

เภสัชจลนศาสตร์ และความไวรับของเชื้ออี โคไลต์อยา cefquinome ในสุนัข

นางสาวณัฐกานต์ วงศาศิริพัฒน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเภสัชวิทยาทางสัตวแพทยศาสตร์ ภาควิชาเภสัชวิทยา

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2554

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR) are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

PHARMACOKINETICS AND SUSCEPTIBILITY OF *E. coli* TO CEFQUINOME IN DOGS

Miss Natthakarn Wongsasiripat

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Veterinary Pharmacology

Department of Veterinary Pharmacology

Faculty of Veterinary Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

เภสัชจลนศาสตร์ และความไวรับของเชื้ออี โคไลต์อย่า
cefquinome ในสุนัข

โดย

นางสาวณัฐกานต์ วงศาศิริพัฒน์

สาขาวิชา

เภสัชวิทยาทางสัตวแพทยศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.ศรินทร หยิบโชคอนันต์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ณัฐวีร์ ประภัสระกุล

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. มงคล เตชะกำพุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิง ดร. สุพัตรา ศรีไชยรัตน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.ศรินทร หยิบโชคอนันต์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.ณัฐวีร์ ประภัสระกุล)

..... กรรมการ
(อาจารย์สัตวแพทย์หญิง ดร. นิภัทรา เทพวัลย์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร. กาญจนา อิมศิลป์)

ณัฐกานต์ วงศาศิริพัฒน์ : เภสัชจลนศาสตร์ และความไวรับของเชื้ออี โคไลต่อยา cefquinome ในสุนัข. (PHARMACOKINETICS AND SUSCEPTIBILITY OF *E. coli* TO CEFQUINOME IN DOGS) อ.ที่ปริกษาวิทยาพนธ์หลัก : รศ.สพ.ญ.ดร.ศิรินทร หยิบโชคอนันต์, อ.ที่ปริกษาวิทยาพนธ์ร่วม : ผศ.น.สพ.ดร.ณัฐวีร์ ประภัสระกุล, 69 หน้า.

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขสุขภาพดีภายหลังการให้ยาเข้าได้ผิวหนังในขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมจำนวน 1 ครั้ง โดยตรวจวัดระดับยา cefquinome ในพลาสมาด้วยวิธี high performance liquid chromatography ร่วมกับ UV detector ที่ความยาวแสง 268 นาโนเมตร และศึกษาหาค่าความไวรับของเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) จำนวน 38 สเตรนต่อยา cefquinome โดยใช้เชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่เข้ามารับการรักษที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปี พ .ศ. 2548-2551 ด้วยอาการติดเชื้อที่ระบบทางเดินปัสสาวะส่วนล่าง ทดสอบหาค่าความไวรับของเชื้อ *E. coli* ด้วยวิธี agar dilution method โดยดูจากค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ (minimum inhibitory concentration; MIC)

จากผลการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ภายหลังการฉีดเข้าได้ผิวหนัง พบว่า การเปลี่ยนแปลงระดับความเข้มข้นของยาในพลาสมาที่ตรวจพบมีรูปแบบเป็น two-compartment open model โดยวัดระดับความเข้มข้นสูงสุดของยาในพลาสมาได้ 2.40 ± 0.61 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 0.50 ± 0.19 ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิตสำหรับการดูดซึม และการกำจัดยาอยู่ที่ 0.24 ± 0.11 ชั่วโมง และ 1.26 ± 0.77 ชั่วโมงตามลำดับ โดยยามีการดูดซึมได้อย่างรวดเร็ว และพบว่าระดับความเข้มข้นของยาในพลาสมามีค่ามากกว่า 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรนาน 6 ชั่วโมง ส่วนผลการศึกษาหาค่าความไวรับพบว่า เชื้อ *E. coli* จำนวน 30 สเตรนไวต่อยา cefquinome ($MIC_{50} < 0.125$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และมี *E. coli* จำนวน 8 สเตรนดื้อต่อยานี้ ($MIC_{90} = 128$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) จากผลการศึกษานี้สรุปได้ว่าการฉีดยา cefquinome เข้าได้ผิวหนังในขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมจำนวน 1 ครั้ง มีระดับความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงพอที่จะทำลายเชื้อ *E. coli* ที่ไวต่อยานี้ได้ แต่ควรเพิ่มความถี่ในการให้ยาจากทุก 24 ชั่วโมงเป็นทุก 12 ชั่วโมง

ภาควิชาเภสัชวิทยา

สาขาวิชาเภสัชวิทยาทางสัตวแพทยศาสตร์

ปีการศึกษา 2554

ลายมือชื่อนิสิต.....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาวิทยาพนธ์หลัก.....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาวิทยาพนธ์ร่วม.....

517555931 : MAJOR VETERINARY PHARMACOLOGY

KEYWORDS : CEFQUINOME/ PHARMACOKINETICS/ SUSCEPTIBILITY/ *E. coli*/ DOG

NATTHAKARN WONGSASIRIPAT : PHARMACOKINETICS AND

SUSCEPTIBILITY OF *E. coli* TO CEFQUINOME IN DOGS. ADVISOR :

ASSOC.PROF. SIRINTORN YIBCHOK-ANUN, D.V.M., Ph.D., CO-ADVISOR :

ASST.PROF. NUVEE PRAPASARAKUL, D.V.M., Ph.D., 69 pp.

The objectives of this study were to investigate pharmacokinetics of cefquinome in healthy dogs following single subcutaneous (SC) administration of 1 mg/kg of body weight and to determine an *in vitro* susceptibility of cefquinome against 38 strains of *Escherichia coli* (*E. coli*) isolated from dogs with lower urinary tract infections at Small animal hospital of Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University between 2005 to 2008. Cefquinome concentrations in plasma were measured by high-performance liquid chromatography assay with UV detection at 268 nm wavelength. Susceptibility test was determined using minimum inhibitory concentration (MIC) values against cefquinome by an agar dilution method.

The results show that plasma concentration-time data after SC administration was described by a two-compartment open model. The peak plasma concentration (C_{max}) was $2.40 \pm 0.61 \mu\mu\text{g/mL}$ and achieved at 0.50 ± 0.19 h after administration (T_{max}). The absorption half-life ($T_{1/2ab}$) was 0.24 ± 0.11 h and elimination half-life ($T_{1/2\beta}$) was 1.26 ± 0.77 h. Cefquinome showed quick absorption and sustained plasma drug concentrations above $0.1 \mu\mu\text{g/mL}$ for 6 h. According to the susceptibility test, 30 strains of *E. coli* isolates were susceptible to cefquinome ($MIC_{50} < 0.125 \mu\mu\text{g/mL}$) but eight strains were resistant ($MIC_{90} = 128 \mu\mu\text{g/mL}$). These results indicated that single administration of 1 mg/kg cefquinome subcutaneously achieved therapeutic concentration in plasma that exceeding the minimum inhibitory concentrations against susceptible *E. coli* strains. However, the dosage interval of cefquinome should be decreased from 24 h to 12 h.

Department : Veterinary Pharmacology

Student's Signature

Field of Study : Veterinary Pharmacology

Advisor's Signature

Academic Year : 2011

Co-advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ. .สพ.ญ.ดร.ศิรินทร หยิบไชคอนันต์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ผศ.น.สพ.ดร.ณัฐวีร์ ประภัสระกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ ตลอดจนข้อคิดเห็นต่างๆ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการวิจัยอย่างมากมาโดยตลอด ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รศ.ภญ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ ผศ. .สพ.ญ.ดร.กาญจนา อิ่มศิลป์ และ อ.สพ.ญ.ดร.นิภัทรา เทพวัลย์ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาสละเวลา และให้คำปรึกษา แนะนำ ตลอดจนข้อคิดเห็นต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ในการวิจัยอย่างมาก

ขอขอบพระคุณ อ.น.สพ.ดร.ชาญณรงค์ รอดคำ ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์เชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขป่วยด้วยการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ มาใช้ในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาเภสัชวิทยา และ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นเพิ่มเติม ตลอดจนให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ บัณฑิตศึกษา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และบุคคลอันเป็นที่รักทุกท่านที่ได้ให้การสนับสนุนอยู่เคียงข้าง และเป็นกำลังใจให้มาโดยตลอด

สารบัญ

| | หน้า |
|--|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | จ |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ฉ |
| สารบัญ..... | ช |
| สารบัญตาราง..... | ฅ |
| สารบัญภาพ..... | ญ |
| คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ..... | ฎ |
| บทที่ | |
| 1 บทนำ..... | 1 |
| 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... | 4 |
| 2.1 ยาต้านจุลชีพกลุ่ม cephalosporins..... | 4 |
| 2.1.1 Cefquinome..... | 7 |
| 2.2 เภสัชจลนศาสตร์..... | 12 |
| 2.2.1 คุณสมบัติของเภสัชจลนศาสตร์และเภสัชพลศาสตร์..... | 16 |
| 2.2.2 การตรวจวัดระดับยาในพลาสมาด้วยวิธี HPLC..... | 18 |
| 3. การติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ..... | 22 |
| 3.1 การติดเชื้อ <i>E. coli</i> ที่ทางเดินปัสสาวะ..... | 25 |
| 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... | 28 |
| อุปกรณ์และสารเคมี..... | 28 |
| วิธีดำเนินการทดลอง..... | 29 |
| การทดลองที่ 1 การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขสุขภาพดี..... | 29 |
| การทดลองที่ 2 การหาค่าความไวรับของเชื้อ <i>E. coli</i> ที่แยกได้จากสุนัขที่มี อาการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะต่อยา cefquinome..... | 33 |

| บทที่ | หน้า |
|---|------|
| 4 ผลการวิจัย..... | 36 |
| 1. ผลการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขสุขภาพดี..... | 36 |
| 1.1 การตรวจรับรองวิธีการวิเคราะห์..... | 36 |
| 1.2 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์..... | 40 |
| 2. ผลค่าความไวรับของเชื้อ <i>E. coli</i> ที่แยกได้จากสุนัขที่มีอาการติดเชื้อที่ ทางเดินปัสสาวะต่อยา cefquinome | 43 |
| 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ..... | 47 |
| อภิปรายผลการวิจัย..... | 47 |
| สรุปผลการวิจัย..... | 56 |
| ข้อเสนอแนะ..... | 56 |
| รายการอ้างอิง..... | 57 |
| ภาคผนวก..... | 64 |
| ภาคผนวก ก | 65 |
| ภาคผนวก ข..... | 66 |
| ภาคผนวก ค..... | 67 |
| ภาคผนวก ง..... | 68 |
| ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... | 69 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | | หน้า |
|----------|--|------|
| 2-1 | คุณสมบัติของยาในกลุ่ม cephalosporins ในแต่ละรุ่น..... | 6 |
| 2-2 | ข้อบ่งใช้ของยา cefquinome ที่ได้รับการอนุญาตให้ใช้ในสัตว์ต่างๆ ที่ทวีปยุโรป | 9 |
| 2-3 | ค่าความไวรับของเชื้อ <i>E. coli</i> ที่แยกได้จากมนุษย์และสัตว์ต่อยา cefquinome และยาในกลุ่ม cephalosporins รุ่นอื่นๆ..... | 10 |
| 2-4 | รายการการตรวจรับรองเสถียรภาพตัวยา..... | 21 |
| 2-5 | ชนิดของเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบบริเวณทางเดินปัสสาวะ และระบบ สืบพันธุ์ในสุนัขเพศผู้ และเพศเมีย..... | 23 |
| 3-1 | ขั้นตอนการเจือจาง cefquinome ที่ความเข้มข้นต่างๆ..... | 34 |
| 4-1 | ผลการทดสอบความคงตัวของยา cefquinome ที่สภาวะต่างๆ..... | 38 |
| 4-2 | ความเข้มข้นของยา cefquinome ในพลาสมาที่เวลาต่างๆ..... | 40 |
| 4-3 | ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขภายหลังจาก การให้ยาเข้าทางใต้ผิวหนังในขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม..... | 42 |
| 4-4 | ค่า MIC ของยา cefquinome ต่อเชื้อ <i>E. coli</i> และเชื้อมาตรฐาน..... | 43 |
| 5-1 | ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัข..... | 48 |
| 5-2 | เภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสัตว์ชนิดต่างๆ..... | 50 |
| 5-3 | ค่า MIC ของยา cefquinome ต่อเชื้อ <i>E. coli</i> ที่แยกได้จากมนุษย์และสัตว์..... | 52 |

สารบัญภาพ

| ภาพที่ | | หน้า |
|--------|--|------|
| 2-1 | โครงสร้างพื้นฐานของยาในกลุ่ม cephalosporins..... | 4 |
| 2-2 | ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบ..... | 5 |
| 2-3 | โครงสร้างของยา cefquinome เปรียบเทียบกับยาในรุ่นที่ 3 และ 4..... | 8 |
| 2-4 | เภสัชจลนศาสตร์ : การดูดซึมยา การกระจายยา และการกำจัดยา..... | 14 |
| 2-5 | คุณสมบัติของเภสัชจลนศาสตร์ และเภสัชพลศาสตร์..... | 16 |
| 2-6 | ระบบของเครื่อง HPLC..... | 19 |
| 2-7 | พยาธิสรีรวิทยาของการติดเชื้อ UPEC ภายในเยื่อหุ้มกระเพาะปัสสาวะ..... | 26 |
| 4-1 | โครมาโทแกรมของยา cefquinome..... | 36 |
| 4-2 | กราฟมาตรฐานของยา cefquinome ที่ความเข้มข้นต่างๆ..... | 37 |
| 4-3 | กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ความเข้มข้นของยา cefquinome ใน พลาสมา กับเวลา..... | 41 |
| 4-4 | ค่า MIC ของยา cefquinome ต่อเชื้อ <i>E. coli</i> 38 สเตรน..... | 45 |
| 4-5 | กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ความเข้มข้นของยา cefquinome ใน พลาสมาที่เวลาต่างๆ เปรียบเทียบกับค่า MIC..... | 46 |
| 5-1 | กลไกการดื้อยาของยาในกลุ่ม beta-lactams..... | 53 |

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

| | | |
|----------------|---|--|
| μg | = | Microgram |
| μL | = | Microlitre |
| μm | = | Micrometre |
| ACN | = | Acetonitrile |
| ALP | = | Alkaline phosphatase |
| ALT | = | Alanine aminotransferase |
| AST | = | Aspartate aminotransferase |
| ATCC | = | American type culture collection |
| AUC | = | Area under the curve |
| BUN | = | Blood urea nitrogen |
| CFU | = | Colony forming unit |
| Cmax | = | Peak plasma concentration |
| <i>E. coli</i> | = | <i>Escherichia coli</i> |
| HPLC | = | High performance liquid chromatography |
| IL | = | Interleukin |
| IV | = | Intravenous |
| LOD | = | Limit of detection |

| | | |
|-----------------|---|---------------------------------------|
| LOQ | = | Limit of quantification |
| mg | = | Milligram |
| MHA | = | Mueller Hinton agar |
| MIC | = | Minimum inhibitory concentration |
| mL | = | Millilitre |
| mm | = | Millimetre |
| PBPs | = | Penicillin-binding proteins |
| RSD | = | Relative standard deviation |
| $T_{1/2\alpha}$ | = | Distribution half-life |
| $T_{1/2\beta}$ | = | Elimination half-life |
| $T_{1/2ab}$ | = | Absorption half-life |
| Tmax | = | Time to peak plasma concentration |
| TSA | = | Trypticase soy agar |
| UPEC | = | Uropathogenic <i>Escherichia coli</i> |
| UV | = | Ultraviolet |
| < | = | น้อยกว่า |
| > | = | มากกว่า |

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

Cefquinome เป็นยาต้านจุลชีพในกลุ่ม cephalosporins มีกลไกการออกฤทธิ์โดยไปจับกับ penicillin-binding proteins (PBPs) ที่อยู่บนผิวเยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic membrane) ของผนังเซลล์แบคทีเรีย ทำให้เกิดการยับยั้งการสร้างชั้นเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ของผนังเซลล์ เป็นผลให้เชื้อแบคทีเรียตาย โดยยาในกลุ่ม cephalosporins ได้มีการนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางทั้งในปศุสัตว์ และในสัตว์เลี้ยง เนื่องจากยาในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทำให้เชื้อแบคทีเรียตาย (bactericidal) และมีความปลอดภัยต่อสัตว์สูง เมื่อเทียบกับยาต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์ทำให้แบคทีเรียตายในกลุ่มอื่น โดย cefquinome ได้รับการอนุญาตให้ใช้ในสัตว์ชนิดต่างๆ เช่น โค ในปี ค.ศ. 1994 สุกร ในปี ค.ศ. 1999 และ ม้า ในปี ค.ศ. 2005 เพื่อใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่ระบบทางเดินหายใจ เต้านมอักเสบ ข้ออักเสบ และโลหิตเป็นพิษจากเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) (CVMP, 1995; CVMP, 1999; CVMP, 2003)

ปัจจุบันรูปแบบยาเตรียมของ cefquinome มี 3 ประเภท คือ ยาสำหรับฉีดเข้ากล้ามเนื้อ หรือใต้ผิวหนัง ยาสำหรับฉีดเข้าหลอดเลือดดำ และยาสำหรับสอดเข้าเต้านม (intramammary formulation) ในโค เนื่องจากยา cefquinome ไม่ได้ขึ้นทะเบียนสำหรับใช้ในสุนัขและแมว ดังนั้นการนำยานี้นี้มาใช้ในสุนัขจึงเป็นการใช้นอกเหนือคำแนะนำในฉลากยา (extra label use) โดยใช้รูปแบบยาฉีดเข้ากล้ามเนื้อ หรือใต้ผิวหนัง ในกรณีที่สุนัขป่วยจากการติดเชื้ออย่างรุนแรง และ/หรือติดเชื้อต้านจุลชีพในกลุ่มอื่นๆ และไวต่อยาตัวนี้ สามารถนำมาใช้ได้กับลูกสุนัข และสุนัขอายุมากได้ โดยมีรายงานว่าการศึกษาให้ยา cefquinome ในขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้ากล้ามเนื้อในสุนัขปกติ พันธุ์ Turkish shepherd อายุ 24-30 เดือน วันละ 1 ครั้ง ติดต่อกัน 14 วัน ไม่พบความผิดปกติของอาการทางคลินิก ค่าโลหิตวิทยา และค่าชีวเคมีของเลือด (Maden *et al.*, 2001) สำหรับการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขก่อนหน้านี้ พบว่าเป็นการศึกษาในรูปแบบยาฉีดเข้าหลอดเลือดดำในขนาด 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตรวจวัดความเข้มข้นของยาในพลาสมาด้วยวิธี bioassay (Limbert *et al.*, 1991)

สำหรับในประเทศไทย เคยมีรายงานการศึกษาหาค่าความไวรับของยาต้านจุลชีพ 6 ชนิดรวมทั้งยา cefquinome ต่อเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนในสุนัขที่ติดเชื้อไวรัสไข้หัด หรือลำไส้อักเสบ โดยเก็บตัวอย่างแบคทีเรียจากอุจจาระ และ/หรือน้ำมูกในสุนัขป่วย พบว่า cefquinome มี

ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนได้ดีที่สุด รองลงมาคือยา enrofloxacin, cefazolin และ gentamicin ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimum inhibitory concentration; MIC) ที่ 50% อยู่ในระดับที่ติดต่อยาด้านจุลชีพ amoxicillin และ sulfamethoxazole/trimethoprim (ณูวีร์ และคณะ, 2552)

ในปัจจุบันขนาดยา cefquinome ที่แนะนำให้ใช้ในสุนัขคือ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วันละ 1 ครั้ง บริหารยาเข้าทางใต้ผิวหนัง (Guide to veterinary antimicrobial therapy, 2003) ซึ่งการให้ยาโดยวิธีนี้ยังไม่มีการศึกษาถึงเภสัชจลนศาสตร์ของยา และเปรียบเทียบกับค่าความไวรับของยาต่อเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากสุนัขป่วยจากการติดเชื้อแบบเรื้อรัง หรือเฉียบพลัน เช่นการติดเชื้อที่ระบบทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infections; UTIs) ซึ่งจะเป็นหลักฐานที่สำคัญในการทำนายประสิทธิภาพการให้ยาในรูปแบบของการบริหารยาเข้าใต้ผิวหนังของสุนัขที่มีการติดเชื้อจริง โดยเชื้อที่มักก่อให้เกิดปัญหาการติดเชื้อในระบบปัสสาวะคือเชื้อ *E. coli* ซึ่งเกิดจากการปนเปื้อนจากเชื้อประจำถิ่นในลำไส้มาเป็นเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินปัสสาวะ (Wooley and Blue, 1976; Alves *et al.*, 2004; Ball *et al.*, 2008; Blondeau, 2009)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขสุขภาพดีภายหลังการให้ยาเข้าทางใต้ผิวหนัง
2. เพื่อศึกษาหาค่าความไวรับของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขป่วยที่มีการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะต่อยา cefquinome

คำสำคัญ

เซฟควิโนม เภสัชจลนศาสตร์ ความไวรับ อี โคไล สุนัข

Cefquinome, pharmacokinetics, susceptibility, *E. coli*, dog

คำถามสำหรับการวิจัย

ระดับความเข้มข้นของยา cefquinome ที่วัดได้ในพลาสมาสุนัข ณ เวลาต่างๆ ภายหลังการบริหารยาเข้าใต้ผิวหนังในขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 1 ครั้งเป็นเท่าไร และระดับยาที่วัดได้นั้นสูงกว่าค่าความไวรับของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขป่วยที่มีการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะหรือไม่

สมมติฐานการวิจัย

ระดับยา cefquinome ที่ตรวจพบในพลาสมาภายใน 24 ชั่วโมง ภายหลังจากการบริหารยาเข้าทางใต้ผิวหนังในขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 1 ครั้งมีความเข้มข้นสูงพอที่จะทำลายเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

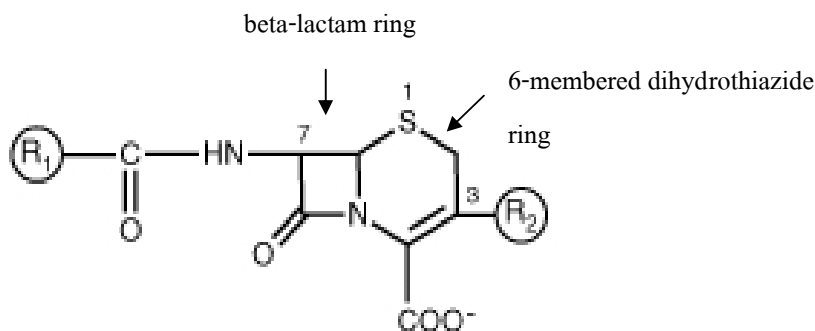
ทราบถึงเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขภายหลังจากการบริหารยาเข้าใต้ผิวหนัง 1 ครั้ง ในขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเปรียบเทียบกับค่าความไวรับของยาต่อเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขป่วยที่มีการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะในประเทศไทย เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการตัดสินใจของสัตวแพทย์ในการใช้ยาอย่างถูกต้องเหมาะสมต่อไป

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ยาด้านจุลชีพกลุ่ม cephalosporins

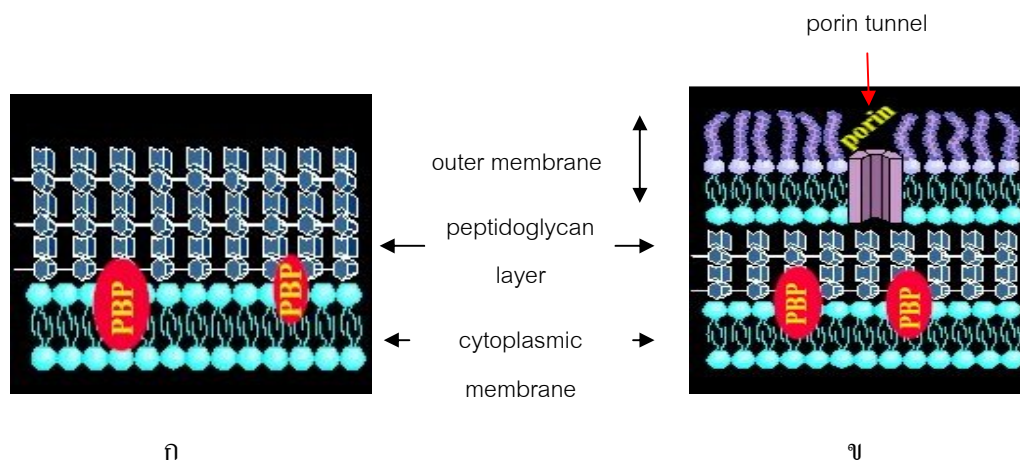
ยาด้านจุลชีพในกลุ่ม cephalosporins มีโครงสร้างพื้นฐานประกอบด้วยวงแหวน 2 วง คือ วงแหวน beta-lactam ซึ่งเป็นโครงสร้างพื้นฐานของยาในกลุ่ม penicillins และวงแหวน 6-membered dihydrothiazide หรือเรียกรวมกันเป็น 7-aminocephalosporanic acid nucleus (ภาพที่ 2-1) โดยยาในกลุ่มนี้จะแตกต่างกันที่กลุ่ม R ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงที่กลุ่ม R จะทำให้เกิดความแตกต่างในด้านความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านจุลชีพ ความทนต่อเอนไซม์ beta-lactamase การจับกับโปรตีนในพลาสมา การดูดซึมผ่านทางเดินอาหาร การเมแทบอลิซึม และความเป็นพิษ (Papich and Riviere, 2009)



ภาพที่ 2-1 โครงสร้างพื้นฐานของยาในกลุ่ม cephalosporins (Power, 2009)

ยาในกลุ่ม cephalosporins มีกลไกการออกฤทธิ์ โดยไปจับกับ penicillin-binding proteins (PBPs) ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทรานสเปปติเดส (transpeptidase) ซึ่งทำหน้าที่เชื่อมโยงสายเปปทิโดไกลแคน (peptidoglycans) ในกระบวนการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่กำลังแบ่งตัว แบคทีเรียจึงไม่สามารถสร้างผนังเซลล์ได้ ทำให้แบคทีเรียตาย (Papich and Riviere, 2009) สำหรับแบคทีเรียแกรมบวกยาสามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ได้โดยตรงผ่านทางผนังเซลล์ และรวมตัวกับ PBPs ที่อยู่บนผิวเยื่อหุ้มเซลล์ (cytoplasmic membrane) ส่วนแบคทีเรียแกรมลบยาจะเข้าสู่เซลล์ได้ยากกว่าเนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีผนังเซลล์ภายนอก (outer membrane) ที่เพิ่มขึ้น อีกทั้งยาในกลุ่มนี้มักเป็นยาที่มีประจุ ไม่สามารถละลายได้ในไขมัน ทำให้ยาไม่สามารถแพร่ผ่านผนังเซลล์ภายนอกของแบคทีเรียได้ ดังนั้นการที่ยาจะผ่านเข้าไปในเซลล์ต้องผ่านทางช่องพิเศษที่เรียกว่า ช่อง porin (porin tunnel) ที่อยู่ที่เยื่อหุ้ม

เซลล์ชั้นนอกของผนังเซลล์ (ภาพที่ 2-2) ดังนั้นความไวในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก และ แกรมลบของยาในกลุ่มนี้จึงขึ้นอยู่กับ ความสามารถในการผ่านเข้าเซลล์ของยา ความสามารถของ ยาในการจับกับ PBPs ปริมาณของเปปติโดไกลแคนที่พบ (ซึ่งแบคทีเรียแกรมบวกจะมีมากกว่า แบคทีเรียแกรมลบ) และความทนต่อเอนไซม์ beta-lactamase ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น



ภาพที่ 2-2 ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก (ก) และแบคทีเรียแกรมลบ (ข)

หมายเหตุ : PBP = penicillin binding protein (Stannard, 2000)

ปัจจุบันแบ่งยาในกลุ่มนี้ออกเป็น 5 รุ่น (generations) ตามเวลาในการวางจำหน่าย ลักษณะทางโครงสร้าง และประสิทธิภาพของยาในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียนอกตัวสัตว์ (*in vitro*) (ตารางที่ 2-1)

- ยา cephalosporins รุ่นที่ 1 (1st generation cephalosporins) ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี เช่น *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. แต่มีประสิทธิภาพต่ำในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ (anaerobic bacteria) ถูกทำลายได้ง่ายด้วยเอนไซม์ beta-lactamase ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น ในทางสัตวแพทย์ได้มีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางได้แก่ ยา cephalexin, cefadroxil และ cefazolin (Papich and Riviere, 2009)

- ยา cephalosporins รุ่นที่ 2 (2nd generation cephalosporins) มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบดีขึ้นเมื่อเทียบกับรุ่นที่ 1 คือ มีฤทธิ์เพิ่มขึ้นต่อ *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *E. coli* และ *Klebsiella* spp. แต่จะต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้น้อยลง ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้เช่น cephmandole, cephachlor, cefoxitin, cefprozil เป็นต้น (Papich and Riviere, 2009)

- ยา cephalosporins รุ่นที่ 3 (3rd generation cephalosporins) มีความสามารถในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกใกล้เคียงกับยาในรุ่นที่ 2 แต่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้ดีขึ้นเนื่องจากยาในกลุ่มนี้ ณ ตำแหน่ง beta-acyl มีโครงสร้างที่เรียกว่า aminothiazolyl moiety ทำให้ทนต่อเอนไซม์ beta-lactamase ได้มากขึ้น ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้เช่น cefotaxime และ ceftriaxone (Chin *et al.*, 1992; Papich and Riviere, 2009)

- ยา cephalosporins รุ่นที่ 4 (4th generation cephalosporins) ถูกพัฒนาให้มีความทนต่อเอนไซม์ beta-lactamase มากขึ้น จึงทำให้มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบได้กว้างขึ้นและใช้ได้ผลดีต่อแบคทีเรียที่ดื้อต่อยาในรุ่นที่ 3 ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้ เช่น cefepime, cefpirome และ cefquinome (Chin *et al.*, 1992; Lattrell *et al.*, 1988; Kumar *et al.*, 2010)

- ยา cephalosporins รุ่นที่ 5 (5th generation cephalosporins) ถูกพัฒนามาเพื่อวัตถุประสงค์ในการยับยั้งเชื้อ methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ในขณะเดียวกันก็ให้ผลดีกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ และเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ปัจจุบันยาในกลุ่มนี้ยังอยู่ระหว่างการศึกษาดังความปลอดภัยในระยะยาว ตัวอย่างยาในกลุ่มนี้เช่น ceftobiprole และ ceftaroline (Page, 2006; Anderson and Gums, 2008)

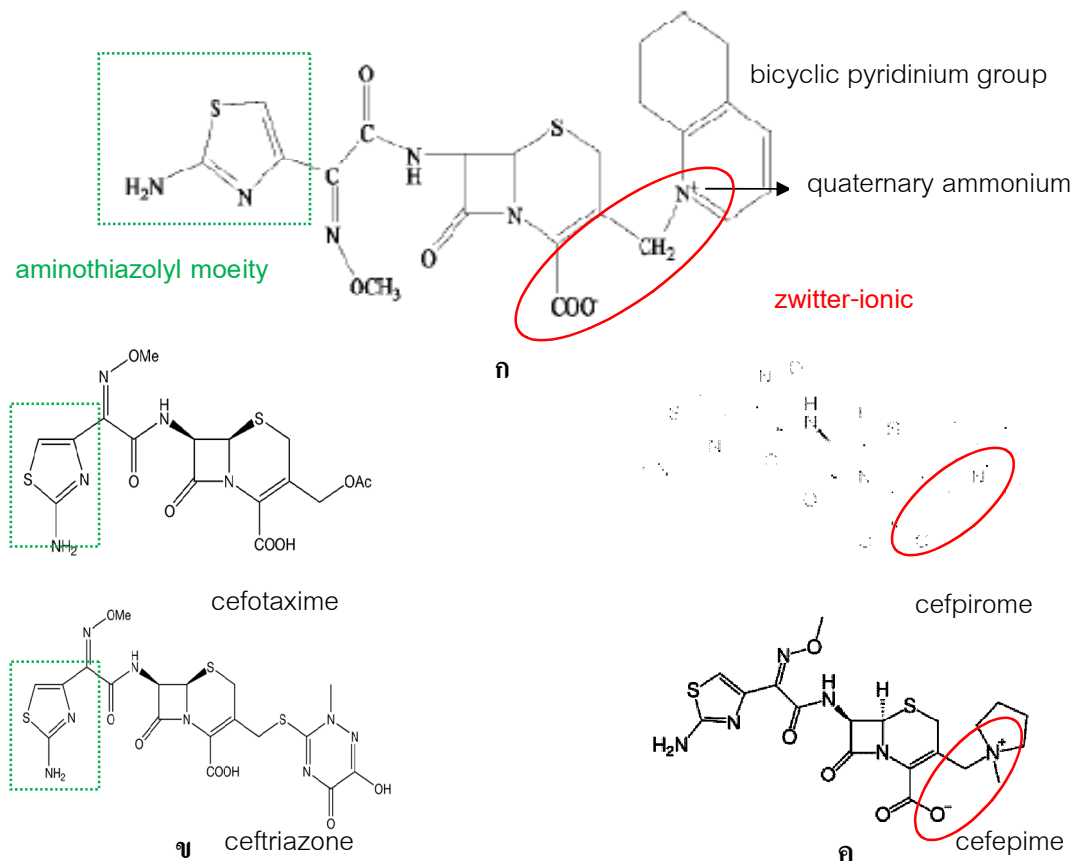
ตารางที่ 2-1 คุณสมบัติของยาในกลุ่ม cephalosporins ในแต่ละรุ่น (จารุณี, 2553)

| คุณสมบัติ | ยาในกลุ่ม cephalosporins | | | | |
|--|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | รุ่นที่ 1 | รุ่นที่ 2 | รุ่นที่ 3 | รุ่นที่ 4 | รุ่นที่ 5 |
| ต้านแบคทีเรียแกรมบวก | +++ | ++ | ++ | +++ | +++ |
| ต้านแบคทีเรียแกรมลบ | + | ++ | +++ | +++ | +++ |
| ต้านแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ | - | - | ++ | +++ | +++ |
| ต้านเชื้อ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | - | - | ++ | +++ | +++ |
| ต้านเชื้อ MRSA | - | - | - | - | +++ |
| ความทนต่อ beta-lactamase | + | ++ | +++ | ++++ | ไม่ระบุ |

โดยยาในกลุ่ม cephalosporins มีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อน มีปริมาณการกระจายตัวของยาต่ำ โดยยาจะกระจายตัวอยู่ในเลือด และของเหลวภายนอกเซลล์ได้ดี แต่จะเข้าสู่ภายในเซลล์ได้น้อย พบปริมาณสูงในน้ำปัสสาวะ มีค่าครึ่งชีวิตสั้น และถูกเปลี่ยนแปลงภายในร่างกายเพียงเล็กน้อย ส่วนใหญ่ถูกขับออกในรูปแบบเดิมผ่านทางไตเป็นหลัก (Papich and Riviere, 2009)

1.1 Cefquinome

Cefquinome เป็นยาต้านจุลชีพในกลุ่ม cephalosporins รุ่นที่ 4 ถูกพัฒนาเพื่อนำมาใช้ในทางสัตวแพทย์โดยเฉพาะ มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อแบคทีเรียในวงกว้างซึ่งคล้ายคลึงกับยาในกลุ่ม cephalosporins ในรุ่นเดียวกัน แต่มีประสิทธิภาพเหนือกว่ายาในกลุ่ม cephalosporins ในรุ่นแรกๆ อีกทั้งยังมีผลข้างเคียงน้อยกว่า (Limbert *et al.*, 1991; Chin *et al.*, 1992; Murphy *et al.*, 1994) cefquinome มีประสิทธิภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบได้ดี โดย cefquinome มีโครงสร้างโมเลกุลที่เป็นลักษณะพิเศษที่เรียกว่า zwitterionic คือโมเลกุลมีความเป็นขั้ว แต่ประจุรวมของโมเลกุลมีค่าเท่ากับศูนย์ (เหมือนกับยาในรุ่นเดียวกันคือ cefpirome และ cefepime) ทำให้ cefquinome สามารถผ่านเข้าไปในชั้น periplasmic space ของแบคทีเรียได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังมีส่วนของ aminothiazolyl moiety คล้ายกับยาในกลุ่ม cephalosporins ในรุ่นที่ 3 ทำให้ออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียแกรมลบได้ดีเหมือนกับยาในรุ่นที่ 3 (Limbert *et al.*, 1991; Chin *et al.*, 1992) (ตารางที่ 2-3) นอกจากนี้ยังมีการเพิ่มความเป็นขั้วที่ตำแหน่ง C-3 ด้วย bicyclic pyridinium group และ quaternary ammonium (ภาพที่ 2-3) ทำให้ cefquinome ทนต่อเอนไซม์ beta-lactamase ได้มากขึ้น ผ่านเข้าไปในชั้น periplasmic space ได้ดีขึ้น และทำให้เพิ่มความสามารถของ cefquinome ในการต้านเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะเชื้อในกลุ่ม Staphylococci และ *Pseudomonas aeruginosa* อีกทั้ง cefquinome ยังมีความสามารถสูงในการจับกับ PBPs ที่อยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของผนังเซลล์แบคทีเรียจึงทำให้ยาออกฤทธิ์ได้ดียิ่งขึ้นเมื่อเทียบกับยา กลุ่ม cephalosporins ในรุ่นแรกๆ (Limbert *et al.*, 1991; Chin *et al.*, 1992; Murphy *et al.*, 1994; Shpigel, *et al.*, 1996; Guerin-Fauble *et al.*, 2003)



ภาพที่ 2-3 โครงสร้างของยา cefquinome (ก) เปรียบเทียบกับยาในรุ่นที่ 3 (ข) และ 4 (ค) โดยวงรีแสดงลักษณะโมเลกุลที่เป็น zwitter-ionic สี่เหลี่ยมเส้นประแสดงลักษณะโครงสร้างที่เป็น aminothiazolyl moiety (Lattrell *et al.*, 1988; Zhang *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2010)

โดย cefquinome ได้รับการอนุญาตให้ใช้ในสัตว์ชนิดต่างๆ ดังนี้ โค ในปี ค.ศ. 1994 สุกร ในปี ค.ศ. 1999 และ ม้า ในปี ค.ศ. 2005 เพื่อใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่ระบบทางเดินหายใจ โรคเต้านมอักเสบ โรคข้ออักเสบ และโรคโลหิตเป็นพิษจากเชื้อ *E. coli* เป็นต้น (CVMP, 1995; CVMP, 1999; CVMP, 2003; Bryskier, 2006) (ตารางที่ 2-2) นอกจากนี้ยังมีการนำมาใช้ นอกเหนือจากคำแนะนำในฉลากยาในสัตว์หลายชนิดเช่น แพะ แกะ อูฐ เป็ด และสุนัข (Tohamy, 2011; Uney *et al.*, 2011; Yuan *et al.*, 2011; Ehinger, 2006)

ตารางที่ 2-2 ข้อบ่งใช้ของยา cefquinome ที่ได้รับการอนุญาตให้ใช้ในสัตว์ต่างๆ ที่ทวีปยุโรป (Bryskier, 2006)

| | Cattle (injectable) | Pig (injectable) | Horse (injectable) | Cattle (intramammary) |
|-----------------------|--|---|---|--------------------------|
| Clinical indications | - Respiratory tract infection - Neonatal <i>E. coli</i> septicemia - Foot infections | - Respiratory tract infection - Mastitis Metritis agalactiae (MMA) - Meningitis - Epidermatitis - Arthritis | - Respiratory tract infection - Neonatal <i>E. coli</i> septicemia | - Clinical mastitis |
| Clinical introduction | 1994 | 1999 | 2005 | 1998 |

การศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพของยา cefquinome พบว่า cefquinome มีค่า minimum inhibitory concentration (MIC) ที่ 50% และ 90% อยู่ที่ประมาณ 4 และ 32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. และมีค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ อยู่ที่ 0.195 และ 0.781 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *E. coli*, *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. (Limbert *et al.*, 1991; Chin *et al.*, 1992; Murphy *et al.*, 1994) และในปี 2006 ได้มีการศึกษาฤทธิ์การต้านจุลชีพของยาต่อเชื้อที่แยกได้จากแบคทีเรียที่ก่อโรคระบบทางเดินหายใจในม้าพบว่า cefquinome สามารถออกฤทธิ์ได้กว้างโดยมีค่า MIC₉₀ ต่อเชื้อ *Actinobacillus equuli*, Streptococci, Enterobacteriaceae และ Staphylococci อยู่ที่ 0.016, 0.032, 0.125 และ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ (Thomas *et al.*, 2006) แต่ออกฤทธิ์ได้จำกัดต่อเชื้อ *Rhodococcus* spp. และ *Pseudomonas* spp.

สำหรับการศึกษาในประเทศไทยของณัฐวีร์ และคณะในปี พ.ศ. 2552 ซึ่งแยกเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนจากสุนัขที่ติดเชื้อไวรัสไข้หัด หรือลำไส้อักเสบ โดยเก็บตัวอย่างจากอุจจาระและ/หรือน้ำมูก พบว่าได้เชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 65 ตัวอย่างแบ่งเป็น *E. coli* 27 ตัวอย่าง (41.53%) *Streptococcus* spp. 24 ตัวอย่าง (36.5%) *Staphylococcus* spp. 12 ตัวอย่าง (18%)

Pseudomonas spp. และ *Klebsiella* spp. อย่างละ 1 ตัวอย่าง (1.5%) จากนั้นหาค่าความไวรับของยาต้านจุลชีพ 6 ชนิดคือ cefquinome, cefazolin, enrofloxacin, gentamicin, amoxicillin และ sulfamethoxazole/trimethoprim ต่อเชื้อมีค่า MIC₅₀ ที่ได้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli*, *Staphylococcus* spp. และ *Streptococcus* spp. ได้ดี โดยมีค่า MIC₅₀ อยู่ที่ <0.125, 2 และ 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตรตามลำดับ สำหรับค่า MIC₉₀ พบว่าเชื้อ *Streptococcus* spp. อยู่ในช่วงที่ดื้อต่อยา cefquinome ส่วนเชื้อ *E. coli* และ *Staphylococcus* spp. ยังมีความไวรับในการตอบสนองต่อยาที่ดื้อต่อยา cefquinome สำหรับเชื้อ *Pseudomonas* spp. และ *Klebsiella* spp. ที่พบเพียงชนิดละ 1 ตัวอย่างมีค่า MIC อยู่ในระดับที่ไวต่อยา cefquinome เช่นเดียวกัน และเมื่อเปรียบค่าความไวรับของยา cefazolin (cephalosporin รุ่นที่ 1) กับยา cefquinome ต่อเชื้อ *E. coli* พบว่าเชื้อ *E. coli* อยู่ในช่วงที่ดื้อต่อยา cefazolin (MIC₉₀ = >512 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร) แต่ยังไวต่อยา cefquinome (MIC₉₀ = 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร) (ตารางที่ 2-3)

จากการศึกษาของ Orden และคณะในปี ค.ศ. 1999 โดยหาค่าความไวรับของยา cephalothin (cephalosporin รุ่นที่ 1), cefuroxime (cephalosporin รุ่นที่ 2), cefotaxime (cephalosporin รุ่นที่ 3) และ cefquinome ต่อเชื้อ *E. coli* 195 สเตรน ที่แยกได้จากลูกโคที่มีอาการท้องเสียพบว่า เชื้อ *E. coli* ทุกสเตรนมีความไวต่อยา cefotaxime และ cefquinome โดยมีค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ เท่ากับ ≤ 0.0625 และ 0.125 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ตามลำดับ แต่ดื้อต่อยา cephalothin และ cefuroxime จำนวน 32 และ 4 สเตรน ตามลำดับ (ตารางที่ 2-3)

ตารางที่ 2-3 ค่าความไวรับของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากคนและสัตว์ต่อยา cefquinome และยาในกลุ่ม cephalosporins รุ่นอื่นๆ

| ชนิดยา | จำนวน สเตรน | MIC (μg/mL) | | | อ้างอิง |
|--------------------------------|----------------|-------------------|-------------------|----------------|------------------------------|
| | | MIC ₅₀ | MIC ₉₀ | MIC breakpoint | |
| cefquinome | 40 | 0.049 | 0.391 | ไม่ระบุ | Limbert <i>et al.</i> , 1991 |
| cefotaxime (3 rd) | | 0.024 | 0.049 | ไม่ระบุ | |
| ceftazidime (4 th) | | 0.049 | 0.195 | ไม่ระบุ | |

| ชนิดยา | จำนวน สเตอร์น | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | | | อ้างอิง |
|--------------------------------|------------------|--------------------------|-------------------|----------------|-----------------------------|
| | | MIC ₅₀ | MIC ₉₀ | MIC breakpoint | |
| cefquinome | 30 | 0.06 | 0.12 | ไม่ระบุ | Chin <i>et al.</i> , 1992 |
| ceftazidime (3 rd) | | 0.25 | 0.5 | ไม่ระบุ | |
| cefpirome (4 th) | | 0.03 | 0.12 | ไม่ระบุ | |
| cefepime (4 th) | | 0.03 | 0.12 | ไม่ระบุ | |
| cefquinome | 20 | ≤ 0.12 | ≤ 0.12 | ไม่ระบุ | Murphy <i>et al.</i> , 1994 |
| cefotaxime (3 rd) | | ≤ 0.25 | ≤ 0.25 | ไม่ระบุ | |
| ceftazidime (3 rd) | | ≤ 0.12 | 0.25 | ไม่ระบุ | |
| cefpirome (4 th) | | ≤ 0.12 | ≤ 0.12 | ไม่ระบุ | |
| cefepime (4 th) | | ≤ 0.12 | ≤ 0.12 | ไม่ระบุ | |
| cefquinome | 195 | ≤ 0.0625 | 0.125 | ไม่ระบุ | Orden <i>et al.</i> , 1999 |
| cephalothin (1 st) | | 8 | 32 | ≥ 32 | |
| cefuroxime (2 nd) | | 4 | 8 | ≥ 32 | |
| cefotaxime (3 rd) | | ≤ 0.0625 | 0.125 | ≥ 64 | |
| cefquinome | 27 | < 0.125 | 2 | > 2 | ณัฐวีร์ และคณะ, 2552 |
| cefazolin (1 st) | | 4 | > 512 | ≥ 32 | |

จากการศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่า cefquinome ละลายได้น้อยในไขมัน มีค่า pKa อยู่ที 2.5-2.91 มีการดูดซึมได้ไม่ดึนั้กเมื่อให้โดยการกิน และมีการจับกับโปรตีนในพลาสมา ต่ำ (CVMP, 1995; CVMP, 1999; CVMP, 2003; Yuan, 2011)

2. เภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics)

เภสัชจลนศาสตร์เป็นการศึกษาถึงวิธีการที่ร่างกายกระทำกับยา เมื่อให้ยาเข้าสู่ร่างกาย ซึ่งหมายรวมถึง กระบวนการดูดซึมยา (drug absorption) การกระจายยา (drug distribution) การเปลี่ยนแปลงยา (drug metabolism) และการขับถ่ายยา (drug excretion) กระบวนการต่างๆ เหล่านี้มีผลกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณยาที่มีอยู่ในร่างกาย ส่งผลต่อความเร็วที่ยาจะไปออกฤทธิ์ (onset of action) ความแรงของยา (intensity of action) และระยะเวลาที่ยายังคงมีฤทธิ์อยู่ (duration of action) เพื่อกำหนดขนาดยาที่เหมาะสมซึ่งให้ผลในการรักษา โดยกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ จะเป็นตัวกำหนดปริมาณยาที่ไปยังอวัยวะเป้าหมาย และระยะเวลาที่ยาอยู่ในร่างกาย โดยแสดงถึงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของยาในเลือดที่เปลี่ยนแปลงกับเวลาหลังจากที่ได้รับยา (เพ็ญศรี, 2553)

การดูดซึมยา หมายถึง การส่งผ่านยาจากตำแหน่งที่ให้ยา (site of administration) เช่น การกิน สูดดม ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ เป็นต้น เข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต (systemic circulation) ของร่างกาย (ภาพที่ 2-4) ซึ่งยาที่สามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ดีต้องมีคุณสมบัติ ละลายได้ดีในไขมัน ไม่มีขั้ว ไม่มีประจุ มวลโมเลกุลต่ำ เป็นต้น ดังนั้นการดูดซึมยาจึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการให้ยาในทุกๆ ทาง (Riviere, 2009) โดยมีค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ที่สำคัญ ได้แก่

ค่าระดับยาสูงสุดในร่างกาย (peak plasma concentration, C_{max}) เป็นค่าความเข้มข้นสูงสุดของตัวยาที่พบในพลาสมาภายหลังจากการให้ยา โดยมักแสดงค่าคู่กับค่าเวลาที่ตรวจพบระดับยาสูงสุดในพลาสมา (T_{max}) ถ้า C_{max} และ T_{max} มีค่ามากแสดงว่ายามีการดูดซึมได้สูงและช้าภายหลังจากการให้ยา

ชีวประสิทธิผล (bioavailability, F) คือ สัดส่วนของยาที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต เพื่อไปออกฤทธิ์ สำหรับการให้ยาโดยการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ซึ่งเป็นการให้ยาเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิตโดยตรง ค่าชีวประสิทธิผลจึงมีค่ามากที่สุดคือ เท่ากับ 1 หรือ 100%

การกระจายยา หมายถึง การกระจายของโมเลกุลยาจากระบบไหลเวียนโลหิตเข้าสู่อวัยวะเป้าหมายต่างๆ ของร่างกาย โดยโมเลกุลของยาจะถูกส่งผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของอวัยวะเซลล์เยื่อบุหลอดเลือดฝอย โดยยาจะสามารถออกจากหลอดเลือดไปสู่ของเหลวภายนอกเซลล์และเข้าสู่เซลล์อวัยวะต่างๆ ได้ตามคุณสมบัติของยาแต่ละชนิด ค่า pK_a มวลโมเลกุล ความชอบกับไขมัน เป็นต้น ในช่วงแรกของการกระจายยาจะขึ้นกับ cardiac output และ blood flow โดยที่

อวัยวะที่มีเลือดไปเลี้ยงมากจะได้รับยาก่อน เช่น ตับ ไต สมอง ส่วนอวัยวะอื่นๆ เช่น กล้ามเนื้อ อวัยวะภายใน ผิวหนัง ไขมัน จะได้รับยาช้ากว่า โดยมีค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ที่สำคัญ ได้แก่

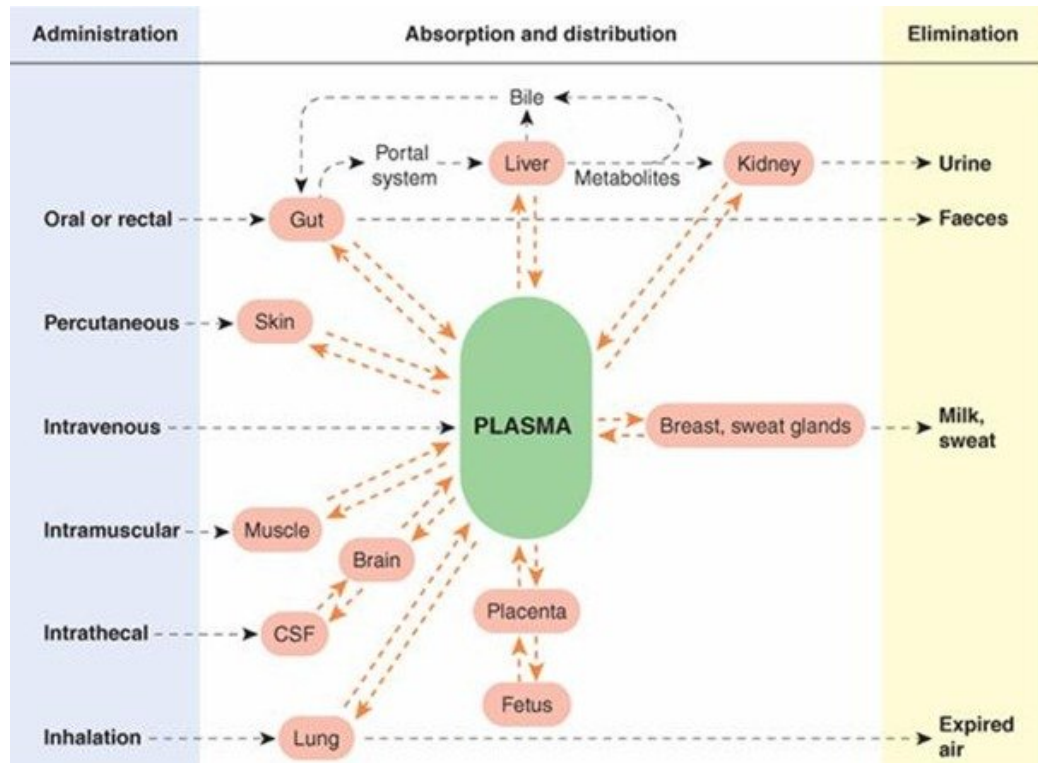
ค่าปรากฏปริมาตรการกระจายตัวของยา (Apparent volume of distribution, $V_{d_{app}}$) เป็นค่าคงที่ที่แสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของยาในพลาสมา กับปริมาณยาทั้งหมดในร่างกาย $V_{d_{app}}$ มีค่ามากหรือน้อยขึ้นกับสมบัติของยาในการจับกับพลาสมาโปรตีน หรือกระจายตัวไปในเนื้อเยื่อต่างๆ หากยามีการจับกับพลาสมาโปรตีนมาก จะปรากฏความเข้มข้นของยาในพลาสมา หรือในกระแสโลหิตมาก $V_{d_{app}}$ ของตัวยานั้นก็จะมีค่าน้อย

Unbound fraction (f_u) เป็นค่าที่บอถึงความสามารถของยาในการจับกับโปรตีนในพลาสมา โดยหาได้จาก ความเข้มข้นของยาในพลาสมาที่อยู่ในรูปอิสระหารด้วยความเข้มข้นของยาในพลาสมาทั้งหมด ซึ่งยาที่อยู่ในรูปอิสระเท่านั้นที่ออกฤทธิ์ได้ ดังนั้นยาที่มีการจับกับโปรตีนในพลาสมาสูงจะทำให้ความเข้มข้นของยาถึงระดับสูงสุดช้าลง แต่จะออกฤทธิ์ได้นานขึ้น

การกำจัดยา (drug elimination) เกี่ยวข้องกับกระบวนการ 2 กระบวนการ คือ การเปลี่ยนแปลงยา และการขับถ่ายยา ยาอาจถูกกำจัดออกจากร่างกายโดยการผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึม หรือสามารถถูกกำจัดออกในรูปเดิม (unchanged) โดยอวัยวะหลักในการกำจัดยา คือ ไต ซึ่งสารที่เป็นขี้จะถูกกำจัดออกได้ดีกว่าสารที่ละลายได้ดีในไขมัน ดังนั้นสารที่ละลายได้ดีในไขมัน จะผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมให้ได้เป็นสารที่มีขี้ก่อนจึงจะถูกขับออกมาได้ นอกจากการขับออกทางไตผ่านทางปัสสาวะแล้ว ยาบางอย่างอาจขับออกได้ทางอุจจาระ น้ำนม เหงื่อและปอดได้ โดยทางปอดนั้น ส่วนมากเป็นทางในการกำจัดยาที่เป็นก๊าซ (ภาพที่ 2-4) ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของการกำจัดยาที่สำคัญ ได้แก่

ค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดออกของตัวยาในร่างกาย (Elimination half-life, $t_{1/2}$) เป็นค่าที่บ่งบอกระยะเวลาที่ระดับยาในกระแสโลหิตลดลงไปครึ่งหนึ่งเนื่องจากถูกกำจัดออกจากร่างกาย หรือร้อยละ 50 ของปริมาณทั้งหมดที่เข้าสู่กระแสโลหิต

การชำระยา (Total clearance, Cl_{total}) บ่งถึงปริมาตรของพลาสมาที่ถูกทำให้ปราศจากยาในหนึ่งหน่วยเวลา ถ้าค่าการชำระยาสูง แสดงว่ายามีการกำจัดออกจากร่างกายได้อย่างรวดเร็ว (เพ็ญศรี, 2553; Bauer, 2008; Papich and Riviere, 2009)



ภาพที่ 2-4 เกสัชจลนศาสตร์: การดูดซึมยา การกระจายยา และการกำจัดยา

(<http://physiophysio.blogspot.com/2010/01/pharmacokinetics-and-and.html>)

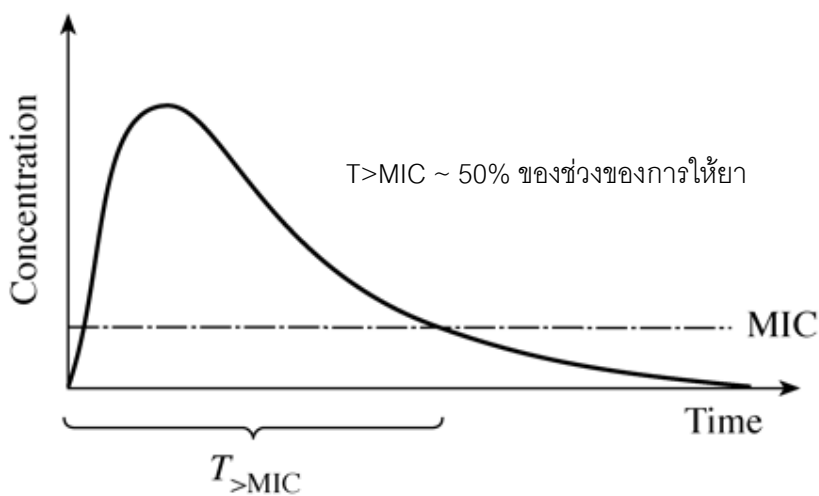
จากการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขพันธุ์บีเกิล เพศผู้ น้ำหนักเฉลี่ย 22 กิโลกรัมหลังจากการบริหารยาเข้าหลอดเลือดดำ 1 ครั้ง พบว่ามีการกระจายตัวของยาอย่างรวดเร็ว มีค่าพื้นที่ใต้กราฟ ($AUC_{0-\infty}$) อยู่ที่ 26.6 ± 4.7 , 50.4 ± 13.7 และ 104.6 ± 5.9 มิลลิกรัม. ชั่วโมงต่อลิตร เมื่อให้ยาในขนาด 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ มีค่าครึ่งชีวิต 0.85 ± 0.10 , 0.98 ± 0.28 และ 0.96 ± 0.8 ชั่วโมง เมื่อให้ยาในขนาด 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ และมีปริมาตรการกระจายตัวของยาอยู่ที่ 0.20 ± 0.06 , 0.24 ± 0.09 และ 0.22 ± 0.04 ลิตรต่อกิโลกรัม (ประมาณ 25% ของปริมาณน้ำในร่างกาย) เมื่อให้ยาในขนาด 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ มีกระบวนการขับยาออกจากร่างกายเร็ว โดยมีค่าการชำระยาอยู่ที่ 70.1 ± 13.5 , 79.3 ± 27.9 และ 67.6 ± 5.4 มิลลิลิตรต่อนาที มีการจับกับโปรตีนน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ โดยยาส่วนใหญ่ประมาณ 63-78 เปอร์เซ็นต์ ถูกขับทิ้งผ่านทางไตในรูปที่ไม่ถูกเปลี่ยนแปลง (unchanged form) (Limbert *et al.*, 1991)

จากการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสัตว์ชนิดอื่น พบว่ามีค่าพารามิเตอร์ของเภสัชจลนศาสตร์ใกล้เคียงกันทั้งในหนูถีบจักร โค ม้า สุกร และลูกสุกร (CVMP, 1995; CVMP, 1999; CVMP, 2003) โดยในหนูเมื่อให้ยา cefquinome ขนาด 10 และ 40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าได้ผิวหนัง พบว่า มีค่าพื้นที่ใต้กราฟ ($AUC_{0-\infty}$) อยู่ที่ 7.8 ± 1.9 และ 26.8 ± 7.7 มิลลิกรัม. ชั่วโมงต่อลิตร ตามลำดับ มีค่าครึ่งชีวิต 0.58 ± 0.09 และ 0.49 ± 0.19 ชั่วโมง ตามลำดับ ความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุดอยู่ที่ 7.5 ± 2.9 และ 25.9 ± 5.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 0.38 ± 0.16 และ 0.45 ± 0.13 ชั่วโมงตามลำดับ โดยยา 75.8-85.1 เปอร์เซ็นต์ ถูกขับทิ้งผ่านทางไตในรูปที่ไม่ถูกเปลี่ยนแปลง (Limbert *et al.*, 1991) ในโคเมื่อให้ยา cefquinome ขนาด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าหลอดเลือดดำ ได้ผิวหนัง กล้ามเนื้อ และ เข้าหลอดเลือด พบว่า มีค่าพื้นที่ใต้กราฟ ($AUC_{0-\infty}$) อยู่ที่ 84.7 ± 25.3 , 19.4 , 24.0 และ 20.8 มิลลิกรัม. ชั่วโมงต่อลิตร ตามลำดับ มีค่าครึ่งชีวิต 1.33 ± 0.41 ชั่วโมง มีปริมาตรการกระจายตัวของยาอยู่ที่ 0.23 ± 0.13 ลิตรต่อกิโลกรัม มีค่าการชำระยาอยู่ที่ 261 ± 128 มิลลิลิตรต่อนาที ภายหลังจากการฉีดยาเข้าได้ผิวหนัง กล้ามเนื้อ และหลอดเลือด มีความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุดอยู่ที่ 3.6 , 4.5 และ 4.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 1.8 , 2.0 และ 1.8 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนในสุกรเมื่อให้ยา cefquinome ขนาด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าได้ผิวหนัง และเข้าหลอดเลือดดำพบว่า มีค่าพื้นที่ใต้กราฟ ($AUC_{0-\infty}$) อยู่ที่ 62.3 ± 17.4 และ 66.7 ± 27.2 มิลลิกรัม. ชั่วโมงต่อลิตร ตามลำดับ มีค่าครึ่งชีวิต 1.23 ± 0.28 และ 1.32 ± 0.18 ชั่วโมง ตามลำดับ มีความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุดอยู่ที่ 26.1 ± 6.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 0.80 ± 0.16 ชั่วโมง (ภายหลังจากการให้ยาเข้าได้ผิวหนัง) ปริมาตรการกระจายตัวของยาอยู่ที่ 0.24 ± 0.11 ลิตรต่อกิโลกรัม และมีค่าการชำระยาอยู่ที่ 48.5 ± 16.6 มิลลิลิตรต่อนาที (Limbert *et al.*, 1991)

ในปี ค.ศ. 2011 Uney และคณะได้ทำการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในแกะโดยให้ยาในขนาด 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม บริหารยาเข้าทางกล้ามเนื้อ เปรียบเทียบกับการบริหารยาเข้าทางหลอดเลือดดำ และศึกษาค่าชีวประสิทธิผลของยา พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาในพลาสมาที่ตรวจพบมีรูปแบบเป็น two-compartment model โดยหลังจากการบริหารยาเข้าทางกล้ามเนื้อพบว่ายามีการดูดซึม และกระจายตัวอย่างรวดเร็ว มีค่าครึ่งชีวิตอยู่ที่ 1.88 ± 0.40 ชั่วโมง ความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุดอยู่ที่ 2.60 ± 0.14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 0.50 ชั่วโมง และมีค่าชีวประสิทธิผลเท่ากับ 89.31 ± 6.06 เปอร์เซ็นต์

2.1 คุณสมบัติของเภสัชจลนศาสตร์ และเภสัชพลศาสตร์ (pharmacokinetic-pharmacodynamic properties)

เป้าหมายหลักของการนำยามาใช้รักษาโรค ต้องอาศัยทั้งเภสัชจลนศาสตร์ และเภสัชพลศาสตร์ เพื่อกำหนดขนาดยาที่เหมาะสมซึ่งให้ผลในการรักษา โดยกระบวนการทางเภสัชจลนศาสตร์ จะเป็นตัวกำหนดปริมาณยาที่ไปยังอวัยวะเป้าหมาย และระยะเวลาที่ยาอยู่ในร่างกาย ในขณะที่กลไกทางเภสัชพลศาสตร์จะแสดงถึงความสัมพันธ์ของขนาดยา และผลที่เกิดขึ้น (dose-response relationship) โดยยาในกลุ่ม cephalosporins มีการออกฤทธิ์ในแบบ time-dependent กล่าวคือออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียอย่างช้าๆ โดยที่ช่วงเวลาที่ความเข้มข้นของยาในพลาสมาต้องมากกว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimum inhibitory concentration; MIC) ($T > MIC$) อย่างน้อย 50% ของช่วงของการให้ยา (dosing interval) ดังภาพที่ 2-5 ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้การรักษาประสบความสำเร็จ (Turnidge, 1998; Papich and Bidgood, 2005; Blondeau, 2009)



ภาพที่ 2-5 คุณสมบัติของเภสัชจลนศาสตร์ และเภสัชพลศาสตร์ (Barger *et al.*, 2003)

หมายเหตุ : T = time; MIC = minimum inhibitory concentration

ในปี ค.ศ. 2008 Li และคณะได้ทำการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในลูกสุกรโดยให้ยาในขนาด 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม บริหารยาเข้าทางกล้ามเนื้อ เปรียบเทียบกับการบริหารยาเข้าทางหลอดเลือดดำ และศึกษาค่าชีวประสิทธิผลของยา พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาในพลาสมาที่ตรวจพบมีรูปแบบเป็น two-compartment open model โดยหลังจากการบริหารยาเข้าทางกล้ามเนื้อพบว่ายามีการดูดซึม และกระจายตัวเร็ว มีค่า

ครึ่งชีวิตในช่วงการกระจายตัวอยู่ที่ 0.88 ± 0.42 ชั่วโมง ความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุดอยู่ที่ 4.01 ± 0.57 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 0.28 ± 0.27 ชั่วโมง และมีค่าชีวประสิทธิผลเท่ากับ 95.13 ± 9.93 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งระดับยา cefquinome ที่พบในพลาสมาหลังจากการให้ยาเข้าทางกล้ามเนื้อ มีความเข้มข้นสูงพอที่จะทำลายเชื้อ *Actinobacillus pleuropneumoniae* เมื่อเทียบกับค่าความไวรับที่ได้คือ 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ในปี ค.ศ. 2010 Al-Taher ได้ทำการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในอูฐโดยให้ยาในขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม บริหารยาเข้าทางกล้ามเนื้อ พบว่ายามีการดูดซึมและกำจัดออกนานกว่าสัตว์ชนิดอื่นที่ศึกษาก่อนหน้านี้ เช่น โค สุกร สุนัข เป็นต้น โดยมีค่าครึ่งชีวิตในช่วงการดูดซึมอยู่ที่ 4.35 ± 0.27 ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิตในช่วงการกำจัดยาอยู่ที่ 10.24 ± 0.8 ชั่วโมง ความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุดอยู่ที่ 1.23 ± 0.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 4.25 ± 0.1 ชั่วโมง และระดับยา cefquinome ที่พบในพลาสมาหลังจากการให้ยาเข้าทางกล้ามเนื้อ มีความเข้มข้นสูงพอที่จะทำลายเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Enterobacteriaceae* เมื่อเทียบกับค่าความไวรับโดยประมาณที่ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรได้นาน 24 ชั่วโมง

ในปี ค.ศ. 2011 Tohamy ได้ทำการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในแกะต่างอายุกันโดยให้ยาในขนาด 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่แกะอายุ 1 , 6 และ 12 เดือน บริหารยาเข้าทางกล้ามเนื้อ พบว่าค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ระหว่างลูกแกะ และ แกะโตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยในแกะอายุ 1 เดือนมีค่าครึ่งชีวิตในการดูดซึมยา และ ค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดยานานกว่า ค่าความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุดน้อยกว่า และ เปอร์เซ็นต์การจับกับโปรตีนในพลาสมาต่ำกว่าแกะอายุ 6 เดือน และ 12 เดือน ซึ่งระดับยา cefquinome ที่พบในพลาสมาหลังจากการให้ยาเข้าทางกล้ามเนื้อในขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในแกะทุกอายุมีความเข้มข้นสูงพอที่จะทำลายเชื้อแบคทีเรียที่มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้ออยู่ที่ $0.06-0.125$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรได้นาน 24 ชั่วโมง

ในปี ค.ศ. 2011 Yuan และคณะได้ทำการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในเป็ดโดยให้ยาในขนาด 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการกิน ฉีดเข้าทางกล้ามเนื้อ เปรียบเทียบกับการบริหารยาเข้าทางหลอดเลือดดำ และศึกษาค่าชีวประสิทธิผลของยา พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาในพลาสมาภายหลังการให้ยาเข้าทางกล้ามเนื้อ และทางหลอดเลือดดำที่ตรวจพบมีรูปแบบเป็น two-compartment model เช่นเดียวกับการศึกษาของ Li และคณะในปี ค.ศ. 2008 แต่ตรวจไม่พบระดับยา cefquinome ในพลาสมาภายหลังการให้ยาโดยการ

กิน สำหรับการบริหารยาเข้าทางหลอดเลือดพบว่ามีค่าครึ่งชีวิตอยู่ที่ 1.57 ± 0.06 ชั่วโมง ค่าการชำระยาอยู่ที่ 0.22 ± 0.02 ลิตรต่อกิโลกรัม.ชั่วโมง ปริมาตรการกระจายตัวของยาอยู่ที่ 0.41 ± 0.04 ลิตรต่อกิโลกรัม สำหรับการบริหารยาเข้าทางกล้ามเนื้อพบว่ามีค่าครึ่งชีวิตอยู่ที่ 9.38 ± 1.61 ชั่วโมงครึ่งชีวิตต่อมิลลิกรัม ที่เวลา 0.38 ± 0.06 ชั่วโมง มีค่าครึ่งชีวิตอยู่ที่ 1.79 ± 0.13 ชั่วโมง และมีค่าชีวประสิทธิผลเท่ากับ 93.28 ± 13.89 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งระดับยา cefquinome ที่พบในพลาสมาภายหลังจากการให้ยาเข้าทางหลอดเลือดดำ และทางกล้ามเนื้อมีความเข้มข้นสูงพอที่จะทำลายเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae เมื่อเทียบกับค่าความไวรับโดยประมาณที่ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมได้นาน 10 และ 11 ชั่วโมงตามลำดับ

2.2 การตรวจวัดระดับยาในพลาสมาด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC)

การตรวจวัดระดับยาในพลาสมาในอดีตมักจะใช้วิธี bioassay แต่ปัจจุบันนิยมใช้ตรวจวัดระดับยาในพลาสมาด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งเป็นเทคนิคการวิเคราะห์สารเชิงคุณภาพ (qualitative analysis) และเชิงปริมาณ (quantitative analysis) ที่นิยมใช้กันมาก โดยสามารถใช้กับงานด้านต่างๆ ได้อย่างกว้างขวาง เช่น ด้านอุตสาหกรรมยา สารเคมี ด้านสิ่งแวดล้อม และด้านอาหาร เป็นต้น สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารขนาดต่ำได้ในระดับไมโครกรัมถึงพิโคกรัม และตรวจได้ตั้งแต่สารสภาพไม่มีชีวิตจนสภาพมีชีวิตสูง สารที่ชอบน้ำหรือสารที่ไม่ชอบน้ำ โดยเลือกใช้รูปแบบ HPLC ที่เหมาะสมกับคุณสมบัติสารที่ต้องการตรวจ

HPLC อาศัยหลักการความชอบของสารว่าชอบเฟสเคลื่อนที่ หรือเฟสอยู่กับที่มากกว่ากัน โดยใช้เครื่องสูบแรงดันสูง (high pressure pump) สูบตัวทำละลายซึ่งทำหน้าที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ พาสารตัวอย่างที่ต้องการตรวจซึ่งถูกฉีดเข้าทางช่องฉีดสาร (injector) ผ่านอนุภาคที่เป็นเฟสอยู่กับที่ที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ (column) สารผสมตัวอย่างจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ และถูกแยกออกมา ผ่านเข้าสู่เครื่องตรวจวัด (detector) ในเวลาที่ต่างกัน ซึ่งสัญญาณที่วัดได้จะอยู่ในรูปสัญญาณไฟฟ้าตามเวลา และปริมาณของสารที่ตรวจวัด จากนั้นสัญญาณจะถูกส่งไปยังเครื่องบันทึกสัญญาณ เพื่อแสดงผลออกมาเป็นโครมาโทแกรม (chromatogram) ดังภาพที่ 2-6



ภาพที่ 2-6 แสดงระบบของเครื่อง HPLC (เพ็ญศรี, 2553)

โดยระดับสารที่ตรวจวัดได้ต้องมีการตรวจรับรองวิธีการวิเคราะห์ (method validation) อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้จึงจะได้ผลออกมาเป็นที่น่าเชื่อถือ ซึ่งมีตัวแปรดังนี้

ประสิทธิภาพของการเตรียมตัวอย่าง ทำได้โดยการเติมสารละลายมาตรฐานที่ใช้วิเคราะห์ลงในตัวอย่างชีวสาร ที่ความเข้มข้นในระดับสูง กลาง และต่ำ ทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การคืนกลับสมบูรณ์ (absolute recovery) โดยค่าที่ยอมรับได้ต้องมากกว่า 85%

$$\% \text{ การคืนกลับสมบูรณ์} = 100 \times \frac{\text{ความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน}}$$

สภาพเชิงเส้น (linearity) เพื่อดูความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างปริมาณยากับค่าที่วัดได้ ทำได้โดยเตรียมสารละลายของตัวยามาตรฐานในความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 6-8 ความเข้มข้น ทำซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง จากนั้นดูความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง โดยให้มีค่า coefficient of determination (R^2) มากกว่า 0.9900 (Causey *et al.*, 1990)

ความไวของการวิเคราะห์ (sensitivity) แสดงได้ด้วยความเข้มข้นที่น้อยที่สุดของสารที่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ โดยดูได้จากค่า

- Limit of detection (LOD) คือ ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่วิธีนี้ตรวจพบ

- Limit of quantification (LOQ) คือ ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่วิธีนี้วัดได้ โดยมีความแม่นยำและเที่ยงตรงที่ยอมรับได้ ซึ่งต้องทำการยืนยันที่ความเข้มข้นนั้นด้วยการทำซ้ำไม่น้อยกว่า 5 ครั้ง จากนั้นนำค่าที่ได้มาหาค่าเปอร์เซ็นต์การเอนเอียง (% bias) โดยมีช่วงที่ยอมรับได้คือ $\pm 20\%$

$$\% \text{ การเอนเอียง} = 100 \times \frac{(\text{ค่าความเข้มข้นที่วิเคราะห์}) - (\text{ค่าความเข้มข้นจริง})}{(\text{ค่าความเข้มข้นจริง})}$$

ความถูกต้อง (accuracy) เป็นการทดสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ โดยเทียบกับค่าจริง ซึ่งต้องทำการวิเคราะห์อย่างน้อย 3 ความเข้มข้น ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ทำซ้ำ 5 ครั้ง จากนั้นนำค่าที่ได้มาหาค่า % ความถูกต้อง (% accuracy) โดยมีช่วงที่ยอมรับได้อยู่ที่ 85-115%

$$\% \text{ ความถูกต้อง} = 100 \times \frac{\text{ความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ความเข้มข้นที่เติมลงไป}}$$

ความแม่นยำ (precision) ใช้ทดสอบความคลาดเคลื่อนที่เกิดโดยไม่คาดคะเน โดยแบ่งออกเป็นการวัดความแม่นยำภายในวันเดียวกัน (intra-day precision) และ การวัดความแม่นยำต่างวัน (inter-day precision) โดยทำการวิเคราะห์อย่างน้อย 3 ความเข้มข้น ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ กลาง และสูง ทำซ้ำไม่น้อยกว่า 5 ครั้ง จากนั้นนำค่าที่ได้มาหาค่า % CV (coefficient of variation) หรือเรียก % RSD (relative standard deviation) โดยมีค่าที่ยอมรับได้อยู่ที่ < 15%

$$\% \text{ RSD} = 100 \times \text{SD}/\text{mean}$$

โดย SD แทนค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของข้อมูลการวิเคราะห์ และ mean แทนค่าเฉลี่ยของข้อมูล

ความจำเพาะ (selectivity) เป็นการแสดงความสามารถของวิธีวิเคราะห์ ในการที่จะแยกความแตกต่างของตัวยาที่วิเคราะห์กับสิ่งอื่นๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ทดสอบได้โดยการนำชีวสารชนิดเดียวกันแต่ต่างแหล่งที่มา จำนวนอย่างน้อย 6 แหล่ง เช่น นำพลาสมาของสุนัขมาจากสุนัข 6 ตัว เติมตัวยาที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ LOQ ทำการวิเคราะห์ตามกระบวนการวิเคราะห์ จากนั้นนำค่าที่ได้มาหาเปอร์เซ็นต์การเอนเอียง โดยมีช่วงที่ยอมรับได้คือ < ±20 %

ความคงตัวของตัวยา (stability) โดยทำการทดสอบที่ความเข้มข้นสูง และต่ำ ทำซ้ำ 3 ครั้ง แบ่งการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 2-4

ตารางที่ 2-4 รายการการตรวจรับรองเสถียรภาพตัวยา (เพ็ญศรี, 2553)

| รายการ | สภาวะการศึกษา* | คำอธิบาย |
|--|---|--|
| 1. ตัวยาในซีวสาร | 1.1 คุณหมุมิห้องปฏิบัติการ อย่างน้อย 4 ชั่วโมง 1.2 คุณหมุมิการเก็บรักษา (แช่แข็ง) 7-30 วัน | 1.1 เป็นการหาเวลาที่ตัวยายังมีเสถียรภาพ ขณะดำเนินการวิเคราะห์ 1.2 เป็นการหาเสถียรภาพของตัวยาเมื่อ เก็บรักษาในตู้แช่แข็ง |
| 2. ตัวยาในซีวสารที่ แช่แข็งและปล่อยให้ ให้ละลาย (freeze- thaw cycles) | เก็บในตู้แช่แข็ง 12-24 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้ละลายที่ คุณหมุมิห้อง ทำ 3 รอบ | จำลองสถานการณ์การนำตัวอย่างซีวสาร เข้าและออกจากตู้แช่แข็ง วิเคราะห์ทุกรอบ หรือเมื่อครบ 3 รอบ |
| 3. ตัวยาที่ผ่านการ เตรียมตัวอย่าง และรอกการวิเคราะห์ | วางสารละลายพร้อมฉีดเข้า ระบบ HPLC ในเครื่องฉีด วิเคราะห์ในเวลาต่างๆ ระหว่าง 6-48 ชั่วโมง | ทดสอบเสถียรภาพของตัวยาระหว่างรอกการ ฉีดเข้าระบบ HPLC ระยะเวลายาวขึ้นกับ ช่วงเวลาที่ใช้จริงในการวิเคราะห์ |
| 4. ตัวยาใน สารละลายสต็อก | เก็บในตู้แช่แข็ง และนำ ออกมาวิเคราะห์ 7-30 วัน | เพื่อกำหนดเวลาการเก็บสารละลายของตัว ยามาตรฐาน |

*ทุกสภาวะการศึกษาต้องบอกคุณหมุมิที่ใช้

ความมั่นคงของวิธี (ruggedness) โดยทำการทดลอง ให้ผู้ทำคนละคน สามารถวิเคราะห์
หาระดับยาได้เหมือนกันหรือไม่ (เพ็ญศรี, 2553; Buick *et al.*, 1990; Shah *et al.*, 1992;
Lambert *et al.*, 2000; Maes *et al.*, 2007; Uney *et al.*, 2011)

3. การติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infections; UTIs)

ในสภาวะปกติระบบทางเดินปัสสาวะ ในส่วนไต ท่อทางเดินปัสสาวะส่วนต้น และกระเพาะปัสสาวะจะปราศจากเชื้อ (sterile) ส่วนท่อปัสสาวะส่วนท้าย ช่องคลอด และหนังหุ้มลิ้นจะมีแบคทีเรียที่เป็นแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora) อาศัยอยู่ (ตารางที่ 2-5) โดยบางครั้งอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงบทบาทจากเชื้อประจำถิ่นมาเป็นเชื้อก่อโรคได้

การติดเชื้อแบคทีเรียที่ทางเดินปัสสาวะ เป็นสาเหตุให้เกิดอาการปัสสาวะเป็นเลือด ปัสสาวะลำบาก ปัสสาวะกะปริดกะปรอย ปวดเบ่งปัสสาวะ และปัสสาวะไม่ออก (Elliott, 1996; Bartges, 2005) โดยสาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากจากจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่อยู่ในระบบทางเดินปัสสาวะ ระบบทางเดินสืบพันธุ์ และทวารหนัก เกิดการติดเชื้อขึ้นย้อนเข้าไปในท่อทางเดินปัสสาวะ จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่ามากกว่า 70% ในสุนัขที่มีการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย 1 ชนิด โดยเชื้อแบคทีเรียที่พบได้บ่อยและเป็นสาเหตุสำคัญคือเชื้อ *E. coli* (Elliott, 1996; Yuri *et al.*, 2000; Blondeau, 2009) จากการศึกษาของ Wooley และ Blue ในปี ค.ศ. 1976 เก็บตัวอย่างปัสสาวะจากสุนัขที่มีปัญหาการติดเชื้อแบคทีเรียที่ทางเดินปัสสาวะจำนวน 385 ตัว ได้เชื้อแบคทีเรีย 241 ตัวอย่าง โดยพบว่าเป็นเชื้อ *E. coli* 33%, *Proteus* spp. 28.6%, *S. aureus* 17.0% และ *Streptococcus* spp. 7.8% การศึกษาของ Elliott ในปี ค.ศ. 1996 พบว่าแบคทีเรียที่พบบ่อยว่าเป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะส่วนล่างคือ *E. coli* 42%, *Staphylococcus* spp. 18.6%, *Streptococcus* spp. 9.6%, *Proteus mirabilis* 9.3%, *Klebsiella pneumoniae* 8.3% และ *Pseudomonas aeruginosa* 5% การศึกษาของ Ball และคณะในปี ค.ศ. 2008 โดยเก็บตัวอย่างปัสสาวะจากสุนัขที่มีปัญหา UTIs ในปี ค.ศ. 2002-2007 จำนวน 361 ตัว ได้เชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 473 ตัวอย่าง พบเชื้อ *E. coli* 51.1%, *S. intermedius* 16.5%, *Enterococcus* spp. 10.2% และ *Proteus* spp. 5.9% ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Blondeau ในปี ค.ศ. 2009 ซึ่งพบว่าแบคทีเรียที่พบบ่อยว่าเป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะคือ *E. coli* 50%, *Staphylococcus* spp. 10%, *Klebsiella pneumoniae* 15%, *Proteus mirabilis* 15% และแบคทีเรียอื่นๆ เช่น *Mycoplasma* spp. 10%

ตารางที่ 2-5 ชนิดของเชื้อแบคทีเรียประจำถิ่นที่พบบริเวณทางเดินปัสสาวะและระบบสืบพันธุ์ในสุนัขเพศผู้ และเพศเมีย (Bartges, 2005; Blondeau, 2009)

| ชนิดของแบคทีเรีย | ช่องทางเดินปัสสาวะส่วนท้ายของสุนัขตัวผู้ | หนังหุ้มลิ้นค้ของสุนัขตัวผู้ | ช่องคลอดของสุนัขตัวเมีย |
|--|--|------------------------------|-------------------------|
| แบคทีเรียแกรมบวก | | | |
| <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> | X | X | X |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | X | X | X |
| <i>Corynebacterium</i> spp. | X | X | X |
| <i>Bacillus</i> spp. | | X | X |
| <i>Micrococcus</i> spp. | | | X |
| <i>Peptostreptococcus</i> spp. | | | X |
| <i>Streptococcus canis</i> | X | X | X |
| <i>Streptococcus viridans</i> | X | X | X |
| <i>Streptococcus</i> spp. | | X | X |
| <i>Streptococcus equismilis</i> | | X | |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | | X | X |
| <i>Streptococcus zooepidemicus</i> | | | X |
| <i>Enterococcus</i> spp. | | X | X |
| <i>Clostridium</i> spp. | | | X |

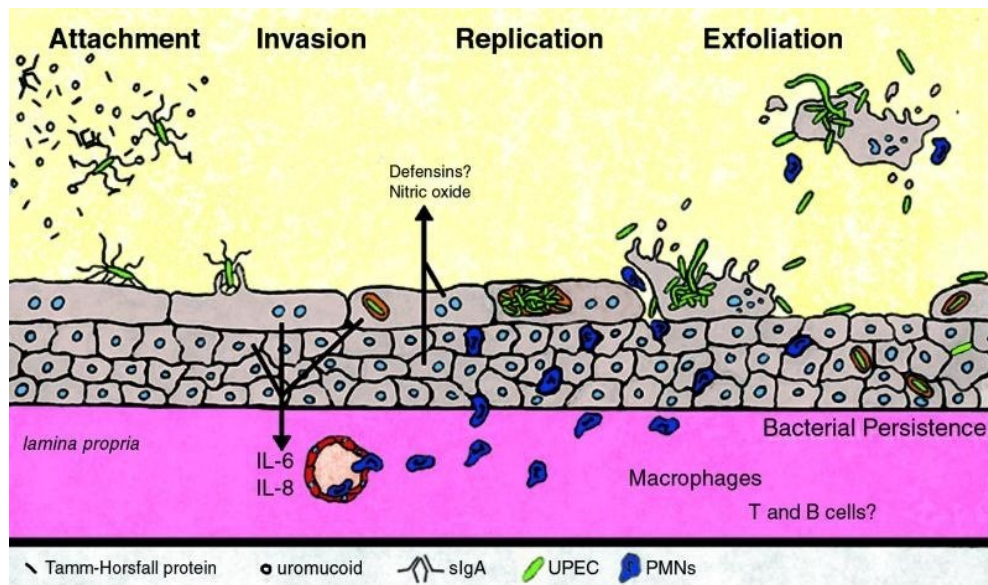
| ชนิดของแบคทีเรีย | ช่องทางเดิน ปัสสาวะส่วนท้าย ของสุนัขตัวผู้ | หนังหุ้มลิ้น ของสุนัขตัวผู้ | ช่องคลอดของ สุนัขตัวเมีย |
|----------------------------|--|--------------------------------|-----------------------------|
| แบคทีเรียแกรมลบ | | | |
| <i>Acinetobacter</i> spp. | | X | X |
| <i>Bacteroides</i> spp. | | | X |
| <i>Escherichia coli</i> | X | X | X |
| <i>Enterobacter</i> spp. | | | X |
| <i>Fusobacterium</i> spp. | | | X |
| <i>Pasteurella</i> spp. | | X | X |
| <i>Moraxella</i> spp. | | X | X |
| <i>Proteus</i> spp. | | X | X |
| <i>Prevotella</i> spp. | | | X |
| <i>Klebsiella</i> spp. | X | X | X |
| <i>Pseudomonas</i> spp. | | X | X |
| <i>Neisseria</i> spp. | | | X |
| <i>Flavobacterium</i> spp. | X | X | X |
| <i>Hemophilus</i> spp. | X | X | X |
| <i>Citrobacter</i> spp. | | | X |

| ชนิดของแบคทีเรีย | ช่องทางเดินปัสสาวะส่วนท้ายของสุนัขตัวผู้ | หนังหุ้มลิ้นค้ของสุนัขตัวผู้ | ช่องคลอดของสุนัขตัวเมีย |
|------------------------|--|------------------------------|-------------------------|
| แบคทีเรียอื่นๆ | | | |
| <i>Mycoplasma</i> spp. | X | X | X |
| <i>Ureaplasma</i> spp. | X | X | X |

3.1 การติดเชื้อ *Escherichia coli* (*E. coli*) ที่ทางเดินปัสสาวะ

Escherichia coli หรือ *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง ปลายมน เรียงตัวแบบเดี่ยว เจริญได้ในบรรยากาศที่มีออกซิเจน พบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม และร่างกายของสัตว์ เช่น ในระบบทางเดินอาหาร พยาธิกำเนิดของโรคส่วนใหญ่เป็นผลมาจากการลดลงของภูมิคุ้มกันร่างกายของโฮสต์ และ/หรือความรุนแรงของเชื้อ (Blondeau, 2009)

ในการศึกษาครั้งนี้เชื้อ *E. coli* ที่นำมาศึกษาเป็นเชื้อ *E. coli* ที่ได้รับการยืนยันแล้วว่าเป็น เชื้อ *E. coli* ที่ก่อโรคที่ทางเดินปัสสาวะ (uropathogenic *E. coli*; UPEC) พยาธิสรีรวิทยาของเชื้อ UPEC เริ่มต้นด้วยการยึดเกาะของแบคทีเรียบริเวณเยื่อบุทางเดินปัสสาวะ โดยอาศัยโครงสร้างเฉพาะระหว่างพิมเบรีย (fimbria) จับกับตัวรับจำเพาะที่อยู่บนเยื่อบุทางเดินปัสสาวะ (attachment) จากนั้นแบคทีเรียจะแทรกเข้าสู่เซลล์เยื่อบุ (invasive) แล้วเกิดการเพิ่มจำนวนขึ้น (replication) เหนี่ยวนำให้มีการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวชนิดหลายนิวเคลียสมาสู่บริเวณที่มีการติดเชื้อผ่านการกระตุ้นไซโตไคน์ ชนิด IL-6 และ IL-8 เป็นผลให้เกิดการทำลายเซลล์โฮสต์ที่ติดเชื้อ โดย UPEC จะออกจากเซลล์เยื่อบุที่ตาย เข้าสู่เซลล์เยื่อบุข้างเคียง หรือชั้นถัดไปเพื่อหลีกเลี่ยงการกำจัดจากระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย (Mulvey *et al.*, 2000) และคงอยู่ในกระเพาะปัสสาวะ หรือเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต (ภาพที่ 2-7)



ภาพที่ 2-7 พยาธิสรีรวิทยาของการติดเชื้อ UPEC ภายในเยื่ออุกระเพาะปัสสาวะ (Mulvey *et al.*, 2000)

3.1.1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงต่อทางเดินปัสสาวะของ UPEC

1. การยึดเกาะ เป็นขั้นตอนแรกในกระบวนการก่อโรค และช่วยไม่ให้แบคทีเรียหลุดไปกับปัสสาวะ ทำให้เกิดการยึดเกาะ และเพิ่มจำนวนบริเวณผนังท่อปัสสาวะได้ (Rama *et al.*, 2005) ส่วนที่ช่วยในการยึดเกาะของ UPEC มีชื่อเรียกว่า พิลไล (pili) หรือ ฟิมเบรีย (fimbria) ซึ่งมีอยู่หลายชนิดเช่น type 1 pili (*pil*), pyelonephritis-associated pili (*pap*), S fimbrial adhesin (*sfa*), afimbrial adhesion (*afa*) เป็นต้น (Bartges, 2005; Santo *et al.*, 2006)

2. ระบบการจับธาตุเหล็ก (iron uptake system) aerobactin เป็นโปรตีนขนาดเล็ก มีหน้าที่จับธาตุเหล็ก และนำเข้าสู่เซลล์ ซึ่งธาตุเหล็กมีหน้าที่ช่วยในการขนส่งและเก็บออกซิเจน การสังเคราะห์สารพันธุกรรม การขนส่งอิเล็กตรอน และการเจริญของเซลล์ (Bartges, 2005)

3. สารพิษและเอนไซม์ต่างๆ เช่น alpha-hemolysin (*hly*) มีฤทธิ์ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก ดังนั้นจึงเพิ่มปริมาณธาตุเหล็กอิสระซึ่งใช้ในการเจริญของแบคทีเรีย cytotoxic necrotizing factor I (*cnf1*) เป็นสารพิษที่ทำให้เกิดการปรับโครงสร้างของ actin microfilament ทำให้เกิดกระบวนการทำลายตนเองของเซลล์เยื่ออุกระเพาะปัสสาวะ (Yuri *et al.*, 2000; Bartges, 2005)

4. แอนติเจนและโปรตีนที่ผิวเซลล์ (antigens and outer membrane protein) เช่น แคปซูลเคแอนติเจน เป็นแคปซูลล้อมรอบแบคทีเรีย ยับยั้งกระบวนการเก็บกินของเซลล์ และการทำลายเชื้อแบคทีเรียจากคอมพลีเมนต์ ต้านทานกระบวนการอักเสบทำให้มีการคงอยู่ของแบคทีเรียในเนื้อเยื่อ แอนติเจน ไอ เป็นส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของผนังเซลล์ กระตุ้นการ

สังเคราะห์ไฮโดโคโค และสารสื่ออักเสบต่างๆ ส่วนโปรตีนที่ผิวเซลล์ เช่น ompT, ompA ช่วยในการขนส่งสารออกนอกเซลล์แบคทีเรีย (Johnson, 1991; Bartges, 2005; Santo *et al.*, 2006)

จากการศึกษาของ Santo และคณะในปี ค.ศ. 2006 พบว่าเชื้อ UPEC 100 สเตรน ที่แยกได้จากในมนุษย์ มีปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรงคือ hemolysin มากที่สุด (96.0%) รองลงมาคือ aerobactin 76% และพบว่าเชื้อ UPEC มากกว่า 80% มีปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรงมากกว่า 1 ชนิด ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Yuri และคณะ ในปี ค.ศ.1997 พบว่า UPEC 50 สเตรนที่แยกได้จากในสุนัขมีปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรงคือ *pil* มากที่สุด อีกทั้งยังพบปัจจัยที่ทำให้เกิดความรุนแรงทั้งใน UPEC และ ใน *E. coli* ที่แยกได้จากอุจจาระสุนัขปกติ

3.1.2 การทดสอบความไวของสารต้านจุลชีพ

การทดสอบความไวของสารต้านจุลชีพ ที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป มีดังนี้

1. วิธี disk diffusion test (Kirby-Bauer test) วิธีนี้เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ สามารถบอกผลได้ว่าเชื้อมีความไวต่อการทดสอบหรือไม่ แต่ไม่อาจทราบค่า MIC ได้ อ่านผลการทดสอบโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง inhibition zone ซึ่งจะเห็นเป็นวงใสไม่มีเชื้อโคโลนีขึ้นรอบๆ ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแปรตาม inhibition zone ค่าที่อ่านได้แปลผลเป็นความไวในระดับสูง (susceptible) กลาง (intermediate) และดื้อต่อยา (resistant) (Blondeau, 2009)

2. วิธี agar dilution method เป็นการทดสอบหาค่าความไวรับของเชื้อแบบปริมาณวิเคราะห์ ข้อดีของวิธีนี้คือ สามารถทำการทดสอบเชื้อได้หลายชนิดบนอาหารเลี้ยงเชื้อจานเดียวกัน และวิธีนี้ยังสามารถหาค่า MIC ได้ ซึ่งการศึกษาค่า MIC เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในการประเมินการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียมากกว่าการศึกษาด้วยวิธี disk diffusion test โดยผลที่ได้สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลในการเลือกใช้ชนิด และขนาดของสารต้านจุลชีพได้อีกด้วย (Blondeau, 2009)

โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้วิธี agar dilution method ในการหาค่าความไวรับของยา cefquinome ต่อเชื้อ *E. coli*

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์ และสารเคมี

1. สัตว์ทดลอง

สุนัขพันธุ์บีเกิลจำนวน 6 ตัว แบ่งเป็นเพศผู้ 3 ตัว และเพศเมีย 3 ตัว อายุ 1-6 ปี น้ำหนัก 10-20 กิโลกรัม โดยได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาสัตวศาสตร์ ศูนย์ฝึกนิสิตคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดนครปฐม สุนัขทุกตัวมีสุขภาพแข็งแรง ไม่มีประวัติการได้รับยาต้านจุลชีพมาอย่างน้อย 1 เดือน และผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการควบคุมดูแลการเลี้ยงและการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ให้เป็นไปตามจรรยาบรรณของคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (หัวข้อวิทยานิพนธ์ได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมครั้งที่ 7/2552)

2. ยาต้านจุลชีพ

- Cefquinome (Cobactan®, Germany) ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รูปแบบยาน้ำแขวนตะกอน

- Cefquinome (Cobactan® 4.5%, The Netherlands) ความเข้มข้น 45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รูปแบบยาน้ำใส

3. สารเคมี

- Acetic acid (Merck, Germany)
- Acetonitrile HPLC grade (Lab-scan, Thailand)
- Ammonium acetate (Carlo Erba reagents, Italy)
- Formic acid HPLC grade (Lab-scan, Thailand)
- Helium gas (TIG, Thailand)
- Methanol gradient grade (Merck, Germany)
- Methanol HPLC grade (Lab-scan, Thailand)
- Mueller Hinton agar (MHA) (Difco, USA)
- Nitrogen gas (TIG, Thailand)

- Trypticase Soy Agar (TSA) (Difco, USA)
- Solid-phase extraction cartridge (Oasis™ HLB Cartridge, 3mL/60 mg) (Waters, USA)

4. เครื่องมือ

- Analytical balance (Sartorius analytic, Germany)
- Centrifuge (Hettich, Germany)
- Fume hood (Captair, Thailand)
- Glass solvent filter and pump (Millipore corporation, USA)
- HPLC column : Phenomenex® 5 μm , 4.6x150 mm (Phenomenex, USA)
- HPLC Guard column : SecurityGuard™ 4x3.0 mm (Phenomenex, USA)
- HPLC program (Data Apex Clarity™, The Czech Republic)
- Micropipettes and micropipette tips (Socorex, Swiss)
- Nylon syringe filter 0.45 μm (Whatman®, England)
- 12 Position Vacuum Manifold (Waters, USA)
- Ultrasonic cleaner (TRU-Sweep™, Malaysia)
- Vortex (Scientific industries Inc, USA)
- Waters™ 600 Controller (Waters, USA)
- Waters™ 486 Tunable Absorbance Detector (Waters, USA)
- Waters 717 plus Autosampler (Waters, USA)

วิธีดำเนินการทดลอง (experimental protocol)

การทดลองที่ 1 การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขสุขภาพดี

ก่อนเริ่มทำการศึกษา สุนัขทุกตัวได้รับการตรวจเลือดเพื่อประเมินสุขภาพเบื้องต้น ดังนี้ คือ ตรวจนับเม็ดโลหิต (complete blood count) และค่าทางเคมีโลหิต (blood chemistry profile) ได้แก่ ระดับ blood urea nitrogen (BUN), creatinine, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) และ alkaline phosphatase (ALP) และตรวจพยาธิในเม็ดเลือดด้วยวิธี fresh blood smear

วันที่ทำการศึกษา เก็บเลือดสุนัขทุกตัวปริมาณ 5 มิลลิลิตรผ่านทาง IV catheter ที่ใส่ไว้ที่หลอดเลือดดำที่ขาหน้า (cephalic vein) จากนั้นฉีดยา cefquinome (Cobactan®) เข้า

ทางใต้ผิวหนังบริเวณหัวไหล่ หลังตื่นคอ (อุตรา, 2551) ในขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หลังจากนั้นเก็บเลือดจำนวน 5 มิลลิลิตรที่เวลา 5, 10, 15, 30, 45 นาที และ 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 12, 18 และ 24 ชั่วโมงหลังจากได้รับยา โดยเก็บเลือดในรูปของพลาสมา ซึ่งใช้ heparin เป็นสารป้องกันการแข็งตัว แล้วปั่นเหวี่ยงที่ 1157 g เป็นเวลา 15 นาทีภายใน 3 ชั่วโมงหลังจากเก็บเลือด จากนั้นนำพลาสมาไปแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจปริมาณยาด้วยวิธี HPLC ต่อไป

วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง (Analytical method) (ประยุกต์จาก Li *et al.*, 2008)

สกัดตัวอย่างจากพลาสมาด้วยวิธี solid-phase extraction cartridge (Oasis™ HLB, 3 mL/60 mg, Waters) โดยมีวิธีการดังนี้

1. ปรับสภาวะตัวสกัดด้วย เมทานอล 2 มิลลิลิตร และน้ำ 2 มิลลิลิตร
2. ใส่พลาสมาตัวอย่างลงไปจำนวน 1 มิลลิลิตร
3. ทำการล้างสิ่งที่ไม่ใช่ตัวอย่างออกด้วย น้ำ 2 มิลลิลิตร ammonium acetate buffer (0.05 M, pH 5.0) 2 มิลลิลิตร และเมทานอล-น้ำ (5:95) 2 มิลลิลิตร ด้วยอัตราเร็ว 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที
4. ทำให้ cartridge แห่งภายใต้สภาวะสุญญากาศ เป็นเวลา 7 นาที
5. ทำการชะตัวอย่างด้วยเมทานอล 2 มิลลิลิตร ด้วยอัตราเร็ว 0.5 มิลลิลิตรต่อนาที
6. นำของเหลวที่ได้ไประเหยด้วยก๊าซไนโตรเจนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 35 องศาเซลเซียส
7. เติม mobile phase ลงไป 500 ไมโครลิตร
8. นำไป vortex เป็นเวลา 10 นาที
9. กรองของเหลวที่ได้ด้วย nylon syringe filter ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตร
10. ฉีดของเหลวที่ได้เข้าเครื่อง HPLC เพื่อตรวจวิเคราะห์ต่อไป

วัดความเข้มข้นของยาในพลาสมาโดยใช้วิธี HPLC ร่วมกับ UV detector ที่ความยาวแสง 268 นาโนเมตร โดยใช้ 0.1 % formic acid ใน water-ACN อัตราส่วน 90:10 เป็น mobile phase ปรับอัตราการไหลที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้คอลัมน์ชนิด C18 ขนาด 150x4.6 มิลลิเมตร (5 μ m, Phenomenex®) การ์ดคอลลัมน์ C18 ขนาด 4x3.0 มิลลิเมตร (SecurityGuard™) นำตัวอย่างฉีดเข้าเครื่องครั้งละ 20 ไมโครลิตร และตั้งเวลา runtime ที่ 8 นาที

กราฟมาตรฐาน (Standard curve)

เตรียม cefquinome มาตรฐานโดยนำ cefquinome (Cobactan® 4.5%) จำนวน 50 มิลลิกรัมมาละลายในน้ำ 50 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้ cefquinome ที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเจือจางในพลาสมาที่ปราศจากยา (blank plasma) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อทำกราฟมาตรฐาน

การตรวจรับรองวิธีการวิเคราะห์ (method validation)

1. ความถูกต้อง (accuracy) ทำการทดสอบโดยเตรียมยา cefquinome ในพลาสมา 1 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.1, 1.0 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ละความเข้มข้นทำการทดสอบซ้ำ 5 ครั้ง จากนั้นนำค่าที่ได้มาหา % ความถูกต้อง จากสูตร

$$\% \text{ ความถูกต้อง} = 100 \times \frac{\text{ความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ความเข้มข้นที่เติมลงไป}}$$

โดยมีช่วงที่ยอมรับได้ 85-115%

2. ความแม่นยำ (precision) ในการตรวจวัดแบ่งออกเป็น การวัดความแม่นยำภายในวันเดียวกัน (intra-day precision) โดยทำการทดสอบดังนี้ เตรียมยา cefquinome ในพลาสมา 1 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.1, 1.0 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบซ้ำ 5 ครั้งต่างเวลาภายในวันเดียวกัน และการวัดความแม่นยำต่างวัน (inter-day precision) โดยเตรียมยา cefquinome ในพลาสมา 1 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.1, 1.0 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบซ้ำ 5 ครั้งต่างวันศึกษา จากนั้นนำค่าที่ได้มาหา %RSD (relative standard deviation) จากสูตร

$$\% \text{ RSD} = \text{SD}/\text{mean} \times 100$$

โดยการวัดความแม่นยำภายในวันเดียวกัน %RSD ต้องมีค่าไม่เกิน 5% และการวัดความแม่นยำต่างวัน %RSD ต้องมีค่าไม่เกิน 10%

3. ความจำเพาะ (selectivity) เพื่อดูความจำเพาะของเครื่องมือ และวิธีการที่ใช้ ต่อยา cefquinome ทำการทดสอบดังนี้ นำพลาสมาที่ปราศจากยาผ่านขั้นตอนการสกัด และฉีดเข้าเครื่อง HPLC เปรียบเทียบกับ พลาสมาที่มียา

4. ความไว (sensitivity) โดยดูความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) และความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้และมีความแม่นยำ (LOQ)

5. ความคงตัว (stability) โดยทำการทดสอบยาที่ความเข้มข้น 0.1 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำซ้ำ 3 ครั้ง แบ่งเป็น

- a. ความคงตัวของยาในสารละลาย โดยเก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทำการตรวจวิเคราะห์ในวันที่ 1, 8 และ 15 หลังจากเตรียมสารละลาย
- b. ความคงตัวของตัวยาในพลาสมา โดยวางพลาสมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจวิเคราะห์ที่ 0, 3 และ 6 ชั่วโมง
- c. ความคงตัวของตัวยาที่ผ่านการเตรียมตัวอย่าง และรอการวิเคราะห์ โดยวางสารละลายพร้อมฉีดเข้าระบบ HPLC ไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจวิเคราะห์ที่ 0, 3 และ 6 ชั่วโมงหลังจากตัวยาผ่านการเตรียมตัวอย่าง

6. ความมั่นคงของวิธีการวิเคราะห์ (ruggedness) โดยเปลี่ยนผู้ปฏิบัติการที่ทำการศึกษา จากนั้นเปรียบเทียบระดับยาที่วิเคราะห์ได้ว่าใกล้เคียงกันหรือไม่

การวิเคราะห์ข้อมูล

Linear regression สำหรับคำนวณหาความเข้มข้นของยา จากนั้นจึงนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ PK Solution 2.0™ ได้ค่าดังนี้ ค่าคงที่อัตราการกระจายตัว (distribution rate constant; α) ค่าคงที่อัตราการกำจัดยา (elimination rate constant; β) ค่าครึ่งชีวิตในช่วงการดูดซึม (absorption half-life; $T_{1/2ab}$) ค่าครึ่งชีวิตในการกระจายตัว (distribution half-life; $T_{1/2\alpha}$) ค่าครึ่งชีวิตในช่วงการกำจัดยา (elimination half-life; $T_{1/2\beta}$) พื้นที่ใต้กราฟ (total area under the concentration-time curve from zero to infinity; $AUC_{0-\infty}$) ความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุด (peak plasma concentration; C_{max}) เวลาที่ความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุด (time to peak plasma concentration; T_{max})

การทดลองที่ 2 การหาค่าความไวรับของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีอาการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะต่อยา cefquinome

1. เชื้อ *E. coli* จำนวน 38 สเตรนที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะส่วนล่าง ซึ่งเข้ามารับการรักษาที่โรงพยาบาลสัตว์เล็ก คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในปี พ.ศ. 2548-2551

2. ทดสอบหาค่าความไวรับของเชื้อ *E. coli* 38 สเตรนต่อยา cefquinome (ใช้เชื้อ *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 เป็นกลุ่มควบคุมในการทดสอบ) โดยวิธี Agar dilution method ปฏิบัติตามวิธีของ The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (M31-A2 CLSI, 2006) โดยใช้ cefquinome ที่ช่วงความเข้มข้น 0.125-512 $\mu\text{g}/\text{mL}$ มีวิธีการเตรียมดังนี้

การเตรียม cefquinome

ทำการเตรียมสารละลาย stock solution ของ cefquinome ตามมาตรฐานของ CLSI โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

ปริมาณ cefquinome ที่ต้องใช้ (mg) = $\frac{\text{ปริมาตรของสารละลาย (mL)} \times \text{ความเข้มข้น (mg/L)}}{\text{Potency ของ cefquinome (mg/g)}}$

Potency ของ cefquinome (mg/g)

เก็บสารละลาย stock solution ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 72 ชั่วโมง ทำการปรับความเข้มข้นตามมาตรฐานของ CLSI ดังตารางที่ 3-1 จากนั้นจึงนำ cefquinome ที่ทำการปรับความเข้มข้นแล้ว ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ในแต่ละความเข้มข้นมาผสมกับ Mueller Hinton agar (MHA) (Difco, USA) ที่เตรียมไว้ปริมาตร 18 มิลลิลิตร จากนั้นเทลงใน plate โดยทำการทดลองซ้ำเป็น 2 ชุด (duplicate)

ตารางที่ 3-1 ขั้นตอนการเจือจาง cefquinome ที่ความเข้มข้นต่างๆ (CLSI, 2006)

| Step | Concentration ($\mu\text{g/mL}$) | Source | Volume use (mL) | DW (mL) | Intermediate concentration ($\mu\text{g/mL}$) | Final concentration at 1:10 dilution in agar | Log 2 |
|------|---------------------------------------|--------|-----------------------|------------|---|--|----------|
| | 5120 | Stock | - | - | 5120 | 512 | 9 |
| 1 | 5120 | Stock | 2 (4) | 2 (4) | 2560 | 256 | 8 |
| 2 | 5120 | Stock | 1 (2) | 3 (6) | 1280 | 128 | 7 |
| 3 | 5120 | Stock | 1 (2) | 7 (14) | 640 | 64 | 6 |
| 4 | 640 | Step 3 | 2 (4) | 2 (4) | 320 | 32 | 5 |
| 5 | 640 | Step 3 | 1 (2) | 3 (6) | 160 | 16 | 4 |
| 6 | 640 | Step 3 | 1 (2) | 7 (14) | 80 | 8 | 3 |
| 7 | 80 | Step 6 | 2 (4) | 2 (4) | 40 | 4 | 2 |
| 8 | 80 | Step 6 | 1 (2) | 3 (6) | 20 | 2 | 1 |
| 9 | 80 | Step 6 | 1 (2) | 7 (14) | 10 | 1 | 0 |
| 10 | 10 | Step 9 | 2 (4) | 2 (4) | 5 | 0.5 | -1 |
| 11 | 10 | Step 9 | 1 (2) | 3 (6) | 2.5 | 0.25 | -2 |
| 12 | 10 | Step 9 | 1 (2) | 7 (14) | 1.25 | 0.125 | -3 |

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้มาเพาะบน Trypticase Soy Agar (TSA) (Difco, USA) แล้วบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บตัวอย่างที่มีการเจริญเติบโตของแบคทีเรียใส่ลงในหลอดทดลองที่มี normal saline solution แล้วนำสารแขวนลอยแบคทีเรียที่ได้มาปรับความเข้มข้นที่ความเข้มข้น McFarland No. 0.5 ทำให้ได้เชื้อประมาณ 1.5×10^8 CFU/มิลลิลิตร)

วิธีการทดสอบ

เมื่อทำการปรับความเข้มข้นของเชื้อได้ตามที่ต้องการแล้ว นำสารแขวนลอยแบคทีเรียที่ได้ผสมกับ normal saline solution ในอัตราส่วน 1:9 เพื่อเจือจางลงอีก 10 เท่า ทำให้ได้ความเข้มข้น 10^7 CFU/มิลลิลิตร จากนั้นจึงดูดเชื้อแต่ละชนิดใส่ในจานหลุมๆ ละ 1.5 มิลลิลิตร

ทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ลงบน Mueller Hinton agar (MHA) ที่ผสมกับยา cefquinome ที่เตรียมไว้ในชั้นต้น จากนั้นบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 18 ชั่วโมง

การประเมินผล และวิเคราะห์ข้อมูล

หาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้โดยพิจารณาจากความเข้มข้นแรกของ cefquinome ที่ไม่ปรากฏการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยอ่านผลความเข้มข้น เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ 50% (MIC_{50}) และ 90% (MIC_{90}) ค่าที่ได้สามารถแปลเป็น susceptible, intermediate และ resistant หมายถึง ค่าความไวในระดับสูง กลาง และคือต่อยาตามลำดับ โดยเทียบกับค่า resistance breakpoint $> 4 \mu\text{g/mL}$ (Thomas *et al.*, 2006)

จากนั้นนำผลการทดลองที่ 1 เปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ 2 โดยดูว่าระดับยา cefquinome ที่พบในพลาสติกมาภายหลังจากการฉีดยาในขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเข้าได้ผิวหนึ่ง 1 ครั้ง มีความเข้มข้นสูง และคงอยู่เป็นเวลานานพอที่จะทำลายเชื้อ *E. coli* เมื่อเทียบกับค่าความไวรับ ($T > MIC$)

บทที่ 4

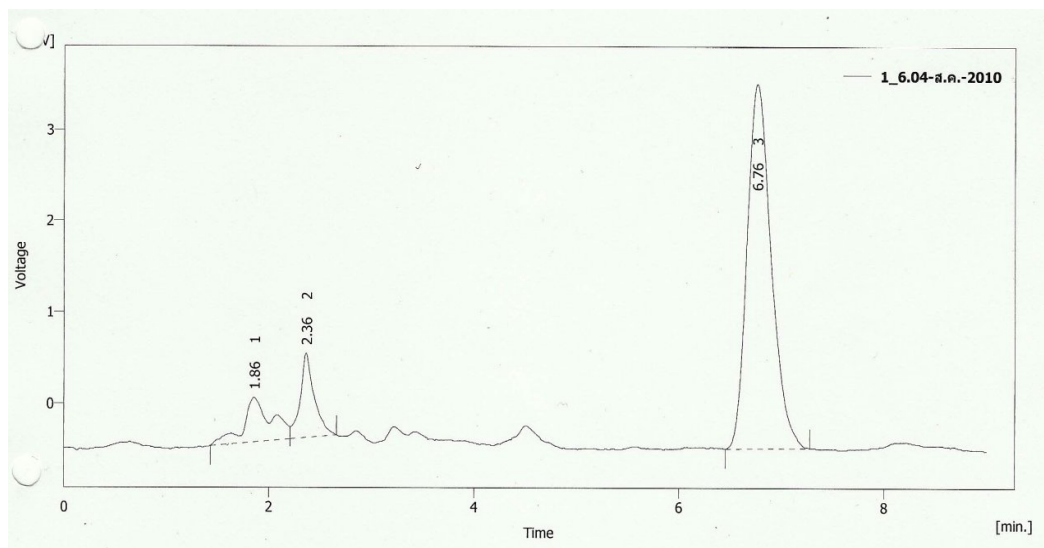
ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขสุขภาพดี

ภายหลังการฉีดยา cefquinome ขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าใต้ผิวหนัง จำนวน 1 ครั้ง ในสุนัขพันธุ์บีเกิ้ล จำนวน 6 ตัว ไม่พบอาการไม่พึงประสงค์ใดๆ จากสุนัขที่ได้รับยา ดังกล่าว

1.1 การตรวจรับรองวิธีการวิเคราะห์

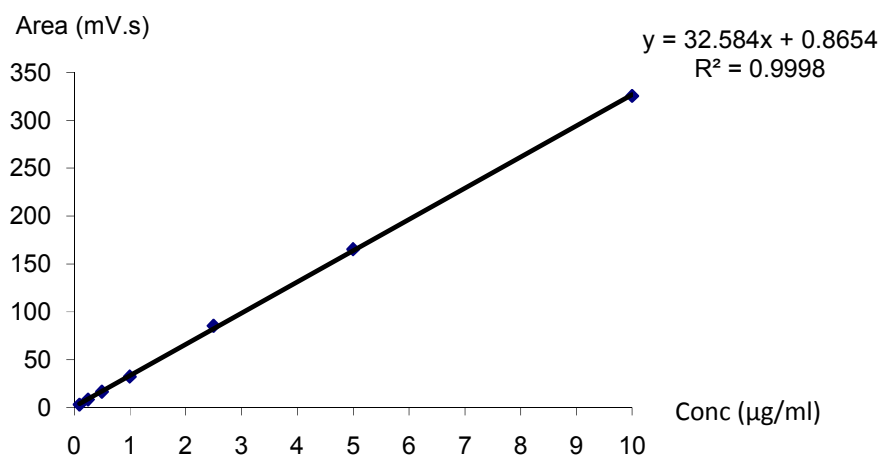
จากการศึกษาพบว่าโครมาโทแกรมของยา cefquinome มีค่า retention time อยู่ที่ประมาณ 7.00 ± 0.25 นาที (ภาพที่ 4-1)



ภาพที่ 4-1 โครมาโทแกรมของยา cefquinome ที่ retention time 6.76 นาที

ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

จากการทดลองหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของยากับค่าที่วัดได้ พบว่า กราฟมาตรฐานของยา cefquinome ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า coefficient of determination (R^2) เท่ากับ 0.9998 (ค่าที่ยอมรับได้ $R^2 > 0.9900$) (Causey *et al.*, 1990) (ภาพที่ 4-2)



ภาพที่ 4-2 กราฟมาตรฐานของยา cefquinome ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ประสิทธิภาพของการเตรียมตัวอย่าง

ประสิทธิภาพของการเตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า เปอร์เซ็นต์การคืนกลับสมบูรณ์ (% absolute recovery) เท่ากับ 92.00, 93.56 และ 94.23 ตามลำดับ (ช่วงที่ยอมรับได้คือ $> 85\%$) (เพ็ญศรี, 2553)

ความถูกต้อง

ค่าความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์ที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า เปอร์เซ็นต์ความถูกต้องอยู่ที่ 96.00, 95.13 และ 96.70 ตามลำดับ (ช่วงที่ยอมรับได้คือ 85-115%) (เพ็ญศรี, 2553)

ความแม่นยำ

ค่าความแม่นยำภายในวันเดียวกันที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามี % RSD อยู่ที่ 2.11, 1.89 และ 1.87 ตามลำดับ (ช่วงที่ยอมรับได้คือ $< 5\%$)

ค่าความแม่นยำต่างวันที่ความเข้มข้น 0.1, 1 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามี % RSD อยู่ที่ 6.45, 5.38 และ 4.96 ตามลำดับ (ช่วงที่ยอมรับได้คือ < 10%) (เพ็ญศรี, 2553)

ความไว

พบว่าวิธีการวิเคราะห์นี้มีค่า LOD อยู่ที่ 0.075 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า LOQ อยู่ที่ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ความคงตัว

- ความคงตัวของตัวยาในสารละลาย โดยเก็บสารละลายไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทำการตรวจวิเคราะห์ในวันที่ 1, 8 และ 15 หลังจากเตรียมสารละลายที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า % bias เท่ากับ -5, 10 และ -10 ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า % bias เท่ากับ -2.4, -1.8 และ -5 ตามลำดับ (ตารางที่ 4-1)

- ความคงตัวของยาในพลาสติก โดยวางพลาสติกไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจวิเคราะห์ที่ 0, 3 และ 6 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของยา 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า % bias เท่ากับ 5, -5 และ -10 ตามลำดับ และสำหรับความเข้มข้นของยา 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า % bias เท่ากับ 1.6, 1.2 และ -2.7 ตามลำดับ (ตารางที่ 4-1)

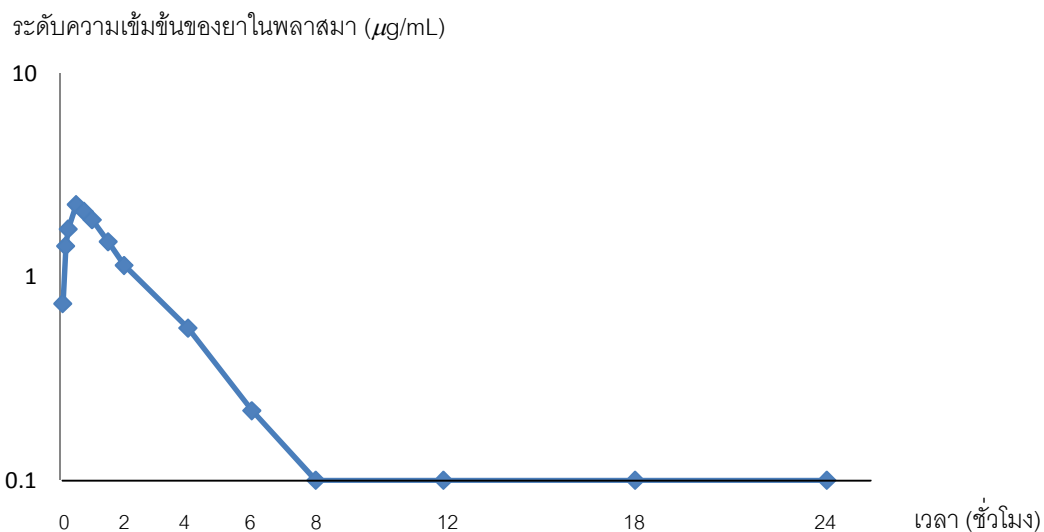
- ความคงตัวของตัวยาที่ผ่านการเตรียมตัวอย่าง และรอการวิเคราะห์ โดยวางสารละลายพร้อมฉีดเข้าระบบ HPLC ไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจวิเคราะห์ที่ 0, 3 และ 6 ชั่วโมง หลังจากตัวยาผ่านการเตรียมตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า % bias เท่ากับ 0, -10 และ -10 ตามลำดับ สำหรับที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า % bias เท่ากับ 1, 1.2 และ -1 ตามลำดับ (ตารางที่ 4-1)

โดยช่วงที่ยอมรับได้ของ % bias คือ ± 15 % (เพ็ญศรี, 2553)

ตารางที่ 4-1 ผลการทดสอบความคงตัวของยา cefquinome ที่สภาวะต่างๆ

| รายการ | สภาวะการศึกษา | ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$) | % bias |
|--------------------------------------|---------------|----------------------------------|--------|
| ความคงตัวของตัวยาในสารละลายที่ -20°C | วันที่ 1 | 0.1 | -5 |
| | | 10 | -2.4 |

| รายการ | สภาวะการศึกษา | ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$) | % bias |
|--|---------------|----------------------------------|--------|
| | วันที่ 8 | 0.1 | 10 |
| | | 10 | -1.8 |
| | วันที่ 15 | 0.1 | -10 |
| | | 10 | -5 |
| ความคงตัวของยาในพลาสติก อุณหภูมิต่ำ | 0 ชั่วโมง | 0.1 | 5 |
| | | 10 | 1.6 |
| | 3 ชั่วโมง | 0.1 | -5 |
| | | 10 | 1.2 |
| | 6 ชั่วโมง | 0.1 | -10 |
| | | 10 | -2.7 |
| ความคงตัวของตัวอย่างที่ผ่านการ เตรียมตัวอย่าง และรอการ วิเคราะห์ที่อุณหภูมิต่ำ | 0 ชั่วโมง | 0.1 | 0 |
| | | 10 | 1 |
| | 3 ชั่วโมง | 0.1 | -10 |
| | | 10 | 1.2 |
| | 6 ชั่วโมง | 0.1 | -10 |
| | | 10 | -1 |



ภาพที่ 4-3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ความเข้มข้นของยา cefquinome ในพลาสมาสุนัข ที่เวลาต่างๆ (n=6)

หลังจากฉีดยา cefquinome ขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าใต้ผิวหนังสุนัข พบว่า ยาถูกดูดซึม และกระจายตัวอย่างรวดเร็ว โดยตรวจพบยาในพลาสมาตั้งแต่ครั้งแรกของการเก็บเลือด (5 นาทีหลังการฉีดยา) และยายังคงอยู่ในพลาสมาในระดับที่สูงกว่า 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรนาน 6 ชั่วโมง โดยมีความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุดอยู่ที่ 2.40 ± 0.61 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เวลา 0.50 ± 0.19 ชั่วโมง ค่าครึ่งชีวิตในช่วงการดูดซึม และการกระจายตัวเท่ากับ 0.24 ± 0.11 และ 0.42 ± 0.33 ชั่วโมงตามลำดับ ค่าพื้นที่ใต้กราฟ ($AUC_{0-\infty}$) อยู่ที่ 5.40 ± 1.26 มิลลิกรัม.ชั่วโมงต่อลิตร มีค่าครึ่งชีวิตในช่วงการกำจัดยาอยู่ที่ 1.26 ± 0.77 ชั่วโมง (ตารางที่ 4-3) และตรวจไม่พบ cefquinome ในพลาสมา (อยู่ในระดับต่ำกว่า LOQ) หลังจากการให้ยาที่ 8 ชั่วโมง

ตารางที่ 4-3 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขภายหลังจากการให้ยาเข้าได้ผิวหนังในขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (n=6)

| พารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ | ค่าพารามิเตอร์* |
|--|-----------------|
| ค่าคงที่อัตราการกระจายตัว (distribution rate constant; α) (1/ชั่วโมง) | 3.12±3.04 |
| ค่าคงที่อัตราการกำจัดยา (elimination rate constant; β) (1/ชั่วโมง) | 0.76±0.41 |
| ค่าครึ่งชีวิตในการกระจายตัว (distribution half-life; $T_{1/2\alpha}$) (ชั่วโมง) | 0.42±0.33 |
| ค่าครึ่งชีวิตในช่วงการกำจัดยา (elimination half-life; $T_{1/2\beta}$) (ชั่วโมง) | 1.26±0.77 |
| ค่าครึ่งชีวิตในช่วงการดูดซึม (absorption half-life; $T_{1/2ab}$) (ชั่วโมง) | 0.24±0.11 |
| เวลาที่ความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุด (T_{max}) (ชั่วโมง) | 0.50±0.19 |
| ความเข้มข้นของยาในพลาสมาสูงสุด (C_{max}) (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | 2.40±0.63 |
| พื้นที่ใต้กราฟ ($AUC_{0-\infty}$) (มิลลิกรัม.ชั่วโมงต่อลิตร) | 5.40±1.26 |

หมายเหตุ : * แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2. ผลค่าความไวรับของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีอาการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ ต่อยา cefquinome

จากผลการทดลองพบว่าเชื้อ *E. coli* ส่วนใหญ่ไวต่อยา cefquinome (30 จาก 38 สเตรน) โดยค่า MIC₅₀ ที่ได้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ดี โดยมีค่า MIC₅₀ อยู่ที่ <0.125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเปรียบเทียบกับค่า resistance breakpoint ที่น้อยกว่า 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Thomas *et al.*, 2006) อย่างไรก็ตามพบว่าเชื้อ *E. coli* 8 สเตรนอยู่ในช่วงที่ดื้อต่อยานี้ และมีค่า MIC₉₀ อยู่ที่ 128 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 4-4) ซึ่งค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ ที่ได้ พบว่ามีการกระจายตัวแบบ bimodal ดังภาพที่ 4-4

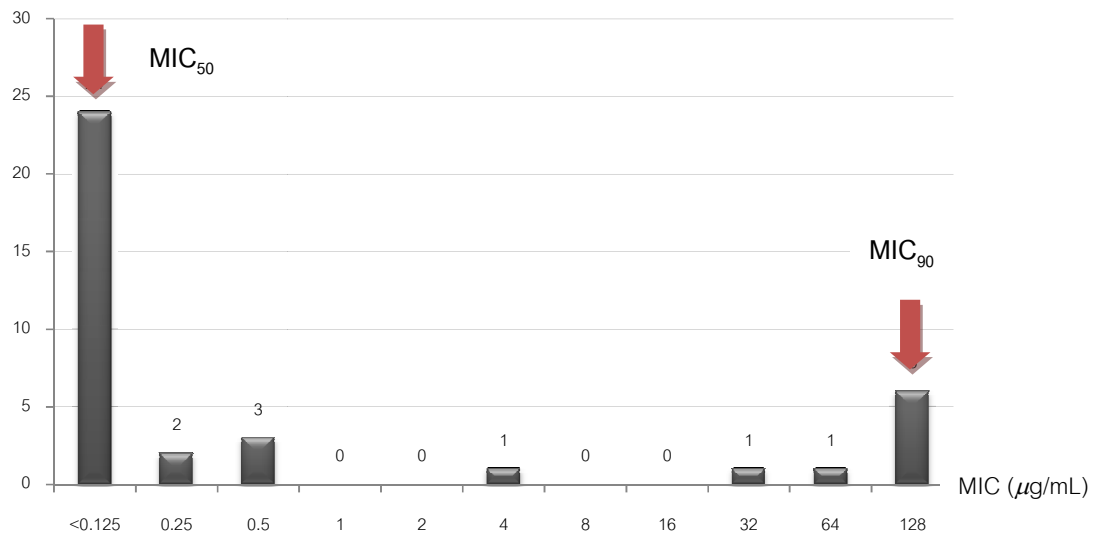
ตารางที่ 4-4 ค่า MIC ของยา cefquinome ต่อเชื้อ *E. coli* สเตรนต่างๆ และเชื้อมาตรฐาน

| จำนวน | ชนิดแบคทีเรีย | ค่า MIC ($\mu\text{g/mL}$) |
|-------|---------------------|------------------------------|
| 1 | <i>E. coli</i> A1 | <0.125 |
| 2 | <i>E. coli</i> A2 | 0.25 |
| 3 | <i>E. coli</i> A5 | 128 |
| 4 | <i>E. coli</i> A9 | 4 |
| 5 | <i>E. coli</i> A12 | 0.5 |
| 6 | <i>E. coli</i> A15 | 128 |
| 7 | <i>E. coli</i> A19 | <0.125 |
| 8 | <i>E. coli</i> A23 | 128 |
| 9 | <i>E. coli</i> A24 | 128 |
| 10 | <i>E. coli</i> A33 | 0.5 |
| 11 | <i>E. coli</i> A39 | 128 |
| 12 | <i>E. coli</i> A49 | 64 |
| 13 | <i>E. coli</i> A53 | 0.5 |
| 14 | <i>E. coli</i> A58 | <0.125 |
| 15 | <i>E. coli</i> A70 | <0.125 |
| 16 | <i>E. coli</i> A78 | 128 |
| 17 | <i>E. coli</i> A83 | 0.25 |
| 18 | <i>E. coli</i> A91 | <0.125 |
| 19 | <i>E. coli</i> A100 | <0.125 |

| จำนวน | ชนิดแบคทีเรีย | ค่า MIC ($\mu\text{g/mL}$) |
|-------|--|------------------------------|
| 20 | <i>E. coli</i> C001 | <0.125 |
| 21 | <i>E. coli</i> C002 | <0.125 |
| 22 | <i>E. coli</i> C003 | <0.125 |
| 23 | <i>E. coli</i> C005 | <0.125 |
| 24 | <i>E. coli</i> C006 | <0.125 |
| 25 | <i>E. coli</i> C007 | <0.125 |
| 26 | <i>E. coli</i> C008 | <0.125 |
| 27 | <i>E. coli</i> C009 | <0.125 |
| 28 | <i>E. coli</i> C10 | <0.125 |
| 29 | <i>E. coli</i> C012 | <0.125 |
| 30 | <i>E. coli</i> C013 | <0.125 |
| 31 | <i>E. coli</i> C014 | <0.125 |
| 32 | <i>E. coli</i> C16 | 32 |
| 33 | <i>E. coli</i> C18 | <0.125 |
| 34 | <i>E. coli</i> C19 | <0.125 |
| 35 | <i>E. coli</i> C20 | <0.125 |
| 36 | <i>E. coli</i> C21 | <0.125 |
| 37 | <i>E. coli</i> C22 | <0.125 |
| 38 | <i>E. coli</i> C23 | <0.125 |
| 39 | <i>E. coli</i> ATCC 25922* | <0.125 |
| 40 | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213* | 0.5 |
| 41 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 | 1 |

หมายเหตุ : * ค่า MIC ที่ได้เท่ากับการศึกษาก่อนหน้านี้ (Thomas et al., 2006)

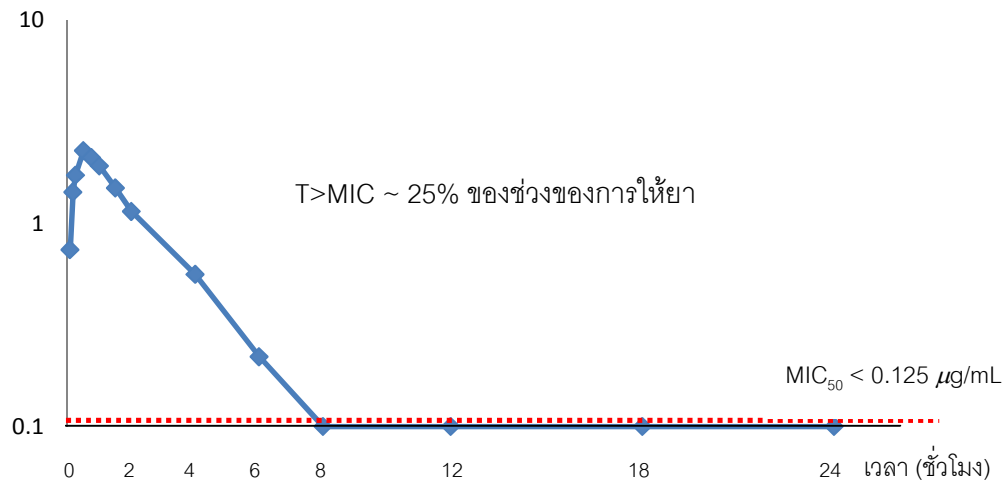
จำนวนสเตรน



ภาพที่ 4-4 ค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ ของยา cefquinome ต่อเชื้อ *E. coli* 38 สเตรนที่มีการกระจายตัวแบบ bimodal

เมื่อนำผลจากการทดลองที่ 1 เปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ 2 พบว่าระดับความเข้มข้นของยา cefquinome ที่ตรวจพบในพลาสมาภายหลังการฉีดยาในขนาด 1 มิลลิกรัม ต่อกิโลกรัมเข้าได้ผิวหนัง 1 ครั้ง สูงกว่าค่า MIC₅₀ และมีช่วงเวลาที่ระดับยาคงอยู่ในพลาสมาสูงกว่าค่า MIC₅₀ อยู่ที่ 6 ชั่วโมง หรือมีค่า T>MIC อยู่ที่ประมาณ 25% ของช่วงของการให้ยา (ภาพที่ 4-5)

ระดับความเข้มข้นของยาในพลาสมา ($\mu\text{g/mL}$)



ภาพที่ 4-5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า log ความเข้มข้นของยา cefquinome ในพลาสมาสุนัข ที่เวลาต่างๆ (เส้นทึบ) เปรียบเทียบกับค่า MIC_{50} (เส้นประ)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัข

1.1 ผลการตรวจรับรองวิธีวิเคราะห์

ในการศึกษาครั้งนี้การตรวจระดับยา cefquinome ในพลาสมาด้วยวิธี HPLC ร่วมกับ UV detector ประยุกต์จากการศึกษาของ Li และคณะ ในปี ค.ศ. 2008 โดยพบว่า ค่า retention time มีค่าใกล้เคียงกัน คือ 8 นาที (การศึกษาครั้งนี้ 7.00 ± 0.25 นาที) ส่วนค่า LOD และ LOQ มีความแตกต่างกันมากคืออยู่ที่ 0.005 และ 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนการศึกษาครั้งนี้มีค่า LOD และ LOQ อยู่ที่ 0.075 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ อาจเนื่องมาจากระบบเครื่อง HPLC และ UV detector ที่แตกต่างกัน ทำให้ความไวในการวิเคราะห์ของการศึกษาครั้งนี้ต่ำกว่า

1.2 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขที่ผ่านมาเป็นการศึกษาในรูปแบบการฉีดเข้าหลอดเลือดดำ ขนาด 5, 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในสุนัขพันธุ์บีเกิล เพศผู้ จำนวนกลุ่มละ 3 ตัว (Limbert *et al.*, 1991) โดยพบว่ามีค่าครึ่งชีวิตในช่วงการกำจัดยาอยู่ที่ 0.85 ± 0.10 , 0.98 ± 0.28 และ 0.96 ± 0.08 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาครั้งนี้ในรูปแบบการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง ขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมพบว่าค่าครึ่งชีวิตในช่วงการกำจัดยานานกว่าเล็กน้อย (1.26 ± 0.77 ชั่วโมง) ซึ่งสอดคล้องกับวิธีการให้ยา เนื่องจากการให้ยาเข้าใต้ผิวหนังต้องผ่านกระบวนการดูดซึม และมีการกระจายตัวของยาช้ากว่าการฉีดยาเข้าหลอดเลือดดำ และเมื่อพิจารณาค่าพื้นที่ใต้กราฟพบว่า การฉีดยาเข้าใต้ผิวหนังมีค่าพื้นที่ใต้กราฟสอดคล้องกับการฉีดยาเข้าหลอดเลือดดำ (ตารางที่ 5-1)

ตารางที่ 5-1 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัข

| Dose (mg/kg) | C _{max} * (μ g/mL) | T _{max} * (h) | T _{1/2ab} * (h) | T _{1/2α} * (h) | T _{1/2β} * (h) | AUC _{0-∞} * (mg.h/L) | Vd _{ss} * (L/kg) | CL _{tot} * (mL/min) |
|-----------------|-------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|--|---|--|------------------------------|---------------------------------|
| 1 (SC) | 2.40 \pm 0.61 | 0.50 \pm 0.19 | 0.24 \pm 0.11 | 0.42 \pm 0.33 | 1.26 \pm 0.77 | 5.40 \pm 1.26 | - | - |
| 5 (IV) | - | - | - | - | 0.85 \pm 0.10 | 26.6 \pm 4.7 | 0.20 \pm 0.06 | 70.1 \pm 13.5 |
| 10 (IV) | - | - | - | - | 0.98 \pm 0.28 | 50.4 \pm 13.7 | 0.24 \pm 0.09 | 79.3 \pm 27.9 |
| 20 (IV) | - | - | - | - | 0.96 \pm 0.08 | 104.6 \pm 5.9 | 0.22 \pm 0.04 | 67.6 \pm 5.4 |

หมายเหตุ : * แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, SC = ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง, IV = ฉีดเข้าหลอดเลือดดำ, Vd_{ss} = ปริมาตรการกระจายตัวของยา, CL_{tot} = ค่าการชำระยา

ส่วนการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ชนิดอื่น แสดงดังตารางที่ 5-2

การดูดซึมยา พบว่าภายหลังจากการให้ยาเข้าใต้ผิวหนัง ยาถูกดูดซึมได้อย่างรวดเร็ว โดยตรวจพบระดับยาในพลาสมาตั้งแต่ครั้งแรกของการเก็บเลือด (5 นาทีหลังจากการให้ยา) เช่นเดียวกับการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ในสุกร เป็ด และ (5 นาทีหลังจากการให้ยา) (Li *et al.*, 2008; Uney, *et al.*, 2011; Tohamy, 2011; Yuan *et al.*, 2011) และอูฐ (15 นาทีหลังจากการให้ยา) (Al-Taher, 2010) ส่วนเวลาที่ความเข้มข้นของยาสูงสุดในพลาสมามีค่าแตกต่างกันเล็กน้อยตามแต่ชนิดสัตว์ ขนาดยา และวิธีการให้ยา คืออยู่ในช่วงเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง (Limbert *et al.*, 1991; Li *et al.*, 2008; Uney, *et al.*, 2011; Yuan *et al.*, 2011) ซึ่งค่าที่ได้แสดงถึงความเร็วในการดูดซึมของยา cefquinome ยกเว้นในอูฐที่มีค่าเวลาที่ความเข้มข้นของยาสูงสุดในพลาสมาอยู่ที่ 4.25 \pm 0.1 ชั่วโมง เนื่องจากรูปแบบยา cefquinome ที่ใช้เป็นชนิด long acting (Al-Taher, 2010) (ตารางที่ 5-2)

การกระจายตัวของยา พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของยาในพลาสมาที่ตรวจพบมีรูปแบบเป็น two-compartment open model เช่นเดียวกับการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสัตว์ชนิดอื่น ทั้งในรูปแบบการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง เข้ากล้ามเนื้อ และเข้าหลอดเลือดดำ (Li *et al.*, 2008; Al-Taher, 2010; Uney, *et al.*, 2011; Tohamy, 2011; Yuan *et al.*, 2011) ส่วนค่าครึ่งชีวิตในช่วงการกระจายตัวของยาในสุนัข (0.42 \pm 0.33 ชั่วโมง) พบว่า

ใกล้เคียงกับโนแพะ (0.54 ± 0.44 ชั่วโมง) และ (0.31 ± 0.05 ชั่วโมง) และเปิด (0.46 ± 0.30 ชั่วโมง) ที่ฉีดยาเข้ากล้ามเนื้อ (Errecalde et al., 2001; Uney, et al., 2011; Yuan et al., 2011) แต่เร็วกว่าในลูกสุกร (0.88 ± 0.42 ชั่วโมง) (Li et al., 2008) (ตารางที่ 5-2)

การกำจัดยาออกจากร่างกาย พบว่า ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยาออกจากร่างกายสุนัขค่อนข้างสั้น (1.26 ± 0.77 ชั่วโมง) ซึ่งใกล้เคียงกับที่เคยรายงานในสุกร (1.23 ± 0.28 ชั่วโมง) และเปิด แต่แตกต่างจากโค แกะ ม้าและอูฐที่มีค่าครึ่งชีวิตในการกำจัดยานานกว่า รวมทั้งค่าการชำระยาด้วย (Limbert et al., 1991, Li et al., 2008; Al-Taher, 2010; Uney, et al., 2011; Tohamy, 2011; Yuan et al., 2011) ปัจจัยที่ทำให้เกิดความแตกต่างนี้อาจเนื่องมาจากระบบการกำจัดยาออกจากร่างกายที่แตกต่างกัน ปริมาณเลือดที่ไปเลี้ยงไต เป็นต้น โดยยา cefquinome จะถูกกำจัดออกทางไตเป็นหลัก (มากกว่า 90%) และถูกขับออกในรูปที่ไม่เปลี่ยนแปลง (Limbert et al., 1991; CVMP, 1995; CVMP; 1996) จากการศึกษาของ Elliott และคณะ ในปี 1996 พบว่ายาที่ถูกขับออกโดยตรงทางไตมีความแปรปรวนน้อยกว่ายาที่ถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับก่อนที่จะถูกขับออกจากตารางที่ 5-2 พบว่าถึงแม้จะเป็นสัตว์ชนิดเดียวกัน ถ้าให้ยาขนาดต่างกัน วิธีการให้ยาต่างกัน อายุต่างกัน ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ก็แตกต่างกันด้วย อีกทั้งการศึกษาทั้งหมดนี้เป็นการศึกษาในสัตว์สุขภาพดี ดังนั้นการนำยามาใช้ในสัตว์ป่วยอาจต้องพิจารณาเพิ่มเติมอีกเช่นกรณีสัตว์ที่มีปัญหาโรคไต การกำจัดยาออกจากร่างกายก็จะใช้เวลานานขึ้น เป็นต้น

ตารางที่ 5-2 เกณฑ์จลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสัตว์ชนิดต่างๆ

| สัตว์ | Dose (mg/kg) | Route | Cmax ($\mu\text{g/mL}$) | Tmax (h) | T _{1/2ab} (h) | T _{1/2α} (h) | T _{1/2β} (h) | AUC _{0-∞} (mg.h/L) | อ้างอิง |
|-------------|--------------|-------|---------------------------|-----------------|------------------------|---|--|---|------------------------------------|
| สุนัข | 1 | SC | 2.40 \pm 0.61 | 0.50 \pm 0.19 | 0.24 \pm 0.11 | 0.42 \pm 0.33 | 1.26 \pm 0.77 | 5.40 \pm 1.26 | การศึกษา ครั้งนี้ |
| หนู ไมซ์ | 10 | SC | 7.5 \pm 2.9 | 0.38 \pm 0.16 | - | - | 0.58 \pm 0.09 | 7.8 \pm 1.9 | Limbirt <i>et al.</i> , 1991 |
| หนู ไมซ์ | 40 | SC | 25.9 \pm 5.1 | 0.45 \pm 0.13 | - | - | 0.49 \pm 0.19 | 26.8 \pm 7.7 | |
| สุกร | 10 | SC | 26.1 \pm 6.4 | 0.80 \pm 0.16 | - | - | 1.23 \pm 0.28 | 62.3 \pm 17.4 | |
| ลูก สุกร | 2 | IM | 4.01 \pm 0.57 | 0.28 \pm 0.07 | 0.41 \pm 0.36 | 0.88 \pm 0.42 | 4.36 \pm 2.35 | 7.58 \pm 1.59 | Li <i>et al.</i> , 2008 |
| อูฐ | 1 | IM | 1.23 \pm 0.08 | 4.25 \pm 0.1 | 4.35 \pm 0.27 | - | 10.24 \pm 0.8 | 20.37 \pm 1.1 | Al- Taher, 2010 |
| เป็ด | 5 | IM | 9.38 \pm 1.61 | 0.38 \pm 0.06 | 0.12 \pm 0.02 | 0.46 \pm 0.30 | 1.79 \pm 0.13 | 23.78 \pm 3.87 | Yuan <i>et al.</i> , 2011 |
| แกะ | 2 | IM | 2.60 \pm 0.14 | 0.50 | 0.31 \pm 0.05 | 0.31 \pm 0.05 | 1.88 \pm 0.40 | 5.19 \pm 0.25 | Uney <i>et al.</i> , 2011 |

หมายเหตุ : * แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, SC = ฉีดเข้าใต้ผิวหนัง, IM = ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ

จากการศึกษาของ Zhang และคณะในปี ค.ศ. 2007 โดยการให้ยา cefquinome ขนาด 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้ากล้ามเนื้อ ในสุกร 35 ตัว จากนั้นทำการการุณฆาตครั้งละ 5 ตัว ที่เวลา 12 ชั่วโมง 1, 2, 3, 5, 7 และ 9 วันหลังจากการฉีดยา เพื่อดูระดับยา cefquinome ที่คงค้างในกล้ามเนื้อ ไชมันตับ และไต พบว่า ในกล้ามเนื้อและไชมัน ตตรวจไม่พบระดับยา cefquinome ตั้งแต่ครั้งแรกของการเก็บตัวอย่าง (LOQ=10 นาโนกรัมต่อกกรัม) ส่วนในตับและไต พบระดับยา

cefquinome ตั้งแต่ครั้งแรก (12 ชั่วโมงหลังจากการฉีดยา) ที่ระดับ 218.9-392.3 และ 602.9-952.1 นาโนกรัมต่อกรัมตามลำดับ และพบระดับยาคงค้างที่ไตถึงวันที่ 3 หลังจากการฉีดยาที่ระดับ 20.23-28.38 นาโนกรัมต่อกรัม บ่งชี้ให้เห็นว่าไตเป็นอวัยวะเป้าหมายของยา cefquinome ในสุกร

ส่วนระดับความเข้มข้นของยา cefquinome ในพลาสมาในการศึกษาครั้งนี้เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่า MIC ต่อเชื้อ *E. coli* พบว่าความเข้มข้นของยาสูงพอที่จะทำลายเชื้อ *E. coli* ที่ไวต่อยานี้ได้ ($MIC_{50} = <0.125$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยพบว่าระดับยาในพลาสมามีค่ามากกว่า 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลานาน 6 ชั่วโมง ($T > MIC = 25\%$) เช่นเดียวกับการศึกษาในแกะที่พบระดับยา cefquinome ในพลาสมามีค่ามากกว่า 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลานาน 6 ชั่วโมง และมีค่ามากกว่า 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลานาน 8 ชั่วโมง (Uney, et al., 2011) นอกจากนี้ยังใกล้เคียงกับการศึกษาในลูกสุกร (Li et al., 2008) และเป็ด (Yuan et al., 2011) ที่พบว่าระดับยาในพลาสมามีค่ามากกว่า 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลานาน 6 ชั่วโมงเช่นเดียวกัน แต่พบระดับยา cefquinome มากกว่า 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรนาน 12 ชั่วโมง ซึ่งในการศึกษาในลูกสุกรพบว่าค่า $T > MIC$ อยู่ที่ 50% โดยเทียบกับค่า MIC ของยา cefquinome ต่อเชื้อ *Actinobacillus pleuropneumoniae* ($MIC=0.01$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) (Li et al., 2008)

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าระยะเวลาที่ตรวจพบระดับยา cefquinome ในพลาสมาไม่แตกต่างจากสัตว์ชนิดอื่นมากนัก แต่ที่แตกต่างคือ ค่า MIC ของยา cefquinome ดังนั้นการให้ยา cefquinome ในสุนัขขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เข้าได้ผิวหนัง วันละ 1 ครั้ง จำเป็นต้องพิจารณา ค่า MIC ของยา cefquinome ต่อเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคด้วย

2. ผลค่าความไวรับของเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีอาการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะต่อยา cefquinome

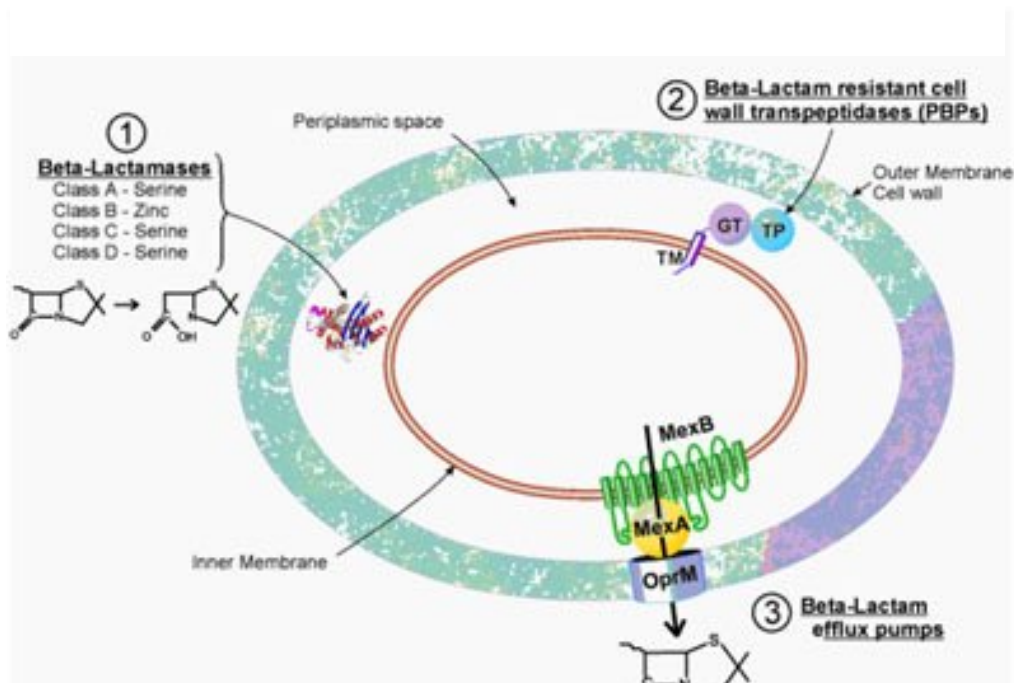
จากผลการศึกษาพบว่า เชื้อ *E. coli* ส่วนใหญ่ไวต่อยา cefquinome (30 สเตรน) แต่มีบางส่วนที่ดื้อต่อยานี้ (8 สเตรน) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการรักษาโรคติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ ส่วนใหญ่มักมีการให้ยาปฏิชีวนะก่อน และเมื่อไม่ได้ผลในการรักษา หรือกลับมาเป็นใหม่ (recurrent UTIs) จึงพิจารณาเพาะเชื้อ และหาค่าความไวรับ จึงทำให้เกิดปัญหาการดื้อยาตามมา โดยการศึกษาหาค่าความไวรับของยา cefquinome ต่อเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากมนุษย์และสัตว์ ก่อนหน้านี้ พบว่า เชื้อ *E. coli* ส่วนใหญ่มีความไวต่อยา cefquinome (ตารางที่ 5-3)

ตารางที่ 5-3 ค่า MIC ของยา cefquinome ต่อเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากมนุษย์ และสัตว์

| ชนิดสัตว์ | จำนวนสตรี | MIC ($\mu\text{g/mL}$) | | | อ้างอิง |
|-----------|-----------|--------------------------|-------------------|----------------|------------------------------|
| | | MIC ₅₀ | MIC ₉₀ | MIC breakpoint | |
| สุนัข | 38 | <0.125 | 128 | >4 | การศึกษาครั้งนี้ |
| มนุษย์ | 40 | 0.049 | 0.391 | ไม่ระบุ | Limbert <i>et al.</i> , 1991 |
| มนุษย์ | 30 | 0.06 | 0.12 | ไม่ระบุ | Chin <i>et al.</i> , 1992 |
| มนุษย์ | 20 | ≤ 0.12 | ≤ 0.12 | ไม่ระบุ | Murphy <i>et al.</i> , 1994 |
| โค | 195 | ≤ 0.0625 | 0.125 | ไม่ระบุ | Orden <i>et al.</i> , 1999 |
| ม้า | 32 | 0.063 | 0.125 | ไม่ระบุ | Thomas <i>et al.</i> , 2006 |
| โค | 637 | <0.03-0.13 | 0.06-0.13 | ไม่ระบุ | Ehinger <i>et al.</i> , 2006 |
| สุนัข | 27 | <0.125 | 2 | >2 | ญูวีร์ และคณะ, 2552 |

กลไกการดื้อยาของยาในกลุ่ม beta-lactams สามารถแบ่งได้เป็น 3 แบบคือ

1. เชื้อแบคทีเรียสร้างเอนไซม์ beta-lactamase มากขึ้น ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำลายวงแหวน beta-lactam ทำให้วงแหวนแตก ส่งผลให้ยาหมดฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียชนิดนั้น ซึ่งทั้งแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ สามารถสร้างเอนไซม์ชนิดนี้ได้ด้วยกันทั้งคู่ โดยยาในกลุ่ม cephalosporins มักพบกลไกการดื้อยาชนิดนี้ (ภาพที่ 5-1)
2. ความสามารถของยาที่จะจับกับ PBPs น้อยลง และ/หรืออาจมีการเปลี่ยนแปลงของ PBPs ทำให้ตัวยาไม่สามารถจับกับ PBPs ได้เช่นในกรณี MRSA
3. การที่ยาผ่านผนังเซลล์เข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรียได้ลดลง เช่น การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียในการผ่านเข้าสู่เซลล์ หรือการขับยาออก ซึ่งมักพบในกรณีเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* (Papich and Riviere, 2009)



ภาพที่ 5-1 กลไกการดื้อยาของยาในกลุ่ม beta-lactams

(http://www.ricercailiana.it/prin/dettaglio_completo_prin_en-2004038004.htm)

ปัจจุบันเอนไซม์ beta-lactamase ที่พบแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มตามลำดับกรดอะมิโน (Ambler classification) (Hall and Barlow, 2005; Papich and Riviere, 2009)

- Class A : Narrow-spectrum beta-lactamase : TEM-1, TEM-2, SHV-1

Extended-spectrum beta-lactamase (ESBLs) : TEM, SHV-derivatives, CTX-M

- Class B : Metallo enzymes : carbapenemases

- Class C : AmpC : FOX, MOX, CMY, ACC เป็นต้น

- Class D : Oxacillinases

โดยเอนไซม์ beta-lactamase ที่มีความสำคัญทางสัตวแพทย์คือ ESBLs และ AmpC (Papich and Riviere, 2009) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ายา cefquinome มีความทนต่อเอนไซม์ beta-lactamase มากเมื่อเทียบกับยากลุ่ม cephalosporin ในรุ่นแรกๆ (Limbert *et al.*, 1991; Chin *et al.*, 1992; Murphy *et al.*, 1994) โดยมีความต้านทานต่อเอนไซม์ beta-

lactamase ทั้งแบบ chromosomally-encoded beta-lactamase และ plasmid-encoded beta-lactamase (Limbert *et al.*, 1991; Suhren and Knappstein, 2003) อย่างไรก็ตามอาจพบการดื้อยาจาก plasmid-encoded beta-lactamase ชนิด ESBLs ได้ (Chin *et al.*, 1992; Murphy *et al.*, 1994) ซึ่งการดื้อยานี้สามารถถ่ายทอดสู่แบคทีเรียอื่นได้ง่าย โดยเฉพาะแบคทีเรียที่มีพันธุกรรมคล้ายคลึงกัน แต่บางครั้งอาจเกิดการถ่ายทอดการดื้อยาข้ามสายพันธุ์ได้

จากการศึกษาของ Limbert และคณะในปี ค.ศ. 1991 พบว่า cefquinome มีความทนต่อเอนไซม์ plasmid-encoded beta-lactamase ชนิด TEM-1, TEM-2, OXA-2, OXA-3, SHV-1, PSE-1, PSE-2, PSE-3, PSE-4 (ยกเว้น OXA-1) ที่ผลิตจาก *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Pseudomonas aeruginosa* ได้ดี รวมทั้งมีความทนต่อเอนไซม์ chromosomally-encoded beta-lactamase ที่ผลิตจาก *Citrobacter* spp., *Enterobacter cloacae* และ *Klebsiella oxytoca*

จากการศึกษาของ Murphy และคณะในปี ค.ศ. 1994 ในการหาค่าความไวรับของเชื้อ *E. coli* ที่ผลิตเอนไซม์ plasmid-encoded beta-lactamase ต่อยา cefquinome พบว่า *E. coli* ที่ผลิตเอนไซม์ plasmid-encoded beta-lactamase ชนิด SHV-2, SHV-3, SHV-4, SHV-5, TEM-3, TEM-4, TEM-8 อยู่ในช่วงที่ดื้อต่อยา cefquinome โดยมีค่า MIC อยู่ที่ 8->16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้นการนำยา cefquinome มาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะควรมีการเก็บตัวอย่างเพาะเชื้อ และหาค่าความไวรับของยาก่อน เพื่อการเลือกใช้ยาปฏิชีวนะที่ถูกต้องเหมาะสม รวมทั้งป้องกันปัญหาการดื้อยาที่จะเกิดขึ้นตามมา อย่างไรก็ตามควรพิจารณาถึงปัจจัยโน้มนำ (predisposing factors) ที่อาจทำให้เกิดการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน เพราะถ้าไม่ได้รับการแก้ไขหรือรักษาที่ถูกต้องแล้ว สัตว์อาจมีโอกาสดื้อซ้ำเมื่อหยุดการให้ยาต้านจุลชีพ โดยการติดเชื้อแบคทีเรียบ่อยครั้งอาจพบร่วมกับนิ่วชนิด struvite โรคที่ทำให้เกิดการลดการทำงานของลงของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้ง่ายต่อการติดเชื้อ เช่น โรค hyperadrenocorticism การรักษาด้วยยาสเตียรอยด์เป็นเวลานาน เบาหวาน และเนื้องอก เป็นต้น (Elliott, 1996) อีกทั้งการรักษาโรคติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะควรให้ยาต่อเนื่องถึงแม้ว่าจะไม่พบอาการทางคลินิกแล้วก็ตาม เพื่อป้องกันการติดเชื้อซ้ำอีกครั้ง และเพื่อให้กลไกการป้องกันของระบบทางเดินปัสสาวะได้ฟื้นฟู

ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขที่มีสุขภาพดี ดังนั้นการนำไปใช้ในทางคลินิกอาจต้องพิจารณาถึงสุขภาพสัตว์ป่วย อายุสัตว์ ตำแหน่งของการติดเชื้อ รวมถึงระดับความเข้มข้นของยา ณ จุดที่มีการติดเชื้อด้วย จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่ายาในกลุ่ม beta-lactams ส่วนใหญ่ถูกขับออกผ่านทางไต ทำให้พบความเข้มข้นของยาในปัสสาวะมากกว่าในพลาสมา 50-300 เท่า เช่น การให้ยา cephalexin ในขนาด 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กินทุก 8 ชั่วโมง ตรวจพบความเข้มข้นของยา cephalexin ในปัสสาวะอยู่ที่ 805 ± 421 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Elliott, 1996) การให้ยา cephalexin ในขนาด 18 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 1 ครั้ง ตรวจพบความเข้มข้นของยาในปัสสาวะ 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Papich and Bidgood, 2005) และการให้ยา cephalexin ในขนาด 8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม กินทุก 8 ชั่วโมง ตรวจพบความเข้มข้นของยา cephalexin ในปัสสาวะอยู่ที่ 225 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Blondeau, 2009)

จากการศึกษาของ Turnidge ในปี ค.ศ. 1998 การให้ยาในกลุ่ม cephalosporins ตัวชี้วัดที่ทำให้การรักษาประสบความสำเร็จคือ ช่วงเวลาที่ระดับยามากกว่าค่า MIC ($T > MIC$) โดยในคนที่มีปัญหาเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลส์ต่ำ ควรมีค่า $T > MIC$ อยู่ที่ 90-100% ในแบคทีเรียแกรมลบ และ 50-60% ในแบคทีเรียแกรมบวก แต่ในกรณีที่มีคนมีเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิลส์อยู่ในระดับปกติ ค่า $T > MIC$ อยู่ที่ 25-40% ก็เพียงพอแล้วในการต้านเชื้อ สำหรับการศึกษาในสัตว์พบว่ายาในกลุ่ม cephalosporins รุ่นที่ 4 ค่า $T > MIC$ ควรอยู่ที่ไม่น้อยกว่า 30-40% ในแบคทีเรียกลุ่ม Enterobacteriaceae และ Streptococcus แต่อย่างน้อยกว่า 30% ได้สำหรับ Staphylococcus (Papich and Riviere, 2009)

เมื่อนำผลจากการทดลองที่ 1 เปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ 2 พบว่ามีค่า $T > MIC$ อยู่ที่ประมาณ 25% ของช่วงของการให้ยา ดังนั้นการนำยา cefquinome มาใช้ในการต้านเชื้อ *E. coli* นี้ อาจจำเป็นต้องเพิ่มความถี่ในการให้ยาจากทุก 24 ชั่วโมงเป็นทุก 12 ชั่วโมง เพื่อให้ระดับยาคงอยู่นานพอที่จะทำลายเชื้อ *E. coli* ที่ไวต่อยานี้ได้ ส่วนการนำไปใช้ในการต้านเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ควรพิจารณาหาค่าความไวรับของเชื้อแบคทีเรียต่อยา cefquinome ก่อนเพื่อปรับรูปแบบการให้ยาที่เหมาะสม และเกิดประโยชน์ในการรักษามากที่สุด

สรุปผลการวิจัย

ระดับความเข้มข้นของยา cefquinome ที่วัดได้ในพลาสมาสุนัขภายหลังการฉีด ยาเข้าได้ผิวหนังขนาด 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 1 ครั้งเป็นระดับที่มีความเข้มข้นสูงพอที่จะ ทำลายเชื้อ *E. coli* ที่แยกได้จากสุนัขที่มีการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะที่ไวต่อยานี้ โดยเปรียบเทียบ จากค่าความไวรับของเชื้อ *E. coli* ต่อยา และควรปรับช่วงเวลาในการให้ยาเป็นทุก 12 ชั่วโมง

ข้อเสนอแนะ

1. ควรเพิ่มจำนวนตัวอย่างสุนัขในการทำการศึกษาศาสตร์และเพิ่ม จำนวนตัวอย่างเชื้อ *E. coli* รวมทั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคชนิดต่างๆ ในการศึกษาหาค่าความไวรับ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้อง แม่นยำ และชัดเจนยิ่งขึ้น
2. ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมในการวัดระดับความเข้มข้นของยา ณ จุดที่ยาไป ออกฤทธิ์เช่น ที่ระบบทางเดินปัสสาวะ เพื่อให้ทราบถึงขนาดยาที่เหมาะสม และได้ผลที่ถูกต้องในการรักษาจริงทางคลินิก

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- จารุณีย์ ศักดิ์วีนิชล. 2010 (2553). "วิวัฒนาการของเซฟติโอเฟออร์ (ceftiofur) ตอนที่ 1." [online]. Available : http://bis-group.com/index.php?option=com_content&view=article&id=32%3A-ceftiofur-1&catid=14%3Aabis-library&lang=en. Repeated [2011, Jul 1]
- ณัฐวีร์ ประภัสระภูล ปิยวุฒิ ศิริธรรมวิไล กฤษฎา บุญอร่ามเรือง ณัฐวุฒิ เจษฎาฐิติกุล วารี นิยมธรรม อธิมา ไตรพิพัฒน์ และ สุภัลยา อัครัสกร. 2009 (2552). ประสิทธิภาพของสารต้านจุลชีพ 6 ชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนที่แยกได้จากสุนัขที่ติดเชื้อไวรัส. วารสารผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์ ฉบับที่ 1 ปีที่ 21 หน้า 14-21.
- เพ็ญศรี ทองนพเนื่อ. 2010 (2553). การวิเคราะห์ด้วยยาในชีวสาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 245-259.
- อุตรา จามิกร. 2008 (2551). คู่มือการเลี้ยงและการใช้สัตว์ทดลอง. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 89.

ภาษาอังกฤษ

- Al-Taher, A.Y. 2010. Pharmacokinetics of cefquinome in camels. J. Anim.Vet. Adv. 9 (4) : 848-852.
- Alves, A., Gontijo, A.M.M.C., Salvadori, D.M.F. and Rocha, N.S. 2004. Acute bacterial cystitis does not cause deoxyribonucleic acid damage detectable by the alkaline comet assay in urothelial cells of dogs. Vet. Pathol. 41 : 299-301.
- Anderson, S.D. and Gums, J.G. 2008. Ceftobiprole: An extended-spectrum antimethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* cephalosporin. Ann. Pharmacother. 42 : 806-816.
- Ball, K.R., Rubin, J.E., Chirino-Trejo, M. and Dowling, P.M. 2008. Antimicrobial resistance and prevalence of canine uropathogens at the Western College of Veterinary Medicine Veterinary Teaching Hospital, 2002-2007. Can. Vet. J. 49 : 985-990.
- Barger, A., Fuhst, C. and Wiedemann, B. 2003. Pharmacological indices in antibiotic therapy. J. Antimicrob. Chemother. 52 : 893-898.

- Bartges, J.W. 2005. Urinary tract infections. In : Textbook of veterinary internal medicine, Disease of the dog and cat. 6th ed. S.J. Ettinger and E.C. Feldman (eds). Philadelphia: Elsevier Saunders. 1800-1808.
- Bauer, L.A. 2008. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic concepts. In : Applied clinical pharmacokinetics. 2nd ed. The United States of America. McGraw-Hill. 3-22.
- Blondeau, J.M. 2009. Genitourinary tract infections. In : Steps to antimicrobial therapy, Strategies to optimize therapy and minimize resistance when treating bacterial infections. 1st ed. The United States of America. North American Compendiums Inc. 99-107.
- Bryskier, P.A. 2006. "Aspects of the use of 4 GCs in human and veterinary medicine in Europe" [online]. Available : <http://www.fda.gov/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/VeterinaryVeterinaryMedicineAdvisor/ucm130975.htm>. Repeated [2009, Jul 14]
- Buick, A.R., Doig, M.V. Jeal, S.C., Land, G.S. and McDowall, R.D. 1990. Method validation in the bioanalytical laboratory. J. Phar. Biomed. Analysis. 8 : 629-637.
- Causey, A.G., Hill, H.M. and Phillips, L.J. 1990. Evaluation of criteria for the acceptance of bioanalytical data. J. Pharm. Biomed. Anal. 8 (8-12) : 625-628.
- Chin, N.X., Gu, J.W., Fang, W. and Neu, H.C. 1992. In vitro activity of cefquinome, a new cephalosporin compared with other cephalosporin antibiotics. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 15 : 331-337.
- Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP), 1995. Cefquinome summary report. EMEA/MRL/005/95. The European agency for the evaluation of medicinal products, London, UK. 3 P.
- Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP), 1999. Cefquinome (Extension to pigs) summary report 2. EMEA/MRL/545/99-FINAL. The European agency for the evaluation of medicinal products, London, UK. 3 P.

- Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP), 2003. Cefquinome (Extension to horses) summary report 3. EMEA/MRL/883/03-FINAL. The European agency for the evaluation of medicinal products, London, UK. 3 P.
- Ehinger, A.M., Schmidt, H. and Kietzmann, M. 2006. Tissue distribution of cefquinome after intramammary and systemic administration in the isolated perfused bovine udder. *Vet. J.* 172 : 147-153.
- Elliott, J. 1996. Management of bacterial urinary tract infections. In : *Manual of canine and feline nephrology and urology*. 1st ed. J. Bainbridge and J. Elliott (eds). United Kingdom. BSAVA. 221-227.
- Errecalde, C., Prieto, G., Puelles, L., Luders, C. and Garcia, O.H. 2001. Plasma disposition of cefquinome in goats after intramuscular application. In *Vet.* 3 : 89-94.
- "Glycosyl-beta-lactams : new antibacterial agents against resistant strains. Design, synthesis and evaluation of in vitro activity" [online]. Available : http://www.ricercaitaliana.it/prin/dettaglio_completo_prin_en-2004038004.htm. Repeated [2011, Sep 1]
- Guerin-Faubleee, V., Carret, G. and Houffschmitt, P. 2003. In vitro activity of 10 antimicrobial agents against bacteria isolated from cows with clinical mastitis. *Vet. Rec.* 152 : 466-471.
- Guide to veterinary antimicrobial therapy. 2003. 4th ed. the Netherlands. Alfasan Nederland BV. 110.
- Hall, B.G. and Barlow, M. 2005. Revised Ambler classification of beta-lactamases. *J. Antimicrobe. Chemother.* 55 (6) : 1050-1051.
- Johnson, J.R. 1991. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 4(1) : 80-128.
- Kumar, V.J., Gupta, P.B., Kumar, K.S.R.P., Rao, K.V.V.P., Rao, K.R., Prasanna, S.J., Sharma, H.K. and Mukkanti, K. 2010. Identification and characterization of new degradation products of cefepime dihydrochloride monohydrate drug substance during stress stability studies. *Analytic. Sci.* 26 : 1081-1086.

- Lambert, K.S. and Lena, K.S. 2000. Determination of cephalosporin in raw bovine milk by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 882 : 145-151.
- Lattrell, R., Duerckheimer, W. and Limbert, M. 1988. Synthesis and structure-activity relationships in the cefpirome series; III. 7 α -methoxy and 7 α -formamido analogues of cefpirome. *J. Antibiotics.* 91 (10) : 1409-1417.
- Li, X.B., Wu, W.X., Su, D., Wang, Z.J., Jiang, H.Y. and Shen, J.Z. 2008. Pharmacokinetics and bioavailability of cefquinome in healthy piglets. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 31 : 523-527.
- Limbert, M., Isert, D., Klesel, N., Markus, A., Seeger, K., Seibert, G. and Scheinner, E. 1991. Antibacterial activities in vitro and in vivo and pharmacokinetics of cefquinome (HR 111V), a new broad-spectrum cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35 : 14-19.
- M31-A2 CLSI. 2006. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacterial Isolated from Animals; Approved Standard - 2nd Edition, 85 P.
- Maden, M., Tras, B., Bas, A.L., Elmas, M., Yazar, E. and Birdane, F.M. 2001. Investigation of biochemical and haematological side-effects of cefquinome in healthy dogs. *Vet. Quart.* 23 (1) : 32-34.
- Maes, A., Meyns, T., Sustronck, B., Maes, D., Backer, P.D. and Croubels, C. 2007. Determination of cefquinome in pig plasma and bronchoalveolar lavage fluid by high-performance liquid chromatography combined with electrospray ionization mass spectrometry. *J. Mass Spectrometry.* 42 : 657-663.
- Mulvey, M.A., Schilling, J.D. Martinez, J.J. and Hultgren, S.J. 2000. Bad bugs and beleaguered: Interplay between uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defenses. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97 (16) : 8829-8835.
- Murphy, S.P., Erwin, M.E. and Jones, R.N. 1994. Cefquinome (HR 111V) in vitro evaluation of a broad-spectrum cephalosporin indicated for infections in animals. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 20 : 49-55.

- Orden, J.A., Ruiz-Santa-Quiteria, J.A., Garcia, S., Cid, D. and Fuente, R.D.L. 1999. In vitro activities of cephalosporins and Quinolones against *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic dairy calves. J. Antimicrob. Chemother. 43 (3) : 510-512.
- Page, G.P.M. 2006. Anti-MRSA beta-lactams in development. Cur. Opin. Phar. 6 (5) : 480-485.
- Papich, M.G. and Bidgood, T. 2005. Antimicrobial drug therapy. In : Textbook of veterinary internal medicine, Disease of the dog and cat. 6th ed. S.J. Ettinger and E.C. Feldman (eds). Philadelphia: Elsevier Saunders. 498-503.
- Papich, M.G. and Riviere, J.E. 2009. Beta-lactam antibiotics: Penicillins, Cephalosporins, and related drugs. In : Veterinary pharmacology and therapeutics. 9th ed. Iowa. Wiley-Blackwell. 865-887.
- Pharmacology. 2010. "Pharmacokinetics and pharmacodynamics" [online]. Available : <http://physiophysio.blogspot.com/2010/01/pharmacokinetics-and-and.html>. Repeated [2011, May 30]
- Power, J.H. 2009. "Use and Importance of Cephalosporins in Human Medicine" [online]. Available : <http://www.fda.gov/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/VeterinaryMedicineAdvisoryCommittee/ucm129875.htm>. Repeated [2010, Feb 22]
- Rama, G., Chhina, D.K., Chhina, R.S. and Sharma, S. 2005. Urinary tract infections- microbial virulence determinants and reactive oxygen species. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 28 (5-6) : 339-349.
- Riviere, J.E. 2009. Pharmacokinetics. In : Veterinary pharmacology and therapeutics. 9th ed. M.G. Papich and J.E. Riviere (eds). Iowa. Wiley-Blackwell. 47-73.
- Santo, E., Macedo, C. and Martin, J.M. 2006. Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* from a university hospital in Ribeirao Preto, Sao Paulo, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo. 48 (4) : 185-188.

- Shah, V.P., Midha, K.K., Dighe, S., McGilveray, I.J., Skelly, J.P., Yacobi, A., Layloff, T., Viswanathan, C.T., Cook, C.E., McDowall, R.D., Pittman, K.A. and Spector, S. 1992. Analytical methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. *Phar. Res.* 9 (4) : 588-592.
- Shpigel, N.Y., Levin, D., Winkler, M., Saran, A. Ziv, G. and Bottner, A. 1996. Efficacy of cefquinome for treatment of cows with mastitis experimentally induced using *Escherichia coli*. *J. Dairy Sci.* 80 : 318-323.
- Stannard, L.M. 2000. "Chapter 35 Antibacterial drugs." [online]. Available : <http://www.pharmacology2000.com/Antibacterial/antibactobj.htm>. Repeated [2009, Jul 6]
- Suhren, G. and Knappstein, K. 2003. Detection of cefquinome in milk by liquid chromatography and screening method. *Analytica. Chimica. Acta.* 483 : 363-372.
- Thomas, E., Thomas, V. and Wilhelm, C. 2006. Antibacterial activity of cefquinome against equine bacterial pathogens. *Vet. Microb.* 115 : 140-147.
- Tohamy, M.A. 2011. Age-related intramuscular pharmacokinetics of cefquinome in sheep. *Small Rum. R.* 99 : 72-76.
- Turnidge, J.D. 1998. The pharmacodynamics of beta-lactams. *Clin. Infect. Dis.* 27 : 10-22.
- Uney, K., Altan, F. and Elmas, M. 2011. Development and validation of high-performance liquid chromatography method for determination of cefquinome concentrations in sheep plasma and its application to pharmacokinetic studies. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55 (2) : 854-859.
- Wooley, R.E. and Blue, J.L. 1976. Quantitative and bacteriological studies of urine specimens from canine and feline urinary tract infections. *J. Clin. Microbiol.* 4 : 326-329.
- Yuan, L., Sun, J., Wang, R., Sun, L., Zhu, L., Luo, X., Fang, B. and Liu, Y. 2011. Pharmacokinetics and bioavailability of cefquinome in healthy ducks. *Am. J. Vet. Res.* 72 : 122-126.

- Yuri, K., Nakata, K., Katae, H. and Hasegawa, A. 2000. Pathogenicity of *Escherichia coli* from dogs with UTI in relation to urovirulence factors. J. Vet. Med. Sci. 62 (11) : 1197-1200.
- Zhang, X., Li, J., Jiang, H. and Shen, J. 2007. Residue depletion of cefquinome in swine tissues after intramuscular administration. J. Agric. Food Chem. 55 : 10493-10498.

ภาคผนวก

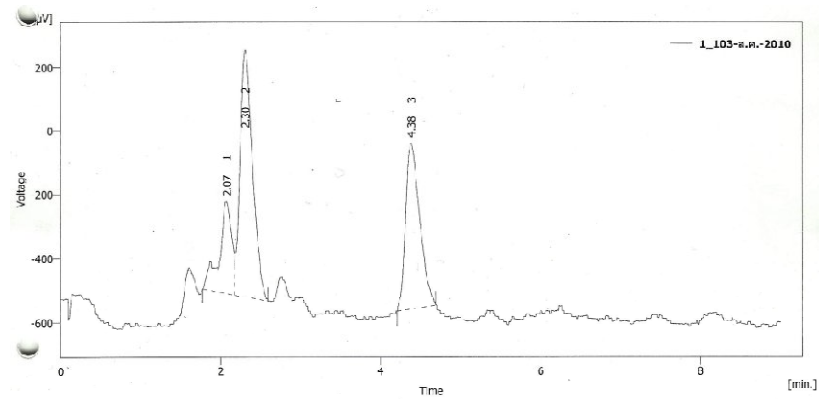
ภาคผนวก ก

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจเลือดสุนัขก่อนการศึกษาระดับจุลชีววิทยา

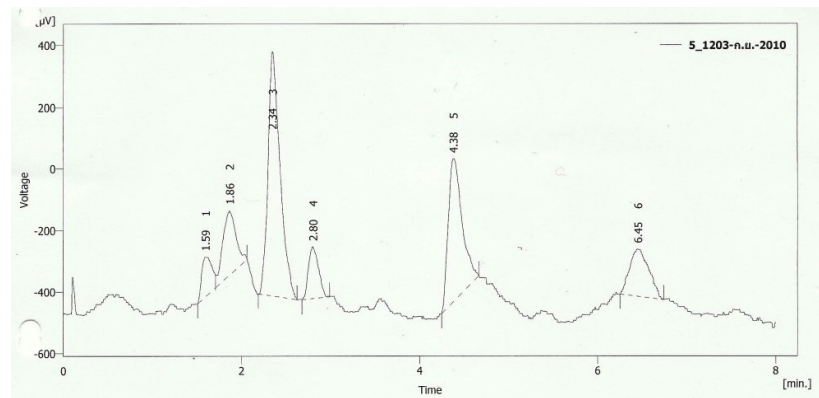
| | เพศเมีย | | | เพศผู้ | | | ค่าปกติ |
|---|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------------|
| | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | |
| น้ำหนัก (kg) | 10 | 10 | 10 | 13 | 16 | 15 | |
| RBC ($\times 10^6$ cells/mm ³) | 7.7 | 7.3 | 6.4 | 8.5 | 7.8 | 7.3 | 5.5-8.5 |
| Hb (g/dl) | 17.0 | 13.4 | 12.8 | 16.6 | 14.9 | 14.2 | 12-18 |
| Hct. (%) | 49 | 39 | 37 | 48 | 44 | 41 | 37-55 |
| WBC (cells/mm ³) | 9,900 | 7,200 | 8,900 | 7,500 | 12,000 | 9,900 | 6,000-17,000 |
| N (%) | 71 | 74 | 72 | 74 | 72 | 76 | 60-70 |
| Band (%) | 1 | - | 1 | 1 | - | 1 | 0-3 |
| E (%) | 1 | 2 | 6 | 2 | 3 | 3 | 2-10 |
| L (%) | 26 | 23 | 20 | 22 | 24 | 19 | 12-30 |
| M (%) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 3-10 |
| Blood morphology | Normal | Normal | Normal | Normal | Normal | Normal | |
| Platelets (cells/mm ³) | 432,000 | 384,000 | 291,000 | 350,000 | 394,000 | 281,000 | 200,000-500,000 |
| Icterus index | N | N | N | N | N | N | |
| Blood parasites | Not found | Not found | Not found | Not found | Not found | Not found | |
| SGPT (U/L) | 24 | 19 | 36 | 34 | 28 | 19 | 5-50 |
| SGOT (U/L) | 48 | 22 | 76 | 54 | 54 | 33 | 5-80 |
| Cr (mg%) | 0.8 | 0.5 | 0.8 | 1.2 | 1.0 | 0.6 | 0.4-1.5 |
| BUN (mg%) | 13 | 10 | 24 | 22 | 18 | 12 | 10-22 |
| ALP (U/L) | 29 | 27 | 21 | 28 | 28 | 26 | 20-120 |

หมายเหตุ: RBC; red blood cell, Hb; hemoglobin, Hct; hematocrit, WBC; white blood cell, N; neutrophil, Band; band neutrophil, E; eosinophil, L; lymphocyte, M; monocyte, BUN; blood urea nitrogen, Cr; creatinine, ALT; alanine aminotransferase, AST; aspartate aminotransferase, ALP; alkaline phosphatase

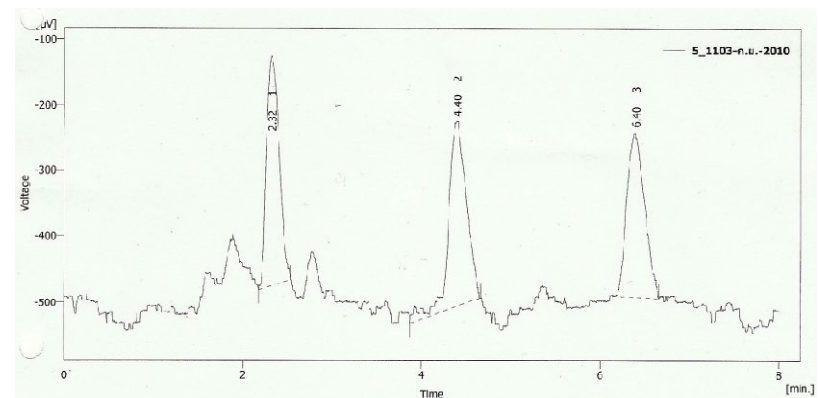
ภาคผนวก ข



ก



ข



ค

ภาพที่ 1 แสดงโครมาโทแกรมของยา cefquinome (ก) พลาสมาที่ปราศจากยา (ข) ความเข้มข้นที่ LOD 0.075 µg/mL (ค) ความเข้มข้นที่ LOQ 0.1 µg/mL

ภาคผนวก ค

ตารางที่ 2 ค่าพารามิเตอร์ทางเภสัชจลนศาสตร์ของยา cefquinome ในสุนัขแต่ละตัว

| ค่าพารามิเตอร์ | ตัวที่ 1 | ตัวที่ 2 | ตัวที่ 3 | ตัวที่ 4 | ตัวที่ 5 | ตัวที่ 6 |
|-----------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| α (1/ชั่วโมง) | 1.46 | 3.69 | 2.54 | 1.39 | 8.94 | 0.68 |
| β (1/ชั่วโมง) | 1.09 | 1.22 | 0.54 | 1.05 | 0.30 | 0.33 |
| $T_{1/2\alpha}$ (ชั่วโมง) | 0.47 | 0.19 | 0.27 | 0.50 | 0.08 | 1.01 |
| $T_{1/2\beta}$ (ชั่วโมง) | 0.64 | 0.57 | 1.28 | 0.66 | 2.30 | 2.09 |
| $T_{1/2ab}$ (ชั่วโมง) | 0.38 | 0.15 | 0.28 | 0.28 | 0.08 | 0.27 |
| Tmax (ชั่วโมง) | 0.50 | 0.30 | 0.80 | 0.80 | 0.50 | 0.5 |
| Cmax ($\mu\text{g/mL}$) | 2.86 | 3.12 | 2.40 | 2.61 | 1.62 | 1.71 |
| AUC _{0-∞} (mg.h/L) | 4.50 | 4.00 | 7.10 | 4.50 | 5.80 | 6.60 |

ภาคผนวก ง

ตารางที่ 3 แสดงตัวอย่างการแปลผลค่า MIC

| No. | Code <i>E. coli</i> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | MIC ($\mu\text{g/mL}$) |
|-----|---------------------------------|-----|-----|-----|----|----|----|---|---|---|----|-----|------|-------|-----------------------------|
| | | 512 | 256 | 128 | 64 | 32 | 16 | 8 | 4 | 2 | 1 | 0.5 | 0.25 | 0.125 | |
| 1 | A1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <0.125 |
| 2 | A2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | 0.25 |
| 3 | A5 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | 128 |
| 4 | A9 | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | 4 |
| 5 | A12 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | 0.5 |
| 6 | A15 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | 128 |
| 7 | A19 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <0.125 |
| 8 | A23 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | 128 |
| 9 | A24 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | 128 |
| 10 | A33 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | 0.5 |
| 11 | A39 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | 128 |
| 12 | A58 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <0.125 |
| 13 | A70 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <0.125 |
| 14 | A78 | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | 128 |
| 15 | A83 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | 0.25 |
| 16 | A91 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <0.125 |
| 17 | A100 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <0.125 |
| 18 | C001 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <0.125 |
| 19 | C002 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <0.125 |
| 20 | C003 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <0.125 |
| 21 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 22 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 23 | ATCC 25922 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <0.125 |
| 24 | <i>S. aureus</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | 0.5 |
| 25 | <i>Ps.</i> <i>aeruginosa</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | 1 |

หมายเหตุ : - หมายถึงไม่พบการเจริญของเชื้อ, + หมายถึงพบการเจริญของเชื้อ

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวณัฐกานต์ วงศาศิริพัฒน์ เกิดเมื่อวันที่ 25 พฤศจิกายน พ.ศ. 2524 ที่จังหวัดสระบุรี สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนสระบุรีวิทยาคม จังหวัดสระบุรี เข้าศึกษาในระดับอุดมศึกษาที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2543 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับสอง) เมื่อปีการศึกษา 2549 และเข้าศึกษาต่อในระดับมหาบัณฑิต หลักสูตรเภสัชวิทยาทางสัตวแพทยศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2551 ถึง 2554