

قدير تراكيز الاستقرار لكل من التلمايوكسين و الانروفلوكساسين في الرئتين والبلازما في الحالة الطبيعية في أفراخ دجاج اللحم*

علي عزيز الحياط¹ علي عبد الحسين شلش لبنى احمد العاني

الخلاصة

استخدمت 54 فرخة دجاج لحم تجارية لتقدير تراكيز الاستقرار لكل من التلمايوكسين و الانروفلوكساسين في الرئتين والبلازما و ذلك باستخدام جراثيم قياسية للتحليل المايكروبيولوجي وهي Bacillus subtilis ATCC (9225) وجرثومة Saricine leutus ATCC (272) وقد اثبت حساسية العقارين لهما.

قسمت الأفراخ بعمر 21 يوم إلى مجموعتين بواقع 27 فرخة للمجموعة الواحدة أعطيت احدهما عقار انروفلوكساسين بجرعة 10 ملغم /كغم من وزن الجسم لمدة ثلاثة أيام متتالية في ماء الشرب إما المجموعة الثانية أعطيت عقار التلمايوكسين في ماء الشرب كذلك و بجرعة (15 ملغم /كغم من وزن الجسم) لمدة ثلاثة أيام متتالية وجمعت عينات بلازما الدم والرئتين من المجموعتين بواقع ثلاث طيور لكل وقت من الأوقات الآتية: (6 و 12 و 18 و 24 و 36 و 48 و 72 و 96 و 120) ساعة من بدء إعطاء كل عقار .

وصل مستوى الاستقرار للانروفلوكساسين في أنسجة الرئتين والبلازما بعد 12 ساعة تقريبا من بدء العلاج وتراوح بين (0.90- 1.26 مكغم/غم) و (0.50- 0.86 مكغم/مل) على التوالي وبدا بالانحدار بعد إيقاف العلاج مباشرة، أما التلمايوكسين فقد وصل مستوى الاستقرار بعد 18 ساعة في كل من أنسجة الرئتين والبلازما وتراوح بين (2.25- 2.70 مكغم /مل) و (0.98- 1.65 مكغم/ مل) على التوالي واستمر مستوى الاستقرار على طول فترة التجربة (120 ساعة). كانت نسبة تراكيز التلمايوكسين في الرئتين إلى بلازما الدم أعلى من تلك التي للانروفلوكساسين إحصائيا في الأوقات 12 و 48 ساعة.

استنتج أن التلمايوكسين قد يكون أكثر أهمية من الانروفلوكساسين في حالة الإصابات التنفسية .

* البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الثالث

¹ قسم الفلسفة و الأدوية، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد

Steady State Levels of Tilmicocin and Enrofloxacin in Lung Tissues and Plasma of Broiler Chicks

A .A .Al –Khayyat¹ , A .A. Shalash and L. A.Al-Ani

SUMMARY

A total of 54 broiler chicks were used to study the steady state levels of Tilmicocin and Enrofloxacin in lung tissues and plasma.

Microbiological assay, using *Bacillus subtilis* (ATCC 9225) or *Saricinea leutus* (ATCC 272) as test organisms for Enrofloxacin and Tilmicocin respectively, was employed to estimate the drugs levels.

The birds were divided equally into two groups at the age of 21 days. The first group received Enrofloxacin at an estimated dose of 10 mg/kg body weight in drinking water for three consecutive days, while Tilmicocin was given in the same way but at a dose of 15 mg/kg body weight. Samples of lung tissues and plasma were collected from birds of each group at scheduled periods (6, 12, 18, 24, 36, 48, 72, 96 and 120 hours after beginning of treatment).

The plateau of enrofloxacin level in lung tissues and plasma was achieved after approximately 12 hours of the beginning of treatment and ranged from 0.90 – 1.26 ug/ gram and 0.50 – 0.86 ug/ ml respectively.

The level declines immediately after termination of treatment (72 hours). Tilmicocin plateau level was achieved after 18 hours and ranged in lung tissues and plasma from 2.25 -2.70 ug /gram and 0.98 -1.65 ug/ml respectively but the plateau level continue through out the whole time of the experiment (120 hours).

The ratio of Tilmicocin level in the lung tissues to plasma was significantly higher than that of enrofloxacin at 12 and 48 hours periods.

It was concluded that Tilmicocin may be more effective than Enrofloxacin in respiratory diseases.

المقدمة

التلمايكوسين (Tilmicosin) مضاد جرثومي يعود إلى مجموعة الماكرولود وقد استحدث في

منتصف الثمانينات وهو مركب شبة مصنع من التالوسين باسم تجاري (Pulmotil AC) (1).

يتركز العقار داخل البلاعم الكبيرة أكثر مما هو موجود خارجها بمقدار (66 مرة) ،فيما يتركز داخل

الخلايا المتغايرة (Hetrophils) بمقدار (138 مرة) أكثر من خارجها (2) . كما ثبت أن

61- 88 % من العقار يتركز في الجسيمات الحالة (Lysosomes) في البلاعم الكبيرة ،إن هذا الموقع

أكثر حامضية حيث يصطاد ((Trapping) القواعد الضعيفة كالتلمايكوسين (1). وفي دراسة لتحديد

¹ Department of Physiology and Pharmacology, College of Veterinary Medicine ,University of Baghdad

تراكيز العقار في البلازما والرئتين و الأكياس الهوائية وجد أن توزيع العقار يتم بشكل سريع في هذه الأنسجة، حيث أن نسبة تركيز الدواء في الرئتين و الأكياس الهوائية إلى البلازما كانت 16 و 25 مرة على التوالي (1)، ووجد في نفس البحث أن تراكيز التلمايكوسين يظهر في الرئتين و الأكياس الهوائية بعد (6 ساعات) من إعطائه مع ماء الشرب ويصل إلى أقصاه (2.30 و 3.29 مكغم / مل في الرئتين والأكياس الهوائية على التوالي). أما تركيز العقار في البلازما فيصل إلى أقصاه (0.1 مكغم /مل) بعد (8 ساعة) حيث استخدمت طريقة HPLC لتحليل العينات .

اثبت في دراسة أخرى أن امتصاص وانتقال وخروج التلمايكوسين في الخلايا البلعية يكون جاهزا على الدوام وهذا يؤكد أهمية هذا العقار في حالة الخمج ويمكن أن تعزى الفعالية السريرية لهذه الخاصية (2).

الانروفلوكساسين هو مضاد جرثومي يعود لمجموعة الكونبولونات المفلورة حيث استحدث في مطلع الثمانينات من القرن الماضي ضمن سلسلة من المركبات الجديدة لحمض النالدكسك (3)، تعمل هذه المركبات على تثبيط خميرة DNA gyrase (4) يمتص الانروفلوكساسين بعد اعطائه عن طريق الفم بجرعة (10 ملغم / كغم) بشكل سريع ويصل إلى أقصى تركيز له (1.4 مكغم/مل) بعد (1-2 ساعة) وينخفض إلى (0.02 مكغم /مل بعد (24 ساعة) في الدجاج (5).

المواد وطرائق العمل

المواد:

الأفراخ:- جهزت أفراخ التجربة (دجاج لحم) من مفسس تجاري وريبت من عمر يوم الى (21يوم).
العقاقير:- عقار الانروفلوكساسين وهو مادة خام (pure) بنقاوة مقدار (99%) من أنتاج شركة باير الالمانية وعقار التلمايكوسين واسمه التجاري بلموتيل أي سي (Pulmotil AC) بتركيز (250 ملغم /مل) من أنتاج شركة ايلانكو الذي يستعمل في ماء الشرب بتركيز (75 ملغم / لتر).
الجراثيم القياسية (جراثيم الاختبار التي استعملت في التحليل المايكروبايولوجي) :

استعملت الجرثومة القياسية *ATCC Bacillus subtilis* (9225) لتحليل عينات البلازما والرئتين لعقار الانروفلوكساسين وقد جهزت من مختبر الصحة العامة /كلية الطب البيطري - جامعة بغداد وكذلك الجرثومة القياسية *ATCC Sarcinea leutus* (272) استعملت لتحليل عينات البلازما والرئتين لعقار التلمايكوسين والتي جهزت من فرع الإحياء المهجرية / كلية الطب - الجامعة المستنصرية وقد استعملت هاتين الجرثومتين بعد إثبات حساسيتهما بكل عقار استعملت له واللذان حفظتا في الثلاجة بدرجة (4 م).

تم تربية الأفراخ في غرفة التربية من عمر يوم واحد ولغاية (21 يوما) ، إذ قسمت إلى مجموعتين رئيسيتين و أعطيت احدهما عقار الانروفلوكساسين بجرعة (10 ملغم /كغم من وزن الجسم) وهي الجرعة العلاجية القصوى لمدة ثلاثة أيام متتالية والمجموعة الثانية أعطيت عقار التلمايكوسين في ماء الشرب و بجرعة (15 ملغم /كغم من وزن الجسم) وهي الجرعة العلاجية القصوى لمدة ثلاثة أيام متتالية أيضا وجمعت عينات بلازما الدم والرئتين من المجموعتين بواقع ثلاثة طيور لكل وقت من الأوقات التالية: (3 و 6 و 12 و 18 و 24 و 36 و 48 و 72 و 96 و 120) ساعة من بدء إعطاء العقار .

استعملت طريقة تحليل مايكروبايولوجية اعتمدت خطواتها على تلك التي استعملها Al-Khayyat عام 1969 للبولمكسين ب (Polymyxin B) وذلك لتقدير تراكيز عقاري الانروفلوكساسين والتلمايكوسين في البلازما الدم والرئتين (7).

تحضير بلازما الدم:

سحب النموذج الدم من قلب الطير مباشرة بواسطة محقنة طبية معقمة سعة (5 مل) سبق وان رطب سطحها الداخلي بمانع تخثر (الهيبارين) من انتاج شركة Leo Pharmaceutical product الدنماركية بتركيز (1000 وحدة دولية /مل) ,ثم نقل الدم إلى أنابيب المنبذة المعقمة ودور لمدة (15 دقيقة) وبسرعة (4000 دورة في الدقيقة) وجمعت كمية بلازما الدم المعزولة ونقلت إلى أنابيب بلاستيكية معقمة أخرى معلمة باسم العقار ووقت السحب وتاريخ السحب وحفظت في المجمدة بدرجة (20 م تحت الصفر) , وحضرت بلازما الدم للاختبار بإذابة بلازما الدم وتخفيفه بإضافة كمية متساوية من داريء الفوسفات ذو $PH = 7$.

تحضير عينات الرئتين :

أخرجت عينات الرئتين المحفوظة في إطباق زجاجية معقمة من المجمدة كي ترتفع درجة حرارتها الى درجة حرارة الغرفة ثم حضرت عينات الرئتين بإضافة داريء الفوسفات بمقدار حجم من المحلول لكل وزن من النسيج , بعد تقطيعه إلى قطع صغيرة جدا بواسطة المقص وسحنها باستعمال عصا زجاجية .

تحضير المخزون القياسي:-

حضر المخزون القياسي للانروفلوكساسين بتركيز (10 مكغم /مل) واستعمل لمدة أسبوعين بحفظه في الثلجة إما المخزون القياسي للتلمايكوسين فحضر بتركيز (20 مكغم / مل) واستعمل لمدة أربعة أيام بحفظه في الثلجة .

التحليل الإحصائي:

أخضعت النتائج للتحليل الإحصائي وذلك لمعرفة الفروقات في معدلات تراكيز عقاري الانروفلوكساسين والتلمايكوسين في بلازما الدم ومستخلص الأنسجة وقد استعمل فحص t (t-test) لتحليل النتائج واعتمدت نسبة خطأ أقل من 0.05 كحد لقبول النتائج .

النتائج

تركيز عقار الانروفلوكساسين في الرئتين وبلازما الدم :

أظهرت النتائج إن استقرار عقار الانروفلوكساسين في الرئتين بدأ من (12-72 ساعة) من بدء إعطاء العقار في ماء الشرب إذ كانت التراكيز تتراوح بين (0.90 - 1.26 مكغم/غم) وتبدأ التراكيز بالانخفاض إلى إن تصل إلى (0.5 مكغم /غم) بعد (120 ساعة) من بدء إعطاء العقار في ماء الشرب .

إما في بلازما الدم فقد بدأ استقرار عقار الانروفلوكساسين في الوقت (12-72 ساعة) أيضا وكانت التراكيز تتراوح بين (0.50 - 0.86 مكغم /مل) لينخفض التركيز إلى (0.1 مكغم /مل) بعد (120 ساعة) من بدأ إعطاء عقار الانروفلوكساسين في ماء الشرب (جدول 1).

تركيز عقار التلمايكوسين في الرئتين وبلازما الدم :

أظهرت النتائج إن استقرار عقار التلمايكوسين في الرئتين يبدأ من وقت (18-48 ساعة) من بدأ إعطاء العقار في ماء الشرب إذ كانت تتراوح ما بين (2.25-2.70 مكغم/غم) وتبقى التراكيز مرتفعة حتى بعد (48 ساعة) من انقطاع إعطاء العقار في ماء الشرب .

إما في بلازما الدم فقد بدأ استقرار عقار التلمايكوسين يظهر ما بين (18-96 ساعة) من بدأ إعطاء العقار في ماء الشرب إذ كانت التراكيز تتراوح ما بين (0.98-1.65 مكغم /مل) وتبقى التراكيز مرتفعة حتى بعد وقت (120 ساعة) من بدأ إعطاء العقار في ماء الشرب (جدول 2).

نسبة تركيز كل عقار في الرئتين إلى بلازما الدم :-

أظهرت النتائج إن هناك فرقا مهما إحصائيا بين نسبة عقار الانروفلوكساسين في الرئتين إلى بلازما الدم في الوقت من (12-48 ساعة) من بدأ إعطاء العقارين في ماء الشرب كل حسب جرعته لمدة ثلاثة أيام متتالية كما في (جدول 3).

جدول (1) تراكيز عقار الانروفلوكساسين في الرئتين وبلازما الدم بعد إعطاء العقار في ماء الشرب بجرعة مقدارها (10 ملغم / كغم من وزن الجسم) لمدة ثلاثة أيام متتالية .

تركيز عقار الانروفلوكساسين في الرئتين (مكغم /غم)	تركيز عقار الانروفلوكساسين في بلازما الدم (مكغم /مل)	وقت جمع العينات (الرئتين وبلازما الدم من بدء إعطاء العقار (بالساعات)
0.05 ± 0.90	0.05 ± 0.50	6
0.01 ± 1.22	0.01 ± 0.82	12
0.01 ± 1.24	0.01 ± 0.84	18
0.01 ± 1.26	0.01 ± 0.86	24
0.01 ± 1.19	0.01 ± 0.79	36
0.01 ± 1.13	0.01 ± 0.73	48
0.11 ± 0.90	0.05 ± 0.50	72
0.11 ± 0.60	0.05 ± 0.20	96
0.11 ± 0.50	0.02 ± 0.10	120

3 = n

الاقيام تمثل المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي

جدول (2) تراكيز عقار التلمايكوسين في الرئتين وبلازما الدم بعد إعطاء العقار في ماء الشرب بجرعة مقدارها (15 ملغم / كغم من وزن الجسم) لمدة ثلاثة أيام متتالية .

تركيز عقار التلمايكوسين في الرئتين (مكغم /غم)	تركيز عقار التلمايكوسين في بلازما الدم (مكغم /مل)	وقت جمع العينات (الرئتين وبلازما الدم من بدء إعطاء العقار (بالساعات)
0.05 ± 1.50	0.02 ± 0.85	6
0.01 ± 1.59	0.01 ± 0.90	12
0.14 ± 2.25	0.01 ± 0.98	18
0.01 ± 2.28	0.01 ± 1.15	24
0.05 ± 2.30	0.05 ± 1.20	36
0.11 ± 2.70	0.01 ± 1.35	48
0.01 ± 2.55	0.01 ± 1.47	72
0.01 ± 2.48	0.02 ± 1.65	96
0.01 ± 2.28	0.01 ± 1.33	120

3=n

الاقيام تمثل المتوسط الحسابي ± الخطأ القياسي

جدول (3) يتمثل نسبة تراكيز كل عقار في الرئتين إلى بلازما الدم في نفس وقت جمع العينات بعد إعطاء كل من العقارين في ماء الشرب لثلاثة أيام متتالية بجرعة مقدارها (10 ملغم /كغم من وزن الجسم) من الانروفلوكساسين (15 ملغم /كغم من وزن الجسم) من التلمايكوسين .

وقت جمع العينات (الرئتين وبلازما الدم) من بدء إعطاء العقارين في ماء الشرب (بالساعات)	نسبة تركيز عقار الانروفلوكساسين في الرئتين إلى تركيز العقار في بلازما الدم في نفس وقت الجمع	نسبة تركيز عقار التلمايكوسين في الرئتين إلى تركيز العقار في بلازما الدم في نفس وقت الجمع
6	A 0.09 ± 1.80	A 0.01 ± 1.76
12	A 0.01 ± 1.48	B 0.02 ± 1.76
18	A 0.01 ± 1.47	B 0.16 ± 2.29
24	A 0.02 ± 1.46	B 0.01 ± 1.98
36	A 0.02 ± 1.50	B 0.04 ± 1.91
48	A 0.01 ± 1.54	B 0.08 ± 2.00
72	A 0.20 ± 1.80	A 0.01 ± 1.73
96	A 1.35 ± 3.00	A 0.03 ± 1.50
120	A 3.60 ± 5.00	A 0.02 ± 1.71

3=n

الاقيام تمثل النسبة المذكورة ± الخطأ القياسي

الحروف المختلفة تعني وجود فارق معنوي بمستوى احتمال $P < 0.05$

المناقشة

أن تحقق استقرار التراكيز (C_{ss}) بعد إعطائه بشكل متكرر كإعطاءه عن طريق ماء الشرب كما في هذه التجربة يعتمد على عوامل عدة أهمها سرعة الاطراح مقاسه بعمر النصف والتصفية والتي بدورها تعتمد على حجم انتشار الدواء (V_d) ومدى ارتباطه بأنسجة الجسم .

لقد وجد في هذه الدراسة إن الانروفلوكساسين حقق تركيز الاستقرار في البلازما (- 0.86 0.50 مكغم /مل) والرئتين (0.90-1.26 مكغم/مل) بعد (12 ساعة) من بدء العلاج وانخفضت هذه النسبة بشكل واضح بعد إيقاف العلاج (72 ساعة) وهذه النتائج تقارب ما وجده Gariene وجماعته (1997) (7) عندما أعطي العقار بنفس الطريقة وتم تحليل النماذج بالطريقة المايكروبيولوجية ايضا اذ كانت تراكيز العقار (0.82-0.86 مكغم /مل) في البلازما ومقارب لما وجده Kietzman وجماعته (1997) (8) في الرئتين (0.90 مكغم/ غم) ولكن برعب الجرعة التي استعملت في بحثنا . إن السبب في

اختلاف النتائج بين الباحثين قد يعزى إلى طريقة التحليل والجرعة المستعملة وظروف إعطاء الدواء إي كمية الماء المستهلك والذي يتعلق بالدرجة الأساسية بالظروف الجوية كالحرارة والرطوبة.

إما تراكيز التلمايكوسين فقد استقرت في كل من البلازما (0.98-1.65 مكغم/مل) والرئتين (2.25-2.70 مكغم/غم) بعد (18 ساعة) واستمرت مرتفعة حتى بعد إيقاف العلاج ولمدة (48 ساعة) وقد وجد Warren وجماعته (1997) (9) إن أعلى تركيز للتلمايكوسين في الرئتين عندما استخدمت نفس الجرعة في الدجاج كان (2.3 مكغم / غم) ولكن بطريقة التحليل بالHPLC . إما في البلازما فكانت النتيجة أعلى بكثير مما وجد من قبل باحثي الشركة المنتجة (1).

إما نسبة عقار الانروفلوكساسين في الرئتين إلى البلازما فكانت أقل من مثيلتها للتلمايكوسين في الأوقات (12-24 ساعة) من بدء إعطاء الدواء وقد يعزى هذا الاختلاف إلى حقيقة تركيز التلمايكوسين في الخلايا البلعمية والأنسجة التنفسية كما أشار إلى ذلك عدد من الباحثين (1,2,3).

أن سرعة تحقق الاستقرار كما ذكرنا يعتمد بدرجة أساسية على سرعة الطرح وهو يقدر بحوالي (4) أعمار نصف ($t_{1/2}$)، ولكن الملاحظة في هذه التجربة وفي المراجع المذكورة سابقا إن إعطاء الدواء في ماء الشرب قد يشذ عن هذه القاعدة وذلك لطبيعة تناول الطيور الداجنة للماء الحاوي على الدواء عندما يقدم لها , إي اخذ كمية كبيرة منه مما قد يعتبر كجرعة امتلاء (Loading dose) حيث إن المتوقع حسب عمر النصف لكل من التلمايكوسين أو الانروفلوكساسين كما سجل من قبل Al- Ani (10) إن يحصل استقرار التراكيز بفترة قد تكون على الأقل بنفس الفترة المسجلة ولكن العامل المذكور أعلاه إي جرعة الامتلاء هو الذي اسع في تحقيق استقرار التركيز .

كما لوحظ إن تركيز التلمايكوسين يبقى عاليا حتى بعد إيقاف العلاج ولمدة (48 ساعة) بينما ينخفض تركيز الانروفلوكساسين مباشرة بعد إيقاف العلاج وهذا قد يعكس ارتباط الدواء الأول بشكل أقوى في الأنسجة وخلايا الدم البيض كما ورد في عدد من البحوث (1,2,3).

Reference

- 1-Elanco Guide for Tilmicosin (1997) Eli lili.
- 2-Scorneaux B, shryock TR (1999) The determination of the cellular volume of avian, porine, bovine Plagocytes and bovine mammary epithelial cells and it relationship to uptake to tilmicosin .J. Phar.and Ther.22:6-12.
- 3-Scheer M (1987) Studies on the antimicrobial activity of Buytril .Vet. Med. Rev. 2: 90-99.
- 4- Hooper DC and Wolfsor JS (1985) The fluoroquinolones: Pharmacolgy,clinical uses and toxicities in human .Antimicrob. Agents and Chemoth . 28:716-721
- 5- sheer M(1987) Concentration of active ingredient The serum and tissue after oral and parenternal administration of Baytril . Vet .Med. Rev. 2:104-118.

- 6- Al-kayyat AA(1969) Pharmacologic and Toxicologic studies with polymyxin B and Colistin (polymyxin E). MSc.Thesies Cornell University New York, U.S.A.
- 7- Ganiere JP, Hervouet P, Delaporte J and Froyman R (1997) serum kinetics of enrofloxacin in chicken during continuous drinking water .J.of Vet. Pharma. and Therap.20 (suppl.1):195-196.
- 8-Kietzmann M, Knoll U and Glunder G (1997) Pharmacokinetic of enrofloxacin and danofloxacin in broiler chicken .J .of Vet .pharma. and Therap.20 (suppl.1):202.
- 9-Warren MJ, peter AR, Brett TR and Stoker J (1997) Lung and air sac concentrations of tilmicosin following oral administration in chickens. J of Vet. Pharma .and Therap.20 (suppl .1): 195-196.
- 10-Al-Ani, L.A., (2005), A comparative study of pharmacokinetic between Tilmicosin and enrofluxcin in normal and infected state of chicks. PhD Thesis. college of veterinary Medicine, University of Baghdad of Baghdad, Iraq.