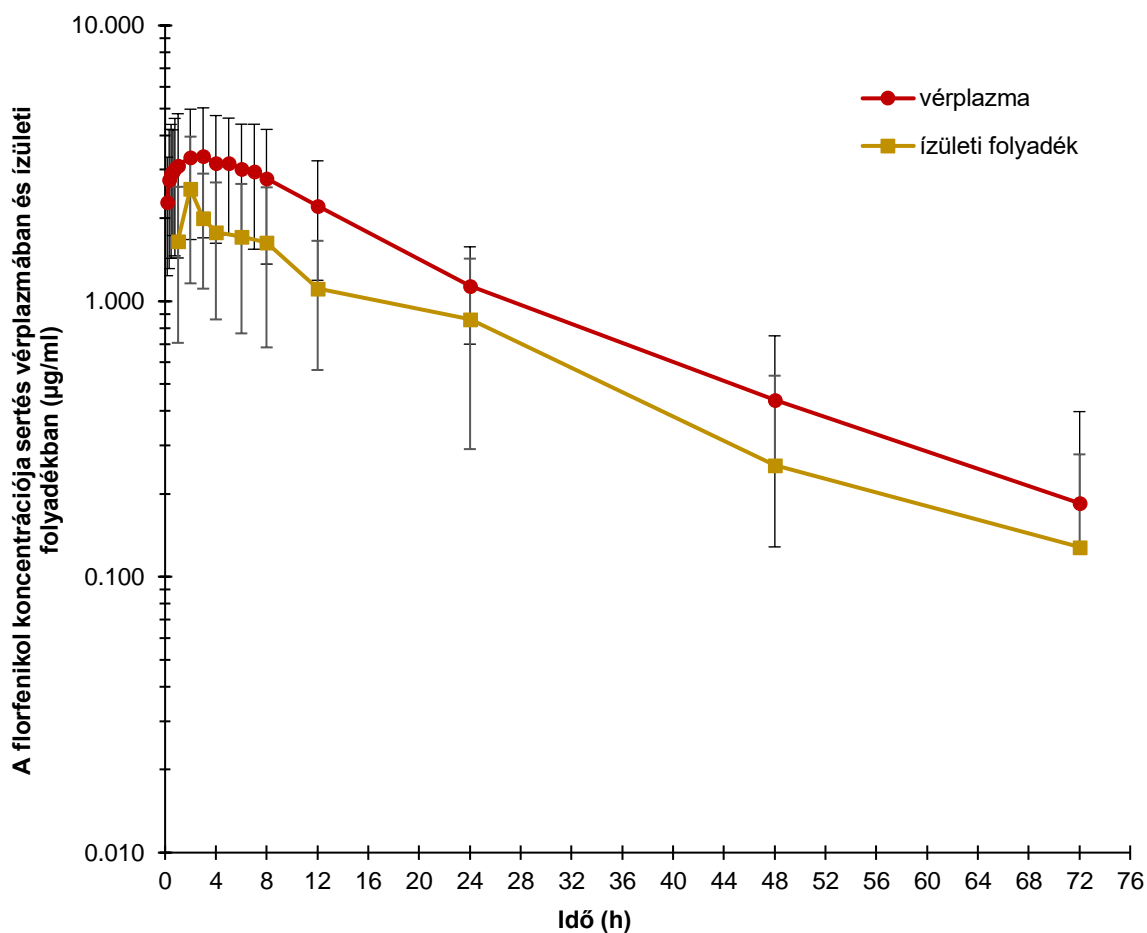
5.1 Sertéseken végzett farmakokinetikai vizsgálatok

5.1.1 Florfenikol 15 mg/kg-os, egyszeri im. beadását követő farmakokinetikai vizsgálatok

Nemrekeszes farmakokinetikai elemzés

A 4. ábra mutatja be a florfenikol 15 mg/kg-os, im. alkalmazását követő koncentráció-idő görbéket a vérplazmában és az ízületi folyadékban, amely görbéket alkalmaztuk a populációs farmakokinetikai elemzés kezdeti becsléseihez.

A florfenikol koncentrációját mind a vérplazmában, mind az ízületi folyadékban már az első mintavételi időpontban (vérplazma = 10 perc, ízületi folyadék = 1 óra) meghatároztuk a 15 mg/kg-os, egyszeri im. beadást követően. Az egyedek közötti eltérések nagynak tekinthetők, viszont minden mintában kimutathatósági határérték felett volt a florfenikol koncentrációja, beleértve az utolsó 72 órás mintavételeket is. A nemrekeszes modellel történő elemzés eredményei a 7. táblázatban láthatók.



4. ábra: Koncentráció-idő görbék: a 15 mg/kg-os, im. kezelést követő florfenikol-koncentrációk (átlag \pm szórás) **sertés vérplazmában és ízületi folyadékban** (n = 6).

7. táblázat: A florfenikol farmakokinetikai paraméterei sertésben, **15 mg/kg dózisban, egyszeri im. beadást követően** a vérplazmában és ízületi folyadékban (nemrekeszes modell átlag \pm SD eredményei).

Paraméter	Mértékegység	Vérplazma	Ízületi folyadék
K_e	h^{-1}	$0,03 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$
$t_{1/2e}$	h	$17,80 \pm 6,61$	$21,20 \pm 22,29$
t_{max}	h	$2,03 \pm 1,83$	$3,33 \pm 1,51$
C_{max}	$\mu g/ml$	$3,19 \pm 1,66$	$2,41 \pm 1,32$
Cl	$(l/h)/kg$	$0,21 \pm 0,07$	$0,27 \pm 0,13$
V_d	l/kg	$6,80 \pm 3,11$	$10,28 \pm 3,67$
$AUC_{0-\infty}$	$(h \times \mu g)/ml$	$80,63 \pm 28,42$	$67,78 \pm 34,58$
AUC_{0-24h}	$(h \times \mu g)/ml$	$48,21 \pm 23,18$	$29,03 \pm 10,23$

K_e = eliminációs sebességi állandó; $t_{1/2e}$ = eliminációs felezési idő; t_{max} = a C_{max} eléréséhez szükséges idő; C_{max} = maximális gyógyszerkoncentráció a vérplazmában és az ízületi folyadékban; Cl = teljes test clearance; V_d = látszólagos megoszlási térfogat; $AUC_{0-\infty}$ = koncentráció-idő görbe alatti terület végtelenre extrapolálva; AUC_{0-24h} = koncentráció-idő görbe alatti terület 24 órára kiszámítva

Populációs farmakokinetika

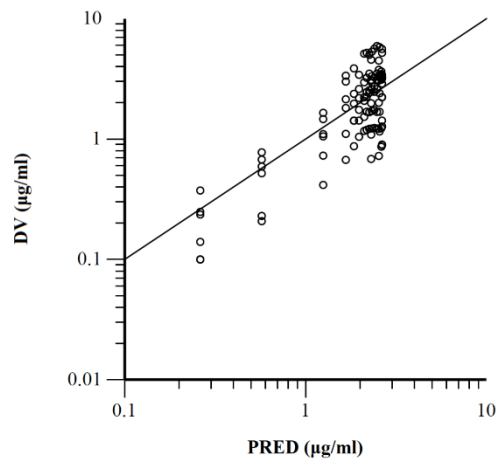
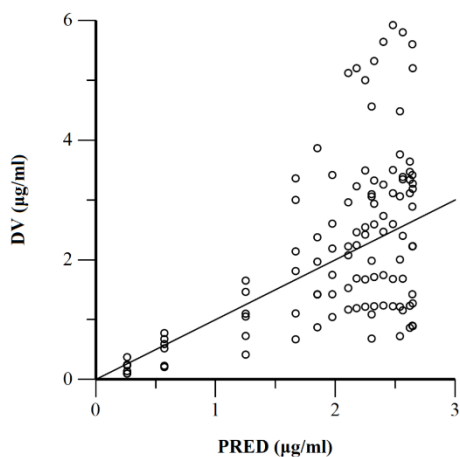
Lentebb láthatók az illeszkedési diagramok, amelyeket az egyrekeszes farmakokinetikai modell kiválasztásához alkalmaztunk. Mind a vérplazma, mind az ízületi folyadék adataira illesztett modell esetén elmondható (DV vs. PRED, DV vs. IPRED vérplazma: **5. ábra** és **6. ábra**, ízületi folyadék: **7. ábra** és **8. ábra**), hogy a lineáris és logaritmikus diagramok esetében az adatok egyenletesen oszlottak el az azonossági vonal körül, ami azt jelzi, hogy a strukturális modell megfelelően képes leírni a florfenikol-koncentráció változását mind sertés vérplazmában, mind sertés ízületi folyadékban a legtöbb egyed esetében. A diagnosztikai ábrák alapján a modellek populációs hatásában nincs nagyobb torzítás, vagyis igazoltuk a modellek megfelelőségét mind a két hatáshely esetén a florfenikol 15 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követően sertésekben.

A kifejlesztett modell megfelelőségét alátámasztja a florfenikol-koncentrációk feltételes súlyozott maradékértékeinek (CWRES) a gyógyszerbeadást követő idő függvényében történő ábrázolása, ahol az y értékeinek nagyrésze +2 és -2 közé koncentráldott a vérplazma és az ízületi folyadék esetében is (**9. ábra**).

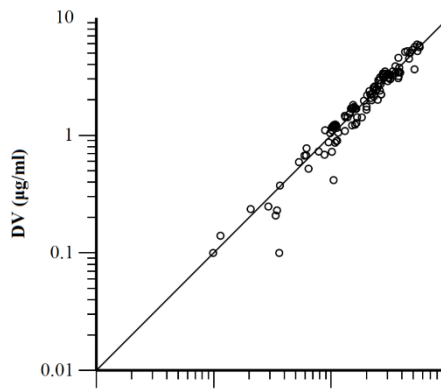
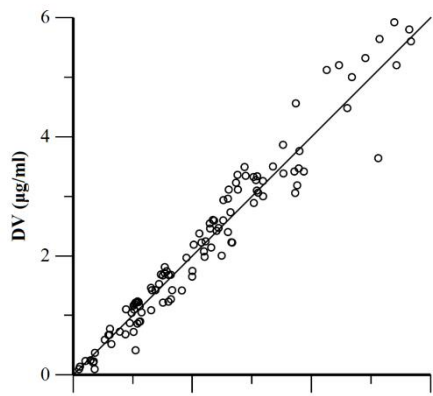
A VPC-k (**10. ábra**) szemléltetik a szimulált eloszlás 5, 50 és 95% percentiliseit a megfigyelt értékekhez képest, ez alapján is feltételezhetjük, hogy az általunk kiválasztott populációs farmakokinetikai modellek megfelelően leírják a florfenikol-koncentrációk időbeli változását a vérplazmában és az ízületi folyadékban.

A modellek elsődleges populációs paraméterei (théták) a **8. táblázatban**, a véletlen hatások és a különböző paraméterek BSV értékei a **9. táblázatban**, illetve a másodlagos paraméterek a **10. táblázatban** láthatók a hozzájuk tartozó standard hibával (SE). A becsült paraméterek BSV értéke a vérplazma esetén ~22-58%, míg az ízületi folyadék esetén ~41-70% volt, a vérplazma esetén ez homogén gyógyszer-expozíciót jellemez, míg az ízületi folyadék esetében heterogént, vagyis az egyedek között nagy változékonyságot tükröz a különböző farmakokinetikai paraméterekben.

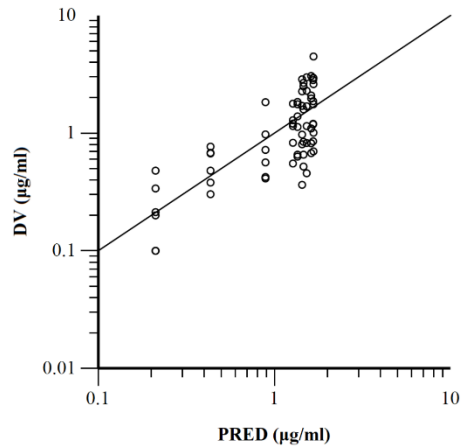
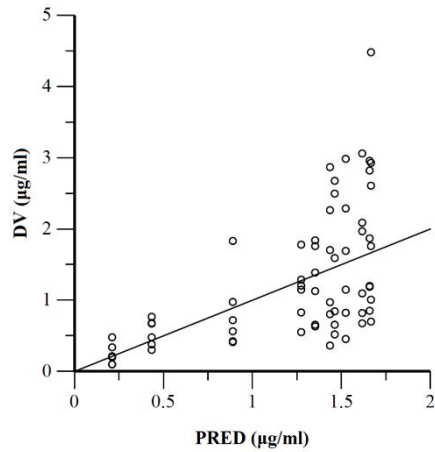
A másodlagos paraméterek és a nemrekeszes elemzések eredményeinek összehasonlítása alapján is helytállóak az általunk fejlesztett egyrekeszes modell populációs becslésének értékei.



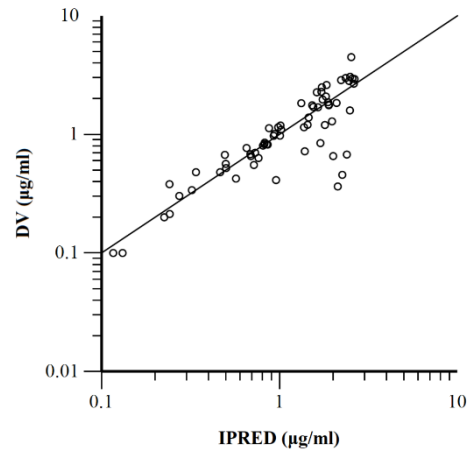
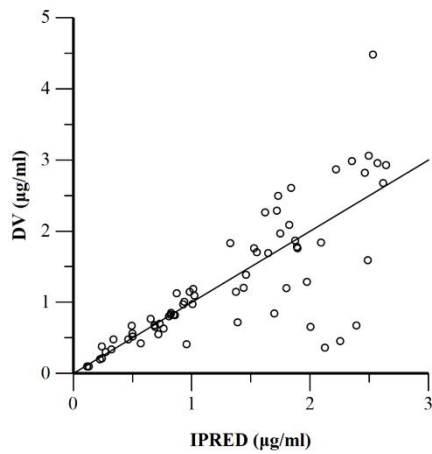
5. ábra: A florfenikol 15 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő megfigyelt koncentrációk (függő változó = DV) és a populáció előre jelzett koncentrációjának (PRED) diagramjai **sertés vérplazmában**. A grafikonok a modellfüggvény megfigyelt és illesztett értékeit szemléltetik.



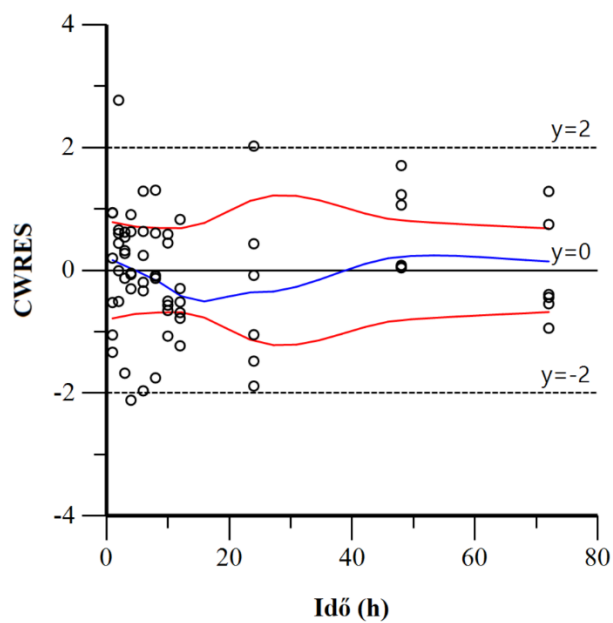
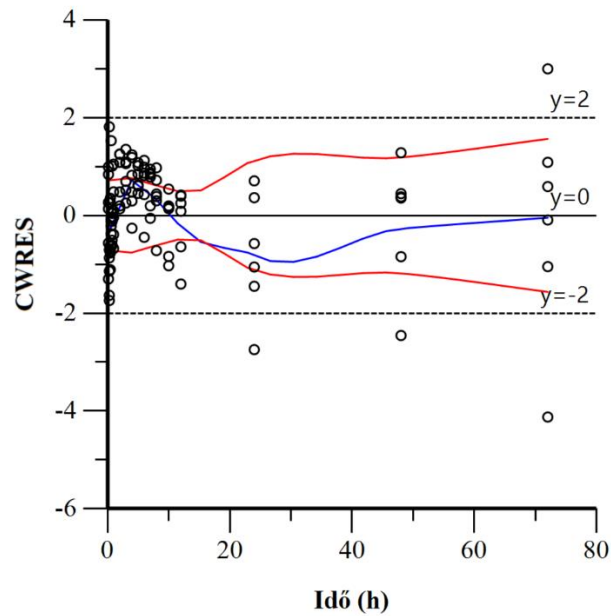
6. ábra: A florfenikol 15 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő megfigyelt koncentrációk (függő változó = DV) és az egyéni előre jelzett koncentrációk (IPRED) diagramjai **sertés vérplazmában**. A grafikonok a modellfüggvény megfigyelt és az illesztett értékeit szemléltetik.



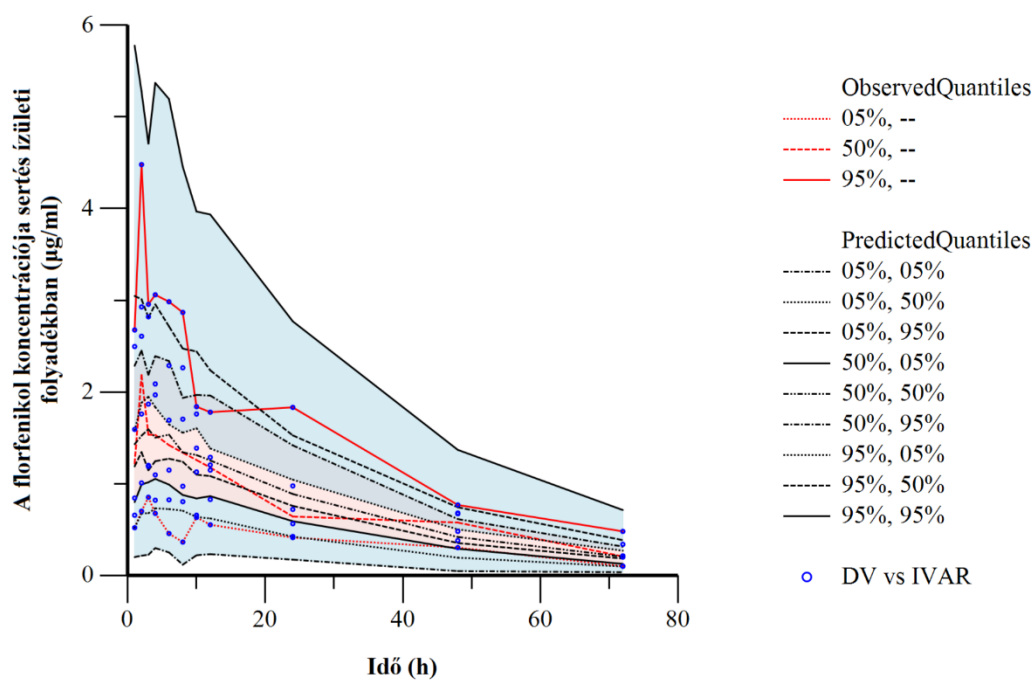
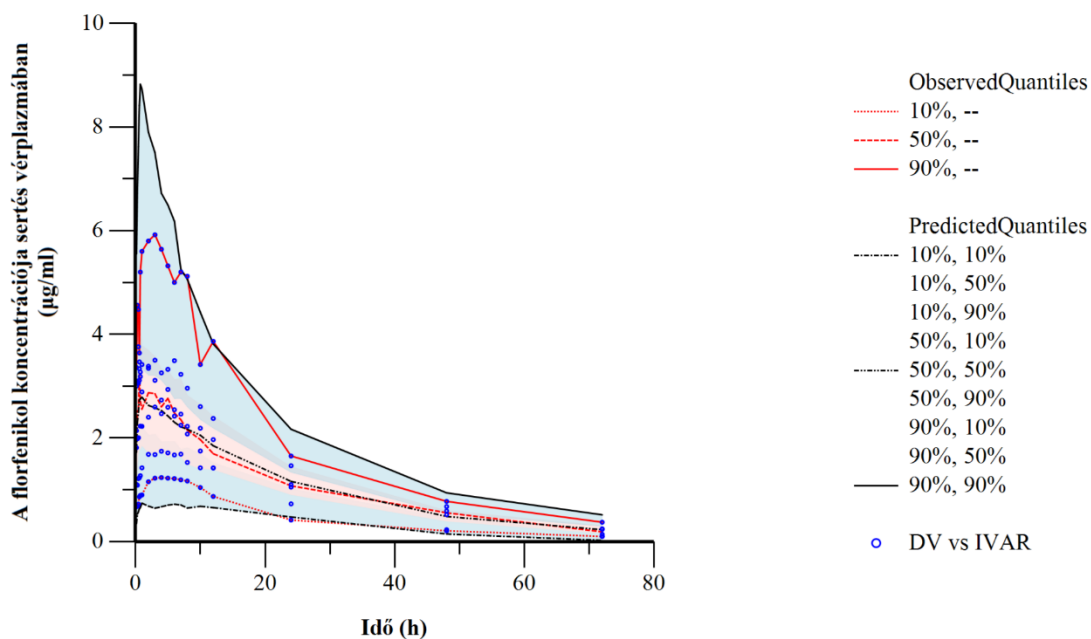
7. ábra: A florfenikol 15 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő megfigyelt koncentrációk (függő változó = DV) és a populáció előre jelzett koncentrációinak (PRED) diagramjai **sertés izületi folyadékban**. A grafikonok a modellfüggvény megfigyelt és illesztett értékeit szemléltetik.



8. ábra: A florfenikol 15 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő megfigyelt koncentrációk (függő változó = DV) és az egyéni előre jelzett koncentrációk (IPRED) diagramjai **sertés izületi folyadékban**. A grafikonok a modellfüggvény megfigyelt és az illesztett értékeit szemléltetik.



9. ábra: A vérplazma (felső ábra) és az ízületi folyadék (alsó ábra) florfenikol-koncentrációinak feltételes súlyozott reziduumainak (CWRES) ábrázolása a florfenikol 15 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő idő függvényében (h). A CWRES értékeinek megközelítőleg $N(0, 1)$ értékeknek kell lenniük, és így $y = -2$ és $y = +2$ közé kell koncentrálniuk. Az ábrák vizsgálata azt mutatja, hogy az adatok egyenletesen oszlottak el a nulla körül (lásd a kék vonal által megadott tendenciákat), és a piros vonal (negatív tükörképével) nem mutatott eloszlást, ami azt jelzi, hogy a strukturális modellben nincs torzítás, vagyis a koncentrációváltozások megfelelő leírását mutatja a farmakokinetikai modellek által.



10. ábra: Vizuális prediktív ellenőrzés (VPC), amelyet minden egyes állat 100 ismétlésével végeztünk, mind a **vérplazma** (felső ábra), mind az **ízületi folyadék** (alsó ábra) 15 mg/kg dóziszú, egyszeri im. beadását követő florfenicol-koncentrációk alapján. A megfigyelt percentilisek (5, 50 és 95%). A piros vonalak a tényleges megfigyelt értékektől számított 5, 50 és 95%-os percentilisek (ObservedQuantiles). A fekete vonalak a 5, 50 és 95%-os percentilisek a szimulált megfigyelésekből (PredictedQuantiles). A kék és piros árnyékolt területek megfelelnek a három előre jelzett kvantilis 95%-os konfidenciaintervallumnak. (DV = függő változó – florfenicol-koncentráció, IVAR = független változó – gyógyszerbeadástól számított idő)

8. táblázat: A florfenikol 15 mg/kg dózisu, egyszeri im. beadását követő **elsődleges populációs paramétere**i (théták) sertés vérplazmában és ízületi folyadékban.

Vérplazma						
Paraméterek (théták)	Becsült értékek	Mértékegység	Standard hiba	CV%	2,5% CI	97,5% CI
tvK _{ab}	6,36	h ⁻¹	1,85	29,12	2,69	10,04
tvV	5,52	l/kg	1,04	18,85	3,45	7,58
tvCl	0,18	(l/h)/kg	0,02	11,20	0,14	0,22
stdev0	0,18		0,01	6,29	0,16	0,20
Ízületi folyadék						
Paraméterek (théták)	Becsült értékek	Mértékegység	Standard hiba	CV%	2,5% CI	97,5% CI
tvK _{ab}	1,78	1/h	0,97	54,44	-0,16	3,72
tvV	8,37	l/kg	1,76	21,02	4,84	11,89
tvCl	0,25	l/(kg × h)	0,05	21,44	0,14	0,36
stdev0	0,33		0,02	5,49	0,29	0,36

A tvK_{ab} – felszívódási sebességi állandó tipikus értéke (typical value = tv); tvV – eloszlási térfogat tipikus értéke; tvCl – teljes test clearance tipikus értéke; és stdev0 – standard eloszlás a multiplikatív maradék hibára.

9. táblázat: A florfenikol 15 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő **véletlen hatások (omegák)** sertés vérplazmában és ízületi folyadékban.

Vérplazma				
Paraméterek (omegák)	Variancia	Standard hiba	BSV (CV%)	Shrinkage
η_V	0,30	0,17	58,82	0,004
η_{CI}	0,05	0,03	22,04	0,03
$\eta_{K_{ab}}$	0,29	0,19	58,33	0,04
Ízületi folyadék				
Paraméterek (omegák)	Variancia	Standard hiba	BSV (CV%)	Shrinkage
η_V	0,16	0,10	41,76	0,02
η_{CI}	0,17	0,10	43,32	0,02
$\eta_{K_{ab}}$	0,40	0,29	70,47	0,10

Az η_V , η_{CI} és $\eta_{K_{ab}}$ varianciája a modell véletlen hatásainak összetevői (éták), amelynek értelmezését az 1. egyenlet írja le, a BSV (CV%) pedig a 2. egyenlet alapján számított, a vizsgálati alanyok közötti változékonyság.

10. táblázat: A florfenikol 15 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő **másodlagos paraméterei** sertés vérplazmában és ízületi folyadékban.

Vérplazma						
Másodlagos paraméterek	Becsült értékek	Mértékegység	Standard hiba	CV%	2,5% CI	97,5% CI
AUC_{0-∞}	83,47	(h × µg)/ml	9,34	11,20	64,92	102,01
t_{1/2ab}	0,11	h	0,03	29,12	0,05	0,17
K_e	0,03	h ⁻¹	0,005	14,44	0,02	0,04
t_{1/2e}	21,27	h	3,07	14,44	15,18	27,37
Ízületi folyadék						
Másodlagos paraméterek	Becsült értékek	Mértékegység	Standard hiba	CV%	2,5% CI	97,5% CI
AUC_{0-∞}	59,93	(h × µg)/ml	12,85	21,44	34,20	85,67
t_{1/2ab}	0,39	h	0,21	54,44	-0,04	0,81
K_e	0,03	h ⁻¹	0,003	10,90	0,02	0,04
t_{1/2e}	23,17	h	2,52	10,90	18,11	28,23

AUC_{0-∞} = koncentráció-idő görbe alatti területe végtelenre extrapolálva; t_{1/2ab} = felszívódási felezési idő; K_e = eliminációs sebességi állandó; t_{1/2e} = eliminációs felezési idő

Monte Carlo szimuláció

A létrehozott populációs farmakokinetikai modell alapján sikeresen létrehoztunk egy 6000 egyedből álló célpopulációt, amelyben a florfenikol 15 mg/kg dózisu, egyszeri im. beadását követő florfenikol-koncentrációkat becsültük meg a Monte Carlo szimuláció alkalmazásával 0 és 72 óra között egy órás lépésekkel a gyógyszerbeadást követően a vérplazmában és az ízületi folyadékban.

Célpopulációra alapozott nemrekeszes farmakokinetikai analízis

A Monte Carlo szimulációval meghatározott 6000 darab koncentráció-idő görbe felhasználásával végzett nemrekeszes farmakokinetikai elemzés eredményei a vérplazmában és az ízületi folyadékban a **11. táblázatban** láthatók.

11. táblázat: A florfenikol populációs farmakokinetikai modell alapján, Monte Carlo szimulációval meghatározott farmakokinetikai paraméterei (6000 egyed célpopulációjára), sertésben, **15 mg/kg dózisu, egyszeri im. beadást követően** a vérplazmában és ízületi folyadékban (nemrekeszes modell átlag \pm SD eredményei).

Paraméter	Mértékegység	Vérplazma	Ízületi folyadék
t_{max}	h	1,18 \pm 0,44	2,71 \pm 1,32
C_{max}	$\mu\text{g/ml}$	3,02 \pm 1,7	1,81 \pm 0,82
Cl	(l/h)/kg	0,18 \pm 0,04	0,28 \pm 0,12
V_d	l/kg	6,44 \pm 3,68	9,18 \pm 3,88
$AUC_{0-\infty}$	(h \times μg)/ml	84,82 \pm 18,91	64,69 \pm 28,12
AUC_{0-24h}	(h \times μg)/ml	46,49 \pm 18,41	32,28 \pm 13,91

t_{max} = a C_{max} eléréséhez szükséges idő; C_{max} = maximális gyógyszerkoncentráció a vérplazmában és az ízületi folyadékban; Cl = teljes test clearance; V_d = látszólagos megoszlási térfogat; $AUC_{0-\infty}$ = koncentráció-idő görbe alatti terület végtelenre extrapolálva; AUC_{0-24h} = koncentráció-idő görbe alatti terület 24 órára kiszámítva

PK/PD_{Co} értékek meghatározása - vérplazma

Az AUC_{24h}/MIC (bakteriosztatikus 22 h, baktericid 86 h) alapján az 1 µg/ml-es határértéknél 90%-os valószínűség mellett a florfenikolnak bakteriosztatikus, míg a 0,25 µg/ml-es MIC-értékkal jellemezhető *S. suis* törzsekkel szemben 90%-os valószínűség mellett baktericid hatása van. A C_{avg24h} vizsgálata esetén is az 1 µg/ml-es MIC-érték esetében érthető el legalább 90%-os valószínűséggel a bakteriosztatikus hatás, illetve a 0,25 µg/ml-es MIC-érték esetében a baktericid hatás (**12. táblázat**).

Az 1 µg/ml-es határérték a vérplazmában %T>MIC esetén csak 24 órára vonatkoztatva fogadható el, mivel 48 óránál nem éri el (30,16%) a 40-50%-os általunk elfogadott PDT érték alsó határát. Ennek értelmében, ha egy *S. suis* törzs MIC-értéke florfenikollal szemben 1 µg/ml, akkor a sertés vérplazmában a florfenikol koncentrációja a 24 órás időtartam 60,33%-ban van felette 90%-os valószínűséggel. Az 1 µg/ml-nél kisebb MIC-értékek esetében ez az időtartam növekszik, ami a kezelés hatékonyságát fokozza, illetve a florfenikollal szemben rezisztens *S. suis* törzsek szelekciójának esélyét csökkenti. A %T>MIC összefüggés adatai a **13. táblázatban** láthatók.

Mind a %T>MIC, mind az AUC_{24h}/MIC és C_{avg24h} vizsgálatok klinikai értelemben a szeptikémiával járó esetekre értendőek, mivel a farmakokinetikai paraméterek sertés vérplazmában, valamint a farmakodinámiai célértékek szintén sertés vérplazmában kerültek meghatározásra.

12. táblázat: A florfenikol 15 mg/kg dóziszú, egyszeri im. beadását követően **sertés vérplazmában** a görbe alatti terület 24 órára extrapolálva (**AUC_{0-24h}**) és a 24 órára számított átlagos plazmakoncentráció (**C_{avg24h}**). Ebben az esetben az AUC_{24h}/MIC arány általunk elfogadott PDT-e 22 óra volt, illetve az átlagos plazmakoncentrációt nézve 0,92-szorosa a MIC-értéknek, ahhoz hogy ezeket az értékeket elérjük ebben az adagolási módban és legalább 90%-os valószínűséggel meghaladjuk az általunk létrehozott célpopulációban a *S. suis* MIC-értékét, az legfeljebb 1 µg/ml lehet. Vastagon szedetten jelöltük az elfogadott PTA-értékeket, amelyek a PK/PD_{Co} értékeket is jelölik (1 µg/ml).

PK/PD	MIC (µg/ml)	Percentilis (%)						
		99	90	75	50	25	10	5
AUC_{0-24h} (h × µg)/ml		15,68	25,28	32,96	43,58	57,20	71,56	99,35
C_{avg24h} (µg/ml)		0,65	1,05	1,37	1,82	2,38	2,98	4,14

13. táblázat: A florfenikol 15 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követően **sertés vérplazmában** a 0,25 és 2 µg/ml közötti lehetséges MIC-értékek feletti idő (órában kifejezve) a kiválasztott percentilisekben és a **%T>MIC** megfelelő értéke 24 és 48 órának a százalékában kifejezve. Ebben az esetben a farmakodinámiai célértéknek (PDT) 40-50%-ot határoztunk meg, amelynek eléréséhez a szükséges valószínűségnek legalább a 90%-ot fogadtuk el (PTA ≥ 90%). A táblázatban vastagon szedetten jelöltük az elfogadott PTA-értékeket, amelyek a PK/PD_{CO} értékeket is jelölik (1 µg/ml).

PK/PD	MIC (µg/ml)	Percentilis (%)						
		99	90	75	50	25	10	5
T>MIC (h)	0,25	38,26	52,24	61,50	72,58	83,94	96,21	120,26
%T>MIC (24h %)	0,25	159,42	217,67	256,23	302,42	349,74	400,87	501,08
%T>MIC (48h %)	0,25	79,71	108,83	128,12	151,21	174,87	200,44	250,54
T>MIC (h)	0,5	27,54	37,87	43,47	49,48	56,18	62,79	77,66
%T>MIC (24h %)	0,5	114,76	157,79	181,12	206,15	234,10	261,61	323,58
%T>MIC (48h %)	0,5	57,38	78,89	90,56	103,08	117,05	130,81	161,79
T>MIC (h)	1	0,00	14,48	23,09	28,14	32,80	36,95	45,52
%T>MIC (24h %)	1	0,00	60,33	96,22	117,26	136,66	153,95	189,67
%T>MIC (48h %)	1	0,00	30,16	48,11	58,63	68,33	76,97	94,83
T>MIC (h)	2	0,00	0,00	0,00	8,54	15,03	18,69	24,73
%T>MIC (24h %)	2	0,00	0,00	0,00	35,57	62,63	77,87	103,03
%T>MIC (48h %)	2	0,00	0,00	0,00	17,79	31,31	38,94	51,52

PK/PD_{CO} értékek meghatározása - ízületi folyadék

Az AUC_{24h}/MIC (bakteriosztatikus 22 h, baktericid 76 h) esetében a 0,5 µg/ml-es határértéknél 90%-os valószínűség mellett a florfenikolnak bakteriosztatikus hatása van a *S. suis* törzsekkel szemben. Ez azt jelenti, hogy ha 0,5 µg/ml a florfenikol MIC-értéke egy *S. suis* törzssel szemben, akkor a célpopuláció 90%-ban lesz a MIC-érték (0,5 µg/ml) 22-szerese az AUC_{0-24h} értéke (≥11 (h × µg)/ml). Ebben az esetben csak 75%-os valószínűség mellett a 0,25 µg/ml-es MIC-értékkel jellemezhető *S. suis* törzsekkel szemben van baktericid hatása a florfenikolnak. A C_{avg24h} esetében is ezen értékeket számítottuk ki a florfenikol bakteriosztatikus és baktericid hatását vizsgálva sertés ízületi folyadékban (**14. táblázat**).

A 0,5 µg/ml-es határérték az ízületi folyadékban %T>MIC összefüggés esetén 24 és 48 órára vonatkoztatva is elfogadható, mivel 48 óránál ebben az esetben képes meghaladni (52,10%) a 40-50%-os általunk elfogadott PDT érték felső határát. Ennek értelmében a 24 órának 104,19%-ban, míg a 48 órának 52,10%-ban fogja a florfenikol-koncentráció meghaladni a *S. suis* törzsek 0,5 µg/ml-es MIC-értékét 90%-os valószínűség mellett sertés ízületi folyadékban. A %T>MIC összefüggés adatai a **15. táblázatban** láthatók.

Ezen összefüggések klinikai értelemben az ízületgyulladásal járó esetekre értendőek, mivel a farmakokinetikai paraméterek és a farmakodinámiai célértékek sertés ízületi folyadékban kerültek meghatározásra.

14. táblázat: A florfenikol 15 mg/kg dózisé, egyszeri im. beadását követően **sertés ízületi folyadékban** a görbe alatti terület 24 órára extrapolálva (**AUC_{0-24h}**) és a 24 órára számított átlagos plazmakoncentráció (**C_{avg24h}**). Ebben az esetben az AUC_{24h}/MIC arány általunk elfogadott PDT-e 22 óra volt, illetve az átlagos plazmakoncentrációt nézve 0,92-szorosa a MIC-értéknek, ahhoz hogy ezeket az értékeket elérjük ebben az adagolási módban és legalább 90%-os valószínűséggel meghaladjuk az általunk létrehozott célpopulációban a *S. suis* MIC-értékét, az legfeljebb 0,5 µg/ml lehet. Vastagon szedetten jelöltük az elfogadott PTA-értékeket, amelyek a PK/PD_{CO} értékeket (0,5 µg/ml) is jelölik.

PK/PD	MIC (µg/ml)	Percentilis (%)						
		99	90	75	50	25	10	5
AUC _{0-24h} (h × µg)/ml		10,90	17,28	22,39	29,78	39,08	50,21	76,85
C _{avg24h} (µg/ml)		0,45	0,72	0,93	1,24	1,63	2,09	3,20

15. táblázat: A florfenikol 15 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követően **sertés ízületi folyadékban** a 0,25 és 2 µg/ml közötti lehetséges MIC-értékek feletti idő (órában kifejezve) a kiválasztott percentilisekben és a **%T>MIC** megfelelő értéke 24 és 48 órának a százalékában kifejezve. Ebben az esetben a farmakodinámiai célértéknek (PDT) 40-50%-ot határoztunk meg, amelynek eléréséhez a szükséges valószínűségnek legalább a 90%-ot fogadtuk el (PTA ≥ 90%). A táblázatban vastagon szedetten jelöltük az elfogadott PTA-értékeket, amelyek a PK/PD_{CO} értékeket (1 µg/ml) is jelölik.

PK/PD	MIC (µg/ml)	Percentilis (%)						
		99	90	75	50	25	10	5
T>MIC (h)	0,25	34,16	48,23	56,56	66,18	75,67	84,87	100,26
%T>MIC (24h %)	0,25	142,31	200,94	235,66	275,77	315,27	353,61	417,73
%T>MIC (48h %)	0,25	71,16	100,47	117,83	137,89	157,64	176,81	208,86
T>MIC (h)	0,5	9,15	25,01	33,38	42,79	52,09	61,04	76,18
%T>MIC (24h %)	0,5	38,14	104,19	139,09	178,29	217,05	254,32	317,42
%T>MIC (48h %)	0,5	19,07	52,10	69,55	89,14	108,53	127,16	158,71
T>MIC (h)	1	0,00	0,00	9,65	19,26	28,42	37,28	52,14
%T>MIC (24h %)	1	0,00	0,00	40,19	80,26	118,43	155,32	217,26
%T>MIC (48h %)	1	0,00	0,00	20,09	40,13	59,21	77,66	108,63
T>MIC (h)	2	0,00	0,00	0,00	0,00	4,56	13,20	28,03
%T>MIC (24h %)	2	0,00	0,00	0,00	0,00	18,98	54,98	116,78
%T>MIC (48h %)	2	0,00	0,00	0,00	0,00	9,49	27,49	58,39

PK/PD_{CO}

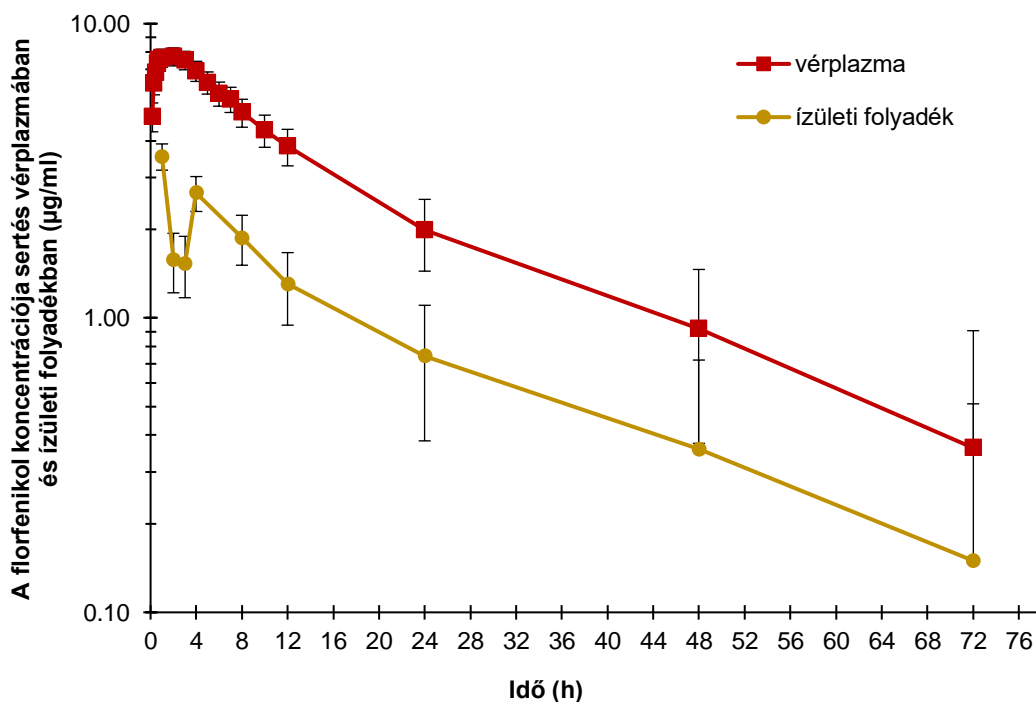
A fentiek alapján a PK/PD_{CO} értéke 1 µg/ml a vérplazmában, míg az ízületi folyadékban 0,5 µg/ml. Az eredmények a florfenikol 15 mg/kg dózisú, egyszeri im. adagolására érvényesíthetők 24 órás hatástartam feltételezése mellett.

5.1.2 Florfenikol 30 mg/kg-os, egyszeri im. beadását követő farmakokinetikai vizsgálatok

Nemrekeszes farmakokinetikai elemzés

A 11. ábra mutatja be a florfenikol 30 mg/kg-os, im. alkalmazását követő koncentráció-idő görbét a vérplazmában és az ízületi folyadékban, amely görbéket alkalmaztunk a populációs farmakokinetikai elemzés kezdeti becsléseihez.

A florfenikol koncentrációját mind a vérplazmában, mind az ízületi folyadékban már az első mintavételi időpontban (vérplazma = 10 perc, ízületi folyadék = 1 óra) meghatároztuk a 30 mg/kg-os, egyszeri im. beadást követően. Az egyedek közötti eltérések nagynak tekinthetők ebben az esetben is, viszont minden mintában kimutathatósági határérték felett volt a florfenikol koncentrációja, beleértve az utolsó 72 órás mintavételeket is. A nemrekeszes modellel történő elemzés eredményei a 16. táblázatban láthatók.



11. ábra: Koncentráció-idő görbék: a 30 mg/kg-os, im. kezelést követő florfenikol-koncentrációk (átlag ± szórás) **sertés vérplazmában és ízületi folyadékban** (n = 8).

16. táblázat: A florfenikol farmakokinetikai paramétereit sertésben **30 mg/kg dózisban, egyszeri im. beadást követően** a vérplazmában és ízületi folyadékban (nemrekeszes modell átlag \pm SD eredményei).

Paraméter	Mértékegység	Vérplazma	Ízületi folyadék
K_e	h^{-1}	$0,06 \pm 0,04$	$0,04 \pm 0,02$
$t_{1/2e}$	h	$18,74 \pm 10,16$	$28,12 \pm 25,17$
t_{max}	h	$1,40 \pm 0,66$	$1,75 \pm 1,65$
C_{max}	$\mu g/ml$	$8,15 \pm 3,11$	$3,95 \pm 1,37$
Cl	$(l/h)/kg$	$0,19 \pm 0,038$	$0,53 \pm 0,29$
V_d	l/kg	$4,82 \pm 2,39$	$17,10 \pm 10,33$
$AUC_{0-\infty}$	$(h \times \mu g)/ml$	$164,2 \pm 32,49$	$71,14 \pm 30,75$
AUC_{0-24h}	$(h \times \mu g)/ml$	$102,92 \pm 19,89$	$36,41 \pm 9,37$

K_e = eliminációs sebességi állandó; $t_{1/2e}$ = eliminációs felezési idő; t_{max} = a C_{max} eléréséhez szükséges idő; C_{max} = maximális gyógyszerkoncentráció a vérplazmában és az ízületi folyadékban; Cl = teljes test clearance; V_d = látszólagos megoszlási térfogat; $AUC_{0-\infty}$ = koncentráció-idő görbe alatti terület végtelenre extrapolálva; AUC_{0-24h} = koncentráció-idő görbe alatti terület 24 órára kiszámítva

Populációs farmakokinetika

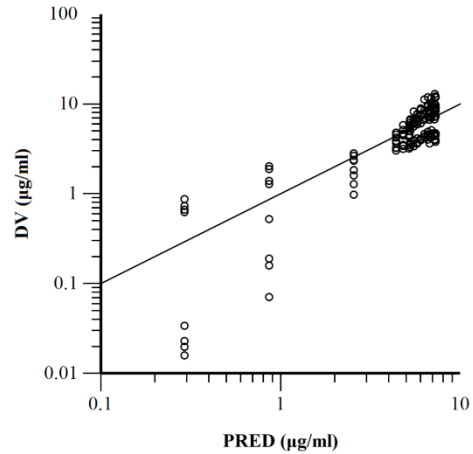
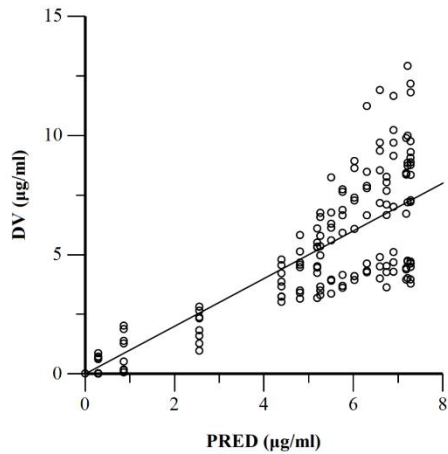
Ennél a beadási módnál a modell illesztést nehezítette, hogy ebben a nagyobb dózisban (florfenikol 30 mg/kg, egyszeri im. beadás) a florfenikol felszívódási sebesség állandója nagy értéket vett fel, amely kifejezetten az ízületi folyadék esetében volt kiugró érték. A bootstrap alkalmazását követően sikeresen meghatároztuk ezt az értéket is (ízületi folyadék $tvK_{ab} = 8,58 \text{ h}^{-1}$). Lentebb mutatom be az előző vizsgálattal megegyező módon alkalmazott illeszkedési diagramokat, amelyeket az egyrekeszes farmakokinetikai modell kiválasztásához alkalmaztunk. Mind a vérplazma, mind az ízületi folyadék adataira illesztett modell esetén elmondható (DV vs PRED, DV vs. IPRED – vérplazma: **12. ábra** és **13. ábra**, ízületi folyadék: **14. ábra** és **15. ábra**), hogy a lineáris és logaritmusos diagramok esetében az adatok egyenletesen oszlottak el az azonossági vonal körül, ami azt jelzi, hogy a strukturális modell megfelelően képes leírni a florfenikol-koncentráció változását mind sertés vérplazmában, mind sertés ízületi folyadékban a legtöbb egyed esetében. A diagnosztikai ábrák alapján a modellek populációs hatásában nincs nagyobb torzítás, vagyis igazoltuk a modellek megfelelőségét mind a két hatáshely esetén a florfenikol 30 mg/kg dózisé, egyszeri im. beadását követően sertésekben.

A kifejlesztett modell megfelelőségét alátámasztja a florfenikol-koncentrációk feltételes súlyozott maradékértékeinek (CWRES) a gyógyszerbeadást követő idő függvényében történő ábrázolása, ahol az y értékeinek nagyrésze +2 és -2 közé koncentrálódott a vérplazma és az ízületi folyadék esetében is (**16. ábra**).

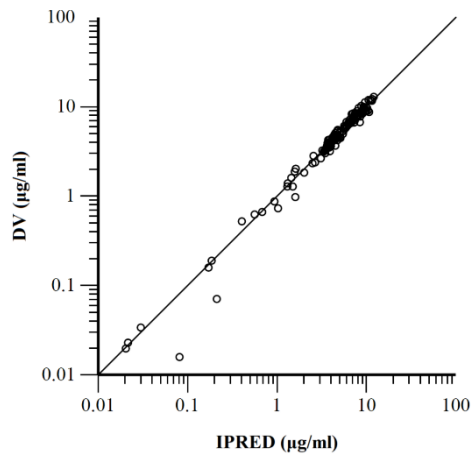
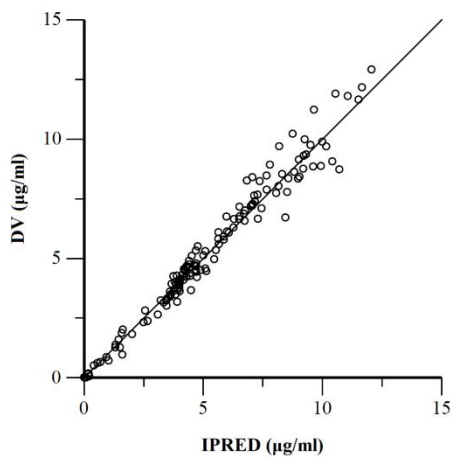
A VPC-k (**17. ábra**) szemléltetik a szimulált eloszlás 5, 50 és 95% percentiliseit a megfigyelt értékekhez képest, ez alapján is feltételezhetjük, hogy az általunk kiválasztott populációs farmakokinetikai modellek megfelelően leírják a florfenikol-koncentráció időbeli változását a vérplazmában és az ízületi folyadékban a 30 mg/kg, egyszeri im. beadást követően.

A modellek elsődleges populációs paraméterei (théták) a **17. táblázatban**, a véletlen hatások és a különböző paraméterek BSV értékei az **18. táblázatban**, illetve a másodlagos paraméterek a **19. táblázatban** láthatók a hozzájuk tartozó standard hibával (SE). A becsült paraméterek BSV értéke a vérplazma esetén ~20-90%, míg az ízületi folyadék esetén ~5-29% volt, a vérplazma esetén ebben a dózisban feltételezzük a gyógyszer-expozíció nagy heterogenitását, míg az ízületi folyadék esetében homogén gyógyszer-expozíciót jellemez.

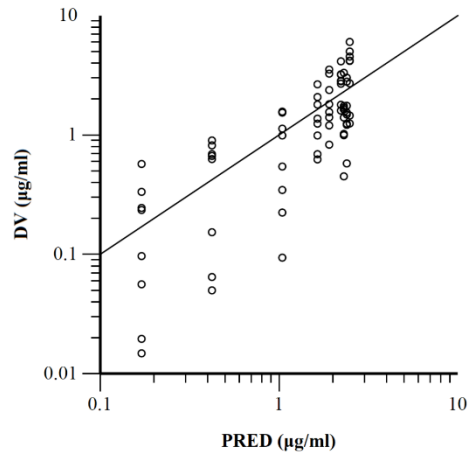
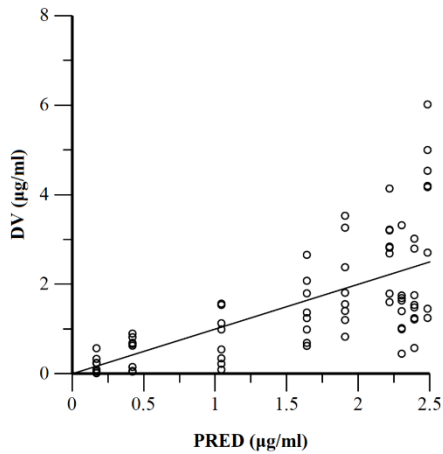
A másodlagos paraméterek és a nemrekeszes elemzések eredményeinek összehasonlítása alapján is helytállóak az általunk fejlesztett egyrekeszes modell populációs becslésének értékei a florfenikol ezen dózisában is.



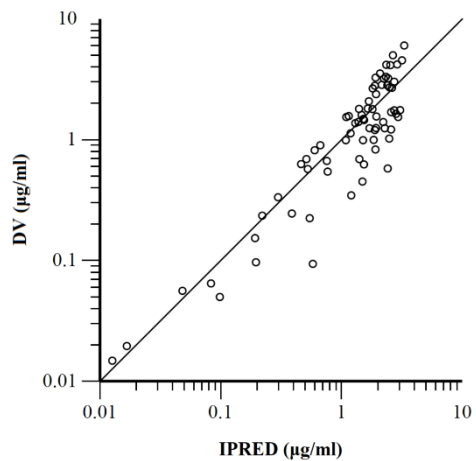
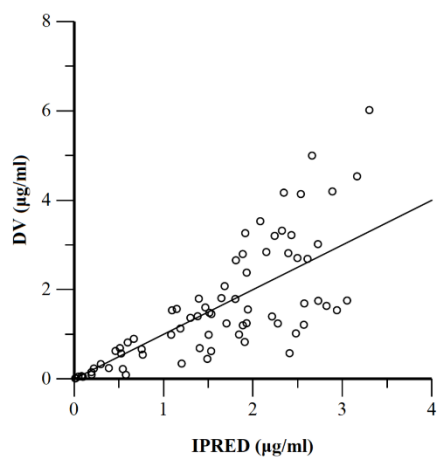
12. ábra: A flufenicol 30 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő megfigyelt koncentrációk (függő változó = DV) és a populáció előre jelzett koncentrációinak (PRED) diagramjai **sertés vérplazmában**, tehát a grafikonok a modellfüggvény megfigyelt és illesztett értékeit szemléltetik.



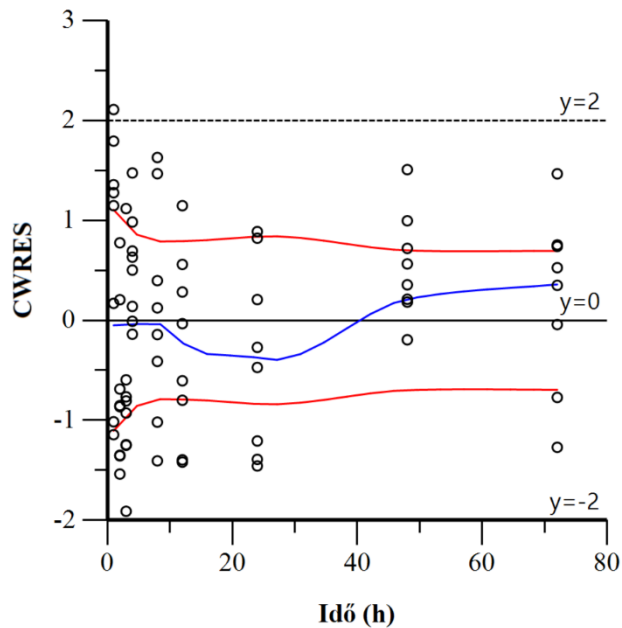
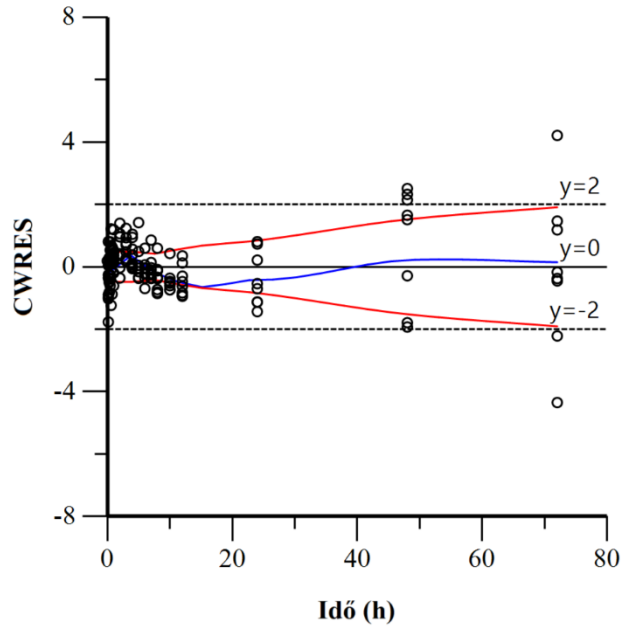
13. ábra: A flufenicol 30 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő megfigyelt koncentrációk (függő változó = DV) és az egyéni előre jelzett koncentrációk (IPRED) diagramjai **sertés vérplazmában**, tehát az ábrák a modellfüggvény megfigyelt és az illesztett értékeit szemléltetik.



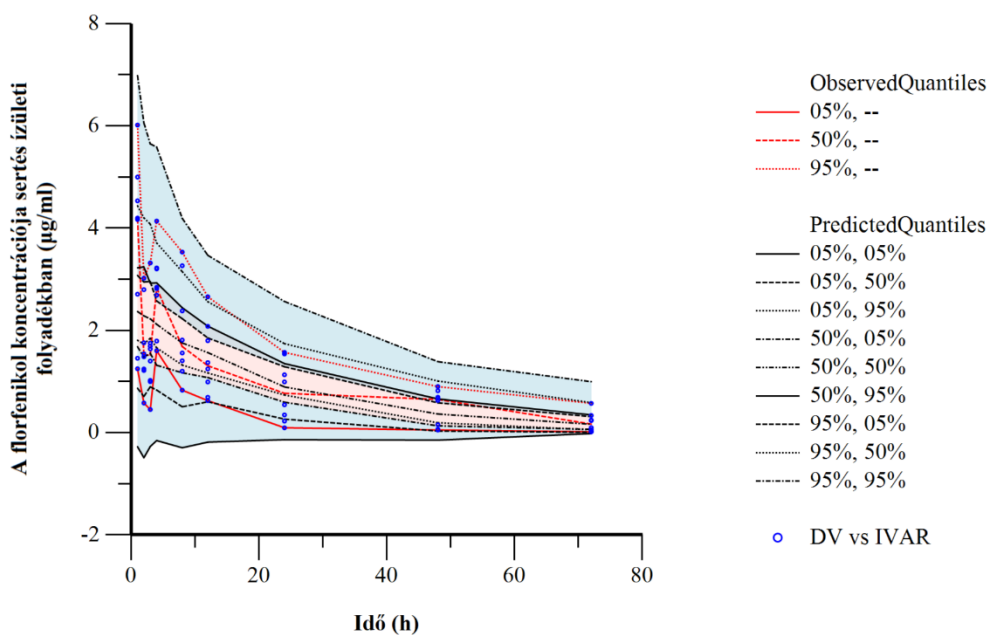
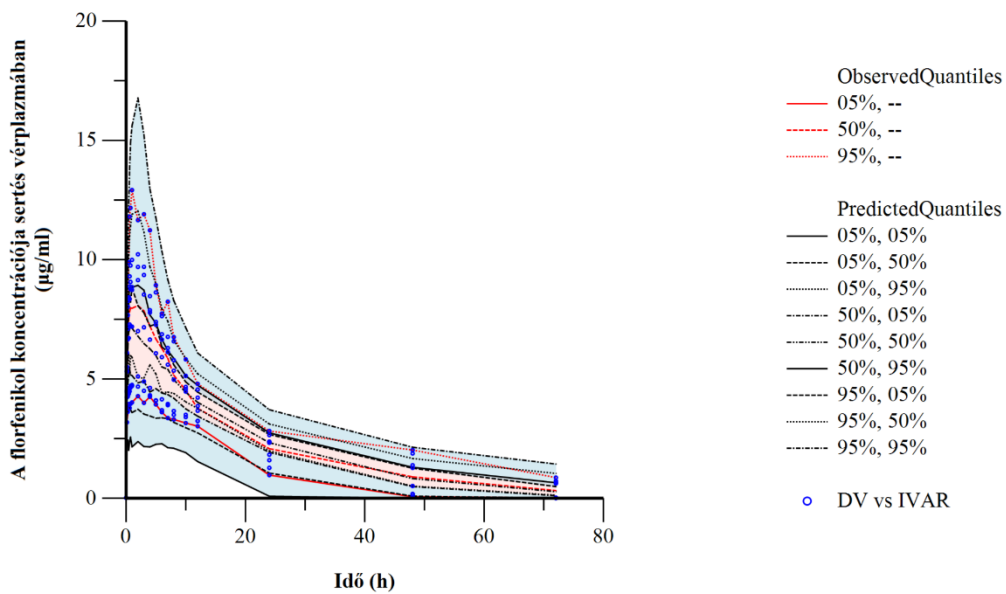
14. ábra: A florfenicol 30 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő megfigyelt koncentrációk (függő változó = DV) és a populáció előre jelzett koncentrációinak (PRED) diagramjai **sertés izületi folyadékban**, tehát a grafikonok a modellfüggvény megfigyelt és illesztett értékeit szemléltetik.



15. ábra: A florfenicol 30 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő megfigyelt koncentrációk (függő változó = DV) és az egyéni előre jelzett koncentrációk (IPRED) diagramjai **sertés izületi folyadékban**, tehát az ábrák a modellfüggvény megfigyelt és az illesztett értékeit szemléltetik.



16. ábra: A **vérplazma** (felső ábra) és az **ízületi folyadék** (alsó ábra) florfenikol-koncentrációinak feltételes súlyozott reziduumainak (CWRES) ábrázolása a florfenikol 30 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő idő függvényében (h). A CWRES értékeinek megközelítőleg $N(0, 1)$ értékeknek kell lenniük, és így $y = -2$ és $y = +2$ közé kell koncentrálniuk. Az ábrák vizsgálata azt mutatja, hogy az adatok egyenletesen oszlottak el a nulla körül (lásd a kék vonal által megadott tendenciákat), és a piros vonal (negatív tükörképével) nem mutatott eloszlást, ami azt jelzi, hogy a strukturális modellben nincs torzítás, vagyis a koncentrációváltozások megfelelő leírását mutatja a farmakokinetikai modellek által.



17. ábra: Vizuális prediktív ellenőrzés (VPC), amelyet minden egyes állat 100 ismétlésével végeztünk, mind a **vérplazma** (felső ábra), mind az **ízületi folyadék** (alsó ábra) 30 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő florfenicol-koncentrációk alapján. A megfigyelt percentilisek (5, 50 és 95%). A piros vonalak a tényleges megfigyelt értékektől számított 5, 50 és 95%-os percentilisek (ObservedQuantiles). A fekete vonalak a 5, 50 és 95%-os percentilisek a szimulált megfigyelésekből (PredictedQuantiles). A kék és piros árnyékolt területek megfelelnek a három előre jelzett kvantilis 95%-os konfidenciaintervallumnak. (DV = függő változó – florfenicol-koncentráció, IVAR = független változó – gyógyszerbeadástól számított idő)

17. táblázat: A florfenikol 30 mg/kg dózisu, egyszeri im. beadását követő **elsődleges populációs paramétere**i (théták) sertés vérplazmában és ízületi folyadékban.

Vérplazma						
Paraméterek (théták)	Becsült értékek	Mértékegység	Standard hiba	CV%	2,5% CI	97,5% CI
tvK_{ab}	7,90	h ⁻¹	3,80	48,13	0,38	15,43
tvV	4,00	l/kg	0,99	24,70	2,05	5,95
tvCl	0,18	(l/h)/kg	0,02	11,66	0,14	0,22
stdev0	0,14		0,004	3,23	0,13	0,15
Ízületi folyadék						
Paraméterek (théták)	Becsült értékek	Mértékegység	Standard hiba	CV%	2,5% CI	97,5% CI
tvK_{ab}	8,58	h ⁻¹	0,84	9,81	7,43	10,39
tvV	9,36	l/kg	0,54	5,80	8,58	10,79
tvCl	0,64	(l/h)/kg	0,17	26,63	0,39	1,05
stdev0	0,46		0,09	20,17	0,31	0,64

A tvK_{ab} – felszívódási sebességi állandó tipikus értéke (typical value = tv); tvV – eloszlási térfogat tipikus értéke; tvCl – teljes test clearance tipikus értéke; és stdev0 – standard eloszlás a multiplikatív maradék hibára.

18. táblázat: A florfenikol 30 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követő véletlen hatások (omegák) sertés vérplazmában és ízületi folyadékban.

Vérplazma				
Paraméterek (omegák)	Variancia	Standard hiba	BSV (CV%)	Shrinkage
η_V	0,61	0,10	47,01	0,01
η_{Cl}	0,20	0,02	19,74	0,004
$\eta_{K_{ab}}$	0,04	0,31	91,37	0,02
Ízületi folyadék				
Paraméterek (omegák)	Variancia	Standard hiba	BSV (CV%)	Shrinkage
η_V	0,002	0,002	4,739	0,11
η_{Cl}	0,08	0,09	28,55	0,08
$\eta_{K_{ab}}$	0,06	0,01	23,76	0,98

Az η_V , η_{Cl} és $\eta_{K_{ab}}$ varianciája a modell véletlen hatásainak összetevői (éták), amelynek értelmezését az 1. egyenlet írja le, a BSV (CV%) pedig a 2. egyenlet alapján számított, a vizsgálati alanyok közötti változékonyság.

19. táblázat: A florfenikol 15 mg/kg dóziszú, egyszeri im. beadását követő **másodlagos paramétere**i sertés vérplazmában és ízületi folyadékban.

Vérplazma						
Másodlagos paraméterek	Becsült értékek	Mértékegység	Standard hiba	CV%	2,5% CI	97,5% CI
AUC_{0-∞}	166,15	(h × µg)/ml	19,38	11,66	127,83	204,47
t_{1/2ab}	0,09	h	0,04	48,13	0,00	0,17
K_e	0,05	h ⁻¹	0,02	35,71	0,01	0,08
t_{1/2e}	15,35	h	5,48	35,71	4,51	26,19
Ízületi folyadék						
Másodlagos paraméterek	Becsült értékek	Mértékegység	Standard hiba	CV%	2,5% CI	97,5% CI
AUC_{0-∞}	68,34	(h × µg)/ml	12,81	25,46	28,41	77,63
t_{1/2ab}	0,08	h	0,007	9,08	0,07	0,09
K_e	0,03	h ⁻¹	0,017	47,7	0,002	0,07
t_{1/2e}	18,37	h	8,76	47,7	0,87	35,88

AUC_{0-∞} = koncentráció-idő görbe alatti területe végtelenre extrapolálva; t_{1/2ab} = felszívódási felezési idő; K_e = eliminációs sebességi állandó; t_{1/2e} = eliminációs felezési idő

Monte Carlo szimuláció

A létrehozott populációs farmakokinetikai modell alapján sikeresen létrehoztunk egy 5000 egyedből álló célpopulációt, amelyben a florfenikol 30 mg/kg dózisu, egyszeri im. beadását követő florfenikol-koncentrációkat becsültük meg a Monte Carlo szimuláció alkalmazásával 0 és 72 óra között egy órás lépésekkel a gyógyszerbeadást követően a vérplazmában és az ízületi folyadékban.

Célpopulációra alapozott nemrekeszes farmakokinetikai analízis

A Monte Carlo szimulációval meghatározott 5000 darab koncentráció-idő görbe felhasználásával végzett nemrekeszes farmakokinetikai elemzés eredményei a vérplazmában és az ízületi folyadékban a **20. táblázatban** láthatók.

20. táblázat: A florfenikol populációs farmakokinetikai modell alapján, Monte Carlo szimulációval meghatározott farmakokinetikai paraméterei (5000 egyed célpopulációjára), sertésben **30 mg/kg dózisu, egyszeri im. beadást követően** a vérplazmában és ízületi folyadékban (nemrekeszes modell, átlag \pm SD eredményei).

Paraméter	Mértékegység	Vérplazma	Ízületi folyadék
t_{max}	h	1,05 \pm 0,21	1,00 \pm 0,00
C_{max}	$\mu\text{g/ml}$	7,57 \pm 2,89	2,54 \pm 0,67
Cl	(l/h)/kg	0,19 \pm 0,04	0,47 \pm 0,16
V_d	l/kg	4,51 \pm 2,07	12,45 \pm 3,56
$AUC_{0-\infty}$	(h \times μg)/ml	166,94 \pm 33,74	71,42 \pm 23,89
AUC_{0-24h}	(h \times μg)/ml	101,68 \pm 17,58	37,67 \pm 4,64

t_{max} = a C_{max} eléréséhez szükséges idő; C_{max} = maximális gyógyszerkoncentráció a vérplazmában és az ízületi folyadékban; Cl = teljes test clearance; V_d = látszólagos megoszlási térfogat; $AUC_{0-\infty}$ = koncentráció-idő görbe alatti terület végtelenre extrapolálva; AUC_{0-24h} = koncentráció-idő görbe alatti terület 24 órára kiszámítva

PK/PD_{Co} érték meghatározása – vérplazma

Az AUC_{24h}/MIC (bakteriosztatikus 22 h, baktericid 86 h) alapján az 2 µg/ml-es határértéknél 99%-os valószínűség mellett a florfenikolnak bakteriosztatikus, míg a 0,5 µg/ml-es MIC-értékkel jellemezhető *S. suis* törzsekkel szemben 99%-os valószínűség mellett baktericid hatása van. A C_{avg24h} vizsgálata esetén is a 2 µg/ml-es MIC-érték esetében érhető el legalább 99%-os valószínűséggel a bakteriosztatikus hatás, illetve a 0,5 µg/ml-es MIC-érték esetében a baktericid hatás (**21. táblázat**).

A 2 µg/ml-es határérték a vérplazmában %T>MIC esetén csak 24 órára vonatkoztatva fogadható el, mivel 48 óránál nem éri el (39,33%) a 40-50%-os általunk elfogadott PDT érték alsó határát. Ennek értelmében, ha egy *S. suis* törzs MIC-értéke florfenikollal szemben 2 µg/ml, akkor a sertés vérplazmában a florfenikol koncentrációja a 24 órás időtartam 53,44%-ban van felette 99%-os valószínűséggel. A 2 µg/ml-nél kisebb MIC-értékek esetében ez az időtartam növekszik, ami a kezelés hatékonyságát fokozza, illetve a florfenikollal szemben rezisztens *S. suis* törzsek szelekciójának esélyét csökkenti. A %T>MIC összefüggés adatai a **22. táblázatban** láthatók.

Mind a %T>MIC, mind az AUC_{24h}/MIC és C_{avg24h} vizsgálatok klinikai értelemben a szeptikémiával járó esetekre értendőek, mivel a farmakokinetikai paraméterek sertés vérplazmában, valamint a farmakodinámiai célértékek szintén sertés vérplazmában kerültek meghatározásra.

21. táblázat: A florfenikol 30 mg/kg dóziszú, egyszeri im. beadását követően **sertés vérplazmában** a görbe alatti terület 24 órára extrapolálva (**AUC_{0-24h}**) és a 24 órára számított átlagos plazmakoncentráció (**C_{avg24h}**). Ebben az esetben az AUC_{24h}/MIC arány általunk elfogadott PDT-e 22 óra volt, illetve az átlagos plazmakoncentrációt nézve 0,92-szorosa a MIC-értéknek, ahhoz hogy ezeket az értékeket elérjük ebben az adagolási módban és legalább 90%-os valószínűséggel meghaladjuk az általunk létrehozott célpopulációban a *S. suis* MIC-értékét, az legfeljebb 2 µg/ml lehet. Vastagon szedetten jelöltük az elfogadott PTA-értékeket (ebben az esetben 99%), amelyek a PK/PD_{Co} értékeket is jelölik (2 µg/ml).

PK/PD	MIC (µg/ml)	Percentilis (%)						
		99	90	75	50	25	10	5
AUC _{0-24h} (h × µg)/ml		54,18	77,17	90,86	103,67	114,31	121,89	134,76
C _{avg24h} (µg/ml)		2,26	3,22	3,79	4,32	4,76	5,08	5,61

22. táblázat: A florfenikol 30 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követően **sertés vérplazmában** a 0,25 és 2 µg/ml közötti lehetséges MIC-értékek feletti idő (órában kifejezve) a kiválasztott percentilisekben és a **%T>MIC** megfelelő értéke 24 és 48 órának a százalékában kifejezve. Ebben az esetben a farmakodinámiai célértéknek (PDT) 40-50%-ot határoztunk meg, amelynek eléréséhez a szükséges valószínűségnek legalább a 90%-ot fogadtuk el (PTA ≥90%). A táblázatban vastagon szedetten emeltük ki az elfogadott PTA-értéket, amely a PK/PDco értékét (2 µg/ml) is jelöli, amit ebben az esetben 99% valószínűséggel fogadhatunk el.

PK/PD	MIC (µg/ml)	Percentilis (%)						
		99	90	75	50	25	10	5
T>MIC (h)	0,25	25,14	40,39	53,79	75,89	105,27	139,06	222,07
%T>MIC (24h %)	0,25	104,75	168,27	224,12	316,21	438,64	579,44	925,28
%T>MIC (48h %)	0,25	52,38	84,14	112,06	158,10	219,32	289,72	462,64
T>MIC (h)	0,5	21,20	33,39	43,63	60,47	71,88	71,91	71,93
%T>MIC (24h %)	0,5	88,32	139,11	181,77	251,96	299,49	299,61	299,69
%T>MIC (48h %)	0,5	44,16	69,56	90,89	125,98	149,75	149,81	149,84
T>MIC (h)	1	17,38	26,29	33,53	44,87	57,85	70,95	93,58
%T>MIC (24h %)	1	72,40	109,56	139,72	186,95	241,04	295,63	389,94
%T>MIC (48h %)	1	36,20	54,78	69,86	93,48	120,52	147,81	194,97
T>MIC (h)	2	12,83	18,88	23,10	28,48	33,23	36,81	42,60
%T>MIC (24h %)	2	53,44	78,66	96,23	118,67	138,45	153,39	177,49
%T>MIC (48h %)	2	26,72	39,33	48,12	59,34	69,22	76,69	88,74

PK/PD_{CO} érték meghatározása – ízületi folyadék

Az AUC_{24h}/MIC (bakteriosztatikus 22 h, baktericid 76 h) esetében az 1 µg/ml-es határértéknél 99%-os valószínűség mellett a florfenikolnak bakteriosztatikus hatása van a *S. suis* törzsekkel szemben. Ez azt jelenti, hogy ha 1 µg/ml a florfenikol MIC-értéke egy *S. suis* törzssel szemben, akkor a célpopuláció 99%-ban lesz a MIC-érték (1 µg/ml) 22-szerese az AUC_{0-24h} értéke (≥22 (h × µg)/ml). Ebben az esetben 99%-os valószínűség mellett a 0,25 µg/ml-es MIC-értékkal jellemezhető *S. suis* törzsekkel szemben van baktericid hatása a florfenikolnak. A C_{avg24h} esetében is ezen értékeket számítottuk ki a florfenikol bakteriosztatikus és baktericid hatását vizsgálva sertés ízületi folyadékban (**23. táblázat**).

Az 1 µg/ml-es határérték az ízületi folyadékban %T>MIC összefüggés esetén csak 24 órára vonatkoztatva fogadható el, mivel 48 óránál nem képes meghaladni (33,41%) a 40-50%-os általunk elfogadott PDT érték alsó határát sem. A 24 órának 66,81%-ban van a florfenikol-koncentráció a *S. suis* törzsek 1 µg/ml-es MIC-értéke felett 90%-os valószínűség mellett sertés ízületi folyadékban. A %T>MIC összefüggés adatai a **24. táblázatban** láthatók.

Ezen összefüggések klinikai értelemben az ízületgyulladással járó esetekre értendők, mivel a farmakokinetikai paraméterek és a farmakodinámiai célértékek sertés ízületi folyadékban lettek meghatározva.

23. táblázat: A florfenikol 30 mg/kg dózisé, egyszeri im. beadását követően **sertés ízületi folyadékban** a görbe alatti terület 24 órára extrapolálva (**AUC_{0-24h}**) és a 24 órára számított átlagos plazmakoncentráció (**C_{avg24h}**). Ebben az esetben az AUC_{24h}/MIC arány általunk elfogadott PDT-e 22 óra volt, illetve az átlagos plazmakoncentrációt nézve 0,92-szorosa a MIC-értéknek, ahhoz hogy ezeket az értékeket elérjük ebben az adagolási módban és legalább 90%-os valószínűséggel meghaladjuk az általunk létrehozott célpopulációban a *S. suis* MIC-értékét, az legfeljebb 1 µg/ml lehet. Vastagon szedetten jelöltük az elfogadott PTA-értékeket (ebben az esetben 99%), amelyek a PK/PD_{CO} értékeket is jelölik (1 µg/ml).

PK/PD	MIC (µg/ml)	Percentilis (%)						
		99	90	75	50	25	10	5
AUC _{0-24h} (h × µg)/ml		26,09	31,82	34,70	37,77	40,67	43,42	48,20
C _{avg24h} (µg/ml)		1,09	1,33	1,45	1,57	1,69	1,81	2,01

24. táblázat: A florfenikol 30 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követően **sertés ízületi folyadékban** a 0,25 és 2 µg/ml közötti lehetséges MIC-értékek feletti idő (órában kifejezve) a kiválasztott percentilisekben és a **%T>MIC** megfelelő értéke 24 és 48 órának a százalékában kifejezve. Ebben az esetben a farmakodinámiai célértéknek (PDT) 40-50%-ot határoztunk meg, amelynek eléréséhez a szükséges valószínűségnek legalább a 90%-ot fogadtuk el (PTA ≥ 90%). A táblázatban vastagon szedetten emeltük ki az elfogadott PTA-értéket, amely a PK/PD_{co} értékét (1 µg/ml) is jelöli.

PK/PD	MIC (µg/ml)	Percentilis (%)						
		99	90	75	50	25	10	5
T>MIC (h)	0,25	20,73	34,67	45,94	62,52	84,96	111,01	178,56
%T>MIC (24h %)	0,25	86,37	144,48	191,41	260,49	353,98	462,56	744,02
%T>MIC (48h %)	0,25	43,18	72,24	95,71	130,24	176,99	231,28	372,01
T>MIC (h)	0,5	15,75	25,48	33,11	43,65	57,34	72,12	104,59
%T>MIC (24h %)	0,5	65,64	106,19	137,97	181,88	238,91	300,52	435,81
%T>MIC (48h %)	0,5	32,82	53,09	68,99	90,94	119,46	150,26	217,91
T>MIC (h)	1	10,51	16,04	19,77	24,20	28,90	33,50	42,78
%T>MIC (24h %)	1	43,78	66,81	82,36	100,84	120,40	139,60	178,26
%T>MIC (48h %)	1	21,89	33,41	41,18	50,42	60,20	69,80	89,13
T>MIC (h)	2	0,00	0,00	0,98	5,46	7,26	8,71	11,31
%T>MIC (24h %)	2	0,00	0,00	4,08	22,76	30,24	36,28	47,13
%T>MIC (48h %)	2	0,00	0,00	2,04	11,38	15,12	18,14	23,56

PK/PD_{co}

A fentiek alapján a PK/PD_{co} értéke 2 µg/ml a vérplazmában, míg az ízületi folyadékban 1 µg/ml. Az eredmények a florfenikol 30 mg/kg dózisú, egyszeri im. adagolására érvényesíthetők 24 órás hatástartam feltételezése mellett.

5.1.3 A florfenikol ízületi folyadék és vérplazma aránya

A **15 mg/kg-os, im. adagolást** követően a vérplazma és az ízületi folyadék eredményei között szignifikáns különbségek ($p < 0,05$) vannak a következő esetekben. A C_{max} -ot hamarabb elérte a vérplazmában ($t_{max} = 2,03 \pm 1,83$ h) a florfenikol, mint az ízületi folyadékban ($t_{max} = 3,33 \pm 1,51$ h), illetve a felezési idő hosszabb volt az ízületi folyadékban ($t_{1/2} = 21,20 \pm 22,29$ h), mint a vérplazmában ($t_{1/2} = 17,80 \pm 6,61$ h). Az ízületi folyadékban mért $AUC_{0-\infty}$ ($67,78 \pm 34,58$ (h \times μ g)/ml) és a vérplazmában mért $AUC_{0-\infty}$ ($80,63 \pm 28,42$ (h \times μ g)/ml) értékeinek hányadosa, illetve az ízületi folyadékban ($2,41 \pm 1,32$ μ g/ml) és a vérplazmában ($3,19 \pm 1,66$ μ g/ml) meghatározott C_{max} értékek aránya is szignifikánsnak bizonyult. Az arányokat a vizsgálatba bevont hat sertés adatainak felhasználásával számítottuk ki, amely az $AUC_{0-\infty}$ értékek esetében $0,87 \pm 0,43$, illetve a C_{max} értékek esetében $0,74 \pm 0,05$ volt, vagyis a görbe alatti területek végtelenre extrapolált értékei és a maximális plazmakoncentrációk értékei nagyobbak voltak a vérplazmában, mint az ízületi folyadékban (**25. táblázat**).

A vérplazma és az ízületi folyadék eredményei között a florfenikol **30 mg/kg dózisú, im. adagolását** követően is szignifikáns különbségek ($p < 0,05$) vannak a következő esetekben. Az ízületi folyadékban mért $AUC_{0-\infty}$ ($71,14 \pm 30,75$ (h \times μ g)/ml) és a vérplazmában mért $AUC_{0-\infty}$ ($164,2 \pm 32,49$ (h \times μ g)/ml) értékeinek hányadosa, illetve az ízületi folyadékban ($3,95 \pm 1,37$ μ g/ml) és a vérplazmában ($8,15 \pm 3,11$ μ g/ml) meghatározott C_{max} értékek aránya közötti különbség is szignifikánsnak bizonyult ebben a dózisban is. Az arányokat a vizsgálatba bevont nyolc sertés adatainak felhasználásával számítottuk ki, amely az $AUC_{0-\infty}$ értékek esetében $0,42 \pm 0,15$, illetve a C_{max} értékek esetében $0,50 \pm 0,13$ volt, vagyis a görbe alatti területek végtelenre extrapolált értékei és a maximális plazmakoncentrációk értékei nagyobbak voltak a vérplazmában, mint az ízületi folyadékban, hasonlóan a 15 mg/kg dózisú, egyszeri im. adagolás adataihoz. A florfenikol ezen dózisa (30 mg/kg) esetén a t_{max} értékei között nem találtunk szignifikáns eltérést, viszont a felezési idők ebben az esetben is szignifikánsan hosszabbak voltak az ízületi folyadékban ($t_{1/2} = 28,12 \pm 25,17$ h), mint a vérplazmában ($t_{1/2} = 18,74 \pm 10,16$ h). A hatáshelyek között számított arányok a két különböző dózis esetén a **25. táblázatban** láthatók.

25. táblázat: A florfenikol 15 mg/kg és 30 mg/kg dózisú, egyszeri im. beadását követően számított $AUC_{0-\infty}$ és C_{max} arányai az ízületi folyadék és vérplazma között (átlag \pm SD). Az arányok szignifikáns különbséget tükröznek a két hatáshely florfenikol koncentrációja között ($p < 0,05$).

Paraméterek	Ízületi folyadék / Vérplazma	
	$AUC_{0-\infty}$	C_{max}
florfenikol 15 mg/kg, egyszeri im. beadás	0,87 \pm 0,43	0,74 \pm 0,05
florfenikol 30 mg/kg, egyszeri im. beadás	0,42 \pm 0,15	0,50 \pm 0,13

$AUC_{0-\infty}$ – plazmakoncentráció-idő görbe alatti terület végtelenre extrapolálva, C_{max} – maximális plazmakoncentráció

5.1.4 Florfenikol PK/PD_{CO} értékek összehasonlítása

A 15 mg/kg dózisban, egyszeri im. adagolást követően a vérplazmában 1 $\mu\text{g/ml}$, míg az ízületi folyadékban 0,5 $\mu\text{g/ml}$ az általunk javasolt kritikus MIC-érték (PK/PD_{CO}) *S. suis* fertőzés esetén sertésben. A 30 mg/kg dózisban, egyszeri im. adagolást követően a vérplazmában 2 $\mu\text{g/ml}$, míg az ízületi folyadékban 1 $\mu\text{g/ml}$ az általunk javasolt kritikus MIC-érték (PK/PD_{CO}) *S. suis* fertőzés esetén sertésben. A vérplazma és az ízületi folyadék esetében is szignifikáns különbségek vannak a két dózis között a %T>MIC, az AUC_{24h} és a C_{avg24h} értékek összehasonlítása alapján.

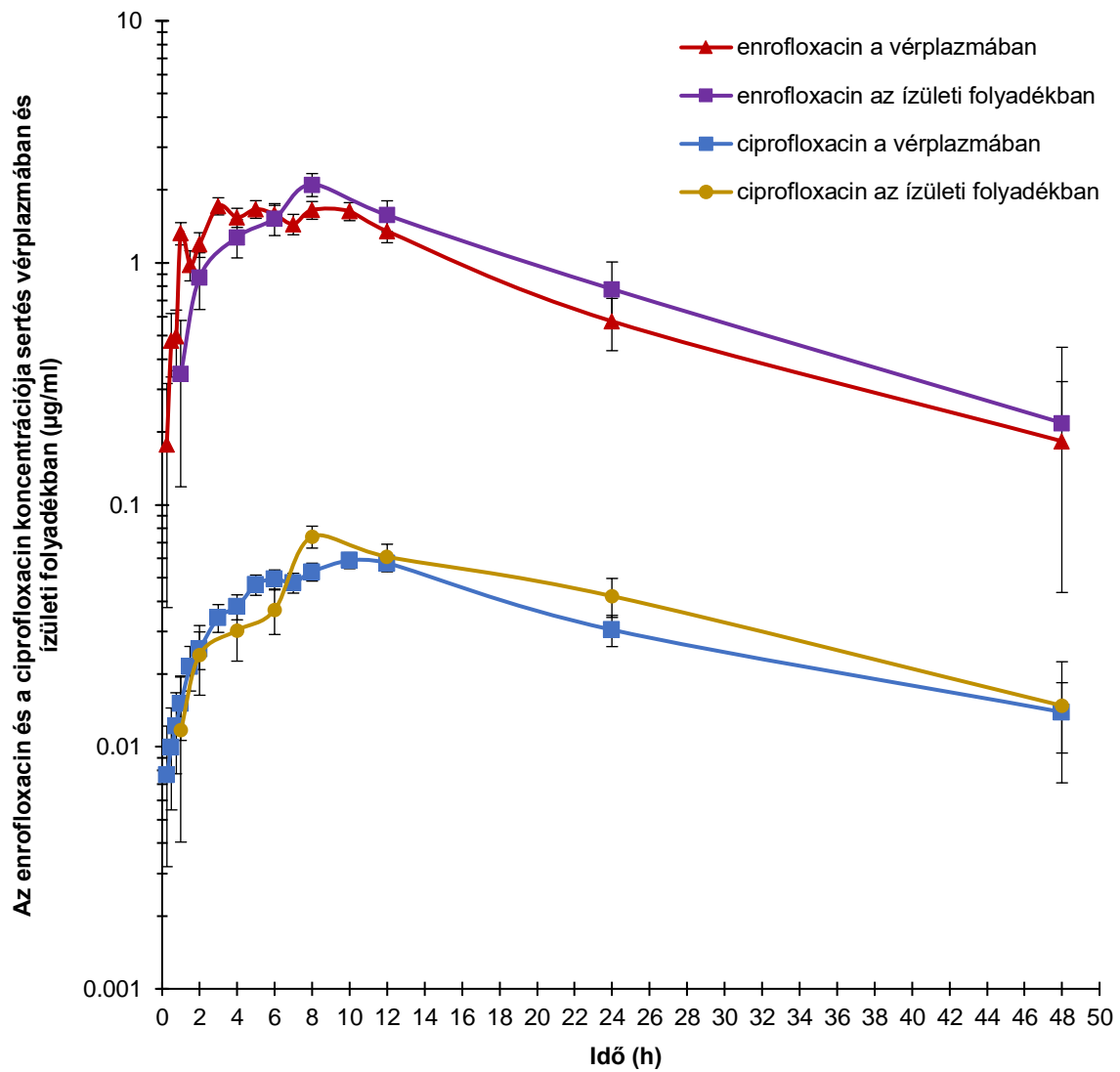
5.1.5 Enrofloxacin 7,5 mg/kg-os, egyszeri sc. beadását követő farmakokinetikai vizsgálatok

Nemrekeszes farmakokinetikai elemzés

A továbbiakban láthatók az enrofloxacin és ciprofloxacin (**18. ábra**) koncentráció-idő görbéi az enrofloxacin egyszeri 7,5 mg/kg-os, sc. adagolását követően sertés vérplazmában és ízületi folyadékban. Ezeket a görbéket alkalmaztuk a populációs farmakokinetikai elemzés kezdeti becsléseihez az enrofloxacin esetében.

Az enrofloxacint és a ciprofloxacint az első időpontokban vett mintákban (vérplazma = 10 perc, ízületi folyadék = 1 óra) kimutattuk a 7,5 mg/kg-os, egyszeri sc. gyógyszerbeadást követően. Az egyedek közötti eltérések sem az enrofloxacin sem a ciprofloxacin esetében nem mutattak nagy eltéréseket, emellett minden mintában kimutathatósági határérték felett volt mindkét hatóanyag koncentrációja, beleértve az utolsó 48 órás mintavételeket is (**26. táblázat**).

A vérplazma és az ízületi folyadék eredményei között szignifikáns különbségek ($p < 0,05$) vannak a következő esetekben: a C_{max} -ot hamarabb elérte az enrofloxacin a vérplazmában ($t_{max} = 4,90 \pm 2,69$ h), mint az ízületi folyadékban ($t_{max} = 6,90 \pm 2,33$ h), ugyanakkor a felezési idő hosszabb volt az utóbbi hatáshelyen, de nem szignifikánsan. Az ízületi folyadékban mért $AUC_{0-\infty}$ ($46,31 \pm 16,68$ (h \times μ g)/ml) és a vérplazmában mért $AUC_{0-\infty}$ ($39,96 \pm 5,35$ (h \times μ g)/ml) értékeinek hányadosa a két hatáshely közötti szignifikáns eltéréseken alapszik. Az enrofloxacin esetében az ízületi folyadékban meghatározott $AUC_{0-\infty}$ értéke nagyobb, mint a vérplazmában. A C_{max} esetében ezt a szignifikáns eltérést nem tudtuk igazolni, mivel az értékek között minimális különbség volt a két hatáshelyen. Az arányokat mind a 10 sertés adatainak felhasználásával számítottuk ki. Az ízületi folyadék és vérplazma arányok az $AUC_{0-\infty}$ értékek esetében $1,15 \pm 0,32$, illetve a C_{max} értékek esetében $0,97 \pm 0,45$ voltak. Az ízületi folyadék és vérplazma $AUC_{0-\infty}$ értékeinek aránya tükrözi, hogy az előbbi hatáshelyen nagyobb koncentrációt ér el az enrofloxacin, mint a vérplazmában.



18. ábra: Koncentráció-idő görbék: a 7,5 mg/kg-os, sc. kezelést követő enrofloxacin és ciprofloxacin koncentrációk (átlag \pm szórás) sertés vérplazmában és ízületi folyadékban (n = 10).

26. táblázat: Az **enrofloxacin** farmakokinetikai paramétereit **7,5 mg/kg dózisban, egyszeri sc. beadást követően** sertés vérplazmában és ízületi folyadékban (nemrekeszes modell, átlag \pm SD eredményei).

Paraméter	Mértékegység	Vérplazma	Ízületi folyadék
K_e	h^{-1}	$0,05 \pm 0,01$	$0,05 \pm 0,01$
$t_{1/2e}$	h	$13,83 \pm 2,51$	$13,75 \pm 3,60$
t_{max}	h	$4,90 \pm 2,69$	$6,90 \pm 2,33$
C_{max}	$\mu g/ml$	$2,43 \pm 0,9$	$2,21 \pm 0,95$
Cl	$(l/h)/kg$	$0,19 \pm 0,024$	$0,17 \pm 0,06$
V_d	l/kg	$3,78 \pm 0,68$	$3,54 \pm 1,37$
$AUC_{0-\infty}$	$(h \times \mu g)/ml$	$39,96 \pm 5,35$	$46,31 \pm 16,68$
AUC_{0-24h}	$(h \times \mu g)/ml$	$27,97 \pm 4,11$	$31,25 \pm 14,00$

K_e = eliminációs sebességi állandó; $t_{1/2e}$ = eliminációs felezési idő; t_{max} = a C_{max} eléréséhez szükséges idő; C_{max} = maximális gyógyszerkoncentráció a vérplazmában és az ízületi folyadékban; Cl = teljes test clearance; V_d = látszólagos megoszlási térfogat; $AUC_{0-\infty}$ = koncentráció-idő görbe alatti terület végtelenre extrapolálva; AUC_{0-24h} = koncentráció-idő görbe alatti terület 24 órára kiszámítva

Populációs farmakokinetika

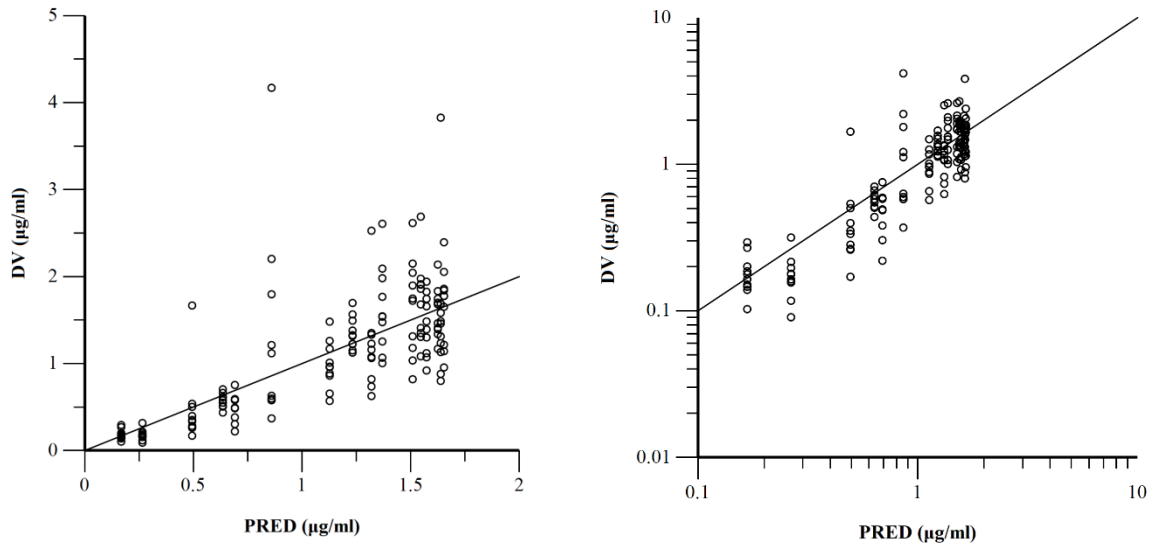
Lentebb láthatók az illeszkedési diagramokat, amelyeket az egyrekeszes farmakokinetikai modell kiválasztásához alkalmaztunk. Mind a vérplazma, mind az ízületi folyadék adataira illesztett modell esetén elmondható (DV vs PRED, DV vs. IPRED vérplazma: **19. ábra** és **20. ábra**, ízületi folyadék: **21. ábra** és **22. ábra**), hogy a lineáris és logaritmus diagramok esetében az adatok egyenletesen oszlottak el az azonossági vonal körül, ami azt jelzi, hogy a strukturális modell megfelelően képes leírni az enrofloxacin-koncentráció változását mind sertés vérplazmában, mind pedig az ízületi folyadékban a legtöbb egyed esetében. A diagnosztikai ábrák alapján a modellek populációs hatásában nincs nagyobb torzítás, vagyis igazoltuk a modellek megfelelőségét mind a két hatáshely esetén az enrofloxacin 7,5 mg/kg dózisú, egyszeri sc. beadását követően sertésekben.

A kifejlesztett modell megfelelőségét alátámasztja az enrofloxacin-koncentrációk feltételes súlyozott maradékértékeinek (CWRES) a gyógyszerbeadást követő idő függvényében történő ábrázolása, ahol az y értékeinek nagyrésze +2 és -2 közé koncentráldott a vérplazma és az ízületi folyadék esetében is (**23. ábra**).

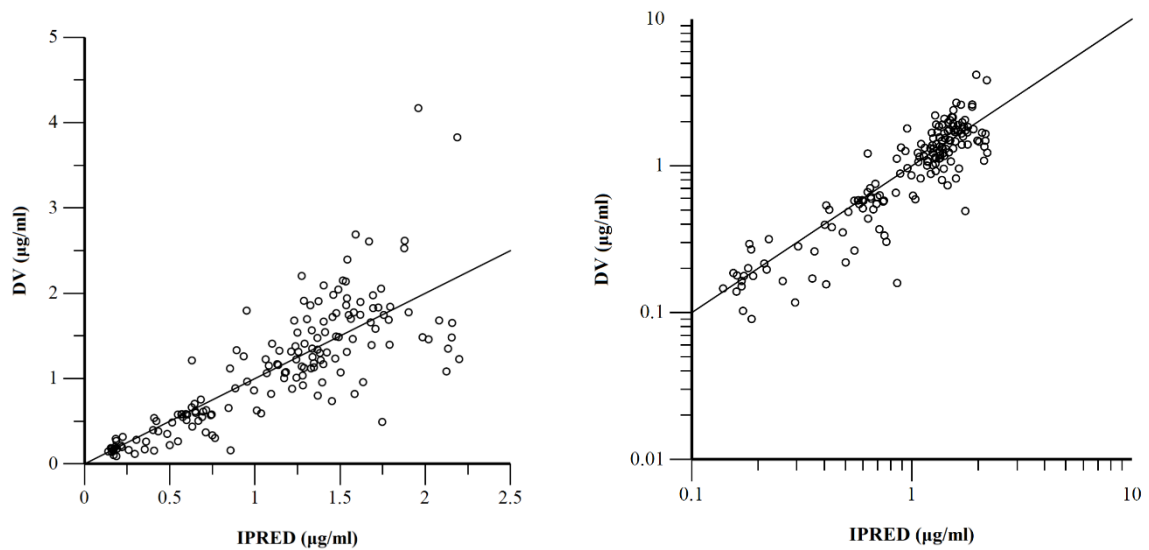
A VPC-k (**24. ábra**) szemléltetik a szimulált eloszlás 5, 50 és 95% percentiliseit a megfigyelt értékekhez képest, ez alapján is feltételezhetjük, hogy az általunk kiválasztott populációs farmakokinetikai modellek megfelelően leírják az enrofloxacin-koncentrációk időbeli változását a vérplazmában és az ízületi folyadékban.

A modellek elsődleges populációs paraméterei (théták) a **27. táblázatban**, a véletlen hatások és a különböző paraméterek BSV értékei a **28. táblázatban**, illetve a másodlagos paraméterek a **29. táblázatban** láthatók a hozzájuk tartozó standard hibával (SE). A becsült paraméterek BSV értéke a vérplazma esetén ~10-49%, míg az ízületi folyadék esetén ~28-41% volt. Ezen értékek alapján mindkét hatáshely esetében homogén gyógyszer-expozícióra következtethetünk.

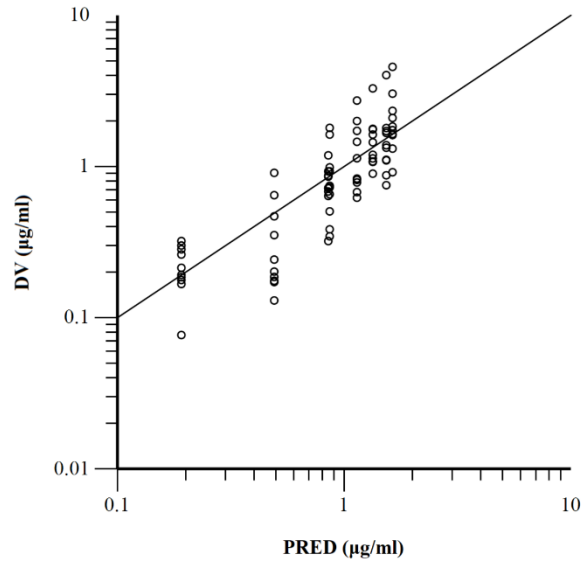
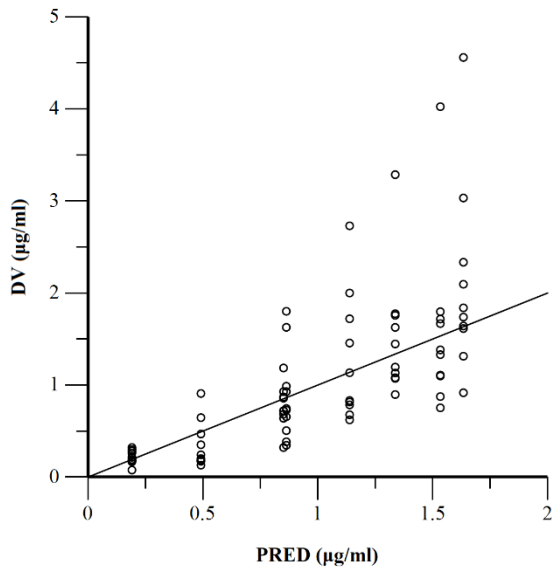
A másodlagos paraméterek és a nemrekeszes elemzések eredményeinek összehasonlítása alapján is helytállóak az általunk fejlesztett egyrekeszes modell populációs becsülésének értékei.



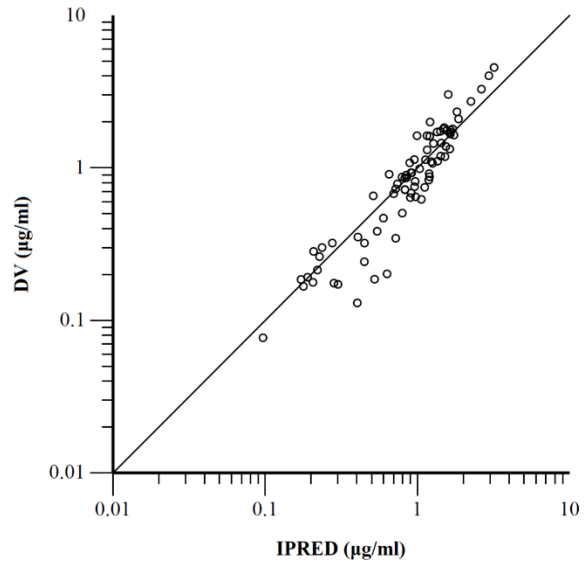
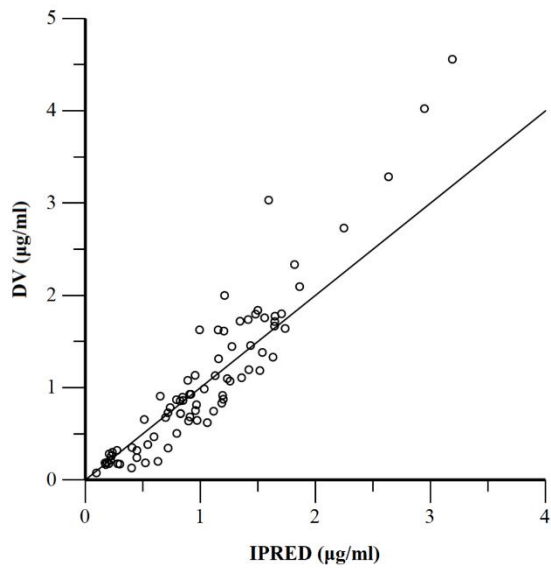
19. ábra: Az enrofloxacin 7,5 mg/kg dóziszú, egyszeri sc. beadását követően megfigyelt koncentrációk (függő változó = DV) és a populáció előre jelzett koncentrációinak (PRED) diagramjai **sertés vérplazmában**, tehát a grafikonok a modellfüggvény megfigyelt és illesztett értékeit szemléltetik.



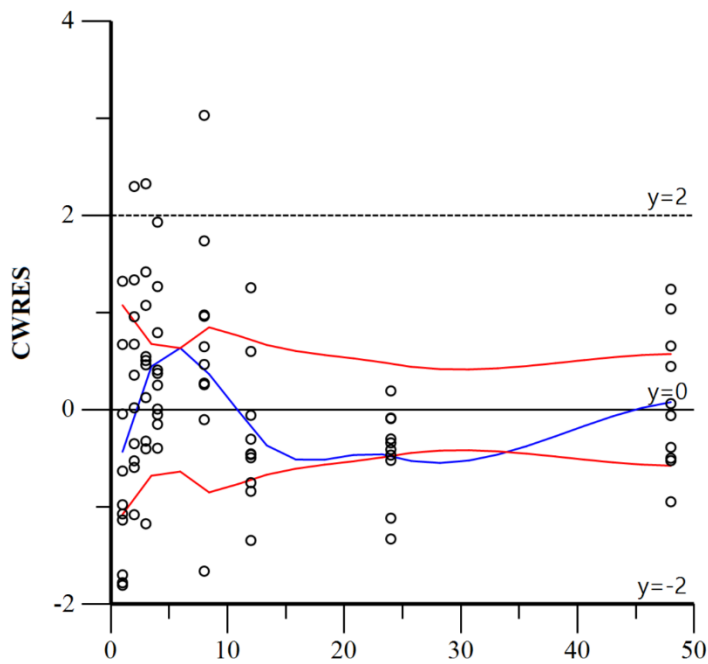
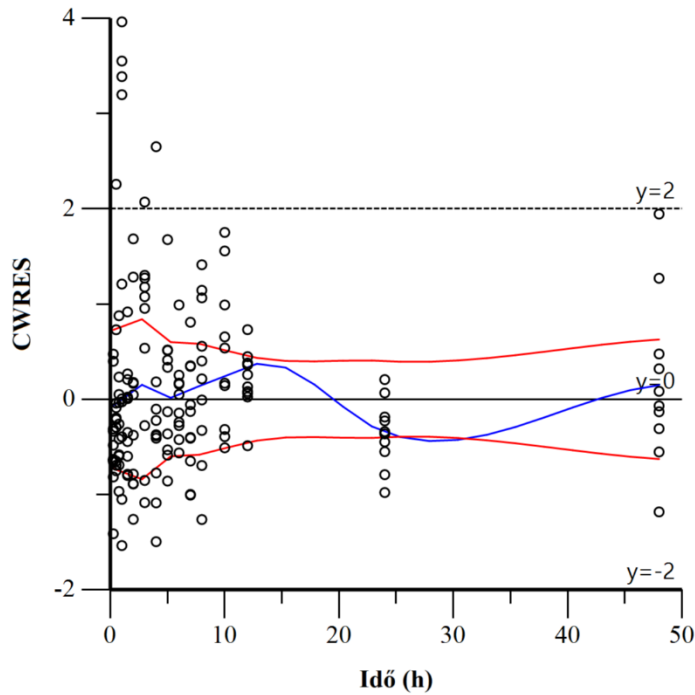
20. ábra: Az enrofloxacin 7,5 mg/kg dóziszú, egyszeri sc. beadását követő megfigyelt koncentrációk (függő változó = DV) és az egyéni előre jelzett koncentrációk (IPRED) diagramjai **sertés vérplazmában**, tehát az ábrák a modellfüggvény megfigyelt és az illesztett értékeit szemléltetik.



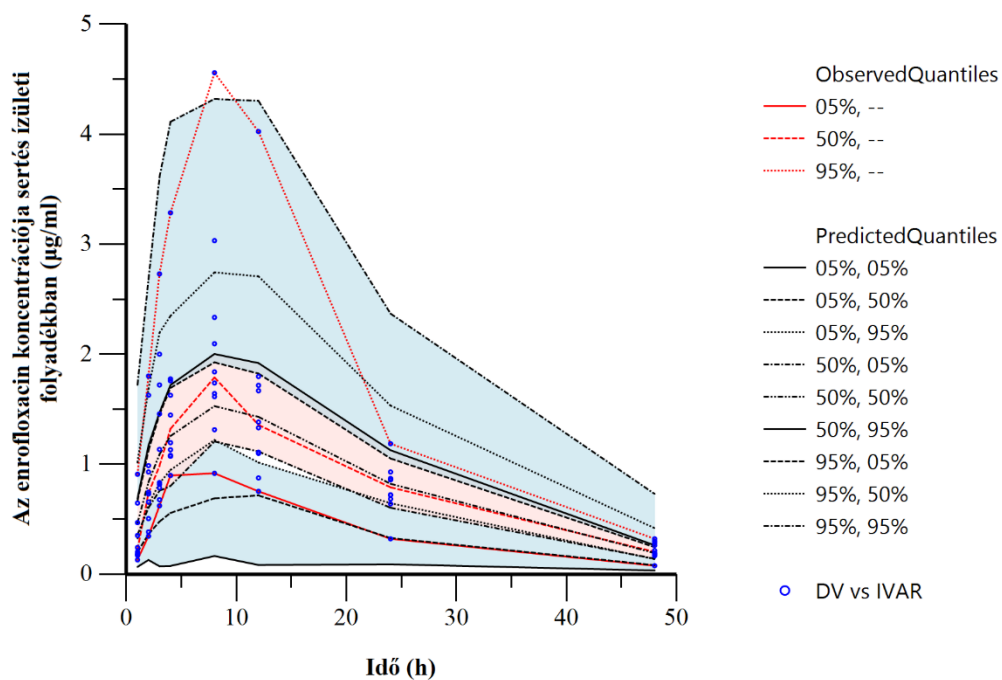
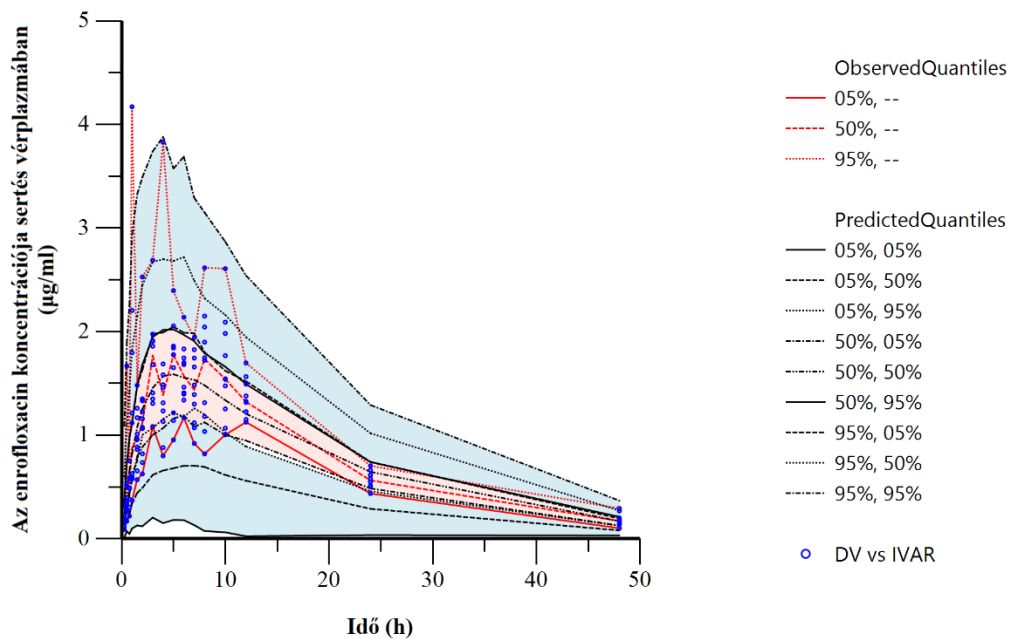
21. ábra: Az enrofloxacin 7,5 mg/kg dózisú, egyszeri sc. beadását követő megfigyelt koncentrációk (függő változó = DV) és a populáció előre jelzett koncentrációinak (PRED) diagramjai **sertés izületi folyadékban**, tehát a grafikonok a modellfüggvény megfigyelt és illesztett értékeit szemléltetik.



22. ábra: Az enrofloxacin 7,5 mg/kg dózisú, egyszeri sc. beadását követő megfigyelt koncentrációk (függő változó = DV) és az egyéni előre jelzett koncentrációk (IPRED) diagramjai **sertés izületi folyadékban**, tehát az ábrák a modellfüggvény megfigyelt és az illesztett értékeit szemléltetik.



23. ábra: A **vérplazma** (felső ábra) és az **ízületi folyadék** (alsó ábra) enrofloxacin-koncentrációinak feltételes súlyozott reziduumaik (CWRES) ábrázolása az enrofloxacin 7,5 mg/kg dózisé, egyszeri sc. beadását követő idő függvényében (h). A CWRES értékeinek megközelítőleg $N(0, 1)$ értékeknek kell lenniük, és így $y = -2$ és $y = +2$ közé kell koncentrálniuk. Az ábrák vizsgálata azt mutatja, hogy az adatok egyenletesen oszlottak el a nulla körül (lásd a kék vonal által megadott tendenciákat), és a piros vonal (negatív tükörképével) nem mutatott eloszlást, ami azt jelzi, hogy a strukturális modellben nincs torzítás, vagyis a koncentrációváltozások megfelelő leírását mutatja a farmakokinetikai modellek által.



24. ábra: Vizuális prediktív ellenőrzés (VPC), amelyet minden egyes állat 100 ismétlésével végeztünk, mind a **vérplazma** (felső ábra), mind az **ízületi folyadék** (alsó ábra) 7,5 mg/kg dózisú, egyszeri sc. beadását követő enrofloxacin-koncentrációk alapján. A megfigyelt percentilisek (5, 50 és 95%). A piros vonalak a tényleges megfigyelt értékektől számított 5, 50 és 95%-os percentilisek (ObservedQuantiles). A fekete vonalak a 5, 50 és 95%-os percentilisek a szimulált megfigyelésekből (PredictedQuantiles). A kék és piros árnyékolt területek megfelelnek a három előre jelzett kvantilis 95%-os konfidenciaintervallumnak. (DV = függő változó – enrofloxacin-koncentráció, IVAR = független változó – gyógyszerbeadástól számított idő)

27. táblázat: Az enrofloxacin 7,5 mg/kg dóziszú, egyszeri sc. beadását követő **elsődleges populációs paraméterei (théták)** sertés vérplazmában és ízületi folyadékban.

Vérplazma						
Paraméterek (théták)	Becsült értékek	Mértékegység	Standard hiba	CV%	2,5% CI	97,5% CI
tvK _{ab}	0,53	h ⁻¹	0,15	27,42	0,24	0,82
tvV	3,48	l/kg	0,31	8,99	2,86	4,10
tvCl	0,19	(l/h)/kg	0,01	6,22	0,17	0,22
stdev0	0,34		0,02	6,45	0,30	0,39
Ízületi folyadék						
Paraméterek (théták)	Becsült értékek	Mértékegység	Standard hiba	CV%	2,5% CI	97,5% CI
tvK _{ab}	0,20	h ⁻¹	0,05	23,34	0,11	0,30
tvV	2,70	l/kg	0,46	17,01	1,78	3,61
tvCl	0,17	(l/h)/kg	0,02	10,03	0,14	0,21
stdev0	0,33		0,03	8,26	0,28	0,39

A tvK_{ab} – felszívódási sebességi állandó tipikus értéke (typical value = tv); tvV – eloszlási térfogat tipikus értéke; tvCl – teljes test clearance tipikus értéke; és stdev0 – standard eloszlás a multiplikatív maradék hibára.

28. táblázat: Az enrofloxacin 7,5 mg/kg dózisé, egyszeri sc. beadását követő **véletlen hatások (omegák)** sertés vérplazmában és ízületi folyadékban.

Vérplazma				
Paraméterek (omegák)	Variancia	Standard hiba	BSV (CV%)	Shrinkage
η_V	0,03	0,02	17,75	0,18
η_{Cl}	0,01	0,01	9,98	0,23
$\eta_{K_{ab}}$	0,21	0,12	48,63	0,09
Ízületi folyadék				
Paraméterek (omegák)	Variancia	Standard hiba	BSV (CV%)	Shrinkage
η_V	0,11	0,06	33,61	0,11
η_{Cl}	0,07	0,04	27,72	0,11
$\eta_{K_{ab}}$	0,16	0,10	41,31	0,18

Az η_V , η_{Cl} és $\eta_{K_{ab}}$ varianciája a modell véletlen hatásainak összetevői (éták), amelynek értelmezését az 1. egyenlet írja le, a BSV (CV%) pedig a 2. egyenlet alapján számított, a vizsgálati alanyok közötti változékonyság.

29. táblázat: Az enrofloxacin 7,5 mg/kg dózisu, egyszeri sc. beadását követő **másodlagos paramétere**i sertés vérplazmában és ízületi folyadékban.

Vérplazma						
Másodlagos paraméterek	Becsült értékek	Mértékegység	Standard hiba	CV%	2,5% CI	97,5% CI
AUC_{0-∞}	38,82	(h × µg)/ml	2,42	6,22	34,05	43,60
t_{1/2ab}	1,31	h	0,36	27,42	0,60	2,02
K_e	0,06	h ⁻¹	0,003	6,02	0,05	0,06
t_{1/2e}	12,49	h	0,75	6,02	11,00	13,98
Ízületi folyadék						
Másodlagos paraméterek	Becsült értékek	Mértékegység	Standard hiba	CV%	2,5% CI	97,5% CI
AUC_{0-∞}	43,73	(h × µg)/ml	4,38	10,03	34,99	52,48
t_{1/2ab}	3,44	h	0,80	23,34	1,84	5,04
K_e	0,06	h ⁻¹	0,01	11,92	0,05	0,08
t_{1/2e}	10,89	h	1,30	11,92	8,30	13,48

AUC_{0-∞} = koncentráció-idő görbe alatti területe végtelenre extrapolálva; t_{1/2ab} = felszívódási felezési idő; K_e = eliminációs sebességi állandó; t_{1/2e} = eliminációs felezési idő

Monte Carlo szimuláció

A létrehozott populációs farmakokinetikai modell alapján sikeresen létrehoztunk egy 5000 egyedből álló célpopulációt, amelyben az enrofloxacin 7,5 mg/kg dózisú, egyszeri sc. beadását követő enrofloxacin-koncentrációkat becsültük meg a Monte Carlo szimuláció alkalmazásával, 0 és 48 óra között, egy órás lépésekkel, a gyógyszerbeadást követően a vérplazmában és az ízületi folyadékban.

Célpopulációra alapozott nemrekeszes farmakokinetikai analízis

A Monte Carlo szimulációval meghatározott 5000 darab koncentráció-idő görbe felhasználásával végzett nemrekeszes farmakokinetikai elemzés eredményeit a vérplazmában és az ízületi folyadékban a **30. táblázatban** mutatom be.

30. táblázat: Az **enrofloxacin** populációs farmakokinetikai modell alapján Monte Carlo szimulációval meghatározott farmakokinetikai paraméterei (5000 egyed célpopulációjára), **7,5 mg/kg dózisú, egyszeri sc. beadást követően** sertés vérplazmában és ízületi folyadékban (nemrekeszes modell, átlag \pm SD eredményei).

Paraméter	Mértékegység	Vérplazma	Ízületi folyadék
t_{max}	h	5,03 \pm 1,62	8,60 \pm 2,09
C_{max}	$\mu\text{g/ml}$	1,66 \pm 0,33	1,67 \pm 0,49
Cl	(l/h)/kg	0,19 \pm 0,02	0,18 \pm 0,05
V_d	l/kg	3,57 \pm 0,64	2,96 \pm 0,97
$AUC_{0-\infty}$	(h \times μg)/ml	38,89 \pm 3,89	45,26 \pm 12,68
AUC_{0-24h}	(h \times μg)/ml	27,21 \pm 3,93	30,30 \pm 8,67

t_{max} = a C_{max} eléréséhez szükséges idő; C_{max} = maximális gyógyszerkoncentráció a vérplazmában és az ízületi folyadékban; Cl = teljes test clearance; V_d = látszólagos megoszlási térfogat; $AUC_{0-\infty}$ = koncentráció-idő görbe alatti terület végtelenre extrapolálva; AUC_{0-24h} = koncentráció-idő görbe alatti terület 24 órára kiszámítva

PK/PD_{CO} érték meghatározása

A nemrekeszes analízisből származó farmakokinetikai paraméterek és a *S. suis* lehetséges MIC-értékei (0,03-8 µg/ml) alapján, illetve a farmakodinámiai célérték (PDT = AUC_{0-∞}/MIC esetén >50 óra) figyelembevételével legalább 90%-os valószínűség mellett a PK/PD_{CO} értéke 0,5 µg/ml a vérplazmában és az ízületi folyadékban is, amely eredményeket a **31. táblázatban** láthatók. Az eredmények az enrofloxacin 7,5 mg/kg dózisu, egyszeri sc. adagolására érvényesíthetők a vérplazmában és az ízületi folyadékban.

31. táblázat: Monte Carlo szimulációból származó AUC_{0-∞} értékek felhasználásával meghatározott PTA értékek: az egyes cellákban szereplő érték azt a valószínűséget (bizonyosságot) jelzi százalékban kifejezve, hogy az egyes MIC-értékek esetében az **AUC/MIC-arány** eléri az 50-es értéket, az enrofloxacin 7,5 mg/kg-os dózisu, egyszeri sc. beadását követően sertések vérplazmájában és ízületi folyadékában.

Hatáshely	AUC _{0-∞} /MIC arány	MIC-értékek (µg/ml)								
		0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
Vérplazma	≥ 50	100	100	100	100	100	0,48	0	0	0
Ízületi folyadék	≥ 50	100	100	100	100	98	30,46	0,18	0	0

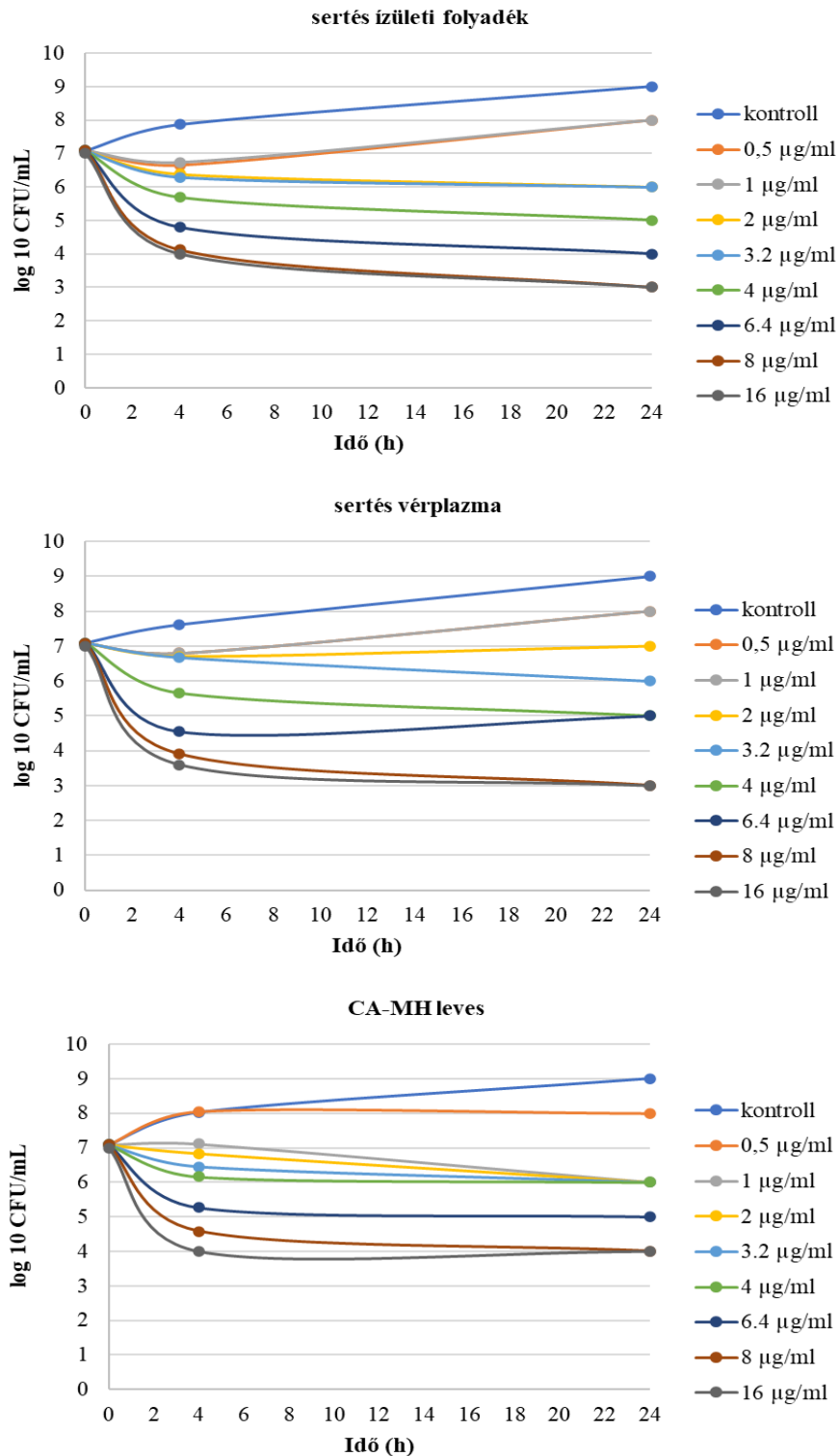
5.2 A florfenikol farmakodinámiai paramétereinek vizsgálata egy *S. suis* izolátumon

5.2.1 *In vitro* ölési görbék

Az ölési görbék eredményeit összehasonlítva sikeresen alakítottunk ki *in vitro* körülmények között sertés ízületi folyadék modellt, amely alapján a florfenikol farmakodinámiai paramétereit ezen a hatáshelyen is tudtuk vizsgálni.

A vizsgálatokba bevont SS96-os jelölésű *S. suis* izolátum MIC-értéke a florfenikollal szemben mind a három közegben (sertés ízületi folyadék, sertés vérplazma, CA-MH leves) 2 µg/ml volt, vagyis a különböző közegek befolyásoló hatását a MIC-értékek alapján nem tudtuk meghatározni.

A lentebb látható *in vitro* ölési görbékről (**25. ábra**) leolvasható, hogy a különböző közegekben és a különböző florfenikol-koncentrációk jelenlétében az SS96-os izolátum ölési vagy osztódási görbéje az esetek többségében azonos, illetve csak egy esetben tapasztaltunk eltérést. Mind a három közegben 3 log₁₀ CFU/ml baktériumszám-csökkenést ért el a florfenikol 4 óra elteltével 8 µg/ml és 16 µg/ml koncentráció esetén, továbbá a baktériumok számának csökkenése 1 log₁₀ CFU/ml vagy annál nagyobb volt, ha a florfenikol koncentrációja nagyobb volt, mint 2 µg/ml. Különbséget 6,4 µg/ml-es florfenikol-koncentrációnál tapasztaltunk 24 óra expozíciót követően, mivel a sertés ízületi folyadékban 3 log₁₀ CFU/ml, míg a sertés vérplazmában és a CA-MH levesben csak 2 log₁₀ CFU/ml volt a baktériumsejtszám csökkenés.



25. ábra: A SS96-os jelölésű *S. suis* *in vitro* ölési görbéi florfenikollal szemben, a három különböző közegben (felső ábra: sertés ízületi folyadék, középső ábra: sertés vérplazma, alsó ábra: CA-MH leves).

5.2.2 Farmakodinámiai célérték meghatározása

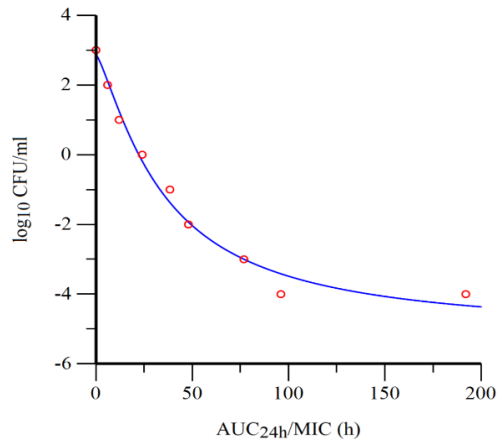
A florfenikol és az SS96-os izolátum PK/PD modellezéséhez az AUC_{24h}/MIC paramétereket találtuk megfelelőnek a PDT meghatározásához a szakirodalom alapján (LEI ÉS MTSAL., 2018; MOUTON ÉS MTSAL., 2012; PELLIGAND ÉS MTSAL., 2019). A florfenikol antibakteriális hatékonyságát és az AUC_{24h}/MIC arányok *in vitro* PK/PD paramétereinek közötti összefüggést a szigmoidális E_{max} gátlási egyenlettel szimuláltuk. A modell γ , E_0 , E_{max} és AUC_{24h}/MIC értékei a baktériumsejtszám növekedésgátlás három szintjén a **32. táblázatban** és **26. ábraán** láthatók sertés ízületi folyadékban, sertés vérplazmában és CA-MH levesben. A bakteriosztatikus hatás eléréséhez ($E = 0$) szükséges AUC_{24h}/MIC értékek (PDT) 22,22 h, 22,42 h és 14,21 h voltak a florfenikol esetében sertés ízületi folyadékban, sertés vérplazmában és a CA-MH levesben, illetve a baktericid aktivitás ($E = -3$) megfelelő értékei 76,88 h, 86,49 h és 163,16 h voltak. Az eradikációra ($E = -4$) vonatkozó AUC_{24h}/MIC értékek nagyobbak voltak a ízületi folyadékban és a vérplazmában, 141,74 h és 161,76 h, míg a CA-MH levesben a florfenikol még a legnagyobb koncentráció (16 $\mu\text{g}/\text{ml}$) mellett sem érte el ezt a szintet.

32. táblázat: A szigmoidális E_{max} gátlási egyenlettel szimulált paraméterek (átlag \pm szórás) és farmakodinámiai célértékek (PDT) sertés ízületi folyadékban, sertés vérplazmában és CA-MH levesben.

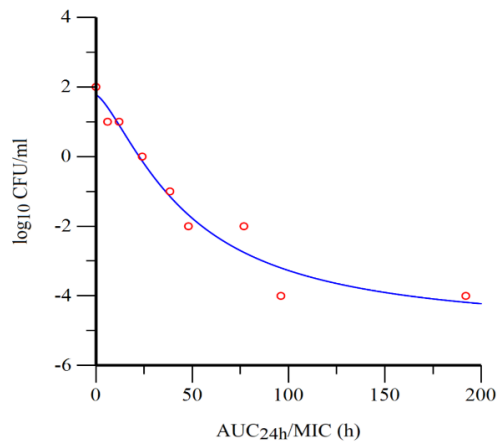
Paraméterek	Mértékegység	Sertés ízületi folyadék	Sertés vérplazma	CA-MH
$\log E_{max}$	CFU/ml	-8.00 ± 1.00	-6.76 ± 1.71	-6.89 ± 2.63
$\log EC_{50}$	h	34.99 ± 7.10	46.80 ± 16.94	45.28 ± 47.16
$\log E_0$	CFU/ml	2.87 ± 0.36	1.77 ± 0.50	2.02 ± 0.43
γ	-	1.28 ± 0.27	1.41 ± 0.58	0.76 ± 0.33
AUC_{24h}/MIC értéke bakteriosztatikus hatás eléréséhez ($E = 0$)	h	22.22	22.42	14.21
AUC_{24h}/MIC értéke baktericid hatás eléréséhez ($E = -3$)	h	76.88	86.49	163.16
AUC_{24h}/MIC érték a $4 \log_{10}$ CFU/ml baktériumsejtszám csökkenésért ($E = -4$)	h	141.74	161.76	-*

E_{max} = maximális (válasz) ölési képesség, E_0 = kezdeti \log_{10} alapú élő baktériumsejtszám, EC_{50} = florfenikol *in vitro* koncentráció-idő összefüggése, amely a maximális ölési képesség felét képes kifejteni, γ = Hill-koefficiens (a görbe meredeksége), AUC_{24h} – plazmakoncentráció-idő görbe alatti terület 24 órára kiszámítva, MIC – minimális gátló koncentráció, * – a CA-MH levesben a florfenikol nem érte el $4 \log_{10}$ baktériumsejtszám csökkenéshez szükséges AUC_{24h}/MIC értékét

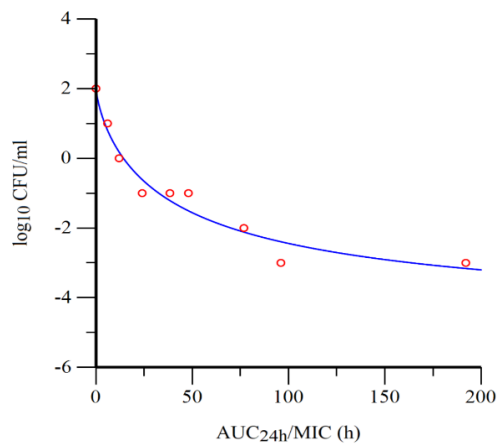
Sertés ízületi folyadék



Sertés vérplazma



CA-MH



26. ábra: Sigmoidális E_{max} gátlási egyenlettel kifejezett korreláció az SS96-os *S. suis* baktériumsejtszáma (CFU/ml) és a florfenicol *in vitro* AUC_{24h}/MIC értékei között, szemléltetve a bakteriosztatikus, baktericid és eradikációs hatáshoz szükséges értékeket sertés ízületi folyadékban (felső ábra), sertés vérplazmában (középső ábra) és CA-MH levesben (alsó ábra). Piros kör – megfigyelt értékek, kék vonal – becsült értékek.

5.3 Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok

A 100 db *S. suis* izolátum florfenikollal és enrofloxaccinnal szembeni MIC-értékei a **33. táblázatban** láthatók. A CLSI határértékei (CLSI, 2020) alapján az izolátumok 60%-a érzékenynek, 23%-a mérsékelten érzékenynek és 17%-a rezisztensnek minősült florfenikollal ($\leq 2, 4, \geq 8 \mu\text{g/ml}$) szemben, továbbá az izolátumok 66%-a érzékenynek, 18%-a mérsékelten érzékenynek és 16%-a rezisztensnek minősült enrofloxaccinnal ($\leq 0,5; 1, \geq 2 \mu\text{g/ml}$) szemben. A florfenikol esetében a MIC₅₀ értéke 2 $\mu\text{g/ml}$, míg a MIC₉₀ értéke 8 $\mu\text{g/ml}$ volt. Az enrofloxacin esetében a MIC₅₀ értéke 0,5 $\mu\text{g/ml}$, míg a MIC₉₀ értéke 2 $\mu\text{g/ml}$ volt.

33. táblázat: A 100 db *S. suis* izolátum florfenikollal és enrofloxaccinnal szemben meghatározott MIC-értékei és a MIC₅₀ és MIC₉₀ értékek.

Antibakteriális szer	Egység	Antibiotikum-koncentráció ($\mu\text{g/ml}$)											MIC ₅₀	MIC ₉₀
		0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32		
florfenikol	db = %	0	10	5	3	5	13	24	23	10	4	3	2	8
enrofloxacin		4	8	14	12	22	18	6	1	5	4	0	0,5	2

Zöld = érzékeny, sárga = mérsékelten érzékeny, narancssárga = rezisztens, a CLSI határértékek figyelembe vételével a florfenikol és enrofloxacin esetében is.

6. Megbeszélés

6.1 Florfenikol

A **florfenikolt**, mint széles spektrumú antibakteriális szert, szarvasmarhában parenterálisan, míg sertésben parenterálisan és szájon át, valamint baromfifajok és halak esetében csak szájon át alkalmazzák antibakteriális terápiára (MICHEL ÉS MTSAI., 2003; SWITALA ÉS MTSAI., 2007). Vizsgálatunk célja a florfenikol sertésben történő alkalmazásának értékelése volt **S. suis okozta ízületgyulladás** esetén PK/PD integrációval. A florfenikolt 15 mg/kg és 30 mg/kg dózisban, egyszeri im. beadást követően vizsgáltuk sertés vérplazmában és ízületi folyadékban. Ezekben a vizsgálatokban elsőként írtuk le a florfenikol koncentrációjának változását sertés ízületi folyadékban direkt mintavételeket követően, továbbá ezen adatok alapján elsőként illesztettünk egyrekeszes populációs farmakokinetikai modellt az NLME modell alapján (TOUTAIN ÉS MTSAI., 2021). A populációs farmakokinetikai modellre azért volt szükség, hogy a PK/PD_{CO} számításokba az összes adat beépíthetővé váljon (Cl , V_d , K_a), illetve azért, hogy a becsült adatok minél megbízhatóbbak legyenek.

A **florfenikol farmakokinetikai tulajdonságait ízületi folyadékban** eddig csak szarvasmarhák esetében vizsgálták intravénás regionális perfúziót és sc. beadást követően (GILLIAM ÉS MTSAI., 2008; JONES ÉS MTSAI., 2015). Jones és munkatársai (2015) leírása alapján 40 mg/kg dózisú, sc. beadást követően, szarvasmarhák esetében kisebb az ízületi folyadékban a florfenikol koncentrációja az azonos állatok vérplazmájában meghatározott értékekhez képest (JONES ÉS MTSAI., 2015). Hasonlóan szignifikáns értékeket kaptunk kutatásunkban, azaz a 15 és 30 mg/kg dózisú, im. beadást követően sertések ízületi folyadékában kisebb florfenikol-koncentrációkat határoztunk meg, mint az azonos állatok vérplazmájában. Ezt a C_{max} és $AUC_{0-\infty}$ ízületi folyadék/vérplazma arányok is alátámasztják. A 15 mg/kg adagolás során a florfenikol C_{max} értéke a vérplazmában $3,19 \pm 1,66 \mu\text{g/ml}$, illetve az ízületi folyadékban $2,41 \pm 1,32 \mu\text{g/ml}$ volt, míg a 30 mg/kg adagolás során ugyanezen értékek $8,15 \pm 3,11 \mu\text{g/ml}$ és $3,95 \pm 1,37 \mu\text{g/ml}$ voltak. Jones és munkatársai (2015) megállapítása szerint, szarvasmarhákban az ízületi folyadékban megjelenő kisebb florfenikol-koncentrációkat ellensúlyozza, hogy ezen a hatáshelyen hosszabb a hatóanyag felezési ideje, vagyis a hatóanyag eliminációja az ízületi folyadékból 38 órával hosszabb, illetve a florfenikol-koncentráció 72 órán keresztül $0,5 \mu\text{g/ml}$ felett marad, ami potenciális előny az ízületi patogén baktériumtörzsek kezelésében szarvasmarhákban (JONES ÉS MTSAI., 2015).

Vizsgálataink alapján sertésekben ezt a **különbséget az ízületi folyadék és a vérplazma között** csak a nagyobb dózisban (30 mg/kg, im.) történő alkalmazást követően figyeltük meg, ahol a $t_{1/2el}$ értéke a vérplazmában $18,74 \pm 10,16$ óra, míg az ízületi folyadékban $28,12 \pm 25,17$ óra volt. A különbségeknek több oka is lehet, egyik oldalról szarvasmarhákban a florfenikol engedélyezett dózisa nagyobb (40 mg/kg), mint sertésekben. Továbbá, az előbbi állatfaj esetében sc. beadási mód is engedélyezett, amelyre általánosságban jellemző, hogy a hatóanyagoknak hosszabb felszívódási időt biztosít, mint az im. beadás, ennek eredményeképpen az eliminációs felezési idők is hosszabbak lesznek, így tartósabb antibakteriális aktivitást biztosítva mind a vérplazmában, mind az ízületi folyadékban. A fenti eredmények is arra mutatnak, hogy sertésekben, sem az engedélyezett 15 mg/kg-os dózis esetén, sem a nagyobb, 30 mg/kg-os dózis esetén, nem feltételezhetjük az egyszeri im. alkalmazást követő kifejezett, több napon át tartó antibakteriális aktivitást. Ez még a hosszú hatástartamú készítmények esetén sem igaz. Ezek a feltételezések csak a kifejezetten érzékenyek számító baktériumfajok esetében érvényesek, amely azt jelenti, hogy a MIC-értékek nagy része $0,5 \mu\text{g/ml}$ vagy annál kisebb értéktartományban vannak.

Mindkét adagolási mód esetén összehasonlítottuk a nemrekeszes farmakokinetikai analízissel meghatározott eredményeinket a szakirodalomban fellelhető, eddig már leírt eredményekkel, értékelve, hogy egyes vizsgálatokban eltérő dózisoskat alkalmaztak. Sertés vonatkozásában csak a vérplazma farmakokinetikai paramétereit tudtuk figyelembe venni, és az alapján értékelni saját eredményeinket. A **15 mg/kg adagolás** esetén közel azonos C_{max} és t_{max} eredményeket kaptunk, mint Dorey és munkatársai (2017) által sertésekben im. beadást követően, 15 mg/kg dózisban ($C_{max} = 3,04 \pm 1,82 \mu\text{g/ml}$, $t_{max} = 1,94 \pm 0,87 \text{ h}$) (DOREY ÉS MTSAL., 2017). Az eltérő dózisoknak megfelelően eredményeink kisebbek voltak a Voorspoels és munkatársai (1999) által vizsgált 20 mg/kg, egyszeri im. beadást követően kapott farmakokinetikai paramétereknél ($C_{max} = 7,3 \pm 6,0 \mu\text{g/ml}$, $t_{max} = 2,3 \pm 1,2 \text{ h}$) (VOORSPOELS ÉS MTSAL., 1999). A 30 mg/kg dózisban történő im. alkalmazást követően mindkét kutatás eredményeinél nagyobb értékeket határoztunk meg. Lei és munkatársai (2018) által 30 mg/kg dózis im. alkalmazását követően kapott eredményei viszont jóval kisebbek voltak az általunk meghatározott eredményekhez képest, azonos dózisban történő beadást követően (LEI ÉS MTSAL., 2018). Saját kutatásomban a C_{max} értéke $8,15 \pm 3,11 \mu\text{g/ml}$ volt, míg Lei és munkatársainak (2018) kutatásában $4,44 \pm 1,02 \mu\text{g/ml}$ volt. Ebben az esetben a különbségeket az eltérő készítmények különböző segédanyagai okozzák, amelyek a Lei és munkatársai (2018) vizsgálatában elnyújtották a florfenikol felszívódását és eliminációját, ennek következtében a maximális plazmakoncentráció is kisebb értéket vett fel.

A jelen vizsgálatunkban alkalmazott készítmény (Nuflor injekció A.U.V., Intervet International B.V.) az EMA és az FDA által is engedélyezett. Ezzel ellentétben, Lei és munkatársainak (2018) leírása alapján, az általuk alkalmazott készítmény egy magisztrálisan elkészített és ezen szervek által nem engedélyezett készítmény lehet. Mivel azzal kapcsolatban, hogy a készítmények megfeleltethetők egymásnak, vagyis a Nuflornak generikuma a Lei és munkatársai (2018) által alkalmazott készítmény nem rendelkezünk információkkal, így Európai Unió viszonylatban a saját kutatásunk eredményeit tekinthetjük relevánsnak (LEI ÉS MTSAL., 2018).

A többi szakirodalmi eredmény és a saját vizsgálataink alapján arra következtethetünk, hogy a florfenikol esetében a **nagyobb dózis im. alkalmazása esetén sertésekben** az ízületi folyadékban is nagyobb florfenikol-koncentrációk alakulnak ki, amelyek hatékonyabb antibakteriális aktivitást eredményezhetnek a florfenikollal szemben érzékeny baktériumtörzsek esetében.

Továbbá meg kell jegyeznünk, hogy eredményeinket egészséges sertéseken végzett vizsgálatok során kaptuk, de több állatfaj (ló, kutya) és az ember esetében, illetve több hatóanyag (pl. robenacoxib, amoxicillin, ampicillin, kanamicin) esetében leírták már, hogy a szeptikus ízületgyulladások akut fázisában a hatóanyagok nagyobb koncentrációt képesek elérni az egészséges ízületekben mért értékekhez képest. A gyulladás akut fázisában megjelenő fehérvérsejtekből, a fertőzött területen nagy mennyiségű hisztamin, citokinek, prosztaglandinok, prosztaciklinek szabadulnak fel, amelyek következtében a terület vérellátottsága és a kapillárisok permeabilitása megnövekszik. Az ízületek esetében a fehérvérsejtek és a *S. suis* által termelt proteázok következtében sérül az ízületi tok barrier szerepe is. Emellett a gyulladásos fehérvérjék mennyisége is növekszik az ízületi folyadékban, amely a fehérjéhez kötött molekulák viselkedését befolyásolhatja. Mindezeknek következtében nagyobb mennyiségű gyógyszer képes bejutni, illetve felhalmozódni az ízületi folyadékban (ERRECALDE ÉS MTSAL., 2001; FIRTH ÉS MTSAL., 1988; SILBER ÉS MTSAL., 2010; THABIT ÉS MTSAL., 2019). Ebből következően feltételezhetjük, hogy a florfenikol is nagyobb koncentrációt ér el az ízületi folyadékban a szeptikus ízületgyulladások akut fázisában. Ahhoz, hogy erről teljes bizonyossággal meggyőződhesünk, érdemes lenne a jövőben mesterséges, kontrollált körülmények között szeptikus ízületgyulladás modellt kialakítani sertéseken.

A továbbiakban értelmezni kell azt is, hogy a florfenikolnak a többi antibakteriális szerhez hasonlóan **beadási módonként** eltérőek a farmakokinetikai tulajdonságai. Voorspoels és munkatársai (1999) nem csak az im. beadást követő florfenikol-koncentrációkat vizsgálták sertésekben, hanem a p.o. beadást követőt is, amelynek eredményeképpen azt kapták, hogy a p.o. beadás esetén szignifikánsan nagyobb a florfenikol AUC értéke sertés vérplazmában vizsgálva, mint az im. beadást követően (VOORSPOELS ÉS MTSAL., 1999).

Ez arra mutat rá, hogy a továbbiakban általunk populációs farmakokinetikai modell alkalmazásával meghatározott paraméterek szigorúan az adott beadási módra és dózusra vonatkoznak. Ebből következik, hogy az ezek alapján meghatározott PK/PD_{CO} értékeket is ennek tükrében kell értékelni és nem javasolt azt más beadási módok, illetve koncentrációk esetén alkalmazni a sertésegészségügyi gyakorlatban, sem más kutatások során (TOUTAIN ÉS MTSAL., 2017).

A viszonylag hosszú terminális felezési időt a **flip-flop farmakokinetika** magyarázhatná, amelyet szarvasmarhák esetében 40 mg/kg, sc. beadást követően Toutain és munkatársai (2019) leírták a vérplazmában (TOUTAIN ÉS MTSAL., 2019). Ezt sertések esetében im. beadást követően egyik adagolási módban (15 és 30 mg/kg) sem tudtuk bizonyítani, mivel végleges populációs modellként a log likelihood (-2LL) legalacsonyabb értékei, az Akaike információs kritérium (AIC) (YAMAOKA ÉS MTSAL., 1978), a grafikonok vizuális vizsgálata, a vizuális prediktív ellenőrzés (VPC) grafikonjai és a Phoenix modell-összehasonlító eszköze alapján az egyrekeszes modellt választottuk, mind a vérplazma, mind az ízületi folyadék esetében.

Vizsgálatainkban a populációs modellezésben megszokott módon, a Cl, V_d és K_{ab} paraméterezését végeztük el, mivel a célunk a 6000 (15 mg/kg) és 5000 (30 mg/kg) egyedet számláló célpopulációk létrehozása volt. Vizsgálatainkban **kovariáns hatások** feltárása során eltéréseket nem tapasztaltunk. Minden vizsgálatban az eltérő testtömegeket alkalmaztuk kovariáns hatásnak, de ezek nem erősítették az általunk fejlesztett modelleket, így ezek alkalmazását elhagytuk.

A **populációs farmakokinetikai** elemzések eredményeit összevetettük egy hasonló módszerrel végzett vizsgálattal, amelyben sertésben 20 és 30 mg/kg dózisban alkalmaztak florfenikol tartalmú készítményeket. Liu és munkatársainak (2018) leírásában nem találtunk információkat arra vonatkozólag, hogy pontosan milyen készítményeket alkalmaztak a különböző vizsgálatokban. Munkájuk során a florfenikol im. beadását követő koncentráció-idő összefüggések elemzésére is egyrekeszes populációs modellt állítottak fel. A látszólagos megoszlási térfogat értékük 3,52 l/kg volt (LIU ÉS MTSAL., 2018), míg a mi vizsgálatainkban 5,52 l/kg (15 mg/kg) és 4,0 l/kg (30 mg/kg) volt. A megoszlási térfogat értékek közötti különbségek nem jelentősek, saját eredményeink is arra mutatnak, hogy a florfenikol kiválóan megoszlzik a perifériás szövetekben, amelyet alátámaszt Yang és munkatársainak (2017) tanulmánya, amelyben a mikrodialízis technika alkalmazásával bizonyították, hogy a florfenikol sertésben 20 és 50 mg/kg dózis, im. egyszeri alkalmazását követően igen nagy koncentrációt képes elérni a légutakban, azon belül is a légutakat bélelő folyadék rétegben (YANG ÉS MTSAL., 2017).

Liu és munkatársainak (2018) populációs farmakokinetikai tanulmányában a clearance érték 0,237 (l/h)/kg (LIU ÉS MTSAL., 2018), míg a mi esetünkben mindkét adagolási módban 0,18 (l/h)/kg volt, jelezve a florfenikol lassú eliminációját. A K_{ab} érték vizsgálatukban 2,10 h⁻¹ (LIU ÉS MTSAL., 2018), míg a mi esetünkben 6,36 h⁻¹ (15 mg/kg) és 7,9 h⁻¹ (30 mg/kg) volt. A felszívódási sebesség állandók értékei alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az általunk vizsgált készítmények alkalmazását követően a florfenikol normál és növelt dózisban is gyorsan képes felszívódni a beadás helyéről. Ez magyarázatot ad arra is, hogy a kétrekeszes populációs farmakokinetika modell miért nem illeszkedik jól sertésben egyszeri im. alkalmazást követően a florfenikol esetében.

A populációs farmakokinetikai elemzések végső célja a florfenikol lehetséges **PK/PD_{CO}** értékének meghatározása volt 15 mg/kg és 30 mg/kg dózisban, egyszeri im. beadási módot követően, mivel ez a VetCAST által a klinikai határértékek (CBP) létrehozására vonatkozó döntéshozatali folyamat során figyelembe vett, kiemelt fontosságú paraméter. A PK/PD_{CO} a gyógyszer-expozíció és a hatékonyság közötti kapcsolat miatt betekintést nyújt a célpopulációk általános farmakokinetikai változékonyságába. Ezt a kapcsolatot a PK/PD indexek (AUC/MIC vagy %T>MIC) írják le, amelyeknek kritikus értékeket kell elérni a klinikai hatékonyság előrejelzéséhez. A megfelelő szintű előrejelzett választ biztosító PK/PD-index nagysága a PDT (EMA, 2015).

A **Monte Carlo szimulációk** alkalmazásával létrehozott 6000 (15 mg/kg) és 5000 (30 mg/kg) görbe alapján a 15 mg/kg dózisban, egyszeri im. beadást követően, mind a %T>MIC, mind az AUC_{24h}/MIC, illetve a C_{avg24h}/MIC arány esetén is 1 µg/ml PK/PD_{CO} értéket határoztunk meg a vérplazmára nézve, míg az ízületi folyadékokra nézve 0,5 µg/ml-t. Ugyanezen eredmények a 30 mg/kg dózisban, egyszeri im. beadást követően a vérplazmában 2 µg/ml, míg az ízületi folyadékban 1 µg/ml voltak. Egy hasonló tanulmányban Lei és munkatársai (LEI ÉS MTSAL., 2018) florfenikol esetében sertésekben 30 mg/kg dózisban, im. egyszeri alkalmazást követően 1 µg/ml értéket vezettek le. Ahogyan az korábban részletezésre került, a farmakokinetikai paraméterek összehasonlításánál, az ebben a tanulmányban alkalmazott készítményt nem volt módunkban megegyeztetni az Európában eredeti készítménynek számító Nuflorral. Emellett Lei és munkatársai (2018) által levezetett tanulmányban a farmakodinámiai célértékek is eltérőek voltak a mi eredményeinkhez képest. A mi vizsgálatainkban a bakteriosztatikus hatás eléréséhez 22 h (sertés vérplazma és ízületi folyadék), a baktericid hatás eléréséhez pedig 76 h (sertés ízületi folyadék) és 86 h (sertés vérplazma) AUC_{24h}/MIC értékeket határoztunk meg, míg Lei és munkatársai (2018) a bakteriosztatikus hatás esetén 38 h, míg a baktericid hatás esetén 44 h sertés szérumban (LEI ÉS MTSAL., 2018).

A fenti különbségek háttérében az eltérő közegek, illetve a vizsgálatokban alkalmazott különböző *S. suis* izolátumok állhatnak. A florfenikolt bakteriosztatikus antibakteriális szernek sorolták be. Ezért azt feltételezhetjük, hogy a $\%T > MIC$ elv alkalmazásával megbecsülhetjük az esélyét a florfenikollal szemben rezisztens baktériumtörzsek megjelenésének a terápia során. Azonban, ahogy azt Dudley és Ambrose (2000) is leírták, ezen antibakteriális terápia alkalmazása során kettős célt kell értékelnünk egyetlen határérték alapján, vagyis el kell érni a klinikai hatékonyságot, és csökkenteni kell a rezisztens baktériumtörzsek szelekciójának esélyét. Viszont figyelembe kell venni, hogy az ilyen típusú kettős értékelés ($\%T > MIC$, AUC_{24h}/MIC) zavart okozhat (DUDLEY – AMBROSE, 2000). Ennek ellenére vizsgálatainkban kiszámítottuk a **$\%T > MIC$ -re** vonatkozó PK/PD_{CO} értékeket, feltételezve, hogy a 15 és 30 mg/kg-os adagolások a sertések 90%-ánál a kezelés időtartamának ~40-50%-ában MIC-érték feletti florfenikol-koncentrációt biztosítanak a vérplazmában és ízületi folyadékban, majd értékeltük az **AUC_{24h}/MIC** és **C_{avg24h}/MIC** arányok eredményeit is. Ahogy azt fentebb leírtuk, mindhárom PK/PD index esetén megegyeztek a PK/PD_{CO} eredményeink a 15 és 30 mg/kg esetében a vérplazmában és ízületi folyadékban is. Ebben az adatelemzés során a PK/PD_{CO} kiszámításához 90% vagy a feletti PTA értéket használtunk, amely egy olyan percentilis értéket jelent, amelyet rutinszerűn használnak a PTA-elemzéshez (TURNIDGE – PATERSON, 2007). Meg kell jegyezni, hogy a 90%-os percentilis az előrejelzési intervallum fogalmához kapcsolódik, és nem a konfidenciaintervallum fogalmához. Továbbá a VetCAST által alkalmazott PK/PD_{CO} nem megegyeztethető az EUCAST PK/PD határértékeivel, mivel az utóbbi a klinikai adatokat is figyelembe veszi (MOUTON ÉS MTSAI., 2012).

A 15 és 30 mg/kg adagolást követő **PK/PD_{CO} értékek különbségeit** feltételezhetően az eltérő dózisok okozzák. Ahogy azt fentebb leírtam a két készítmény egymásnak megfeleltethető, mivel a Nuflor az eredeti készítmény, amelynek a Floron a generikums származéka. A populációs modellek felállítása során vizsgáltuk az állatok testtömegének befolyásoló hatását, de egyik modellt sem erősítette ezeknek az adatoknak az alkalmazása. Ebből következően ezen vizsgálatok alapján nem mondható ki, hogy a sertések testtömege befolyásolja a florfenikol farmakokinetikai paramétereit. A normál dózis alkalmazása során anesztéziát alkalmaztunk, de ennek befolyásoló tényezői kizárhatóak, ahogy azt Wang és munkatársai (2018) tanulmányukban leírták.

Ahogy az Anyagok és módszerek fejezetben tárgyaltuk, vizsgálatunkban nem vettük figyelembe a **florfenikol plazmafehérjékhez való kötődését**. A florfenikol kötődése a plazmafehérjékhez több állatfaj esetében is kérdéses és a különböző tanulmányok eltérő értékekről számolnak be. Szarvasmarhák esetében több tanulmány összefogó értékeléseként Toutain és munkatársai (2019) azt a következtetést tartották helyénvalónak, hogy figyelmen kívül hagyják Mzyk és munkatársainak (2018), illetve Foster és munkatársainak (2016) eredményei alapján (FOSTER ÉS MTSAI., 2016; MZYK ÉS MTSAI., 2018; TOUTAIN ÉS MTSAI., 2019). Továbbá Toutain és munkatársainak (2019) megállapítása szerint ez a megközelítés megkönnyíti a választott PK/PD-indexek (azaz az AUC/MIC és a mi vizsgálatunkban %T>MIC) eseteiben a kiszámított PK/PD_{CO} esetleges jövőbeli újra számítását, mivel a florfenikol kötődésének mértéke a plazmafehérjékhez egy egyszerű újra számítást igényel (TOUTAIN ÉS MTSAI., 2019). Ugyanezen következtetéseket alkalmaztuk sertés esetében Lei és munkatársainak (2018) vizsgálata alapján. Jelenleg tudomásunk szerint az antibakteriális szerek plazmafehérjékhez való kötődésének változékonyságát (BSV) nem veszik figyelembe az állatgyógyászatban a Monte Carlo szimulációkban a PTA kiszámítására alkalmazott modellekben. Abban az esetben, ha a hatóanyag plazmafehérjékhez való kötődését figyelembe veszik, akkor az átlagértéket fogadják el és azokkal végzik el a számításokat. Toutain és munkatársainak (2019) megállapítását a szarvasmarhákra vonatkozóan meg kell erősíteni a sertések esetében is, ami azt jelenti, hogy ha bármelyik fajban a fehérjekötődésre nézve széles BSV értéket állapítanak meg a florfenikolra vonatkozóan, akkor nemcsak az eredményeket kellene újra számítani, hanem a populációs modelleket is újra kellene futtatni, hogy ezt a változékonysági forrást is figyelembe vegyünk. Vagyis Toutain és munkatársaihoz (2019) hasonlóan, amit PK/PD_{CO} értékeként meghatároztunk ebben a tanulmányban, az úgymond a legegyszerűbb hipotézisnek számít, vagyis a florfenikol nem kötődik a plazmafehérjékhez, így nem rendelkezik változékonysági tényezővel.

6.2 Enrofloxacin

Az **enrofloxacint**, mint széles spektrumú antibakteriális szert, szarvasmarhában és sertésben parenterálisan és szájon át, továbbá baromfifajok és házi nyúl esetében csak szájon át alkalmazzák antibakteriális terápiára (BABAHMADY – KHOSRAVI, 2011; FOSTER ÉS MTSAI., 2016; MESSENGER ÉS MTSAI., 2012; VANCUTSEM ÉS MTSAI., 1990). Vizsgálatunk célja az enrofloxacin sertésben történő alkalmazásának értékelése volt a PK/PD integráció felhasználásával **S. suis okozta ízületgyulladás** esetén, hasonlóan a florfenikollal végzett populációs farmakokinetikai vizsgálatokhoz. Az enrofloxacint csak az engedélyezett 7,5 mg/kg-os dózisban, egyszeri sc. beadást követően vizsgáltuk sertés vérplazmában és ízületi folyadékban. Ezekben a vizsgálatokban elsőként írtuk le az enrofloxacin koncentrációjának változását sertés ízületi folyadékban direkt mintavételeket követően, illetve ezen adatok alapján elsőként illesztettünk egyrekeszes populációs farmakokinetikai modellt ezen adatokra az NLME modell alapján (TOUTAIN ÉS MTSAI., 2021). A populációs farmakokinetikai modellre azért volt szükségünk, hogy a PK/PD_{CO} számításba az összes adat beépíthetővé váljon (Cl, V_d, K_a), illetve azért, hogy a becsült adatok minél megbízhatóbbak legyenek, hasonlóan a florfenikol két dózisának vizsgálatához.

Az enrofloxacin **farmakokinetikai paramétereit** ízületi folyadékban eddig csak lovak esetében vizsgálták intravénás regionális perfúziót és szájon át egyszeri, illetve többszöri beadást követően (GIGUÈRE ÉS MTSAI., 1996; PARRA-SANCHEZ ÉS MTSAI., 2006). Emellett a ciprofloxacin, levofloxacin és moxifloxacin megoszlásáról vannak adatok a csontszövetben és ízületi folyadékban (THABIT ÉS MTSAI., 2019). Minden vizsgálat egyértelműen arra mutat, hogy a fluorokinolonok, így az enrofloxacin is nagyobb koncentrációt képesek elérni a perifériás szövetekben, így az ízületi folyadékban is a vérplazma enrofloxacin koncentrációjával összehasonlítva, amelynek háttérében feltételezhetően az enrofloxacin lipofil tulajdonsága áll (DAVIS ÉS MTSAI., 2007; GIGUÈRE ÉS MTSAI., 1996; MESSENGER ÉS MTSAI., 2012; PARRA-SANCHEZ ÉS MTSAI., 2006). Az enrofloxacin a fluorokinolonok közül a leglipofilabb (ASHBY ÉS MTSAI., 1986), a metabolitjához, vagyis a ciprofloxacinhoz képest is lipofilabb vegyület (BIDGOOD – PAPICH, 2005).

Vizsgálatunkban az **ízületi folyadékban** mért AUC_{0-∞} és a vérplazmában mért AUC_{0-∞} értékeinek hányadosa a két hatáshely közötti szignifikáns eltéréseken alapszik, amelyet a C_{max} eltérései alapján nem tudtunk igazolni. Az ízületi folyadékban meghatározott AUC_{0-∞} értéke nagyobb volt, mint a vérplazmában. Az AUC_{0-∞} értékek hányadosa (ízületi folyadék/vérplazma) 1,15 ± 0,32 volt.

A **szöveti folyadék gyógyszerkoncentrációja** az antibakteriális szerek mikrobiológiailag aktív frakcióját jelenti, mivel ezen folyadékterekbe csak a fehérjékhez nem kötött hatóanyag frakciók jutnak be. Az ezen folyadékterekből nyert minták vizsgálata eltér a más módszerekkel történő szövetminták vizsgálatától például, amelyekben az állatok eutanáziáját követően teljes szöveti homogenátumokat gyűjtenek, mivel ezen homogenátumok túlbecsülhetik a lipofil hatóanyagok koncentrációját a homogenizálás során keletkező intracelluláris folyadék és vér keveredése miatt. Elméletileg, a plazmában a fehérjéhez nem kötött gyógyszerkoncentrációnak egyensúlyban kell lennie a szövetben lévő, nem kötött gyógyszerkoncentrációval. Bár ahogy azt Messenger és munkatársai (2012) is bemutatják vizsgálatukban, illetve amelyet mi is alátámasztunk, az enrofloxacin szövetekben mért koncentrációja nagymértékben meghaladja a vérplazmában mérhető koncentrációt (MESSENGER ÉS MTSAI., 2012). Az enrofloxacin kötődését a plazmafehérjékhez sertésben már többen leírták és közel azonos eredményeket kaptak (30-35%) (MESSENGER ÉS MTSAI., 2012; NOUWS ÉS MTSAI., 1988; VILLA ÉS MTSAI., 1997; YANG ÉS MTSAI., 2022). Ennek megfelelően, Messenger és munkatársainak (2012) eredményeihez hasonlóan, az AUC-arányok alapján megállapítható, hogy nagymértékben meghaladja az ízületi folyadék koncentrációja a vérplazmában mért enrofloxacin-koncentrációkat. Ahogyan az Anyagok és módszerek fejezetben részletezésre került, az enrofloxacin plazmafehérjékhez való kötődését nem vettük figyelembe, mivel a perifériás szövetekben nagyobb az enrofloxacin koncentrációja, mint a vérplazmában (MESSENGER ÉS MTSAI., 2012), amelyet a fentebb leírtak alapján mi is bizonyítottunk sertés ízületi folyadék és sertés vérplazma eredményei alapján. Továbbá, a florfenikolnál tárgyaltakhoz hasonlóan az enrofloxacin esetében is feltételezhetjük, hogy az ízületgyulladás akut fázisában nagyobb lesz az ízületi folyadék fehérje tartalma, így az enrofloxacin koncentrációja is.

Messenger és munkatársai (2012) a kutatásomhoz hasonlóan vizsgálták sertésben a 7,5 mg/kg-os, egyszeri sc. beadást követően az enrofloxacin farmakokinetikai tulajdonságait. A két vizsgálat eredményeit összevetve a megoszlási térfogatban találtunk jelentősnek mondható eltérést, mivel a mi esetünkben ez az érték a nemrekeszes farmakokinetikai analízissel $3,78 \pm 0,68$ l/kg, míg az egyrekeszes populációs farmakokinetikai modellel $3,48 \pm 0,31$ l/kg volt. Ezzel szemben Messenger és munkatársai (2012) $6,4 \pm 1,2$ l/kg értéket határoztak meg. A különbségek háttérében feltehetően az áll, hogy utóbbi kutatásban fiatalabb 4 hetes választott malacokat alkalmaztak (MESSENGER ÉS MTSAI., 2012), míg mi 10 hetes malacokat vizsgáltunk. Bár ez ellentmondásos, mivel a lipid-oldékony vegyületek megoszlási térfogata az életkorral párhuzamosan általában nő. A jövőben érdemes lenne a két kutatás eredményei alapján meghatározni a malacok testtömegének, valamint életkorának befolyásoló hatásait az enrofloxacin **látszólagos megoszlási térfogatával** összefüggésben.

Továbbá kiszámítani a V_d értéknek a BSV-jét, amely alapján javaslatot lehet tenni kiegészítő vizsgálatokra vagy el lehet fogadni az életkor és testtömeg befolyásoló hatásait és a további PK/PD_{CO} számításokban ezt figyelembe venni és a populációs modellekbe beépíteni.

A látszólagos megoszlási térfogat mellett a **C_{max} értékben** tapasztaltunk a két vizsgálat összevetése során eltérést. Messenger és munkatársai (2012) $1,1 \pm 0,28$ µg/ml értéket határoztak meg (MESSENGER ÉS MTSAL., 2012), míg mi $2,43 \pm 0,9$ µg/ml-t sertés vérplazmában. Ezzel szemben a t_{max} értékek közel azonosak voltak, mindkét esetben, 4-5 óra között érte el az enrofloxacin a maximális koncentrációját sertés vérplazmában. A t_{max} értékhez hasonlóan a clearance is közel azonos volt ($0,18 \pm 0,07$ (l/h)/kg) a mi kutatásunk nemrekeszes analízisének eredményeivel ($0,19 \pm 0,024$ (l/h)/kg), illetve az egyrekeszes populációs farmakokinetikai modell alapján számított tipikus értékkel ($0,19 \pm 0,01$ (l/h)/kg).

Mind a nemrekeszes analízis során, mind az egyrekeszes populációs farmakokinetikai modell alapján ~12-13 órás **felezési időt** határoztunk meg az enrofloxacin esetében. Ez az érték hozzávetőleg a fele a Messenger és munkatársai (2012) által meghatározott ~26 órának (MESSENGER ÉS MTSAL., 2012). Ezek az eredmények a látszólagos megoszlási térfogat mellett, megint csak arra mutatnak rá, hogy a különböző korú sertésekben feltételezhetően eltérő az enrofloxacin farmakokinetikája. Más kutatásokban, ahol az enrofloxacin farmakokinetikai paramétereit 2,5 mg/kg dózisban, egyszeri im. beadást követően vizsgálták eliminációs felezési időnek ~5-7 órát határoztak meg (HAO ÉS MTSAL., 2013; WANG ÉS MTSAL., 2016; YANG ÉS MTSAL., 2022). Wang és munkatársainak (2016) tanulmányában az általunk alkalmazott Baytril Max (Baytril Max oldatos injekció szarvasmarháknek és sertéseknek A.U.V., Bayer Animal Health GmbH, 51368 Leverkusen, Németország) készítménynek egy másik formuláját alkalmazták, amelyben az enrofloxacin koncentrációja 50 mg/ml, ez fele akkora koncentráció, mint a Baytril Max 100 mg/ml-es koncentrációja. Ez azért kerül kihangsúlyozásra, mert a 3 tanulmány közül csak ebben az esetben alkalmaztak állatgyógyászati célra már engedélyezett készítményt. Összeségében látható, hogy a kisebb dózisban im. alkalmazott enrofloxacin eliminációs felezési ideje rövidebb, mint a sc. nagyobb dózisban alkalmazott enrofloxaciné. Ennek magyarázata a nagyobb dózisban, sc. beadási móddal engedélyezett készítmények eltérő formulája és nagyobb enrofloxacin koncentrációja, illetve általánosságban az sc. beadási mód elnyújtottabb hatást eredményez, mint az im. beadási mód.

Ahogy azt az Irodalmi összefoglalóban részletezésre került, sertésben az enrofloxacin ciprofloxacinná történő átalakulása a **metabolizáció** során igen kismértékű és antibakteriális aktivitása ezen koncentráció tartományokban nem jelentős, sem a Gram-negatív, sem a Gram-pozitív baktériumokkal szemben. Jelen kutatásban, az eddigi vizsgálatokhoz hasonlóan mi is ezt támasztottuk alá (HAO ÉS MTSAI., 2013; MESSIAS ÉS MTSAI., 2008; NIELSEN – GYRD-HANSEN, 1997; POST ÉS MTSAI., 2003; WANG ÉS MTSAI., 2016; WIUFF ÉS MTSAI., 2002; YANG ÉS MTSAI., 2022).

A **Monte Carlo szimulációk** alkalmazásával létrehozott 5000 koncentráció-idő görbe alapján a 7,5 mg/kg dózisban, egyszeri sc. beadást követően az $AUC_{0-\infty}/MIC$ esetén is 0,5 µg/ml PK/PD_{CO} értéket határoztunk meg a sertés vérplazmára, illetve sertés ízületi folyadékra nézve a *S. suis* baktériumtörzsek lehetséges MIC-értékei (0,03-8 µg/ml) alapján, >50 h PDT érték és ≥90% PTA érték esetén. Ezen eredményünk megegyezik a CLSI által elfogadott klinikai határértékekkel (CBP) *S. suis* okozta megbetegedések esetén, illetve Messenger és munkatársainak (MESSENGER ÉS MTSAI., 2012) PKPD_{CO} eredményeivel, amelyben ezen értékeket a szövetekben ultrafiltrációval mért enrofloxacin-koncentrációkra alapozták.

6.3 Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok

A 100 db *S. suis* izolátum florfenikol és enrofloxacin MIC-értékei a **33. táblázatban** láthatók. Egy 2009 és 2012 közötti, nagy mintaszámú európai felmérés alapján a sertésekből izolált *S. suis* baktériumtörzsek közül egy sem számított rezisztensnek florfenikollal szemben a CLSI (CLSI, 2020) által meghatározott klinikai határértékek (≤ 2 , 4, ≥ 8 $\mu\text{g/ml}$) alapján, illetve egy *S. suis* törzs minősült mérsékelten érzékenynek, míg az összes többi törzs érzékenynek. Ezzel szemben enrofloxacinnal szemben egy törzset rezisztensnek, míg 5 törzset mérsékelten érzékenynek ítélték a CLSI (CLSI, 2020) határértékei ($\leq 0,5$; 1, ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$) alapján (EL GARCH ÉS MTSAL., 2016). Emellett egy 2009-ben készült tanulmányban hasonló érzékenységi eredményeket írtak le *S. suis* és florfenikol, illetve enrofloxacin vonatkozásában egy olyan tanulmányban, amely 7 európai ország összefogó vizsgálatát írta le (WISSELINK ÉS MTSAL., 2006). Míg 2013 és 2015 között Hollandiában végzett felmérésben már írtak le florfenikollal szemben rezisztens *S. suis* törzseket. Ebben az esetben a vizsgált törzsek 0,1%-a volt rezisztens florfenikollal szemben, amelyet még mindig kismértékűnek jelentettek a szerzők. Enrofloxacinnal szemben pedig a vizsgált törzsek 0,6%-át írták le rezisztensnek ugyanebben a tanulmányban (van Hout et al., 2016). Egy 2016 és 2020 között készült tanulmányban az USA-ban és Kanadában a vizsgált *S. suis* izolátumok 0,5-2%-át jelentették rezisztensnek florfenikollal szemben, míg enrofloxacinnal szemben a törzsek 1-3%-át (SWEENEY, 2022). Ezzel szemben a kutatásomban a CLSI határértékei (CLSI, 2020) alapján az izolátumok 60%-a érzékenynek, 23%-a mérsékelten érzékenynek és 17%-a rezisztensnek minősült florfenikollal szemben (≤ 2 , 4, ≥ 8 $\mu\text{g/ml}$), illetve az izolátumok 66%-a érzékenynek, 18%-a mérsékelten érzékenynek és 16%-a rezisztensnek minősült enrofloxacinnal szemben ($\leq 0,5$; 1, ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$). Az **európai adatokkal** összevetve a MIC₅₀ értékek megegyezettek (2 $\mu\text{g/ml}$), míg a MIC₉₀ érték a vizsgálatunkban nagyobb (8 $\mu\text{g/ml}$ vs. 2 $\mu\text{g/ml}$) a florfenikol esetében. Az enrofloxacin esetében a MIC₅₀ értéke 0,5 $\mu\text{g/ml}$, míg a MIC₉₀ értéke 2 $\mu\text{g/ml}$ volt a mi kutatásunkban, ez alapján a MIC₅₀ értékek megegyeznek, míg a MIC₉₀ érték ebben az esetben is nagyobb a mi vizsgálatunkban (2 $\mu\text{g/ml}$ vs. 0,5 $\mu\text{g/ml}$) (EL GARCH ÉS MTSAL., 2016).

Nyugat-Európa egyes országaiban, mint Németország, Dánia, Hollandia, az antibiotikum felhasználás állategészségügyi visszaszorítása jóval korábban kezdetét vette, mint az Európai Unió által kiadott ez irányú rendeletek megjelenése (2001/82/EC). Ennek következtében ezekben az országokban az antibiotikumok felhasználása jelentősen csökkent, amellyel összefüggésben az antibiotikumokkal szemben rezisztens baktériumtörzsek előfordulása is. Magyarországon az antibiotikum felhasználás napjainkban is nagymértékűt ölt, amelyet az EMA 2022-ben kiadott jelentése is alátámaszt, mivel Magyarország az Európai Unió országok közül az ötödik legnagyobb antibiotikum felhasználó ország az állategészségügyet tekintve (EMA, 2022).

Ezen tényezőket tovább súlyosbítja, hogy Magyarországon az állategészségügyben felhasznált antibakteriális szereknek jóval nagyobb hányadát teszik ki a humánegészségügy szempontjából fontos antibiotikumok, úgymint a 3. és 4. generációs cefalosporinok, fluorokinolonok, kinolonok és polimixinek (EMA, 2022).

Az általunk meghatározott **PK/PD_{CO} értékeke** alapján, a florfenikol 15 mg/kg-os dózisban, egyszeri im. beadását követően sertés vérplazmára ($\leq 1 \mu\text{g/ml}$) vonatkoztatva (*S. suis* okozta septicémia esetén) az általunk vizsgált *S. suis* izolátumok 36%-a tekinthető érzékenynek, míg ugyanebben az adagolási rendben sertés ízületi folyadékra ($\leq 0,5 \mu\text{g/ml}$) vonatkoztatva (*S. suis* okozta ízületgyulladás esetén) az izolátumok 23%-a tekinthető érzékenynek. A 30 mg/kg-os dózis esetén sertés vérplazmára ($\leq 2 \mu\text{g/ml}$) vonatkoztatva (*S. suis* okozta septicémia esetén) az izolátumok 60%-a tekinthető érzékenynek a CLSI határértékek alapján meghatározott arányokkal megegyező módon, míg a sertés ízületi folyadékra ($\leq 1 \mu\text{g/ml}$) vonatkoztatva (*S. suis* okozta ízületgyulladás esetén) csak az izolátumok 36%-a tekinthető érzékenynek. Az enrofloxacin esetében az általunk meghatározott PK/PD_{CO} értékek esetén (sertés vérplazma és sertés ízületi folyadék = $0,5 \mu\text{g/ml}$) a CLSI határértékekkel megegyező arányt kapunk az érzékenynek tekinthető *S. suis* izolátumokra nézve (66%) (CLSI, 2020).

Egy friss tanulmányban felhívják a figyelmet, hogy Kínában már **multirezisztens *S. suis* törzseket** is izoláltak, illetve a biofilmtermelő képességüket is igazolták. Ugyanebben a tanulmányban leírták, hogy a multirezisztens *S. suis* törzsek többsége florfenikollal és/vagy enrofloxacinnal szemben is rezisztens (DONG ÉS MTSAI., 2023). Ezen tanulmányok is felhívják a figyelmet az antibakteriális szerek körültekintő alkalmazására, mivel beláthatjuk, hogy egyre gyakrabban jelennek meg, olyan baktériumtörzsek között is antibiotikumokkal szemben rezisztens izolátumok, amelyekre korábban nem vagy csak igen kis eséllyel számítottunk.

7. Új tudományos eredmények

1. Nemzetközi és hazai viszonylatban is elsőként vizsgáltuk a florfenikol engedélyezett, 15 mg/kg-os dózisban, im. beadást követő farmakokinetikai paramétereit sertés ízületi folyadékban.
2. Nemzetközi és hazai viszonylatban is elsőként vizsgáltuk a florfenikol nagyobb, 30 mg/kg-os dózisban, im. beadást követő farmakokinetikai paramétereit sertés ízületi folyadékban.
3. Nemzetközi és hazai viszonylatban is elsőként vizsgáltuk az enrofloxacin engedélyezett, 7,5 mg/kg-os dózisban, sc. beadást követő farmakokinetikai paramétereit sertés ízületi folyadékban.
4. Nemzetközi viszonylatban elsőként határoztuk meg a florfenikol farmakodinámiai célértékét sertés ízületi folyadékban.
5. Elsőként határoztunk meg farmakokinetikai/farmakodinámiai határértéket a florfenikol engedélyezett adagolási rendjében *S. suis* okozta ízületgyulladás esetében.
6. Elsőként határoztunk meg farmakokinetikai/farmakodinámiai határértéket a florfenikol nagyobb adagolási rendjében *S. suis* okozta ízületgyulladás esetében.
7. Elsőként határoztunk meg farmakokinetikai/farmakodinámiai határértéket az enrofloxacin engedélyezett adagolási rendjében *S. suis* okozta ízületgyulladás esetében.
8. Összesen 100 db hazai, klinikai mintából kitenyésztett, *S. suis* izolátum MIC-értékét határoztuk meg florfenikollal és enrofloxaccinnal szemben.

8. Irodalom

2001/82/EC: Directive 2001/82/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to veterinary medicinal products 311, OJ L, (2001) <http://data.europa.eu/eli/dir/2001/82/oj/eng> [2023. 04. 17.]

ABD EL-ATY A. M. – GOUDAH A. – ABO EL-SOUD K. – EL-ZORBA H. Y. – SHIMODA M. – ZHOU H. H. (2004a): Pharmacokinetics and Bioavailability of Florfenicol Following Intravenous, Intramuscular and Oral Administrations in Rabbits. *Veterinary Research Communications*, XXVIII, 6. szám. 515–524. doi: 10.1023/B:VERC.0000040241.06642.49

ALI B. H. – AL-QARAWI A. A. – HASHAAD M. (2003): Comparative plasma pharmacokinetics and tolerance of florfenicol following intramuscular and intravenous administration to camels, sheep and goats. *Veterinary Research Communications*, XXVII, 6. szám. 475–483. doi: 10.1023/a:1025741724701

ALVAREZ Ana I. – PÉREZ Miriam – PRIETO Julio G. – MOLINA Antonio J. – REAL Rebeca – MERINO Gracia (2008): Fluoroquinolone Efflux Mediated by ABC Transporters. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, XCVII, 9. szám. 3483–3493. doi: 10.1002/jps.21233

ANADÓN A. – MARTÍNEZ-LARRAÑAGA M. R. – DÍAZ M. J. – FERNÁNDEZ-CRUZ M. L. – MARTÍNEZ M. A. – FREJO M. T. – ... TAFUR M. (1999): Pharmacokinetic variables and tissue residues of enrofloxacin and ciprofloxacin in healthy pigs. *American Journal of Veterinary Research*, LX, 11. szám. 1377–1382.

ANADÓN Arturo – MARTÍNEZ María Aranzazu – MARTÍNEZ Marta – RÍOS Alba – CABALLERO Virginia – ARES Irma – MARTÍNEZ-LARRAÑAGA María Rosa (2008a): Plasma and Tissue Depletion of Florfenicol and Florfenicol-amine in Chickens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, LVI, 22. szám. 11049–11056. doi: 10.1021/jf802138y

ARAL Faruk – KARAÇAL Füsün – BABA Füsün (2008): The effect of enrofloxacin on sperm quality in male mice. *Research in Veterinary Science*, LXXXIV, 1. szám. 95–99. doi: 10.1016/j.rvsc.2007.04.007

ASHBY J. – PIDDOCK L. J. V. – WISE R. (1986): An investigation of the hydrophobicity of the quinolones. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, XVI, 6. szám. 805–808. doi: 10.1093/jac/16.6.805-a

ATEF M. – EL-GENDI A. Y. – AZIZA M. M. – ABD EL-ATY A. M. (2000): Pharmacokinetic properties of florfenicol in Egyptian goats. *DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift*, CVII, 4. szám. 147–150.

BABAAHMADY Ebrahim – KHOSRAVI Afra (2011): Toxicology of baytril (enrofloxacin). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, V, 18. szám. 2042–2045. doi: 10.5897/AJPP11.644

BALCOMB Christie C. – ANGELOS John A. – CHIGERWE Munashe – BYRNE Barbara A. – LANE V. Michael – WETZLICH Scott E. – ... TELL Lisa A. (2018): Comparative pharmacokinetics of two florfenicol formulations following intramuscular and subcutaneous administration to sheep. *American Journal of Veterinary Research*, LXXIX, 1. szám. 107–114. doi: 10.2460/ajvr.79.1.107

BERTHELOT-HÉRAULT Florence – GOTTSCHALK Marcelo – LABBÉ Annie – CARIOLET Roland – KOBISCH Marylène (2001): Experimental airborne transmission of *Streptococcus suis* capsular type 2 in pigs. *Veterinary Microbiology*, LXXXII, 1. szám. 69–80. doi: 10.1016/S0378-1135(01)00376-5

BIDGOOD T. L. – PAPICH M. G. (2005): Plasma and interstitial fluid pharmacokinetics of enrofloxacin, its metabolite ciprofloxacin, and marbofloxacin after oral administration and a constant rate intravenous infusion in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXVIII, 4. szám. 329–341. doi: 10.1111/j.1365-2885.2005.00664.x

BLONDEAU Joseph M. (2004): Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Survey of Ophthalmology*, XLIX, 2, Supplement 2. szám. S73–S78. doi: 10.1016/j.survophthal.2004.01.005

BREGANTE M. A. – SAEZ P. – ARAMAYONA J. J. – FRAILE L. – GARCIA M. A. – SOLANS C. (1999): Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin in mice, rats, rabbits, sheep, and cows. *American Journal of Veterinary Research*, LX, 9. szám. 1111–1116.

BRETZLAFF K. N. – NEFF-DAVIS C. A. – OTT R. S. – KORITZ G. D. – GUSTAFSSON B. K. – DAVIS L. E. (1987): Florfenicol in non-lactating dairy cows: pharmacokinetics, binding to plasma proteins, and effects on phagocytosis by blood neutrophils. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, X, 3. szám. 233–240. doi: 10.1111/j.1365-2885.1987.tb00534.x

- BURGESS D. S. – FREI C. R. – LEWIS J. S. – FIEBELKORN K. R. – JORGENSEN J. H. (2007): The contribution of pharmacokinetic–pharmacodynamic modelling with Monte Carlo simulation to the development of susceptibility breakpoints for *Neisseria meningitidis*. *Clinical Microbiology and Infection*, XIII, 1. szám. 33–39. doi: 10.1111/j.1469-0691.2006.01617.x
- CLIFTON-HADLEY F. A. (1984): Studies of *Streptococcus suis* type 2 infection in pigs. *Veterinary Research Communications*, VIII, 1. szám. 217–227. doi: 10.1007/BF02214715
- CLOECKAERT Axel – BAUCHERON Sylvie – FLAUJAC Geraldine – SCHWARZ Stefan – KEHRENBURG Corinna – MARTEL Jean-Louis – CHASLUS-DANCLA Elisabeth (2000): Plasmid-Mediated Florfenicol Resistance Encoded by the *floR* Gene in *Escherichia coli* Isolated from Cattle. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, XLIV, 10. szám. 2858–2860. doi: 10.1128/AAC.44.10.2858-2860.2000
- CLOUTIER G. – D’ALLAIRE S. – MARTINEZ G. – SURPRENANT C. – LACOUTURE S. – GOTTSCHALK M. (2003): Epidemiology of *Streptococcus suis* serotype 5 infection in a pig herd with and without clinical disease. *Veterinary Microbiology*, XCVII, 1. szám. 135–151. doi: 10.1016/j.vetmic.2003.09.018
- CLSI (2020): *Performance Standards for Antimicrobial Disk Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals*. Clinical and Laboratory Standards Institute,
- COOK Anthony L. – ST CLAIRE Marisa – SAMS Richard (2004): Use of florfenicol in non-human primates. *Journal of Medical Primatology*, XXXIII, 3. szám. 127–133. doi: 10.1111/j.1600-0684.2004.00063.x
- DAVIS J. L. – FOSTER D. M. – PAPICH M. G. (2007): Pharmacokinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its active metabolite ciprofloxacin in calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXX, 6. szám. 564–571. doi: 10.1111/j.1365-2885.2007.00914.x
- DE CRAENE B. A. – DEPREZ P. – D’HAESE E. – NELIS H. J. – VAN DEN BOSSCHE W. – DE LEENHEER P. (1997): Pharmacokinetics of florfenicol in cerebrospinal fluid and plasma of calves. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, XLI, 9. szám. 1991–1995. doi: 10.1128/AAC.41.9.1991
- DE SMET Joren – BOYEN Filip – CROUBELS Siska – RASSCHAERT Geertrui – HAESEBROUCK Freddy – TEMMERMAN Robin – ... DEVREESE Mathias (2020): The impact of therapeutic-dose induced intestinal enrofloxacin concentrations in healthy pigs on fecal *Escherichia coli* populations. *BMC Veterinary Research*, XVI, 1. szám. 382. doi: 10.1186/s12917-020-02608-9
- DEVRIESE L. A. – CEYSSENS K. – HOMMEZ J. – KILPPER-BÄLZ R. – SCHLEIFER K. H. (1991): Characteristics of different *Streptococcus suis* ecovars and description of a simplified identification method. *Veterinary Microbiology*, XXVI, 1. szám. 141–150. doi: 10.1016/0378-1135(91)90050-P
- DONG Chun-Liu – CHE Rui-Xiang – WU Tong – QU Qian-Wei – CHEN Mo – ZHENG Si-Di – ... LI Yan-Hua (2023): New Characterization of Multi-Drug Resistance of *Streptococcus suis* and Biofilm Formation from Swine in Heilongjiang Province of China. *Antibiotics*, XII, 1. szám. 132. doi: 10.3390/antibiotics12010132
- DONG Xingxing – CHAO Yanjie – ZHOU Yang – ZHOU Rui – ZHANG Wei – FISCHETTI Vincent A. – ... LI Jinquan (2021): The global emergence of a novel *Streptococcus suis* clade associated with human infections. *EMBO Molecular Medicine*, XIII, 7. szám. e13810. doi: 10.15252/emmm.202013810
- DOREY Lucy – PELLIGAND Ludovic – CHENG Zhangrui – LEES Peter (2017): Pharmacokinetic/pharmacodynamic integration and modelling of florfenicol for the pig pneumonia pathogens *Actinobacillus pleuropneumoniae* and *Pasteurella multocida*. *PLOS ONE*, XII, 5. szám. e0177568. doi: 10.1371/journal.pone.0177568
- DOUBLET Benoît – SCHWARZ Stefan – KEHRENBURG Corinna – CLOECKAERT Axel (2005): Florfenicol Resistance Gene *floR* Is Part of a Novel Transposon. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, XLIX, 5. szám. 2106–2108. doi: 10.1128/AAC.49.5.2106-2108.2005
- DOWLING Patricia M. (2013): Chloramphenicol, Thiamphenicol, and Florfenicol. In: Giguère S. – Prescott J. F. – Dowling Patricia M. (szerk.): *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Wiley,. 269–278.
- DUDLEY Michael N. – AMBROSE Paul G. (2000): Pharmacodynamics in the study of drug resistance and establishing in vitro susceptibility breakpoints: ready for prime time. *Current Opinion in Microbiology*, III, 5. szám. 515–521. doi: 10.1016/S1369-5274(00)00132-6

EFTIMIADOU Eleni K. – KARALIOTA Alexandra – PSOMAS George (2008): Mononuclear metal complexes of the second-generation quinolone antibacterial agent enrofloxacin: Synthesis, structure, antibacterial activity and interaction with DNA. *Polyhedron*, XXVII, 6. szám. 1729–1738. doi: 10.1016/j.poly.2008.02.006

EHRlich John – BARTZ Quentin R. – SMITH Robert M. – JOSLYN Dwight A. – BURKHOLDER Paul R. (1947): Chloromycetin, a New Antibiotic From a Soil Actinomycete. *Science*, CVI, 2757. szám. 417–417. doi: 10.1126/science.106.2757.417

EL GARCH Farid – DE JONG Anno – SIMJEE Shabbir – MOYAERT Hilde – KLEIN Ulrich – LUDWIG Carolin – ... SIEGWART Ed (2016): Monitoring of antimicrobial susceptibility of respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs across Europe, 2009–2012: VetPath results. *Veterinary Microbiology*, CXCV, 11–22. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.04.009

EMA (2015): Guideline on the use of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the development of antimicrobial medicinal products. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-use-pharmacokinetics-pharmacodynamics-development-antimicrobial-medicinal-products_en.pdf

EMA (2019): Categorisation of antibiotics in the European Union. https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/categorisation-antibiotics-european-union-answer-request-european-commission-updating-scientific_en.pdf

EMA (2022): Sales veterinary antimicrobial agents 31 european countries 2021 trends2010-2021 twelfth esvac. https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-31-european-countries-2021-trends-2010-2021-twelfth-esvac_en.pdf

ERRECALDE J. O. – CARMELY D. – MARIÑO E. L. – MESTORINO N. (2001): Pharmacokinetics of amoxycillin in normal horses and horses with experimental arthritis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXIV, 1. szám. 1–6. doi: 10.1046/j.1365-2885.2001.00290.x

EUCAST (2023): MIC distributions for *Streptococcus suis*. https://mic.eucast.org/search/?search%5Bmethod%5D=mic&search%5Bantibiotic%5D=-1&search%5Bspecies%5D=508&search%5Bdisk_content%5D=-1&search%5Blimit%5D=50

FAZLUL HUQ (é. n.): Molecular Modelling Analysis of the Metabolism of Enrofloxacin. *Asian Journal of Biochemistry*, I, 4. szám. 316–324. doi: 10.3923/ajb.2006.316.324

FIRTH E. C. – KLEIN W. R. – NOUWS J. F. M. – WENSING Th. (1988): Effect of induced synovial inflammation on pharmacokinetics and synovial concentration of sodium ampicillin and kanamycin sulfate after systemic administration in ponies. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XI, 1. szám. 56–62. doi: 10.1111/j.1365-2885.1988.tb00121.x

FITTIPALDI Nahuel – HAREL Josée – D'AMOURS Benoit – LACOUTURE Sonia – KOBISCH Marylène – GOTTSCHALK Marcelo (2007): Potential use of an unencapsulated and aromatic amino acid-auxotrophic *Streptococcus suis* mutant as a live attenuated vaccine in swine. *Vaccine*, XXV, 18. szám. 3524–3535. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.01.084

FOSTER Derek M. – MARTIN Luke G. – PAPICH Mark G. (2016): Comparison of Active Drug Concentrations in the Pulmonary Epithelial Lining Fluid and Interstitial Fluid of Calves Injected with Enrofloxacin, Florfenicol, Ceftiofur, or Tulathromycin. *PLOS ONE*, XI, 2. szám. e0149100. doi: 10.1371/journal.pone.0149100

FRIENDSHIP Robert – POLJAK Zvonimir (2020): Efficacy of *Streptococcus suis* autogenous vaccine in nursery pigs — A response. *The Canadian Veterinary Journal*, LXI, 2. szám. 113–114.

GAIKOWSKI Mark P. – WOLF Jeffrey C. – ENDRIS Richard G. – GINGERICH William H. (2003a): Safety of Aquaflor (florfenicol, 50% type A medicated article), administered in feed to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Toxicologic Pathology*, XXXI, 6. szám. 689–697. doi: 10.1080/01926230390241828

GARNER Carol – ROSNER Bernard – FINLAND Maxwell (1975): Disk Diffusion and Serial Dilution Tests of Susceptibility of Some Pathogenic Gram-Negative Bacilli and Enterococci to Carbenicillin and Ampicillin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, VIII, 2. szám. 172–186. doi: 10.1128/AAC.8.2.172

GIGUÈRE S. – DOWLING Patricia M. (2013): Fluoroquinolones. In: Giguère S. – Prescott J. F. – Dowling Patricia M. (szerk.): *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Wiley., 295–314.

GIGUÈRE S. – SWEENEY R. W. – BÉLANGER M. (1996): Pharmacokinetics of enrofloxacin in adult horses and concentration of the drug in serum, body fluids, and endometrial tissues after repeated intragastrically administered doses. *American Journal of Veterinary Research*, LVII, 7. szám. 1025–1030.

GILLIAM John N. – STREETER Robert N. – PAPICH Mark G. – WASHBURN Kevin E. – PAYTON Mark E. (2008): Pharmacokinetics of florfenicol in serum and synovial fluid after regional intravenous perfusion in the distal portion of the hind limb of adult cows. *American Journal of Veterinary Research*, LXIX, 8. szám. 997–1004. doi: 10.2460/ajvr.69.8.997

GOGOLEWSKI Rp – COOK Rw – O'CONNELL Cj (1990): Streptococcus suis serotypes associated with disease in weaned pigs. *Australian Veterinary Journal*, LXVII, 6. szám. 202–204. doi: 10.1111/j.1751-0813.1990.tb07759.x

GOTTSCHALK Marcelo – SEGURA Mariela (2000): The pathogenesis of the meningitis caused by Streptococcus suis: the unresolved questions. *Veterinary Microbiology*, LXXVI, 3. szám. 259–272. doi: 10.1016/S0378-1135(00)00250-9

GRABOWSKI Łukasz – GAFFKE Lidia – PIERZYNOWSKA Karolina – CYSKE Zuzanna – CHOSZCZ Marta – WĘGRZYN Grzegorz – WĘGRZYN Alicja (2022): Enrofloxacin—The Ruthless Killer of Eukaryotic Cells or the Last Hope in the Fight against Bacterial Infections? *International Journal of Molecular Sciences*, XXIII, 7. szám. 3648. doi: 10.3390/ijms23073648

GUO Tingting – HUANG Jinhu – ZHANG Hongyu – DONG Lingling – GUO Dawei – GUO Li – ... WANG Liping (2016): Abcb1 in Pigs: Molecular cloning, tissues distribution, functional analysis, and its effect on pharmacokinetics of enrofloxacin. *Scientific Reports*, VI, 1. szám. 32244. doi: 10.1038/srep32244

HAO Haihong – PAN Huafang – AHMAD Ijaz – CHENG Guyue – WANG Yulian – DAI Menghong – ... YUAN Zonghui (2013): Susceptibility Breakpoint for Enrofloxacin against Swine Salmonella spp. *Journal of Clinical Microbiology*, LI, 9. szám. 3070–3072. doi: 10.1128/JCM.01096-13

HAYEM G. – PETIT P. X. – LEVACHER M. – GAUDIN C. – KAHN M. F. – POCIDALO J. J. (1994): Cytofluorometric analysis of chondrotoxicity of fluoroquinolone antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, XXXVIII, 2. szám. 243–247. doi: 10.1128/AAC.38.2.243

HIGGINS R. – GOTTSCHALK M. (2001): Distribution of Streptococcus suis capsular types in 2000. *The Canadian Veterinary Journal*, XLII, 3. szám. 223.

HOLMES K. – BEDENICE D. – PAPICH M. G. (2012a): Florfenicol pharmacokinetics in healthy adult alpacas after subcutaneous and intramuscular injection. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXXV, 4. szám. 382–388. doi: 10.1111/j.1365-2885.2011.01323.x

HOPKINS Danielle – POLJAK Zvonimir – FARZAN Abdolvahab – FRIENDSHIP Robert (2019): Field studies evaluating the direct, indirect, total, and overall efficacy of Streptococcus suis autogenous vaccine in nursery pigs. *The Canadian Veterinary Journal*, LX, 4. szám. 386–390.

HOWARD J. T. – BAYNES R. E. – BROOKS J. D. – YEATTS J. L. – BELLIS B. – ASHWELL M. S. – ... MALTECCA C. (2014): The effect of breed and sex on sulfamethazine, enrofloxacin, fenbendazole and flunixin meglumine pharmacokinetic parameters in swine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXXVII, 6. szám. 531–541. doi: 10.1111/jvp.12128

HU Dongfang – ZHANG Taixiang – ZHANG Zhendong – WANG Guangwen – WANG Fangkun – QU Yajin – ... LIU Sidang (2014): Toxicity to the hematopoietic and lymphoid organs of piglets treated with a therapeutic dose of florfenicol. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, CLXII, 3. szám. 122–131. doi: 10.1016/j.vetimm.2014.10.014

JIANG H. X. – ZENG Z. L. – CHEN Z. L. – LIU J. J. – FUNG K. F. (2006): Pharmacokinetics of florfenicol in pigs following intravenous, intramuscular or oral administration and the effects of feed intake on oral dosing. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXIX, 2. szám. 153–156. doi: 10.1111/j.1365-2885.2006.00727.x

JIANZHONG S. – XIUBO L. – HAIYANG J. – WALTER H. H. (2004): Bioavailability and pharmacokinetics of florfenicol in healthy sheep*. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXVII, 3. szám. 163–168. doi: 10.1111/j.1365-2885.2004.00574.x

JONES Meredyth L. – WASHBURN Kevin E. – FAJT Virginia R. – RICE Somchai – COETZEE Johann F. (2015): Synovial fluid pharmacokinetics of tulathromycin, gamithromycin and florfenicol after a single subcutaneous dose in cattle. *BMC Veterinary Research*, XI, 1. szám. 26. doi: 10.1186/s12917-015-0346-4

- KERDSIN Anusak – HATRONGJIT Rujirat – GOTTSCHALK Marcelo – TAKEUCHI Dan – HAMADA Shigeyuki – AKEDA Yukihiro – OISHI Kazunori (2017): Emergence of *Streptococcus suis* serotype 9 infection in humans. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, L, 4. szám. 545–546. doi: 10.1016/j.jmii.2015.06.011
- KIM Mi-Hee – GEBRU Elias – CHANG Zhi-Qiang – CHOI Jae-Young – HWANG Mi-Hyun – KANG Eun-Hee – ... PARK Seung-Chun (2008): Comparative Pharmacokinetics of Tylosin or Florfenicol after a Single Intramuscular Administration at Two Different Doses of Tylosin-Florfenicol Combination in Pigs. *Journal of Veterinary Medical Science*, LXX, 1. szám. 99–102. doi: 10.1292/jvms.70.99
- KING S. B. – DOUCETTE K. P. – SEEWALD W. – FORSTER S. L. (2018): A randomized, controlled, single-blinded, multicenter evaluation of the efficacy and safety of a once weekly two dose otic gel containing florfenicol, terbinafine and betamethasone administered for the treatment of canine otitis externa. *BMC Veterinary Research*, XIV, 1. szám. 307. doi: 10.1186/s12917-018-1627-5
- KOWALSKA-KROCHMAL Beata – DUDEK-WICHER Ruth (2021): The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens*, X, 2. szám. 165. doi: 10.3390/pathogens10020165
- LEI Zhixin – LIU Qianying – KHALIQ Haseeb – CAO Jiyue – HE Qigai (2019): Resistant cutoff values and optimal scheme establishments for florfenicol against *Escherichia coli* with PK-PD modeling analysis in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XLII, 3. szám. 324–335. doi: 10.1111/jvp.12754
- LEI Zhixin – LIU Qianying – YANG Shuaike – YANG Bing – KHALIQ Haseeb – LI Kun – ... HE Qigai (2018): PK-PD Integration Modeling and Cutoff Value of Florfenicol against *Streptococcus suis* in Pigs. *Frontiers in Pharmacology*, IX, <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.00002> [2022. 10. 31.]
- LI Chao – ZHOU Kaixiang – CHEN Dongmei – XU Wei – TAO Yanfei – PAN Yuanhu – ... XIE Shuyu (2019): <p>Solid lipid nanoparticles with enteric coating for improving stability, palatability, and oral bioavailability of enrofloxacin</p>. *International Journal of Nanomedicine*, XIV, 1619–1631. doi: 10.2147/IJN.S183479
- LI Jiancheng – DING Shuangyang – ZHANG Suxia – LI Cun – LI Xiaowei – LIU Zhongwei – ... SHEN Jianzhong (2006): Residue Depletion of Florfenicol and Its Metabolite Florfenicol Amine in Swine Tissues after Intramuscular Administration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, LIV, 25. szám. 9614–9619. doi: 10.1021/jf061869p
- LIM S. – HOSSAIN M. A. – PARK J. – CHOI S. H. – KIM G. (2008): The effects of enrofloxacin on canine tendon cells and chondrocytes proliferation in vitro. *Veterinary Research Communications*, XXXII, 3. szám. 243–253. doi: 10.1007/s11259-007-9024-8
- LIU Jianzhong – FUNG Ki-Fai – CHEN Zhangliu – ZENG Zhenling – ZHANG Jie (2003): Pharmacokinetics of Florfenicol in Healthy Pigs and in Pigs Experimentally Infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, XLVII, 2. szám. 820–823. doi: 10.1128/AAC.47.2.820-823.2003
- LIU Zhichang – RONG Ting – ZENG Dongping – SHEN Xiangguang – MA Xianyong – ZENG Zhenling (2018): Bayesian population pharmacokinetic modeling of florfenicol in pigs after intravenous and intramuscular administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XLI, 5. szám. 719–725. doi: 10.1111/jvp.12677
- LOBELL R. D. – VARMA K. J. – JOHNSON J. C. – SAMS R. A. – GERKEN D. F. – ASHCRAFT S. M. (1994): Pharmacokinetics of florfenicol following intravenous and intramuscular doses to cattle. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XVII, 4. szám. 253–258. doi: 10.1111/j.1365-2885.1994.tb00241.x
- LU De-zhang – FAN Hong-gang – JIANG Sheng – ZHANG Luan-song – MA Kun – YU Shi-ming – ... WANG Hong-bin (2012): Cardiopulmonary, Biochemical and Haematological Effects of the Tiletamine/Zolazepam-Xylazine-Tramadol Combination to Provide Anaesthesia in Miniature Pigs. *Journal of Integrative Agriculture*, XI, 8. szám. 1340–1346. doi: 10.1016/S2095-3119(12)60132-4
- LUNHA Kamonwan – CHUMPOL Wiyada – SAMNGAMNIM Sukuma – JIEMSUP Surasak – ASSAVACHEEP Pornchalit – YONGKIETTRAKUL Suganya (2022): Antimicrobial Susceptibility of *Streptococcus suis* Isolated from Diseased Pigs in Thailand, 2018–2020. *Antibiotics*, XI, 3. szám. 410. doi: 10.3390/antibiotics11030410
- MARTINEZ Marilyn – McDERMOTT Patrick – WALKER Robert (2006): Pharmacology of the fluoroquinolones: A perspective for the use in domestic animals. *The Veterinary Journal*, CLXXII, 1. szám. 10–28. doi: 10.1016/j.tvjl.2005.07.010

- MESSENGER K. M. – PAPICH M. G. – BLIKSLAGER A. T. (2012): Distribution of enrofloxacin and its active metabolite, using an in vivo ultrafiltration sampling technique after the injection of enrofloxacin to pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXXV, 5. szám. 452–459. doi: 10.1111/j.1365-2885.2011.01338.x
- MESSIAS Andre – GEKELER Florian – WEGENER Alfred – DIETZ Klaus – KOHLER Konrad – ZRENNER Eberhart (2008): Retinal safety of a new fluoroquinolone, pradofloxacin, in cats: assessment with electroretinography. *Documenta Ophthalmologica*, CXVI, 3. szám. 177–191. doi: 10.1007/s10633-007-9081-x
- MESSIER Serge – LACOUTURE Sonia – GOTTSCHALK Marcelo (2008): Distribution of *Streptococcus suis* capsular types from 2001 to 2007. *The Canadian Veterinary Journal*, XLIX, 5. szám. 461–462.
- MICHEL C. – KEROUAULT B. – MARTIN C. (2003): Chloramphenicol and florfenicol susceptibility of fish-pathogenic bacteria isolated in France: comparison of minimum inhibitory concentration, using recommended provisory standards for fish bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, XCV, 5. szám. 1008–1015. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.02093.x
- MITCHELL Mark A. (2006): Enrofloxacin. *Journal of Exotic Pet Medicine*, XV, 1. szám. 66–69. doi: 10.1053/j.jepm.2005.11.011
- MOUTON J. W. – BROWN D. F. J. – APFALTER P. – CANTÓN R. – GISKE C. G. – IVANOVA M. – ... KAHLMETER G. (2012): The role of pharmacokinetics/pharmacodynamics in setting clinical MIC breakpoints: the EUCAST approach. *Clinical Microbiology and Infection*, XVIII, 3. szám. E37–E45. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03752.x
- MOUTON Johan W. – DUDLEY Michael N. – CARS Otto – DERENDORF Hartmut – DRUSANO George L. (2005): Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, LV, 5. szám. 601–607. doi: 10.1093/jac/dki079
- MZYK Danielle A. – BUBLITZ Claire M. – HOBGOOD Ginger D. – MARTINEZ Marilyn N. – DAVIS Jennifer L. – SMITH Geof W. – BAYNES Ronald E. (2018): Effect of age on plasma protein binding of several veterinary drugs in dairy calves 2. *Research in Veterinary Science*, CXXI, 59–64. doi: 10.1016/j.rvsc.2018.09.004
- NEUMAN M. (1987): Comparative pharmacokinetic parameters of new systemic fluoroquinolones. *International Journal of Clinical Pharmacology Research*, VII, 3. szám. 173–179.
- NICHOLSON Tracy L. – WAACK Ursula – ANDERSON Tavis K. – BAYLES Darrell O. – ZAIA Sam R. – GOERTZ Isaiah – ... SHORE Sarah M. (2021): Comparative Virulence and Genomic Analysis of *Streptococcus suis* Isolates. *Frontiers in Microbiology*, XI, <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.620843> [2023. 05. 20.]
- NIELSEN Poul – GYRD-HANSEN Nils (1997): Bioavailability of Enrofloxacin after Oral Administration to Fed and Fasted Pigs. *Pharmacology & Toxicology*, LXXX, 5. szám. 246–250. doi: 10.1111/j.1600-0773.1997.tb01967.x
- NOUWS J. F. M. – MEVIUS D. J. – VREE T. B. – BAARS A. M. – LAURENSEN J. (1988): Pharmacokinetics, renal clearance and metabolism of ciprofloxacin following intravenous and oral administration to calves and pigs. *Veterinary Quarterly*, X, 3. szám. 156–163. doi: 10.1080/01652176.1988.9694165
- NÜESCH-INDERBINEN Magdalena – HAUSSMANN Adrian – TREIER Andrea – ZURFLUH Katrin – BIGGEL Michael – STEPHAN Roger (2022): Fattening Pigs Are a Reservoir of Florfenicol-Resistant Enterococci Harboring Oxazolidinone Resistance Genes. *Journal of Food Protection*, LXXXV, 5. szám. 740–746. doi: 10.4315/JFP-21-431
- PARK Byung-Kwon – LIM Jong-Hwan – KIM Myoung-Seok – HWANG Youn-Hwan – YUN Hyo-In (2008): Pharmacokinetics of florfenicol and its metabolite, florfenicol amine, in dogs. *Research in Veterinary Science*, LXXXIV, 1. szám. 85–89. doi: 10.1016/j.rvsc.2007.04.001
- PARRA-SANCHEZ Alberto – LUGO Joel – BOOTHE Dawn M. – GAUGHAN Earl M. – HANSON R. Reid – DURAN Sue – BELKNAP James K. (2006): Pharmacokinetics and pharmacodynamics of enrofloxacin and a low dose of amikacin administered via regional intravenous limb perfusion in standing horses. *American Journal of Veterinary Research*, LXVII, 10. szám. 1687–1695. doi: 10.2460/ajvr.67.10.1687
- PELLIGAND Ludovic – LEES Peter – SIDHU Pritam Kaur – TOUTAIN Pierre-Louis (2019): Semi-Mechanistic Modeling of Florfenicol Time-Kill Curves and in silico Dose Fractionation for Calf Respiratory Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, X, <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.01237> [2023. 05. 19.]

- PENTECOST Rebecca L. – NIEHAUS Andrew J. – WERLE Nicholas – LAKRITZ Jeffrey (2015): Absorption and disposition of florfenicol after intravenous, intramuscular and subcutaneous dosing in alpacas. *Research in Veterinary Science*, XCIX, 199–203. doi: 10.1016/j.rvsc.2015.02.006
- PENTECOST Rebecca L. – NIEHAUS Andrew J. – WERLE Nick A. – LAKRITZ Jeffrey (2013): Pharmacokinetics of florfenicol after intravenous and intramuscular dosing in llamas. *Research in Veterinary Science*, XCV, 2. szám. 594–599. doi: 10.1016/j.rvsc.2013.05.009
- PERCH B. – PEDERSEN K. B. – HENRICHSEN J. (1983): Serology of capsulated streptococci pathogenic for pigs: six new serotypes of *Streptococcus suis*. *Journal of Clinical Microbiology*, XVII, 6. szám. 993–996. doi: 10.1128/jcm.17.6.993-996.1983
- PETERSEN U. – SCHENKE T. (1998): The Chemistry of the Quinolones: Chemistry in the Periphery of the Quinolones. In: Kuhlmann J. – Dalhoff A. – Zeiler H. J. (szerk.): *Quinolone Antibacterials*. Springer, Berlin, Heidelberg. 63–118. doi: 10.1007/978-3-642-80364-2_3
- PHAM Thu D. M. – ZIORA Zyta M. – BLASKOVICH Mark A. T. (2019): Quinolone antibiotics. *MedChemComm*, X, 10. szám. 1719–1739. doi: 10.1039/c9md00120d
- POST Lynn O. – FARRELL Dorothy E. – COPE Carol V. – BAKER John D. – MYERS Michael J. (2003): The Effect of Endotoxin and Dexamethasone on Enrofloxacin Pharmacokinetic Parameters in Swine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, CCCIV, 2. szám. 889–895. doi: 10.1124/jpet.102.042416
- PRADOS DE LA TORRE Esther – RODRÍGUEZ-FRANCO Antonio – RODRÍGUEZ-ORTEGA Manuel J. (2020): Proteomic and Bioinformatic Analysis of *Streptococcus suis* Human Isolates: Combined Prediction of Potential Vaccine Candidates. *Vaccines*, VIII, 2. szám. 188. doi: 10.3390/vaccines8020188
- RAO G. S. – RAMESH S. – AHMAD A. H. – TRIPATHI H. C. – SHARMA L. D. – MALIK J. K. (2002): Pharmacokinetics of Enrofloxacin and its Metabolite Ciprofloxacin in Goats given Enrofloxacin Alone and in Combination with Probenecid. *The Veterinary Journal*, CLXIII, 1. szám. 85–93. doi: 10.1053/tvj.2001.0594
- REAMS R. Y. – HARRINGTON D. D. – GLICKMAN L. T. – THACKER H. L. – BOWERSOCK T. L. (1996): Multiple serotypes and strains of *Streptococcus suis* in naturally infected swine herds. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, VIII, 1. szám. 119–121. doi: 10.1177/104063879600800121
- RIVIERE J. E. – PAPICH M. G. (2017): *Veterinary pharmacology and therapeutics*. John Wiley & Sons Inc, Hoboken, NJ.
- ROBERTSON I. D. – BLACKMORE D. K. – HAMPSON D. J. – FU Z. F. (1991): A longitudinal study of natural infection of piglets with *Streptococcus suis* types 1 and 2. *Epidemiology and Infection*, CVII, 1. szám. 119–126.
- RØMER VILLUMSEN Kasper – ALLAHGHADRY Toloe – KARWAŃSKA Magdalena – FREY Joachim – BOJESSEN Anders Miki (2023): Quinolone Resistance in *Gallibacterium anatis* Determined by Mutations in Quinolone Resistance-Determining Region. *Antibiotics*, XII, 5. szám. 903. doi: 10.3390/antibiotics12050903
- RUIZ Joaquim – PONS Maria J. – GOMES Cláudia (2012): Transferable mechanisms of quinolone resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, XL, 3. szám. 196–203. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.02.011
- SÁRKÓZY G. (2001): Quinolones: a class of antimicrobial agents. *Veterinárni medicína*, XLVI, 9–10. szám. 257–274. doi: 10.17221/7883-VETMED
- SCHOEMAKER Rik C. – COHEN Adam F. (1996): Estimating impossible curves using NONMEM. *British Journal of Clinical Pharmacology*, XLII, 3. szám. 283–290. doi: 10.1046/j.1365-2125.1996.04231.x
- SCHWARZ Stefan – KEHRENBURG Corinna – DOUBLET Benoît – CLOECKAERT Axel (2004): Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. *FEMS Microbiology Reviews*, XXVIII, 5. szám. 519–542. doi: 10.1016/j.femsre.2004.04.001
- SHARMA Prabodh Chander – JAIN Ankit – JAIN Sandeep (2009): Fluoroquinolone antibacterials: a review on chemistry, microbiology and therapeutic prospects. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, LXVI, 6. szám. 587–604.

- SHIN Sung Jae – KANG Sang Gyun – NABIN Rayamajhi – KANG Mi Lan – YOO Han Sang (2005): Evaluation of the antimicrobial activity of florfenicol against bacteria isolated from bovine and porcine respiratory disease. *Veterinary Microbiology*, CVI, 1. szám. 73–77. doi: 10.1016/j.vetmic.2004.11.015
- SIDHU P. – RASSOULI A. – ILLAMBAS J. – POTTER T. – PELLIGAND L. – RYCROFT A. – LEES P. (2014): Pharmacokinetic–pharmacodynamic integration and modelling of florfenicol in calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXXVII, 3. szám. 231–242. doi: 10.1111/jvp.12093
- SIEROSLAWSKA. A. – STUDNICKA M. – SIWICKI A. K. – BOWNIK A. – RYMUSZKA A. – SŁONKA J. (1998): Antibiotics and Cell - Mediated Immunity in Fish - in Vitro Study. *Acta Veterinaria Brno*, LXVII, 4. szám. 329–334. doi: 10.2754/avb199867040329
- SILBER Hanna E. – BURGNER Claudia – LETELLIER Ingrid M. – PEYROU Mathieu – JUNG Martin – KING Jonathan N. – ... GIRAUDEL Jerome M. (2010): Population Pharmacokinetic Analysis of Blood and Joint Synovial Fluid Concentrations of Robenacoxib from Healthy Dogs and Dogs with Osteoarthritis. *Pharmaceutical Research*, XXVII, 12. szám. 2633–2645. doi: 10.1007/s11095-010-0262-z
- SINGER Randall S. – PATTERSON Sheila K. – MEIER Anne E. – GIBSON Jessica K. – LEE Hannah L. – MADDOX Carol W. (2004): Relationship between Phenotypic and Genotypic Florfenicol Resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, XLVIII, 10. szám. 4047–4049. doi: 10.1128/AAC.48.10.4047-4049.2004
- SOBACK S. – PAAPE M. j. – FILEP R. – VARMA K. j. (1995): Florfenicol pharmacokinetics in lactating cows after intravenous, intramuscular and intramammary administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XVIII, 6. szám. 413–417. doi: 10.1111/j.1365-2885.1995.tb00618.x
- SOMOGYI Zoltán – MAG Patrik – KOVÁCS Dóra – KERÉK Ádám – SZABÓ Pál – MAKRAI László – JERZSELE Ákos (2022): Synovial and Systemic Pharmacokinetics of Florfenicol and PK/PD Integration against *Streptococcus suis* in Pigs. *Pharmaceutics*, XIV, 1. szám. 109. doi: 10.3390/pharmaceutics14010109
- SOMOGYI Zoltán – MAG Patrik – SIMON Réka – KERÉK Ádám – SZABÓ Pál – ALBERT Ervin – BIKSI IMRE – JERZSELE Ákos (2023): Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Florfenicol in Plasma and Synovial Fluid of Pigs at a Dose of 30 mg/kgbw Following Intramuscular Administration. *Antibiotics*, XII, 4. szám. 758. doi: 10.3390/antibiotics12040758
- STAATS J. J. – FEDER I. – OKWUMABUA O. – CHENGAPPA M. M. (1997): *Streptococcus Suis*: Past and Present. *Veterinary Research Communications*, XXI, 6. szám. 381–407. doi: 10.1023/A:1005870317757
- SWEENEY Michael T. (2022): Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Pasteurella multocida*, and *Streptococcus suis* isolated from diseased pigs in the United States and Canada, 2016 to 2020. *Journal of Swine Health and Production*, XXX, 3. szám. 130–144.
- SWITAŁA M. – HRYNYK R. – SMUTKIEWICZ A. – JAWORSKI K. – PAWLOWSKI P. – OKONIEWSKI P. – ... DEBOWY J. (2007): Pharmacokinetics of florfenicol, thiamphenicol, and chloramphenicol in turkeys. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXX, 2. szám. 145–150. doi: 10.1111/j.1365-2885.2007.00827.x
- TAYLOR D. E. – CHAU A. S. (1997): Cloning and nucleotide sequence of the *gyrA* gene from *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* ATCC 27374 and characterization of ciprofloxacin-resistant laboratory and clinical isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, XLI, 3. szám. 665–671. doi: 10.1128/aac.41.3.665
- THABIT Abrar K. – FATANI Dania F. – BAMAKHRAMA Maryam S. – BARNAWI Ola A. – BASUDAN Lana O. – ALHEJAILI Shahad F. (2019): Antibiotic penetration into bone and joints: An updated review. *International Journal of Infectious Diseases*, LXXXI, 128–136. doi: 10.1016/j.ijid.2019.02.005
- TÓTH Adrienn Gréta – CSABAI István – MARÓTI Gergely – JERZSELE Ákos – DUBECZ Attila – PATAI Árpád V. – ... SOLYMOSSI Norbert (2020): A glimpse of antimicrobial resistance gene diversity in kefir and yoghurt. *Scientific Reports*, X, 1. szám. 22458. doi: 10.1038/s41598-020-80444-5
- TOUIL F. – HIGGINS R. – NADEAU M. (1988): Isolation of *Streptococcus suis* from diseased pigs in Canada. *Veterinary Microbiology*, XVII, 2. szám. 171–177. doi: 10.1016/0378-1135(88)90008-9
- TOUTAIN P. L. – BOUSQUET-MÉLOU A. (2004): Plasma terminal half-life. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXVII, 6. szám. 427–439. doi: 10.1111/j.1365-2885.2004.00600.x

- TOUTAIN P. L. – DEL CASTILLO J. R. E. – BOUSQUET-MÉLOU A. (2002): The pharmacokinetic–pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Research in Veterinary Science*, LXXIII, 2. szám. 105–114. doi: 10.1016/S0034-5288(02)00039-5
- TOUTAIN Pierre-Louis – BOUSQUET-MÉLOU Alain – DAMBORG Peter – FERRAN Aude A. – MEVIUS Dik – PELLIGAND Ludovic – ... LEES Peter (2017): En Route towards European Clinical Breakpoints for Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing: A Position Paper Explaining the VetCAST Approach. *Frontiers in Microbiology*, VIII, <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.02344> [2023. 05. 19.]
- TOUTAIN Pierre-Louis – PELLIGAND Ludovic – LEES Peter – BOUSQUET-MÉLOU Alain – FERRAN Aude A. – TURNIDGE John D. (2021): The pharmacokinetic/pharmacodynamic paradigm for antimicrobial drugs in veterinary medicine: Recent advances and critical appraisal. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XLIV, 2. szám. 172–200. doi: 10.1111/jvp.12917
- TOUTAIN Pierre-Louis – SIDHU Pritam Kaur – LEES Peter – RASSOULI Ali – PELLIGAND Ludovic (2019): VetCAST Method for Determination of the Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Cut-Off Values of a Long-Acting Formulation of Florfenicol to Support Clinical Breakpoints for Florfenicol Antimicrobial Susceptibility Testing in Cattle. *Frontiers in Microbiology*, X, <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.01310> [2023. 04. 11.]
- TROUCHON Tessa – LEFEBVRE Sébastien (2016): A Review of Enrofloxacin for Veterinary Use. *Open Journal of Veterinary Medicine*, VI, 2. szám. 40–58. doi: 10.4236/ojvm.2016.62006
- TURNIDGE John – PATERSON David L. (2007): Setting and Revising Antibacterial Susceptibility Breakpoints. *Clinical Microbiology Reviews*, XX, 3. szám. 391–408. doi: 10.1128/CMR.00047-06
- VAN HOUT Jobke – HEUVELINK Annet – GONGGRIJP Maaïke (2016): Monitoring of antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* in the Netherlands, 2013–2015. *Veterinary Microbiology*, CXCIV, 5–10. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.03.014
- VANCUTSEM P. M. – BABISH J. G. – SCHWARK W. S. (1990): The fluoroquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *The Cornell Veterinarian*, LXXX, 2. szám. 173–186.
- VARMA K. j. – ADAMS P. E. – POWERS T. E. – POWERS J. D. – LAMENDOLA J. F. (1986): Pharmacokinetics of florfenicol in veal calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, IX, 4. szám. 412–425. doi: 10.1111/j.1365-2885.1986.tb00062.x
- VECHT U. – ARENDS J. P. – VAN der Molen EJ – VAN Leengoed LA (1989): Differences in virulence between two strains of *Streptococcus suis* type II after experimentally induced infection of newborn germ-free pigs. *American journal of veterinary research*, L, 7. szám. 1037–1043.
- VILLA R. – PRANDINI E. – CALONI F. (1997): *Serum protein binding of some sulphonamides, quinolones and fluoroquinolones in farm and domestic animals*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Serum-protein-binding-of-some-sulphonamides%2C-and-in-Villa-Prandini/70bd2304c371b45754ac3f540af393b32ee5fd5> [2023. 05. 23.]
- VOORSPOELS J. – D'HAESE E. – DE CRAENE B. A. – VERVAET C. – DE RIEMAECKER D. – DEPREZ P. – ... REMON J. P. (1999): Pharmacokinetics of florfenicol after treatment of pigs with single oral or intramuscular doses or with medicated feed for three days. *Veterinary Record*, CXLV, 14. szám. 397–399. doi: 10.1136/vr.145.14.397
- WANG Jianyi – HAO Haihong – HUANG Lingli – LIU Zhenli – CHEN Dongmei – YUAN Zonghui (2016): Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Integration and Modeling of Enrofloxacin in Swine for *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, VII, <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.00036> [2023. 05. 19.]
- WANG Yang – WANG Yuxin – SUN Liyun – GRENIER Daniel – Yi Li (2018): *Streptococcus suis* biofilm: regulation, drug-resistance mechanisms, and disinfection strategies. *Applied Microbiology and Biotechnology*, CII, 21. szám. 9121–9129. doi: 10.1007/s00253-018-9356-z
- WANG Yanping – ZHANG Ling – AHMED Saeed – LIU Yonghong – LI Xianqiang (2018): Pharmacokinetic of florfenicol in pulmonary epithelial lining fluid of swine and effects of anesthetic agent on drug plasma disposition kinetics. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, LXX, 1497–1504. doi: 10.1590/1678-4162-9770
- WEI Zigong – LI Ran – ZHANG Anding – HE Hongkui – HUA Yafeng – XIA Jing – ... JIN Meilin (2009): Characterization of *Streptococcus suis* isolates from the diseased pigs in China between 2003 and 2007. *Veterinary Microbiology*, CXXXVII, 1. szám. 196–201. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.12.015

- WESTROPP J. I. – SYKES J. e. – IROM S. – DANIELS J. b. – SMITH A. – KEIL D. – ... CHEW D. j. (2012): Evaluation of the Efficacy and Safety of High Dose Short Duration Enrofloxacin Treatment Regimen for Uncomplicated Urinary Tract Infections in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, XXVI, 3. szám. 506–512. doi: 10.1111/j.1939-1676.2012.00914.x
- WIEBE Valerie – HAMILTON Patti (2002): Fluoroquinolone-induced retinal degeneration in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, CCXXI, 11. szám. 1568–1571. doi: 10.2460/javma.2002.221.1568
- WILLIAMS Dorothy M. – LAWSON G. H. K. – ROWLAND A. C. (1973): Streptococcal Infection in Piglets: The Palatine Tonsils as Portals of Entry for *Streptococcus suis*. *Research in Veterinary Science*, XV, 3. szám. 352–362. doi: 10.1016/S0034-5288(18)33808-6
- WISSELINK Henk J. – VELDMAN Kees T. – VAN DEN EEDE Chris – SALMON Sarah A. – MEVIUS Dik J. (2006): Quantitative susceptibility of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased pigs in seven European countries to antimicrobial agents licenced in veterinary medicine. *Veterinary Microbiology*, CXIII, 1. szám. 73–82. doi: 10.1016/j.vetmic.2005.10.035
- WIUFF C. – LYKKESFELDT J. – AARESTRUP F. M. – SVENDSEN O. (2002): Distribution of enrofloxacin in intestinal tissue and contents of healthy pigs after oral and intramuscular administrations. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXV, 5. szám. 335–342. doi: 10.1046/j.1365-2885.2002.00430.x
- WOLFSON J. S. – HOOPER D. C. (1985): The fluoroquinolones: structures, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity in vitro. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, XXVIII, 4. szám. 581–586. doi: 10.1128/AAC.28.4.581
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2012): *Critically important antimicrobials for human medicine*. World Health Organization, Geneva. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/77376> [2023. 05. 16.]
- WRIGHT David H. – BROWN Gigi H. – PETERSON Marnie L. – ROTSCHAFER John C. (2000): Application of fluoroquinolone pharmacodynamics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, XLVI, 5. szám. 669–683. doi: 10.1093/jac/46.5.669
- XIAO Xia – LAN Weixuan – ZHAO Yaqin – LI Ruichao – LIU Yuan – LIU Juan – WANG Zhiqiang (2020): In vivo Pharmacokinetic and Pharmacodynamic (PK/PD) Modeling and Establishment of the PK/PD Cutoff of Florfenicol Against *Pasteurella multocida* in Ducks. *Frontiers in Microbiology*, XI, 616685. doi: 10.3389/fmicb.2020.616685
- XIAO Xia – LAN Weixuan – ZHAO Yaqin – LI Ruichao – LIU Yuan – LIU Juan – WANG Zhiqiang (2021): In vivo Pharmacokinetic and Pharmacodynamic (PK/PD) Modeling and Establishment of the PK/PD Cutoff of Florfenicol Against *Pasteurella multocida* in Ducks. *Frontiers in Microbiology*, XI, <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.616685> [2023. 05. 16.]
- YAMAOKA Kiyoshi – NAKAGAWA Terumichi – UNO Toyozo (1978): Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, VI, 2. szám. 165–175. doi: 10.1007/BF01117450
- YANG B. – GAO J. D. – CAO X. Y. – WANG Q. Y. – SUN G. Z. – YANG J. J. (2017): Lung microdialysis study of florfenicol in pigs after single intramuscular administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XL, 5. szám. 530–538. doi: 10.1111/jvp.12387
- YANG Bo – LI Xiao Dong – CHEN Xun – HONG Juan – LIU Can – ZHENG Jin Ping – ... YU Dao Jin (2022): PK/PD modelling of enrofloxacin against *Glaesserella parasuis* infection in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XLV, 3. szám. 291–300. doi: 10.1111/jvp.13055
- YAO Xinyue – LI Ming – WANG Jing – WANG Changjun – HU Dan – ZHENG Feng – ... HU Fuquan (2015): Isolation and characterization of a native avirulent strain of *Streptococcus suis* serotype 2: a perspective for vaccine development. *Scientific Reports*, V, 1. szám. 9835. doi: 10.1038/srep09835
- YOON J. H. – BROOKS R. L. – KHAN A. – PAN H. – BRYAN J. – ZHANG J. – ... HALPER J. (2004): The effect of enrofloxacin on cell proliferation and proteoglycans in horse tendon cells. *Cell Biology and Toxicology*, XX, 1. szám. 41–54. doi: 10.1023/B:CBTO.0000021154.01035.f9
- YOSHIDA H. – BOGAKI M. – NAKAMURA M. – YAMANAKA L. M. – NAKAMURA S. (1991): Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrB* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, XXXV, 8. szám. 1647–1650. doi: 10.1128/AAC.35.8.1647

ZHANG Chunping – NING Yibao – ZHANG Zhongqiu – SONG Li – QIU Huishen – GAO Heyi (2008): In vitro antimicrobial susceptibility of *Streptococcus suis* strains isolated from clinically healthy sows in China. *Veterinary Microbiology*, CXXXI, 3. szám. 386–392. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.04.005

ZHANG Q. – TANG S. S. – QIAN M. Y. – WEI L. – ZHOU D. – ZHANG Z. J. – ... XIAO X. L. (2016): Nanoemulsion formulation of florfenicol improves bioavailability in pigs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, XXXIX, 1. szám. 84–89. doi: 10.1111/jvp.12230

9. A doktori kutatás eredményeinek közlései

Somogyi Z., Karancsi Z., Jerzsele Á.: **Farmakokinetika/farmakodinámia (PK/PD) megközelítés az állatgyógyászatban**, Magyar Állatorvosok Lapja, 140. 37–46, 2018.

Somogyi Z., Mag P., Kovács D., Kerek Á., Szabó P., Makrai L., Jerzsele Á.: **Synovial and Systemic Pharmacokinetics of Florfenicol and PK/PD Integration against *Streptococcus suis* in Pigs**, Pharmaceutics, 14(1). 109, 2022.

Somogyi Z., Mag P., Simon R., Kerek Á., Szabó P., Albert E., Biksi I., Jerzsele Á.: **Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Florfenicol in Plasma and Synovial Fluid of Pigs at a Dose of 30 mg/kgbw Following Intramuscular Administration**, Antibiotics (Basel), 12(4) 758, 2023.

Somogyi Z., Mag P., Simon R., Kerek Á., Makrai L., Biksi I., Jerzsele Á.: **Susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Streptococcus suis* Isolated from Pigs in Hungary between 2018 and 2021**, Antibiotics (Basel), 12(8). 1298, 2023.

Egyéb publikációk

Palócz O., Gál J., Clayton P., Dinya Z., Somogyi Z., Juhász Cs., Csikó Gy.: **Alternative treatment of serious and mild *Pasteurella multocida* infection in New Zealand White rabbits**, BMC Veterinary Research, 10(1). 2014.

Somogyi Z., Palócz O., Gál J., Csikó Gy.: **Az *Echinacea purpurea* hatékonyságának vizsgálata nyulak *P. multocida* fertőzésében**, Magyar Állatorvosok Lapja, 138(3). 169–176, 2016.

Jerzsele Á., Somogyi Z., Kovács D., Gál J.: **A féregellenes kezelések jelentősége és lehetőségei az intenzív baromfitartásban**, Magyar Állatorvosok Lapja, 139(7). 397–404, 2017.

Jerzsele Á., Kovács D., Somogyi Z.: **Az oklacinib, egy új Janus-kinázgátló hatóanyag kutyák atópiás bőrgyulladásának és egyéb, viszketéssel járó megbetegedéseinek kezelésére : Irodalmi összefoglaló**, Magyar Állatorvosok Lapja, 139(9). 545–552, 2017.

Veres A., Somogyi Z., Jerzsele Á.: **In vitro toxicity of gentamicin, tobramycin, amikacin and spectinomycin on bovine kidney derived MDBK cell line**, Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 41(1). 103–103, 2018.

Jerzsele Á., Somogyi Z., Szalai M., Kovács D.: **A fermentált búzacsíra-kivonat hatása brojlercsirkék mesterséges *Salmonella* Typhimurium fertőzésére**, Magyar Állatorvosok Lapja, 142(2). 77–85, 2020.

Kerek Á., Sterczer Á., Somogyi Z., Kovács D., Jerzsele Á.: **Investigation of the environmental presence of multidrug-resistant bacteria at small animal hospitals in Hungary**, Acta Veterinaria Hungarica, 68(4). 387-392, 2021.

Kerek Á., Sasvári M., Jerzsele Á., Somogyi Z., Janovák L., Abonyi-Tóth Zs., Dékány I.: **Photoreactive Coating Material as an Effective and Durable Antimicrobial Composite in Reducing Bacterial Load on Surfaces in Livestock**, Biomedicines, 10(9). 2022.

Klein U., Földi D., Belec N., Hrivnák V., Somogyi Z., Gastaldelli M., Merenda M., Catania S., Dors A., Siesenop U., Vyt P., Kreizinger Zs., Depondt W., Gyuranecz M.: **Antimicrobial susceptibility profiles of *Mycoplasma hyorhinis* strains isolated from five European countries between 2019 and 2021**, Plos One, 17(8). 2022.

Kocsis D., Klang V., Schweiger E., Varga-Medveczky Z., Mihály A., Pongor C., Révész Z., Somogyi Z., Erdő F.: **Characterization and ex vivo evaluation of excised skin samples as substitutes for human dermal barrier in pharmaceutical and dermatological studies**, Skin Research and Technology, 28(5). 664–676, 2022.

Palkovicsné P. N., Kovács D., Somogyi Z., Rácz B., Farkas O.: **Probiotikumok hatásának vizsgálata sertésekben**, Magyar Állatorvosok Lapja, 144(10). 613–622, 2022.

Mag P., Németh K., Somogyi Z., Jerzsele Á.: **Farmakokinetikai/farmakodinámiai modellekre alapozott antibakteriális terápia a kisállatgyógyászatban – 1. rész: Irodalmi összefoglaló**, Magyar Állatorvosok Lapja, 145(7). 419-438, 2023.

10. Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet és hálámat elsőként témavezetőmnek, Dr. Jerzsele Ákos tanszékvezető úrnak, szeretném kifejezni, aki biztosította a megfelelő anyagi hátteret és körülményeket kutatásom megvalósításához és nem utolsó sorban irányított és kiváló tanácsokkal látott el munkám során, illetve emellett barátként is mellettem állt.

Köszönöm a témabizottság tagjainak Dr. Makrai Lászlónak és Dr. Gyuranecz Miklósnak a témámmal kapcsolatos javaslatokat és információkat, illetve anyagokat, amelyekkel segítettek és támogatták előrehaladásomat.

Köszönettel tartozom Dr. Szabó Pálnak az LC-MS/MS-mérések során nyújtott segítségért és a tudásért, amelyet ez idő alatt átadott számomra.

Köszönettel tartozom Dr. Józwiak Ákosnak, Csorba Szilveszternek és Dr. Farkas Máténak a statisztikai számításokban nyújtott iránymutatásáért.

Köszönetemet kollégáimnak is szeretném kifejezni az Állatorvostudományi Egyetem Gyógyszertani és Méregtani tanszékéről: Dr. Karancsi Zitának, Dr. Veres Adrienn Mercédesznek, Dr. Palkovicsné Dr. Pézsa Nikolettnek, Dr. Kovács Dórának, Dr. Farkas Orsolyának és Dr. Nemes-Terényi Melindának, hogy javaslataikkal és támogató, biztató baráti hozzáállással mindig jelen voltak mellettem.

Köszönettel tartozom Balogh Katalin, Péntes Imre Tamásné Tünde és Paliczné Kustán Bianka kolleganőknek a laborban nyújtott segítségükért.

Külön köszönettel tartozom Borbás Évának az élőállatos kísérletek során nyújtott segítségéért és baráti támogatásáért. Az élőállatokkal történő munkákért szeretnék köszönetet mondani az Üllői Tangazdaság összes dolgozójának.

Köszönettel tartozom TDK hallgatóimnak, Dr. Nándori Alexandrának és Dr. Németh Baláznak.

Nagyon nagy hálával tartozom két kollégámnak és egyben barátomnak, Simon Rékának és Dr. Mag Patriknak, hogy az összes kísérlet során jelen voltak és mind barátilag, mind szakmailag támogatták kutatásomat.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném kifejezni köszönetem és hálámat menyasszonyomnak, Baranyi Katának, szüleimnek és barátaimnak, hogy a PhD kutatásom első pillanatától az utolsóig mellettem voltak és támogattak, mind a szép, mind a borúsabb napokon.