

Tomasz Błądek

**Wpływ infekcji *Actinobacillus pleuropneumoniae*  
na farmakokinetykę tkankową tulatromycyny u świń**

Promotor:

prof. dr hab. Andrzej Posyński

Promotor pomocniczy:

dr hab. Kamila Mitrowska, prof. nadzw.

**Streszczenie**

Tulatromycyna jest triamilidowym antybiotykiem makrolidowym nowej generacji, który dozwolony jest do stosowania w infekcjach górnych dróg oddechowych u świń. Ponieważ tulatromycyna należy do grupy antybiotyków, które w znacznych ilościach przechodzą do organizmu zwierzęcego, gdzie mogą pozostawać przez dość długi okres czasu, istotne zatem jest określenie czy infekcja może przyczynić się do zmian w jej dystrybucji i eliminacji, a tym samym spowodować zagrożenia dla zdrowia konsumentów żywności zwierzęcego pochodzenia.

We wstępie przedstawiono charakterystykę tulatromycyny i jej rolę w medycynie weterynaryjnej. Przedstawiono również charakterystykę pleuropneumonii świń wywołowaną przez *App* powodującej duże straty ekonomiczne w produkcji trzody chlewnej. Szczególną uwagę poświęcono farmakokinetyce tkankowej i kwestii pozostałości leków przeciwbakteryjnych w tkankach oraz różnym czynnikom wpływającym na farmakokinetykę leków przeciwbakteryjnych stosowanych u zwierząt, skupiając się w głównej mierze na infekcjach.

Następnie przedstawiono cel i zakres pracy, schemat przeprowadzonych badań oraz ich wyniki. Opisano sposób opracowywania metod analitycznych z wykorzystaniem techniki LC-MS/MS, układ doświadczenia na zwierzętach zdrowych i zainfekowanych *App* oraz zaprezentowano i omówiono wyniki prac doświadczalnych.

Badania rozpoczęto od opracowania metod badawczych, które pozwoliły na wykonanie badań zawartości tularromycyny w osoczu oraz tkankach i narządach świń. Przydatność metod analitycznych do prowadzenia badań została sprawdzona w procesie walidacji zgodnie z obowiązującymi wymaganiami.

W kolejnym etapie badań, przeprowadzono doświadczenie na zwierzętach, w którym zbadano wpływ infekcji *App* na farmakokinetykę i farmakokinetykę tkankową tularromycyny u świń. Zwierzęta podzielono na dwie grupy: w pierwszej znalazły się zdrowe świnię, w drugiej zaś zainfekowane w warunkach laboratoryjnych chorobotwórczym szczepem *App*. Zarówno zwierzęta wykazujące wyraźne objawy chorobowe jak i zwierzęta zdrowe otrzymały jednorazową, domięśniową, dawkę tularromycyny (2,5 mg/kg m.c.). Następnie od świń z obu grup pobierano próbki osocza oraz tkanek i narządów (wątrób, nerek, mięśni, płuc, miejsc iniekcji oraz skóry z tłuszczem), w których wykonano oznaczenia zawartości tularromycyny.

Uzyskane wyniki jednoznacznie wskazują, że infekcja *App* w sposób istotny wpływa na zmiany w profilu farmakokinetycznym antybiotyku zwiększając zarówno AUC w osoczu, jak i w badanych tkankach i narządach oraz wydłużając jego eliminację z organizmu.

Największe różnice w wartościach AUC pomiędzy chorymi a zdrowymi świniami stwierdzono w wątrobie oraz kolejno w miejscu iniekcji, skórze z tłuszczem, mięśniach, nerkach, płucach i osoczu. Dodatkowo u zakażonych świń obserwowano zwiększoną dystrybucję tego leku do płuc, co obrazuje wyższy stosunek  $AUC_{\text{płuca}}/AUC_{\text{osocze}}$  w porównaniu do grupy zdrowej.

Infekcja w niewielkim stopniu wpłynęła na szybkość eliminacji antybiotyku z krwiobiegu, jednakże w przypadku tkanek i narządów obserwowano wzrost  $t_{1/2el}$  o 13% w przypadku mięśni i skóry z tłuszczem, 14% w nerkach, 15% w płucach, 21% w wątrobie i o 35% w przypadku miejsca iniekcji.

Ponadto stwierdzono istotnie statystycznie wyższe stężenia leku w tkankach i narządach w końcowych punktach eksperymentu (po 360 i 792 h), co świadczy o tym, że infekcja przyczynia się do wzrostu stężeń w tkankach przeznaczonych do spożycia dla ludzi, a tym samym może wpływać na występowanie pozostałości antybiotyku po ustalonych okresach karencji.

Biorąc pod uwagę wnioski wyciągnięte z realizacji badań, za konieczne należy uznać prowadzenia dalszych badań nad wpływem stanów chorobowych na farmakokinetykę i farmakokinetykę tkankową pozostałych leków przeciwbakteryjnych stosowanych w praktyce weterynaryjnej.

## Summary

Tulathromycin is a member of the triamilide sub-class of macrolides that is used for the treatment of bacterial respiratory diseases in swine. Because tulathromycin belongs to a group of antibiotics which, in significant quantities pass into animal tissues, where they can remain for a relatively long period of time, it is therefore important to determine whether the infection can lead to changes in the distribution and elimination, and therefore pose a potential risk for consumer health.

In the introduction of this work, the overview of tulathromycin, its role in veterinary medicine and the characteristics of pleuropneumonia caused by an *App* were presented. Particular attention was given to the tissue pharmacokinetics, residues of antimicrobial drugs in tissues, and the various factors influencing the pharmacokinetics of antimicrobials used in animals, focusing mainly on infections.

Then the goal, scope of work and scheme of conducted studies with obtained results were presented. Besides, the development of LC-MS/MS analytical methods, results of the experiments on healthy and infected animals with *App* and results of the experimental work were described.

The study was began with the development of the analytical methods enable the determination of tulathromycin in swine plasma and tissues. The methods were tested in the validation process in accordance with applicable requirements.

The next part of the research was to conduct experiments on animals to study the influence of *App* infection on tulathromycin pharmacokinetics and tissue pharmacokinetics in swine. The experiment was conducted on two groups of animals, one group of healthy pigs and the other group of sick animals infected with *App*. Tulathromycin was given to healthy and infected pigs by intramuscular injection at a single dosage of 2.5 mg/kg body weight. Then, samples of plasma, liver, kidney, muscle, lung, injection site and skin with fat were taken at scheduled time points in which subsequently drug concentration were determined.

The results clearly indicate that infection with *App* has a significant impact on change in the pharmacokinetic profile of the antibiotic increasing the AUC in both the plasma and tissues, and extend its elimination from the body.

The largest differences in AUC between infected and healthy pigs were found in liver and subsequently at the injection site, skin with fat, muscle, kidney, lung and plasma.

In addition, infection increased distribution of the drug into the lungs which is indicated by the higher value  $AUC_{lung}/AUC_{plasma}$  compared to healthy controls.

Infection slightly affected the rate of elimination of the antibiotic from the bloodstream, however an increase  $t_{1/2el}$  of 13% in muscle and skin with fat, 14% in kidney, 15% in lung, 21% in liver and 35% in the case of the injection site were observed.

Significantly higher concentrations of drug residues in edible tissues in the end of the experiment (after 360 and 792 h) was also observed, which has a direct impact into an increase of the residue concentration in tissues intended for human consumption and thus can affect the occurrence of antibiotic residues after withdrawal periods.

Taking into account the results of the research, it is necessary to continue further research on the effects of health status on the pharmacokinetics and tissue pharmacokinetics of other antibacterial agents used in veterinary practice.