เภสัชจลนศาสตร์ของยาออกซีเตตราไซคลินในสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจบางชนิด

Pharmacokinetics of Oxytetracycline in some Economic Freshwater Fishes

นพดล ศุกระกาญจน์

สุภฎา คีรีรัฐนิคม

กฤษณะ เรืองคล้าย

พันธสิทธิ์ โชคสวัสดิกร

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากงบประมาณเงินแผ่นดิน ประจำปี พ.ศ. 2551

มหาวิทยาลัยทักษิณ

คำรับรองคุณภาพ

ข้าพเจ้า **รองศาสตราจารย์ ดร.นนทวิทย์ อารีย์ชน** ได้ประเมินคุณภาพงานวิจัย

เรื่อง **เภสัชจลนศาสตร์ของยาออกซีเตตราไซคลินในสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจบางชนิด**

โดย **นพดล ศุกระกาญจน์ และคณะ**

มีความเห็นว่า ผลงานวิจัยฉบับนี้มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์

- ☐ ดีมาก
- ☑ ดี
- ☐ ปานกลาง
- ☐ ต่ำ

ซึ่งสมควรเผยแพร่ในแวดวงวิชาการได้

ลงชื่อ.....ผู้ประเมิน

(รองศาสตราจารย์ ดร.นนทวิทย์ อารีย์ชน)

วันที่ 29 เดือน เมษายน พ.ศ. 2554

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ได้เล็งเห็นคุณค่าของงานวิจัยด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และให้การสนับสนุนงบประมาณในการดำเนินโครงการวิจัยนี้ และการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้มิอาจสำเร็จได้หากไม่ได้รับความช่วยเหลือและสนับสนุนจากผู้เกี่ยวข้อง ได้แก่ รองศาสตราจารย์ ดร.กิจการ ศุภมาตย์ (ผู้ล่วงลับ) คุณบุญกอบ วิริยพงศ์สุธี (นักวิชาการประจำศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์) คุณสะเดียะห์ มรรคาเขต ดร.ชุติมา ขมวิลัย (กรมประมง) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.คัชรินทร์ ศิริวงศ์ (คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น) อาจารย์อลงกรณ์ แซ่ตั้ง (คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ) เจ้าหน้าที่ประจำศูนย์วิจัยสุขภาพสัตว์น้ำ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และนิสิตสาขาวิทยาศาสตร์การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยทักษิณ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านมา ณ โอกาสนี้ที่ได้มีส่วนสนับสนุน และช่วยเหลือในการเลี้ยงปลาทดลอง การเก็บตัวอย่าง การวิเคราะห์ตัวอย่าง และการวิเคราะห์ข้อมูล ตลอดจนให้คำแนะนำ และเป็นแรงบันดาลใจ ส่งผลให้งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จ และบรรลุวัตถุประสงค์ทุกประการ

คณะผู้วิจัย

ธันวาคม 2553

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีเป้าหมายเพื่อศึกษาปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic parameters) ของยา Oxytetracycline และการกระจายตัวในเนื้อเยื่อและการกำจัดยาของเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อ หลังจากการให้ยาแบบครั้งเดียว (single-dose administration) โดยการฉีดเข้าช่องท้อง (Intraperitoneal injection, IP) ที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว ในสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจ 3 ชนิด ประกอบด้วย ปลาดุกลูกผสม (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus*) ปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*) และปลาหมอไทย (*Anabas testudineus*) ภายใต้สภาพการเลี้ยงที่อุณหภูมิปกติระหว่าง 27 – 30 องศาเซลเซียส สุ่มเก็บเลือดปลาจำนวน 5 ตัว ที่เวลา 1, 4, 10, 24, 72, 120 และ 168 ชั่วโมง หลังจากปลาได้รับยา และสุ่มเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อจากปลาจำนวน 5 ตัว ที่เวลา 24, 72, 120, 168, 216 และ 360 ชั่วโมง หลังจากปลาได้รับยา แล้วตรวจวัดความเข้มข้นของ Oxytetracycline ที่ปรากฏในเนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

ปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC ในปลาน้ำจืดแต่ละชนิดที่ศึกษามีค่าแตกต่างกันไป โดยพบว่าระดับความเข้มข้นสูงสุดของยาในน้ำเลือด (C_{max}) ของปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทยเท่ากับ 16.66, 39.86 และ 12.25 mg/L ตามลำดับ ที่เวลา 1 ชั่วโมงหลังจากปลาได้รับยา และปลานิลแดงมีค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา (Elimination half-life, $T_{1/2}$) ต่ำสุด อยู่ที่ 31.16 ชั่วโมง ตามด้วยปลาดุกลูกผสม (38.34 ชั่วโมง) และปลาหมอไทย (44.35 ชั่วโมง) ตามลำดับ และพื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นกับเวลา (Area under the curve, AUC) ของปลาหมอไทย ปลานิลแดง และปลาดุกลูกผสม เท่ากับ 1042.75, 953.10 และ 854.41 มิลลิกรัมชั่วโมงต่อลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า OTC สามารถกระจายตัวไปยังเนื้อเยื่อของปลานิลแดงได้อย่างรวดเร็ว และปลานิลแดงยังมีอัตราการกำจัดยาที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกลูกผสม และปลาหมอไทย นอกจากนี้พบว่าปลานิลแดงสามารถกำจัด OTC ออกนอกร่างกายจนเหลือยาตกค้างในกล้ามเนื้อในระดับที่ปลอดภัยต่อการบริโภค (ต่ำกว่า 2 μg/g) ได้ภายในเวลา 9 วัน (216 ชั่วโมง) ในขณะที่ปลาดุกลูกผสม และปลาหมอไทย จะต้องใช้เวลาอย่างน้อย 15 วัน (360 ชั่วโมง) หลังจากได้รับยา

ข้อมูลปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC จากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการกำหนดแนวปฏิบัติการใช้ยาที่มีประสิทธิภาพเพื่อการควบคุมโรคในสัตว์น้ำ และลดปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำที่ใช้เพื่อการบริโภค

Abstract

The study was conducted to evaluate the pharmacokinetics and tissue distribution of oxytetracycline (OTC) with a single dose of 50 mg/kg body weight after intraperitoneal (IP) injection in 3 economic freshwater fishes: hybrid catfish (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus*), red tilapia (*Oreochromis niloticus*) and climbing perch (*Anabas testudineus*) at room temperature. Blood samples were obtained from caudal vein at 1, 4, 10, 24, 72, 120 and 168h after administration. Liver, kidney and muscular tissue from 5 fish were also sampled at 24, 72, 120, 168, 216 and 360h following administration. OTC concentration in plasma and tissues was determined using high-performance liquid chromatography (HPLC) and analyzed using a non-compartmental pharmacokinetic model.

Pharmacokinetic parameters of OTC were found to be different among fish species. The results showed maximum serum concentration (C_{max}) of OTC in hybrid catfish, red tilapia and climbing perch was 16.66, 39.87 and 12.25 mg/L, respectively, after 1h 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 hr, 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. These indicated that red tilapia performed higher rate of OTC distribution and elimination, compared to hybrid catfish and climbing perch. In addition, it was found that the period of OTC residue depletion below the USFDA tolerance level (below 2 µg/g) in muscular tissue of red tilapia was within 9 days, whereas the withdrawal period for OTC in hybrid catfish and climbing perch took at least 15 days.

Pharmacokinetic data of OTC of this study will provide future practical application of antibiotic drugs in aquaculture, serving the clinical dosage regimens and decreasing drug residues.

สารบัญ

กิตติกรรมประกาศ

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)

Abstract

บทที่ 1	บทนำ	1
บทที่ 2	การตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3	ระเบียบวิธีวิจัย	12
บทที่ 4	ผลการศึกษา	16
บทที่ 5	อภิปรายผล สรุป และข้อเสนอแนะ	25
บรรณานุกรม		29

บทที่ 1

บทนำ

การป้องกันและควบคุมโรคในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เกษตรกรส่วนใหญ่ในอดีตมักจะให้ความสำคัญกับการใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีต่าง ๆ (chemotherapy) ยาปฏิชีวนะหลายชนิดที่ใช้ในวงการแพทย์ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในสัตว์น้ำที่เลี้ยงเพื่อการบริโภค ซึ่งเป็นที่ทราบดีว่าวิธีการดังกล่าวมักก่อให้เกิดผลกระทบติดตามมา ทั้งต่อตัวสัตว์น้ำ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะปัญหาการตกค้างของยาและสารเคมีในตัวสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อม และปัญหาการดื้อยาของเชื้อก่อโรค ทั้งนี้เนื่องจากเกษตรกรยังขาดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการใช้ยาและสารเคมี และขาดข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะในสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ ตลอดจนวิธีการใช้ยาที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ยาปฏิชีวนะที่นิยมใช้ในการป้องกันและควบคุมโรคในสัตว์น้ำมีหลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นยาในกลุ่ม Tetracycline ได้แก่ Tetracycline, Chlortetracycline, Oxytetracycline และ Doxycycline หรือยาในกลุ่ม Quinolones ได้แก่ Nalidixic acid และ Oxolinic acid นอกจากนี้ยังมียาผสมระหว่าง Sufadimethoxine และ Ormethoprim ภายใต้ชื่อทางการค้า Romet-30 เป็นต้น แต่ในบรรดายาปฏิชีวนะทั้งหมด พบว่า Oxytetracycline เป็นยาที่มีปริมาณการใช้มากที่สุด และเป็นยาปฏิชีวนะชนิดแรกที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (US Food and Drug Administration; USFDA) อนุญาตให้ใช้ในการควบคุมโรคติดเชื้อแบคทีเรียในสัตว์น้ำที่เป็นอาหารได้ ปัจจุบันนอกเหนือจาก Romet-30 และ Oxytetracycline แล้ว USFDA ได้กำหนดชนิดของยาปฏิชีวนะที่อนุญาตให้ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเพิ่มเติมอีก 2 รายการ ได้แก่ Florfenicol และ Sulfamerazine (USFDA, 2001) สำหรับในประเทศไทยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ได้กำหนดชนิดของยาปฏิชีวนะที่อนุญาตให้ใช้ในสัตว์น้ำแล้วจำนวน 13 รายการ ประกอบด้วย Enrofloxacin, Sarafloxacin, Oxilinic acid, Oxytetracycline, Tetracycline, Sulfadimethoxin-Ormethoprim, Sulfadimethoxin-Trimethoprim, Sulfamonomethoxin, Sulfadiazine, Trimethoprim, Ormethoprim และ Toltrazuril (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2554)

แม้ว่าจะมีข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของยา และการตกค้างของยา Oxytetracycline ในสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ มากมาย แต่ข้อมูลส่วนใหญ่เป็นข้อมูลของสัตว์น้ำในเขตหนาว เช่น ปลา rainbow trout ปลา salmon หรือกุ้งญี่ปุ่น (kuruma shrimp) เป็นต้น ข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับเภสัชจลนศาสตร์ของยา Oxytetracycline ในสัตว์น้ำของประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด ทั้ง ๆ ที่มีการใช้ยาปฏิชีวนะกันอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในระบบการเพาะเลี้ยงแบบหนาแน่น การศึกษาครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) ของ Oxytetracycline ในสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจของไทย ซึ่งจะเป็นการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการดูดซึมยาจากตำแหน่งที่ให้ยา การกระจายของยาไปยังส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ตำแหน่งที่ยาไปออกฤทธิ์ การกำจัดยาโดยการเปลี่ยนแปลงหรือโดยการสันดาป และการขับถ่ายยาออกจากร่างกาย รวมถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับยาในพลาสมากับ

เวลาในเชิงปริมาณ เพื่อนำไปสู่การกำหนดความเข้มข้นที่เหมาะสมของยาที่ใช้ในการรักษาโรคในสัตว์น้ำ และปลอดภัยต่อผู้บริโภค และเพื่อลดความเสี่ยงในการต้านทานต่อยาของเชื้อก่อโรคต่าง ๆ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษากระบวนการดูดซึม การแพร่กระจาย และการกำจัดยา (pharmacokinetics) ของ Oxytetracycline ในน้ำเลือด และเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจ 3 ชนิด ประกอบด้วย ปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย เพื่อเป็นแนวทางในการกำหนดแนวทางการใช้ยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคและปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ข้อมูลเภสัชจลนศาสตร์ของยา Oxytetracycline ในสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญอันจะนำไปสู่การวิจัยเพื่อการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์แบบ multiple dose administration ตลอดจนการกำหนดแนวปฏิบัติในการใช้ยาที่มีประสิทธิภาพเพื่อการควบคุมโรคในสัตว์น้ำ และลดปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำที่ใช้เพื่อการบริโภค

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาเปรียบเทียบปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic parameters) ของยา Oxytetracycline การกระจายตัวในเนื้อเยื่อและการกำจัดยาของเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อ หลังจากการให้ยาแบบครั้งเดียว (single-dose administration) ผ่านการฉีดเข้าช่องท้อง (Intraperitoneal injection, IP) ในสัตว์น้ำจืดเศรษฐกิจ 3 ชนิด ประกอบด้วย ปลาดุกลูกผสม (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus*) ปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*) และปลาหมอไทย (*Anabas testudineus*) ภายใต้สภาพการเลี้ยงที่อุณหภูมิปกติ (27 – 30 องศาเซลเซียส) โดยการตรวจวัดความเข้มข้นของ Oxytetracycline ที่ปรากฏในเนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

คำสำคัญ (Key words)

ภาษาไทย : เภสัชจลนศาสตร์, ยาปฏิชีวนะ, ออกซีเตตร้าไซคลิน, สัตว์น้ำจืด

ภาษาอังกฤษ : Pharmacokinetics, Antibiotics, Oxytetracycline, Freshwater fishes

บทที่ 2

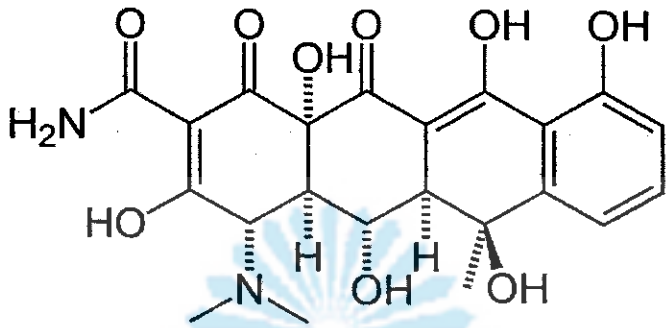
การตรวจเอกสาร

1. ออกซีเตตราไซคลิน (Oxytetracycline)

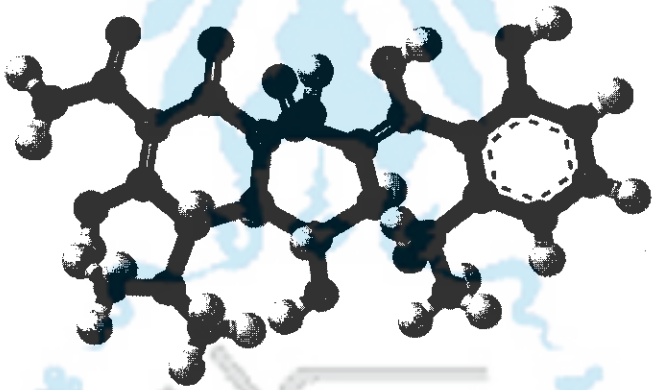
Oxytetracycline (OTC) เป็นสารประกอบธรรมชาติในกลุ่ม tetracycline ซึ่งผลิตโดยเชื้อรา *Streptomyces rimosus* มีสูตรทางเคมี $C_{22}H_{24}N_2O_9$ และมวลโมเลกุล (Molecular weight) 460.434 g/mol มีฤทธิ์เป็นสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั้งแกรมลบและแกรมบวก (broad spectrum) โดยการขัดขวางกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนบริเวณ 30S ribosome โครงสร้างทางเคมีของ OTC เป็นสารประกอบที่มี 4 วงแหวน (4 ring amphoteric compound) และ side chain (ภาพที่ 1 และ 2) และเป็นสารประกอบประเภท lipophilic ซึ่งแพร่กระจายได้ดีในร่างกาย ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมพบว่า OTC สามารถถูกดูดซึมได้ดีจากทางเดินอาหารของสัตว์ที่อดอาหาร โดยมีค่าชีวประโยชน์ของยา (Bioavailability) อยู่ในช่วงระหว่าง 60 - 80% (Plumb, 1995) อย่างไรก็ตามอัตราการดูดซึมอาจจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสัตว์ และสูตรของยา ประมาณ 60% ของ OTC ที่ร่างกายได้รับมักจะถูกกำจัดออก (excretion) โดยการกรองบริเวณ glomerulus ของไต (Riviere and Spoo, 2001; Treves-Brown, 2000; Plumb, 1995) เนื่องจากเป็นยาปฏิชีวนะที่มีความเสี่ยงของการเกิดพิษ (toxicosis) ค่อนข้างต่ำและสามารถถูกดูดซึมเข้าสู่ของเหลวในร่างกาย และเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดี OTC จึงเป็นที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางเพื่อการป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยเฉพาะการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อในกลุ่ม *Vibrio*, *Aeromonas* และ *Pseudomonas* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคที่สำคัญในปลาหลายชนิด (Bjorklund and Bylund, 1991; Doi *et al.*, 1998) อย่างไรก็ตาม พบว่าการใช้ OTC ในปลาทะเลมักมีข้อจำกัด เนื่องจาก OTC จะทำปฏิกิริยากับ divalent หรือ trivalent cations เช่น แมกนีเซียม แคลเซียม และเหล็ก เกิดเป็น chelate ซึ่งเป็นผลให้ประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ และการดูดซึมยาลดลง (Tongaree *et al.*, 1999; Machado *et al.*, 1995)

OTC เป็นยาปฏิชีวนะชนิดแรกที่ได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (USFDA) อนุญาตให้ใช้กับปลาที่เลี้ยงเพื่อการบริโภคได้ แม้ว่าจนถึงขณะนี้จะยังไม่มีการรับรองจาก USFDA ให้ใช้ OTC ในการเพาะเลี้ยงกุ้ง แต่ก็มีการยกเว้นโดยอนุญาตให้ใช้ได้ชั่วคราวขณะที่อยู่ระหว่างการตรวจสอบภายใต้ Investigational New Animal Drug (INAD) OTC มีประสิทธิภาพสูงในการใช้ควบคุมโรค Vibriosis septicemia (Lightner, 1983) และโรค Necrotizing hepatopancreatitis (Lightner and Redman, 1994) ในกุ้ง การใช้ยา OTC ในฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำส่วนใหญ่จะเป็นการให้ผ่านการกิน (oral administration) โดยผสมกับอาหาร ปริมาณยา (dose) ที่ใช้จะแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ เช่น ในประเทศนอรเวย์ จะใช้ปริมาณ OTC 100 mg/kg ปลา/วัน เป็นเวลา 6 -10 วัน (Haug and Hals, 2000) หรือในประเทศญี่ปุ่นจะใช้ปริมาณ OTC 50 mg/kg ปลา/วัน

เป็นเวลา 6 -7 วัน สำหรับการควบคุมโรค Vibriosis, Furunculosis และ Red pest disease ในปลาไหลน้ำจืด ซึ่งมีสาเหตุจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Aeromonas* (Ueno *et al.*, 2004) เป็นต้น



ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของ Oxytetracycline (2-D chemical structure)
(ที่มา: http://en.wikipedia.org)



ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างทางเคมีสามมิติ (3-D chemical structure) ของ Oxytetracycline
(ที่มา: http://en.wikipedia.org)

2. เภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetics)

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ในทางสัตวแพทย์เกิดขึ้นเนื่องด้วยการขาดองค์ความรู้ที่เกี่ยวข้องกับการใช้ยาเพื่อป้องกันและลดการสูญเสียผลผลิตสัตว์ที่อาจเกิดจากโรคต่าง ๆ ทำให้นักวิทยาศาสตร์ต้องพยายามศึกษาทดลองเพื่อหาชนิดและปริมาณของยาที่จำเพาะและมีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมเชื้อก่อโรคในสัตว์แต่ละชนิด เภสัชจลนศาสตร์จึงหมายถึงการใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (mathematical model) ในการกำหนดความเข้มข้นของยาที่เหมาะสมในสัตว์ (Rivere, 1997) เภสัชจลนศาสตร์ถูกนำมาใช้เพื่อให้ได้มาซึ่งข้อมูลต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการใช้ยา เช่น ปริมาณยาที่ใช้ วิธีการให้ยาที่เหมาะสม และระยะเวลาในการกำจัดยาที่ปลอดภัย

สุพงษ์ (2543) ได้อธิบายเภสัชจลนศาสตร์เป็นการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับยาในพลาสมากับเวลาในเชิงปริมาณ ซึ่งอาศัยสมการทางคณิตศาสตร์มาอธิบายถึงกระบวนการดูดซึม กระบวนการกระจายยาไปตามเนื้อเยื่อต่าง ๆ และกระบวนการกำจัดยาออกนอกร่างกาย ซึ่งกระบวนการกำจัดนี้ประกอบด้วยกระบวนการ เมแทบอลิซึม และกระบวนการขับถ่ายทางไต กระบวนการทั้ง 4 ซึ่งประกอบด้วย กระบวนการดูดซึม (Absorption) กระบวนการกระจายยา (Distribution) กระบวนการเมแทบอลิซึม (Metabolism) และกระบวนการขับถ่าย (Excretion) เรียกโดยย่อว่าระบบ ADME ดังนั้นเภสัชจลนศาสตร์จึงเป็นกระบวนการที่ใช้อธิบายระบบ ADME การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาทำให้สามารถอธิบายได้ว่าหลังจากที่ยาเข้าสู่ร่างกายแล้วมีอะไรเกิดขึ้นบ้างกับยาในร่างกาย ทั้งนี้โดยการวัดระดับของยาในเลือด ตลอดจนในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ แล้วนำมาคำนวณทางคณิตศาสตร์ ทำให้สามารถคาดคะเนอัตราความเร็วของการเปลี่ยนแปลงของยาหลังจากที่ยาเข้าสู่ร่างกาย ตั้งแต่กระบวนการดูดซึม การกระจายตัว และการกำจัดยาออกจากร่างกาย รวมทั้งวิธีวิเคราะห์หาอัตราและปริมาณของยาที่ถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด หรือการวิเคราะห์หาค่าชีวประโยชน์ของยา (Bioavailability) ซึ่งสามารถใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ที่เชื่อถือได้ว่ายานั้น ๆ มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคได้ดีมากน้อยเพียงใด ทั้งนี้เนื่องจากว่ายาจะออกฤทธิ์ในการรักษาได้ดีก็ต่อเมื่อยาที่ให้มีการดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดจนถึงระดับหนึ่งเท่านั้น นอกจากนี้ข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาในสัตว์น้ำที่ได้จะช่วยให้สามารถกำหนดขนาดของยาและวิธีใช้ยาให้มีความถูกต้องและเหมาะสมยิ่งขึ้น (มาลินี, 2535)

- ปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์

1. การกระจายของยา (drug distribution) เป็นกระบวนการที่ยาซึ่งอยู่ในกระแสเลือดกระจายสู่ส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ปกติเมื่อยาเข้าสู่กระแสเลือดจะต้องใช้เวลาในการกระจายตัวเข้าสู่เนื้อเยื่อ อวัยวะ หรือส่วนที่เป็นของเหลวในร่างกาย ยาจะกระจายตัวได้ช้าหรือเร็วขึ้นกับคุณลักษณะของตัวยา และขึ้นกับว่าเนื้อเยื่อหรืออวัยวะนั้นมีเลือดไปหล่อเลี้ยงมากหรือน้อยเพียงใด อวัยวะที่มีเลือดไปหล่อเลี้ยงมาก เช่น ตับ ไต จะได้รับยาเข้าไปเร็วมาก และระดับยาที่อวัยวะเหล่านี้จะสมดุลกับในเลือดในระยะเวลาอันสั้น ในทางตรงกันข้าม เนื้อเยื่อที่มีเลือดไปเลี้ยงน้อย เช่น กล้ามเนื้อ ไขมัน ยากระจายไปที่เนื้อเยื่อเหล่านี้ได้ช้า พบว่ายากลุ่ม quinolones จะแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้ดีเพราะยากลุ่มนี้ละลายได้ดีในไขมันและไม่ค่อยแตกตัวเป็นไอออน (กมลชัย, 2544)

2. การกำจัดยา (elimination) กระบวนการกำจัดยาออกนอกร่างกายโดยทั่วไปมี 2 ทาง คือ กระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolic excretion) และกระบวนการขับถ่ายทางไต (renal excretion) ยาส่วนใหญ่จะถูกกำจัดออกโดยกระบวนการเมแทบอลิซึม ขณะที่มียาบางชนิดอาจจะถูกกำจัดทางไตเป็นหลัก หรือยาบางชนิดอาจจะถูกกำจัดออกทั้งสองทางในสัดส่วนที่เท่า ๆ กัน และในบางกรณีอาจจะมีการกำจัดยาโดยกระบวนการอื่น ๆ ร่วมด้วย

3. การชำระยา (clearance) คือปริมาตรของพลาสมาที่ถูกทำให้ปราศจากยาต่อหนึ่งหน่วยเวลา ค่าการชำระยามีความสำคัญมากค่าหนึ่งในการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา เพราะเป็นตัวบ่งชี้กระบวนการกำจัดยาออกจากร่างกาย โดยไม่ต้องคำนึงถึงว่ากลไกการกำจัดยาเป็นอย่างไร และมี

ค่าคงที่สำหรับยาทุกตัวที่มีการกำจัดเป็นแบบปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง อาจจะกล่าวได้ว่า การชำระยาคือส่วนของเลือดที่ไหลผ่านอวัยวะใดอวัยวะหนึ่งที่ถูกสกัดยาออกไปนั่นเอง การชำระยามีหน่วยเป็นปริมาตรต่อหน่วยเวลา (สุพงษ์, 2543)

- การดูดซึม หรือชีวประโยชน์ของยา (Bioavailability)

การดูดซึมยาที่ให้โดยการกินจะขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง คือ เมื่อยาเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารจะผ่านเข้าไปในกระเพาะอาหาร หรือลำไส้ ก่อนที่จะมีการดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ยาต้องมีการแตกตัว (disintegrate) และตัวยาต้องละลายในของเหลวในกระเพาะอาหาร หรือลำไส้ก่อน ซึ่งโดยทั่วไปแล้วการแตกตัวของยาจะเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นได้เร็วที่สุด หรือแม้แต่การซึมผ่านของยาที่ผนังกระเพาะอาหารหรือลำไส้ก็จะเกิดได้เร็วกว่าการละลายของยา ดังนั้นในภาพรวมอัตราของการละลายของยาจึงเป็นตัวกำหนดว่ายาจะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดได้ช้าหรือเร็วเพียงใด อัตราการละลายของยาจึงเป็นขั้นตอนกำหนดอัตราของกระบวนการดูดซึม ซึ่งกระบวนการดูดซึมจะเริ่มตั้งแต่ให้ยาจนกระทั่งยาเข้าสู่กระแสเลือด (สุพงษ์, 2543)

3. การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ Oxytetracycline ในสัตว์น้ำ

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาปฏิชีวนะในปลาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาโดยวิธีการให้ยาครั้งเดียว (single dose drug exposure) ผ่านช่องทางต่าง ๆ กัน ได้แก่ การฉีดเข้าเส้นเลือด (intravascular, IV) การฉีดเข้าช่องท้อง (intraperitoneal, IP) การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular, IM) และการผสมอาหาร (per os, PO) (Horsberg, 1994; Stoskopf, 1988) หลังจากนั้นจะมีการเก็บตัวอย่างเลือด และเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปลาที่ได้รับยาไปวิเคราะห์เพื่อหาความเข้มข้นของยาที่เวลาต่าง ๆ กัน หลังจากปลาได้รับยา ข้อมูลข้างต้นจะนำไปสู่การกำหนดค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic parameter) ต่าง ๆ ได้แก่

- ค่าคงที่ของอัตราการดูดซึม (absorption rate constant, k_a)
- ความเข้มข้นสูงสุดของยาในน้ำเลือด (maximum serum concentration, C_{max})
- เวลาที่ยามีความเข้มข้นสูงสุดในน้ำเลือด (time to maximum serum concentration, T_{max})
- พื้นที่ใต้กราฟ (area under the curve, AUC)
- ชีวประโยชน์ของยาหรืออัตราการดูดซึม (total bioavailability, F)
- ปริมาตรของการกระจายตัวของยา (apparent volume of distribution, Vd)
- อัตราการกำจัดยารวม (total body clearance, Cl)
- ค่าคงที่ของอัตราการกำจัดยา (elimination rate constant, k_{el})
- ค่าครึ่งชีวิตของการดูดซึม (half-life for absorption; $T_{1/2}$)
- การกระจายตัวของยา (distribution) และการกำจัดยา (Horsberg, 1994)

รูปแบบ (model) ของการวิเคราะห์ข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์แบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ ได้แก่ Compartmental model และ Non-compartmental model ซึ่งแต่ละรูปแบบจะมีรายละเอียดและข้อจำกัดแตกต่างกันออกไป การประยุกต์ใช้รูปแบบใดในการวิเคราะห์ข้อมูลทางเภสัชจลนศาสตร์ขึ้นอยู่กับวิธีการทดลองและการกำหนดค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ ตัวอย่างเช่น Compartmental model จะสมมติให้ร่างกายแบ่งออกเป็นส่วน ๆ และอยู่ในสมดุล โดยที่แต่ละส่วนของร่างกายหรือเนื้อเยื่อจะแทนด้วยตัวแปรทางคณิตศาสตร์ โดยไม่จำเป็นต้องคำนึงถึงกายวิภาคศาสตร์หรือสรีรวิทยา โดย Compartmental model จะมีสมมติฐานว่าการกำจัดยาจะเกิดขึ้นบริเวณส่วนกลาง (central compartment) และอัตราการกระจายตัวของยา และค่าคงที่ของอัตราการกำจัดยาจะเป็นลักษณะ first-order kinetics (Brown, 2001) ส่วน Non-compartmental model จะเป็นรูปแบบที่นิยมใช้มากกว่า เนื่องจากมีความยืดหยุ่นในการคำนวณค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ ได้แก่ Vd, Cl และ $T_{1/2}$ เมื่อเทียบกับ Compartmental model ในขณะที่ยังคงคำนึงถึงปัจจัยทางสรีรวิทยาด้วย นอกจากนี้ไม่จำเป็นต้องมีสมมติฐานในการกำหนดอัตราหรือวิธีการในการกระจายตัวและการกำจัดยาออกจากร่างกาย อย่างไรก็ตาม Non-compartmental model ก็ยังมีข้อจำกัดในการประเมินตำแหน่งของยาในร่างกาย (drug localization) และระยะเวลาที่ยาอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย (Brown, 2001; Martinez, 1998; Riviere, 1997) การประมาณค่า $T_{1/2}$ ของ Non-compartmental model จะเหมือนกับการคำนวณค่าครึ่งชีวิตของยาที่อยู่ในทั้งร่างกายจริง ๆ แทนที่จะเป็นค่าครึ่งชีวิตที่คำนวณจาก terminal slope และสัมพันธ์กับค่าเวลาเฉลี่ยที่โมเลกุลของยากระจายในร่างกาย (mean residence time, MRT) ดังสมการ

$$T_{1/2} = 0.693\ (MRT) = (0.693)^{*}\ Vd_{ss}/Cl_b$$

โดยที่ Vd_{ss} คือ ปริมาตรการกระจายตัวของยาที่ steady stage

Cl_b คือ อัตราการกำจัดยา

และ Mean residence time คำนวณได้จากสมการดังนี้

$$MRT = AUMC/AUC = Vd_{ss}/Cl_b$$

โดยที่ AUMC คือ พื้นที่ใต้กราฟ (area under moment curve)

AUC คือ พื้นที่ใต้กราฟ (area under the curve)

MRT คือ เวลาที่ 63.2% ของยาถูกกำจัดออกจากร่างกาย

และ Vd คำนวณได้จากสมการดังนี้

$$Vd_{ss} = (Dose \times AUMC)/ AUC^2$$

และ Cl_b คำนวณได้จากสมการดังนี้

$$Cl_b = Dose/AUC$$

โดยที่ AUC คำนวณได้จากพื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นของยากับเวลา (plasma concentration-time curve) (Riviere, 1997)

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยาปฏิชีวนะจะนำไปสู่การป้องกันการดื้อยาของแบคทีเรียต่าง ๆ โดยที่ข้อมูลเภสัชจลนศาสตร์จะสัมพันธ์กับสมมติฐานที่ว่าความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะในน้ำเลือดที่ใช้ควรจะมีค่าสูงกว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ (Minimal inhibitory concentration, MIC) 4 เท่า (Stamm, 1989) Shojaee AliAbadi and Lees (2000) ได้ศึกษาปริมาณของยาที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียในสัตว์ พบว่าคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาจะสัมพันธ์กับค่า MIC โดยที่ปริมาณยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมจะเกี่ยวข้องกับกลไกที่ขึ้นอยู่กับเวลาและความเข้มข้น ยกตัวอย่างเช่น ยาในกลุ่ม quinolone ค่า AUIC (AUC/MIC ratio) (AUC = พื้นที่ใต้กราฟ) อย่างน้อยควรจะเท่ากับ 100 และความเข้มข้นสูงสุดของยาในน้ำเลือด (C_{max}/MIC ratio) อย่างน้อยต้องเท่ากับ 8 จึงจะสามารถมีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งเชื้อ เนื่องจากคุณสมบัติทางเภสัชจลนศาสตร์ของยาปฏิชีวนะจะแตกต่างกันไปตามชนิดของสัตว์น้ำ นอกจากนี้พบว่ายังสัมพันธ์กับอุณหภูมิของน้ำด้วย ดังนั้นการศึกษาการใช้ยาในสัตว์น้ำจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาเฉพาะชนิดของสัตว์น้ำและชนิดของยา (Samuelsen, 2006)

มีรายงานการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC ในสัตว์น้ำเศรษฐกิจหลายชนิด ได้แก่ ปลา salmon (Elema *et al.*, 1996), ปลา rainbow trout (Bjorklund and Bylund, 1991), ปลา trout และ chinook salmon (Abedini *et al.*, 1998), ปลา Arctic charr (Haug and Hals, 2000), ปลา tench (Reja *et al.*, 1995), ปลา seabass (Rigos *et al.*, 2002, 2003), ปลาไหล (Ueno *et al.*, 2004), กุ้ง kuruma (*Penaeus japonicus*) (Uno, 2004), กุ้งขาว (*Litopenaeus setiferus*) (Reed *et al.*, 2006) กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) (Uno *et al.*, 2006) และกุ้งก้ามกราม (*Macrobrachium rosenbergii*) (Poapolathep *et al.*, 2008)

มีรายงานการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC ในปลา sharpsnout sea bream (*Diplodus punctazzo*) โดยวิธีการฉีดยาเข้าเส้นเลือด พบว่า OTC มีค่าครึ่งชีวิตของการแพร่กระจาย (distribution half-life, $t_{1/2\alpha}$) และค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดออก (elimination half-life, $t_{1/2\beta}$) เท่ากับ 1.4 และ 3.5 ชั่วโมง ตามลำดับ และมีปริมาตรของการกระจายตัวของยาที่สถานะคงตัวอยู่ที่ 4 ลิตรต่อกิโลกรัม (l/kg) อัตราการกำจัดยารวม (total clearance rate, CL_T) เท่ากับ 0.08 ลิตรต่อกิโลกรัมชั่วโมง และชีวประโยชน์ของยา (bioavailability) หรืออัตราการดูดซึมเท่ากับ 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Rigos *et al.*, 2004) จากรายงานการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC ในปลา Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) ที่เลี้ยงในน้ำจืดที่อุณหภูมิต่ำ โดยวิธีการฉีดเข้าเส้นเลือด และให้ผ่านการกิน พบว่าปริมาตรการกระจายตัวของยา (volume of distribution, $V_{d(area)}$) จะมีค่าอยู่ในช่วง 2.57 - 2.90 l/kg และอัตราการกำจัดยา

รวม (total clearance rate, CL_T) อยู่ระหว่าง 6.27 - 6.54 ml/kg h การกำจัดยาหลังจากการฉีดเข้าเส้นเลือดจะค่อนข้างช้า โดยมีค่าครึ่งชีวิตเท่ากับ 266.3 และ 326.9 ชั่วโมง ในปลาที่ได้รับยา 10 และ 20 mg/kg ตามลำดับ อัตราการดูดซึม หรือ bioavailability (F) ของ OTC อยู่ระหว่าง 3.2 - 7.3% (Haug and Hals, 2000)

นอกจากนี้ Ueno และคณะ (2004) ยังได้ศึกษาเปรียบเทียบเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC ในปลาไหล (*Anguilla japonica*) ที่เลี้ยงในระบบปิด พบว่า bioavailability ของ OTC จากการให้ยาผ่านการกิน เท่ากับ 0.69% และความเข้มข้นของยาในน้ำเลือดจะค่อย ๆ สูงขึ้นระหว่างการให้ยา และพบความเข้มข้นของยาสูงสุดเท่ากับ 0.64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่ 1 วันหลังจากให้ยาครั้งสุดท้าย และไม่สามารถตรวจพบยาอีกเลยที่ 7 วันหลังจากให้ยาครั้งสุดท้าย

มีรายงานการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC ในกุ้ง kuruma (*Penaeus japonicus*) โดย Uno (2004) โดยการฉีดยาเข้าแอ่งเลือด (intrasinus) และการให้ยาผสมอาหาร พบว่า OTC มีค่าครึ่งชีวิตของการแพร่กระจาย ($t_{1/2\alpha}$) และค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดออก ($t_{1/2\beta}$) เท่ากับ 0.45 และ 24.7 ชั่วโมง ตามลำดับ ปริมาตรการแพร่กระจายของยา (V_{ss}) และอัตราการกำจัดยารวม (total body clearance, CL_b) จะมีค่า 748 ml/kg และ 22.7 ml/kg/h ตามลำดับ ส่วนค่าความเข้มข้นสูงสุดของยาในเลือด (C_{max}) เวลาที่มีความเข้มข้นของยาสูงสุด (t_{max}) และค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา เท่ากับ 24.3 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, 10 ชั่วโมง และ 33.6 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนค่า bioavailability (F) ของ OTC หลังจากให้โดยการผสมอาหาร เท่ากับ 43.2% ส่วนการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC ในกุ้งขาว (*Litopenaeus setiferus*) พบว่า OTC มีค่าครึ่งชีวิตของการแพร่กระจาย และค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดออก เท่ากับ 2.45 ± 0.48 และ 22.27 ± 7.45 ชั่วโมง ตามลำดับ อัตราการกำจัดยา และปริมาตรของการแพร่กระจาย มีค่า 78.04 ± 24.33 ml/h/kg และ 2304 ± 280 ml/kg ตามลำดับ (Reed *et al.*, 2004) ในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) มีค่าครึ่งชีวิตของการแพร่กระจาย และค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดออก เท่ากับ 0.20 และ 16.2 ชั่วโมง ตามลำดับ อัตราการกำจัดยา และปริมาตรของการแพร่กระจาย มีค่า 38.7 ml/h/kg และ 869 ml/kg ตามลำดับ และอัตราการดูดซึม หรือ bioavailability (F) ของ OTC เท่ากับ 35.6% (Uno *et al.*, 2006)

ในประเทศไทย มีรายงานการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC ในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เปรียบเทียบระหว่างวิธีการฉีด OTC เข้ากระแสเลือด (intrasinus administration) และป้อนเข้าทางปาก (oral administration) พบว่าโดยวิธีการฉีดยาเข้ากระแสเลือด ค่าครึ่งชีวิตของการแพร่กระจาย ($t_{1/2\alpha}$) ของ OTC มีค่า 0.89 ชั่วโมง และค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยาออกนอกร่างกาย ($t_{1/2\beta}$) เท่ากับ 23.1 ชั่วโมง ค่าชีวประโยชน์ (bioavailability) ของ OTC ในกุ้งกุลาดำเท่ากับ 59.99 เปอร์เซ็นต์ เวลาที่ใช้ในการดูดซึมยาจนถึงระดับ 90 เปอร์เซ็นต์ของระดับยาสูงสุดในเลือด (TDA) เท่ากับ 9 ชั่วโมง ณ สถานะคงตัว และ OTC มีปริมาตรการกระจายตัวในร่างกายของกุ้งกุลาดำ (V_{ss}) เท่ากับ 0.41 ลิตร/กิโลกรัม ซึ่งมีค่าต่ำกว่าในปลา (Sangrungruang *et al.*, 2004) นอกจากนี้ Poapolathep และคณะ (2008) ได้รายงานการศึกษาจลนศาสตร์ของ OTC .ในกล้ามเนื้อของกุ้งก้ามกราม

(*Macrobrachium rosenbergii*) โดยการฉีด OTC ความเข้มข้น 11 และ 22 mg/kg น้ำหนักตัว เข้ากล้ามเนื้อ และให้ทางปาก พบว่าค่าความเข้มข้นสูงสุดของยาในกล้ามเนื้อ (C_{max}) เท่ากับ 3.47 และ 1.73 μg/g หลังจากการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ และให้ทางปาก ตามลำดับที่ระดับความเข้มข้นของยา 11 mg/kg และเท่ากับ 6.03 และ 2.51 μg/g หลังจากการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ และให้ทางปาก ตามลำดับที่ระดับความเข้มข้นของยา 22 mg/kg ส่วนค่าครึ่งชีวิตของการกำจัด OTC ($t_{1/2}$) เท่ากับ 28.68 และ 28.09 ชั่วโมง หลังจากการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ และให้ทางปาก ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้นของยา 11 mg/kg และเท่ากับ 29.95 และ 27.03 ชั่วโมง หลังจากการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ และให้ทางปาก ตามลำดับที่ระดับความเข้มข้นของยา 22 mg/kg และจากข้อมูลเภสัชจลนศาสตร์พบว่าการให้ยา OTC ทั้งโดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ และให้ทางปากที่ระดับความเข้มข้น 11 mg/kg น้ำหนักตัว เหมาะสมสำหรับการควบคุมโรคติดเชื้อแบคทีเรียในระบบการเพาะเลี้ยงกุ้งก้ามกราม แต่จะต้องมีระยะพักยาอย่างน้อย 8 วัน เพื่อให้กุ้งสามารถกำจัดยาออกจากกล้ามเนื้อ

ค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic parameter) ของ OTC ในปลาชนิดต่าง ๆ ภายใต้สภาพการทดลองโดยมีช่องทางการให้ยา และปริมาณของยา (dose) ที่แตกต่างกัน สรุปไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic parameter) ของ OTC ในปลาชนิดต่าง ๆ ภายใต้ช่องทางการให้ยา (route) และปริมาณของยา (dose) ที่แตกต่างกัน

ชนิดปลา (Species)	ช่องทางให้ยา	Dose (mg/kg)	AUC (ug*h/ml)	$T_{1/2}$ (h)	Cl (ml/kg/h)	Vd (l/kg)	T_{max} (h)	C_{max} (ug/ml)	อ้างอิง
Rainbow trout	IV	50	7781.19	0.74	6.43	0.87	-	-	Abedini *et al.* (1998)
Rainbow trout	PO	75	-	-	-	-	24	3.2	Bjorklund and Bylund (1990)
Rainbow trout	PO	150	322	278.4	-	-	72	-	Rogstad *et al.* (1991)
Tench	IM	100	6093	-	-	-	6.4	99.7	Reja *et al.* (1996)
Yellow perch	IM	50	2659	124	-	-	4	29	Bowden (2001)
Yellow perch	PO	50	383	50	-	-	15	6	Bowden (2001)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิดปลา (Species)	ช่องทางให้ยา	Dose (mg/kg)	AUC (ug*h/ml)	$T_{1/2}$ (h)	Cl (ml/kg/h)	Vd (l/kg)	T_{max} (h)	C_{max} (ug/ml)	อ้างอิง
Carp	IM	60	-	78.6	-	2.1	14	56.8	Grondel *et al.* (1987)
Carp	PO	60	-	-	-	-	14 - 20	0.07 - 0.28	Grondel *et al.* (1987)
Red pacu	IM	5	343	62.65	-	-	-	-	Doi *et al.* (1998)
Red pacu	IV	5	688.89	50.97	0.121	543.11	-	-	Doi *et al.* (1998)
Arctic charr	IV	10	1591.4	1.5	6.54	2.57	-	-	Haug and Hals (2000)
Arctic charr	PO	50	341.9	367.0	-	-	30.3	1.51	Haug and Hals (2000)
Chinook salmon	IV	50	7126.79	0.62	7.02	0.89	-	-	Abedini *et al.* (1998)
Chinook salmon	PO	50	1947.59	72.51	-	-	17.88	5.32	Abedini *et al.* (1998)

หมายเหตุ IV (intravenous): การฉีดเข้าเส้นเลือด

PO (*per os*): การให้ทางปาก หรือการผสมอาหารให้กิน

IM (intramuscular): การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมสัตว์ทดลอง

นำปลาดุกลูกผสม (*Clarias macrocephalus* x *Clarias gariepinus*) จากฟาร์มเพาะเลี้ยงในจังหวัดพัทลุง มาเลี้ยงในบ่อซิเมนต์ของอาคารปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง เป็นเวลา 2 เดือน โดยให้อาหารเม็ดปกติทุกวัน จนมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยก่อนเริ่มการทดลองประมาณ 50 กรัม

นำปลานิลแดง (*Oreochromis niloticus*) จากฟาร์มเพาะเลี้ยงในจังหวัดพัทลุง มาเลี้ยงในบ่อซิเมนต์ของอาคารปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง เป็นเวลา 3 เดือน โดยให้อาหารเม็ดปกติทุกวัน จนมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยก่อนเริ่มการทดลองประมาณ 50 กรัม

นำปลาหมอไทย (*Anabas testudineus*) จากฟาร์มเพาะเลี้ยงในจังหวัดพัทลุง มาเลี้ยงในบ่อซิเมนต์ของอาคารปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง เป็นเวลา 4 เดือน โดยให้อาหารเม็ดปกติทุก จนมีน้ำหนักตัวเฉลี่ยก่อนเริ่มการทดลองประมาณ 50 กรัม

โดยอุณหภูมิของน้ำตลอดการเลี้ยงอยู่ระหว่าง 27 – 30 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมและให้ยาปฏิชีวนะ Oxytetracycline

เตรียมสารละลายเข้มข้นของ Oxytetracycline hydrochloride (analytical grade) (Sigma, St. Louis, MO, USA) ในน้ำเกลือ (0.85% NaCl) ปลอดเชื้อ ความเข้มข้น 30 mg/ml (stock solution) แล้วนำมาเจือจางด้วยน้ำเกลือเพื่อปรับให้สารละลายยามีความเข้มข้นสัมพันธ์กับน้ำหนักตัวปลา ก่อนฉีดเข้าบริเวณช่องท้อง (intraperitoneal injection, IP) ของปลาทดลอง โดยใช้เข็มฉีดยาขนาด 25G โดยปลาจะได้รับยาที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว

3. การเก็บเลือดและตัวอย่างเนื้อเยื่อ

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของยา Oxytetracycline โดยการให้ยาครั้งเดียว ผ่านการให้ยาโดยการฉีดเข้าช่องท้อง หลังจากที่ปลาได้รับยาแล้ว สุ่มเก็บเลือดปลาจำนวน 5 ตัว ที่เวลา 1, 4, 10, 24, 72, 120 และ 168 ชั่วโมง หลังจากปลาได้รับยา โดยจะดูดเลือดปลาปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากเส้นเลือดบริเวณโคนหาง (caudal vein) โดยใช้ heparin เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด นำเลือดไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที เพื่อแยกส่วนของน้ำเลือด (plasma) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อการวิเคราะห์ปริมาณยาในน้ำเลือดด้วยเทคนิค HPLC ต่อไป

สุ่มเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อปลา เนื้อเยื่อละประมาณ 5 กรัม จากปลาจำนวน 5 ตัว ที่เวลา 24, 72, 120, 168, 216 และ 360 ชั่วโมง หลังจากปลาได้รับยา โดยเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อต่าง ๆ ได้แก่ ตับ ไต และกล้ามเนื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อการวิเคราะห์การตกค้างของยาในเนื้อเยื่อด้วยเทคนิค HPLC ต่อไป

4. การสกัด Oxytetracycline จากตัวอย่างเนื้อเยื่อ และน้ำเลือด

การวิเคราะห์ Oxytetracycline ในตัวอย่างเนื้อเยื่อเป็นการประยุกต์วิธีการของ Ueno และคณะ (1989) โดยนำเนื้อเยื่อตัวอย่าง (ตับ ไต และกล้ามเนื้อ) น้ำหนักประมาณ 5 กรัม มาบดให้ละเอียด (homogenize) ในสารละลายตัวสกัด [0.1 M Na_2EDTA ใน McIlvaine buffer (Na_2HPO_4, citric acid, pH 4] ปริมาตร 20 ml นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แยกสารละลายส่วนใสออกมา กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 เก็บไว้ในหลอด จากนั้นเติมสารละลายตัวสกัดลงไปในหลอดเดิมที่มีเนื้อเยื่อตกตะกอนอยู่ปริมาตร 20 ml ลงไป นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 นำไปรวมกับส่วนที่กรองได้ครั้งแรก

การสกัด Oxytetracycline จากตัวอย่างที่เป็นน้ำเลือด จะใช้น้ำเลือดปริมาตร 1 ml ผสมกับสารละลายตัวสกัดปริมาตร 20 ml แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No. 1 โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอน homogenize

กระตุ้น Sep-Pak C18 cartridge column โดยการผ่านคอลัมน์ด้วย methanol ปริมาตร 10 ml แล้วตามด้วย Milli-Q water ปริมาตร 10 ml จากนั้นนำส่วนของตัวอย่างที่กรองได้บรรจุผ่านลงในคอลัมน์ Sep-Pak C18 โดยควบคุมให้มีอัตราการไหลผ่านคอลัมน์ที่ 1 - 2 หยดต่อวินาที ตามด้วยการบรรจุ Milli-Q water ปริมาตร 10 ml ผ่านคอลัมน์อีกครั้ง หลังจากนั้นอัดอากาศปริมาตรประมาณ 5 ml ผ่านคอลัมน์เร็ว ๆ

ชะ (elute) ยา Oxytetracycline ที่ถูกดูดซับอยู่ภายในคอลัมน์ Sep-Pak C18 ด้วย 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 โดยค่อย ๆ อัดอากาศผ่านคอลัมน์ Sep-Pak C18 หลังจากนั้นเขย่าให้สารละลายที่ไหลผ่านคอลัมน์ออกมาผสมเข้ากันดี บรรจุเข้าหลอดฉีดยา และกรองโดยการฉีดผ่าน hyperclean (nylon filter, 0.45 micron) บรรจุสารละลายลงในหลอด vial เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับนำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC เพื่อตรวจวัดระดับความเข้มข้นของ Oxytetracycline ต่อไป

5. การวัดความเข้มข้นของ Oxytetracycline ในเนื้อเยื่อด้วยเทคนิค HPLC

วัดระดับความเข้มข้นของ Oxytetracycline ในเนื้อเยื่อตัวอย่างที่สกัดได้โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์แบบ Reverse phase high performance liquid chromatography ที่ความยาวคลื่น 355 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Agilent 1100 series HPLC ภายใต้สภาวะการทดสอบดังนี้

Column:	Symmetry Sep-Pak C18 cartridge column (3.9 x 150 mm, 5 micron) (Waters Associate, Milford, USA)
Flow rate:	1 ml/min
Detector:	Variable wavelength detector 355 nm
Mobile phase:	Acetronitrile : 0.01 M Oxalic acid + TEA pH 4.5 (17:83)
Injection volume:	20 microlitre
Run time:	4.5 min

6. การวิเคราะห์ข้อมูลเภสัชจลนศาสตร์ การกระจายตัวในเนื้อเยื่อและการกำจัดยา

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณยา Oxytetracycline ในน้ำเลือดหลังจากการให้ยาครั้งเดียวโดยผ่านช่องทางการฉีดเข้าช่องท้อง นำมาคำนวณค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของปลาทั้งสามชนิดในเชิงเปรียบเทียบ ซึ่งประกอบด้วยปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้

AUC = พื้นที่ใต้กราฟ plasma concentration versus time (Area under the curve) มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมชั่วโมงต่อลิตร

AUMC = พื้นที่ใต้กราฟ plasma concentration-time versus time (Area under the moment curve) มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมชั่วโมง^{2}ต่อลิตร

C_{max} = ระดับความเข้มข้นสูงสุดของยาในพลาสมา มีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อลิตร หรือไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

T_{max} = เวลาสูงสุดของค่า C_{max} มีหน่วยเป็น ชั่วโมง

MRT = เวลาที่ 63.2% ของยาที่ให้ถูกกำจัดออกจากร่างกาย (Mean residence time) มีหน่วยเป็น ชั่วโมง

$$MRT = AUMC/AUC$$

Vd = ปริมาตรการกระจายตัวของยา (Volume of distribution) มีหน่วยเป็น ลิตรต่อกิโลกรัม

$$Vd = (Dose*AUMC)/AUC^2$$

Cl_b = การชำระยาทั้งหมดออกนอกร่างกาย (Total body clearance) มีหน่วยเป็นลิตรต่อชั่วโมงต่อกิโลกรัม

Cl_b = Dose/AUC

$T_{1/2}$ = ค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา (Elimination half-life) มีหน่วยเป็น ชั่วโมง

$T_{1/2}$ = 0.693*MRT

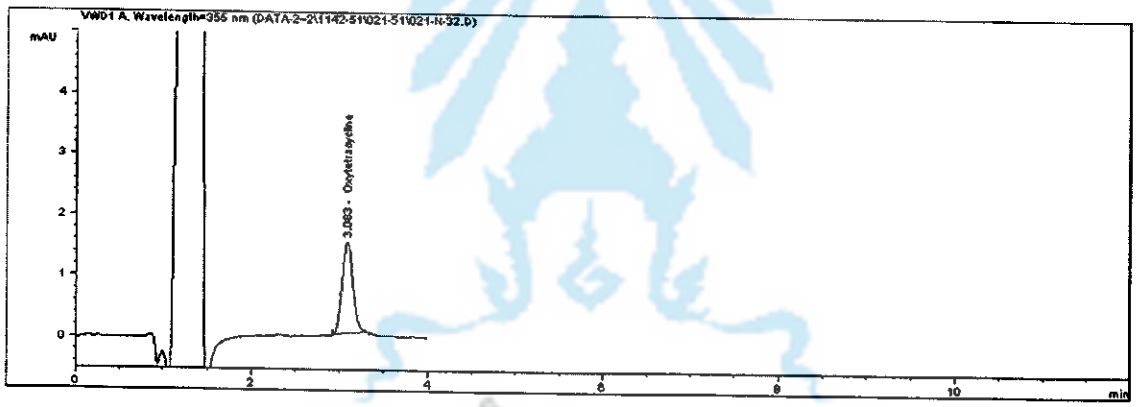
และนำข้อมูลความเข้มข้นของ Oxytetracycline ในเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อของปลาทั้งสามชนิดมาวิเคราะห์การกระจายตัวในเนื้อเยื่อและการกำจัดยา (tissue distribution and elimination)

บทที่ 4

ผลการศึกษา

1. การวิเคราะห์ Oxytetracycline ด้วย HPLC

การวิเคราะห์ Oxytetracycline ในเลือด และเนื้อเยื่อของปลาจะใช้สารละลาย methanol และสารละลาย 0.01 M oxalic acid + 0.1% Triethylamine (TEA) pH 4.5 ในอัตราส่วน 7:3 เป็นตัวสกัด (extracting solution) โดยตัวอย่างจะถูกทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยผ่านคอลัมน์ Sep-Pak C18 และ retention time ของ OTC เท่ากับ 3.0 นาที โดยวิธีการนี้มีขีดจำกัดต่ำสุดของการทดสอบเชิงปริมาณ (detection limit) เท่ากับ 0.025 mg/L ลักษณะของกราฟการวิเคราะห์ OTC ด้วย HPLC แสดงไว้ในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะของกราฟการวิเคราะห์ OTC ด้วย HPLC (typical chromatogram)

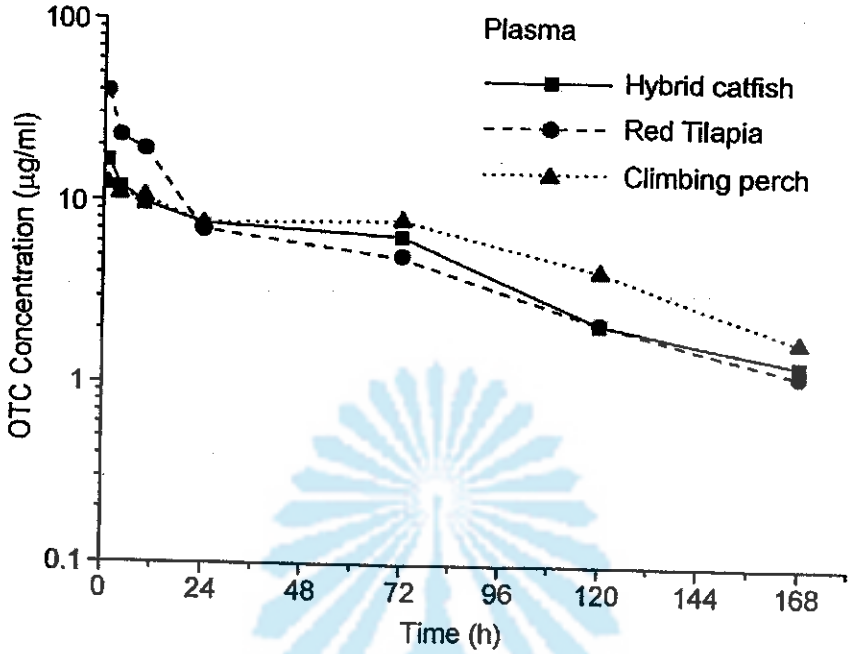
2. การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetic study)

จากการทดลองให้ยา Oxytetracycline (OTC) ที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัวปลา โดยการฉีดเข้าช่องท้อง (intraperitoneal injection, IP) ในปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย แล้วทำการเก็บเลือดที่เวลาต่าง ๆ หลังจากปลาได้รับยา นำไปวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของยาในน้ำเลือดด้วยเทคนิค HPLC ได้ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 2 และกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ OTC ในน้ำเลือด และเวลา ซึ่งแสดงไว้ในภาพที่ 4 โดยพบว่ารูปแบบการกระจายตัวของยา OTC ในน้ำเลือดของปลาทั้งสามชนิดมีลักษณะคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ ระดับความเข้มข้นสูงสุดของยาในน้ำเลือด (C_{max}) ของปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย เท่ากับ 16.66, 39.86 และ 12.25 mg/L ตามลำดับ ที่เวลา 1 ชั่วโมงหลังจากปลาได้รับยา หลังจากนั้นความเข้มข้นของ OTC ในน้ำเลือดของปลาทั้งสามชนิดจะค่อย ๆ ลดลง และอยู่ในระดับต่ำสุด (1.33, 1.16 และ 1.80 mg/L ตามลำดับ) ที่เวลา 168 ชั่วโมงหลังจากได้รับยา และข้อมูลที่ปรากฏ ความเข้มข้น

ของ OTC ในน้ำเลือดปลานิลแดงที่เวลา 1 ชั่วโมงหลังจากได้รับยาจะอยู่ในระดับสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับในปลาดุกลูกผสมและปลาหมอไทย และจะลดลงอย่างรวดเร็ว เหลือเพียง 1.16 µg/ml ภายในเวลา 168 ชั่วโมง ชี้ให้เห็นว่า OTC มีการกระจายตัวไปยังเนื้อเยื่อของปลานิลแดงได้อย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับปลาอีกสองชนิด

ตารางที่ 2 แสดงค่าความเข้มข้นของ Oxytetracycline (OTC) ในน้ำเลือดของปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย ที่เวลาต่าง ๆ กัน หลังได้รับ Oxytetracycline ครั้งเดียว 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 4 กราฟ Semi-log (Semilogarithmic plot) ของระดับความเข้มข้นของ Oxytetracycline (OTC) ในน้ำเลือด (plasma) ของปลาดุกลูกผสม (Hybrid catfish) ปลานิลแดง (Red tilapia) และปลาหมอไทย (Climbing perch) ที่เวลาต่าง ๆ กัน หลังการฉีด Oxytetracycline เข้าช่องท้องที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว

ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นของยา OTC ในน้ำเลือดหลังจากการให้ยาครั้งเดียวโดยผ่านช่องทางการฉีดเข้าช่องท้อง สามารถนำมาคำนวณค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ ค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของปลาทั้งสามชนิดแสดงไว้ในตารางที่ 3 พบว่าปลานิลแดงมีค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา (Elimination half-life, $T_{1/2}$) ต่ำสุด อยู่ที่ 31.16 ชั่วโมง ตามด้วยปลาดุกลูกผสม (38.34 ชั่วโมง) และปลาหมอไทย (44.35 ชั่วโมง) ตามลำดับ พื้นที่ใต้กราฟระหว่างความเข้มข้นกับเวลา (Area under the curve, AUC) ของปลาหมอไทย ปลานิลแดง และปลาดุกลูกผสม เท่ากับ 1042.75, 953.10 และ 854.41 มิลลิกรัมชั่วโมงต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ปลาหมอไทยมีค่าการชำระยาทั้งหมดออกนอกร่างกาย (Total body clearance, Cl_b) ต่ำสุด (0.0480 ลิตรต่อชั่วโมงต่อกิโลกรัม) เมื่อเทียบกับปลาดุกลูกผสมและปลานิลแดง และพบว่าปริมาตรการกระจายตัวของยา (Volume of distribution, Vd) ในปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย เท่ากับ 3.24, 2.36 และ 3.07 ลิตรต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 3 แสดงค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetic parameters) ของปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย หลังได้รับ Oxytetracycline ครั้งเดียว โดยการฉีดเข้าช่องท้องที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว

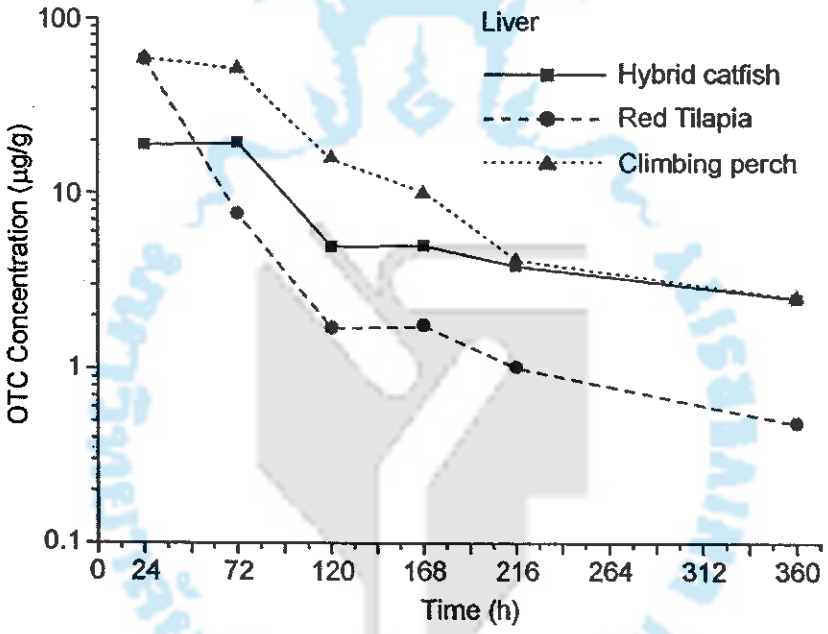
Pharmacokinetic parameter	(หน่วย) unit	ชนิดของปลา		
		ปลาดุกลูกผสม (Hybrid catfish)	ปลานิลแดง (Red tilapia)	ปลาหมอไทย (Climbing perch)
$T_{1/2}$	hr	38.34	31.16	44.35
C_{max}	mg/L	16.66	39.87	12.25
T_{max}	hr	1	1	1
AUC	mg*hr/L	854.41	953.10	1042.75
AUMC	$mg*hr^2/L$	47274.575	42849.93	66732.275
MRT	hr	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

3. การกระจายตัวในเนื้อเยื่อและการกำจัดยา (Tissue distribution and elimination)

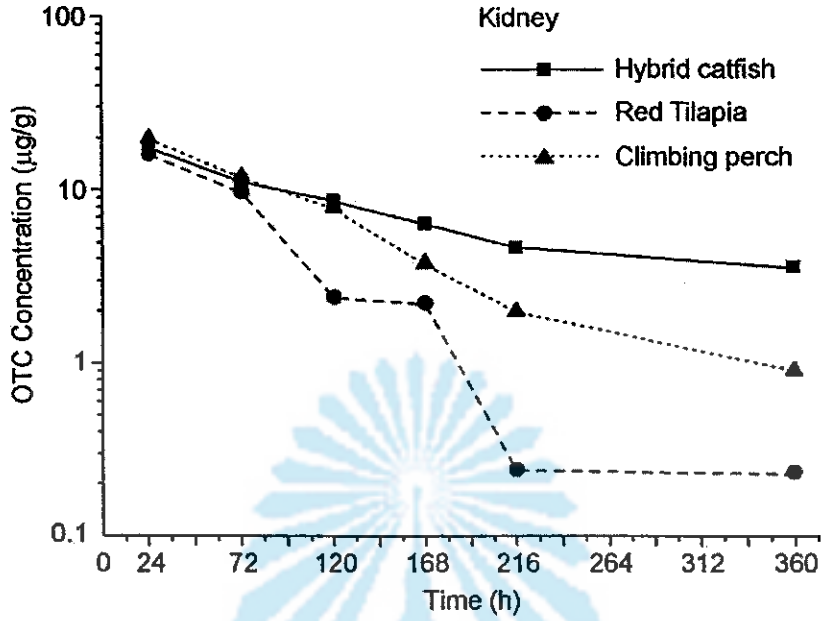
จากการทดลองให้ยา Oxytetracycline (OTC) ที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัวปลา โดยการฉีดเข้าช่องท้อง (intraperitoneal injection, IP) ในปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย แล้วทำการเก็บเลือดที่เวลาต่าง ๆ ตั้งแต่ 24 ถึง 360 ชั่วโมงหลังจากปลาได้รับยา นำไปวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของยาในเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อของปลาทั้งสามชนิด เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการกระจายตัวในเนื้อเยื่อและการกำจัดยา OTC ของปลาทั้งสามชนิด ได้ผลการศึกษาดังแสดงในตารางที่ 4 และกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อตับ (ภาพที่ 5) ไต (ภาพที่ 6) และกล้ามเนื้อ (ภาพที่ 7) จากข้อมูลความเข้มข้นของ OTC ที่เวลา 360 ชั่วโมงหลังจากปลาได้รับยา พบว่าปลานิลแดงจะมีระดับของ OTC ในเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อเท่ากับ 0.49, 0.24 และ 0.126 μg/g ตามลำดับ ซึ่งต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับของปลาดุกลูกผสม และปลาหมอไทย ชี้ให้เห็นว่าปลานิลแดงมีอัตราการกำจัดยาจากเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อสูงกว่าปลาชนิดอื่น ส่วนปลาดุกลูกผสมจะมีการกำจัดยาจากเนื้อเยื่อตับและกล้ามเนื้อในอัตราที่ใกล้เคียงกับปลาหมอไทย

ตารางที่ 4 แสดงค่าความเข้มข้นของ Oxytetracycline (OTC) ในเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อของปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย ที่เวลาต่าง ๆ กัน หลังได้รับ Oxytetracycline ครั้งเดียว โดยการฉีดเข้าช่องท้องที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว

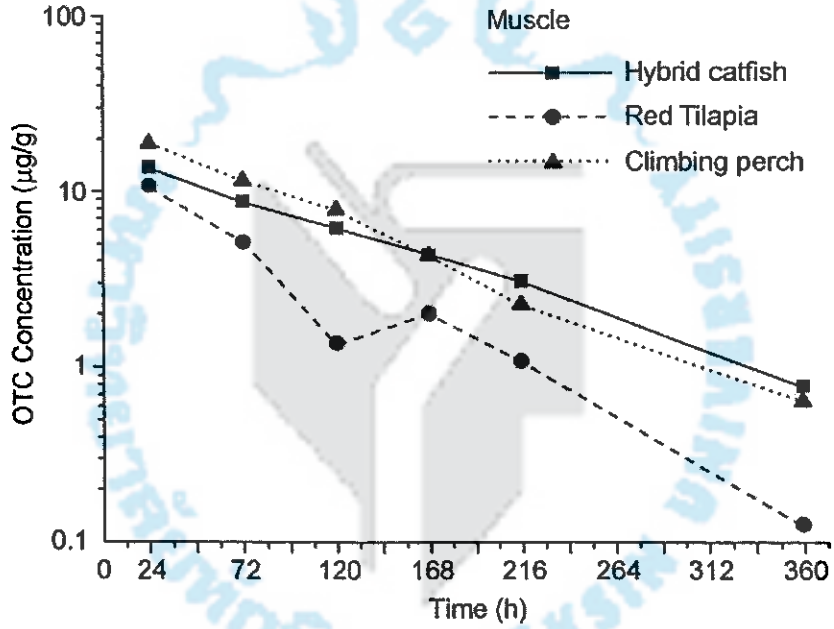
เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของ OTC (µg/g)								
	ตับ			ไต			กล้ามเนื้อ		
	ปลาดุกลูกผสม	ปลานิลแดง	ปลาหมอไทย	ปลาดุกลูกผสม	ปลานิลแดง	ปลาหมอไทย	ปลาดุกลูกผสม	ปลานิลแดง	ปลาหมอไทย
24	19.24	59.05	59.48	18.28	16.82	20.71	13.92	10.88	19.06
72	9.85	7.69	52.02	11.80	10.13	12.44	8.88	5.15	11.70
120	5.00	1.72	16.12	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



ภาพที่ 5 กราฟ Semi-log (Semilogarithmic plot) ของระดับความเข้มข้นของ Oxytetracycline (OTC) ในเนื้อเยื่อตับ (liver) ของปลาดุกลูกผสม (Hybrid catfish) ปลานิลแดง (Red tilapia) และปลาหมอไทย (Climbing perch) ที่เวลาต่าง ๆ กัน หลังการฉีด Oxytetracycline เข้าช่องท้องที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว



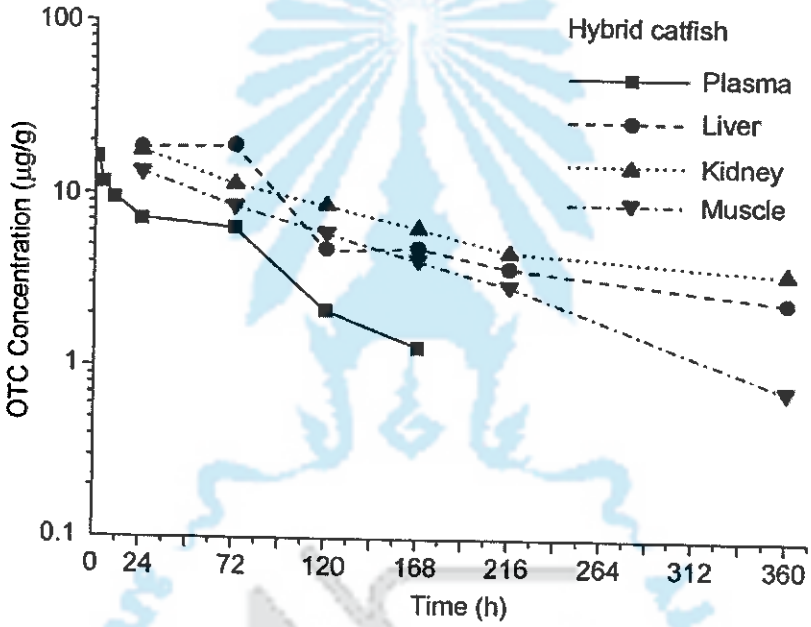
ภาพที่ 6 กราฟ Semi-log (Semilogarithmic plot) ของระดับความเข้มข้นของ Oxytetracycline (OTC) ในเนื้อเยื่อไต (kidney) ของปลาดุกลูกผสม (Hybrid catfish) ปลานิลแดง (Red tilapia) และปลาหมอไทย (Climbing perch) ที่เวลาต่าง ๆ กัน หลังการฉีด Oxytetracycline เข้าช่องท้องที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว



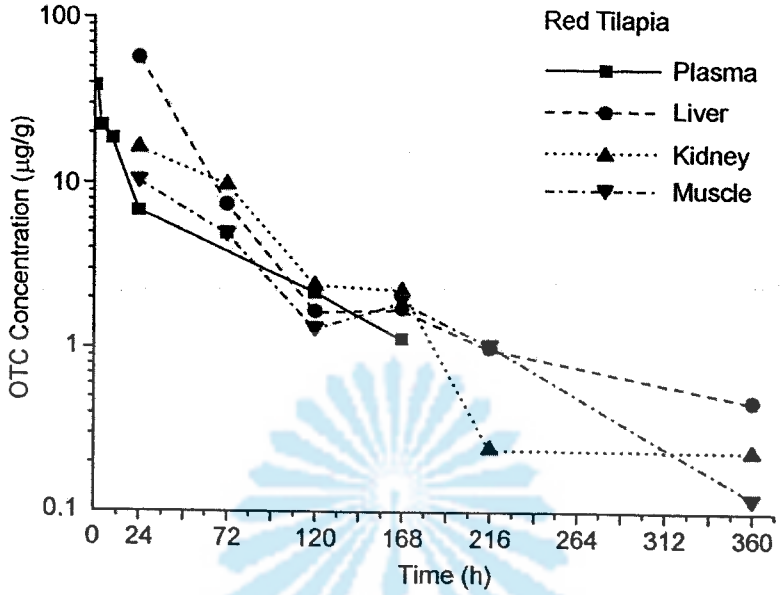
ภาพที่ 7 กราฟ Semi-log (Semilogarithmic plot) ของระดับความเข้มข้นของ Oxytetracycline (OTC) ในกล้ามเนื้อ (muscle) ของปลาดุกลูกผสม (Hybrid catfish) ปลานิลแดง (Red tilapia) และ

ปลาหมอไทย (Climbing perch) ที่เวลาต่าง ๆ กัน หลังการฉีด Oxytetracycline เข้าช่องท้องที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว

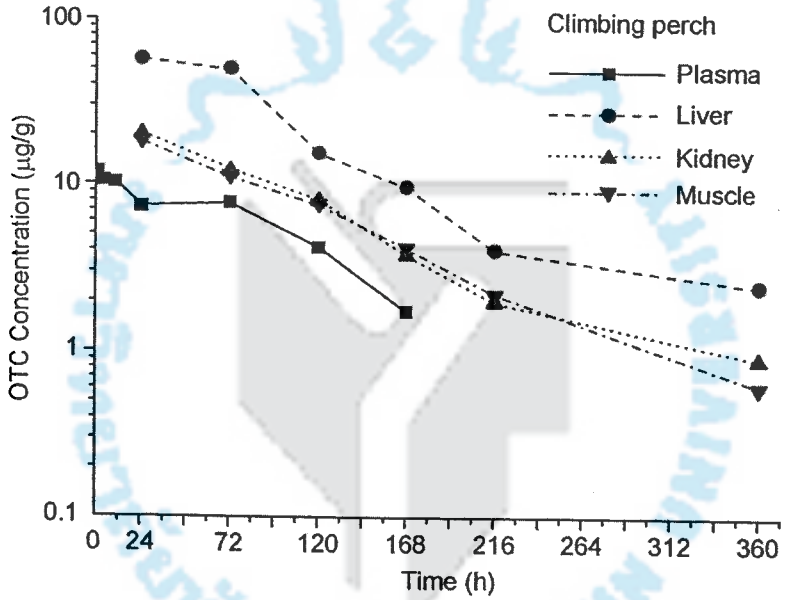
นอกจากนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของ OTC สูงสุดในปลาทั้งสามชนิดจะพบในเนื้อเยื่อตับหลังจากปลาได้รับยา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อจะค่อย ๆ ลดลงตามลำดับคือ ไต และกล้ามเนื้อ ความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย แสดงไว้ในภาพที่ 8 ภาพที่ 9 และภาพที่ 10 ตามลำดับ และสมการของการกำจัดยา (Elimination curve equation) ของเนื้อเยื่อต่าง ๆ แสดงไว้ในตารางที่ 5



ภาพที่ 8 กราฟ Semi-log (Semilogarithmic plot) ของระดับความเข้มข้นของ Oxytetracycline (OTC) ในน้ำเลือด (plasma) เนื้อเยื่อตับ (liver) ไต (kidney) และกล้ามเนื้อ (muscle) ของปลาดุกลูกผสม (Hybrid catfish) ที่เวลาต่าง ๆ กัน หลังการฉีด Oxytetracycline เข้าช่องท้องที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว (ความเข้มข้นของ OTC ในน้ำเลือดมีหน่วยเป็น µg/ml)



ภาพที่ 9 กราฟ Semi-log (Semilogarithmic plot) ของระดับความเข้มข้นของ Oxytetracycline (OTC) ในน้ำเลือด (plasma) เนื้อเยื่อตับ (liver) ไต (kidney) และกล้ามเนื้อ (muscle) ของปลานิลแดง (Red tilapia) ที่เวลาต่าง ๆ กัน หลังการฉีด Oxytetracycline เข้าช่องท้องที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว (ความเข้มข้นของ OTC ในน้ำเลือดมีหน่วยเป็น µg/ml)



ภาพที่ 10 กราฟ Semi-log (Semilogarithmic plot) ของระดับความเข้มข้นของ Oxytetracycline (OTC) ในน้ำเลือด (plasma) เนื้อเยื่อตับ (liver) ไต (kidney) และกล้ามเนื้อ (muscle) ของปลาหมอไทย (Climbing perch) ที่เวลาต่าง ๆ กัน หลังการฉีด Oxytetracycline เข้าช่องท้องที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว (ความเข้มข้นของ OTC ในน้ำเลือดมีหน่วยเป็น µg/ml)

ตารางที่ 5 สมการของการกำจัดยา (Elimination curve equation) OTC ในเนื้อเยื่อตับ ไต กล้ามเนื้อ และน้ำเลือดของปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย ที่ได้รับ Oxytetracycline ครั้งเดียว โดยการฉีดเข้าช่องท้องที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/kg ของน้ำหนักตัว

เนื้อเยื่อ	สมการการกำจัดยา (Elimination curve equation)		
	ปลาดุกลูกผสม (Hybrid catfish)	ปลานิลแดง (Red tilapia)	ปลาหมอไทย (Climbing perch)
ตับ (Liver)	$C_{(t)} = 30.35\ e^{-0.42t}$ $r^2 = 0.7665$	$C_{(t)} = 59.63\ e^{-0.85t}$ $r^2 = 0.5184$	$C_{(t)} = 142.30\ e^{-0.67t}$ $r^2 = 0.8542$
ไต (Kidney)	$C_{(t)} = 23.40\ e^{-0.31t}$ $r^2 = 0.9106$	$C_{(t)} = 50.26\ e^{-0.92t}$ $r^2 = 0.8097$	$C_{(t)} = 43.83\ e^{-0.62t}$ $r^2 = 0.911$
กล้ามเนื้อ (Muscle)	$C_{(t)} = 26.87\ e^{-0.51t}$ $r^2 = 0.9438$	$C_{(t)} = 23.78\ e^{-0.75t}$ $r^2 = 0.7521$	$C_{(t)} = 44.83\ e^{-0.64t}$ $r^2 = 0.9315$
น้ำเลือด (Plasma)	$C_{(t)} = 30.25\ e^{-0.40t}$ $r^2 = 0.9654$	$C_{(t)} = 82.29\ e^{-0.59t}$ $r^2 = 0.8705$	$C_{(t)} = 20.88\ e^{-0.281t}$ $r^2 = 0.9266$

หมายเหตุ $C_{(t)}$ คือความเข้มข้นของ OTC ที่เวลาใด ๆ มีหน่วยเป็นμg/g และ μg/ml (mg/L) กรณีน้ำเลือด

t คือเวลาหลังจากได้รับยา มีหน่วยเป็น ชั่วโมง

r^2 = regression coefficient

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุป และข้อเสนอแนะ

1. อภิปรายผล

ผลจากการทดลองพบความเข้มข้นของยา OTC ในน้ำเลือดของปลานิลแดงอยู่ในระดับสูงสุด และมีการลดลงอย่างรวดเร็ว จากความเข้มข้นสูงสุดของยาในน้ำเลือด (C_{max}) ที่เวลา 1 ชั่วโมง หลังจากปลาได้รับยา ลดลงจนถึงระดับต่ำสุดที่เวลา 168 ชั่วโมงหลังจากได้รับยา ทั้งนี้เนื่องจาก OTC มีอัตราการกระจายตัวของยาไปยังเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของปลานิลแดงได้อย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับปลาอีกสองชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($T_{1/2}$) ของปลานิลแดงจะมีค่าต่ำสุด (31.16 ชั่วโมง) เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกลูกผสม (38.34 ชั่วโมง) และปลาหมอไทย (44.35 ชั่วโมง) แสดงถึงปลานิลแดงมีอัตราการกำจัดยาที่สูงกว่า สอดคล้องกับข้อมูลระดับความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อตับ ไต และกล้ามเนื้อของปลานิลแดงจะมีค่าต่ำสุดที่เวลาต่าง ๆ หลังจากได้รับยา เมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกลูกผสม และปลาหมอไทย ค่าปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของปลาจะแตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของปลา สรีรวิทยา และสภาพแวดล้อม มีรายงานยืนยันว่าอุณหภูมิของน้ำจะเป็นปัจจัยสำคัญซึ่งมีผลต่อการกำจัดยา OTC ในปลา ปลาที่เลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำจะมีอัตราการกำจัดยาที่ช้ากว่าปลาที่เลี้ยงที่อุณหภูมิสูง ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากที่ปลาจะผลิตน้ำดี (bile) และปัสสาวะ (urine) ได้น้อยที่อุณหภูมิต่ำ (Curtis *et al.*, 1986; Hunn, 1982) อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้ปลาทดลองถูกเลี้ยงภายใต้สภาวะอุณหภูมิปกติของน้ำระหว่าง 27 – 30 องศาเซลเซียส นอกจากนี้มีรายงานพบว่าปลานิล (*Oreochromis niloticus*) ที่ถูกชักนำให้ติดเชื้อ *Streptococcus iniae* และ *Vibrio vulnificus* ยังคงมีอัตราการกำจัดยา OTC จากเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อได้อย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับปลาในกลุ่มควบคุม (Chen *et al.*, 2007)

ค่าการชำระยาทั้งหมดออกนอกร่างกาย (Total body clearance, Cl_b) หมายถึงปริมาตรของยาทั้งหมดในร่างกาย (รวมถึงในเลือด ตับ และไต) ซึ่งถูกกำจัดต่อหน่วยเวลา เป็นดัชนีเภสัชจลนศาสตร์ที่สำคัญที่ใช้ในการวิเคราะห์การกำจัดยา ในการทดลองนี้พบว่าปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทยมีอัตราการกำจัดยา OTC ในระดับใกล้เคียงกัน คือ 58.5, 52.4 และ 48.0 ml/hr/kg ตามลำดับ ซึ่งเป็นอัตราการกำจัดยาที่ค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับปลาชนิดอื่น ๆ ที่ได้รับยา OTC เช่น ปลาไหล (eel) ที่ได้รับ OTC ที่ระดับ 50 mg/kg ของน้ำหนักตัวโดยการผสมยาในอาหาร มีอัตราการกำจัดยาเท่ากับ 2.98 ml/hr/kg (Ueno *et al.*, 2004) ปลา rainbow trout มีอัตราการกำจัดยา 6.43 ml/hr/kg (Abedini *et al.*, 1998) และปลา Arctic charr 6.54 ml/hr/kg (Haug and Hals, 2000) ทั้งนี้อัตราการกำจัดยาของปลาแต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป ค่าการชำระยาทั้งหมดออกนอกร่างกายจะสัมพันธ์โดยตรงกับเวลาที่ใช้ในการกำจัดยาออกจากเนื้อเยื่อต่าง ๆ (Clearance time) ค่า Clearance time คำนวณได้จาก Cl_b/Vss ปลาไหลที่ได้รับยา OTC มี Clearance time เท่ากับ 6.6 ชั่วโมง (Ueno *et al.*, 2004) ปลา rainbow trout จากการทดลองของ Bjorklund and Bylund (1991) มี Clearance time

ของ OTC 13.8 ชั่วโมง ปลา yellow tail จากการทดลองของ Ueno *et al.* (1995) มี Clearance time ของ OTC 30.8 ชั่วโมง หรือปลานิล (*Oreochromis niloticus*) มีค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา OTC อยู่ที่ 39.6 ชั่วโมง (Paschoal *et al.*, 2011) และพบว่าการกำจัด OTC ออกจากร่างกายของปลาต้องใช้เวลานานกว่าของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Bjorklund and Bylund, 1990) การที่ปลาต้องใช้เวลาค่อนข้างนานในการกำจัดยา OTC เนื่องจากกระบวนการแพร่ของยาใน glomerulus ของไต และเหงือกปลาเป็นการแพร่แบบ passive diffusion ในขณะที่สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีการแพร่แบบ active diffusion (Nouws *et al.*, 1985) นอกจากนี้ยังพบว่าการกรองบริเวณ glomerulus ของไตในปลาน้ำจืดมีอัตราที่ค่อนข้างต่ำด้วย (Hickman and Trump, 1969)

การทดลองครั้งนี้พบว่าความเข้มข้นระดับสูงสุดของ OTC ในปลาทั้งสามชนิดจะพบในเนื้อเยื่อตับ หลังจากปลาได้รับยา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อจะค่อย ๆ ลดลงตามลำดับจากไต และกล้ามเนื้อ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าเนื้อเยื่อตับ จะเป็นเนื้อเยื่อส่วนแรก ๆ ที่ทำหน้าที่ในการกำจัดยา OTC ของปลาน้ำจืดทั้งสามชนิดนี้ อย่างไรก็ตามการกำจัดยาอาจจะแตกต่างกันไปตามชนิดของยา และชนิดของปลา เช่น การทดลองเภสัชจลนศาสตร์ของยา Norfloxacin ในปลา Japanese sea perch และปลา Black sea bream พบว่าความเข้มข้นสูงสุดของยาวัดได้จากเนื้อเยื่อไต และค่อย ๆ ลดลงตามลำดับจากตับ กล้ามเนื้อ และเลือด (Wang *et al.*, 2008) หรือในปลา Olive flounder พบความเข้มข้นของยา Norfloxacin สูงสุดไปต่ำสุดในเนื้อเยื่อตามลำดับ คือ ไต เลือด เหงือก กล้ามเนื้อ และตับ (Liu *et al.*, 2003)

จากผลการทดลองแม้ว่าปลาน้ำจืดทั้งสามชนิดจะได้รับยา OTC ผ่านการฉีดเข้าช่องท้องในอัตราความเข้มข้นของยาเท่ากัน (50 mg/kg ของน้ำหนักตัว) แต่พบว่าความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อของปลานิลแดงจะต่ำกว่าในเนื้อเยื่อของปลาตุกลูกผสม และปลาหมอไทย โดยเฉพาะกล้ามเนื้อ ความแตกต่างนี้อาจอธิบายได้ว่าปลาตุกลูกผสม และปลาหมอไทยมีอัตราการกำจัดยา OTC ช้ากว่าปลานิลแดง ส่งผลให้มียาตกค้างอยู่ในเนื้อเยื่อในระดับความเข้มข้นที่สูงกว่า สอดคล้องกับการทดลองให้ยา OTC ในปลา Japanese sea perch และปลา Black sea bream พบว่าความเข้มข้นของ OTC ในเนื้อเยื่อของปลา Black sea bream จะสูงกว่าในเนื้อเยื่อของปลา Japanese sea perch (Wang *et al.*, 2004)

ผลการทดลองพบว่าพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) ระหว่างความเข้มข้นของยา OTC ในน้ำเลือดกับเวลาของปลาตุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทยมีค่าใกล้เคียงกัน เท่ากับ 854.41, 953.10 และ 1042.75 mg*hr/L ตามลำดับ โดยทั่วไป AUC จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของยาที่ให้ เวลาการให้ยา และช่องทางการให้ยา และยังสัมพันธ์กับอุณหภูมิอีกด้วย Ding *et al.* (2006) รายงานว่า AUC ของปลา crucian carp ที่ได้รับยา difloxacin โดยการผสมอาหารที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะมีค่า AUC สูงกว่าที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ถึง 4 เท่า อย่างไรก็ตาม AUC ของปลาทั้งสามชนิดในการทดลองครั้งนี้ซึ่งปลาได้รับยาโดยการฉีดเข้าช่องท้อง มีค่าค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับปลาที่ได้รับยา 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) ทั้งนี้มีความเป็นไปได้ว่าช่องทางการให้ยานอกเส้นเลือด (extravascular methods of administration) เช่น การผสมอาหาร (PO) การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (IM) หรือการฉีดเข้าช่องท้อง (IP) อาจเป็นวิธีการที่ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอในการลำเลียงยา (drug delivery) เมื่อเปรียบเทียบกับการฉีดเข้าเส้นเลือด (Uno *et al.*, 1992) ทั้งนี้การให้ยาในสัตว์น้ำนอกเหนือจากประสิทธิภาพสูงสุดของยา ยังจำเป็นจะต้องพิจารณาองค์ประกอบอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น ขนาดและปริมาณของปลา การเกิดโรค และข้อจำกัดด้านความเครียดของปลาอันอาจเกิดจากวิธีการให้ยา พบว่าค่าการดูดซึมหรือชีวประโยชน์ของยา (Bioavailability) OTC ของปลาที่เป็นโรคจะต่ำเมื่อเทียบกับปลาปกติ (Uno, 1996) และการผสมยา OTC ในอาหารจะลดอัตราการกินอาหารของปลา (Hustvedt *et al.*, 1991)

เภสัชจลนศาสตร์มีความสำคัญในแง่ของการนำมาประยุกต์ใช้เพื่อกำหนดแนวทางในการใช้ยาในสัตว์น้ำอย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ ซึ่งจะต้องสัมพันธ์กับการออกฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคต่าง ๆ ด้วย หลังจากสัตว์น้ำได้รับยาผ่านช่องทางต่าง ๆ เช่น การฉีด การแช่หรือการผสมอาหาร ระดับความเข้มข้นของยาในเลือดจะต้องสูงกว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของยาในการยับยั้งเชื้อ (Minimal inhibitory concentration, MIC) (Uno *et al.*, 2006) ในการทดลองครั้งนี้ปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย ได้รับยา Oxytetracycline ในอัตรา 50 mg/kg ของน้ำหนักตัวผ่านการฉีดเข้าช่องท้อง และพบว่าปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทย มี OTC ในน้ำเลือดที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดหลังจากได้รับยา 1 ชั่วโมง เท่ากับ 16.66, 39.86 และ 12.25 μg/ml ตามลำดับ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าความเข้มข้นของยาที่ปลาได้รับมีประสิทธิภาพเพียงพอในการควบคุมเชื้อก่อโรค ทั้งนี้ค่า MIC ของ OTC ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในกลุ่ม *Aeromonas* ซึ่งพบในปลาน้ำจืดทั่วไปจะอยู่ในช่วง 0.7 – 1.25 μg/ml (Ozaki, 1980) ค่า MIC ของ OTC ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในกลุ่ม *Vibrio* อยู่ระหว่าง 0.1 -12.5 μg/ml (Takahashi *et al.*, 1985) และการใช้ยาปฏิชีวนะในการควบคุมโรคในสัตว์น้ำอาจจำเป็นต้องใช้ยาในระดับความเข้มข้นสูงกว่าค่า MIC อย่างน้อย 4 เท่า (Stamm, 1989) และความเข้มข้นของยาที่เหมาะสมการใช้ในสัตว์น้ำอาจจะต้องสัมพันธ์กับค่า AUC/MIC และ C_{max}/MIC ด้วย (Shojaee AliAbadi and Lees, 2000) อย่างไรก็ตามนอกเหนือจากความเข้มข้นของยาแล้ว ช่องทางการให้ยา และค่าครึ่งชีวิตของยา (half-life) ก็มีความสำคัญ เนื่องจากยาปฏิชีวนะอาจจะสูญเสียไปในน้ำระหว่างการให้ยาเนื่องจากแสง อุณหภูมิของน้ำที่สูงขึ้น และการรวมตัวของยากับสารอินทรีย์ในน้ำ (Treves-Brown, 2000) นอกจากนี้ข้อมูลการตกค้างของยาในเนื้อเยื่อต่าง ๆ โดยเฉพาะในกล้ามเนื้อของปลาที่เป็นอาหาร ยังเป็นข้อมูลสำคัญซึ่งจะนำไปสู่การกำหนดมาตรการการใช้ยาที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคอีกด้วย ผลจากการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าปลานิลแดงมีอัตราการกำจัดยา OTC ได้อย่างรวดเร็ว โดยปลานิลแดงสามารถกำจัด OTC ออกนอกร่างกายได้จนเหลือยาตกค้างในกล้ามเนื้อในระดับที่ปลอดภัยต่อการบริโภค (ต่ำกว่า 2 μg/g) ได้ภายในเวลา 9 วัน (216 ชั่วโมง) ในขณะที่ปลาดุกลูกผสมและปลาหมอไทย จะต้องใช้เวลาอย่างน้อย 15 วัน (360 ชั่วโมง) ทั้งนี้องค์การอาหารและยาแห่ง

สหรัฐอเมริกาอนุญาตให้มีระดับความเข้มข้นของ OTC ตกค้าง (tolerance level) ในกล้ามเนื้อของปลาทุกชนิดที่ใช้บริโภคได้ไม่เกิน 2 μg/g (USFDA, 2011)

ข้อมูลปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของยา Oxytetracycline รวมถึงการกระจายตัวในเนื้อเยื่อและการกำจัดยาในปลาดุกลูกผสม ปลานิลแดง และปลาหมอไทยจากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญอันจะนำไปสู่การวิจัยเพื่อการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์แบบ multiple-dose administration ในอนาคตตลอดจนการกำหนดแนวปฏิบัติในการใช้ยาที่มีประสิทธิภาพเพื่อการควบคุมโรคในสัตว์น้ำและลดปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำที่ใช้เพื่อการบริโภค

2. สรุป

1. ปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC ในปลาน้ำจืดแต่ละชนิดที่ศึกษามีค่าแตกต่างกันไป โดยข้อมูลความเข้มข้นสูงสุดของยาในน้ำเลือด (C_{max}) และค่าครึ่งชีวิตของการกำจัดยา ($T_{1/2}$) ชี้ให้เห็นว่า OTC สามารถกระจายตัวไปยังเนื้อเยื่อของปลานิลแดงได้อย่างรวดเร็ว และปลานิลแดงยังมีอัตราการกำจัดยาที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปลาดุกลูกผสม และปลาหมอไทย
2. ตับเป็นเนื้อเยื่อส่วนแรกที่ทำหน้าที่ในการกำจัดยา OTC ของปลาน้ำจืดทั้งสามชนิด เนื่องจากพบความเข้มข้นระดับสูงสุดของ OTC ที่เนื้อเยื่อตับของปลาน้ำจืดทั้งสามชนิดหลังจากปลาได้รับยา 24 ชั่วโมง
3. ปลานิลแดงสามารถกำจัด OTC ออกนอกร่างกายจนเหลือยาตกค้างในกล้ามเนื้อในระดับที่ปลอดภัยต่อการบริโภค (ต่ำกว่า 2 μg/g) ได้ภายในเวลา 9 วัน (216 ชั่วโมง) ในขณะที่ปลาดุกลูกผสม และปลาหมอไทย จะต้องใช้เวลาอย่างน้อย 15 วัน (360 ชั่วโมง) หลังจากได้รับยา
4. ข้อมูลปัจจัยเภสัชจลนศาสตร์ของ OTC จากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการกำหนดแนวปฏิบัติการใช้ยาที่มีประสิทธิภาพเพื่อการควบคุมโรคในสัตว์น้ำ และลดปัญหาการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำที่ใช้เพื่อการบริโภค

3. ข้อเสนอแนะ

การวิจัยเภสัชจลนศาสตร์ของยาปฏิชีวนะในอนาคตจำเป็นจะต้องมีการศึกษาเปรียบเทียบปัจจัยต่าง ๆ ที่อาจมีผลต่อกลไกการดูดซึม การกระจายตัว และการกำจัดยาของปลา ได้แก่ อุณหภูมิหรือฤดูกาล ปริมาณยา (Dosage) ช่องทางการให้ยา (route of administration) และการให้ยาแบบหลายครั้งต่อเนื่อง (multiple-dose administration) ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลเภสัชจลนศาสตร์ที่สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และสามารถใช้เป็นแนวทางในการกำหนดมาตรการการใช้ยาปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ

บรรณานุกรม

กมลชัย ตรงวานิชนาม. 2544. การใช้ยาต้านจุลชีพในสัตว์. ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มาลินี ลิ้มโภคา. 2535. เภสัชจลนศาสตร์พื้นฐานในสัตว์บกและสัตว์น้ำ. กรุงเทพมหานคร. โรงพิมพ์จรัลสนิทวงศ์. 195 หน้า.

สุพงษ์ เอกศิริพงษ์. 2543. เภสัชจลนศาสตร์. ภาควิชาเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 296 หน้า.

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. 2554 สืบค้นจาก http://www.fda.moph.go.th เมื่อวันที่ 1 มิถุนายน 2554

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.

Bjorklund, H. V. and Bylund, G. 1990. Temperature-related absorption and excretion of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). Aquaculture, 84: 363-372.

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.

Bowden, B. C. 2001. Pharmacokinetics of oxytetracycline in yellow perch (*Perca flavescens*) as determined by plasma concentration following different routes of administration. Thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, pp:1-75.

Brown, S. A. 2001. Pharmacokinetics: disposition and fate of drugs in the body, In: Adams, H.R, (Eds.), Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 8th Edition, Iowa State University Press, Ames, IA, pp: 15-54.

Chen, C. Y. and Bowser, P. R. 2007. Pharmacokinetics of Oxytetracycline in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) challenged with *Streptococcus iniae* and *Vibrio vulnificus*. Journal of the World Aquaculture Society, 36(3): 262-270

Curtis, L. R., Kemp, C. J., Svec, A. V. 1986. Biliary excretion of ^{14}C-tauocholate by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) is stimulated at warmer acclimation temperature. Comp. Biochem. Physiol. C 84, 87-90.

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.

Doi, A. M., Stoskopf, M. K. and Lewbart, G.A. 1998. Pharmacokinetics of oxytetracycline in the red pacu (*Colossoma brachypomum*) following different routes of administration. J. Vet. Pharmacol. and Therapeutics, 21: 364-368.

Elema, M. O., Hoff, K. A. and Kristensen, H. G. 1996. Bioavailability of oxytetracycline from medicated feed administered to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater. Aquaculture 143: 7-14.

Grondel, J. L., Nouws, J. F. M., DeJong, M., Schutte, A. R. and Driessens, F. 1987. Pharmacokinetics and tissue distribution of oxytetracycline in carp, *Cyprinus carpio* L., following different routes of administration. J. Fish Dis., 10: 153-163.

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.

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.

Horsberg, T.E. 1994. Experimental methods for pharmacokinetic studies in salmonids. Annual Review of Fish Diseases, 4: 345-358.

Hunn, J. B. 1982. Urine flow rate in freshwater salmonids, a review. Prog. Fish Cult. 44, 119-124.

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.

Lightner, D. V. 1983. Diseases of cultured penaeid shrimp. In McVey, J. P. (Ed.), Handbook of Mariculture. Crustacean aquaculture, vol. 1. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 289-320.

Lightner, D. V. and Redman, R. M. 1994. An epizootic of necrotizing hepatopancreatitis in cultured penaeid shrimp (Crustacea: Decapoda) in northwestern Peru. Aquaculture 122: 9-18.

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.

Machado, F.C., Demicheli, C. Garnier-Suillerot, A. and Beraldo, H.. 1995. Metal complexes of anhydrotetracycline. J. Inorg. Biochem., 60: 163-173.

Martinez, M. N. 1998. Noncompartmental methods of drug characterization: statistical moment theory. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 213: 974-980.

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.

Ozaki, H. 1980. Oxytetracycline. Fish Pharmacology. Shin-Nippon Insastu, Tokyo, pp. 59-125.

Paschoal, J. A. R., Bicudo, A. J. A., Cyrino, J. E. P., Reyes, F. G. R. and Rath, S. Depletion study and estimation of the withdrawal period for oxytetracycline in tilapia cultured in Brazil. 2011. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, doi:10.111/j.1365-2885.2011.01294.x.

Plumb, D. C. 1995. Veterinary Drug Handbook, 2nd edition. Pharmacology Veterinary Publishing, White Bear Lake, MN, pp: 509-514.

Poapolathep, A., Poapolathep, S., Jermnak, U., Imsilp, K., Wannapat, N., Sugita-Konishi, Y. and Kumagai, S. 2008. Muscle tissue kinetics of oxytetracycline following intramuscular and oral administration at two dosages to giant freshwater shrimp (*Macrobrachium rosenbergii*). Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics 31(6): 517-522.

Reed, L. A., Siewicki, T. C. and Shah, J. C. 2004. Pharmacokinetics of oxytetracycline in the white shrimp, *Litopenaeus setiferus*. Aquaculture 232: 11-28.

Reed, L. A., Siewicki, T. C. and Shah, J. C. 2006. The biopharmaceutics and oral bioavailability of two forms of oxytetracycline to the white shrimp, *Litopenaeus setiferus*. Aquaculture 258: 42-54.

Reja, A., Moreno, L., Serrano, J. M., Santiago, D. and Soler, F. 1996. Concentration-time profiles of oxytetracycline in blood, kidney and liver in tench (*Tinca tinca*) after intramuscular administration. Vet. and Human Toxicol., 38: 344-347.

Riviere, J. E. 1997. Basic principles and techniques of pharmacokinetic modeling. J. Zoo and Wildlife Med., 28: 3-19.

Riviere, J. E. and Spoo, J. W. 2001. Tetracycline antibiotics. In: Adams, H.R. (Eds.), Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 8th edition, Iowa State University Press, Ames, IA, pp: 828-840.

Rogstad, A., Hormazabal, V., Ellingsen, O. F. Rasmussen, K. E. 1991. Pharmacokinetic study of oxytetracycline in fish. I. Absorption, distribution, and accumulation in rainbow trout in freshwater. Aquaculture, 96: 219-226.

Samuelsen, O. B. Pharmacokinetics of quinolones in fish: A review. Aquaculture 255: 55-75.

Sangrungruang, K., Chotchuang, A. and Ueno, R. 2004. Comparative pharmacokinetics and bioavaiability of oxytetracycline in giant tiger prawn. Fisheries Science, 70(3): 467-472.

Shojaee AliAbadi, F. and Lees, P. 2000. Antibiotic treatment for animals: effect on bacterial population and dose regime optimisation. Int. J. Antimicrob. Agents, 14: 307-313.

Stamm, J. M. 1989. In vitro resistance by fish pathogens to aquacultural antibacterials, including the quinolones difloxacin (A-56619) and sarafloxacin (A-56620). J. Aquat. Anim. Health 1, 135 -141.

Stoskopf, M. K. 1988. Fish chemotherapeutics. In: Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA. 18: 331-348.

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.

Tongaree, S., Flanagan, D. R. and Poust, R. I. 1999. The interaction between oxytetracycline and divalent metal ions in aqueous and mixed solvent systems. Pharmaceutical Development and Technology, 4: 581-591.

Treves-Brown, K. M. 2000. Applied Fish Pharmacology. Kluwer Academic Publishers, Boston, MA, pp: 1-82.

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.

Ueno, R., Uno, K. and Aoki, T. 1992. Determination of oxytetracycline in blood serum by high-performance liquid chromatography with direct injection. J. Chromatogr. Biomed. Appl. 573, 333-335.

Ueno, R., Uno, K. and Aoki, T. 1995. Pharmacokinetics and bioavailability of oxytetracycline in cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata*. Dis. Asian Aquac. 2, 523-531.

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.

Uno, K. 1996. Pharmacokinetic study of oxytetracycline in healthy and vibriosis-infected ayu (*Plecoglossus altivelis*). Aquaculture 143: 33-42.

Uno, K. 2004. Pharmacokinetics of oxolinic acid and oxytetracycline in kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*. Aquaculture 230: 1-11.

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.

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.

USFDA (U.S. Food and Drug Administration). 2001. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance (Fourth Edition): Aquaculture Drugs, pp: 183 - 208.

Wang, Q., Liu, Q., Li, J. 2004. Tissue distribution and elimination of oxytetracycline in Japanese sea perch (*Lateolabras japonicus*) and black sea bream (*Sparus macrocephalus*) following oral administration. Aquaculture, 227: 34-40.

Wang, Q., Liu, Q., Li, J. and Wang, Q. 2008. Tissue distribution and elimination of norfloxacin in Japanese sea perch (*Lateolabras japonicus*) and black sea bream (*Sparus macrocephalus*) following multi-oral administration. Aquaculture, 278: 1-4.

http://en.wikipedia.org