

TDK DOLGOZAT

Szalai Luca

2023

Állatorvostudományi Egyetem

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék



Az enrofloxacin farmakokinetikai/farmakodinámiai analízise sertés ízületi folyadékban *Glaesserella parasuis* fertőzés esetén

Készítette: Szalai Luca

V. évfolyam, állatorvos szak

Témavezető: dr. Somogyi Zoltán, egyetemi tanársegéd

ÁTE, Gyógyszertani és Méregtani Tanszék

Budapest

2023.

Tartalomjegyzék

1.	Rövidítések jegyzéke	2
2.	Bevezetés	4
3.	Irodalmi áttekintés	5
3.1	Enrofloxacin.....	5
3.2	Farmakokinetikai/farmakodinámiai elemzés	11
3.3	<i>Glaesserella parasuis</i>	14
3.3.1	Morfológia	14
3.3.2	Járványtan.....	14
3.3.3	Klinikai tünetek, diagnózis	15
3.3.4	Megelőzés, gyógykezelés	16
4.	Célkitűzések.....	17
5.	Anyag és módszer.....	18
5.1	A kísérletben használt állatok	18
5.2	Etikai jóváhagyás	18
5.3	Gyógyszerbeadás, mintavétel és tárolás.....	18
5.4	Az enrofloxacin koncentrációk meghatározása	19
5.5	Farmakokinetikai paraméterek meghatározása	20
5.6	Populációs farmakokinetikai analízis.....	21
5.7	Monte Carlo szimuláció	21
5.8	Farmakokinetikai/farmakodinámiai analízis.....	22
6.	Eredmények	23
6.1	In vivo farmakokinetikai kísérlet	23
6.2	Farmakokinetikai paraméterek.....	23
6.3	Populációs farmakokinetika	24
6.4	PK/PD _{CO} érték meghatározása	25
7.	Megbeszélés.....	26
8.	Összefoglaló	30
9.	Summary.....	31
10.	Irodalomjegyzék	32
11.	Köszönetnyilvánítás.....	37

1. Rövidítések jegyzéke

-2LL	log likelihood
AIC	Akaike információs kritérium
AMEG	Antimicrobial Advice <i>ad hoc</i> Expert Group - Antimikrobiális Tanácsadó <i>ad hoc</i> Szakértői Csoport
AUC_{0-∞}	plazmakoncentráció-idő görbe alatti terület végtelenre extrapolálva
AUC_{0-24h}	24 órára viszonyított plazmakoncentráció-idő görbe alatti terület
AUC/MIC	azon időintervallum két gyógyszerbeadás között, amely során az antimikrobiális szer koncentrációja meghaladja a baktériumszaporodás gátlásához szükséges koncentrációt
CBP	clinical breakpoint – klinikai határérték
CI	teljes test clearance
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute – Klinikai és Laboratóriumi Szabványügyi Intézet
C_{max}	maximális plazmakoncentráció
EMA	European Medicines Agency – Európai Gyógyszerügynökség
F	biológiai hasznosulás
HPLC	nagy nyomású folyadékkromatográfia
ID	immundiffúzó
im.	intramuszkuláris
iv.	intravénás
K_{ab}	felszívódás sebességi állandó
K_e	eliminációs sebességi állandó
LC-MS/MS	folyadékkromatográfia-tömegspektrometria
MIC	minimum inhibitory concentration – minimális gátló koncentráció
NLME	nem lineáris vegyes hatású modell
PD	farmakodinámia
PK	farmakokinetika
PK/PD_{co}	farmakokinetikai/farmakodinámiai határérték
PDT	pharmacodynamics target – farmakodinámiai célérték
p. o.	szájon át
PRDC	sértések légzőszervi komplex betegsége
PRRS	sértések légzőszervi tünetekkel és reprodukciós zavarokkal járó szindrómája

PTA	Probability of Target Attainment – a célérték elérésének valószínűsége
QRPEM	quasi-random parametric expectation maximization – kvázi-random parametrikus várakozás-maximalizálás becslési eljárás
sc.	szubkután
t_{1/2}	felezési idő
t_{max}	C _{max} eléréséhez szükséges idő
V_d	látszólagos megoszlási térfogat
VPC	vizuális prediktív ellenőrzés
WHO	World Health Organization – Egészségügyi Világszervezet

2. Bevezetés

Korunk egyik legmeghatározóbb problémája az antimikrobiális szerekkel szembeni rezisztencia a patogén, illetve a fakultatívan patogén mikroba populációkban mind közegészségügyi, mind állategészségügyi oldalon. A WHO (World Health Organization, Egészségügyi Világszervezet) becslései szerint 2050-re több ember fog meghalni a rezisztens baktériumok okozta fertőzésekben, mint daganatos megbetegedésekben. Az állatorvoslás egyik kiemelt feladata az antimikrobiális szerek használatának visszafogása és célzott felhasználása az állategészségügyben, valamint, a lehetőségekhez mérten, az antimikrobiális szerek helyettesítése alternatív készítményekkel (pl. pre- és probiotikumok, gyógynövénykivonatok). Ezek alapján a terápiás protokollok kidolgozása során kulcsfontosságú a kiválasztott gyógyszer pontos dózisát, az alkalmazás gyakoriságát és a kezelés hosszának időtartamát meghatározni. Az antibiotikumok farmakokinetikai és farmakodinámiai tulajdonságainak részletes vizsgálata ezt a célt szolgálja. Ezen vizsgálatok keretein belül kiemelkedő fontossággal bír a hatóanyagok hatáshelyen, azaz a fertőzés helyén történő vizsgálata, amellyel pontosabb képet kapunk a gyógyszer viselkedéséről, valamint a gyógyszer-kórokozó közötti kapcsolatáról.

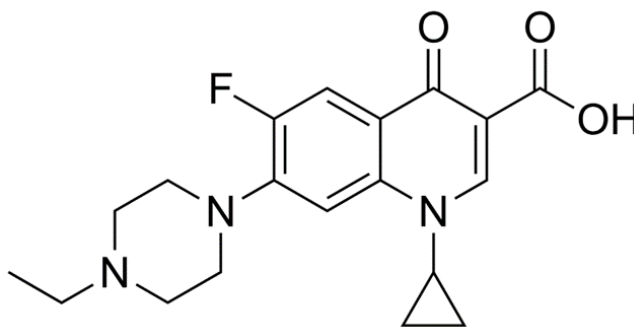
A sertéságazatban jelentős gazdasági kárt okoznak az ízületgyulladással járó fertőző megbetegedések, amelyek hátterében gyakran a *Glaesserella parasuis* áll, annak ellenére, hogy fakultatív patogén baktérium. A *G. parasuis* okozta megbetegedések kezelésére alkalmazható az enrofloxacin, amely széles spektrumú, így hatékony Gram-pozitív, illetve Gram-negatív baktériumok ellen is. Azonban az enrofloxacint az Európai Gyógyszerügynökség (EMA) AMEG B kategóriába sorolta, azaz a humánegészségügyben betöltött kulcsszerepe miatt kiemelten fontos a körültekintő használata az állategészségügyben. Kutatásunkban az enrofloxacin farmakokinetikai paramétereit vizsgáltuk ízületi folyadékban és vérplazmában, annak érdekében, hogy a kapott eredményeket felhasználva farmakokinetikai/farmakodinámiai elemzést végezhessünk el és javaslatot tehessünk a *G. parasuis* okozta fertőzések, különös tekintettel az ízületgyulladások célzott terápiájára.

Összegezve, a farmakokinetikai, valamint farmakodinámiai vizsgálatoknak nemcsak gazdasági és állatjólléti szerepe van, hanem segítségükkel megakadályozható, hogy a most még gyógyítható betegségek gyógyíthatatlanná váljanak.

3. Irodalmi áttekintés

3.1 Enrofloxacin

A kinolonok a mesterségesen előállított antibakteriális szereknek egy csoportja, amelynek tagjai 4-oxo-1,4-dihidrokinolin alapvázal rendelkeznek [1]. A fluorokinolonok esetében az alapvázhoz egy fluor atom kapcsolódik a C-6 pozícióban, így azok nagyobb mértékben képesek penetrálni a baktérium sejtfalán keresztül [2]. Ennek köszönhetően az antibakteriális spektrum jelentősen szélesebb, ezáltal a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumokkal szemben egyaránt hatékony. A C-7 pozícióhoz piperazinil-csoport kapcsolódik, metil csoport helyett, ami megnövelte a Gram-negatív baktériumokkal szembeni aktivitást. A Gram-pozitívok baktériumokkal szembeni hatás az N-1 pozícióhoz etil-csoport helyett kapcsolt ciklopropil-csoporttal növekedett, mint például az enrofloxacin esetében (1. ábra) [3]. A kémiai szerkezet különböző változtatásai az antibakteriális spektrum mellett a farmakokinetikai tulajdonságokat és a toxicitást is módosíthatják, például az enrofloxacin piperazil-csoportjához csatlakozó etil-csoport növeli a mértékét a felszívódásnak, szájon át történő alkalmazást követően, de csökkenti egyes Gram-negatív baktériumokkal szembeni hatékonyságot kutyák fertőző megbetegedéseiben [4].



1. ábra Az enrofloxacin szerkezete

Az enrofloxacin a kinolonok négy generációja közül a másodikba tartozik, amit az 1980-as években fejlesztettek ki [4]. Ez a generáció széles antimikrobiális spektrummal rendelkezik, ami a β -laktámokkal és szulfonamidokkal szemben rezisztens baktériumokat is tartalmazza [5]. Az ide tartozó további antibakteriális szerek: norfloxacin, ciprofloxacin, danofloxacin, difloxacin és marbofloxacin [4]. Az enrofloxacin volt az első fluorokinolon, amit állatorvosi alkalmazásra fejlesztettek ki és széles körben alkalmazták [5, 6]. Ennek ellenére ma már a használata nagymértékben visszaszorult az élelmiszertermelő haszonállatok gyógyászatában, a különböző állatfajokra vonatkozó engedélyezett alkalmazási szabályok pedig országonként változnak.

A WHO 2005-ben rendezte meg az első olyan találkozót, ahol a kritikus fontosságú antimikrobiális szerekről tárgyaltak a szakértők. A találkozó során az antibiotikumokat három csoportba sorolták, ezek a kritikusan fontos (critically important), kiemelten fontos (highly important) és fontos (important) csoportok voltak. A fluorokinolonok harmadik, negyedik, továbbá a második generációnak egy része is, köztük az enrofloxacin, a kritikusan fontos csoportba kerültek. Az Európai Gyógyszerügynökség (EMA) által létrehozott antimikrobiális tanácsadó ad hoc szakértői csoport (AMEG) a WHO listáját alapul véve alkotta meg az AMEG besorolást, amely négy kategóriába -A, B, C, D- sorolja az antibiotikumokat. Az enrofloxacin több fluorokinonnal együtt a B kategóriába tartozik [7].

A fluorokinolonok megváltoztatják a bakteriális DNS giráz (másnéven DNS topoizomeráz II) működését, ezáltal gátolják a bakteriális DNS replikációját és transzkripcióját. A két alegységből (A, B) álló DNS giráz feladata a dupla szálú DNS szétvágása és összeillesztése [5]. Az enrofloxacin célpontja az A alegységet kódoló *gyrA* gén, az így keletkezett DNS-enzim-gyógyszer komplex blokkolja a replikációs villa kialakulását, ami elősegíti a baktériumsejt gyors pusztulását. A fluorokinolonok nem csak a topoizomeráz II működését képesek gátolni, hanem a topoizomeráz IV enzimet is [8]. Gram-negatív baktériumoknál az előbbi, Gram-pozitívoknál (főleg *Staphylococcus* és *Streptococcus* fajok esetében) az utóbbi célponton hatnak elsődlegesen. Az emlős sejtek ellenálnak az ölő hatásnak, ugyanis ezen sejtek topoizomeráz II enzimének működése addig nincs gátolva, amíg a gyógyszer koncentráció el nem éri a 100-1000 µg/ml szintet, továbbá a baktericid hatást már 0,1-10 µg/ml vagy kisebb koncentrációnál is kifejti [9].

A fluorokinolonokkal szemben érzékeny baktériumok közé sorolható a *Pasteurella multocida*, a *Mannheimia haemolytica* és az *Actinobacillus pleuropneumoniae*, mint légzőszervi fertőző megbetegedések kórokozói. Az emésztőszervi fertőző megbetegedések kórokozói közül érzékeny az *Escherichia coli* és a különböző *Salmonella* fajok. Az intracelluláris kórokozók közül állategészségügyi oldalon ki kell emelni a *Mycoplasma*, a *Chlamydia*, és *Rickettsia* fajok érzékenységét. Az enrofloxacin tekintetében kiemelendő a Gram-negatív baktériumok közül a *Pseudomonas* fajokkal szembeni aktivitása. A Gram-pozitív baktériumok közül leggyakrabban a *Staphylococcus* fajok okozta megbetegedések kezelésére alkalmazzák a fluorokinolonokat. Ellenben az obligát anaerob baktérium fajokkal szembeni aktivitással az enrofloxacin nem rendelkezik, ez csak a későbbi kinolon generációk tagjaira jellemző [3].

Az antimikrobiális rezisztencia napjaink egyik legkutatottabb tudományterülete, ennek következtében fluorokinolonokkal szembeni rezisztenciáról is számos tanulmány született [10, 11]. A baktériumtörzsek fluorokinolonokkal szembeni rezisztenciája különböző módokon valósulhat meg: a kötőhelyek módosítása, a kötőhelyek védelme, a kötőhelyek kisebb mértékű kifejeződése, az efflux pumpák nagyobb mértékű megjelenése, a sejtfal átjárhatóságának csökkenése és a hatóanyag molekulájának inaktiválása révén. Ezek a különböző védekezési módszerek kromoszómán és egyes esetekben plazmidon keresztül öröklődhetnek. Az utóbbi útvonalon öröklődik a molekula inaktiválásáért felelős rezisztencia mechanizmus. Kromoszómális úton öröklődik a fluorokinolonok kötőhelyének megváltozása. Továbbá, mindkét öröklődési útvonalhoz kapcsolódik a fluorokinolonok kötőhelyének védelme vagy azok mérsékelt kifejeződése, és az efflux pumpák fokozott megjelenése a baktériumok sejtmembránján [12]. A fluorokinolonokkal szembeni különböző rezisztencia mechanizmusok végbe mehetnek egyidejűleg ugyanabban a baktériumban, ezáltal eredményezve azok nagy ellenállóképességét, vagyis multirezisztens baktériumtörzseket. A sejtfal, illetve a sejtmembrán csökkent átjárhatósága és az egyidejűleg megnövekedett efflux pumpák száma a fluorokinolonok MIC értékét ezen baktériumtörzsekkel szemben, akár 2-8-szorosára is növelheti, míg a giráz enzimet kódoló génszakasz egyetlen mutációja 64-szeresére növelheti a fluorokinolonok MIC értéket [13]. Leggyakrabban a *gyrA* génen bekövetkező mutációt szokták észlelni. Ezen génen belül egyre több mutációs pontot írnak le, amely a rezisztencia megjelenésért felelős. Másodlagosan a *parC* gén mutációja is bekövetkezhet, amely topoizomeráz IV enzimet kódolja. Utóbbi mutáció kizárólag giráz mutációval együtt valósulhat meg, ezáltal eredményezve magasabb rezisztenciaszintet [3, 4]. A *gyrB* génen is fedeztek fel mutációkat, azonban ezen mutációk kevésbé hatékonynak bizonyultak, mint a *gyrA* génen végbemenő mutációk. A fluorokinolonok kötőhelyének védelméért felelős gén, sok esetben kimutatható. Ez a gén kódolja a Qnr fehérjét, amely a DNS giráz enzimmal alkotott komplexéhez csatlakozva gátolja a fluorokinolonok kötődését a girázhoz, továbbá képes csökkenteni a stabilitását a létrejött DNS-giráz-fluorokinolon komplexeknek [13]. A legtöbb fluorokinolon protein csatornák segítségével jut be a Gram-negatív baktériumokba, azonban a sejtfal átjárhatóságának csökkenésével, kevesebb csatorna jelenik meg, így a baktériumsejt rezisztensé válik azon antibakteriális szerekkel szemben. Emellett az efflux mechanizmus aktiválódása is jellemző, aminek köszönhetően baktériumsejt több antibiotikumot tud kipumpálni. Az előbb említett rezisztencia mechanizmusok következtében a baktériumsejtek fluorokinolonokkal és más antimikrobiális szerekkel (keresztrezisztencia) szembeni érzékenysége jelentősen csökken [3, 4].

Az enrofloxacin biológiai hasznosulása monogasztrikus állatokban közel 80% szájon át történő alkalmazást követően. A kifejlett előgyomorrendszerrel rendelkező kérődzőkben csak parenterális alkalmazása engedélyezett [4, 13, 14]. Egy tanulmány szerint az orális biológiai hasznosulás a koplaltatott sertésekben magasabb, mint az etetett sertésekben [15]. Illetve a takarmányban található több vegyértékű ionok is megváltoztathatják a biológiai hasznosulást, ugyanis komplex kötésbe lépnek a fluorokinolonokkal, meggátolva azok felszívódását a bélrendszeren keresztül, ezáltal csökkentve a felszívódás mértékét [3, 4, 13]. A takarmány megnöveli a bevitt fluorokinolon plazmában elért maximális koncentrációjához szükséges időt [4]. Az orális készítményeket rossz ízének elfedésére, illetve stabilitásának növelésére számos eljárást fejlesztettek ki, amelyek közül a lipid burkok és nanokapszulák a legelterjedtebb [4, 16]. Intramuszkuláris és szubkután alkalmazásnál a felszívódás elnyújtottá válik, így a felezési idő nagyobb. Ez az elnyújtott felszabadulás a lipofilitásból adódó jelentős szövet affinitásnak, illetve a nagyállatoknál használt enrofloxacin injekció esetében az alkalikus kémhatásból adódó szövetirritációnak köszönhető [17–19].

A szöveti megoszlás függ a szabad gyógyszerkoncentrációtól, ami a plazmafehérjék koncentrációjától, a kötőhelyek számától és a kötés erősségétől függ [20]. Az abszorpciót követően a fluorokinolonok megoszlása gyors és terjedelmes, majdnem minden szövetet elérnek, ez részben az plazmafehérjékhez való alacsony (<50%) kötődésük miatt van [3]. Bár a plazmafehérjékhez való kötődés mértéke eltér az egyes állatfajokban, az enrofloxacin magas lipofilitása miatt nagy koncentrációt ér el a cerebrospinális folyadéktéren kívül bárhol, úgy, mint a csontokban, a kültakaró szöveteiben, a vizeletben, az epében, a májban, a belekben, a húgy-nemi szervekben, köztük a kutyák prosztatájában és agyhártyagyulladás esetén az idegrendszerben is [21]. Mivel az enrofloxacin jobban kötődik fehérjékhez, mint aktív metabolitja a ciprofloxacin, ezért az utóbbi magasabb szabad koncentrációt érhet el, ezáltal hatékonyabb lehet a betegségek kezelésére. Ennek ellenére az enrofloxacin nagyobb arányban képes a szövetekbe diffundálni, mint a ciprofloxacin. Az enrofloxacin megoszlási térfogata 1,0 L/kg körüli értéket vesz fel a különböző állatfajokban, ez alapján intracellulárisan megjelenik [13, 15]. Egy tanulmány szerint az enrofloxacin megoszlási térfogata a 6,0 L/kg-ot is elérheti sertésekben [4, 15, 19]. Egy korábbi publikációban sikeresen meghatározták sertésben az enrofloxacin koncentrációját a szövetekben 2,5 mg/kg-os im. injekció beadása után, és megállapítást nyert, hogy a szövetekben ugyanannyi vagy magasabb szintet ért el az antibiotikum koncentrációja, mint a vérplazmában [15].

A fluorokinolonok hepatikus és intesztinális metabolizmusának mértéke között jelentős különbségek vannak hatóanyagok és egyes állatfajok között is [22]. A metabolizmus elsősorban glükuronid konjugáció útján zajlik, ezáltal inaktiválódnak a legtöbb esetben. A piperazin gyűrű metabolizációjával az antimikrobiális hatás csökken [23]. Számos állatfajban az enrofloxacinból ciprofloxacin keletkezik [24]. A ciprofloxacin hatékonysága hasonló az anyamolekulához, azonban Gram-negatív baktériumok ellen kifejezettebb, míg *Staphylococcus* fajok ellen kevésbé hatékony [25]. Az átalakulás mértékéről számos tanulmány született, amelyek megállapították, hogy az állatok életkorától és hasznosítási irányától is függ a transzformáció mértéke. Sertések esetén idősebb állatokban nagyobb koncentrációban keletkezik ciprofloxacin, mint fiatalabb állatokban [19]. Szarvasmarhák esetén a tejelő tehenekben kevesebb ciprofloxacin termelődik, mint az ivartalanított hím húsmarhákban. Az emlősökkel ellentétben a halakban, hüllőkben és csirkékben az enrofloxacin- ciprofloxacin átalakulás minimális. A különböző állatfajokban a ciprofloxacin plazmabeli aránya az enrofloxacinhoz képest a következő: kutyában 40%, tejelő tehenben 59%, húsmarhában 64%, csirkében <10%, sertésben 51% és kecskében 34% [17, 26–29].

A fluorokinolonok kiválasztása történhet vizelettel, epével vagy mindkét útvonalon. A kiválasztás során a molekulák aktívak maradnak, így a fluorokinolonok hatásos gyógyszerek például húgyúti fertőzések esetén. A renális kiválasztás glomeruláris filtráció és tubuláris exkréció útján valósul meg, utóbbinak a szerepét demonstrálták probeniciddel, ami csökkentette a renális clearance-ét néhány fluorokinolonnak, köztük az enrofloxacinnak is [29–31]. Az enrofloxacin esetén főként a vesén keresztüli kiválasztás dominál, míg a ciprofloxacin vizelettel és epével is kiválasztódik [32]. Mindkét molekula esetén a metabolizmus egy része intesztinálisan is megvalósulhat, így az elimináció is a bélhámsejtek membránján keresztül történik, ez hozzájárul az epe szekréció során kiválasztott gyógyszer koncentrációhoz. Az enterohepatikus recirkuláció hozzájárul az eliminációs felezési idő elnyújtásához [4]. Az enrofloxacin és ciprofloxacin eliminációs felezési ideje eltér a különböző állatfajokban, az enrofloxacin esetén sertés (26,6 óra) és csirke (6,99 óra) eliminációs felezési ideje magasabb, mint a többi háziállatfajban [28, 33]. A clearance esetében is vannak állatfaji különbségek: sertésben és csirkében a ciprofloxacin clearance-e ötször nagyobb, mint az enrofloxacin clearance-e, míg a többi háziállatban magasabb az enrofloxacin clearance-e. Ezek a különbségek az enrofloxacin és ciprofloxacin eltérő kiválasztási útjaiban rejlenek [13]. Az enrofloxacin farmakokinetikai paramétereit az eddig publikált tanulmányok alapján az **1. táblázatban** láthatók.

1. táblázat: Az enrofloxacin farmakokinetikai adatai (átlag $\pm$ szórás) sertésben intramuszkulárisan (im.), szubkután (sc.) és szájon át (p.o.) alkalmazva az eddigi publikációk alapján. A $t_{\max} = C_{\max}$ eléréséhez szükséges idő, $C_{\max}$ = maximális plazmakoncentráció, $t_{1/2}$ = felezési idő, Cl = teljes test clearance, $AUC_{0-\infty}$ = koncentráció-idő görbe alatti terület a végtelenre extrapolálva.

Szövet	Beadási mód	Dózis	$t_{\max}$	$C_{\max}$	$t_{1/2}$	Cl	$AUC_{0-\infty}$	Forrás
		mg/kg	h	$\mu\text{g/ml}$	h	l/h/kg	(h $\times$ μg)/ml	
vérplazma	im.	2,5	$1,57 \pm 0,25$	$0,36 \pm 0,07$	$6,07 \pm 2,14$	$0,74 \pm 0,17$	$3,58 \pm 0,94$	[34]
vérplazma	im.	2,5	$0,74 \pm 0,11$	$0,74 \pm 0,38$	$5,17 \pm 1,65$	$0,33 \pm 0,12$	$15,87 \pm 3,39$	[35]
vérplazma	im.	2,5	$1,27 \pm 0,35$	$1,09 \pm 0,11$	$6,69 \pm 1,71$	$0,20 \pm 1,08$	$12,70 \pm 2,72$	[36]
vérplazma	im.	7,5	$3,50 \pm 1,58$	$1,31 \pm 0,32$	$9,49 \pm 2,12$	$0,43 \pm 0,06$	$17,82 \pm 3,02$	[37]
vérplazma	sc.	7,5	$4,11 \pm 1,73$	$1,10 \pm 0,28$	$26,59 \pm 2,23$	$0,18 \pm 0,08$	$47,86 \pm 20,50$	[19]
vérplazma	p.o.	10	$2,01 \pm 0,09$	$3,39 \pm 0,12$	$2,50 \pm 0,23$	$0,47 \pm 0,01$	$13,57 \pm 0,96$	[38]
ileum	im.	2,5	$5,54 \pm 0,42$	$7,07 \pm 0,26$	$8,50 \pm 1,66$	$0,072 \pm 0,18$	$136,18 \pm 12,50$	[36]

A fluorokinolonok viszonylag biztonságosnak számító antimikrobiális szerek, mivel a pozitív tulajdonságaik ellensúlyozzák a mellékhatásaikat [39, 40]. Az enrofloxacin esetében a legjellemzőbb mellékhatások az osztódásban lévő sejteket érintik [3, 5]. Ezek alapján a tünetek közé sorolható az émelygés, hányás és hasmenés, illetve sertések esetében az injekció beadása helyén a fokozott immunválasz jelenléte [40, 41]. A még fejlődésben lévő, fiatal állatok esetében jellemző a porckárosító hatása, arthropátiát és a szalagok gyulladását okozva [39, 40, 42, 43]. Yoon és társai összehasonították az enrofloxacin szalagkárosító hatását fiatal és felnőtt lovakban, és azt találták, hogy az elváltozások kifejezetten csikókban, mint kifejlett egyedekben [44].

Macskákban az enrofloxacin retina degenerációt is okozhat, amely a gyógyszer elhagyásával visszafordítható folyamat, egyes esetekben. A retina degenerációjának kialakulása összefüggésben áll az enrofloxacin és metabolitjainak retinában elért maximális koncentrációival. A hajlamosító tényezők közé tartozik a nagy gyógyszerdózis (5 mg/kg/nap feletti), ami magas plazmakoncentrációt eredményez, a gyorsan történő intravénás beadási mód, a hosszantartó kezelés, az előrehaladott életkor és a kezelés alatti UV fénynek való kitettség is [45–47].

Mivel a fluorokinolonok elsődlegesen a veséken keresztül ürülnek, így magas koncentrációt képesek elérni a vizeletben, azonban az alacsony vízoldhatóságuknak köszönhetően, ami az apoláris kémiai szerkezetükből következik, képesek kicsapódni a savas vizeletben, crystalluriát eredményezve. Ez a betegség a húsevő életmódot folytató állatokra (kutya, macska) jellemző, amelyek diétájában a magas protein tartalmú táplálékok játszik a fő szerepet [5, 14].

Az enrofloxacin nemiszervekben kifejtett negatív hatását elsősorban hím egyedekben vizsgálták, hogy milyen mértékben befolyásolja a toxicitás a fertilitási paramétereket. Egy korábbi publikáció szerint hím csirkékben nem károsítja a terápiás sávban beadott enrofloxacin az ivari traktust [48]. Azonban egy másik tanulmány szerint hím egerek spermaminőségét csökkentette a 150 mg/kg dózis felett beadott enrofloxacin azáltal, hogy károsította a here szövetét, így a spermatogenezis zavart szenvedett, csökkent motilitású és sérült morfológiájú ivarsejteket eredményezve [40]. Bár a női ivari traktusra kifejtett hatásáról kevesebb tanulmány született, kancáknál megfigyeltek az enrofloxacin intrauterin beadásánál akut hatásokat, köztük endometriális fekélyek, elhalás és vérzés kialakulását, és krónikus hatásokat, mint a fibrózist és gyulladást [49].

A mellékhatások között szerepel a központi idegrendszer zavara is (letargia, anorexia, excitáció, rohamok), amelyet emberben, kutyaiban, macskában és lóban mutattak már ki [3, 41]. Ez a neurotoxikus hatás az enrofloxacin GABA receptor antagonizmusán alapszik. Egy kutatás szerint az enrofloxacin megnöveli a rohamok frekvenciáját és intenzitását epilepsziás kutyákban [3, 14].

3.2 Farmakokinetikai/farmakodinámiai elemzés

A jelenkor egyik sürgető problémája az antibakteriális szerek széleskörű felhasználása folytán kialakuló és egyre növekvő rezisztencia. Az elmúlt időszakban ezért több kutatás is ezen gyógyszerek adagolásának optimalizálására irányult azzal a céllal, hogy a rezisztens baktériumok kisselektálódásának lehetőségét csökkentse egy-egy terápia során. A farmakokinetikai (PK) és a farmakodinámiai (PD) alapelvek integrálása, valamint a két terület közötti összefüggések elemzése, vagyis a PK/PD analízis, egyre inkább előtérbe kerül, mint modell a pontosabb dózis meghatározáshoz [18, 50].

A farmakokinetika a gyógyszer koncentrációjának időbeni változását írja le a szervezet folyadéktereiben. A farmakodinámia a gyógyszer hatását vizsgálja a szervezetre [51], míg az antimikrobiális szerek esetében az adott mikroorganizmus érzékenységét fejezi ki a hatóanyaggal szemben [52]. A PK/PD modellek ezt a két megközelítést kapcsolják össze, amely segítségével meghatározható a pontos antimikrobiális terápia [51].

A PK paraméterek közé tartozik a maximális koncentráció ($C_{\max}$), amit attól függően, hogy melyik folyadékterről (legtöbbször a vérplazmáról), illetve milyen beadási módról beszélünk, egy bizonyos idő ($t_{\max}$) után ér el. Mivel a központi rekesz a véráram és a hatóanyagok innen jutnak el további terekbe (szövetekbe), ennek a mértékét írja le a látszólagos megoszlási térfogat (V_d). Minél lipofilabb (zsíroldékonyabb) az adott gyógyszer, annál nagyobb koncentrációban található meg a szövetekben, így a megoszlási térfogata is nagy lesz. Ha a gyógyszer inkább hidrófil (vízoldékony) természetű, akkor a V_d alacsony lesz, azaz a koncentráció nagy része a szisztémás keringésben fog maradni. A gyógyszer szervezetből való kiürülését a clearance (Cl) és a felezési idő ($t_{1/2}$) jellemzi. A Cl az a plazmatérfogat, amely a beadott gyógyszertől időegységenként megtisztul. A felezési idő, azt az időintervallumot írja le, ami alatt a hatóanyag koncentrációja megfeleződik a testben. A felezési idő egyenesen arányos a látszólagos megoszlási térfogattal, míg a clearance értékével fordítottan arányos [53]. Fontos farmakokinetikai érték a koncentráció-idő görbe alatti terület (AUC), amely megadja, hogy mennyi hatóanyag jutott be a szervezetbe a felszívódás mértékétől függetlenül, mértékegysége $\mu\text{g} \times \text{h/ml}$ [54].

Bár a farmakokinetikai értékek az esetek többségében a vérplazmában elért koncentrációk alapján kerülnek meghatározásra, a fertőzés helye, vérpályába betörő fertőzések (szeptikémia, bakterémia) kivételével, legtöbbször a szervezet más folyadéktereiben találhatók. Ezért sokkal célzottabb terápiás protokollt lehet kidolgozni, ha a koncentrációk a fertőzési góc helyéül szolgáló folyadéktérben kerülnek meghatározásra. Mára már több kutatás is foglalkozott az antibakteriális szerek a test különböző rekeszeiben elért koncentrációval, például tüdőben, cerebrospinális folyadékban vagy ízületi folyadékban meghatározott PK értékeivel [55–57].

A PD paraméterek segítségével határozható meg az antimikrobiális aktivitás. Ezen paraméterek egyike a minimális gátló koncentráció (Minimal Inhibitory Concentration= MIC), amely standardizált körülmények között (24 órás inkubációt követően) meggátolja a kórokozó baktériumtörzsek látható növekedését [50].

Az antibiotikum érzékenységi vizsgálat egyik módja a korongdiffúziós teszt, amellyel a baktérium érzékenysége vagy rezisztenciája vizsgálható [59]. Ezzel szemben a mikrohigításos módszerrel megállapítható az antibakteriális szerek MIC értéke, amely egy kvantitatív érték vagyis felhasználható a PK/PD analízisek során [54, 60].

A fentiekben leírt farmakokinetikai és farmakodinámiai adatok összevonásával PK/PD analízist tudunk végezni. A fluorokinolonok hatékonyságának értékelésekor a szakirodalomban elfogadott index a koncentráció-idő görbe alatti terület és a MIC érték aránya (AUC/MIC) [61].

Az antibakteriális szerek körültekintő alkalmazása rendkívül fontos, ezért a terápiás protokollt az antibiotikum-érzékenységi vizsgálat eredményei alapján szükséges felállítani. A klinikai töréspontok (Clinical Breakpoints= CBP) alapján ezeket az eredményeket, azaz a MIC értékeket, be lehet sorolni három minőségi kategóriába: érzékeny, mérsékelten érzékeny vagy rezisztens (nem érzékeny) [52]. A PK/PD index legalacsonyabb értéke, a farmakodinámiai célérték (Pharmacodynamics target=PDT), amely preklinikai gyógyszer- mikroorganizmus expozíció-válasz összefüggéseken alapszik [62]. A PDT elérésének a valószínűségét a PTA (Probability of Target Attainment) adja meg, amelyet általában 90% vagy a feletti értéknek határoznak meg. Ezen adatok alapján, valamint figyelembe véve a populációs farmakokinetikai paramétereket megállapítható a farmakokinetikai/farmakodinámiai határérték (PK/PD_{CO}), amely a kórokozó azon kritikus MIC értéke, amelynél a vizsgált antibakteriális szer képes a PDT-t 90%-os valószínűséggel meghaladni [62].

Az antibakteriális szerek hatásmódjuk alapján két nagy csoportra oszthatók: a bakteriosztatikus hatású szerek, csak a baktérium szaporodását képes gátolni [63, 64], míg baktericid hatóanyagok képesek elpusztítani is a baktériumokat. Az előbbi csoportba tartozó antimikrobiális szerek csak ép immunrendszerű egyedeknél alkalmazhatók, míg az utóbbi csoportba tartozó szereket immunszuppresszált betegeknél is használhatók [18]. A baktericid csoport antibakteriális szereit további két csoportra oszthatjuk, attól függően, hogy melyik hat az idő, illetve melyik a koncentráció függvényében [64]. Az időfüggő antibakteriális szereknél az a cél, hogy a koncentrációjuk a szervezetben minél hosszabb ideig meghaladja a MIC értéket. Ezzel ellentétben a koncentrációfüggő baktericidek esetén a cél, hogy minél nagyobb koncentrációt érjen el a szervezetben [65].

Az enrofloxacin, mint a fluorokinolonok csoportjába tartozó antibakteriális szert, a koncentrációfüggő baktericid hatásmódú csoportba sorolják. A klinikai hatékonyságának kifejezésére a legújabb tanulmányok szerint az AUC/MIC összefüggést ajánlják [19, 58].

3.3 *Glaesserella parasuis*

3.3.1 Morfológia

A *Glaesserella parasuis* a Pasteurellaceae családba tartozó pálcika alakú baktérium, amely a sertések Glässer-betegségének primer kórokozójaként, valamint a sertések légzőszervi tünetegyüttesének (Porcine Respiratory Disease Complex = PRDC) szekunder kórokozójaként jelentős gazdasági károkat okoz a sertéságazatban [66–68]. Gram-negatív, nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD)-függő baktérium, amely gazdaspecifikus affinitást mutat a sertések irányába [69]. A tenyésztése leggyakrabban csokoládéagaron zajlik 5-10% CO₂-os levegő jelenlétében [70]. Mostanáig 15 szerotípust sikerült azonosítani, azonban a törzsek jelentős részét még nem sikerült ezekbe besorolni [68, 71]. A szerotípusok virulenciájában is jelentős különbségek vannak: a 6-os, 7-es, 9-es és 11-es szerotípus nem, míg a többi szerotípus virulensnek számít [71]. Az 1-es, 5-ös, 10-es, 12-es, 13-as és 14-es típusok a legpatogénebbek, míg a többi szerotípus mérsékelt patogén, amelyek többnyire ízületi gyulladást okoznak [68]. Bár a szerotípusok földrajzi elterjedése különböző, a leggyakrabban a 4-es, 5-ös és 13-as szerotípus okoz megbetegedéseket sertésekben [71].

3.3.2 Járványtan

A kórokozó a sertések felső légúti nyálkahártyáin találhatóak meg egészséges állatok esetében is [72]. A virulens törzsek fertőzött egyedekkel kerülhetnek az állományba. Minden korosztály fogékony a fertőzésre, ami aerogén úton vagy közvetlenül terjedhet. A fertőzött állományokban a kocák a betegség rezervoárjai, ezért a malacok már újszülött korukban megfertőződhetnek [70]. A szoptatás alatt a kocáktól fertőződnek a malacok, aminek következtében a malacok immunizálódnak, és szubklinikai hordozók lesznek. A malacok többsége védett a maternális immunitás miatt, azonban a koloszáris antitestek szintje a választás után jelentősen csökken. Emiatt a hordozók fertőzik a már ellenanyaggal nem rendelkező egyedeket [70]. Ezek alapján a betegség többnyire fiatal, 6-7 hetes korban hajlamosító tényezők eredményeként jelentkezik. Utóbbiak közé tartozik a választás, szállítás, valamint a falkásítás [73, 74].

A *G. parasuis* okozta fertőzés enzootiás és sporadikus, egyes esetekben lefolyását nagy mortalitás és morbiditás jellemezheti [68, 70, 73]. A betegség előfordulása azokon a sertéstelepeken a legnagyobb, ahol más kórokozók, úgy mint a PRRSV, PCV2 vagy influenza, jelen vannak [75].

A baktérium elsősorban a felső légutakban, valamint a légcsőben és a torokmandulák környékén szaporodik el, de képes szeptikémia folytán távolabbi helyekre is eljutni, mint a savóshártyákba, agyvelőbe, ízületekbe, ahol savós-fibrines gyulladást okoz [68, 69].

Az ellenállóképessége a környezetben gyenge. Kevés tanulmány tárgyalja a fertőtlenítőszerrel szembeni érzékenységét, a kvaterner ammóniumvegyületek kifejezetten hatékonynak bizonyultak [76].

3.3.3 Klinikai tünetek, diagnózis

A fertőzés négy formája különíthető el: Glässer-betegség (fibrines poliszerozitisz), szeptikémia, akut izomgyulladás a rágóizomban és a belsőfülgyulladása, továbbá tenyész- és hízósértésekben gennyes bronchopneumona [73].

Kezdetben magas testhőmérséklet, apátia és étvágytalanság jellemző. Súlyos esetekben köhögés és nehézlégzés figyelhető meg. Amennyiben a betegség áttérjed az agyburkokra inkoordináció, remegés és görcsök jelentkezhetnek. Ízületgyulladás következtében sántaság figyelhető meg. A megbetegedés lefutása lehet perakut, akut vagy krónikus [70, 73, 77].

Gyakran szövődményként jelentkezik sertések légúti tünetegyüttesében, ahol vírusokkal (PRRS, sertés cirkovírus, sertés influenza), illetve más baktériumfajokkal (*Mycoplasma hyopneumoniae*, *A. pleuropneumoniae*) egy időben okozhat klinikai tüneteket [78].

A lappangási idő 24 órától akár 4-5 napig is eltarthat. A betegség perakut lefutása hirtelen halált eredményezhet poliszerozitiszre utaló elváltozások nélkül, azonban a szeptikémia jelei megfigyelhetők [73]. Akut esetekben több ízületgyulladása és a savóshártyák gyulladása figyelhetőek meg [73, 75]. Amennyiben a fertőzött egyedekben mérsékeltek a klinikai tünetek a betegség krónikussá válhat, ami a súlyos fibrines savóshártya- és ízületgyulladás miatt sántasággal, csökkent növekedési rátával és durva szőrzettel jár [69, 75].

A *G. parasuis* fertőzések diagnózisa hagyományosan a klinikai tüneteken, a boncoláskor észlelt elváltozásokon és a bakteriológiai tenyésztésen alapul [69]. A kórbonctani vizsgálat során az elsődleges elváltozás a savós-fibrines vagy gennyes-fibrines váladék jelenléte a savóshártya felszíneken, különösen a hashártyán, szívburokban, mellhártyán vagy ízületi felszíneken, továbbá az agyburkokon [70].

3.3.4 Megelőzés, gyógykezelés

A betegség megelőzése szempontjából a legfontosabb a megfelelő tartástechnológiai és takarmányozási viszonyok megteremtése. Ugyanis, mint más kórokozók esetében, a *G. parasuis*-nál is a rossz higiénias viszonyok, a nem megfelelő takarmányozás és állománymenedzsment, a nem felügyelt szállítás és a különböző korban lévő állatok összeválogatása mind hajlamosító tényezők a baktérium elszaporodására [70].

Megelőzése céljából ma már vannak kereskedelmi forgalomban kapható és telepspecifikus vakcinák is. Azonban számos törzs, szerotípus és altípus közötti limitált keresztvédelem korlátozza a vakcinák hatékonyságát [74].

A gyógykezelés elsődleges módja az antibiotikum terápia. Az antibakteriális szerek parenterális alkalmazása hatékonyabb, mint a szájon át alkalmazott, mivel a *G. parasuis* okozta szisztémás fertőzésben szenvedő sertések kevesebb vizet és takarmányt vesznek fel [70, 79]. A betegség jellege miatt nagy dózis szükséges, hogy a központi idegrendszerbe és az ízületekbe való penetrációja biztos legyen [70]. Az antibiotikum-érzékenységi profil területenként eltérő, egy adott régió preferált hatóanyagaira reflektál. Például a dán, brit és ausztrál izolátumok még érzékenyek az antibakteriális szerekre, azonban jelentős rezisztencia figyelhető meg a kínai és spanyol izolátumokban [34, 80–84]. Jelentős, hogy a tetraciklinek és béta-laktámok elleni rezisztencia plazmidokban kódolódik [85, 86].

4. Célkitűzések

Kutatásom célja a sertésegészségügyben gyakran használt enrofloxacin farmakokinetikai tulajdonságainak vizsgálata volt sertés ízületi folyadékban, illetve vérplazmában. Az antibiotikumot az engedélyezett 7,5 mg/kg dózisban, szubkután beadást követően terveztük tanulmányozni a hatáshelyén. Az így kapott adatokat felhasználva az enrofloxacin farmakokinetikai paramétereinek számát kívántuk növelni a populációs farmakokinetikai elemzés és a Monte Carlo szimuláció alkalmazásával, annak érdekében, hogy az ízületgyulladásokat is okozó bakteriális megbetegedések antibakteriális terápiájára pontosabb javaslatot tehesünk.

A saját farmakokinetikai és a szakirodalomban fellelhető farmakodinámiai adatokból farmakokinetikai/farmakodinámiai (PK/PD) analízis felállításával vizsgáltuk az enrofloxacin egy potenciális indikációjának, a *Glaesserella parasuis* törzsek által okozott ízületgyulladások kezelésére való alkalmasságát. Fő célom egy terápiás javaslat meghatározása volt, annak érdekében, hogy a baktériumtörzsek kisebb valószínűséggel szelektálódhassanak ki.

5. Anyag és módszer

5.1 A kísérletben használt állatok

A kísérletben 10 darab, 10 hetes, $29,5 \pm 1,71$ kg testtömegű DanBred genetikájú (Lapály x Nagyfehér x Duroc) ártány sertést alkalmaztunk. Az állatok a kísérlet kezdete előtt egy héttel az Állatorvostudományi Egyetem Üllői Tangazdaságának sertéstelepén kerültek elhelyezésre, ahol az érkezésükkor, illetve a kísérlet kezdete előtt fizikális vizsgálatot hajtottunk végre rajtuk, különös figyelemmel az ízületek épségére és a szisztémás fertőzések jeleire. Megállapításra került, hogy a sertések egészségesek, valamint minden szükséges vakcinázáson átestek. A kísérlet ideje alatt folyamatos állategészségügyi felügyeletben részesültek. Az állatokat száraz padozatú, 21 ± 3 °C hőmérsékletű, 70-75%-os páratartalmú teremben fogadtuk, ahol a folyamatos ventilláció mellett 12 óra megvilágítást kaptak egy nap. A malacok a Tangazdaságban és a származási helyen is gyógyszermentes takarmányban, illetve ivóvízben részesültek. A takarmány és az ivóvíz a kísérletet megelőzően és annak ideje alatt is ad libitum állt az állatok rendelkezésére. A nyomonkövethetőség megkönnyítése végett egyedi jelöléseket alkalmaztam a sertéstenyésztésben használt jelölőkréta segítségével. A kísérlet után a sertések a Tangazdaságban maradtak

5.2 Etikai jóváhagyás

A kísérletet az Állatorvostudományi Egyetem Állatjólleti Bizottsága és a Pest Megyei Kormányhivatal Élelmiszerlánc-biztonsági, Növényvédelmi és Talajvédelmi Igazgatósága engedélyezte, az enrofloxacin 7,5 mg/kg dózisban történő vizsgálatát a PE/EA/00367-6/2022 ügyiratszámú határozatban. Továbbá a kísérlet során betartottam a laborállatokra vonatkozó jogszabályokat, az állatok jóllétét mindig szem előtt tartottam.

5.3 Gyógyszerbeadás, mintavétel és tárolás

A gyógyszerbeadást megelőzően lemértük az állatok testsúlyát, hogy a beadandó gyógyszer mennyiséget meghatározzuk. A vizsgálat során nem alkalmaztunk anesztéziát a sertéseken. A vakminták (vér, ízületi szinóvia) begyűjtését követően, szubkután beadtuk az enrofloxacint (Baytril Max oldatos injekció szarvasmarháknak és sertéseknek A.U.V., Bayer Animal Health GmbH, 51368 Leverkusen, Németország) 7,5 mg/kg dózisban. A gyógyszerbeadást követően 15, 30, 45, 60, 90 perccel és 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 24 és 48 órával vettünk vért, illetve 1, 2, 3, 4, 8, 12, 24 és órával ízületi folyadék mintákat.

A vérmintákat az egyedek *vena jugularis*-ából nyertük 21G x 2'' méretű tű és 2 ml-es fecskendő alkalmazásával lítium-heparinos vérvételi csőbe. Az ízületi folyadék mintákhoz a

carpalis ízületet, azaz az *articulatio antebrachio carpeae*-t használtuk, ami a *vena cephalica*-tól mediálisan fekszik, valamint a *tarsalis* ízületet, aminek a *dorsalis* részéből nyertük ki *arthrocentesis*-sel 22G x 1 ½'' tűvel 1 ml-es fecskendőbe a szinóviát. A mintavételeket megelőzően a mintavételi helyeket leszórtelenítettük, majd minden alkalommal a kontamináció elkerülése végett klórhexidines szappannal (Lifo-Scrub, 500 ml, fertőtlenítőszer B Braun, 40 g/l Chlorhexidine digluconate) letisztítottuk, ezután alkohollal (Bradoderm soft 500 ML kézfertőtlenítő és bőrfertőtlenítő) fertőtlenítettük. Az *arthrocentesis* során folyamatosan változtatott az ízületeket.

A lítium-heparinos csöveket 2-8°C-on hűtve tároltuk, majd 3000/perces fordulatszámon 5 percre centrifugáltuk. Ezután szeparáltuk a vérplazmát és „low-bind” Eppendorf csövekben (Low protein binding microcentrifuge tubes, Pierca™, Thermo Scientific), -80 °C tároltuk. Az ízületi folyadék mintákat natívan azonos körülmények között tároltuk.

5.4 Az enrofloxacin koncentrációk meghatározása

Az enrofloxacin mennyiségi meghatározását egy Agilent 1100 HPLC rendszerhez kapcsolt Sciex 6500QTrap tandem tömegspektrométeren végeztük. A méréseket elektro spray 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 percre tartottuk. A kezdeti összetételt 0,2 percre állítottuk be, és 2,8 percre 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 percre 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.

5.5 Farmakokinetikai paraméterek meghatározása

A vérplazmában és az ízületi folyadékban mért koncentrációkat lineáris és féllogaritmikus grafikonokon ábrázoltuk, annak érdekében, hogy kiválasszuk a farmakokinetikai elemzéshez megfelelő kezdeti modelleket. Ezek alapján nemrekeszes farmakokinetikai analízist végeztünk, amely során meghatároztuk a két hatáshely farmakokinetikai paramétereit a Phoenix 64 8.3.5.340 (Certara®, Princeton, NJ, USA) szoftver segítségével.

A vérplazmából származó koncentráció értékek alapján a koncentráció-idő görbe alatti terület kiszámításához a log-lineáris trapezoid módszert, az ízületi folyadék esetében pedig a log-trapezoid módszert. A λ Z sebességállandóját és az egyenes meredekségét a Phoenix szoftver becsülte meg és számította ki. A görbe illesztéséhez $1/Y^2$ súlyozási tényezőt alkalmaztunk, amely esetben az Y a két hatáshely enrofloxacin koncentrációjára mutat.

Az elemzés során megállapítottuk a maximális gyógyszer-koncentrációt (C_{max}), és az ennek eléréséhez szükséges időt (t_{max}). A koncentráció-idő görbe alatti terület értékeit 24 órára (AUC_{24h}) és a végtelenre ($AUC_{0-\infty}$) extrapolálva számoltuk ki. Továbbá meghatároztuk az eliminációs felezési időt ($t_{1/2el}$), az eliminációs sebességi állandót (K_e), a látszólagos megoszlási térfogatot (V_d), valamint a teljes test clearance-t (Cl).

Ezen paramétereket összehasonlítottuk a szakirodalmi adatokkal, továbbá ezekre alapozva adtuk meg az előzetes becsléseket a populációs farmakokinetikai analízis során a modell fejlesztéshez. A kapott eredményeket leíró statisztika módszerekkel értékeltük a Phoenix 64 8.3.5.340 szoftver segítségével.

A két hatáshely $AUC_{0-\infty}$ és C_{max} értékek arányát vizsgáltuk, továbbá a két hatáshely közötti szignifikáns eltéréseket kerestük. Ezen értékek eloszlását Shapiro-Wilk teszttel ellenőriztük, 95%-os valószínűségen, majd kétmintás t-próbával vizsgáltuk a szignifikanciát. Szignifikánsnak vettük azokat az eredményeket, ahol a $p < 0,05$. A statisztikai próbák elvégzéséhez a Knime (Knime AG, Zürich, Svájc) szoftvert használtuk.

Az enrofloxacin esetében megoszlik a tudományos álláspont a plazmafehérjékhez történő kötődés tekintetében. Mouton és munkatársai a vérplazmában mért koncentrációkra alapozott C_{max} és AUC értékek esetében a szabad plazmakoncentrációkkal történő korrekcióját javasolja a PK/PD index meghatározása során [87]. Azonban Messenger és mtsai. tanulmánya alapján az enrofloxacin szövetekben mérhető koncentrációja nagyobb, mint a vérplazmában, így nem szükséges a fehérjekötődés okozta kiigazítást elvégezni [19]. Az utóbbi tanulmány alapján ezért figyelmen kívül hagytuk a fehérjekötődést a kutatásunkban.

5.6 Populációs farmakokinetikai analízis

A populációs farmakokinetikai elemzés során, a Phoenix 64 8.3.5.340 szoftver segítségével, több nemlineáris vegyeshatású modellt fejlesztettünk a vérplazmában, illetve az ízületi folyadékban különböző időpontokban mért enrofloxacin koncentrációk alapján. A populációs farmakokinetikai modellek közül a véglegeset a log likelihood és az Akaike információs kritérium (AIC) [88] legalacsonyabb értékei alapján, továbbá az illeszkedési diagrammok és a vizuális prediktív ellenőrzés grafikonnjai alapján választottuk ki. Utóbbi, segítségével a megfigyelt és a szimulált értékek prediktív intervallumainak grafikus összehasonlítását végeztük el. Az illeszkedési diagramok elemzésével állapítottuk meg, hogy az általunk meghatározott valós értékek illeszkednek-e a modellek alapján számított elméleti eloszláshoz. Az összehasonlításokat a Phoenix szoftver modell-összehasonlító eszközével végeztük el. A végleges modellt kvázi-random parametrikus várakozás-maximalizálás becslési eljárással (Quasi-Random Parametric Expectation Maximization = QRPEM) kaptuk meg, amely egy egyrekeszes nyitott farmakokinetikai modell volt. Ez a modell mind a vérplazma, mind az ízületi folyadék esetében elsőrendű felszívódást és eliminációt feltételezett. Ezek alapján a következő populációs farmakokinetikai paramétereket határoztuk meg: a felszívódási sebességállandót (K_{ab}), az eloszlási térfogatot (V) és a clearance-et (Cl). A számításainkban a hibamodell multiplikatív hibából tevődött össze.

5.7 Monte Carlo szimuláció

A Phoenix 64 8.3.5.340 szoftverben Monte Carlo szimulációt végeztünk, hogy 5000 egyedből álló célpopulációt hozzunk létre az általunk fejlesztett populációs egyrekeszes nyitott farmakokinetikai modell alapján. Ennek értelmében a vérplazma és az ízületi folyadék esetében is az enrofloxacin koncentrációk hibaterminus nélküli szimulációját végeztük el. A szimuláció során a gyógyszerbeadást követő 0 és 48 óra között határoztuk meg az enrofloxacin koncentrációkat, 1 óránként.

5.8 Farmakokinetikai/farmakodinámiai analízis

A létrehozott 5000 malacból álló célpopuláció koncentráció-idő görbéit a Phoenix 64 8.3.5.340 program nemrekeszes felületével vizsgáltuk, annak érdekében, hogy kiszámítsuk minden egyed esetében a görbe alatti területet a végtelenre extrapolálva ($AUC_{0-\infty}$). A PK/PD elemzéshez a szakirodalom alapján az AUC/MIC összefüggést választottuk az enrofloxacin hatékonyságának értékeléséhez a *Glaesserella parasuis* fertőzések esetén [89, 90]. Ennek értelmében a szakirodalomi adatok az alapértelmezett farmakodinámiai célértéknek (PDT) egészséges sertésekben $\geq 28,64$ arányt, míg *G. parasuis*-szal mesterségesen fertőzött sertésekben $\geq 43,12$ arányt határoztak meg [34]. Ez alapján a *G. parasuis* okozta szeptikémia esetén az enrofloxacin baktericid hatásának kialakulásához az $AUC_{0-\infty}$ értékének a vizsgált MIC-értékek legalább 43,12-szeresét kell elérnie. Például, ha az enrofloxacin MIC-értéke a megbetegedést okozó *G. parasuis* izolátummal szemben $0,5 \mu\text{g/ml}$, akkor a sertésekben meghatározott enrofloxacin végtelenre extrapolált görbe alatti terület értékének legalább $21,56 (h \times \mu\text{g})/\text{ml}$ -t kell elérnie.

Abból kifolyólag, hogy az enrofloxacin egy koncentrációfüggő baktericid hatású antibakteriális szer, az AUC/MIC-cel végzett analízis során az egyszeri beadást követő összes gyógyszer mennyiséggel kell számolnunk, amelyet a végtelenre extrapolált görbe alatti területtel ($AUC_{0-\infty}$) fejez ki. Az általunk vizsgált enrofloxacin MIC-értékek tartománya a *G. parasuis* izolátumokkal szemben a szakirodalom alapján $0,03$ és $8 \mu\text{g/ml}$ között volt. Ezeknek tudatában vizsgáltuk a célérték elérésének valószínűségét (PTA), amelynek 90% vagy azt meghaladó eredménye esetén fogadtuk el mikrobiológiai szempontból hatékonynak a $7,5 \text{ mg/kg}$ dózisu sc. beadott enrofloxacint a vérplazma, illetve az ízületi folyadék tekintetében. Ezek figyelembevételével számítottuk ki az enrofloxacin farmakokinetikai/farmakodinámiai határértékét, vagyis az enrofloxacin azon kritikus MIC értékét, amely esetében még érzékenynek tekinthetők, szeptikémia vagy ízület gyulladás esetén a *G. parasuis* izolátumok.

6. Eredmények

6.1 In vivo farmakokinetikai kísérlet

A kísérletben részt vett sertések klinikailag egészségesek maradtak, a vér- és ízületi folyadék mintavételek sikeresek voltak.

6.2 Farmakokinetikai paraméterek

Az engedélyezett 7,5 mg/kg dózisban, egyszeri alkalommal, szubkután (sc.) beadott enrofloxacin, valamint a szervezetben belőle kialakuló metabolit, a ciprofloxacin, koncentráció-idő görbéit alkalmaztuk a farmakokinetikai analízis kezdeti becsléseihez. A két hatóanyagot koncentráció minden mintavételi időpontban a kimutathatósági határérték felett voltak, beleértve az utolsó 48 órás mintavételeket is. Az egyedek közötti eltérések nem voltak jelentősek. Az enrofloxacin fontosabb farmakokinetikai paramétereit sertés vérplazmára, illetve ízületi folyadékra vonatkozóan a **2. táblázat** foglalja össze. A kísérlet során vizsgált hatáshelyek farmakokinetikai paramétereit összehasonlítva számos különbség állapítható meg. Az enrofloxacin a maximális hatóanyagkoncentrációt ($C_{\max}$) szignifikánsan ($p < 0,05$) hamarabb érte el a vérplazmában ($t_{\max} = 4,90 \pm 2,69$ h), mint az ízületi folyadékban ($t_{\max} = 6,90 \pm 2,33$ h). A felezési idő ($t_{1/2}$) az utóbbi folyadéktér esetében hosszabb volt, azonban nem szignifikánsan. A végtelenre vetített görbe alatti terület ($AUC_{0-\infty}$) az ízületi folyadékban szignifikánsan nagyobb értéket ért el ($AUC_{0-\infty} = 46,31 \pm 16,68$ (h $\times$ μ g)/ml), mint a vérplazmában ($AUC_{0-\infty} = 39,96 \pm 5,35$ (h $\times$ μ g)/ml). A két hatáshely $AUC_{0-\infty}$ értékeinek hányadosa szignifikáns eltéréseken alapszik, ennek az értéke $1,15 \pm 0,32$ volt. Ez az arány tükrözi, hogy az enrofloxacin nagyobb koncentrációt ér el az ízületi folyadékban, mint a vérplazmában. Ezzel szemben, a $C_{\max}$ értékek esetében szignifikáns eltérés nem igazolható a két folyadéktér közötti minimális különbség miatt. Ezáltal a $C_{\max}$ értékek aránya a két hatáshely tekintetében csak $0,97 \pm 0,45$ volt. A fenti arányokat mind a 10 sertés adatainak figyelembevételével határoztuk meg.

2. táblázat: A 7,5 mg/kg dózisban, szubkután alkalmazott enrofloxacin farmakokinetikai paraméterei egyszeri beadást követően sertés vérplazmában és ízületi folyadékban. A C_{max} = maximális gyógyszerkoncentráció a vérplazmában és az ízületi folyadékban, t_{max} = C_{max} kialakulásához szükséges idő, $t_{1/2}$ = felezési idő, Cl = teljes test clearance; V_d = látszólagos megoszlási térfogat, K_e = eliminációs sebességi állandó, $AUC_{0-\infty}$ = végtelenre extrapolált koncentráció-idő görbe alatti terület, AUC_{0-24h} = 24 órára extrapolált koncentráció-idő görbe alatti terület.

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

6.3 Populációs farmakokinetika

Az általunk elfogadott populációs egyrekeszes nyitott farmakokinetikai modell értékeire alapozva sikeresen végeztünk Monte Carlo szimulációt, amelynek eredményeként 5000 egyedből álló célpopulációkat hoztunk létre a vérplazma és az ízületi folyadék esetében is. A két hatáshely esetében 5000-5000 egyed enrofloxacin koncentráció-idő görbéjének segítségével sikeresen végeztünk nemrekeszes farmakokinetikai analízist, amelynek eredményeit a **3. táblázat** írja le.

3. táblázat: Az enrofloxacin Monte Carlo szimulációval meghatározott farmakokinetikai paraméterei 7,5 mg/kg dózisban, egyszeri szubkután alkalmazást követően sertés vérplazmában és ízületi folyadékban (nemrekeszes modell, átlag ± SD eredményei). A C_{max} = maximális gyógyszerkoncentráció a vérplazmában és az ízületi folyadékban, t_{max} = C_{max} kialakulásához szükséges idő, Cl = teljes test clearance; V_d = látszólagos megoszlási térfogat, $AUC_{0-\infty}$ = koncentráció-idő görbe alatti terület a végtelenre extrapolálva, AUC_{0-24h} = koncentráció-idő görbe alatti terület 24 órára vonatkoztatva.

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

6.4 PK/PD_{CO} érték meghatározása

A PK/PD_{CO} érték meghatározásánál a nemrekeszes elemzés farmakokinetikai paramétereit, valamint az enrofloxacin *G. parasuis* izolátumokkal szembeni lehetséges MIC értékeit (0,03-8 µg/ml) vettük alapul. Szakirodalmi adatok alapján a *G. parasuis* okozta septicémia és ízületgyulladás esetén javasolt farmakokinetikai/farmakodinámiai határérték 1 µg/ml az egészséges sertésekben meghatározott farmakodinámiai célérték (PDT = AUC_{0-∞}/MIC esetén 28,64) alapján, legalább 90%-os valószínűség mellett (PTA). Amennyiben a kórokozóval fertőzött sertések PDT-jét (43,12) vesszük alapul, akkor a 90%-os valószínűség mellett, az okozott septicémia és ízületgyulladás esetében a javasolt PK/PD határérték 0,5 µg/ml. Ezen eredmények az enrofloxacin egyszeri, 7,5 mg/kg dózisban alkalmazott szubkután adagolására érvényesíthetők vérplazmában, illetve ízületi folyadékban. Az egészséges sertésekre vonatkozó eredményeket a **4. táblázat**, míg a *G. parasuis* által megbetegített sertések eredményeit az **5. táblázat** szemlélteti.

4. táblázat: A Monte Carlo szimulációból származó AUC_{0-∞} értékek használatával megállapított PTA értékek, amelyek azt a valószínűséget jelzik az egyes cellákban (százalékban kifejezve), hogy az egyes MIC-értékek esetében az AUC/MIC-arány eléri-e az **egészséges sertésekre jellemző** 28,64-es értéket az enrofloxacin egyszeri 7,5 mg/kg dózisban, szubkután történő alkalmazását követően vérplazmában és ízületi folyadékban.

Hatáshely	AUC _{0-∞} /MIC arány	MIC-értékek (µg/ml)								
		0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
vérplazma	≥28,64	100	100	100	100	100	99,86	0	0	0
ízületi folyadék	≥28,64	100	100	100	100	100	93,56	16	0	0

5. táblázat: A Monte Carlo szimulációból származó AUC_{0-∞} értékek használatával megállapított PTA értékek, amelyek azt a valószínűséget jelzik az egyes cellákban (százalékban kifejezve), hogy az egyes MIC-értékek esetében az AUC/MIC-arány eléri-e a ***G. parasuis* fertőzött sertésekre jellemző** 43,12-es értéket az enrofloxacin egyszeri 7,5 mg/kg dózisban, sc. történő alkalmazását követően vérplazmában és ízületi folyadékban.

Hatáshely	AUC _{0-∞} /MIC arány	MIC-értékek (µg/ml)								
		0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
vérplazma	≥43,12	100	100	100	100	100	13,44	0	0	0
ízületi folyadék	≥43,12	100	100	100	100	99	52,06	1	0	0

7. Megbeszélés

Kutatásomban az engedélyezett 7,5 mg/kg dózisban egyszer, szubkután alkalmazott enrofloxacin farmakokinetikai tulajdonságait vizsgáltam sertés vérplazmában, valamint ízületi folyadékban. Célom ezzel az enrofloxacin sertésben való hatékonyságának tanulmányozása volt, PK/PD analízis használatával, *Glaesserella parasuis* okozta szeptikémia és ízületgyulladás esetén, hogy egy pontosabb kezelési protokoll kidolgozására lehetőség nyíljon. Az enrofloxacin esetében korábban nem állt rendelkezésünkre PK/PD modell, amely leírná az optimális adagolást a *G. parasuis* okozta betegségek, köztük a Glässer- betegség, kezeléséhez sertésekben. Yang és mtsai. 2022-es publikációban vizsgálták először az enrofloxacin 2,5 mg/kg dózisban, intramuszkulárisan történő beadásakor felállítható PK/PD modellt *G. parasuis* okozta fertőzés esetén [34]. Azonban a mi kísérletünk az első, amelyben az enrofloxacin engedélyezett 7,5 mg/kg dózisban sc. történő beadása során, direkt mintavételeket követően vizsgáltuk a hatóanyag koncentrációjának változását az ízületi folyadékban. Valamint ezen eredmények és az NLME modell alapján elsőként illesztettünk egyrekeszes farmakokinetikai modellt a kapott eredményekre [18].

Először az antibakteriális szer farmakokinetikai paramétereit állapítottuk. Míg a vérben mért adatokat számos nemzetközi tanulmánnyal vethettük össze, addig az ízületi folyadékban mért paramétereket főként lovak esetében vizsgálták szájon át, illetve intravénás regionális perfúzióval történő egyszeri vagy többszöri alkalmazást követően [57, 91].

A vérben a maximális koncentrációt ($C_{\max}$), azaz a $2,43 \pm 0,9$ $\mu\text{g/ml}$ -t $4,90 \pm 2,69$ óra alatt érte el ($t_{\max}$). A Messenger és munkatársai által kiadott publikációban, ahol ugyanezen adagolás (7,5 mg/kg) és beadási mód (szubkután) alapján alkalmazták az enrofloxacint sertésekben, a $t_{\max}$ 4-5 óra között volt, hasonlóan a mi eredményeinkhez, azonban a $C_{\max}$ esetében $1,1 \pm 0,28$ $\mu\text{g/ml}$ értéket állapítottak meg [19]. A clearance (Cl) értékeket összehasonlítva is hasonlóságok adódtak a két kutatás között: a mi kísérletünkben a nemrekeszes farmakokinetikai analízisben mért clearance $0,19 \pm 0,024$ (l/h)/kg, valamint az egyrekeszes farmakokinetikai modell alapján kiszámított tipikus érték $0,19 \pm 0,01$ (l/h)/kg volt, míg a másik kutatásban egyrekeszes analízis alkalmazásával $0,18 \pm 0,07$ (l/h)/kg-os eredmény jött ki [19]. Ezzel szemben jelentős eltérés figyelhető meg a látszólagos megoszlási térfogatok (V_d) esetében. Míg az általunk elvégzett nemrekeszes analízisben $3,78 \pm 0,68$ l/kg értéket, illetve az egyrekeszes populációs modellben $3,48 \pm 0,31$ l/kg értéket állapítottunk meg, addig ez a paraméter $6,4 \pm 1,2$ l/kg volt a Messenger és mtsai. által kiadott tanulmányban.

A különbségek forrása feltehetően a két kísérletben alkalmazott malacok eltérő életkora, ugyanis mi 10 hetes malacokkal dolgoztunk, a másik kutatásban, azonban 4 hetes választott malacok szerepeltek [19]. A lipid-oldékony vegyületek esetén a V_d általában az életkorral párhuzamosan nő. Ennek az ellentmondásnak a feloldásához további kutatásokra lenne szükség. A felezési idők ($t_{1/2}$) közötti különbségek hátterében is az eltérő életkor állhat. A Messenger és mtsai. által meghatározott felezési idő ~26 órának felel meg, ez az érték hozzávetőleg kétszerese mind nemrekeszes analízisünk, mind az egyrekeszes farmakokinetikai modellünk alapján megállapított ~12-13 órás felezési időnek [19]. Más tanulmányokban, ahol eltérő beadási móddal, valamint eltérő dózisban alkalmazták az enrofloxacin sertésekben, azaz 2,5 mg/kg dózisban, egyszeri intramuszkuláris (im.) beadást követően, a $t_{1/2}$ értéke ~5-7 óra volt [34–36]. Ezek alapján elmondható, hogy a nagyobb dózisban szubkután alkalmazva az enrofloxacin felezési ideje hosszabb, mint im. kisebb dózisban alkalmazva. A különbség hátterében a szubkután beadásra szánt gyógyszerek eltérő formulája, valamint a beadási helyek eltérő fiziológiai tulajdonságai állnak (pl. erezetesség).

Ahogy azt már korábbi tanulmányok is igazolták, köztük Messenger és munkatársai, az enrofloxacin képes jelentősen nagyobb koncentrációt elérni a perifériás szövetekben, mint vérplazmában. Ennek hátterében is a hatóanyag lipofil tulajdonsága áll [19]. Ezt a jelenséget mi is alátámasztottuk a kísérletünkben, ugyanis az AUC arány (ízületi folyadék/vérplazma) értéke, amely a két hatáshely közötti szignifikáns különbségeken alapszik $1,15 \pm 0,32$ volt. A perifériás szövetekben elért nagyobb koncentráció miatt a hatóanyag plazmafehérjékhez való kötődését, ami sertések esetén 30-35%, nem vettük figyelembe a kutatásunkban [19, 33, 34]. Azonban feltételezhető, hogy az ízületgyulladások akut fázisában az ízületi folyadék fehérje tartalma megnő, így az enrofloxacin koncentráció is nagyobb lesz az ízületekben.

A kutatásunkban alátámasztást nyert, ahogy azt korábbi tanulmányok is leírták, hogy az enrofloxacin metabolizációja során kialakuló ciprofloxacin antibakteriális aktivitása ebben a koncentráció-tartományban Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumokkal szemben elhanyagolható [15, 34, 35].

A Monte Carlo szimuláció alkalmazásával létrehozott 5000 egyed farmakokinetikai paramétereit a farmakokinetikai/farmakodinámai határérték (PK/PD_{CO}) kiszámításához *G. parasuis* fertőzés esetén, az enrofloxacin lehetséges MIC értékeit vettük alapul 0,03-8 µg/ml közötti tartományban. A farmakodinámai célértékeket (PDT) Yang és munkatársainak leírásából vettük, amelyben *G. parasuis* fertőzött és egészséges sertések esetében határozták meg ezt [34]. Ez alapján egészséges sertésekben a *G. parasuis* okozta szeptikémia és ízületgyulladás esetében 1 µg/ml farmakokinetikai/farmakodinámai határértéket állapítottunk meg vérplazmára, illetve ízületi folyadékra nézve 28,64 farmakodinámai célérték (PDT) és ≥ 90%-os valószínűség (PTA) esetén. A *G. parasuis* baktériumokkal fertőzött sertésekben az okozott szeptikémia és ízületgyulladás esetében 0,5 µg/ml PK/PD_{CO} értéket határoztunk meg a két hatáshelyre 43,12 PDT érték és ≥ 90%-os PTA érték esetén. Korábbi publikációk határértékeivel, és a CLSI által meghatározott klinikai határértékhez hasonló *Actinobacillus pleuropneumoniae* és *Pasteurella multocida* fajok esetében [92]. Összegezve kutatásunk alapján a *Glaesserella parasuis* okozta ízületgyulladás és szeptikémia esetén, sertésekben farmakokinetikai/farmakodinámai határértéknek, vagyis kritikus MIC értéknek az enrofloxacinra vonatkoztatva a 0,5 µg/ml-es érték javasolható, továbbá az ezzel egyenlő vagy ennél kisebb MIC-értékek esetén várható klinikai és mikrobiológiai javulás. Mindez abban az esetben feltételezhető, ha az enrofloxacint 7,5 mg/kg dózisban, sc. egyszer alkalmazzák a beteg egyedeken.

Ahhoz, hogy a kutatásunk eredményeit összevethessük a nemzetközi szakirodalommal, több tanulmányra lenne szükség a *G. parasuis* okozta szeptikémia és ízületgyulladás kezelésére alkalmazott enrofloxacin PK/PD határértékének meghatározásával kapcsolatban. A kutatás újszerűsége folytán az eredményeinket az enrofloxacin más kórokozókkal szembeni hatásával hasonlítottuk össze. Hao és mtsai. a *Salmonella* fajok érzékenységét vizsgálták enrofloxacinnal szemben sertésben, az általuk javasolt PK/PD_{CO} érték ≤ 0.25 µg/ml vérplazmára vonatkoztatva, az AUC/MIC arányt ≥ 100 -nak vették [35]. A kísérlet során az enrofloxacin egyszeri 2,5 mg/kg dózisban intramuszkulárisan történő beadását követően a Monte Carlo szimulációval létrehozott 10000 egyedből álló populáción vizsgálták a hatóanyag tulajdonságait [35].

A kísérletünkben kapott PK/PD határérték *G. parasuis* fertőzés esetén mind az egészséges ($\leq 1 \mu\text{g/ml}$), mind a beteg ($\leq 0,5 \mu\text{g/ml}$) sertésekben magasabb, mint *Salmonella* fertőzés esetén, ahol ugyanez az érték $\leq 0,25 \mu\text{g/ml}$, ezek alapján az előbbi kórokozó ellen nagyobb dózisban kell alkalmazni az enrofloxacin, mint az utóbbiban. Messenger és mtsai. több enrofloxacin által célzott patogén (*A. pleuropneumoniae*, *P. multocida* és *S. suis*) MIC értékeit, valamint a hatóanyag farmakokinetikai paramétereit Monte Carlo szimuláció segítségével vizsgálták 7,5 mg/kg dózisban, szubkután alkalmazott enrofloxacin esetén [19]. Az így kiszámolt AUC/MIC arányt Gram-negatív baktériumok esetén > 100 -nak, Gram-pozitív baktériumok esetén pedig > 50 -nek fogadták el [19]. A PK/PD_{CO} érték, $\geq 90\%$ -os PTA mellett, $\leq 0,25 \mu\text{g/ml}$ a Gram-negatív (*A. pleuropneumoniae*, *P. multocida*) és $\leq 0,5 \mu\text{g/ml}$ a Gram-pozitív baktériumok (*S. suis*) esetén [19].

A fentiek alapján látható, hogy a különböző kórokozók esetében az adott antibakteriális szer farmakokinetikai/ farmakodinámiai határértékei eltérőek, ezért fontos érzékenységi vizsgálatot végezni az adott állomány antibakteriális kezelését megelőzően, hogy megállapítsuk a betegséget kiváltó kórokozó érzékenységét. Az antibakteriális szerek farmakokinetikai paramétereinek különböző hatáshelyein való vizsgálatának segítségével egy pontosabb adagolás dolgozható ki a különböző baktériumfajok okozta fertőzések terápiájaként, mivel az egyes folyadékterekben elért hatóanyag koncentráció, és így a hatás is eltérő lehet. Kutatásunk az ízületi folyadéktér, valamint a vérplazma vizsgálatára tért ki *Glaesserella parasuis* okozta fertőzés esetén sertésekben, ugyanis a sertéságazatban a termelés-visszaesés egyik fő oka a sántasággal járó kórképek jelenléte az állományban. A jövőben érdemes lenne kutatásokat végezni egyéb hatáshelyekkel kapcsolatban is. A PK/PD analízis hatáshelyen történő alkalmazásának segítségével kidolgozható a megfelelő kezelési protokoll, amelyben a hatékony antibakteriális szert megfelelő dózisban, megfelelő ideig és a szükséges gyakorisággal adagolhatjuk, mindemellett csökkentve a rezisztens baktériumtörzsek szelekcióját.

8. Összefoglaló

Az enrofloxacin a fluorokinolonok csoportjába tartozó koncentrációfüggő baktericid hatású antibakteriális szer. Széles antibakteriális spektrummal rendelkezik, mind a Gram-pozitív, mind a Gram-negatív baktériumokkal szemben hatásosnak bizonyul. Szubkután, intramuszkulárisan és szájon át alkalmazva jól felszívódik, a szöveti megoszlása kiváló, a lipofilitása miatt képes átjutni a szervezet speciális barrierein. Kutatásunk elsődleges célja az engedélyezett 7,5 mg/kg dózisban, egyszeri beadással, szubkután alkalmazott enrofloxacin farmakokinetikai paramétereinek meghatározása volt sertés vérplazmában és ízületi folyadékban, illetve a kapott adatok jelentőségének vizsgálata a *Glaesserella parasuis* okozta ízületgyulladások kezelésében.

A kísérletet 10 db, 10 hetes, $29,51 \pm 1,71$ kg testtömegű DanBred genetikájú ártány sertésen végeztük, amely során vér és ízületi folyadék mintákat gyűjtöttünk a gyógyszerbeadást megelőzően és az azt követő időpontokban: 15, 30, 45, 60, 90 perccel, továbbá 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 24 és 48 órával vért, és 1, 2, 3, 4, 8, 12, 24 és 48 órával ízületi folyadékot vettünk.

A hatóanyagkoncentrációt a két folyadéktérben folyadékkromatográfia-tömegspektrometria (LC-MS/MS) segítségével határoztuk meg. Az így kapott adatokat koncentráció-idő görbén értékeltük a vérplazmában és az ízületi folyadékban, ezután nemrekeszes farmakokinetikai elemzéssel számítottuk ki a jelentősebb farmakokinetikai paramétereket ($t_{\max}$, $C_{\max}$, Cl, V_d , $AUC_{0-\infty}$, $t_{1/2}$, K_e)

Az enrofloxacin $5,03 \pm 1,62$ h ($t_{\max}$) alatt érte el a maximális koncentrációt ($C_{\max}$) a vérplazmában, amelynek értéke $1,66 \pm 0,33$ µg/ml-nek bizonyult. Az ízületi folyadékban $8,60 \pm 2,09$ h alatt érte el a $1,67 \pm 0,49$ µg/ml-es $C_{\max}$ értéket. Az enrofloxacin clearance-e (Cl) a vérplazmában $0,19 \pm 0,02$ (l/h)/kg, míg az ízületi folyadékban $0,18 \pm 0,05$ (l/h)/kg volt. A látszólagos megoszlás (V_d) az előbbi térben $3,57 \pm 0,64$ l/kg-nak, az utóbbiban $2,96 \pm 0,97$ l/kg-nak bizonyult. A görbe alatti terület ($AUC_{0-\infty}$) a vérplazma esetén $38,89 \pm 3,89$ (h × µg)/ml, az ízületi folyadék esetén $45,26 \pm 12,68$ (h × µg)/ml volt.

Szakirodalmi adatok alapján az egészséges sertésekben meghatározott AUC/MIC farmakodinámiai célérték (28,64 óra) alapján 90%-os valószínűség (PTA) mellett a *G. parasuis* okozta septicémia és ízületgyulladás esetében a javasolt farmakokinetikai/farmakodinámiai határérték (PK/PD_{co}) 1 µg/ml. Abban az esetben, ha a *G. parasuis* fertőzött sertésekben meghatározott farmakodinámiai célértéket (43,12 óra) vesszük alapul, akkor 90%-os valószínűség mellett a *G. parasuis* okozta septicémia és ízületgyulladás esetében a javasolt PK/PD határérték 0,5 µg/ml.

9. Summary

Enrofloxacin is a concentration-dependent bactericidal antibacterial agent, which belongs to the fluoroquinolone group. It has a broad antibacterial spectrum, effective against both Gram-positive and Gram-negative bacteria. It is absorbed well subcutaneously, intramuscularly and orally, has excellent tissue distribution and is able to cross the special barriers of the body due to its lipophilicity. The primary objective of our study was to determine the pharmacokinetic parameters of enrofloxacin in pig plasma and synovial fluid at the approved dose of 7.5 mg/kg, administered subcutaneously in a single dose, and to evaluate the relevance of the data in the treatment of arthritis caused by *Glaesserella parasuis*.

The experiment was performed on ten 10-week-old DanBred pigs, weighing 29.51 ± 1.71 kg, by collecting blood and synovial fluid samples before and after drug administration: blood samples were collected after 15, 30, 45, 60, 90 minutes and 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 24 and 48 hours, and synovial fluid samples were collected after 1, 2, 3, 4, 8, 12, 24 and 48 hours.

Drug concentrations in the two fluid compartments were determined by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS). The resulting data were evaluated by concentration-time curves for blood plasma and synovial fluid, and then the significant pharmacokinetic parameters ($t_{\max}$, $C_{\max}$, Cl, V_d , $AUC_{0-\infty}$, $t_{1/2}$, K_e) were calculated by non-compartmental pharmacokinetic analysis.

The maximum concentration ($C_{\max}$) of enrofloxacin in plasma was reached in 5.03 ± 1.62 h ($t_{\max}$), with a value of 1.66 ± 0.33 µg/ml. In the synovial fluid, it reached a $C_{\max}$ of 1.67 ± 0.49 µg/ml in 8.60 ± 2.09 h. The clearance (Cl) of enrofloxacin in plasma was 0.19 ± 0.02 (l/h)/kg and in synovial fluid 0.18 ± 0.05 (l/h)/kg. The volume of distribution (V_d) was found to be 3.57 ± 0.64 l/kg in the former space and 2.96 ± 0.97 l/kg in the latter. The area under the curve ($AUC_{0-\infty}$) was 38.89 ± 3.89 (h × µg)/ml for plasma and 45.26 ± 12.68 (h × µg)/ml for synovial fluid.

Based on literature data, the recommended pharmacokinetic/pharmacodynamic limit (PK/PD_{CO}) for septicaemia and arthritis caused by *G. parasuis* in healthy pigs is 1 µg/ml, assuming the AUC/MIC pharmacodynamic target value (28.64 hours), with a 90% probability of target attainment (PTA). In the case of the target pharmacodynamic value (43.12 hours) established in pigs infected with *G. parasuis*, the proposed PK/PD limit for septicaemia and arthritis caused by *G. parasuis* is 0.5 µg/ml, with a probability of 90%.

10. Irodalomjegyzék

1. Wolfson JS, Hooper DC (1985) The fluoroquinolones: structures, mechanisms of action and resistance, and spectra of activity in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 28:581–586
2. 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 (eds) *Quinolone Antibacterials*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 63–118
3. Giguère S, Prescott JF, Dowling PM (2013) *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. John Wiley & Sons
4. Martinez M, McDermott P, Walker R (2006) Pharmacology of the fluoroquinolones: A perspective for the use in domestic animals. *Vet J* 172:10–28. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.07.010>
5. Mitchell MA (2006) Enrofloxacin. *J Exot Pet Med* 15:66–69. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2005.11.011>
6. Efthimiadou EK, Karaliota A, Psomas G (2008) Mononuclear metal complexes of the second-generation quinolone antibacterial agent enrofloxacin: Synthesis, structure, antibacterial activity and interaction with DNA. *Polyhedron* 27:1729–1738. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2008.02.006>
7. World Health Organization (2019) Critically important antimicrobials for human medicine, 6th rev. World Health Organization, Geneva
8. Blondeau JM (2004) Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Surv Ophthalmol* 49:S73–S78. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2004.01.005>
9. Riviere JE, Papich MG (2018) *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 10th Edition | Wiley, 10th ed
10. Yoshida H, Bogaki M, Nakamura M, Yamanaka LM, Nakamura S (1991) Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrB* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 35:1647–1650. <https://doi.org/10.1128/AAC.35.8.1647>
11. Taylor DE, Chau AS (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. *Antimicrob Agents Chemother* 41:665–671. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.3.665>
12. Ruiz J, Pons MJ, Gomes C (2012) Transferable mechanisms of quinolone resistance. *Int J Antimicrob Agents* 40:196–203. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.02.011>
13. Trouchon T, Lefebvre S (2016) A Review of Enrofloxacin for Veterinary Use. *Open J Vet Med* 06:40–58. <https://doi.org/10.4236/ojvm.2016.62006>
14. Vancutsem P, Babish J, Schwark W (1990) The fluoroquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *Cornell Vet* 80:173–86
15. Nielsen P, Gyrd-Hansen N (1997) Bioavailability of Enrofloxacin after Oral Administration to Fed and Fasted Pigs. *Pharmacol Toxicol* 80:246–250. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0773.1997.tb01967.x>
16. Li C, Zhou K, Chen D, Xu W, Tao Y, Pan Y, Meng K, Shabbir MAB, Liu Q, Huang L, Xie S (2019) Solid lipid nanoparticles with enteric coating for improving stability, palatability, and oral bioavailability of enrofloxacin. *Int J Nanomedicine Volume* 14:1619–1631. <https://doi.org/10.2147/IJN.S183479>
17. Anadon A, Martinez-Larranaga MR, Diaz MJ, Fernandez-Cruz ML, Martinez MA, Martinez M, Iturbe J, Tafur M (1999) Pharmacokinetic variables and tissue residues of enrofloxacin and ciprofloxacin in healthy pigs. 60:
18. Toutain P-L, Pelligand L, Lees P, Bousquet-Mélou A, Ferran AA, Turnidge JD (2021) The pharmacokinetic/pharmacodynamic paradigm for antimicrobial drugs in veterinary medicine: Recent advances and critical appraisal. *J Vet Pharmacol Ther* 44:172–200. <https://doi.org/10.1111/jvp.12917>
19. Messenger KM, Papich MG, Blikslager AT (2012) Distribution of enrofloxacin and its active metabolite, using an in vivo ultrafiltration sampling technique after the injection of enrofloxacin to pigs: Enrofloxacin in pigs. *J Vet Pharmacol Ther* 35:452–459. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2011.01338.x>
20. Bidgood TL, Papich MG (2005) Plasma and interstitial fluid pharmacokinetics of enrofloxacin, its metabolite ciprofloxacin, and marbofloxacin after oral administration and a constant rate intravenous infusion in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 28:329–341. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2005.00664.x>
21. Babaahmady E (2011) Toxicology of baytril (enrofloxacin). *Afr J Pharm Pharmacol* 5:2042–2045. <https://doi.org/10.5897/AJPP11.644>
22. Alvarez AI, Pérez M, Prieto JG, Molina AJ, Real R, Merino G (2008) Fluoroquinolone Efflux Mediated by ABC Transporters. *J Pharm Sci* 97:3483–3493. <https://doi.org/10.1002/jps.21233>
23. Sharma PC, Jain A, Jain S FLUOROQUINOLONE ANTIBACTERIALS: A REVIEW ON CHEMISTRY, MICROBIOLOGY AND THERAPEUTIC PROSPECTS
24. Huq F (2006) Molecular modelling analysis of the metabolism of enrofloxacin. *Asian J Biochem* 1:316–324. <https://doi.org/10.3923/ajb.2006.316.324>
25. Lykkeberg AK, Halling-Sørensen B, Jensen LB (2007) Susceptibility of bacteria isolated from pigs to tiamulin and enrofloxacin metabolites. *Vet Microbiol* 121:116–124. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.11.020>

26. Cester CC, Toutain PL (1997) A Comprehensive Model for Enrofloxacin to Ciprofloxacin Transformation and Disposition in Dog. *J Pharm Sci* 86:1148–1155. <https://doi.org/10.1021/js9603461>
27. Idowu OR, Peggins JO, Cullison R, Bredow J von (2010) Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in lactating dairy cows and beef steers following intravenous administration of enrofloxacin. *Res Vet Sci* 89:230–235. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2009.12.019>
28. García Ovando H, Gorla N, Luders C, Poloni G, Errecalde C, Prieto G, Puellas I (1999) Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in chickens. *J Vet Pharmacol Ther* 22:209–212. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1999.00211.x>
29. Rao GS, Ramesh S, Ahmad AH, Tripathi HC, Sharma LD, Malik JK (2002) Pharmacokinetics of Enrofloxacin and its Metabolite Ciprofloxacin in Goats given Enrofloxacin Alone and in Combination with Probenecid. *Vet J* 163:85–93. <https://doi.org/10.1053/tvj.2001.0594>
30. Neuman M (1987) Comparative pharmacokinetic parameters of new systemic fluoroquinolones. *Int J Clin Pharmacol Res* 7:173–179
31. Bregante MA, Saez P, Aramayona JJ, Fraile L, Garcia MA, Solans C (1999) Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin in mice, rats, rabbits, sheep, and cows. *Am J Vet Res* 60:1111–1116
32. L DG (1989) Pharmacokinetics of the Quinolone Antimicrobial Agents. *Quinolone Antimicrob Agents* 71–105
33. Nouws JFM, Mevius DJ, Vree TB, Baars AM, Laurensen J (1988) Pharmacokinetics, renal clearance and metabolism of ciprofloxacin following intravenous and oral administration to calves and pigs. *Vet Q* 10:156–163. <https://doi.org/10.1080/01652176.1988.9694165>
34. Yang B, Li XD, Chen X, Hong J, Liu C, Zheng JP, Ou ZY, Yu DJ (2022) PK/PD modelling of enrofloxacin against *Glaesserella parasuis* infection in pigs. *J Vet Pharmacol Ther* 45:291–300. <https://doi.org/10.1111/jvp.13055>
35. Hao H, Pan H, Ahmad I, Cheng G, Wang Y, Dai M, Tao Y, Chen D, Peng D, Liu Z, Huang L, Yuan Z (2013) Susceptibility Breakpoint for Enrofloxacin against Swine Salmonella spp. *J Clin Microbiol* 51:3070–3072. <https://doi.org/10.1128/JCM.01096-13>
36. Wang J, Hao H, Huang L, Liu Z, Chen D, Yuan Z (2016) Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Integration and Modeling of Enrofloxacin in Swine for *Escherichia coli*. *Front Microbiol* 7:
37. Araneda C, Villar P, Cuadros C, Valle M, Nunes P, Santelices M (2013) Single and Multiple Pharmacokinetics of Enrofloxacin and Ciprofloxacin in Pigs. *J Bioequivalence Bioavailab* 5:. <https://doi.org/10.4172/jbb.1000132>
38. Guo T, Huang J, Zhang H, Dong L, Guo D, Guo L, He F, Bhutto ZA, Wang L (2016) Abcb1 in Pigs: Molecular cloning, tissues distribution, functional analysis, and its effect on pharmacokinetics of enrofloxacin. *Sci Rep* 6:32244. <https://doi.org/10.1038/srep32244>
39. Sárközy G (2001) Quinolones: a class of antimicrobial agents. *Veterinárni Medicina* 46:257–274. <https://doi.org/10.17221/7883-VETMED>
40. Aral F, Karaçal F, Baba F (2008) The effect of enrofloxacin on sperm quality in male mice. *Res Vet Sci* 84:95–99. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.04.007>
41. Westropp JL, Sykes JE, Irom S, Daniels JB, Smith A, Keil D, Settje T, Wang Y, Chew DJ (2012) Evaluation of the Efficacy and Safety of High Dose Short Duration Enrofloxacin Treatment Regimen for Uncomplicated Urinary Tract Infections in Dogs. *J Vet Intern Med* 26:506–512. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00914.x>
42. Hayem G, Petit PX, Levacher M, Gaudin C, Kahn MF, Pocidal JJ (1994) Cytofluorometric analysis of chondrotoxicity of fluoroquinolone antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 38:243–247. <https://doi.org/10.1128/AAC.38.2.243>
43. Lim S, Hossain MA, Park J, Choi SH, Kim G (2008) The effects of enrofloxacin on canine tendon cells and chondrocytes proliferation in vitro. *Vet Res Commun* 32:243–253. <https://doi.org/10.1007/s11259-007-9024-8>
44. Yoon JH, Brooks RL, Khan A, Pan H, Bryan J, Zhang J, Budsberg SC, Mueller POE, Halper J (2004) The effect of enrofloxacin on cell proliferation and proteoglycans in horse tendon cells. *Cell Biol Toxicol* 20:41–54. <https://doi.org/10.1023/B:CBTO.0000021154.01035.f9>
45. Messias A, Gekeler F, Wegener A, Dietz K, Kohler K, Zrenner E (2008) Retinal safety of a new fluoroquinolone, pradofloxacin, in cats: assessment with electroretinography. *Doc Ophthalmol* 116:177–191. <https://doi.org/10.1007/s10633-007-9081-x>
46. Gelatt KN, Van Der Woerd A, Ketring KL, Andrew SE, Brooks DE, Biros DJ, Denis HM, Cutler TJ (2001) Enrofloxacin-associated retinal degeneration in cats: ENROFLOXACIN-ASSOCIATED RETINAL DEGENERATION IN CATS. *Vet Ophthalmol* 4:99–106. <https://doi.org/10.1046/j.1463-5224.2001.00182.x>
47. Wiebe V, Hamilton P (2002) Fluoroquinolone-induced retinal degeneration in cats. *J Am Vet Med Assoc* 221:1568–1571. <https://doi.org/10.2460/javma.2002.221.1568>

48. Al-Nazawi MH (2008) Effects of enrofloxacin and marbofloxacin administration on some fertility parameters of male chicken. *J Taibah Univ Sci* 1:1–4. [https://doi.org/10.1016/S1658-3655\(12\)60027-2](https://doi.org/10.1016/S1658-3655(12)60027-2)
49. Rodriguez J, Han S, Nielsen S, Pearson L, Gay J, Tibary A (2012) Consequences of Intrauterine Enrofloxacin Infusion on Mare Endometrium. *J Equine Vet Sci - J EQUINE VET SCI* 32:. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.08.003>
50. Ramalingam B, Sidhu P, Kaur G, Rampal S (2013) Mutant prevention concentration and PK-PD relationships of enrofloxacin for *Pasteurella multocida* in buffalo calves. *Res Vet Sci* 95:. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.07.019>
51. Meibohm B, Derendorf H (1997) Basic concepts of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) modeling. *Int J Clin Pharmacol Ther* 35:401–13
52. Kowalska-Krochmal B, Dudek-Wicher R (2021) The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens* 10:165. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>
53. Patel K, Kirkpatrick C (2011) Pharmacokinetic Concepts Revisited - Basic and Applied. *Curr Pharm Biotechnol* 12:1983–90. <https://doi.org/10.2174/138920111798808400>
54. Somogyi Z, Karancsi Z, Jerzsele Á (2018) Farmakokinetika/farmakodinámia (PK/PD) megközelítés az állatgyógyászatban. (140) 37-46.
55. Boothe DM, Boeckh A, Boothe HW, Wilkie S (2001) Tissue concentrations of enrofloxacin and ciprofloxacin in anesthetized dogs following single intravenous administration. *Vet Ther* 2:120–128
56. Knoll, Glünder, Kietzmann (1999) Comparative study of the plasma pharmacokinetics and tissue concentrations of danofloxacin and enrofloxacin in broiler chickens. *J Vet Pharmacol Ther* 22:239–246. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1999.00217.x>
57. Parra-Sanchez A, Lugo J, Boothe DM, Gaughan EM, Hanson RR, Duran S, Belknap JK (2006) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of enrofloxacin and a low dose of amikacin administered via regional intravenous limb perfusion in standing horses. *Am J Vet Res* 67:1687–1695. <https://doi.org/10.2460/ajvr.67.10.1687>
58. Mouton JW, Brown DFJ, Apfalter P, Cantón R, Giske CG, Ivanova M, MacGowan AP, Rodloff A, Soussy C-J, Steinbakk M, Kahlmeter G (2012) The role of pharmacokinetics/pharmacodynamics in setting clinical MIC breakpoints: the EUCAST approach. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis* 18:E37-45. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03752.x>
59. Garner C, Rosner B, Finland M (1975) Disk Diffusion and Serial Dilution Tests of Susceptibility of Some Pathogenic Gram-Negative Bacilli and Enterococci to Carbenicillin and Ampicillin. *Antimicrob Agents Chemother* 8:172–186
60. Velkov T, Bergen P, Lora-Tamayo J, Landersdorfer CB, Li J (2013) PK/PD models in antibacterial development. *Curr Opin Microbiol* 16:10.1016/j.mib.2013.06.010. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2013.06.010>
61. Toutain P-L (2003) Pharmacokinetics/pharmacodynamics integration in dosage regimen optimization for veterinary medicine. *J Vet Pharmacol Ther* 26:1–8
62. Ahmad I, Huang L, Hao H, Sanders P, Yuan Z (2016) Application of PK/PD Modeling in Veterinary Field: Dose Optimization and Drug Resistance Prediction. *BioMed Res Int* 2016:e5465678. <https://doi.org/10.1155/2016/5465678>
63. Heizmann P, Heizmann WR (2007) Bakteriostase – Bakterizidie. *Med Klin* 102:720–726. <https://doi.org/10.1007/s00063-007-1090-8>
64. Gálfi P, Csikó G, Jerzsele Á (2014) Állatorvosi Gyógyszertan III. (Második javított kiadás)
65. Craig WA (1998) Choosing an antibiotic on the basis of pharmacodynamics. *Ear Nose Throat J* 77:7–11; discussion 11-12
66. Dickerman A, Bandara AB, Inzana TJ (2020) Phylogenomic analysis of *Haemophilus parasuis* and proposed reclassification to *Glaesserella parasuis*, gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 70:180–186. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003730>
67. Schuwerk L, Hoeltig D, Waldmann K-H, Strutzberg-Minder K, Valentin-Weigand P, Rohde J (2020) Serotyping and pathotyping of *Glaesserella parasuis* isolated 2012–2019 in Germany comparing different PCR-based methods. *Vet Res* 51:137. <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00862-1>
68. Ni H-B, Gong Q-L, Zhao Q, Li X-Y, Zhang X-X (2020) Prevalence of *Haemophilus parasuis* “*Glaesserella parasuis*” in pigs in China: A systematic review and meta-analysis. *Prev Vet Med* 182:105083. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105083>
69. Oliveira S, Pijoan C (2004) *Haemophilus parasuis*: new trends on diagnosis, epidemiology and control. *Vet Microbiol* 99:1–12. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.12.001>
70. Nedbalcova K, Satran P, Jaglic Z, Ondriasova R, Kucerova Z (2006) *Haemophilus parasuis* and Glässer’s disease in pigs: a review. *Veterinárni Medicina* 51:168–179. <https://doi.org/10.17221/5537-VETMED>
71. Liu H, Xue Q, Zeng Q, Zhao Z (2016) *Haemophilus parasuis* vaccines. *Vet Immunol Immunopathol* 180:53–58. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.09.002>

72. Macedo N, Rovira A, Torremorell M (2015) *Haemophilus parasuis*: infection, immunity and enrofloxacin. *Vet Res* 46:128. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0263-3>
73. Olvera A, Segalés J, Aragón V (2007) Update on the diagnosis of *Haemophilus parasuis* infection in pigs and novel genotyping methods. *Vet J* 174:522–529. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.10.017>
74. Macedo N, Cheeran MCJ, Rovira A, Holtcamp A, Torremorell M (2017) Effect of enrofloxacin on *Haemophilus parasuis* infection, disease and immune response. *Vet Microbiol* 199:91–99. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.12.032>
75. Scherrer S, Rademacher F, Stephan R, Peterhans S (2022) Identification of *Glaesserella parasuis* and Differentiation of Its 15 Serovars Using High-Resolution Melting Assays. *Pathogens* 11:752. <https://doi.org/10.3390/pathogens11070752>
76. Rodríguez Ferri EF, Martínez S, Frandoloso R, Yubero S, Gutiérrez Martín CB (2010) Comparative efficacy of several disinfectants in suspension and carrier tests against *Haemophilus parasuis* serovars 1 and 5. *Res Vet Sci* 88:385–389. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2009.12.001>
77. Vahle JL, Haynes JS, Andrews JJ (1995) Experimental Reproduction of *Haemophilus Parasuis* Infection in Swine: Clinical, Bacteriologic, and Morphologic Findings. *J Vet Diagn Invest* 7:476–480. <https://doi.org/10.1177/104063879500700409>
78. White M (2011) Porcine respiratory disease complex (PRDC). *Livestock* 16:40–42. <https://doi.org/10.1111/j.2044-3870.2010.00025.x>
79. Viehmann M, Postiasi S, Balka G, Spargser J, Palzer A, Hennig-Pauka I, Ritzmann M, Ladinig A (2013) [Evaluation of the efficacy of a combination therapy of an antibiotic and a NSAID following an experimental *Haemophilus parasuis* infection in nursery piglets]. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* 41:225–232. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1623181>
80. Aarestrup FM, Seyfarth AM, Angen Ø (2004) Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus parasuis* and *Histophilus somni* from pigs and cattle in Denmark. *Vet Microbiol* 101:143–146. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.02.012>
81. Dayao DAE, Kienzle M, Gibson JS, Blackall PJ, Turni C (2014) Use of a proposed antimicrobial susceptibility testing method for *Haemophilus parasuis*. *Vet Microbiol* 172:586–589. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.06.010>
82. El Garch F, de Jong A, Simjee S, Moyaert H, Klein U, Ludwig C, Marion H, Haag-Diergarten S, Richard-Mazet A, Thomas V, Siegwart E (2016) Monitoring of antimicrobial susceptibility of respiratory tract pathogens isolated from diseased cattle and pigs across Europe, 2009–2012: VetPath results. *Vet Microbiol* 194:11–22. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.04.009>
83. de la Fuente AJM, Tucker AW, Navas J, Blanco M, Morris SJ, Gutiérrez-Martín CB (2007) Antimicrobial susceptibility patterns of *Haemophilus parasuis* from pigs in the United Kingdom and Spain. *Vet Microbiol* 120:184–191. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.10.014>
84. Zhou X, Xu X, Zhao Y, Chen P, Zhang X, Chen H, Cai X (2010) Distribution of antimicrobial resistance among different serovars of *Haemophilus parasuis* isolates. *Vet Microbiol* 141:168–173. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.05.012>
85. Moleres J, Santos-López A, Lázaro I, Labairu J, Prat C, Ardanuy C, González-Zorn B, Aragon V, Garmendia J (2015) Novel bla ROB-1-Bearing Plasmid Conferring Resistance to β -Lactams in *Haemophilus parasuis* Isolates from Healthy Weaning Pigs. *Appl Environ Microbiol* 81:3255–3267. <https://doi.org/10.1128/AEM.03865-14>
86. Lancashire JF, Terry TD, Blackall PJ, Jennings MP (2005) Plasmid-Encoded Tet B Tetracycline Resistance in *Haemophilus parasuis*. *Antimicrob Agents Chemother* 49:1927–1931. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.5.1927-1931.2005>
87. Mouton JW, Dudley MN, Cars O, Derendorf H, Drusano GL (2005) Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs: an update. *J Antimicrob Chemother* 55:601–607. <https://doi.org/10.1093/jac/dki079>
88. Yamaoka K, Nakagawa T, Uno T (1978) Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *J Pharmacokinet Biopharm* 6:165–175. <https://doi.org/10.1007/BF01117450>
89. Toutain PL, del Castillo JRE, Bousquet-Mélou A (2002) The pharmacokinetic–pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Res Vet Sci* 73:105–114. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(02\)00039-5](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(02)00039-5)
90. Wright DH, Brown GH, Peterson ML, Rotschafer JC (2000) Application of fluoroquinolone pharmacodynamics. *J Antimicrob Chemother* 46:669–683. <https://doi.org/10.1093/jac/46.5.669>
91. Giguère S, Sweeney RW, 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. *Am J Vet Res* 57:1025–1030

92. CLSI (2020) Performance Standards for Antimicrobial Disk Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, 5th ed. CLSI supplement VET01S. Clinical and Laboratory Standards Institute

11. Köszönetnyilvánítás

Szeretném a köszönetemet kifejezni a kísérlet feltételeinek megteremtésében nyújtott segítségéért Dr. Jerzsele Ákos, egyetemi docens, tudományos és innovációs rektorhelyettes úrnak, a Gyógyszertani és Méregtani Tanszék vezetőjének.

Hálával tartozom témavezetőmnek, dr. Somogyi Zoltánnak, aki iránymutatásával és szakértelmével segítette munkámat, hogy ez a dolgozat megszülethessen. Köszönöm, hogy mentorként mellettem állt és támogatott a nehezebb pillanatokban, továbbá, hogy mindig számíthattam rá, ha váratlan problémák merültek fel.

Köszönöm Dr. Szabó Pál munkáját a minták mérésével kapcsolatban, valamint dr. Mag Patriknak és Simon Rékának, akik készséggel segítettek a kísérlet gyakorlati részében és a dolgozat megírása során.

A dolgozatom nem jöhetett volna létre a családom és a barátaim támogatása és biztatása nélkül, amiért hálával és köszönettel tartozom nekik.

Az RRF-2.3.1-21-2022-00001 számú projekt a Helyreállítási és Ellenállóképességi Eszköz és Nemzeti Helyreállítási Alapból nyújtott támogatásával, az RRF-2.3.1-21 pályázati program finanszírozásában valósult meg.

A KULTURÁLIS ÉS INNOVÁCIÓS MINISZTERIUM ÚNKP-23-2-I KÓDSZÁMÚ ÚJ NEMZETI KIVÁLÓSÁG PROGRAMJÁNAK A NEMZETI KUTATÁSI, FEJLESZTÉSI ÉS INNOVÁCIÓS ALAPBÓL FINANSZÍROZOTT SZAKMAI TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT.

