

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

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

Dr. Somogyi Zoltán

Témavezető: Dr. Jerzsele Ákos



ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2023

Témavezető

.....

Dr. Jerzsele Ákos Ph.D., egyetemi docens

Tudományos és innovációs rektorhelyettes, tanszékvezető

Állatorvostudományi Egyetem

Gyógyszertani és Méregtani Tanszék

Készült 8 példányban. Ez a(z)..... számú példány.

.....

Dr. Somogyi Zoltán

Tartalomjegyzék

1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései.....	4
2. Az értekezés új tudományos eredményei.....	6
3. A doktori értekezés témájában született publikációk	8

1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései

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

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

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

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

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

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

2. Az értekezés új tudományos eredményei

Jelen kutatás során elsőként vizsgáltuk a florfenikol engedélyezett 15 mg/kg-os és a nagyobb 30 mg/kg-os dóziszú, intramuszkuláris (im.) beadást követő farmakokinetikai tulajdonságait sertés ízületi folyadékban, továbbá az enrofloxacin engedélyezett 7,5 mg/kg-os dóziszú, szubkután (sc.) beadást követő farmakokinetikai tulajdonságait sertés ízületi folyadékban. Emellett, elsőként határoztuk meg a florfenikol farmakodinámiai célértékét sertés ízületi folyadékban. A kutató munka eredményeként, elsőként tettünk javaslatot a florfenikol és enrofloxacin farmakokinetikai/farmakodinámiai (PK/PD_{CO}) határértékére sertések *S. suis* okozta ízületgyulladás esetében.

A kutatás főbb eredményei a következők:

1. A 15 mg/kg dózisban, egyszeri im. beadást követően a florfenikol főbb populációs farmakokinetikai paraméterei (átlag ± szórás) sertés ízületi folyadékban:

$$t_{\max} = 2,71 \pm 1,32 \text{ h}$$

$$C_{\max} = 1,81 \pm 0,82 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$Cl = 0,28 \pm 0,12 \text{ (l/h)/kg}$$

$$V_d = 9,18 \pm 3,88 \text{ l/kg}$$

$$AUC_{0-\infty} = 64,69 \pm 28,12 \text{ (h } \times \text{ } \mu\text{g)/ml}$$

$$AUC_{0-24\text{h}} = 32,28 \pm 13,91 \text{ (h } \times \text{ } \mu\text{g)/ml}$$

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

2. A 30 mg/kg dózisban, egyszeri im. beadást követően a florfenikol főbb populációs farmakokinetikai paraméterei (átlag ± szórás) sertés ízületi folyadékban:

$$t_{\max} = 1,00 \pm 0,00 \text{ h}$$

$$C_{\max} = 2,54 \pm 0,67 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$Cl = 0,47 \pm 0,16 \text{ (l/h)/kg}$$

$$V_d = 12,45 \pm 3,56 \text{ l/kg}$$

$$AUC_{0-\infty} = 71,42 \pm 23,89 \text{ (h } \times \text{ } \mu\text{g)/ml}$$

$$AUC_{0-24\text{h}} = 37,67 \pm 4,64 \text{ (h } \times \text{ } \mu\text{g)/ml}$$

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

3. A 7,5 mg/kg dózisban, egyszeri sc. beadást követően az enrofloxacin főbb populációs farmakokinetikai paraméterei (átlag ± szórás) sertés ízületi folyadékban:

$$t_{\max} = 8,6 \pm 2,09 \text{ h}$$

$$C_{\max} = 1,67 \pm 0,49 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$Cl = 0,18 \pm 0,05 \text{ (l/h)/kg}$$

$$V_d = 2,96 \pm 0,97 \text{ l/kg}$$

$$AUC_{0-\infty} = 45,26 \pm 12,68 \text{ (h } \times \text{ } \mu\text{g)/ml}$$

$$AUC_{0-24h} = 30,30 \pm 8,67 \text{ (h } \times \text{ } \mu\text{g)/ml}$$

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

4. A florfenikol farmakodinámiai célértékei sertés ízületi folyadékban:

$$AUC_{24h}/MIC \text{ bakteriosztatikus hatás esetében} = 22 \text{ h}$$

$$AUC_{24h}/MIC \text{ baktericid hatás esetében} = 76 \text{ h}$$

AUC_{24h}/MIC = a két gyógyszerbeadás közötti időintervallum azon része órában kifejezve, amely során az antibakteriális szer koncentrációja meghaladja a baktériumszaporodás gátlásához szükséges koncentrációt

5. Az általunk meghatározott PK/PD_{CO} határérték a florfenikol engedélyezett adagolási rendjében (15 mg/kg, im.) *S. suis* okozta ízületgyulladás esetében: 0,5 $\mu\text{g/ml}$.

6. Az általunk meghatározott PK/PD_{CO} határértéket a florfenikol nagyobb adagolási rendjében (30 mg/kg, im.) *S. suis* okozta ízületgyulladás esetében: 1 $\mu\text{g/ml}$.

7. Az általunk meghatározott PK/PD_{CO} határértéket az enrofloxacin engedélyezett adagolási rendjében (7,5 mg/kg, sc.) *S. suis* okozta ízületgyulladás esetében: 0,5 $\mu\text{g/ml}$.

8. A kutatómunka során összesen 100 db hazai, klinikai mintából kitenyésztett, *S. suis* izolátum MIC-értékét határoztuk meg florfenikollal és enrofloxaccinnal szemben. Továbbá, ezek alapján kiszámítottuk a MIC_{50} és MIC_{90} értékeket, amely florfenikol esetében 2 és 8 $\mu\text{g/ml}$ volt, míg az enrofloxacin esetében 0,5 és 2 $\mu\text{g/ml}$ volt.

Eredményeink alapján a florfenikol és az enrofloxacin potenciális terápiás lehetőséget nyújtanak, a sertéságazatban nagy gazdasági kártétellel járó *S. suis* okozta ízületgyulladások kezelésre. Továbbá, a kutatás megerősíti azt a tényt, hogy a folyamatos antibiotikum-érzékenységi vizsgálatokkal párhuzamosan kiemelten fontos az antibakteriális szerek farmakokinetikai és farmakodinámiai tulajdonságainak vizsgálata a hatás helyén.

3. A doktori értekezés témájában született publikációk

Lektorált folyóiratban megjelent közlemények

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

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

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

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