

เภสัชจลนศาสตร์ของยาออกซีเตตราไซคลินในสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจบางชนิด Pharmacokinetics of Oxytetracycline in some Economic Freshwater Fishes

นพดล สุกระกาญจน์^{1*} สุภฎา คีร์รัตนิกม² กฤษณะ เรืองคล้าย³ และ พันธสิทธิ์ โชคสวัสดิ์กร⁴
Noppadon Sukrakanchana^{1*}, Suphada Kiriratnikom², Kritsana Ruangklai³ and Puntasit Choksawasdikorn⁴

บทคัดย่อ

ศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา Oxytetracycline (OTC) หลังการให้ยาแบบครั้งเดียว โดยฉีดเข้าช่องท้องที่ความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักร่างกาย ในปลาดุกอุกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย แล้วสุ่มเก็บเลือด เนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อปลาจำนวน 5 ตัว ที่เวลาต่าง ๆ หลังจากปลาได้รับยา นำไปตรวจวัดความเข้มข้นของ OTC โดยเทคนิค HPLC พบว่ารูปแบบการกระจายตัวของ OTC ในน้ำเลือดปลาทั้งสามชนิดคล้ายคลึงกัน โดยระดับความเข้มข้นสูงสุดของยาในน้ำเลือด (C_{max}) ของปลาดุกอุกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทยเท่ากับ 16.66, 39.86 และ 12.25 mg/L ตามลำดับที่เวลา 1 ชั่วโมงหลังจากปลาได้รับยา และปลานิลแดงมีค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา (T_{1/2}) ต่ำสุด อยู่ที่ 31.16 ชั่วโมง ตามด้วยปลาดุกอุกผสม (38.34 ชั่วโมง) และปลาหมอไทย (44.35 ชั่วโมง) พื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นกับเวลา (AUC) ของปลาหมอไทย ปลานิลแดง และปลาดุกอุกผสม เท่ากับ 1042.75, 953.10 และ 854.41 มิลลิกรัมชั่วโมงต่อลิตร ตามลำดับ ข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าปลานิลแดงมีอัตราการกำจัดยาที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกอุกผสม และปลาหมอไทย

คำสำคัญ : เภสัชจลนศาสตร์ ยาปฏิชีวนะ ออกซีเตตราไซคลิน ปลานิลแดง ปลาดุกอุกผสม ปลาหมอไทย

¹ ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ² อาจารย์, ^{3,4} นักวิชาชีพ หน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

* Corresponding author : E-mail: sukrakanchana@hotmail.com

จากงานประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 21 ประจำปี 2554

Abstract

Pharmacokinetics of oxytetracycline (OTC) with a single dose of 50 mg/kg body weight after intraperitoneal (IP) injection in 3 economic freshwater fishes: hybrid catfish, red tilapia and climbing perch was conducted. Blood samples, liver, kidney and muscular tissues from 5 fish were sampled at different time interval after drug administration. OTC concentration in plasma and tissues was determined using high-performance liquid chromatography (HPLC) and analyzed using a non-compartmental pharmacokinetic model. The results showed tissue distribution profile of OTC in 3 fish species was found to be very similar, whereas maximum plasma concentration (C_{max}) of hybrid catfish, red tilapia and climbing perch was 16.66, 39.87 and 12.25 mg/L, respectively, after 1 h administration. According to one-compartment pharmacokinetic model, elimination half-life ($T_{1/2}$) of hybrid catfish, red tilapia and climbing perch was 38.34, 31.16 and 44.35 h, respectively. Area under the curve (AUC) of hybrid catfish, red tilapia and climbing perch was 854.41, 953.10 and 1042.75 mg.hr/L, respectively. It was suggested that red tilapia performed higher rate of OTC elimination, compared to hybrid catfish and climbing perch.

Keywords: Pharmacokinetics, Antibiotics, Oxytetracycline, Red tilapia, Hybrid catfish, Climbing perch

บทนำ

Oxytetracycline (OTC) เป็นสารประกอบธรรมชาติในกลุ่ม tetracycline ซึ่งผลิตโดยเชื้อรา *Streptomyces rimosus* มีฤทธิ์เป็นสารปฏิชีวนะที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งแกรมลบ และแกรมบวก โดยการขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนบริเวณ 30S ribosome เป็นยาปฏิชีวนะชนิดแรกที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (USFDA) อนุญาตให้ใช้ในการควบคุมโรคติดเชื้อแบคทีเรียในสัตว์น้ำที่เป็นอาหารได้ แม้ว่าจะมีข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของยา และการตกค้างของยา Oxytetracycline ในสัตว์น้ำชนิดต่างๆ มากมาย แต่ข้อมูลส่วนใหญ่เป็นข้อมูลของสัตว์น้ำในเขตนานาชาติ ข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับเภสัชจลนศาสตร์ของยา Oxytetracycline ในสัตว์น้ำของประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด ทั้ง ๆ ที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะกันอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในระบบการเพาะเลี้ยงแบบหนาแน่น การศึกษาครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาเปรียบเทียบปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของยา Oxytetracycline การกระจายตัวในเนื้อเยื่อและการกำจัดยาของเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อ หลังจากการให้ยาแบบครั้งเดียว (single-dose administration) ผ่านการฉีดเข้าช่องท้อง ในสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจ ประกอบด้วยปลาดุก ปลาหมอสี ปลานิลแดง และปลาทอมไทย ภายใต้สภาพการเลี้ยงที่อุณหภูมิปกติ โดยการตรวจวัดความเข้มข้นของ Oxytetracycline ที่ปรากฏในเนื้อเยื่อต่างๆ โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมสัตว์ทดลองและการให้ยาปฏิชีวนะ Oxytetracycline

นำพันธุ์ปลาอุกอุกผสม (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus*) ปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*) และปลาหมอไทย (*Anabas testudineus*) จากฟาร์มเพาะเลี้ยงในจังหวัดพัทลุง มาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ของอาคารปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง ให้อาหารเม็ดทุกวัน จนปลามีน้ำหนักตัวเฉลี่ยก่อนเริ่มการทดลองประมาณ 50 กรัม นำมาฉีดสารละลาย Oxytetracycline hydrochloride (Sigma) ในน้ำเกลือ 0.85% เข้าบริเวณช่องท้องที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว

2. การเก็บเลือดและตัวอย่างเนื้อเยื่อ

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC โดยการให้ยารั้งเดียว ผ่านการให้ยาโดยการฉีดเข้าช่องท้อง หลังจากปลาได้รับยาแล้ว สุ่มเก็บเลือดปลาแต่ละชนิดจำนวน 5 ตัว ที่เวลา 1, 4, 10, 24, 72, 120 และ 168 ชั่วโมง หลังจากปลาได้รับยา โดยจะดูดเลือดปลาปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากเส้นเลือดบริเวณโคนหาง นำเลือดไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนของน้ำเลือด เก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส และสุ่มเก็บเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อปลาประมาณ 5 กรัม จากปลาจำนวน 5 ตัว ที่เวลา 24, 72, 120, 168, 216 และ 360 ชั่วโมง หลังจากปลาได้รับยา เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์การตกค้างของยาในเนื้อเยื่อด้วยเทคนิค HPLC

3. การสกัด Oxytetracycline จากตัวอย่างเนื้อเยื่อ และน้ำเลือด

การวิเคราะห์ OTC ในตัวอย่างเนื้อเยื่อเป็นการประยุกต์วิธีการของ Ueno และคณะ (1989) [13] โดยนำเนื้อเยื่อตัวอย่างน้ำหนักประมาณ 5 กรัม มาบดให้ละเอียดในสารละลายตัวสกัด [0.1 M Na₂EDTA ใน McIlvaine buffer (Na₂HPO₄, citric acid, pH 4)] ปริมาตร 20 ml นำไปปั่นตกตะกอน แยกสารละลายส่วนใสมากรองผ่านกระดาษกรอง เติมสารละลายตัวสกัดลงในหลอดเดิมที่มีเนื้อเยื่อตกตะกอนอยู่ปริมาตร 20 ml ลงไป นำไปปั่นตกตะกอน กรองผ่านกระดาษกรอง นำไปรวมกับส่วนที่กรองได้ครั้งแรก การสกัด OTC จากตัวอย่างที่เป็นน้ำเลือด จะใช้น้ำเลือดปริมาตร 1 ml ผสมกับสารละลายตัวสกัด 20 ml แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง

กระตุ่น Sep-Pak C18 cartridge column โดยการผ่านคอลัมน์ด้วย methanol ปริมาตร 10 ml แล้วตามด้วย Milli-Q water ปริมาตร 10 ml จากนั้นนำส่วนของตัวอย่างที่กรองได้บรรจุผ่านลงในคอลัมน์ Sep-Pak C18 ตามด้วยการบรรจุ Milli-Q water ปริมาตร 10 ml ผ่านคอลัมน์อีกครั้ง หลังจากนั้นอัดอากาศปริมาตรประมาณ 5 ml ผ่านคอลัมน์เร็วๆ แล้วชะยาที่ถูกดูดซับอยู่ภายในคอลัมน์ด้วย elution buffer [สารละลาย methanol และสารละลาย 0.01 M oxalic acid + 0.1% Triethylamine (TEA) pH 4.5 ในอัตราส่วน 7:3] ปริมาตร 5 ml เก็บสารละลายที่ไหลผ่านคอลัมน์ออกมาให้ครบ 5 ml บรรจุเข้าหลอดฉีดยา และกรองโดยการฉีดผ่าน hyperclean (0.45 micron) ก่อนนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC

4. การวัดความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อด้วยเทคนิค HPLC

วิเคราะห์ความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อตัวอย่างที่สกัดได้โดยใช้เทคนิค Reverse phase high performance liquid chromatography ที่ความยาวคลื่น 355 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Agilent 1100 series HPLC และ Symmetry Sep-Pak C18 cartridge column (3.9 x 150 mm, 5 micron) (Waters Associate, Milford, USA), Flow rate : 1 ml/min, Mobile phase: Acetonitrile : 0.01 M Oxalic acid + TEA pH 4.5 (17:83)

จากงานประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 21 ประจำปี 2554

5. การวิเคราะห์ข้อมูลเภสัชจลนศาสตร์ การกระจายตัวในเนื้อเยื่อและการกำจัดยา

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณ OTC ในน้ำเลือดหลังจากการให้ยาครั้งเดียว นำมาคำนวณค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของปลาทั้งสามชนิดในเชิงเปรียบเทียบ ซึ่งประกอบด้วยปัจจัยต่างๆ ดังนี้

AUC = พื้นที่ใต้กราฟ (Area under the curve) ระหว่างความเข้มข้นของยาในน้ำเลือดและเวลา มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมชั่วโมงต่อลิตร

AUMC = พื้นที่ใต้กราฟ plasma concentration-time versus time (Area under the moment curve) มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมชั่วโมง²ต่อลิตร

C_{max} = ระดับความเข้มข้นสูงสุดของยาในพลาสมา มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร

T_{max} = เวลาสูงสุดของค่า C_{max} มีหน่วยเป็นชั่วโมง

MRT = เวลาที่ 63.2% ของยาที่ให้ถูกกำจัดออกจากร่างกาย (Mean residence time) มีหน่วยเป็นชั่วโมง โดยที่ $MRT = AUMC/AUC$

Vd = ปริมาตรการกระจายตัวของยา (Volume of distribution) มีหน่วยเป็นลิตรต่อกิโลกรัม โดยที่ $Vd = (Dose \times AUMC)/AUC^2$

Cl_b = การชำระยาทั้งหมดออกนอกร่างกาย (Total body clearance) มีหน่วยเป็นลิตรต่อชั่วโมงต่อกิโลกรัม โดยที่ $Cl_b = Dose/AUC$

$T_{1/2}$ = ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา มีหน่วยเป็นชั่วโมง โดยที่ $T_{1/2} = 0.693 \times MRT$

และนำข้อมูลความเข้มข้นของ Oxytetracycline ในเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อของปลาทั้งสามชนิดมาวิเคราะห์การกระจายตัวในเนื้อเยื่อและการกำจัดยา (tissue distribution and elimination)

ผลการศึกษา

1. การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetic study)

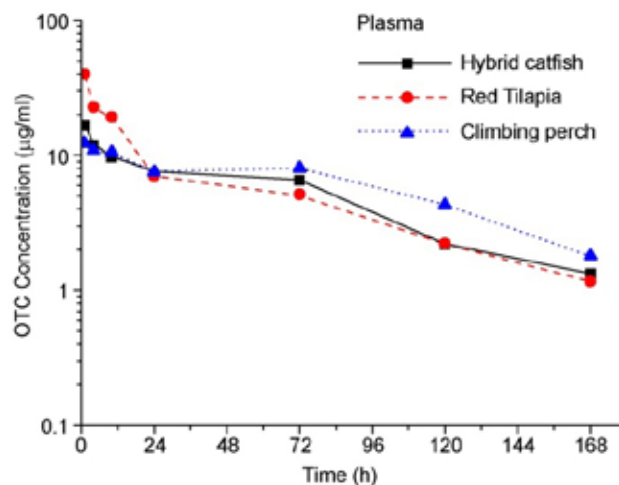
จากการทดลองให้ยา Oxytetracycline (OTC) ที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัวปลา โดยการฉีดเข้าช่องท้องในปลาคูกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย แล้วทำการเก็บเลือดที่เวลาต่างๆ นำไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของยาในน้ำเลือดด้วยเทคนิค HPLC ได้ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 1 โดยพบว่ารูปแบบการกระจายตัวของ OTC ในน้ำเลือดของปลาทั้งสามชนิดมีลักษณะคล้ายคลึงกัน กล่าวคือระดับความเข้มข้นสูงสุดของยาในน้ำเลือด (C_{max}) ของปลาคูกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทยเท่ากับ 16.66, 39.86 และ 12.25 mg/L ตามลำดับ ที่เวลา 1 ชั่วโมงหลังจากปลาได้รับยา หลังจากนั้นความเข้มข้นของ OTC ในน้ำเลือดของปลาทั้งสามชนิดจะค่อยๆ ลดลงและอยู่ในระดับต่ำสุด (1.33, 1.16 และ 1.80 mg/L ตามลำดับ) ที่เวลา 168 ชั่วโมงหลังจากได้รับยา และข้อมูลที่ปรากฏ ความเข้มข้นของ OTC ในน้ำเลือดปลานิลแดงจะลดลงอย่างรวดเร็วจาก 39.86 เหลือเพียง 1.16 $\mu\text{g/ml}$ ภายในเวลา 168 ชั่วโมง

ค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของปลาทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 2 โดยพบว่าปลานิลแดงมีค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($T_{1/2}$) ต่ำสุด อยู่ที่ 31.16 ชั่วโมง ตามด้วยปลาคูกลูกผสม (38.34 ชั่วโมง) และปลาหมอไทย (44.35 ชั่วโมง) พื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นกับเวลา (AUC) ของปลาหมอไทย ปลานิลแดง และปลาคูกลูกผสม เท่ากับ 1042.75, 953.10

และ 854.41 มิลลิกรัมชั่วโมงต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ปลาหมอไทยมีค่าการชำระยาทั้งหมดออกนอกร่างกาย (Cl_b) ต่ำสุด (0.0480 ลิตรต่อชั่วโมงต่อกิโลกรัม) เมื่อเทียบกับปลาดุกลูกผสม และปลานิลแดง และพบว่าปริมาณการกระจายตัวของยา (V_d) ในปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย เท่ากับ 3.24, 2.36 และ 3.07 ลิตรต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของ OTC ในน้ำเลือดของปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย ที่เวลาต่าง ๆ หลังได้รับยาครั้งเดียว โดยการฉีดเข้าช่องท้องที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของ OTC ในน้ำเลือด (µg/ml)		
	ปลาดุกลูกผสม (Hybrid catfish)	ปลานิลแดง (Red tilapia)	ปลาหมอไทย (Climbing perch)
1	16.66	39.86	12.25
4	11.93	22.83	10.85
10	9.69	19.20	10.55
24	7.32	7.00	7.55
72	6.56	5.13	8.05
120	2.18	2.23	4.30
168	1.33	1.16	1.80



ภาพที่ 1 กราฟ Semi-log ของระดับความเข้มข้นของ OTC ในน้ำเลือด (plasma) ของปลาดุกลูกผสม (Hybrid catfish) ปลานิลแดง (Red tilapia) และปลาหมอไทย (Climbing perch) ที่เวลาต่าง ๆ

จากงานประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 21 ประจำปี 2554

ตารางที่ 2 ค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic parameters) ของปลาทดลองทั้งสามชนิด

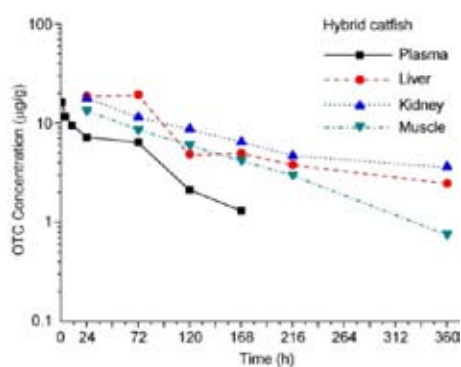
Pharmacokinetic parameter	หน่วย (Unit)	ชนิดของปลา		
		ปลาคูกลูกผสม (Hybrid catfish)	ปลานิลแดง (Red tilapia)	ปลาหมอไทย (Climbing perch)
$T_{1/2}$	hr	38.34	31.16	44.35
C_{max}	mg/L	16.66	39.87	12.25
T_{max}	hr	1	1	1
AUC	mg.hr/L	854.41	953.10	1042.75
AUMC	mg.hr ² /L	47274.575	42849.93	66732.275
MRT	hr	55.33	44.96	64.00
Vd	L/kg	3.24	2.36	3.07
Cl_b	L/hr/kg	0.0585	0.0524	0.0480

2. การกระจายตัวในเนื้อเยื่อและการกำจัดยา (Tissue distribution and elimination)

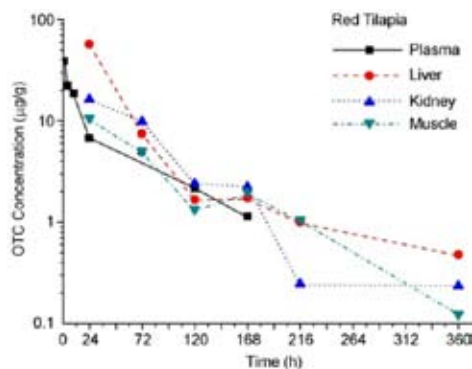
ปลานิลแดงมีระดับของ OTC ในเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อ เท่ากับ 0.49, 0.24 และ 0.126 $\mu\text{g/g}$ ตามลำดับ ซึ่งต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับของปลาคูกลูกผสม และปลาหมอไทย ซึ่งชี้ให้เห็นว่าปลานิลแดงมีอัตราการกำจัดยาจากเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อสูงกว่าปลาชนิดอื่น ส่วนปลาคูกลูกผสมจะมีการกำจัดยาจากเนื้อเยื่อตับและกล้ามเนื้อในอัตราที่ใกล้เคียงกับปลาหมอไทย (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของ OTC สูงสุดในปลาทั้งสามชนิดจะพบในเนื้อเยื่อตับ หลังจากปลาได้รับยา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อจะค่อย ๆ ลดลงตามลำดับคือ ไต และกล้ามเนื้อ ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อต่างๆ แสดงไว้ในภาพที่ 2

ตารางที่ 3 ความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อของปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย ที่เวลาต่าง ๆ

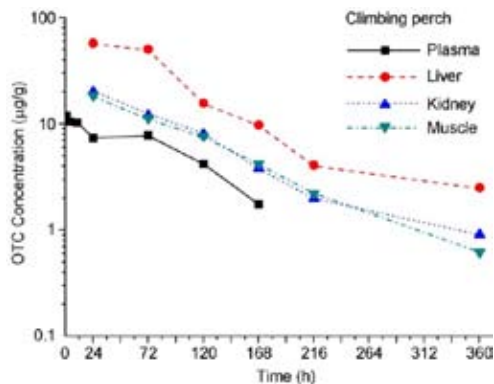
เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของ OTC ($\mu\text{g/g}$)								
	ตับ			ไต			กล้ามเนื้อ		
	ปลาดุก	ปลานิลแดง	ปลาหมอไทย	ปลาดุก	ปลานิลแดง	ปลาหมอไทย	ปลาดุก	ปลานิลแดง	ปลาหมอไทย
24	19.24	59.05	59.48	18.28	16.82	20.71	13.92	10.88	19.06
72	9.85	7.69	52.02	11.80	10.13	12.44	8.88	5.15	11.70
120	5.00	1.72	16.12	9.00	2.47	8.27	6.24	1.37	7.93
168	5.08	1.79	10.08	6.65	2.29	3.92	4.37	2.03	4.32
216	3.90	1.03	4.19	4.83	0.25	2.04	3.11	1.08	2.27
360	2.53	0.49	2.56	3.73	0.24	0.93	0.78	0.12	0.64



(A)



(B)



(C)

ภาพที่ 2 กราฟ Semi-log ของระดับความเข้มข้นของ OTC ในน้ำเลือด ตับ (liver) ไต (kidney) และกล้ามเนื้อ (muscle) ของ ปลาดุกลูกผสม (Hybrid catfish) (A) ปลานิลแดง (Red tilapia) (B) และปลาหมอไทย (Climbing perch) (C) ที่เวลาต่าง ๆ

จากงานประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 21 ประจำปี 2554

อภิปรายผล

ผลจากการทดลองชี้ให้เห็นว่าความเข้มข้นของยา OTC ในน้ำเลือดของปลาน้ำจืดทั้งสามชนิดมีการลดลงอย่างรวดเร็ว จากความเข้มข้นสูงสุดของยาในน้ำเลือด (C_{max}) ที่เวลา 1 ชั่วโมงหลังจากปลาได้รับยา ลดลงจนถึงระดับต่ำสุดที่เวลา 168 ชั่วโมงหลังจากได้รับยา ทั้งนี้เนื่องจากการกระจายตัวของยาไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้พบว่าค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($T_{1/2}$) ของปลานิลแดงจะมีค่าต่ำสุด (31.16 ชั่วโมง) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาคูกลูกผสม (38.34 ชั่วโมง) และปลาหมอไทย (44.35 ชั่วโมง) แสดงถึงปลานิลแดงมีอัตราการกำจัดยาที่สูงกว่า สอดคล้องกับข้อมูลระดับความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อของปลานิลแดงจะมีค่าต่ำสุดที่เวลาต่างๆ หลังจากได้รับยา เมื่อเปรียบเทียบกับปลาคูกลูกผสม และปลาหมอไทย ค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของปลาจะแตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของปลา และสภาพแวดล้อม มีรายงานยืนยันว่าอุณหภูมิของน้ำจะเป็นปัจจัยสำคัญซึ่งมีผลต่อการกำจัดยา OTC ปลาที่เลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำจะมีอัตราการกำจัดยาที่ช้ากว่าปลาที่เลี้ยงที่อุณหภูมิสูง ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากที่ปลาจะผลิตน้ำดี และปัสสาวะได้น้อยที่อุณหภูมิต่ำ (Curtis *et al.*, 1986 [4]; Hunn, 1982 [8])

ค่าการชำระยาทั้งหมดออกนอกร่างกาย (Total body clearance, Cl_b) หมายถึงปริมาตรของยาทั้งหมดในร่างกายซึ่งถูกกำจัดต่อหน่วยเวลาเป็นดัชนีเภสัชจลนศาสตร์ที่สำคัญที่ใช้ในการวิเคราะห์การกำจัดยาในการทดลองนี้พบว่าปลาคูกลูกผสม ปลานิลแดงและปลาหมอไทยมีอัตราการกำจัด OTC ในระดับใกล้เคียงกัน และเป็นอัตราการกำจัดยาที่ค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับปลาชนิดอื่นๆ ที่ได้รับ OTC เช่น ปลาไหลที่ได้รับ OTC ที่ระดับ 50 mg/kg ของน้ำหนักตัวโดยการผสมยาในอาหาร มีอัตราการกำจัดยาเท่ากับ 2.98 ml/hr/kg (Ueno *et al.*, 2004 [14]) ปลา rainbow trout มีอัตราการกำจัดยา 6.43 ml/hr/kg (Abedini *et al.*, 1998 [11]) และปลา Arctic charr 6.54 ml/hr/kg (Haug and Hals, 2000 [6]) ทั้งนี้อัตราการกำจัดยาของปลาแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป ค่าการชำระยาทั้งหมดออกนอกร่างกายจะสัมพันธ์โดยตรงกับเวลาที่ใช้ในการกำจัดยาออกจากเนื้อเยื่อ ต่าง ๆ (Clearance time) ค่า Clearance time คำนวณได้จาก Cl_b/V_{ss} ปลาไหลที่ได้รับยา OTC มี Clearance time เท่ากับ 6.6 ชั่วโมง (Ueno *et al.*, 2004 [14]) ปลา rainbow trout จากการทดลองของ Bjorklund and Bylund (1991) [3] มี Clearance time ของ OTC 13.8 ชั่วโมง หรือปลา yellow tail จากการทดลองของ Ueno *et al.* (1995) มี Clearance time ของ OTC 30.8 ชั่วโมง และพบว่า การกำจัด OTC ออกจากร่างกายของปลาต้องใช้เวลานานกว่าของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Bjorklund and Bylund, 1990 [2]) การที่ปลาต้องใช้เวลาค่อนข้างนานในการกำจัด OTC เนื่องจากกระบวนการแพร่ของยาใน glomerulus ของไตและเหงือกปลาเป็นการแพร่แบบ passive diffusion ในขณะที่สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีการแพร่แบบ active diffusion (Nouws *et al.*, 1985 [11]) นอกจากนี้ยังพบว่าการกรองบริเวณ glomerulus ของไตในปลาน้ำจืดมีอัตราที่ค่อนข้างต่ำด้วย (Hickman and Trump, 1969 [7])

การทดลองครั้งนี้พบว่าความเข้มข้นสูงสุดของ OTC ในปลาทั้งสามชนิดจะพบในเนื้อเยื่อตับ หลังจากปลาได้รับยา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อจะค่อยๆ ลดลงตามลำดับจากไต และกล้ามเนื้อ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเนื้อเยื่อตับ จะเป็นเนื้อเยื่อส่วนแรกๆ ที่ทำหน้าที่ในการกำจัด OTC ของปลาน้ำจืดทั้งสามชนิดนี้ อย่างไรก็ตาม การกำจัดยาอาจจะแตกต่างกันไปตามชนิดปลา และชนิดของปลา เช่น การทดลองเภสัชจลนศาสตร์ของยา Norfloxacin ในปลา Japanese sea perch และปลา Black sea bream พบว่าความเข้มข้นสูงสุดของยาค้นได้จากเนื้อเยื่อไต และค่อยๆ ลดลงตามลำดับจากตับ กล้ามเนื้อ และเลือด (Wang *et al.*, 2008 [19]) หรือในปลา Olive flounder ความเข้มข้นของยา

Norfloxacin สูงสุดไปต่ำสุดในเนื้อเยื่อไต เลือด เหงือก กล้ามเนื้อ และตับ ตามลำดับ (Liu *et al.*, 2003 [10]) แม้ว่าปลาไน้จืดทั้งสามชนิดจะได้รับยา OTC ผ่านการฉีดเข้าช่องท้องในอัตราความเข้มข้นของยาเท่ากัน (50 mg/kg ของน้ำหนักตัว) แต่พบว่าความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อของปลานิลแดงจะต่ำกว่าในเนื้อเยื่อของปลาคูกลุผสม และปลาหมอไทย ความแตกต่างนี้อาจอธิบายได้ว่าปลาคูกลุผสม และปลาหมอไทยมีอัตราการดูดซึมยา OTC ดีกว่าปลานิลแดง สอดคล้องกับการทดลองให้ยา OTC ในปลา Japanese sea perch และปลา Black sea bream พบว่าความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อของปลา Black sea bream จะสูงกว่าในเนื้อเยื่อของปลา Japanese sea perch (Wang *et al.*, 2004 [18])

พื้นที่ใต้กราฟ (AUC) ระหว่างความเข้มข้นของยา OTC ในน้ำเลือดกับเวลาของปลาคูกลุผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทยมีค่าใกล้เคียง โดยทั่วไป AUC จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยาที่ให้ เวลาการให้ยา และช่องทางการให้ยา และยังสัมพันธ์กับอุณหภูมิอีกด้วย Ding *et al.* [5] รายงานว่า AUC ของปลา crucian carp ที่ได้รับยา difloxacin โดยการผสมอาหารที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะมีค่า AUC สูงกว่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ถึง 4 เท่า อย่างไรก็ตาม AUC ของปลาทั้งสามชนิดในการทดลองครั้งนี้ซึ่งปลาได้รับยาโดยการฉีดเข้าช่องท้อง มีค่าค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับ OTC ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (50 mg/kg ของน้ำหนักตัว) โดยผ่านการฉีดเข้าเส้นเลือด (IV) ได้แก่ ปลา rainbow trout มีค่า AUC เท่ากับ 7781.19 mg.hr/L หรือปลา Chinook salmon มีค่า AUC เท่ากับ 7126.79 mg.hr/L (Abedini *et al.*, 1998 [1]) ทั้งนี้มีความเป็นไปได้ว่าช่องทางการให้ยานอกเส้นเลือด เช่น การผสมอาหาร การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ หรือการฉีดเข้าช่องท้อง อาจเป็นวิธีการที่ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการลำเลียงยา (drug delivery) เมื่อเปรียบเทียบกับ การฉีดเข้าเส้นเลือด (Uno *et al.*, 1992 [16]) ทั้งนี้การให้ยาในสัตว์น้ำนอกเหนือจากประสิทธิภาพสูงสุดของยา ยังจำเป็นจะต้องพิจารณาองค์ประกอบอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น ขนาดและปริมาณของปลา การเกิดโรค และความเครียดของปลาอันอาจเกิดจากวิธีการให้ยา พบว่าค่าการ ดูดซึมหรือชีวประโยชน์ของยา (Bioavailability) OTC ของปลาที่เป็นโรคจะต่ำเมื่อเทียบกับปลาปกติ (Uno, 1996 [15]) และการผสมยา OTC ในอาหารจะลดอัตราการกินอาหารของปลา (Hustvedt *et al.*, 1991 [9])

เภสัชจลนศาสตร์มีความสำคัญในแง่ของการนำมาประยุกต์ใช้เพื่อกำหนดแนวทางในการใช้ยาในสัตว์น้ำอย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ ซึ่งจะต้องสัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคต่างๆ ด้วย หลังจากสัตว์น้ำได้รับยาผ่านช่องทางต่างๆ ระดับความเข้มข้นของยาในเลือดจะต้องสูงกว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาในการยับยั้งเชื้อ (MIC) (Uno *et al.*, 2006 [17]) ในการทดลองครั้งนี้ปลาคูกลุผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย ได้รับยา OTC ในอัตรา 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว ผ่านการฉีดเข้าช่องท้อง และพบว่าปลาคูกลุผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย มี OTC ในน้ำเลือดที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดหลังจากได้รับยา 1 ชั่วโมง เท่ากับ 16.66, 39.86 และ 12.25 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าความเข้มข้นของยาที่ปลาได้รับมีประสิทธิภาพเพียงพอในการควบคุมเชื้อก่อโรค ทั้งนี้ค่า MIC ของ OTC ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกลุ่ม *Aeromonas* ซึ่งพบในปลาน้ำจืดทั่วไปจะอยู่ในช่วง 0.7 – 1.25 $\mu\text{g/ml}$ (Ozaki, 1980) ค่า MIC ของ OTC ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในกลุ่ม *Vibrio* อยู่ระหว่าง 0.1-12.5 $\mu\text{g/ml}$ (Takahashi *et al.*, 1985 [12])

สรุป

ปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC ในปลาแต่ละชนิดที่ศึกษามีค่าแตกต่างกันไป แต่อัตราการกระจายตัวของ OTC ไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ ของปลาทดลองทั้งสามชนิดอยู่ในระดับใกล้เคียงกัน โดยมีตับเป็นเนื้อเยื่อส่วนแรก

จากงานประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 21 ประจำปี 2554

ที่ทำหน้าที่กำจัด OTC จากค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($T_{1/2}$) ประกอบกับระดับความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อที่ต่ำสุดของปลานิลแดง บ่งชี้ว่าปลานิลแดงมีอัตราการกำจัดยาสูงสุด ทั้งนี้ข้อมูลปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์จากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการกำหนดแนวปฏิบัติการใช้ยา OTC ที่มีประสิทธิภาพเพื่อการควบคุมโรค และลดปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำ

เอกสารอ้างอิง

- [1] Abedini, S., Namdari, R., and Law, F. C. P. (1998). Comparative pharmacokinetics and bioavailability of oxytetracycline in rainbow trout and chinook salmon. **Aquaculture**, 162: 23-32.
- [2] Bjorklund, H. V. and Bylund, G. (1990). Temperature-related absorption and excretion of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). **Aquaculture**, 84: 363-372.
- [3] Bjorklund, H. V. and Bylund, G. (1991). Pharmacokinetics and bioavailability of oxolinic acid and oxytetracycline in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Acta Vet. Scand.** (Suppl. 87), 298-299.
- [4] Curtis, L. R., Kemp, C. J., Svec, A. V. (1986). Biliary excretion of ^{14}C -taurocholate by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) is stimulated at warmer acclimation temperature. **Comp. Biochem. Physiol. C** 84, 87-90.
- [5] Ding, F., Cao, J., Ma, L., Pan, Q., Fang, Z. and Lu, X. (2006). Pharmacokinetics and tissue residues of difloxacin in crucian carp (*Carassius auratus*) after oral administration. **Aquaculture**, 256: 121-128.
- [6] Haug, T. and Hals, P. A. (2000). Pharmacokinetics of oxytetracycline in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) in freshwater at low temperature. **Aquaculture**, 186: 175-191.
- [7] Hickman, C. P. and Trump, B. F. (1969). Kidney. In: Hoar, W. S. Rowland, D. J. (Eds.), **Kidney**. Academic Press, New York. NY. Pp. 91-239.
- [8] Hunn, J. B. (1982). Urine flow rate in freshwater salmonids, a review. **Prog. Fish Cult.** 44, 119-124.
- [9] Hustvedt, S. O., Storebakken, T., Salte, R. 1991. Does oral administration of oxolinic acid or oxytetracycline affect feed intake or rainbow trout?. **Aquaculture**, 92: 109-113.
- [10] Liu, X. H., Li, J., Wang, Q. (2003). Studies on residues and depletion of norfloxacin in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) in vitro. **Marine Fisheries Research** 24, 13-18.
- [11] Nouws, J. F. M., Vree, T. B., Termond, E. J. L., Van Lith, P., Binkhorst, G. J., Breukink, H. J. (1985). Pharmacokinetics and renal clearance of oxytetracycline after intravenous and muscular administration to dairy cows. **Vet. Q.** 7, 296 - 305.
- [12] Takahashi, Y., Itami, T., Nakagawa, A., Nishimura, H., Abe, T. (1985). Therapeutic effect of oxytetracycline trial tablets against vibriosis in cultured kuruma prawns *Penaeus japonicus* Bate. Bull. **Jpn. Soc. Sci. Fish.** 51, 1639-1643.
- [13] Ueno, R., Uno, K., Kubota, S. S. and Horiguchi, Y. (1989). Determination of oxytetracycline in fish tissues by

high performance liquid chromatography. **Nippon Suisan Gakkaishi** 55: 1273-1276.

- [14] Ueno, R., Kinoshita, A. and Wakabayashi, J. (2004). Comparative pharmacokinetics of oxytetracycline in eel and its fate in a closed aquatic environment. **Aquaculture**, 235: 53-63.
- [15] Uno, K. 1996. Pharmacokinetic study of oxytetracycline in healthy and vibriosis-infected ayu (*Plecoglossus altivelis*). **Aquaculture**, 143: 33-42.
- [16] Uno, K., Aoki, T. and Ueno, R. (1992). Pharmacokinetic study of oxytetracycline in cultured rainbow trout, amago salmon and yellowtail. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 58: 1151-1156.
- [17] Uno, K., Aoki, T., Kleechaya, W, Tanasomwang, V. and Ruangpan, L. (2006). Pharmacokinetics of oxytetracycline in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, and the effect of cooking on the residues. **Aquaculture** 254: 24-31.
- [18] Wang, Q., Liu, Q., Li, J. (2004). Tissue distribution and elimination of oxytetracycline in Japanese sea perch (*Lateolabrus japonicus*) and black sea bream (*Sparus macrocephalus*) following oral administration. **Aquaculture**, 227: 34-40.
- [19] Wang, Q., Liu, Q., Li, J. and Wang, Q. (2008). Tissue distribution and elimination of norfloxacin in Japanese sea perch (*Lateolabrus japonicus*) and black sea bream (*Sparus macrocephalus*) following multi-oral administration. **Aquaculture**, 278: 1-4.