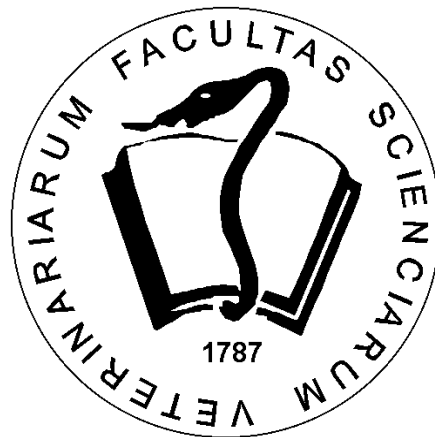


**A pulzáló és folyamatos norfloxacin itatás
összehasonlító vizsgálata
csirkében és pulykában
Sárközy Géza**



Gyógyszertani és Méregtani tanszék
Állatorvos-tudományi fakultás
Szent István Egyetem
Budapest 2002

Témavezető: Dr. Semjén Gábor, Ph.D.

Gyógyszertani és Méregtani tanszék
Állatorvos-tudományi fakultás
Szt. István Egyetem
1078 Budapest, István u. 2.

Külső tanácsadó: Dr. Laczay Péter, Ph.D.

Élelmiszerhigiéniai tanszék
Állatorvos-tudományi fakultás
Szt. István Egyetem
1078 Budapest, István u. 2.

Témabizottsági tagok: Dr. Vörös Károly, Ph.D.

Belgyógyászati tanszék
Állatorvos-tudományi fakultás
Szt. István Egyetem
1078 Budapest, István u. 2.

Dr. Klebovich Imre, Ph.D.

Farmakokinetikai Kutató Laboratórium
EGIS Gyógyszergyár Rt.
1106 Budapest, Keresztúri út. 30-38.

I. AZ ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI

A fluorokinolonok az utóbbi évtized egyik legígéretesebb molekulái, melyekről nagyszámú könyv és cikk jelent meg 1990 óta.

A fluorokinolonok szintetikusan előállított antibakteriális vegyületek, amelyeket kiterjedten vizsgálnak és használnak mind az állat- mind a humángyógyászatban. A nalidixsav és az oxolinsav voltak az elsőként előállított 4-kinolon gyűrűt tartalmazó szintetikus molekulák. Bár több tucat fluorokinolont szintetizáltak a világon, a legfontosabbak, amelyeket az állatgyógyászatban is kiterjedten használnak az amifloxacin, ciprofloxacín, danofloxacin, difloxacin, flumequin, enrofloxacin, marbofloxacín, norfloxacín, norfloxacín nikotinát és sarafloxacin. Az állatorvoslásban először alkalmazott vegyület az enrofloxacin volt. A vegyületek a DNS-giráz enzim gátlása révén hatnak. Ennek eredményeként, ezen vegyületek gyorsan baktericid hatásúak a Gram-negatív baktériumokra, mycoplasmákra és néhány Gram-pozitív baktériumra, miközben alig, vagy egyáltalán nincs hatásuk a D csoportú streptococcusokra és az obligát anaerob baktériumokra. Az utóbbi néhány évben szintetizált újabb vegyületek azonban még szélesebb spektrumot fednek le, a Gram-negatív és Gram-pozitív, aerob és anaerob baktériumok ellen is hatékonyak. A rezisztencia kialakulása és terjedése a humán- és állatgyógyászati szempontból lényeges kórokozók között

mind a mai napig fontos, új kutatási terület. A fluorokinolonok nagy fontosságú, új vegyületcsalád az állatgyógyászati gyakorlat számára. Farmakokinetikai szempontból ezen vegyületek különböző mértékben, de jól felszívódnak a bélcsatornából és szinte teljes az értékesülés parenterális alkalmazás esetén is. A fluorokinolonok általában extenzíven metabolizálódnak, az anyamolekula és a metabolitok rendszerint a vizelettel ürülnek, néhány fluorokinolon esetében azonban kiválasztás a májon, illetve a vesén keresztül közel azonos mértékben történik. Az elsődleges toxicitásuk, amelyet már terápiás dózisban is megfigyeltek, a fototoxicitás és a gastrointestinális traktust érinti, bár nagyobb dózisban központi idegrendszeri hatása és szemben katarakta kialakulása is megfigyelhető. Fiatal állatokban erózió kialakulásával járó arthropathiát figyeltek meg a súlyviselő ízületekben, magasabb dózisban vemhes állatoknál maternotoxicitást, valamint alkalmanként embrionális elhalást okozhat. A fluorokinolonok elsődleges indikációja a húgyúti fertőzések és a lágy szövetek fertőzései kutyán és macskán, valamint az érzékeny, Gram-negatív baktériumok elleni kezelés baromfiban. Egyéb alkalmazási területe a mélyen fekvő gyulladások, prostatitis és más bakteriális fertőzések, amelyek más antibakteriális kezelésre nem reagálnak.

A norfloxacin harmadik generációs fluoroquinolon, amelyet először a humángyógyászatban húgyúti dezinficiensként alkalmaztak. Később az állatorvosi gyakorlatban is elterjedt és 1990 óta baromfiban is

engedélyezett készítmény. A norfloxacin legfigyelemreméltóbb tulajdonsága a jó felszívódás orálisan adagolva és a hatékony vér- és szövetszint fenntartása a kórokozók legszélesebb köre ellen még súlyos szisztémás fertőzések esetén is.

A posztantibiotikus effektus (csökkent, vagy abnormális baktérium növekedés egy antibakteriális szer behatása után) 4-8 óráig tart a különböző baktérium törzsekben a fluoroquinolonok adása után. A posztantibiotikus effektus jellemzője, hogy a baktériumoknak csökken az emlős sejthez való kötődése. A fluorokinolonok esetében a posztantibiotikus effektus koncentrációfüggő.

A jelenleg is széles körben elfogadott nézet szerint a C_{max} (maximális csúcskoncentráció) nagymértékben összefügg a rezisztencia kialakulásának csökkentésével és a hatékonysággal, és a 2-3 fölötti C_{max}/MIC (minimális baktériumnövekedést gátló koncentráció) arány elegendő. Ezért a pulzáló adagolás terjedt el az állatorvosi gyakorlatban azzal a céllal, hogy magas csúcskoncentrációt elérve kihasználhassuk a posztantibiotikus hatást.

A colibacillosis, amelyet az *Escherichia coli* (*E. coli*) okoz, bakteriális megbetegedés csirkében és pulykában, amely septikaemiát, légúti fertőzéseket, szívburokgyulladást, peritonitist és légzsákgyulladást okozhat. Az *E. coli* gyakran társul egyéb kórokozókkal, mint például a fertőző bronchitis vírusa (IBV), a baromfipestis vírusa (NDV) beleértve a vakcina törzseket is, *Mycoplasma spp.*, *Pasteurella spp.*, melyekkel

együtt hozza létre a légúti megbetegedés komplexet. Bár ezt a kórképet számos kórokozó létrehozhatja, az *E. coli* fertőzés különösen fontos, mivel gyakran okoz magas mortalitással járó, súlyos, generalizált megbetegedést a naps- és növényekcsibékben.

A baromfikolera, melyet a Gram-negatív, csillótlan, coccoid baktérium, a *Pasteurella multocida* hoz létre, a vad- és házimadarak széles körét megbetegíti, és súlyos gazdasági veszteségeket okoz a baromfiiparban. Az elhullás elsősorban a perakut és akut septikaemia kialakulásával jön létre, és ritkábban jelentkezik a betegség krónikus, vagy lokalizált formájában. A legtöbb leírt baromfikolera járvány a csirkéket, pulykákat, kacsákat és libákat említi, azonban a *Pasteurella multocida* súlyos járványt okozhat a vadon élő víziszárnyasokban is.

A folyamatos- és pulzáló kezelés farmakokinetikájáról szóló beszámolók hiánya és a meg nem erősített hipotézis az állatorvosi szakirodalomban, mely szerint a hatékonyság indikátora az AUC, valamint a baromfi patogén *Escherichia coli* és *Pasteurella multocida* fertőzések fontossága vezetett minket arra, hogy összehasonlítsuk az orális, pulzáló norfloxacin adagolást a folyamatos gyógyszerítással broiler csirkékben és pulykáknál.

II. VIZSGÁLATI CÉLKITŰZÉSEK

A norfloxacin általános körben a gastrointestinális és légzőszervi fertőzések kezelésére használják baromfiban. A szakirodalomban fellelhető adatok szerint a norfloxacin farmakokinetikáját egyszeri, bólusz adagolással vizsgálták egészséges csirkéken. Kiterjedt kutatással sem tudunk az irodalom alapján választ találni a norfloxacin baromfikolera valamint colibacillosis elleni hatékonyságáról csirkében és pulykában, valamint a vegyület farmakokinetikai és farmakodinámiás összefüggéseiről bakteriális megbetegedések alkalmával. Jelen dolgozatban arra vállalkoztunk, hogy betekintést nyerjünk a fluoroquinolonokkal való fertőzések kezelésének farmakodinámiájába.

Értekezésem célkitűzései a következőkben foglalhatók össze:

- *Pasteurella multocida* és *Escherichia coli* mesterséges fertőzéses modell kidolgozása, amellyel megfelelő módon vizsgálható az antimikrobiális gyógykezelés hatékonysága.
- A pulzáló- és folyamatos norfloxacin adagolás hatékonyságának vizsgálata baromfikolera és colibacillosis

esetében.

- A norfloxacin általános farmakokinetikai jellemzőinek vizsgálata, amivel meghatározhatóak a pulzáló- valamint folyamatos itatás sajátságai csirkében és pulykában.
- A farmakokinetika és farmakodinámia alapján az optimális adagolás és adagolási intervallum meghatározása, valamint a pulzáló- és folyamatos itatás hatékonyságának meghatározására csirkében és pulykában. A megfelelő optimalizálással remény nyílik a rezisztens baktériumflóra kialakulásának mérséklésére.

III. A VIZSGÁLATI EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

Miként sok más gyógyszer esetén, a norfloxacin vonatkozásában is nagy a bizonytalanság a legcélravezetőbb adagolási módot illetően, amivel a leoptimálisabb kezelést érjük el mind az alacsony, mind a súlyos patogenitású fertőzések esetében baromfiban.

A ritkább, nagy dózisú adagolási formákat (amelyek magas AUC-t és C_{max} -ot eredményeznek), mint például a pulzáló adagolás (a PAE kihasználására), hatékonyabbnak tartják a baktericid hatás, az

eradikációs idő és a rezisztens baktériumok szelekciójának csökkentése alapján. Ez a vélekedés, valamint a baromfipatógén *Escherichia coli* és *Pasteurella multocida* fertőzések fontossága vezetett minket arra, hogy összehasonlítsuk az orális pulzáló norfloxacin adagolást a folyamatos gyógyszerítással broiler csirkékben és pulykákban.

A mesterséges fertőzéses modell hatékonysága függ a felhasznált baktériumok virulenciájától és a fertőző dózistól. Vizsgálatainkban sikeresen dolgoztunk ki egy megbízható fertőzéses módszert mind *Pasteurella multocida*, mind *Escherichia coli* fertőzésre, amely lehetővé tette a vizsgálati alapkérdések megválaszolását.

Pasteurella multocida fertőzés kezelése

Norfloxacin folyamatos adagolása 100 mg/L adagban csirkéknek, ugyanolyan hatékonynak bizonyult, mint a pulzáló itatás 15 mg/ttkg dózisban. Nem volt meggyőző különbség a napi súlygyarapodás tekintetében a két kezelt csoport között. Enyhe, de szignifikáns különbség volt megfigyelhető az elhullások számában és kifejezett eltérés a post mortem vizsgálat, napi klinikai pontszám és a baktériumok reizolálása tekintetében. Megfontolandó, hogy a fertőző csíraszám kb. 80 CFU X-73 (A:1) volt, amely csak négyszerese az LD₅₀ (19,6 CFU) értéknek. Pulykában, ahol kb. 70 CFU P-1059 (A:3), az LD₅₀ (4,67 CFU) 15-szörösével fertőztünk, a két kezelt csoport között majdnem minden vizsgált paraméterben szignifikáns különbség volt megfigyelhető. Csak a

napi súlygyarapodásban nem volt különbség a két csoport között. Ezen eredmények tükrében kijelenthetjük, hogy a folyamatos itatás csirkében, míg a pulzáló itatás pulykákban szignifikánsan hatékonyabbnak bizonyult a *Pasteurella multocida* kezelésében. Az eredmények az irodalmi adatokban közölt kinetikai vizsgálatok alapján vártakkal ellentétben alakultak.

Néhány közlemény rámutatott, hogy a fluoroquinolon kezelés még 8 óra hosszú PAE-val is jobb eredményt ad pulzáló kezelésként ivóvízben, míg mások vizsgálatai szerint a súlyos bakteriális infekciók jobban kezelhetőek az antimikrobiális szer nagy adagjaival. A publikált cikkek és saját vizsgálataink is azt a tényt támasztják alá, hogy az alacsonyabb patogenitású fertőzés, az LD₅₀ négyszerese, jobban gyógyul folyamatos adagolás hatására, míg a súlyos bakteriális infekció, az LD₅₀ tizenötszöröse, jobban reagál a pulzáló kezelésre.

Escherichia coli fertőzés kezelése

A mesterséges fertőzés hatására akut colibacillosis alakult ki a fertőzött, nem kezelt csoportban 40% elhullással és 1,77±1,27 klinikai pontszámmal (60% morbiditás). Ezen adatok jól egybevágóak az 5% mortalitással és akár 50% morbiditással is járó colibacillosisnak az állattartó telepeken, amelyet több szerző is tipikusnak tart gyakorlati körülmények között. Mindkét kezelés hatékonyan csökkentette a kísérletes colibacillosist csirkékben. A norfloxacin adagolás ivóvízben

15 mg/ttkg adagban, pulzáló itatás formájában hatékonyabb volt, mint a 100 mg/L folyamatos kezelés csirkében. Nem volt szignifikáns különbség a folyamatos- és pulzáló itatás között a napi súlygyarapodás, és mortalitás szempontjából, de jól látható eltérés volt a napi klinikai pontszám és post mortem pontszámok tekintetében a pulzáló adagolás javára. Az eredmények alátámasztják az irodalmi adatokban közölt kinetikai vizsgálatok alapján várt eredményeket csirkében és pulykában.

Ezen különbségek jól megmagyarázhatóak, ha figyelembe vesszük, hogy az alacsonyabb patogenitású bakteriális fertőzések jobban gyógyulnak folyamatos adagolás hatására, míg a súlyos bakteriális infekciók jobban reagálnak a pulzáló kezelésre.

Farmakokinetikai sajátosságok

A plazma norfloxacin koncentrációja lassan emelkedett folyamatos adagolás alkalmával és csirkében a 12. órára valamint pulykában a 18. órára érte el a MIC₉₀ értékét a legtöbb Gram-negatív kórokozóra. Folyamatos kezelés alkalmával a steady-state norfloxacin koncentrációt mindkét madárfaj a kezelés kezdete utáni 36. órára érte el, mely körülbelül azonos szinten maradt az egész kezelés ideje alatt; 776,7±33,23 ng/ml-nek adódott csirkében és 682,5±28,55 ng/ml volt pulykában. A pulzáló adagolás a körülbelül fele akkora steady-state koncentrációt hozott létre (365.32±39.31 ng/ml csirkében és 306.03±32.26 ng/ml pulykában), mint a folyamatos adagolás.

A pulzáló adagolás során a plazma norfloxacin koncentrációja gyorsan emelkedett, és szignifikánsan meghaladta a MIC₉₀ értéket a 2. órára mind csirkében, mind pulykában, és további 8 órán át csirkében és 6 órán át pulykában a MIC₉₀ érték felett maradt. A pulzáló adagolás adatai azt bizonyítják, hogy a gyógyszer adagolása megfelel egy egyszeri, napi, folyamatos bólusz adagolásnak. Ugyanakkor a pulzáló adagolás sokkal gyorsabban, magasabb plazma koncentrációt ér el mint a folyamatos adagolás.

A fluoroquinolonok koncentrációfüggő baktericid hatást mutatnak *in vitro*. Az állatmodellek eredményei azt mutatják, hogy a legfontosabb *in vivo* baktericid indikátor a 24 órás AUC (AUC/MIC) érték és a C_{max}/MIC hányados. Úgy tűnik, hogy az AUC felelős a baktericid hatásért, míg a C_{max}/MIC hányados lényeges a rezisztens mutánsok kialakulásának megelőzésében a kezelés ideje alatt. *In vivo* vizsgálatok alkalmával bakteriosztázist figyeltek meg 35 körüli AUC értéknél, míg különböző állatkísérletekben az elhullást teljesen megakadályozta, ha a hányados elérte a 100-t.

Csak hogy a jelenleg is széles körben elfogadott nézet szerint a C_{max} szorosabban összefügg a rezisztencia kialakulásának csökkentésével, és a 2-3 fölötti C_{max}/MIC arány elegendő. Vizsgálatainkban a C_{max} meghaladta 5-10-szeresen a MIC értékét és az AUC értéke is 100 felett volt a használt

törzsekre, azonban alapvető különbségeket véltünk felfedezni a két adagolási mód között. A publikált cikkek és saját vizsgálataink is azt a tényt támasztják alá, hogy az alacsonyabb patogenitású bakteriális fertőzések jobban gyógyulnak folyamatos adagolás hatására, míg a súlyos bakteriális infekciók jobban reagálnak a pulzáló kezelésre.

Összefoglalásként levonhatjuk azt a következtetést, hogy a norfloxacin adagolása mind 100 mg/L adagban folyamatos adagolás, mind 15 mg/ttkg dózisban pulzáló itatás során megfelelő hatékonysággal használható gyakorlati körülmények között is. Amennyiben a súlyos és az enyhe eseteket egyaránt közel azonos hatékonysággal szeretnénk kezelni, javaslatunk szerint a kezelést egy 4 órán át tartó pulzáló itatással célszerű elkezdni, majd folyamatos itatással folytatni 3-5 napig. Jóllehet a gyártók a pulzáló adagolást javasolják a teljes kezelés ideje alatt, az általunk javasolt adagolási forma segít meggyógyítani mind a súlyos, mind az enyhe bakteriális fertőzéseket, valamint hozzájárul a fluoroquinolonok elleni rezisztencia kialakulásának késleltetéséhez.

A fluorokinolonok az egyik legintenzívebben használt antimikrobiális molekulák, melyeket a humán- és

állatgyógyászatban egyaránt sikerrel alkalmaznak széles spektrumuk és jó fizikokémiai sajátásaik miatt. Mint ilyeneket, az állatorvosok egyre szélesebb körben használják fel a klinikai gyakorlatban.

Az utóbbi időben, azonban, kérdések merültek fel a lehetséges fluoroquinolon rezisztens törzsek megjelenésével és a lehetséges környezeti hatásokkal kapcsolatban, amennyiben ezen vegyületeket „túlhasználjuk”. Jelen állapotban úgy tűnik, hogy mind a humán-, mind az állatorvosok még hosszú évekig hasznosan alkalmazhatják a fluorokinolonokat, ha megfelelő klinikai ítélettel, adekvát dozírozási sémát követnek, amikor felírják és felhasználják a fluorokinolonokat betegeiken.

Ha megfelelő módon használjuk, a fluoroquinolonok nagyban hozzájárulnak az állattartás gazdaságosságához, anélkül, hogy negatívan befolyásolnák a humán kemoterápiát.

IV. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK

E tézis alapjául az alábbi tudományos közlemények szolgáltak:

SÁRKÖZY G. (2002) QUINOLONES: A CLASS OF ANTIMICROBIAL AGENTS. VETERINARY MEDICINE – CZECH, **46** (9-10): 257-274.

SÁRKÖZY G., SEMJÉN G., LACZAY P. AND HORVÁTH E. (2002) TREATMENT OF EXPERIMENTALLY INDUCED PASTEURELLA MULTOCIDA INFECTIONS IN BROILERS AND TURKEYS - COMPARATIVE STUDIES ON DIFFERENT ORAL TREATMENT REGIMENS. JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE SERIES B, **49**: 130-134.

SÁRKÖZY G., SEMJÉN G., LACZAY P., HORVÁTH E. AND SCHMIDT J. (2002) PULSE AND CONTINUOUS ORAL NORFLOXACIN TREATMENT OF EXPERIMENTALLY INDUCED ESCHERICHIA COLI INFECTION IN BROILER CHICKS AND TURKEY POULTS. ACTA VETERINARIA HUNGARICA, 2002, **153**: 199-210.

SÁRKÖZY G., SEMJÉN G. AND LACZAY P. 2002. PHARMACOKINETIC COMPARATIVE STUDIES ON DIFFERENT ORAL TREATMENT REGIMEN IN BROILERS AND TURKEYS. *JOURNAL OF VETERINARY PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY*, (PRESENTED FOR PUBLICATION).

V. EGYÉB TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

Poszterek:

SÁRKÖZY, G. AND LACZAY, P. (2001) COMPARATIVE STUDY ON THE EFFICACY OF DIFLOXACIN AND ENROFLOXACIN IN AN EXPERIMENTALLY INDUCED ESCHERICHIA COLI INFECTION IN BROILERS. PROCEEDINGS OF THE 12TH WORLD VETERINARY POULTRY ASSOCIATION CONGRESS, CAIRO, EGYPT. P. 396.

SÁRKÖZY, G. AND LACZAY, P. (2001) COMPARATIVE STUDY ON THE EFFICACY OF DIFLOXACIN AND ENROFLOXACIN IN AN EXPERIMENTALLY INDUCED PASTEURELLA MULTOCIDA INFECTION IN TURKEYS. PROCEEDINGS OF THE 12TH WORLD VETERINARY POULTRY ASSOCIATION CONGRESS, CAIRO, EGYPT. P. 397.