

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**“SEFTİOFURUN YENİ DOĞAN BUZAĞILARDAKİ DOZAJ
REJİMİ ÜZERİNE DENEYSEL ŞOK VE KOMBİNE TEDAVİ
UYGULAMALARININ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ ”**

FERAY ALTAN

DOKTORA TEZİ

FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Muammer ELMAS

KONYA-2013

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**“SEFTİOFURUN YENİ DOĞAN BUZAĞILARDAKİ DOZAJ
REJİMİ ÜZERİNE DENEYSEL ŞOK VE KOMBİNE TEDAVİ
UYGULAMALARININ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ ”**

FERAY ALTAN

DOKTORA TEZİ

FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Muammer ELMAS

Bu araştırma TÜBİTAK (110O404) tarafından desteklenmiştir.

KONYA-2013

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Feray ALTAN tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: "Prof. Dr. Bünyamin TRAŞ"
Selçuk Üniversitesi

İmza

Danışman: "Prof. Dr. Muammer ELMAS"
Selçuk Üniversitesi

İmza

Üye: "Prof. Dr. Enver YAZAR"
Selçuk Üniversitesi

İmza

Üye: "Prof. Dr. Mehmet MADEN"
Selçuk Üniversitesi

İmza

Üye: "Doç. Dr. Feride KOÇ"
Erciyes Üniversitesi

İmza

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

İmza

"Prof. Dr. Tefik TEKELİ"

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Tedavide ilaç uygulamasının temel amacı hasta hayvanları tedavi etmektir. Hayvanlarda ilaç etkinliğinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalar hasta bireyler üzerinde gerçekleştirilirken, farmakokinetik çalışmalar sağlıklılarda yapılmakta ve dozaj rejimleri de hasta bireylere doz-etki ilişkisinde hiçbir değişikliğin olmadığı varsayılarak uygulanmaktadır. Ancak, ilaçların farmakokinetik özellikleri enfeksiyöz hastalıklarda gelişen akut faz cevabına bağlı olarak farklılık gösterebilir. Özellikle ateşle seyreden hastalıkların farmakokinetikte meydana getirdiği değişiklikler, hastalardaki ilaçların davranışı ve bağlantılı olarak ilacın etkinliği, yan tesirleri ve besin maddelerindeki rezidüleri yönünden mutlaka dikkate alınmalıdır.

Yeni doğan sepsisemi, buzağılarda yüksek ölüm ile seyreden en önemli hastalıklarından biridir ve dünyada olduğu gibi ülkemizde de büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bazı *E. coli* izolatları öncelikli olarak 5 günden küçük buzağılardaki ishalli durumların en önemli sebepleri arasında yer almaktadır. Ayrıca *E. coli* kökenli lipopolisakkaritler ise deneysel septik şok modelinin oluşturulması için yaygın olarak kullanılmaktadır. Doğal ve deneysel septik şokta gözlenen aşırı sitokin salınımı, oksidatif hasar, kalp-damar sisteminde bozukluk, yaygın damar içi pıhtılaşma ve çoklu organ yetmezliği sonucu ölüm gelişir. Günümüzde septik şokun hayvanlardaki klasik tedavisinde enfeksiyon odağının uzaklaştırılmasını takiben yoğun sıvı desteği, antibiyotik ve bunlara destek olarak non-steroidal antiinflamatuvar ilaç ya da glukokortikoid ile vazoaktif madde uygulaması yapılmaktadır.

Bu araştırma ile sahadaki tedaviye tam uyum gösteren diğer eşzamanlı uygulamalarla birlikte kullanıldığında seftiofurun sağlıklı ve endotoksemili hayvanlardaki karşılaştırmalı farmakokinetiği incelenerek, muhtemel dozaj rejimi değişikliklerinin tartışılması amaçlandı.

Bu araştırmanın gerçekleşmesinde bilimsel yardım ve desteklerini esirgemeyen başta danışmanım Prof.Dr. Muammer ELMAS olmak üzere Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr. Bünyamin TRAŞ, değerli hocalarım Prof.Dr. Ahmet

Levent BAŞ, Prof.Dr. Halis OĞUZ, Prof.Dr. Enver YAZAR'a ve projenin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Kamil ÜNEY, Dr. Ayşe ER, Arş. Gör. Gül ÇETİN ve Arş. Gör. Burak DİK'e, tezimin deneysel kısmını gerçekleştirdiğimiz S.Ü Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hocalarına ve personeline, Patoloji Anabilim Dalı Hocalarına ve personeline ayrıca Yrd. Doç. Dr. Alpaslan COŞKUN, Yrd. Doç. Dr. Özgür ÖZDEMİR ve Yrd. Doç. Dr. Zafer SAYIN'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Aileme, eşim Semih ALTAN, kızım Duru ALTAN ve bu tez çalışmasını maddi yönden destekleyen TÜBİTAK (110O404)'a da teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	Sayfa
1. GİRİŞ	1
1.1. Yeni Doğan Septisemisi	3
1.1.1. Etiyoloji	3
1.1.2. Patofizyoloji	4
1.1.3. Klinik Belirtiler	6
1.1.4. Tanı	7
1.1.5. Tedavi	7
1.2. Beta-laktamlar	11
1.2.1. Sefalosporinler	12
1.2.2. Seftiofur	14
1.3. Deneysel Modelleme	17
1.4. Hastalıkta İlaç Farmakokinetiği	18
2. GEREÇ ve YÖNTEM	24
2.1. Hayvan Materyali	24
2.2. Deneysel Gruplar ve İlaç Uygulamaları	24
2.3. Örnekleme Zamanı ve Çeşitleri	26
2.3.1. Aktif Madde Tayini İçin Plazma	26
2.3.2. Klinik Skorlama ve Monitorizasyon	26
2.3.3. Hemogram ve Kan Gazı Parametreleri Değerlendirmeleri	28
2.4. Plazma İlaç Düzeylerinin Belirlenmesi	28
2.4.1. Kimyasal Maddeler ve Solüsyonlar	28
2.4.2. HPLC ve Kromatografik Şartlar	29
2.4.3. Standart ve Stok Solüsyonlar	30
2.4.4. Plazma Örneklerinin Analiz İçin Hazırlanması	30
2.5. Metot Validasyon	31
2.5.1. Özgünlük (Specificity)	31
2.5.2. Doğrusallık (Linearity)	31
2.5.3. Duyarlılık (Sensitivity)	31
2.5.4. Kesinlik (Precision) ve Gerçeklik (Accuracy)	32
2.5.5. Geri Kazanım (Recovery)	32
2.6. Farmakokinetik Hesaplamalar	32
2.7. Mikrobiyolojik Prosedür	33
2.7.1. Kullanılan Alet ve Malzemeler	33
2.7.2. İlaç Standartları ve Besi Yerleri	33
2.7.3. Bakteri	33

2.7.4. MİK Belirleme	34
2.8. İstatistiksel Analizler	34
3. BULGULAR	35
3.1. Septik Şok Model Parametreleri	35
3.1.1. Klinik Skorlama	35
3.1.2. Monitorizasyon	35
3.1.4. Hemogram ve Kan Gazı Parametreleri	35
3.2. Plazma İlaç Düzeylerinin Belirlenmesi	45
3.2.1. Metot Validasyonu	45
3.3. Farmakokinetik Parametreler	48
3.4. Mikrobiyolojik Prosedür	49
3.4.1. MİK Belirleme	49
4. TARTIŞMA	52
4.1. Klinik Skorlama	52
4.2. Monitorizasyon	53
4.3. Hemogram ve Kan Gazı Parametreleri	54
4.4. Farmakokinetik	56
4.4.1. Metot	56
4.4.2. Plazma İlaç Düzeyleri	57
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	65
6. ÖZET	67
7. SUMMARY	68
8. KAYNAKLAR	69
9. EKLER	80
EK A. Etik Kurul Kararı	80
10. ÖZGEÇMİŞ	81

ÇİZELGE, ŞEKİL ve RESİM LİSTELERİ

Sayfa

Çizelge 1.1. Diyarejenik <i>E. coli</i> patotiplerinin adezinleri ve salgıladıkları toksinler	5
Çizelge 1.2. Seftiofur sodyumun bazı hayvan türlerinde belirlenen farmakokinetik parametreleri	16
Çizelge 2.1. İki grup iki fazlı çapraz ve paralel farmakokinetik dizaynın şematik sunumu ve hayvanlara uygulanan ilaçlar	25
Çizelge 2.2. Klinik Skorlama	27
Çizelge 2.3. İkili gradient mobil faz	29
Çizelge 3.1. Sağlıklı ve septik şoklu buzağılardan elde edilen klinik skorlama parametreleri	38
Çizelge 3.2. Sağlıklı ve septik şoklu buzağılardan elde edilen monitorizasyon bulguları	40
Çizelge 3.3. Sağlıklı ve septik şoklu buzağının hemogram parametrelerindeki değişimler	42
Çizelge 3.4. Sağlıklı ve septik şoklu buzağının kan gazları parametrelerindeki değişimler	43
Çizelge 3.5. Desfurilseftiofurun plazma kesinlik ve gerçeklik değerleri	48
Çizelge 3.6. Seftiofurun sağlıklı ve septik şoklu buzağılarda tek doz (2,2 mg/kg) kas içi uygulaması sonrası DFC'nin farmakokinetik parametreleri.	51
Çizelge 4.1. Tek doz (2,2 mg/kg) kas içi uygulama sonrası desfurilseftiofurun 7 günlük yaştaki sağlıklı buzağılardaki (n=6) bazı farmakokinetik parametreleri	58
Şekil 3.1. Desfurilseftiofurun suda gözlenen HPLC kromatogramları	45
Şekil 3.2. Desfurilseftiofurun plazmada gözlenen HPLC kromatogramları	46
Şekil 3.3. DFC'nin farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış plazma yüklemelerinin (0,05-20 µg/mL) kalibrasyon eğrileri ve korelasyon katsayıları	47
Şekil 3.4. Seftiofurun sağlıklı ve septik şoklu buzağılarda tek doz (2.2 mg/kg) Kİ uygulaması sonrası desfurilseftiofurun Ceft, LPS+Ceft, Comb ve LPS+Comb gruplarında yarı logaritmik plazma konsantrasyon-zaman eğrileri	50
Resim 3.1. Septik şok oluşturulmuş buzağının genel görünümü	37

SİMGELER ve KISALTMALAR

α	dağılım dönemi hız sabitesi
β	atılım dönemi hız sabitesi
μg	Mikrogram
μl	mikrolitre
ACN	Asetonitril
AIC	akaike information criteria
BEb	base excess blood
BEecf	base excess extra cellular fluid
BOS	beyin omurilik sıvısı
BPI	bakterisidal geçirgenliği artıran protein
C_{doruk}	doruk plazma konsantrasyonu
CL/F	total vücut klerensi
Cox	siklooksijenaz
ÇOY	çoklu organ yetmezlikleri
DFC	Desfurilseftiofur
Di	damar içi
dk	Dakika
DMSO	Dimetilsülfoksit
DTE	Dithioerythritol
E.coli	<i>Escherichia coli</i>
EAA	eğri altında kalan alan
EAggEC	enteroagregative escherichia coli
EHEC	enterohemorajik escherichia coli
EIEC	enteroinvaziv escherichia coli
EMD	eozin methylen blue
EPEC	enteropatojenik escherichia coli
ETEC	enterotoksijenik escherichia coli
GAHOK	günler arası hesaplanan ortalama konsantrasyon
ĞİHOK	gün içi hesaplanan ortalama konsantrasyon
GK	Glukokortikoid
Hbc	hemogloblin

HCO₃	bikarbonat iyon konsantrasyonu
HCO₃std	standart bikarbonat
HO	harmonik ortalama
HPLC	yüksek basınçlı likit kromatografisi
Htc	hematokrit
IL-1β	interlöykin -1 β
IL-4	interlöykin -4
IL-6	interlöykin -6
IL-8	interlöykin -8
IL-10	interlöykin -10
k₁₀	merkezi kompartman eliminasyon hız sabiti
k₁₂	merkezi bölmeden çevresel bölmeye geçiş hızı sabitesi
k₂₁	çevresel bölmeden merkezi bölmeye geçiş hız sabitesi
k_a	emilme hız sabiti
kg	Kilogram
Kİ	kas içi
LBP	LPS bağlayan protein
LOD	gözlenebilirlik sınırı
LOQ	ölçülebilirlik sınırı
LPS	Lipopolisakkarit
Lt	sıcak değişken enterotoksin
MİK	minimum inhibitör konsantrasyon
mL	Mililitre
mg	Miligram
NaCl	sodyum klorür
NCCLS	national committee for clinical laboratory standards
NO	nitrik oksit
NSAİ	non-steroidal antiinflamatuvar ilaç
pCO₂	venöz kanda parsiyel CO ₂ basıncı
pO₂	venöz kanda parsiyel O ₂ basıncı

R²	korelasyon katsayısı
Sen	shigella enterotoksin
SH	standart hata
SIRS	sistemik inflammatuar cevap sendromu
Sn	Saniye
SS	standart sapma
St	sıcak değişmeyen enterotoksin
STK	sulfonamid+trimetoprim
Stx	shiga toksin
t_{1/2α}	dağılım yarılanma ömrü
t_{1/2a}	emilim yarılanma ömrü
T_{doruk}	doruk plazma konsantrasyona ulaşma zamanı
TDM	terapötik ilaç düzeyi izleme yöntemi
t>MİK	antibiyotiğin plazmadaki konsantrasyonunun patojene karşı belirlenen MİK üzerinde muhafaza etmesi gereken süre
t_{1/2α}	ilacın dağılıma yarı ömrü
t_{1/2β}	eliminasyon yarılanma ömrü
t_{1/2ka}	ilacın emilme yarı ömrü
TNF_α	tümör nekrozis faktör alfa
V1F	merkezi kompartman dağılım hacmi
V2F	periferik kompartman dağılım hacmi
V_d	dağılım hacmi
VK	varyasyon katsayısı
YDP	yaygın damariçi pıhtılaşma

1. GİRİŞ

Septisemi, bakteriyemi, endotoksemi ve sepsis sistemik enfeksiyonu tanımlamak için kullanılan ve aralarında farklılıklar olan terimlerdir. “Bakteriyemi” hastanın kanında kültür metoduyla bakteri varlığının belirlendiği laboratuvar bulgusudur. “Endotoksemi” kan dolaşımında endotoksin (lipopolisakkarit) varlığını, “septisemi” kanda devamlı olarak patojenik mikroorganizmalar ve toksinlerinin varlığı ile ilgili sistemik bir hastalığı ifade etmek amacı ile kullanılır. “Sepsis” taşipne, anormal vücut ısı, kalp hızı ve lökosit sayısında artış/azalışın eşlik ettiği sistemik inflamatuvar cevap sendromu (SIRS) ile enfeksiyonun bir arada bulunmasını, “septik şok” ise gerekli sıvı ve semptomimetik ilaç uygulamalarına rağmen sepsis ve inatçı bir hipotansiyon ile hipoperfüzyonun geliştiği septik durumun şiddetlenmesi tanımlayan terimlerdir (Van Amersfoort ve ark 2003, Lopez-Bojorquez ve ark 2004, Nguyen ve ark 2006, Opal 2007).

Neonatal buzağı ishalleri dünyada olduğu gibi ülkemizde de büyük ekonomik kayıplara neden olan, %10-15’lik insidans ve şiddetli seyrettiği sürülerde %100’e yaklaşan mortaliteye neden olan önemli hastalıklardan biridir. Buzağılarda ishale bağlı ekonomik kayıplar sadece Amerika Birleşik Devletleri’nde yıllık 95.000.000 \$’ı geçmektedir (Allen ve White 1985). Teşhis çoğunlukla klasik klinik semptomlara veya bunlara dayandırılarak yapılan klinik skoreleme yöntemlerine ve laboratuvar bulgularına göre yapılır, ancak kesin teşhis için kan kültürü gereklidir (Nguyen ve ark 2006). Acil ve etkin tedavi uygulanmadığı zaman çok hızlı şekilde ilerler ve genellikle ölümle sonuçlanır. Buzağı ishallerinin tedavisinde antimikrobiyal ilaçlar, sıvı-elektrolit tedavi, inotropik ve damar büzücüler, non-steroidal antiinflamatuvar ilaç (NSAİ)’lar ya da glukokortikoidler ile sedatifler yaygın olarak kullanılır (De Paepe ve ark 2002, Constable 2007a, b, Traş ve ark 2009).

Yeni doğan sepsisinin etiyolojisinde birçok patojenin rol oynadığı bilinmektedir. Bakteri, parazit ve viruslar buzağılarda yeni doğan septisemilerinin oluşumundan sorumlu olurken, ana etken ise *Escherichia coli* (*E. coli*)’dir (Constable 2007a, Fecteau ve ark 2009, Foster ve Smith 2009, Lorenz 2009,

Wynn ve Wong 2010). *E. coli* insan ve hayvanların bağırsak florasında en çok bulunan fakültatif anaerob gram (-) bakteridir ve bu bakteriye bağlı gelişen buzağı ishallerinde elektrolit kaybı sonucu oluşan dehidrasyon ve lipopolisakkarit (LPS) artışına bağlı sepsis ve bununla ilgili durum değişiklikleri gözlenir (Bicknell ve Noon 1993, De Paepe ve ark 2002, Roberts ve ark 2011).

Bakteriyel hastalıklar, şok, gram (-) bakteriyemi, endotoksik şok ve ölüm oluşumunda endotoksin olarak da bilinen LPS'nin önemli rol oynadığı hayvan deneyleri ile belirlenmiştir (Hunt 2010). Gram (-) bakterilerin hücre duvarının aktif bir bileşeni olan LPS, enfeksiyon durumunda lökositlerin bakterileri parçalanması sonucu açığa çıkar ve sepsisin patogeneğinde rol oynayan çeşitli inflamatuvar mediyatörlerin salınımına neden olur (Jacobi 2002, Van Amersfoort ve ark 2003, Yang ve Lee 2008). Bu ortaya çıkan mediyatörler patofizyolojik değişikliklere neden olarak çeşitli organlarda bozukluklara ve ölüme neden olur (Nguyen ve ark 2006). LPS en geçerli septik şok modeli olarak kabul gördüğünden ve doğal enfeksiyon sonrası gelişen endotoksemilere benzerliği nedeniyle septik şoku modellemede tercih edilmektedir (Constable 2004, Elmas ve ark 2006 a, b, Constable 2007a, Elmas ve ark 2008, Yun ve ark 2010).

Enfeksiyonların tedavisinde esas adım antimikrobiyal ajanın etkinliğini en yüksek seviyeye çıkarıp toksisitesini en düşük düzeyde tutmaktır ve bu da terapötik ilaç düzeyi izleme taramalarıyla mümkün olmaktadır. Bu amaca uygun olarak hedef dokuda ulaşmak istenen terapötik konsantrasyonu sağlamak için gerekli olan optimum doz ve uygulama yolu farmakokinetik ve farmakodinamik çalışmalar sonucunda elde edilir (Hessen ve Kaye 2004, Pea ve ark 2005, Roberts ve ark 2011).

Klinik farmakolojinin en büyük hedefi hastalar ve hastalık durumları için optimum doz ve dozaj rejimini belirlemektir. Başarılı bir tedavi uygun dozaj rejimi ile sağlanabilir. Dozaj rejimi; dağılım hacmi, plazma konsantrasyonu, klerens ve eliminasyon yarılanma ömrü gibi farmakokinetik parametreler ve antimikrobiyaller için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) gibi farmakodinamik veriler yoluyla belirlenir (Urizar ve ark 2000, Traş ve Elmas 2005, Mckenzie 2011). Farmakokinetik çalışmalar genellikle sağlıklı bireylerde

yapılmaktadır. Ancak sağlıklı bireylerde belirlenen farmakokinetik parametreler hasta bireylerdeki farmakokinetik parametreleri yansıtmayacağı için tedavide yetersizliğe (direnç gelişimi, toksisite) ve maliyetin artmasına neden olabilmektedir (Goncalves-Pereira ve Pova 2011).

E. coli'den izole edilen LPS ilaçların emilim, dağılım, metabolizma ve atılımını değiştirebilir (Yang ve Lee 2008). Kritik hastalıklar ve sepsise bağlı patofizyolojik değişimler sonucu antibiyotiklerin dağılım hacmi artar ve oluşan çoklu organ yetmezliklerine bağlı olarak da klerenslerinde düşüş gözlenir. İlaç farmakokinetiğindeki değişimler hastalık durumunda dozaj rejiminde de değişiklik yapılmasını gerektirir (Mehrotra ve ark 2004, Choi ve ark 2009, Petrosillo ve ark 2010, McKenzie 2011, Textoris ve ark 2011).

1.1. Yeni Doğan Septisemisi

1.1.1. Etiyoloji

Septik şoka, genellikle gram (-) bakterilerin tespit edildiği enfeksiyonların neden olabileceği belirlenmiştir (Gerlach ve Keh 2004, Sanchez 2005). Epidemiyolojik çalışmalarda hem etçi hem de sütü yirmi bir günlükten küçük buzağılarda ishale neden olan en önemli etkenler; *E. coli*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Enterobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Cryptosporidium spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* ve *Rotavirus* türleridir (Ok ve ark 2008, Berchtold 2009, Constable 2009, Fecteau ve ark 2009, Millemann 2009, Kumar ve ark 2010).

Taksonomik olarak *Enterobacteriaceae* ailesine ait olan *E. coli* insan ve hayvanların bağırsak florasının bir kısmında (kolonun mukoz tabakasında) doğal olarak kolonize olan ve en çok bulunan fakültatif anaerob gram (-) bakteridir (Bicknell ve Noon 1993, Garmendia ve ark 2005, Gyles 2011). Patojen bakteri kaynağı muhtemelen çevre kontaminasyonudur ve enfeksiyon, göbek bölgesinden, uterusdan veya süt emen buzağılarda kontamine kolostrumun alınması ile oluşabilir (Fecteau ve ark 2009, Foster ve Smith 2009).

Enterik hastalıklara neden olan *E. coli* virülens faktörleri ve hastalık oluşturma mekanizmalarına göre patotiplerine ayrılır. *E. coli*'nin enterotoksijenik

(ETEC), enteropatojenik (EPEC), enterohemorajik (EHEC), enteroagregatif (EAggEC) ve enteroinvaziv (EIEC) adı verilen patotipleri bulunmaktadır. Bu patotiplerden ETEC, yeni doğan buzağı ve domuzlarda oluşan sulu ishalin en önemli ve yaygın nedenidir (Robins-Browne ve Hartland 2002, Nagy ve Fekete 2005, Fleckenstein ve ark 2010, Gyles 2011).

1.1.2. Patofizyoloji

Bakterilerin neden olduğu patofizyolojinin bilinmesi, özel tedavi ve kontrol protokollerinin belirlenmesine yardımcı olmaktadır (Foster ve Smith 2009). Buzağılar ağır kontamine çevrede doğdukları zaman normal yetişkin bağırsak florası oluşmadan önce virulent patojenler bağırsakların distal kısmına yerleşip hastalığa neden olabilirler (Fecteau ve ark 2009). Bakterinin ince bağırsakta varlığını sürdürmesi ve mideye alınmasına rağmen biyolojik olarak aktif hale gelmesi için “K antijenleri” olarak tanımlanan fimbrial antijenleri aracılığıyla ince bağırsak mikrovilluslarının üzerindeki fimbriyalar ile etkileşmesi gerekir. Gram (-) bakterilerin kapsülünde yer alan K-antijenleri, hücre duvarında O-antijenlerinin bulunduğu LPS varlığıyla karakterizedir ve hareketlerini H-antijenlerinin bulunduğu flagellaları ile yaparlar (Foster ve Smith 2009, Nagy 2009, Hunt 2010).

Enfekte olan ektravasküler dokular içinde kontrol edilemeyen yangının varlığı sepsis ve septik şokun patogenezinde anahtar faktör olarak rol oynar (Buttenschoen ve ark 2010). *E. coli*'ye bağlı buzağı ishallerinde elektrolit kayıplı dehidrasyon, LPS artışına bağlı gelişen sepsis ve bununla ilgili durum değişiklikleri gözlenir (Bicknell ve Noon 1993, De Paepe ve ark 2002, Roberts ve ark 2011).

E.coli patotipinin (Çizelge 1.1) virülens faktörleri farklıdır. Genellikle ya bakterilerin bağırsak mukozasına sıkıca bağlanmasına neden olan kolonizasyon faktörleri (adezinler) ya da konakçı hücrelerinin normal fizyolojik süreçlerini değiştiren toksinler olarak sınırlandırılabilir (Robins-Browne ve Hartland 2002). ETEC enfeksiyonlarının bir veya sınırlı sayıda spesifik reseptörünün varlığı, bu enfeksiyonun adezyon ve kolonizasyon bakımından hayvan türlerinde farklı olmasından sorumludur. Bu reseptörlerin konakçıdaki miktarı genç hayvanları

daha duyarlı hale getirir. EIEC'in ishal oluşturma mekanizması açık olmamasına rağmen enterotoksinin buna katkıda bulunduğu düşünülmektedir. EHEC verotoksin ve shiga benzeri toksin üreten *E. coli* suşudur ve STEC olarak da bilinir. Hayvanlardaki ETEC suşu EHEC'in aksine zoonoz değildir (Nagy ve Fekete 2005). EPEC, epitele penetre olmadan farklı plazmidler aracılığıyla bağırsaklarla temas ederek bir protein olan EspF salgılayarak ishal oluşumuna neden olan *E. coli* patotipidir (Robins-Browne ve Hartland 2002, Taxt ve ark 2010, Gyles 2011).

Çizelge 1.1. Diyarejenik *E. coli* patotiplerinin adezinleri ve salgıladıkları toksinler (Robins-Browne ve Hartland, 2002).

Patotip	Adezinler	Salgılanan toksinler
ETEC	Kolonizasyon Faktör Ajanları	Lt ve St
EIEC	İnvazyon-Plazmid Ajanlar	Sen
EPEC	İntimin	<i>E. coli</i> -Salgılanan Protein F
EHEC	İntimin	Stx1-Stx2
EAEC	Fimbriyalar	Plazmidle Kodlanan Sitotoksin

ETEC; enterotoksijenik *E. coli*, EIEC; enteroinvasiv *E. coli*, EPEC; enteropatojenik *E. coli*, EHEC; enterohemorajik *E. coli*, EAEC; enteroaggregatif *E. coli*; Lt; sıcak değişken enterotoksin, St; sıcak değişmeyen enterotoksin, Sen; Shigella enterotoksin, Stx; shiga toksinler.

Gram (-) bakterilerin hücre duvarında bulunan LPS, sistemik inflamasyon, septik şok, çoklu organ yetmezlikleri ile ölüm oluşumundan sorumlu ana etkindir (Wynn ve Wong 2010). Çoğu protein yapılı ekzotoksinlerin aksine gram (-) bakterilerin endotoksinleri enzimatik veya intrinsik aktiviteye sahip değildir (Munford 2005). LPS'nin lipid A kısmı yağ asidi yapısında, endotoksik gücü türler arasında değişen ve biyolojik etkilerinden sorumlu en az değişken LPS bileşenidir (Hodgson 2006). Sağlıklı hayvanlarda düzenli olarak bağırsaklardan portal dolaşıma giren bakteri ve endotoksin, retikuloendotelial sistem tarafından sistematik olarak uzaklaştırılır. Bakteriyel büyüme, bağışıklık sistemi hücrelerinin ölümü veya antibiyotik tedavisi ile bakteri duvarının hasarına bağlı uzaklaştırılabilenden fazla LPS salınımı ile sistemik bozukluklar oluşabilir (Hodgson 2006, Buttenschoen ve ark 2010, Hunt 2010).

Endotoksinin konakçı ile etkileşmesi reseptörler, yüksek dansiteli lipoprotein, yüzey bağlantıları, antimikrobiyel peptidler, LPS bağlayan protein (LBP), CD14, bakterisidal geçirgenliği artıran protein (BPI), lökosit integrin ve CD18'i kapsayan araçlar yardımı ile olur (Munford 2005, Hodgson 2006, Morgan 2009, Buttenschoen ve ark 2010). LBP, karaciğerde üretilen, tek bir LPS molekülünü uzaklaştırabilen ve monositlere bağlanarak hücre aktivasyonuna neden olan bir proteindir. LPS'nin konakçı ile etkileşmesi LBP aracılığıyla başlar (Opal ve Ju 1998, Cohen 2002, Munford 2005, Hodgson 2006, Rosenfield ve Shai 2006). Aktivasyon monositlerden proinflamatuvar sitokinler (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF α), antiinflamatuvar sitokinler (IL-4, IL-10) (Wynn ve Wong 2010), nitrik oksit (NO) (Buttenschoen ve ark 2010) ve prostoglandin E₂ (Munford 2005) gibi yangı belirteçlerinin üretimine neden olur. Ortaya çıkan tüm mediatörler çeşitli etkilere sahiptir ve kontrol edilemezlerse sepsisin sistemik klinik sonuçlarının (epitelyal geçirgenlikte artış, kalp kası depresyonu, organ hasarları, damar içi pıhtılaşma) ortaya çıkmasına neden olurlar (Fecteau ve ark 2009).

Sepsis ve septik şokta meydana gelen dolaşım bozukluğu sonucu hayati organlarda oluşan doku hipoksisi organ yetmezliklerine neden olur Sepsisin en önemli komplikasyonları yaygın damar içi pıhtılaşma (YDP) ve çoklu organ yetmezlikleri (ÇOY)'dir (Zeerleder ve ark 2005, Raghavan ve Marik 2006). YDP, sepsisli hastalarda ortaya çıkan patolojik değişikliklere bağlı olarak damar içi pıhtı oluşumu ile karakterize bir sendromdur (Levi ve ark 2002, Levi 2005, Wang ve ark 2008). Sepsiste LPS ve diğer mikrobiyel bileşenler, mononükleer ve endotelial hücreler üzerinde doku faktörlerinin ekspresyonunu indükler ve bir seri proteolitik süreci aktive ederek fibrin oluşumuna neden olurlar. Oluşan fibrin kılcal damarlarda birikerek yetersiz doku perfüzyonu, kanama ve ÇOY'a neden olur (Cohen 2002, Zeerleder ve ark 2005, Franchini ve ark 2006).

1.1.3. Klinik Belirtiler

Septisemi veya koliseptisemi yeni doğan buzağının hayatlarının ilk 2-6 gününde hızlı ilerler ve sıklıkla ölüme neden olur (Fecteau ve ark 2009). *E. coli*'ye bağlı yeni doğan buzağı ishalleri çoğu zaman mukuslu sulu sarı, gri veya yeşilimsi bazen kanlı ishal, tedavi edilmezse gittikçe şiddetlenen dehidrasyona

bağlı elektrolit kaybında artma ve buna bağlı oluşan ölümle karakterize bir hastalıktır (Bicknell ve Noon 1993). Klinik semptomlar hastalığın çok erken dönemlerinde belirsizdir ve diğer hastalıklara çok benzer tablolar sergiler (Fecteau ve ark 2009). LPS artışına bağlı olarak hiperdinamik (tipik olarak yüksek kardiyak verim, düşük pulmoner arteriel basınç, düşük periferik vasküler direnç) ve hipodinamik (düşük kardiyak verim ve sistemik vasküler direnç) faz değişiklikleri gözlenir. Çoğunlukla orta dereceli depresyonla koma arasında seyreden bir mental durum tablosu ve emme refleksi kaybı erken nonspesifik klinik bulgulardandır (Roberts ve ark 2011).

Sepsiste ortaya çıkan sistemik inflamatuvar cevap sendromuna (SIRS) bağlı olarak bir veya daha fazla organ yetmezliği ve buna bağlı klinik ve laboratuvar bulgularında değişiklikler ortaya çıkar (Nyguen ve ark 2006). Durgunluk, ishal, mental değişiklik, müköz membranlarda hiperemi, kalp atım sayısında artış, düşük tansiyon, hipovolemi, ekstremitelerde soğukluk, idrar çıkışında azalma, iştahsızlık, yüksek ateş (bazen düşük ateş), solunum sayısında artış (Jacobi 2002, Cunningham ve Nadel 2008, Dellinger ve ark 2008, Fecteau ve ark 2009), pıhtılaşmada anormallikler, lökositoz/lökopeni, trombositopeni, kan şekerinde yükselme (bazen düşme) ve hiperlaktatemi (Nyguen ve ark 2006), YDP ve ÇOY (Zeerleder ve ark 2005) belirtileri gözlenir.

1.1.4.Tanı

Sepsis/septik şokta erken teşhis için anamnez, klinik ve laboratuvar bulgularını birlikte değerlendirilmesi gerekir (Nguyen ve ark 2006). Yeni doğan taylarda sepsiseminin erken tanısı için valide edilmiş geçerli bir skorlama metodu olmasına rağmen, buzağılarda duyarlı, spesifitesi yüksek bir skorlama yöntemi henüz oluşturulamamıştır (Constable 2007a). Enfeksiyonun en önemli bulgusu ateştir (>39 ya da <36 °C), ancak hastada genel görünüm bozukluğu, kalp atım sayısında artış, hipotansiyon ve taşipne diğer değerli SIRS verileridir (Nguyen ve ark 2006). Septik şokta, standart biyokimyasal panel, ayrıntılı akyuvar sayımı, hemoglobin (Hb), hematokrit (Htc) (Nguyen ve ark 2006), laktat (Castagnetti ve ark 2010), antitrombin ve fibrinojen (Favaloro 2010) ölçümlerinin yapılması teşhise yardımcı olur.

1.1.5. Tedavi

Buzağılarda tedavinin amacı öncelikli olarak enfeksiyonu kontrol altına almak [gram (-) sepsis ve bakteriyemiyenin tedavisi veya önlenmesi], yangısal cevabı modüle etmek, bağırsak hasarına bağlı oluşan sıvı ve elektrolitlerin dışkı ile kaybıyla şiddetlenen dehidrasyonu düzeltmek ve analjezi ile de stresi önlenmektir (Berchtold 2009, Constable 2009, Fecteau ve ark 2009, Foster ve Smith 2009). Sepsis/septik şoka bağlı gelişen organ yetmezliklerinin oluşmaya başladığı zaman altın saatler olarak adlandırılır ve bu saatlerde yapılan uygulamalar hayatta kalmayı artırır (Raghavan ve Marik 2006). Günümüzde septik şok veya endotoksemi tedavisinde;

- Enfeksiyon odağının uzaklaştırılması,
- Gram (-) spektruma sahip antimikrobiyal ajan kullanılması,
- Kısmi hipovolemi, hipoglisemi, asit-baz ve elektrolit dengesizliklerini düzeltmek için yoğun sıvı-elektrolit tedavisi,
- Siklooksijenaz (Cox) yolağı ürünlerinin inhibisyonu için NSAİ veya glukokortikoid uygulamaları yapılmaktadır.

Yukarıda ifade edilen bu dört tedavi rutin olarak mutlaka yapılmaktadır. İnotropik ajan veya vazopressörler, polimiksin B ve LPS'ye spesifik hiperimmün serum uygulaması gibi diğer tedaviler bazı durumlarda gerçekleştirilebilir. Günümüzde araştırma safhasında olan bazı ajanların (pentoksifilin, DMSO, tiloksapol, insulin) rutin tedavide kullanılması kesinlikle tavsiye edilmemektedir (Constable 2007a, b, Constable 2009, Traş ve ark 2009). Tüm bu girişimlerle düşen kan basıncını dengede tutup yaşamsal organlara gelen kan akışının yeterli düzeyde sağlanması ve doğal bağışıklık sisteminin güçlenmesi ile istenmeyen yangının önlenmesi amaçlanmaktadır (Constable 2007a, Buttenschoen ve ark 2010).

Bakterisit etkili gram (-) spektrumlu ajanlar endotoksemiye neden olabilecek lokalize bir enfeksiyonun veya sepsiseminin varlığında her zaman endikedir. Uygulama yolu ve ilaç seçimi enfeksiyona neden olan patojene ve yerleştiği bölgeye göre değişir. Bakterinin ilaç tarafından öldürülme hızı klinik açıdan çok önemlidir. Çünkü bu durumda parçalanma ürünü olan LPS'lerin yoğun seviyesinin aniden kana geçmesi, vakayı daha da kötüye götürebilir. Gram (-) bakterilere etkili beta-laktamların uygulanması sonrasında da bu tür bir durum söz konusu olsa da klinik deneyimler böyle zararlı etkilerinin olmadığını

göstermiştir. Ayrıca aminoglikozidlerin beta-laktamlar ile kombine uygulanması beta-laktamların LPS'nin bolus salıverilme ihtimalini daha da azaltmaktadır (Constable 2007a, b). Sepsis/septik şokun teşhisinden birkaç saat sonra antibiyotik uygulamasına başlanması hayatta kalmayı etkilemektedir (Textoris ve ark 2011).

Çoğu vakada olduğu gibi septisemiye menenjit eşlik ediyorsa beyin omurilik sıvısına (BOS) rahat geçebilen ve ruminantlarda kullanımı onanmış ilaçlar seçilmelidir. Bu amaçla seftiofur (5-10 mg/kg, günlük 1-3 kez, Kİ/Dİ), sodyum ampisilin (10-20 mg/kg, günlük 3 kez, Dİ), enrofloksasin (5 mg/kg, günlük 2 kez, Dİ) veya sulfonamid+trimetoprim (STK) kombinasyonları (5 mg/kg, günlük 2-3 kez, Dİ) kullanılabilir. Bu dozaj rejimleri farmakokinetik uygunluk çalışması yapılmadan ampirik olarak kullanılmakta ve tavsiye edilmektedir (Fecteau ve ark 2009).

Yeni doğan buzağılarda vücut ağırlığının yaklaşık %75'i sudan ibarettir ve bu oranın çoğu hücre dışı sıvı hacmine ait olması yetişkinlerle kıyaslandığında yeni doğanların sıvı kayıplarına daha duyarlı olmasına neden olur (Berchtold 2009). Endotoksemi tedavisinde kan hacmini düzenlemek, çevresel dokulardaki kan dolaşımını sağlamak ve devam ettirmek için sıvı ve elektrolitlerin büyük miktarlarda damar içi (Dİ) uygulanması çok önemlidir ve esas teşkil eder (Girbes ve ark 2008). Dengeli solüsyonlar birkaç saat içinde verilmelidir. Bu sayede;

- Periferik vazokonstriksiyon düzelir,
- Kabul edilebilir bir nabıza ulaşılır,
- İdrar verimi normalleşir,
- Merkezi venöz basınç artar,
- Arterial kan basıncı restore olur,
- Kalp verimi restore olur,
- Oksijen salınımı restore olur ve kabul edilebilir seviyeye döner.

Hipoglisemi, glukoz kullanımındaki artış ve iştahsızlık genellikle mevcut olduğundan glukoz mutlaka verilen sıvılar içinde bulunmalıdır. Ayrıca hipertonic NaCl ve sodyum bikarbonat çözeltileri de oldukça faydalıdır (Cambier ve ark 2005, Berchtold 2009).

Septik durumda gözlenen onkotik basınçtaki düşüş ve kapiller permeabilitedeki azalma kolloid veya kristalloid kullanımını gerektirebilir. Hipotansiyon durumlarında kolloid çözeltiler (dekstran, jelatin polimerleri, nişasta bileşikleri) plazma hacmini kristalloid olanlara göre daha güçlü ve uzun süreli olarak yükseltir ve daha küçük hacimleri tedavi için yeterlidir. Fakat kolloid solüsyonlar atlarda yaygın olarak kullanılırken sığırlarda pahalı olduklarından nadiren kullanılır.

Şokun erken safhalarında kullanılan kristalloidler etkili olurken fazla miktarda kullanıldıklarında onkotik basıncın düşmesine neden olarak çevre dokularda ve akciğerde ödeme neden olabilirler. Bu nedenle bu tür durumlarda damarda uzun süre kalan, basıncı hızla artıran ve ödem eğilimi oluşturmeyen kolloid çözeltiler tercih edilmelidir. Özellikle hipertonic olanlar başta olmak üzere tuzlu çözeltilerle kombine kolloidallerin, tek başına hipertonic tuz çözeltilerine göre daha etkili oldukları bildirilmektedir (Boucher ve ark 2006, Berchtold 2009, Traş ve ark 2009).

İshale bağırsak krampları ve abdominal ağrı eşlik ettiğinden ishal tedavisinde analjezik ve antiinflamatuvar ajan olarak glukokortikoidler ve NSAİ (meloksikam, ketoprofen, flunixin meglumin) kullanılabilir. Veteriner hekimlikte septik şokta NSAİ'lar beşeri hekimlikten daha sık kullanılmaktadır. Yapılan araştırmaların sonuçları da kullanımının faydalı olduğuna işaret etmektedir (Constable 2009, Fecteau ve ark 2009).

Güçlü etkili bir glukokortikoid (GK) olan deksametazon ve diğer GK'ler bazı şok tiplerinin (septik, anaflaktik, hemorajik) tedavisinde kullanılmaktadır (Girbes ve ark 2008, Elmas 2009). GK'lerin LPS uygulaması sonucu ortaya çıkan sitokinleri ve YDP'deki artışları ve bunlara bağlı oluşan organ hasarlarını engellediği belirlenmiştir (Boyer ve ark 2006). GK'ler ;

- Organel ve hücre zarı stabilizasyonuna neden olmaları,
- Glukoneogenez ve hücre metabolizmasını artırmaları,
- Mikrosirkülasyona olumlu katkıları,
- Myokardial baskılayıcı faktör gibi endojen toksinlerin üretimini azaltmaları,

- Lökosit aktivasyonu ve degranülasyonu azaltmaları,
- Kapillar endotelyal bağlantı ve doku perfüzyonunu ilerletmeleri, pıhtılaşma şelalesini ve komplement aktivasyonunu azaltmaları,
- Histolojik organ hasarı (hepatik hasar) ve retikuloendotelyal depresyonu minimize etmeleri ve hayatta kalmayı artırmaları nedeniyle endotoksemi ve şok tedavilerinde geçmişte oldukça fazla kullanılmışlardır. Ancak bu etkiler için genellikle kullanılan yüksek dozlarda immün baskı da oluşmaktadır.

Vazoaktif ilaçlar, sıvı takviyesi tüm hayati organların perfüzyonunu düzeltmek için yetersiz kalırsa kullanılmalıdır. Birçok vazoaktif ilaç hem kalp hem de periferik dolaşım sistemi üzerinde birçok etkiye sahiptir. Kritik durumlarda inotropik ajanlar kalbin kontraktilesini artırarak kalp verimi ve O₂ salınımını artırır. Vazopressörler de sistemik arteriyel kan basıncını artırır (De Paepe ve ark 2002, Girbes ve ark 2008).

Hemodinamik olarak aktif olan ilaçlar böbrek kan akışını ve buna bağlı olarak glomerüler filtrasyon ve tubuler salgılanmayı etkileyerek renal klerensi modifiye ederler (Scaglione ve Paraboni 2008). Kalbi stimüle ederek ve periferik damar direncini azaltarak kalp debisinde etkin biçimde artışa neden olan dopamin, septik şokta gelişen hemodinamik durum değişikliklerini düzeltmek için ilk tercih edilen ilaçlardandır (Girbes ve ark 2008). İnfüzyon hızına bağlı olarak etkisi değişir (Kayaalp 2009). Birçok hidrofilik ve bazı lipofilik antibiyotiklerin renal klerensini beklenenden daha fazla artırır (Scaglione ve Paraboni 2008).

1.2. Beta-laktamlar

Beta-laktam antibiyotikler (penisilinler, sefalosporinler, karbapenemler, monobaktamlar)'ın yeni nesil üyeleri hariç genellikle hidrofilik ve asidik, ökaryotik hücrelerin plazma membranından kolaylıkla geçemeyen, hücre içi patojenlere karşı etkisiz, fizyolojik pH'da iyonize, hücreler arası sıvılarda yüksek konsantrasyonda bulunan, plazma proteinlerine bağlanma oranları değişken, sınırlı bir dağılım hacmine sahip ve özellikle böbrek yoluyla değişmeden atılan ilaçlardır (Andes ve Craig 2002, Toutain ve ark 2002, Mckinnon ve Davis 2004, Pea ve ark 2005, Roberts ve Lipman 2009). Gram (+) bakterilere karşı post

antibiyotik etkilerini gösterirlerken, gram (-)'lere karşı yok denecek kadar azdır (Andes ve Craig 2002, Mehrotra ve ark 2004). Geniş spektrumlu olmaları ve yüksek derecede tolere edilebilirlikleri nedeniyle sepsisli hastalarda en yaygın olarak kullanılan antibiyotik grubudur (Sinnollareddy ve ark 2012).

Bakteri hücre duvarında bulunan penisilin bağlayan proteini etkilemeleri ile oluşan bakteriyel hücre duvarı sentezinin bozulması ile etkilerini gösterirler (Van Krimpen ve ark 1987, Hornish ve Kotarski 2002, Owens ve Shorr 2009). *In vivo* hayvan deneyleri beta-laktamların etkinliğinin tamamen minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) üzerinde geçen zaman ($t > \text{MİK}$, antibiyotiğin plazmadaki konsantrasyonunun patojene karşı belirlenen MİK üzerinde muhafaza etmesi gereken süre) ile ilişkili olduğunu ve zamana bağımlı (time-dependent) etki gösterdiğini ortaya koymuştur (Craig 1998, Andes ve Craig 2002, Hessen ve Kaye 2004, Mehrotra ve ark 2004, Nicolau 2008, Roberts ve Lipman 2009).

Patojen üzerinde maksimum öldürücü etkinliklerinin plazma konsantrasyonlarının geniş bir periyotta 4 veya 5 x MİK değeri üzerinde kalmasına ($t > 4\text{-}5 \times \text{MİK}$) bağlı olduğu ve klinik iyileşme için bu değer in doz intervallerinde %100 sürdürülmesi gerektiği bildirilmektedir (Pea ve Viale 2009). Ancak, geleneksel bolus doz rejimlerinde plazma beta-laktam konsantrasyonları, doz intervallerinde patojen için belirtilen MİK düzeylerinden daha aşağıya düşebilir. Bu durum klinik iyileşmede ve dirençli patojenlerin ortaya çıkması yönünde olumsuz etkilere yol açar. Bu durum dozaj rejimlerinin optimize edilmesi, ilaç düzeylerinin izlenmesini ve farmakokinetik parametrelerin belirlenmesini gerektirir (Roberts ve Lipman 2006, Pea ve Viale 2009).

1.2.1. Sefalosporinler

Sefalosporinler insan hekimliğinde olduğu gibi veteriner hekimliğinde de yaygın olarak kullanılan ve toksisitelerinin az olması sebebiyle çok tercih edilen, ancak aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olabilen beta-laktam grubu ilaçlardır. *Cephalosporium acremonium* mantarı tarafından üretilen sefalosporin C'den elde edilen yarı sentetik antibiyotiklerdir (Van Krimpen ve ark 1987, Pehourcq ve Jarry 1998, Hornish ve Kotarski 2002). Dört üyeli beta-laktam halkası ile kaynaşmış 6 üyeli dihidrotiazin halkası içeren tüm gerçek sefalosporinler, 7-

aminosefalosporonik asit çekirdeğini ihtiva eder (Pehourcq ve Jarry 1998, Hornish ve Kotarski 2002). Önceleri bu bileşiğin yüksek kimyasal aktivitesi için dört üyeli beta-laktam halkasının doğal yapısı ve bisiklik sistemde düzlemsel geometrisinin etkili bir faktör olduğu düşünülmekteydi. Kritik analizlerde konusu geçen faktörlerin reaktivite ve biyolojik aktivite için önemsiz olduğu, ancak biyolojik sistemde antibiyotiklerin reseptöre bağlanması, taşınması ve ilgili enzim sisteminin inhibisyonu gibi biyolojik aktivite için gerekli olduğu gösterilmiştir (Van Krimpen ve ark 1987; El-Shaboury ve ark 2007).

Betalaktam halkası ile birlikte C3 (R2), C4 ve C7 atomları bu bileşiklerin biyolojik aktiviteleri için önemli faktörlerdir. Sefalosporinlerin yapısal değişiklikleri, etki spektrumları ve farmakokinetik özelliklerinde farklılıklara yol açar. Antibakteriyel aktivite için beta-laktam halkasının gerekli olduğu ve bu halkanın herhangi bir noktasındaki ayrılma antibakteriyel aktivitenin tamamen kaybı ile sonuçlanır. Sefalosporinlerin C7 pozisyonu alt ünite serilerindeki farklılıklar etki spektrumu ve betalaktamaza dayanıklılık derecelerini belirlerken, R2 zincirindeki değişimler farmakokinetik ve toksik özelliklerini değiştirir (Kalman ve Barriere 1990, Hornish ve Kotarski 2002, El-Shaboury ve ark 2007).

Sefalosporinlerin bakteriyel etkilerini diğer beta-laktam antibiyotikler gibi bakteriyel hücre duvarı sentezini bozarak ve otolizini aktive ederek gerçekleştirir (Van Krimpen ve ark 1987, Hornish ve Kotarski, 2002). Memelilerin hücre duvarında peptidoglikan tabakası olmadığından memeli hücrelerini etkilemezler (Van Krimpen ve ark 1987). Yeni nesil sefalosporinler (sefkuinom ve seftiofur) çoğu gram (+) ve (-) bakterilere, betalaktamazlara dirençli bakterilere ve bazı anaerobik bakterilere karşı etkilidir. Sefalosporinler klinik olarak birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü kuşak olarak sınıflandırılırlar. Birinci kuşaktan dördüncü kuşağa geçildikçe etki spektrumları gram (+)'den gram (-)'e kayar (Hornish ve Kotarski 2002, El-Shaboury ve ark 2007).

Oral ve parenteral olarak kullanıldıkları zaman çoğu dokuya (serebrospinal, pleural ve sinoviyal sıvı, kemik) çok iyi bir şekilde dağılırlar. Plasentayı aşar ve süte çok az konsantrasyonlarda geçerler. Ancak bazılarının aside dayanıksız olması veya sindirim kanalından az emilmeleri parenteral olarak kullanılmalarını gerektirir. Betalaktamazlara penisilinlerden daha dayanıklıdır,

ancak bakterilerde betalaktamaz üretimini uyarırlar. Sefaperazon ve seftriakson dışında kalan sefalosporinler çoğunlukla böbrekler yoluyla atılırlar (Van Krimpen ve ark 1987, Kalman ve Barriere 1990, Kaya 2000, Traş ve ark 2009).

1.2.2. Seftiofur

Kimyasal yapısı (6R,7R)-7-[(2-amino-4-thiazolyl)-Z-(methoxyimino)acetyl]amino-3-(2-furanylcabonyl)thio]methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4,2,0]oct-2-ene-2-carboxylicacid) şeklinde tanımlanır. Hayvanlarda kullanım için geliştirilmiş, gram (+) ve gram (-) bakterilere etkili, geniş spektrumlu üçüncü nesil sefalosporindir. *Pasteurella spp.*, *Heamophilus spp.*, *Salmonella spp.*, *Mannhemia spp.* ve *Actinobasillus spp.* gibi çoğu bakteriyel patojenlere karşı *in vitro* olarak yüksek etki gösterir (Hornish ve Kotarski 2002). Domuzda solunum sistemi, eklem hastalıkları ve sepsisemi, sığırdaki solunum sistemi ve ayak enfeksiyonları, at ve koyunlarda solunum sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanımı onaylanmıştır (EMA 1999, 2002, 2006, 2009, 2010). Hindi palazları ile günlük civcivlerin erken ölüm hastalıkları ve sığırlarda uterus ile meme enfeksiyonlarının tedavisinde kullanımı önerilmektedir (Hornish ve Kotarski 2002, Sheldon ve ark 2004, Wenz ve ark 2005, Beagley ve ark 2010). Ayrıca yeni doğan buzağılarda sepsisemi ve menenjit tedavisinde (Fecteau ve ark 2009), buzağı ishallerinin tedavisinde ise onaylanmamış olmasına rağmen kullanımı önerilmektedir (Constable 2009). İshal ve bakteriyemiyin eşlik ettiği buzağılarda *E. coli* endotoksemisi tedavisinde parenteral uygulanan en akılcı ve uygun antibiyotik seftiofur olduğu, ancak önerilen dozun (2,2 mg/kg) ise hiç bir ülkede onaylanmamış ve endikasyon dışı kullanım olduğu bildirilmektedir (Constable 2003, 2004, 2007b).

Seftiofur buzağılarda kas içi uygulandıktan sonra uygulama yerinden emilimi iyidir ve yaklaşık 1-2 saat sonra pik konsantrasyonuna ulaşır. İlacın metabolizması biraz karmaşıktır. Seftiofurun sistemik yarılanma ömrü tiyoester bağlarının hızlı parçalanmasından dolayı 10 dakikadan daha kısadır ve vücutta hızla etkin metabolitleri olan desfurilseftiofur (DFC) ve desfurilseftiofur dimere (DFC-dimer) dönüşür. Seftiofurun beta-laktam halkası ise DFC’de değişmeden kalır. DFC disülfid ve tiyoester bağları seftiofurun doku ve plazma proteinlerine kovalent olarak bağlanmasından sorumludur. Plazma proteinlerine bağlanma oranı

DFC'nin yarılanma ömrünü uzatır, beta-laktam halkasının ayrılmasını engeller, karaciğer ve böbrekler yoluyla atılım hızını azaltır. Verilen ilacın %95'i ilk 24 saat içinde vücuttan atılır. Bu oranın yaklaşık %50-80'i idrar yoluyla gerçekleşirken geri kalanı dışkıyla atılır (Beconi-Barker ve ark 1995, Brown ve ark 1996, Kaya 2000, Hornish ve Kotarski 2002). DFC pH 7-8'de plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanan, mikrobiyolojik olarak aktif olan ve furoik asitten serbest kalan tiyoester bağlarının hidrolitik olarak yıkımlanmasından meydana gelen ana metabolitidir. Hayvanlar arasında metabolitlerin miktarındaki kantitatif farklar muhtemelen sistein ve glutasyon gibi endojen reaktantların ve onların oksidatif ürünlerinin miktarından ve disulfid metabolitlerinin dönüşümlü olmasından kaynaklanır (Beconi-Barker ve ark 1995). Yapılan farmakokinetik çalışmalarda (Çizelge 1.2), seftiofur sodyumun doza ve hayvan türüne göre geniş varyasyonlar göstermekle birlikte uygulandığı yerden hızlı emildiği, yüksek oranda plazma proteinlerine bağlandığı (%89-91), vücuttaki sıvı kompartmanlara geniş oranda dağıldığı (V_d : 0,29-1,67 L/kg), uzun yarılanma ömrüne ($t_{1/2\beta}$: 3,8-22,2 saat) sahip olduğu ve böbrekten yavaş atıldığı (CL: 11,1-81,8 mL/kg/saat) gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. Seftiofur sodyumun bazı hayvan türlerinde belirlenen farmakokinetik parametreleri.

Hayvan Türü	Verilme yolu	Doz (mg/kg)	V _d (L/kg)	t _{1/2β}	CL	Kaynaklar
İnek	Dİ	2,2	0,298	15,3 (saat)	0,013 (mL/kg/saat)	Liu ve ark 2010
Buzağı (7 günlük)	Dİ	2,2	0,352	22,2 (saat)	14,3 (mL/kg/saat)	Brown ve ark 1996
Keçi	Dİ	2,2	0,25	254 (dk)	1,11 (mL/kg/dk)	Courtain ve ark 1997
Domuz	Kİ	3,0	0,527	21 (saat)	0,017 (L/kg/saat)	Tantituvanont ve ark 2009
At	Dİ	1,0	0,769	21,5 (saat)	81,8 (mL/kg/saat)	Collard ve ark 2011
Tay	Dİ	5	0,741	7,78 (saat)	74,4 (mL/kg/saat)	Meyer ve ark 2008
Alageyik	Kİ	250/hayvan	1,67	7,7 (saat)	0,15 (L/kg/saat)	Drew ve ark 2004a
Lama	Kİ	2,2	0,61	8,1 (saat)	61,8 (mL/kg/saat)	Drew ve ark 2004b
Alpaga	Kİ	1,0	0,574	6,87 (saat)	71,3 (mL/kg/saat)	Drew ve ark 2004b
Fil	Dİ	1,1	0,87	3,8 (saat)	0,069 (L/kg/saat)	Dumonceaux ve ark 2005
Hindi	DA	1,4-2,9	--	8,65 (saat)	1,6 (mL/kg/dk)	Tell ve ark 1998

V_d; dağılım hacmi, t_{1/2β}; eliminasyon yarılanma ömrü, CL; total klerens, EAA; eğri altında kalan alan, Dİ; damar içi, Kİ; kas içi, DA; deri altı.

1.3. Deneyisel Modelleme

Endotoksin olarak da bilinen gram (-) bakterilerin hücre duvarının bir parçası olan LPS'nin birçok fizyolojik fonksiyonun değişimine ve birçok organda hasar oluşumuna neden olduğu hayvan deneyleri ile belirlenmiştir (Tomlinson ve Blikslager 2004, Hodgson 2006, Buttenschoen ve ark 2010, Hunt 2010). Sistemik LPS uygulamaları, doğal enfeksiyon sonrası gelişen endotoksemilere benzerliği ve bir örnekliklik yönünden en geçerli septik şok modeli olarak kabul görür (Khan ve ark 2000, Yazar ve ark 2004 a, b, Yang ve Lee 2008, Coşkun ve Şen 2012 a, b). Bu nedenle klinik tedavi uygulamalarındaki ilaç dozaj rejim değişikliği üzerindeki tüm çalışmalarda tercih edilmektedir (Post ve ark 2003, Elmas ve ark 2006 a, b, 2008).

LPS konakçı immun sistem hücreleriyle karşılaştıktan sonra sitokinler, kemokinler, eikonazoidler ve pıhtılaşma faktörleri gibi unsurlara bağlı olarak başlayan biyokimyasal ve hematolojik bozukluklara, doku hasarına, organ yetmezliklerine ve ölüme neden olur (Tomlinson ve Blikslager 2004, Hodgson 2006, Foster ve Smith 2009, Buttenschoen ve ark 2010). LPS, dolaşıma geçtiğinde, canlının savunma hücrelerinden ilk cevap olarak proinflamatuvar sitokinler (TNF- α , IL-1 β) salınır (Lopez-Bojorquez ve ark 2004, Buttenschoen ve ark 2010). Ratlarda yapılan çalışmalarda LPS tipi ve içeriğinin (lipid A vb) özellikle termoregülatör değişikliklerin serotip-spesifik özelliklere bağlı olduğu, 0111:B4'ün daha yüksek bir hipotermik etkiye sahipken, O55:B5'in ise daha iyi pirojen olduğu, farklı COX ürünleri üzerindeki etkilerinin de varyasyonlar gösterdiği bildirilmektedir (Doğan ve ark 2000, Akarsu ve Mamuk 2007, Steiner ve ark 2009).

İnsan ve evcil hayvanların yeni doğan yavrularındaki immünolojik çalışmalar için rat ve farenin uygun bir model olmadığı bildirilmektedir. Çünkü rodentlerdeki immun sistemin ontojenisinde gecikme, doğum esnasında GK'lerin etkisi, lenfositlerin fonksiyonelliği ve fenotiplerindeki farklılıklar bulunduğu göz önünde bulundurulduğunda özellikle bu tip çalışmaların hedef tür üzerinde gerçekleştirilmesi çok daha akla yatkın görünmektedir (Hodgins ve Shewen 2012).

1.4. Hastalıkta İlaç Farmakokinetiği

Hastalık durumlarında ilacın fizikokimyasal özellikleri ve uygulama yeri arasındaki hassas denge değiştiği için ilacın emilim, dağılım, metabolizma ve atılım süreçlerinde farklılıklar oluşabilir (Boucher ve ark 2006). Patofizyolojik değişiklikler oluşmuş kritik hastalarda beta-laktamlar gibi hidrofilik antibiyotiklerin dağılım hacmi artar, ilaç klerensi değişir ve farmakokinetik profilleri önceden tahmin edilemeyen bir hal alır. Farmakokinetikteki bu değişiklikler beta-laktam antibiyotiklerin doz ve doz aralığının bireyselleştirilmesini gerektirir (Mckinnon ve Davis 2004, Roberts ve Lipman 2009, Hackett ve Gustafson 2011).

İlaç uygulamasının temel amacı hedef dokuda belli bir zaman aralığında ilacın etkili konsantrasyonlara ulaşmasını sağlamaktır. İlacın farmakokinetiğinde değişimlere neden olan durumların serbest ilaç konsantrasyonu ile ilişkili olarak ilacın etkisinde farklılıkların oluşmasına neden olması beklenir (De Paepe ve ark 2002, Boucher ve ark 2006). Farmakokinetik ve farmakodinamik cevaptaki farklılıklar genellikle kritik hastalıklar, yangı, endotoksemi, stres, yanık ve obeziteyi kapsayan enfeksiyöz ve yangısal durumlarda meydana gelen hepatik, renal ve kardiyovasküler değişimlerle ilişkilidir. Bu gibi durumlar ilaçların; emilim, proteinlere bağlanma, dağılım hacmi, doku perfüzyonu, plazma albumin miktarındaki azalmalar gibi sonuçların ortaya çıkmasına neden olarak farmakokinetiğini normalden çok uzaklaştırarak dozun bireyselleştirilmesi ihtiyacını doğurabilir. Sağlıklı kişilerde belirlenen farmakokinetik parametrelerin hasta bireylerdeki farmakokinetik profili yansıtmayacağı için patolojik durumlarda doz stratejilerini yeniden gözden geçirmek gerekir (Mckinnon ve Davis 2004, Martinez ve Modric 2009, Morgan 2009, Modric ve Martinez 2010, Goncalves-Pereira ve Póvoa 2011).

Doku hasarı, hipoproteinemi, damar içi hacim değişikliği ve büyük sıvı kayıpları ilaç farmakokinetiğini değiştirir. Doku hasarı veya enfeksiyöz ajanların neden olduğu yangı doğal immun sistemin mikrobiyal moleküler kalıplar tarafından reseptörleri yoluyla aktive olmasıyla ortaya çıkar. Bunun sonucunda sırasıyla proinflatuar sitokinler, vazoaktif aminler (histamin, bradikinin), akut faz proteinleri (fibrinojen, alfa-1-asid glikoprotein, C-reaktif protein) ve lipid

mediyatörler (PGE) gibi yangı mediyatörlerinin salınımına neden olur ve bu durum kapiller permabilite ile ödemde artışa neden olabilir (De Paepe ve ark 2002, Martinez ve Modric 2009, Morgan 2009, Roberts ve ark 2011).

Salgılanan mediyatörler çeşitli etkilere sahiptir ve kontrol edilemezlerse sistemik klinik sonuçların ortaya çıkmasına neden olurlar. Proinflamatuvar sitokinler (IL-1- β , IL-6, TNF- α), yangıda akut faz proteinlerinin sentezini düzenleyen ve yangı sırasında oluşan fizyolojik durum değişikliklerinin en önemli göstergeleridir. Farklı hastalık durumlarında sitokinlerin mekanizmalarının daha iyi anlaşılması, farmakokinetik parametrelerdeki değişimleri tahmin etmemize ve yorumlamamıza yardım etmek için gereklidir, ancak tek başına yeterli değildir (Boucher ve ark 2006, Morgan 2009).

İlaçların farmakokinetiği üzerine endotoksinin neden olduğu patolojik değişikliklerin etkileri, LPS ve ilaç molekülünün fizikokimyasal özelliğine ve hayvan türüne bağlı olarak farklılık gösterebilir (Sarwari ve Mackowiak 1996, Marrier ve ark 2001, Kumar ve Malik 2003, Post ve ark 2003). Elmas ve ark (2006 a, b, 2008) tarafından tavşanlarda gerçekleştirilen seri çalışmalarda, tek başlarına kullanıldıklarında deneysel endotokseminin enrofloksasin ve fluniksinin farmakokinetiklerinde farklı yönlerde değişikliklere neden olurken, kombine kullanıldıklarında ise sağlıklılara göre istatistiksel farklılığa sebep olmadığı; bu durumun da LPS'in dozu, türü ve hayvanın duyarlılığı ile yakından ilişkili olabileceği sonuçlarına varılmıştır.

Damar içi yol dışında herhangi bir yolla verilen ilaçların emilim hız ve derecesi, uygulama yeri ve ilacın fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak değişebilir. Çözünürlük, lipofiliklik, pKa, stabilite ve partikül büyüklüğü gibi faktörler ilacın emilim hızını ve oranını etkilerken; pH, kan akışı, emilim yüzey alanı ve gastrointestinal motilite gibi çevresel etkenler de ilacın emilimini değiştirebilir (Boucher ve ark 2006).

Kan akışının bozulmasına bağlı olarak ilaçların emilimi yavaşlar ve/veya bazen biyoyararlanım azalır. Sepsis ve septik şokun eşliğinde gelişen dolaşım bozukluğu kas, deri ve iç organlara perfüzyonunun azalmasına ve kanın beyin, kalp ve akciğerler gibi hayati organlara doğru geçişine neden olur. Buna bağlı

olarak gelişen renal fonksiyonlardaki değişimler, kapiller sızıntı, mikrovasküler stasis ve periferel sıvı birikimini artırarak travma ve sepsisi indükleyebilir. Ayrıca gelişen bağırsak hipoperfüzyonu sonucu ilaçların bağırsaklardan emilimi zayıflar ve teorik olarak hipoproteinemiye neden olan mukozal ödemin daha da kötüleşmesine neden olur. Gelişen kardiyovasküler yetmezlik sonucunda ise sadece azalan organ perfüzyonu değil aynı zamanda venöz konjesyon nedeni ile ilaçların bağırsaklardan emilimi azalır (De Paepe ve ark 2002, Mckinnon ve Davis 2004, Boucher ve ark 2006, Roberts ve ark 2011).

İlaçların dokulara dağılması kan akışına, proteinlere bağlanma oranına, dokuların geçirgenliğine, ilacın yağda çözünürlüğüne, çevrenin pH'sına ve ilacın pKa değeri gibi faktörlere bağlıdır. İlaçların dağılım oranı ve hızı kardiyak verim, bölgesel kan akışı, doku bariyerlerinden ilacın geçişi, doku ve kan arasında ilacın göreceli dağılımı tarafından belirlenir. Şok durumunda bozulan kardiyak verimin yeniden sağlanması için böbrekler, karaciğer, dalak ve bağırsaklar gibi uzak organlardan kalp ve beyin gibi hayati organlara kan geçişi sağlanır. Bunun sonucu olarak da Dİ uygulanan ilacın büyük bir kısmının beyin ve kalpte biriktiği görülür. Ayrıca solunum yetmezliği, şok ve böbrek yetmezliğine bağlı oluşan çevresel pH değişimleri ilacın iyonizasyonunda farklılıklara ve ilacın dağılım hacminde artış veya azalışa neden olur (De Paepe ve ark 2002, Boucher ve ark 2006).

Aktif transportla taşınan ilaçlar için transport proteinlerindeki olası değişimler ilacın farmakokinetik durumunu değiştirir (Petrovic ve ark 2007). Endotoksin ilaçların plazma proteinlerine bağlanma gücünü ve albümin miktarını azaltarak dağılım hacmini önemli oranda artırır (Hasegawa ve ark 1999, Roberts ve ark 2011). Akut faz cevabı sonucu oluşan sitokin-reseptör etkileşmesi gen ekspresyonlarında değişiklikler oluşturarak α_1 -asit glikoprotein, C-reaktif protein ve α_1 -antitripsin gibi bazı karaciğer proteinlerinin miktarını artırırken, albumin ile transferrinin düşmesine neden olarak plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanan ilaçların dağılım hacminde artışa neden olur (De Paepe ve ark 2002, Petrovic ve ark 2007, Scaglione ve Paraboni 2008).

Total vücut sıvı hacimlerindeki değişimler ilaç dağılımlarını etkileyecektir (De Paepe ve ark 2002, Mckenzie 2011). Septik durumda gözlenen onkotik basınçtaki düşüş ve kapiller permeabilededeki azalma vücuttaki sıvı değişimini

etkileyerek ilaçların dağılımını değiştirebilir. Bir çok patofizyolojik durum dağılım hacminde değişime neden olabildiğinden optimum etkiyi muhafaza etmek için dozaj rejimlerinde de değişikliklere gidilmelidir. Ayrıca gereksiz ve aşırı yoğun sıvı tedavisi, parenteral beslenme, pleural effüzyon, mediastinitis, peritoneal eksudat ve asites ekstrasellüler sıvı hacminde artışa neden olarak hidrofilik antibiyotiklerin buralarda birikmesi sonucu dağılım hacminin artmasına neden olabilir (Boucher ve ark 2006, Scaglione ve Paraboni 2008, Choi ve ark 2009).

İlacın biyotransformasyonunda en etkili organ karaciğer olmakla birlikte akciğer ve böbrekler de biyotransformasyonda görev alırlar. Karaciğer metabolizması karaciğer kan akış hızı, enzim aktivitesi ve proteinlere bağlanma gibi üç fizyolojik sürece bağlıdır ve bunlardaki herhangi bir değişiklik ilacın karaciğerdeki biyotransformasyonunu etkileyecektir (De Paepe ve ark 2002, Aitken ve ark 2006, Boucher ve ark 2006, Martinez ve Modric 2009).

İlaçlar kan yoluyla karaciğerdeki hepatositlere gelir, biyotransformasyona uğrar ve safra yoluyla atılır. Bu sürecin etkinliği hepatik perfüzyona bağlıdır. Bu nedenle karaciğer kan akımındaki değişiklik ilaçların metabolizmasında anormalliklere neden olur (Boucher ve ark 2006).

İntoksikasyon, iske mi, tümör, sepsis ve travmaya bağlı oluşan karaciğer hasarında kan akımı ve enzim fonksiyonlarındaki farklılıklar ilacın etkinliği ve klerensinde değişimlere neden olur (Mckinnon ve Davis 2004, Aitken ve ark 2006, Martinez ve Modric 2009, Morgan 2009, Hackett ve Gustafson 2011). Klerensi kan akımıyla sınırlı değilse ilaçları metabolize eden enzimlerin aktivitesi ve miktarındaki değişiklikler ilaçların karaciğer klerensini güçlü şekilde etkiler (Martinez ve Modric 2009, Morgan 2009). Ayrıca, sepsiste oluşan hiperdinamik duruma bağlı gelişen kardiyak verimdeki artış ve hayati organların kan akışındaki ciddi farklılıklara bağlı olarak karaciğerden yüksek oranda atılan ilaçların biyotransformasyonları değişir (Boucher ve ark 2006).

Çoğu doku ve organ faz I, faz II ve faz III de ilaçları metabolize eden enzimlerle donatılmıştır. Faz I; sitokrom P450 süper familyasına ait mikrozomal enzimlerden ibarettir ve karaciğer, gastrointestinal kanal, akciğer ve böbreklerde

bol miktarda bulunur. Faz II; sülfoniltransferaz, UDP-glukoronil transferaz, DT-diaphoraz veya NAD(P)H:quinon oksidoredüktaz, epoksid hidrolaz, glutatyon S-transferaz ve N-asetiltransferazı da kapsayan pek çok enzim süperfamilyasından oluşur. Faz II enzimleri genellikle hidrofilikliği artırır ve dolayısıyla safra veya idrarla atılımı artırarak detoksifikasyon da rol oynar. Ancak bazı durumlarda metabolitleri inaktive ederek toksisiteyi artırabilir. Faz III taşıyıcıları P-glikoprotein, çoklu ilaç direnci ile ilgili protein ve organik anyon taşıyıcılarını kapsar ve bunlar karaciğer, bağırsak, böbrek ve beyin gibi pek çok organda bariyer görevi görerek ilaçların penetrasyonunu ve farmakokinetiğini değiştirir. Doku hasarı sonucu ortaya çıkan sitokinler genellikle faz I metabolizma enzimi olan sitokrom P-450 enzim sistemini, faz II konjugasyon metabolizmasına göre önemli oranda inhibe ederek ilaç metabolizmasında önemli değişimlere neden olur (Monshouwer ve Hoebe 2003, Xu ve ark 2005, Boucher ve ark 2006).

Endotoksin bakteriyel kaynaklı bazı inflamatuvar mediyatörlerin üretiminden dolayı ilaçları metabolize eden hepatik CYP enzim aktivitesi üzerinde farklı etkilere sahiptir (Ueyama ve ark 2005).

Karaciğer ve böbrekler en önemli iki atılım organıdır. Bu organların perfüzyonundaki değişimlerden ilaçların klerensi de etkilenecektir. Karaciğer ve böbrek yetmezliklerinde çoğu antibiyotiğin eliminasyon yarılanma ömrü uzar ve genellikle yan etki riski artacağından özel doz önerilerini tahmin etmek zorlaşır (Mckinnon ve Davis 2004, Morgan 2009). Böbrek yetmezlikleri atılım yanında ilacın emilim, hepatik metabolizma, plazma proteinlerine bağlanma ve ilaç dağılımı üzerinde de değişikliklere neden olur (Boucher ve ark 2006, Martinez ve Modric 2009).

Renal yetmezlikte oluşan üremide organik asitlerin birikimine bağlı (albumin moleküllerinin yapısının değişmesinden dolayı) proteinlere yüksek oranda bağlanan ilaçların dağılım hacminde değişikliklere ve klerensde önemli oranda düşüşe neden olur. Farmakokinetik parametrelerdeki bu değişiklikler böbreklerin ilk eliminasyon organı olmaması durumunda da meydana gelebilir (Martinez ve Modric 2009, Hackett ve Gustafson 2011). Renal yetmezlikte oluşan üreminin indüklediği ileus, enteral ilaç emilim hızında düşüşe ve organik asitlerin birikimine bağlı albumin moleküllerinin yapısının değişmesinden dolayı

proteinlere bağlanmada bozulmaya yol açar. Özellikle asidik olan, proteinlere yüksek oranda bağlanan veya düşük dağılım hacmine sahip ilaçların dağılım hacminde değişikliklere ve klerensinde önemli oranda düşüşe neden olur (Hackett ve Gustafson 2011).

Mevcut projenin temel hedefi, “hastalık hallerinde ilaçların farmakokinetiği değişir” hipotezinden yola çıkarak, endotoksemi durumu ve tedavi uygulamaları sırasında seftiofurun dozaj rejimi değişikliğine ihtiyaç olup olmadığının en geçerli yöntem olan farmakokinetik verilerle belirlenmesidir. Bu durumun tespiti ve çözüm önerileri sunmak üzere bu proje ile deneysel olarak oluşturulacak endotoksemi vakalarının başlangıç aşamasında yoğun olarak gözlemlenen fizyopatolojik değişikliklerin ve septik şok tedavisinde zorunlu olarak antibiyotikle eşzamanlı olarak uygulanması gereken kombine tedavi girişimlerinin (yoğun sıvı tedavisi, bazı vazoaktif ve antiinflamatuvar ajanlar), seftiofurun dozaj rejimi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Hayvan Materyali

Çalışma, 18 adet sağlıklı ve kolostrum almış yeni doğan siyah beyaz alaca ırkı buzağı (0–6 günlük, $43,54 \pm 5,21$ kg, Özcan Şeker ve Sözenler Ltd Şti, Konya) üzerinde gerçekleştirildi. İkişerli gruplar halinde temin edilen hayvanlar, istenmeyen durumlara önlem alınabilmesi için ayrı padoklara yerleştirilerek aynı şartlarda günde iki defa vücut ağırlığının %12'si oranında süt veya süt ikamesi ile beslendi. Denemeye başlamadan önce S.Ü. Veteriner Fakültesi Etik Kurulu Başkanlığı'na yapılan başvuru sonrasında tüm çalışma sürecinde hayvanlar üzerinde gerçekleştirilecek işlemlerin Etik Kurul Yönergesi'ne uygunluğuna dair rapor (No:2010/010) alınmıştır (Bkz. EK.1).

LPS deneme gruplarında yer alan hayvanlardan 4 tanesi deneme sırasında [(3 buzağı LPS+Ceft grubunda, ölüm oranı % 33), (1 tanesi LPS+Comb grubunda, ölüm oranı %14)], septik şok devamındaki dolaşım ve solunum sistemi yetersizlikleri nedeniyle öldüğünden denemeye yeni hayvan dahil edilerek tüm örneklemeler 18 hayvanda gerçekleştirildi.

2.2. Deneysel Gruplar ve İlaç Uygulamaları

Çalışma iki grup iki fazlı çapraz (birinci grup) ve paralel (ikinci grup) farmakokinetik dizayna göre gerçekleştirildi (Çizelge 2.1). Birinci grup (n: 6) birinci fazda (Ceft) 1-2 günlük tüm hayvanlara ilaç uygulamasından iki saat önce plasebo olarak fizyolojik tuzlu su (100 ml) Dİ yolla 30 dakikada infüze edilmesini (EasyVet infüzyon pompası, Eickmayer, Almanya) takiben 2,2 mg/kg dozunda seftiofur-Na tuzu (Excenel® enj. çöz., Pfizer İlaç Sanayi, Türkiye) kas içi (Kİ) yolla uygulandı. Beş günlük temizlenme süresinden sonraki ikinci fazda (LPS+Ceft) ise fizyolojik tuzlu suda çözündürülmüş saf LPS (*E. coli* 0111:B4, Sigma)'nin, 2 µg/kg dozunda Dİ yolla infüzyon (30 dakika) şeklinde uygulamasını takibeden ikinci saatte birinci fazdakine benzer şekilde seftiofur tatbik edildi (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. İki grup iki fazlı çapraz ve paralel farmakokinetik dizaynın şematik sunumu ve hayvanlara uygulanan ilaçlar.

Grup	Fazlar	LPS ve plasebo uygulamaları	İlaç uygulamaları
Birinci grup Çapraz farmakokinetik dizayn (n=6)	1. faz (Ceft) (6 hayvan)	100 mL % 0,9 NaCl (Dİ infüzyon, 30 dakika)	Plasebo uygulamasından iki saat sonra; 1. Seftiofur (2,2 mg/kg, Kİ)
	2. faz (LPS+Ceft) (1. fazdan 5 gün sonra aynı hayvanlara uygulandı)	100 mL %0,9 NaCl içinde saf LPS (2µg/kg, Dİ infüzyon, 30 dakika)	LPS uygulamasından iki saat sonra 1. Seftiofur (2,2 mg/kg, Kİ)
İkinci grup Paralel farmakokinetik dizayn (n=12)	1. faz (Comb) (6 hayvan)	100 mL %0,9 NaCl (Dİ infüzyon, 30 dakika)	Plasebo uygulamasından iki saat sonra 1. Seftiofur (2.2 mg/kg, Kİ) 2. Voluven (%6, 20 mL/kg, Dİ infüzyon) ve laktatlı ringer (20 mL/kg, Dİ) 3. Deksametazon (10 mg/hayvan, Dİ) 4. Dopamin (30 µg/kg/dakika, Dİ) 5. Sodyum bikarbonat (%8,4, Dİ) 6. Dekstroz (%5, Dİ)
	2. faz (LPS+Comb) (6 hayvan)	100 mL %0,9 NaCl içinde saf LPS (2 µg/kg, Dİ infüzyon, 30 dakika)	LPS uygulamasından iki saat sonra 1. Seftiofur (2,2 mg/kg, Kİ) 2. Voluven (%6, 20 mL/kg, Dİ infüzyon) ve laktatlı ringer (20 mL/kg, Dİ) 3. Deksametazon (10 mg/hayvan, Dİ) 4. Dopamin (30 µg/kg/dakika, Dİ) 5. Sodyum bikarbonat (%8,4, Dİ) 6. Dekstroz (%5, Dİ)

İkinci grup birinci fazda (Comb) 5-6 günlük tüm hayvanlara (n: 6) ilaç uygulamasından iki saat önce plasebo olarak fizyolojik tuzlu su (100 mL) Dİ yolla 30 dakikada infüze edilmesini takiben, seftiofur ile birlikte normal septik şok tedavi protokolünde yer alan diğer uygulamalar [dihidroksi etil nişasta 130 kD + %0,9 NaCl (20 mL/kg, Dİ, Voluven® %6, Fresenius-Kabi, Hamburg, Almanya), dopamin (30 µg/kg/dakika, Dİ, Dopamine Fresenius, Fresenius-Kabi, Fransa) ve deksametazon (10 mg, Dİ, Dekort ampul 8 mg/2 mL, Deva, İstanbul)] gerçekleştirildi (Çizelge 2.1). Ayrıca, ikinci faz uygulamalarına benzer olmasını sağlamak adına sodyum bikarbonat (%8,4 sodyum bikarbonat, Bikarvil® enj., Vilsan Veteriner İlaçları, Ankara) ve izotonik dekstroze (%5 Dekstroze, Eczacıbaşı İlaç San., İstanbul) çözeltileri tatbik edildi.

İkinci grup ikinci fazda (LPS+Comb) 5-6 günlük tüm hayvanlara (n:6) fizyolojik tuzlu suda çözdürülmüş saf LPS, 2 µg/kg dozunda Dİ yolla infüzyon (30 dakika) şeklinde uygulandı. LPS uygulamasından iki saat sonra hayvanlara seftiofur (2,2 mg/kg, Kİ) diğer kombine ilaçlarla birinci fazdakine benzer şekilde tatbik edildi. Ayrıca hayvanlarda meydana gelen baz açıkları sodyum bikarbonat (%8.4) ve glukoz eksikliği ise izotonik (%5 Dekstroze) dekstroze çözeltileri ile hesaplanan ihtiyaç ölçüsünde takviye edildi. Bu gruptaki tüm hayvanlara (1. ve 2. faz) günlük verilen sıvı miktarı 50 mL/kg olacak şekilde ayarlandı. Tüm aşamalarda seftiofur aynı doz ve yolla uygulandı (Çizelge 2.1).

2.3. Örneklem Zamanı ve Çeşitleri

2.3.1. Aktif madde tayini için plazma

İlaç enjeksiyonları öncesi (0) ve takibeden 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90., dakikalar ile 2, 3, 4, 6, 8, 10, 22, 34 ve 46. saatlerde plazmadaki aktif madde tayini için kan örnekleri (4 mL) *V. jugularis*'ten heparinli vakumlu tüplere alındı.

2.3.2. Klinik skorum ve monitörizasyon

Septik şoku belirleme ve takibi için “altın bulgu” olarak kabul edilen vücut sıcaklığı ilaç uygulamasından önceki 2; 1,5; 1; 0,5. saatler ile sonraki 0; 0,5; 1, 2, 4, 6, 8, 10 ve 22. saatlerde rektal yolla ölçüldü. Diğer klinik bulgular ve hayvanların genel sağlık durum göstergesi durumundaki skorum parametreleri

(emme refleksi, mukozal görünüm, dışkılama ve genel durum) klinik gözlemle; arteriyel kan basıncı (*A. auricularis*), solunum sayısı, nabız (*A. brachialis*) monitorizasyonla (BM5Vet Monitor, Almanya) aynı zamanlarda takip edildi. Kan gazları ve hemogram ölçümleri ise ilaç uygulamasından önceki 2. ve 1. saatler ile sonraki 0, 2, 4, 10 ve 22. saatlerde gerçekleştirildi. Çalışma süresince emme refleksi, mukozal görünüm, genel durum, dışkılama ve solunum tipinde gözlenen değişiklikler aşağıdaki şekilde sayısal değer verilerek skorlandı (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. Klinik Skorlama.

Emme refleksi	Skorlama
Emmeye istekli	1
Hafif isteksiz	2
İsteksiz	3
Emme yok	4
İlgisiz hareketsiz	5

Mukozal görünüm	Skorlama
Normal	1
Hiperemik	2
Siyanotik	3
Şiddetli siyanoz	4
Şok tablosu	5

Dışkılama	Skorlama
Normal	1
Hafif yumuşak	2
Hafif sulu	3
Pis kokulu ishal	4
Şiddetli ishal	5

Çizelge 2.2 (Devam). Klinik Skarlama.

Genel durum	Skarlama
Normal	1
Reflekslerde hafif azalma	2
Orta refleks ve bilinç kaybı	3
Belirgin bilinç ve refleks kaybı	4
Şok tablosu	5

Solunum tipi	Skarlama
Normal solunum	1
Miks solunum	2
Abdominal solunum	3
Şiddetli abdominal solunum	4
Şiddetli solunum güçlüğü	5

2.3.3. Hemogram ve Kan Gazı Parametreleri

Deneyisel septik şokun şiddet derecesinin belirlenmesinde dikkate alınan hemogram (MSTM 4e, FRANSA) ve kan gazı (GEM premier 3000, bloodgas/electrolyte analyzer, ABD) parametreleri ise ilaç uygulamasından önceki 2. ve 1. saatler ile sonraki 0, 2, 4, 10 ve 22. saatlerde ayrı kan örnekleri alınarak belirlendi.

2.4. Plazma İlaç Düzeylerinin Belirlenmesi

2.4.1. Kimyasal Maddeler ve Solüsyonlar

- Saf seftiofur sodyum standardı (%97,5) Provet Veteriner Ürünleri (TÜRKİYE) firması tarafından sağlandı.

- Asetonitril (ACN), formik asit, di-sodyum tetraborat dekahidrat, potasyum klorür, potasyum dihidrojen fosfat ve potasyum hidroksit Merck (Darmstadt, ALMANYA) ve 4-dithioerythritol ile iodoasetamid ise Sigma-Aldrich (Steinheim, ALMANYA) firmalarından temin edildi.

- Borat buffer: 0,05 M di-sodium tetraborat dekahidrat ve 3,7 g potasyum klorürle pH 9 olacak şekilde hazırlandı.

- Fosfat buffer: 0,025 M potasyum dihidrojen fosfat ve potasyum hidroksitle pH 7 olacak şekilde hazırlandı.

- Dithioerythritol (DTE) solüsyonu: Borat bufferda %10'luk 1,4-dithioerythritol olacak şekilde çözündürülerek hazırlandı.

- İodoasetamid solüsyonu: Fosfat buffer (pH 7)'da %23,3 iodoasetamid olacak şekilde çözündürülerek hazırlandı.

2.4.2. HPLC ve Kromatografik Şartlar

- HPLC-UV (Yüksek Basınç Sıvı Kromatografi Sistem) (Shimadzu, Tokyo, JAPONYA); düşük basınç-gradient akış kontrol valfli (FCV-10AL) pompa (LC-10AD), sistem kontrol modülü (CBM 20A), degasser (DGU-14A), otosampler (SIL-10AD) ve kolon fırını (CTO-10A), UV-VIS dedektör (SPD-10A)

- Otosampler ısısı 40 °C

- Kolon (Agilent Technologies, PLRP-S 100 Å 3 µM, 150 x 2,1 mm)

- Asetonitril (A) ve suda %0,1 formik asitten (B) oluşan ikili gradient mobil faz (Çizelge 2.3).

- Mobil faz vakum altında 0,45 µm naylon filtreden (Millipore, Bedford, MA, ABD) geçirilerek 30 dakika (T840DH; Elma, ALMANYA) sonikasyona tabi tutuldu.

Çizelge 2.3. İkili gradient mobil faz

Zaman (dk)	Akış hızı (mL/dk)	%A	%B
0,01	0,3	10	90
4	0,3	30	70
6	0,3	25	75
8	0,3	25	75
11	0,3	18	82
16	0,3	10	90
20	0,3	10	90

A; asetonitril, B; suda %0,1 formik asit

- Akış hızı, 0,3 mL/dak

- UV-Dalga boyu, 266 nm

- Enjeksiyon hacmi, 20 µL
- Alıkonma zamanı, desfurilseftiofur : ~11. dk
- Verilerin analizi Asus PC kontrolünde LC solution software program (Shimadzu, Japan) kullanılarak belirlendi.
- Plazma örnekleri -70 °C'de (Operon Co. Ltd., South Korea) saklandı.

2.4.3. Standart ve Stok Solüsyonlar

Seftiofur için stok solüsyon, standardın direk tartılarak konsantrasyonu 1 mg/mL olacak şekilde saf suda çözündürülmesiyle hazırlandı ve çalışma süresince -70 °C'de tutuldu. Seftiofurun stok solüsyonu kalibrasyon standartları ve kalite kontrol örnekleri hazırlamak için dilüe edildi.

Seftiofurun kalibrasyon standartları günlük olarak 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1, 2, 5, 10 ve 20 µg/mL konsantrasyonlarında 190 µL plazma veya suya 10 µL ilave edilerek hazırlandı. Seftiofur içeren kalite kontrol örneklerinin düşük (0,5 µg/mL), orta (2 µg/mL) ve yüksek (10 µg/mL) konsantrasyonları HPLC metodunun gerçeklik, kesinlik ve geri kazanımını belirlemek için kullanıldı.

2.4.4. Plazma Örneklerinin Analiz İçin Hazırlanması

Ana ilaç olan seftiofurun sistemik yarılanma ömrü tiyoester bağlarının hızlı parçalanmasından dolayı 10 dakikadan daha kısadır ve vücutta hızla etkin metabolitleri olan DFC ve DFC-dimere dönüşür. Bu nedenle seftiofur ve metabolitlerini içeren plazma ve su örnekleri bir dizi işlemde geçirilerek seftiofurun ve metabolitlerinin seftiofurun ana metaboliti olan DFC'a dönüşmesi sağlandı. Plazmadaki DFC konsantrasyonları laboratuvarımızda geliştirilen metot yardımıyla HPLC-UV'de ölçüldü (Elmas ve ark 2011).

Derin dondurucudan (-70 °C) çıkartılan plazma örnekleri oda ısısına getirildi. 200 µL plazma örneği 2 mL'lik tüplere aktarıldı. Proteinlerin denatürasyonunu sağlamak amacıyla 200 µL metanol eklenerek 30 sn vorteksle karıştırıldı ve 22 °C'de 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüje edildi. Elde edilen üst faz 2 mL'lik yeni tüplere aktarılarak üzerine 100 µL DTE solüsyonu eklendi ve 30 sn vorteksle karıştırıldı. 50 °C'de 15 dakika su banyosuna bırakıldı ve her beş

dakikada bir çalkalandı. Örneklerin oda ısısına gelmesi beklendi. Daha sonra örneklerle 150 µL iodoasetamid solüsyonu eklenerek 30 sn vorteksle karıştırıldı. Aluminyum folyolara sarılarak oda ısısında 45 dakika 350 rpm’de roker mikserde çalkalamaya bırakıldı. Derivatizasyonu takiben örneklerle 25 µL formik asit eklenerek 30 sn vorteksle karıştırıldıktan sonra 22 °C’de 13.000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen üst fazın 20 µL’si HPLC-UV sisteme enjekte edildi.

2.5. Metot Validasyonu

Özgünlük, doğrusalılık, duyarlılık (tespit limiti ve hesaplanabilir limit), geri kazanım, kesinlik ve gerçeklik metot validasyonunun belirlenmesinde performans ölçütleri olarak alındı.

2.5.1. Özgünlük (Specificity)

Özgünlük, tayin edilecek olan maddeleri ortamda bulunan başka maddelerin varlığında gözlemleyebilme yeteneğidir. Metodun seçiciliği ana madde ve metabolitlerini içermeyen buzağı plazması (boş plazma) kullanılarak kromatogramlarda desfurilseftiofurun alıkonma zamanında plazma ve diğer kaynaklı piklerin bulunup bulunmadığı incelendi.

2.5.2. Doğrusallık (Linearity)

Bir analitik prosedürün doğrusalılığı ölçülen analitin miktarı ile dedektör cevabının ne derece doğru orantılı olduğu ile belirlenir. Çalışma boyunca kullanılan standartlar, stok solüsyonun (1 mg/mL) 0,05-20 µg/mL’lik dilüsyonları şeklinde su ve plazmada günlük olarak hazırlandı. Kalibrasyon standartları örneklerden önce, örnek analizleriyle ve örneklerden sonra HPLC-UV sisteme enjekte edildi. Bu konsantrasyonlara karşılık gelen pik alan değerleri tayin edilerek kalibrasyon eğrisi çizildi ve korelasyon katsayısı hesaplandı.

2.5.3. Duyarlılık (Sensitivity)

Tespit limiti (limit of detection, LOD) bir örnekte sinyal/gürültü oranının 3 olarak belirlendiği plazmada tespit edilebilen en düşük analit miktarı olarak tanımlanır. Hesaplanabilir limit (limit of quantification, LOQ) ise sinyal/gürültü

oranının en az 10 olduğu plazmadaki analitin hesaplanabilir en düşük konsantrasyonu olarak tanımlanır.

2.5.4.Kesinlik (Precision) ve Gerçeklik (Accuracy)

Kesinlik için gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik ölçüt olarak kullanıldı. Gün içi ve günler arası farklılığın tespiti için standart solüsyonların ölçüm aralığında yer alan düşük (0,5 µg/mL), orta (2 µg/mL) ve yüksek (10 µg/mL) düzeyleri ana madde ve metabolitlerini içermeyen plazma ve su örneklerine eklendi. Her düzeyde 3 tekrarlı analiz yapıldı. Bu kademeler 3 farklı günde tekrarlandı. Gün içi ve günler arası kesinlik yüzde varyasyon katsayısıyla ve doğruluk ise yüzde bias değeri ile belirlendi.

2.5.5. Geri Kazanım (Recovery)

Standart solüsyonların düşük (0,5 µg/mL), orta (2 µg/mL) ve yüksek (10 µg/mL) düzeyleri su ve plazma örneklerine eklenerek kalite kontrol örnekleri hazırlandı. Geri kazanımlar herhangi bir örnek gibi değerlendirilen plazma ve su örneklerinde belirlenecek olan analitin pik alanlarının karşılaştırılmasıyla hesaplandı.

2.6. Farmakokinetik Hesaplamalar

Her hayvanda DFC'un plazma konsantrasyon-zaman eğrileri WinNonlin 6.3 (Phoenix 64, Build 6.3.0.395, WinNonlin 6.3, Pharsight, A CertaraTM Company) programı kullanılarak hazırlandı. DFC için (Kİ uygulama sonrası) en uygun farmakokinetik model, bireysel plazma konsantrasyon zaman eğrilerinin direk bakısı ve AIC (Akaike Information Criteria) temel alınarak belirlendi (Yamaoka ve ark 1978). Her hayvanın DFC için farmakokinetik değişkenleri iki kompartmanlı dışa açık model ile analiz edildi. DFC'nin doruk plazma konsantrasyonu ($C_{\text{doru}}k$) ve doruk plazma konsantrasyonuna ulaşma zamanı ($T_{\text{doru}}k$) her hayvanın plazma konsantrasyon-zaman eğrisi üzerinde direkt bakı (gözlem değerleri) ile tayin edildi. Diğer parametreler program yardımıyla hesaplandı.

2.7. Mikrobiyolojik Prosedür

2.7.1. Kullanılan Malzemeler ve Aletler

- *Escherichia coli* ATCC 25922 suşu (Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.D, Konya)
- *Escherichia coli* ATCC 31616 K99+++F41+ suşu (Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji A.D, Konya)
- Saf DFC standardı (Santa Cruz Biotechnology Inc. CA, ABD)
- Saf seftiofur sodyum standardı
- Eozin Methylen Blue (EMD)
- Brain Heart Infusion (BHI)
- Tryptone Soya Broth (Oxoid, Thermo scientific, İNGİLTERE)
- Steril ELISA playt (BD Falcon, ABD)
- Ependorf çok kanallı pipet
- Ependorf marka steril pipet ucu (200-1000 mL)
- Etüv (Binder Drying Oven - ED Series, ABD)
- Laminar Flow Kabin (Clean Air, HOLLANDA).

2.7.2. İlaç Standartları ve Besi Yerleri

Stok solüsyon standartların direk tartılarak konsantrasyonu 1 mg/mL olacak şekilde seftiofur sodyumun saf suda ve DFC'un ise %10 etanolde çözdürülmesiyle hazırlandı ve çalışma süresince -70 °C'de tutuldu. Stok solüsyonlar ultra saf (18,2 MΩcm) suyla dilüe edilerek 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; 0,08; 0,16; 0,32; 0,64; 1,28; 2,56; 5,12 ve 10,24 µg/mL konsantrasyonlarında 100 µL olacak şekilde mikro plate üzerindeki ilgili çukurlara çok kanallı pipet yardımıyla ilave edildi. Besi yerleri prospektüslerinde bildirilen şekilde hazırlanarak sterilizasyona tabi tutuldu. Oda ısısına gelmeleri beklendikten sonra kullanıldı.

2.7.3. Bakteri

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesinden temin edilen *E.coli* suşları EMD (Eozin Methylen Blue)'de üretilerek BHI (Brain Heart Infusion) brotha

aktarıldı. 37 °C'de 24 saat inkubasyondan sonra broth 6000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek bakteri toplandı. Bakteri peleti 3 kez fizyolojik tuzlu su ile yıkanarak son konsantrasyonu McFarland No:0,5 olacak şekilde BHI içinde sulandırıldı. Sonra serum fizyolojik ile 1:100 oranında 100 µL'sinde 5×10^5 CFU/mL olacak şekilde dilüe edildi.

2.7.4. MİK Belirleme

E. coli suşunun DFC ve seftiofura duyarlılığı mikrodilüsyon tekniği ile NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2008) önerilerine göre belirlendi.

2.8. İstatistiksel Analizler

Tüm parametreler arasındaki istatistiksel farklılıklar SPSS 19.0 (SPSS for Windows, SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) istatistik paket programı kullanılarak belirlendi. Hemogram ve kan gazı ve monitorizasyon düzeyleri (ortalama $\pm$ SH) arasındaki istatistiksel farklılıklar varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi ile değerlendirildi. Farmakokinetik değerler ortalama $\pm$ SS (standart sapma) olarak gösterildi. T_{doruk} değerleri ise median ve aralık gösterilerek belirtildi. Zaman parametreleri ($t_{1/2ka}$, $t_{1/2\alpha}$ ve $t_{1/2\beta}$) için harmonik ortalama hesaplandı ve istatistiksel fark Mann-Whitney U test ile belirlendi. Diğer farmakokinetik değişkenler arasındaki istatistiksel farklılıklar ise varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testi ile değerlendirildi. DFC için metot validasyon parametreleri olan gerçeklik ve gün içi ve günler arası farklılıklarının ifadesi olarak standart sapma, % varyasyon katsayısı ve bias dikkate alındı. Tekrarlı analizlerde belirlenen konsantrasyonlar üzerinden tanımlayıcı istatistik yapılarak ortalama $\pm$ SS, bias ve % varyasyon katsayısı hesaplandı. Yüzde varyasyon katsayısı; (standart sapma/ortalama)*100, yüzde bias değeri ise [(hesaplanan konsantrasyon-teorik konsantrasyon)/teorik konsantrasyon] $\times$ 100 formülüyle hesaplandı. Kesinlik ve gerçeklik için kabul edilen kriter; varyasyon katsayısı %15'den düşük ve bias ise $\pm$ %15 kadar olmalıdır. Tüm analizlerde güven aralığı %95 olarak kabul edildi. Anlaşılabilirlik ve kolay okunabilirliği sağlamak adına istatistiksel öneme sahip olmayan grup içi değerlendirmelerde harf kullanılmadı. İstatistiksel anlamda önemlilik sınırı $P < 0,05$ olarak belirlendi.

3. BULGULAR

3.1.Septik Şok Modeli Parametreleri

3.1.1. Klinik Skorlama

Her grupta yer alan hayvanların klinik skorlaması için değerlendirmeye alınan veriler Çizelge 3.1 sunuldu. LPS uygulanan gruplarda (LPS+Ceft, LPS+Comb) emme refleksinin uygulamayı takiben azaldığı, kontrol gruplarına göre bu farklılığın son örnekleme zamanlarında normal skorlamaya döndüğü belirlendi (Çizelge 3.1). LPS+Ceft grubunda mukozaların siyanotikleştiği, dışkılama aralığının kısaldığı, solunum tipinin değiştiği ve genel durumun belirgin şekilde bozulduğu tespit edildi (Çizelge 3.1). LPS+Comb grubunda dışkılamada değişim gözlenmezken, mukozal görünüm, solunum tipi ile genel durum değişimlerin daha hafif seyrettiği görüldü (Çizelge 3.1).

3.1.2. Monitorizasyon

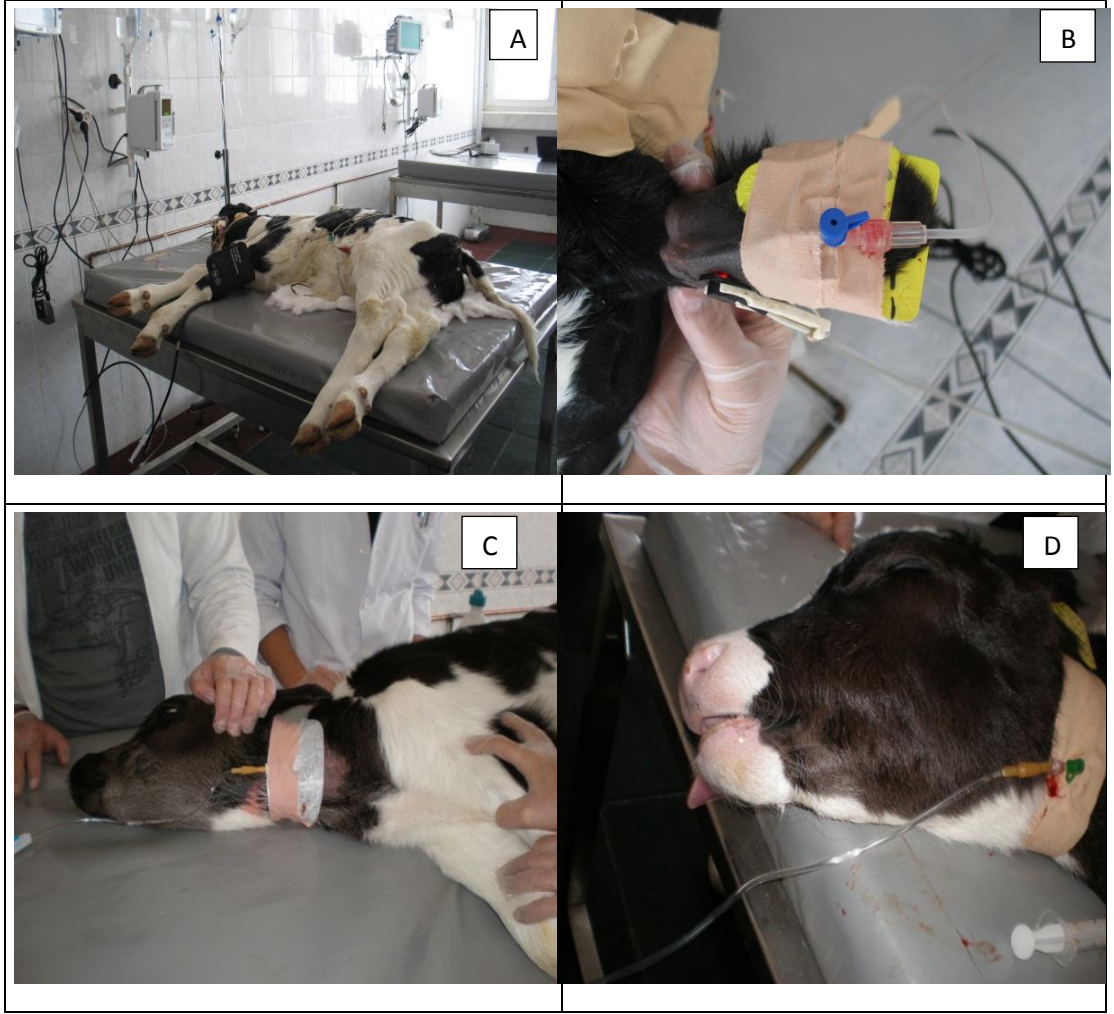
Araştırmanın monitorizasyon bulguları Çizelge 3.2’te sunuldu. LPS+Ceft grubunda orta tansiyonda düzenli olmayan düşüşler, nabız sayısında ise düzensiz değişimler tespit edildi (Çizelge 3.2). LPS uygulanan gruplarda beden ısısı, solunum ile kalp atım sayılarında düzensiz yükselmeler gözlemlendi ($p<0,05$, Çizelge 3.2).

3.1.4.Hemogram ve Kan Gazı Parametreleri

Araştırmanın hemogram ve kan gazları parametrelerine ait değişimler Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4’de sunuldu. LPS+Ceft grubunda WBC ve trombosit sayılarında düşmeler ($p<0,05$) belirlendi. Trombosit sayısındaki belirlenen düşme ($p<0,05$) ise deney sonuna kadar düzelmedi. LPS+Comb grubunda WBC ve trombosit sayılarında düşmeler ($p<0,05$), RBC sayısında ise düzensiz istatistiki ($p<0,05$) değişimler tespit edildi. Trombosit sayısında gözlenen düşmenin ($p<0,05$) son örnekleme zamanında düzeldiği belirlendi. LPS uygulanan gruplarda WBC sayılarında gözlenen düşmelerin ($p<0,05$), son örnekleme zamanında artışa

($p<0,05$) döndüğü belirlendi. Comb grubunda, WBC sayısında son örnekleme zamanlarında yükselmeler ($p<0,05$) belirlenirken, trombosit sayısında düzensiz istatistiki ($p<0,05$) değişimler belirlendi (Çizelge 3.3).

LPS+Ceft grubunda pH, BEecf ile BEb değerinde 2. saatte düşme ($p<0,05$) belirlenirken, HCO_3 ve HCO_3 std değerinde düzensiz değişimler belirlendi. Aynı grupta 2. saatte laktat düzeyinde artışlar ($p<0,05$) ile glukoz da 10. saatte düşme ($p<0,05$) tespit edildi. LPS+Comb grubunda 2. saatte pH değerinde, 4. saatte HCO_3 değerinde, 2. ile 4. saatlerde HCO_3 std değerinde 4. saatte düşme ($p<0,05$) belirlendi. LPS+Comb grubunda 2. saatte belirlenen yüksek laktat düzeyi ($p<0,05$) deney sonuna kadar değişmedi. Comb grubunda pH değerinde 22. saatte düşme ($p<0,05$), glukoz düzeyinde 2. saatte yükselme ($p<0,05$) belirlenirken, Ceft grubunda pO_2 düzeyinde düzensiz istatistiki ($p<0,05$) değişimler belirlendi (Çizelge 3.4).



Resim.3.1. Septik şok oluşturulmuş buzağların genel görünümü

- A. Buzağların monitörize edilmesi
- B. İnvaziv set ile kulak arterinden arteriyel kan basıncı ölçümü
- C. LPS'nin Dİ infüzyonu
- D. LPS uygulaması sonrası gelişen bilinç kaybı

Çizelge 3.1. Sağlıklı ve septik şoklu buzağılardan elde edilen klinik skorlama parametreleri.

	Emme refleksi				Mukozal görünüm				Dışkılama			
Saat	Ceft	Comb	LPS+Ceft	LPS+Comb	Ceft	Comb	LPS+Ceft	LPS+Comb	Ceft	Comb	LPS+Ceft	LPS+Comb
-2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
-1,5	1	1	4	2	1	1	2	1	1	1	4	1
-1	1	1	4	3	1	1	4	1	1	1	5	1
-0,5	1	1	5	4	1	1	4	1	1	1	4	1
0	1	1	5	4,5	1	1	4,5	1	1	1	5	1
0,5	1	1	5	5	1	1	3,5	1	1	1	5	1
1	1	1	5	5	1	1	3,5	2	1	1	4,5	1
2	1	1	5	5	1	1	3,5	2	1	1	4,5	1
4	1	1	4	4	1	1	3	2	1	1	4,5	1
6	1	1	5	2,5	1	1	3	2	1	1	4,5	1
8	1	1	4	2	1	1	3	2	1	1	3,5	1
10	1	1	4	1	1	1	3	2	1	1	4,5	1
22	1	1	2	1,5	1	1	2	1	1	1	3	1

Emme refleksi; 1: emmeye istekli, 2: hafif isteksiz, 3: isteksiz, 4: emme yok, 5: ilgisiz hareketsiz.

Mukozal görünüm; 1: normal, 2: hiperemik, 3: siyanotik, 4: şiddetli siyanoz, 5: şok tablosu.

Dışkılama; 1: normal, 2: hafif yumuşak, 3: hafif sulu, 4: pis kokulu ishal, 5: şiddetli ishal.

Çizelge 3.1 (Devam). Sağlıklı ve septik şoklu buzağılardan elde edilen klinik skorum parametreleri.

Saat	Solunum tipi				Genel durum			
	Ceft	Comb	LPS+Ceft	LPS+Comb	Ceft	Comb	LPS+Ceft	LPS+Comb
-2	1	1	1	1	1	1	1	1
-1.5	1	1	2,5	2	1	1	2	2
-1	1	1	4	3	1	1	4	2,5
-0,5	1	1	3,5	2,5	1	1	4	3
0	1	1	3	3	1	1	4	3
0,5	1	1	3	2,5	1	1	4	3
1	1	1	3,5	1,5	1	1	4	3,5
2	1	1,5	3,5	1,5	1	1	4	3
4	1	1	3,5	2,5	1	1	4	3
6	1	1	3	4	1	1	4	3
8	1	1	2	3	1	1	3	2
10	1	1	1	2	1	1	3	2
22	1	1	2	1	1	1	3	1

Solunum tipi; 1: normal solunum, 2: miks solunum, 3: abdominal solunum, 4: şiddetli abdominal solunum, 5: şiddetli solunum güçlüğü.

Genel durum; 1: normal, 2: reflekslerde hafif azalma, 3: orta refleks ve bilinç kaybı, 4: belirgin bilinç ve refleks kaybı, 5: şok tablosu.

Çizelge 3.2. Sağlıklı ve septik şoklu buzağılardan elde edilen monitorizasyon bulguları.

Zaman (Saat)	Orta tansiyon (mm Hg)				Nabız (1/dakika)			
	Ceft	Comb	LPS+Ceft	LPS+Comb	Ceft	Comb	LPS+Ceft	LPS+Comb
-2	75,0±2,90	113±2,71	100±5,49 ^A	83,0±1,89	128±6,34	136±10,1	121±2,58 ^{AB}	137±3,52 ^{AB}
-1,5	78,8±3,65	113±2,38	94,1±6,54 ^{AB}	81,6±4,21	140±5,45	132±10,3	112±15,4 ^{AB}	159±27,7 ^{AB}
-1	77,5±2,26	115±3,76	79,8±7,08 ^{ABC}	76,5±1,47	140±6,70	140±12,7	100±8,38 ^B	150±17,1 ^{AB}
-0,5	76,1±3,01	109±1,35	62,6±5,93 ^C	64,1±2,45	137±6,01	130±9,44	113±11,9 ^{AB}	149±28,8 ^{AB}
0	82,5±3,54	109±3,00	65,5±8,70 ^{BC}	58,6±2,83	133±5,93	132±10,9	123±17,3 ^{AB}	116±12,5 ^B
0,5	71,8±6,70	109±4,64	58,3±8,40 ^C	75,0±5,66	137±5,24	130±9,72	162±27,9 ^{AB}	128±17,9 ^{AB}
1	77,6±2,49	101±4,29	62,6±7,36 ^C	86,8±3,44	140±7,43	128±8,57	136±6,82 ^{AB}	187±21,0 ^{AB}
2	72,8±2,12	104±4,13	79,3±6,09 ^{ABC}	86,3±14,0	148±3,23	128±8,51	183±24,2 ^A	172±23,1 ^{AB}
4	74,1±2,49	102±2,32	60,8±3,53 ^C	91,5±7,09	137±5,65	132±8,77	181±8,15 ^A	144±22,0 ^{AB}
6	79,5±2,43	105±2,49	57,6±5,52 ^C	88,0±9,61	150±5,19	137±9,01	155±4,39 ^{AB}	146±14,3 ^{AB}
8	78,6±3,63	109±2,61	61,6±2,98 ^C	79,8±10,3	148±8,30	128±10,3	174±9,44 ^{AB}	179±5,74 ^{AB}
10	74,8±3,72	110±7,78	65,8±4,90 ^{BC}	78,5±10,0	145±6,03	137±8,26	185±24,3 ^A	217±13,5 ^A
22	77,3±3,71	109±5,95	82,0±4,64 ^{ABC}	79,1±3,56	140±6,82	133±9,30	143±11,0 ^{AB}	141±7,29 ^{AB}

^{A, B, C}: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir (p<0,05).

Çizelge 3.2 (Devam) . Sağlıklı ve septik şoklu buzağılardan elde edilen monitorizasyon bulguları.

Zaman (Saat)	Solunum sayısı (1/dakika)				Beden ısısı ($^{\circ}\text{C}$)			
	Ceft	Comb	LPS+Ceft	LPS+Comb	Ceft	Comb	LPS+Ceft	LPS+Comb
-2	43,3±1,22	35,3±2,17	44,0±1,03 ^B	35,2±4,07 ^E	38,6±0,06	39,2±0,10	39,1±0,16 ^B	38,9±0,13 ^{AB}
-1,5	42,6±0,84	35,3±2,99	56,0±4,84 ^{AB}	47,1±6,20 ^{BCDE}	38,6±0,08	39,1±0,17	39,5±0,14 ^{AB}	39,2±0,10 ^{AB}
-1	44,6±1,90	38,6±3,04	46,6±5,50 ^B	53,0±2,29 ^{BCDE}	38,6±0,07	39,1±0,14	39,2±0,22 ^{AB}	39,5±0,24 ^{AB}
-0,5	42,0±1,71	35,3±2,40	60,0±5,72 ^{AB}	40,6±3,12 ^{DE}	38,6±0,09	39,0±0,18	39,4±0,15 ^{AB}	39,4±0,19 ^B
0	43,0±0,68	36,6±3,16	55,6±11,2 ^{AB}	44,0±2,30 ^{CDE}	38,7±0,13	39,0±0,17	39,8±0,15 ^{AB}	39,7±0,19 ^{AB}
0,5	38,6±1,68	41,3±3,37	68,0±7,08 ^{AB}	50,0±3,96 ^{BCDE}	38,5±0,12	39,1±0,15	39,7±0,15 ^{AB}	39,5±0,08 ^{AB}
1	42,6±2,66	38,0±3,54	55,1±4,66 ^{AB}	60,0±2,92 ^{BCD}	38,6±0,08	38,9±0,13	39,8±0,24 ^{AB}	39,7±0,15 ^{AB}
2	42,0±1,71	42,0±2,68	58,0±6,75 ^{AB}	69,3±4,21 ^B	38,7±0,06	38,8±0,13	40,0±0,16 ^A	39,8±0,20 ^{AB}
4	40,6±2,40	35,3±4,31	82,6±10,9 ^A	60,6±4,3 ^{BCD}	38,5±0,05	38,9±0,11	39,6±0,25 ^{AB}	40,3±0,25 ^A
6	42,6±3,37	36,0±2,73	62,0±6,71 ^{AB}	110±7,06 ^A	38,6±0,08	38,9±0,10	39,7±0,09 ^{AB}	40,3±0,42 ^A
8	43,3±1,90	38,0±2,00	56,6±4,31 ^{AB}	68,3±9,85 ^B	38,6±0,04	38,9±0,12	39,4±0,26 ^{AB}	39,7±0,35 ^{AB}
10	42,6±1,97	28,0±1,46	47,3±5,20 ^B	66,6±5,33 ^{BC}	38,6±0,08	38,8±0,05	39,7±0,25 ^{AB}	40,0±0,35 ^{AB}
22	43,3±1,60	36,0±2,81	46,4±4,49 ^B	58,0±2,00 ^{BCDE}	38,8±0,07	38,8±0,07	39,1±0,10 ^B	39,2±0,14 ^{AB}

A, B, C, D, E: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir (p<0,05).

Çizelge 3.3. Sağlıklı ve septik şoklu buzağların hemogram parametrelerindeki değişimler.

Parametre	Grup	-2 saat	-1 saat	0 saat	2 saat	4 saat	10 saat	22 saat
WBC 10 ³ /mm ³	Ceft	8,76±2,24	9,32±2,47	9,36±2,45	9,08±2,05	10,2±2,49	8,87±1,44	9,40±1,32
	Comb	9,08±0,29 ^C	8,96±0,40 ^C	8,73±0,23 ^C	8,79±0,21 ^C	14,0±0,47 ^B	18,9±0,61 ^A	18,0±0,37 ^A
	LPS+Ceft	8,38±0,42 ^B	1,48±0,21 ^C	1,31±0,32 ^C	0,60±0,10 ^C	1,43±0,11 ^C	11,0±0,74 ^B	17,6±2,57 ^A
	LPS+Comb	8,79±0,21 ^B	1,99±0,24 ^C	1,47±0,19 ^C	0,94±0,10 ^C	1,45±0,24 ^C	8,14±1,98 ^B	28,1±1,34 ^A
RBC 10 ⁶ /mm ³	Ceft	6,06±0,46	6,05±0,51	5,96±0,44	5,97±0,39	6,07±0,50	5,98±0,44	5,98±0,24
	Comb	6,83±0,57	6,72±0,55	6,43±0,45	7,00±0,37	6,47±0,57	6,18±0,48	6,79±0,65
	LPS+Ceft	6,91±0,10	6,42±0,40	6,34±0,35	6,08±0,38	6,88±0,31	6,15±0,31	5,83±0,39
	LPS+Comb	7,01±0,43 ^{AB}	7,36±0,43 ^A	6,11±0,48 ^{AB}	7,39±0,58 ^A	7,31±0,76 ^A	5,79±0,40 ^{AB}	4,90±0,21 ^B
THR 10 ³ /mm ³	Ceft	294±59,9	256±33,8	267±18,8	281±36,0	299±43,0	239±33,1	226±28,0
	Comb	397±47,6 ^{AB}	368±27,6 ^{AB}	321±50,3 ^B	488±30,4 ^A	298±14,2 ^B	325±35,9 ^B	368±3,48 ^{AB}
	LPS+Ceft	427±49,5 ^A	271±55,3 ^B	259±17,5 ^B	177±18,7 ^B	208±45,1 ^B	225±8,25 ^B	258±13,8 ^B
	LPS+Comb	277±23,4 ^A	245±12,2 ^{AB}	195±23,3 ^{BC}	179±22,9 ^{BC}	175±9,20 ^{BC}	144±11,6 ^C	322±19,3 ^A

A, B, C, D: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir (p<0,05). WBC; Akyuvarlar, RBC; Alyuvar, THR; trombosit.

Çizelge 3.4. Sağlıklı ve septik şoklu buzağların kan gazı parametrelerindeki değişimler.

Parametre	Grup	-2 saat	-1 saat	0 saat	2 saat	4 saat	10 saat	22 saat
pH	Ceft	7,40±0,02	7,41±0,02	7,41±0,02	7,40±0,02	7,42±0,02	7,43±0,02	7,41±0,01
	Comb	7,41±0,01 ^A	7,43±0,01 ^A	7,42±0,01 ^A	7,39±0,01 ^{AB}	7,39±0,01 ^{AB}	7,40±0,01 ^A	7,34±0,02 ^B
	LPS+Ceft	7,39±0,01 ^A	7,36±0,01 ^{AB}	7,36±0,01 ^{AB}	7,19±0,08 ^B	7,27±0,05 ^{AB}	7,35±0,01 ^{AB}	7,39±0,02 ^A
	LPS+Comb	7,41±0,01 ^A	7,40±0,01 ^{AB}	7,40±0,01 ^{AB}	7,31±0,02 ^B	7,32±0,03 ^{AB}	7,35±0,01 ^{AB}	7,38±0,02 ^{AB}
pCO ₂ mmHg	Ceft	45,6±2,48	44,8±1,79	45,3±1,14	47,5±1,31	46,3±1,64	44,0±2,70	45,6±1,96
	Comb	45,0±1,34	45,8±1,01	46,0±1,39	46,3±1,74	48,0±1,12	47,5±1,60	49,5±2,29
	LPS+Ceft	42,0±1,75	43,0±2,28	45,8±1,97	45,3±5,09	38,8±2,86	40,1±1,70	39,3±2,18
	LPS+Comb	45,3±0,95	45,3±1,05	45,8±0,65	45,3±1,94	39,3±3,13	42,5±1,58	43,5±1,60
pO ₂ mmHg	Ceft	28,0±4,10 ^A	27,3±1,62 ^{AB}	23,5±1,68 ^{AB}	24,5±1,17 ^{AB}	22,0±1,75 ^{AB}	21,8±2,12 ^{AB}	17,8±1,13 ^B
	Comb	25,3±1,72	28,5±2,01	25,6±2,67	29,0±2,78	24,6±3,11	24,1±2,54	20,8±1,83
	LPS+Ceft	24,0±1,48	20,0±1,71	23,0±1,98	22,8±3,23	21,3±1,30	22,6±0,91	21,6±2,99
	LPS+Comb	27,5±2,43	28,5±4,89	25,5±2,61	24,8±1,68	22,5±1,23	23,0±1,57	28,3±1,97
HCO ₃ mmol/L	Ceft	28,4±1,15	28,1±0,97	28,6±1,19	29,9±1,37	30,1±1,32	29,8±2,25	29,0±0,51
	Comb	28,6±0,92	30,7±0,96	29,7±1,45	28,3±1,32	29,2±0,78	29,6±1,04	26,8±1,59
	LPS+Ceft	24,7±0,96 ^{AB}	24,6±1,46 ^{AB}	27,1±0,89 ^A	18,0±2,65 ^B	19,1±3,19 ^{AB}	22,7±1,45 ^{AB}	24,4±2,36 ^{AB}
	LPS+Comb	29,2±0,38 ^A	28,6±0,69 ^{AB}	28,9±0,82 ^{AB}	23,2±1,46 ^{ABC}	21,0±2,72 ^C	23,0±1,28 ^{BC}	26,0±1,04 ^{ABC}
HCO ₃ std mol/L	Ceft	26,7±1,01	26,6±0,89	26,8±1,18	27,7±1,30	28,0±1,18	28,1±1,83	27,1±0,32
	Comb	26,9±0,70	28,8±0,77	28,0±1,15	26,7±1,03	27,0±0,65	27,5±0,92	25,6±0,81
	LPS+Ceft	24,0±0,82 ^{AB}	23,3±1,15 ^{AB}	25,5±0,61 ^A	16,5±2,93 ^B	18,1±3,07 ^{AB}	22,1±1,26 ^{AB}	23,7±1,99 ^{AB}
	LPS+Comb	27, 5±0,21 ^A	26,8±0,62 ^{AB}	27,2±0,77 ^{AB}	21,8±1,34 ^{BC}	20,2±2,43 ^C	22,7±1,18 ^{ABC}	25,0±1,15 ^{ABC}
BEecf mmol/L	Ceft	3,66±1,34	3,46±1,16	3,91±1,52	5,16±1,69	5,63±1,54	5,61±2,43	4,48±0,48
	Comb	4,01±0,99	6,43±1,07	5,28±1,60	3,41±1,46	4,28±0,84	4,91±1,23	3,41±0,85
	LPS+Ceft	1,40±0,31 ^B	2,68±1,16 ^{AB}	2,50±0,61 ^{AB}	-10,7±3,38 ^A	-9,21±3,37 ^{AB}	-3,90±1,18 ^{AB}	-4,91±1,62 ^{AB}
	LPS+Comb	4,76±0,37	3,96±0,85	4,15±0,90	3,98±1,27	4,45±0,98	3,18±0,31	2,06±0,59

Çizelge 3.4 (Devam). Sağlıklı ve septik şoklu buzağuların kan gazı parametrelerindeki değişimler.

Parametre	Grup	-2 saat	-1 saat	0 saat	2 saat	4 saat	10 saat	22 saat
Beb mmol/L	Ceft	3,23±1,27	3,06±1,09	3,50±1,41	4,61±1,56	5,06±1,41	5,16±2,23	4,08±0,44
	Comb	3,56±0,90	5,83±0,98	4,78±1,46	3,05±1,32	3,80±0,77	4,36±1,16	3,20±0,78
	LPS+Ceft	1,58±0,37 ^B	2,40±1,08 ^{AB}	2,18±0,55 ^{AB}	-10,0±3,20 ^A	-8,56±3,17 ^{AB}	-3,60±1,10 ^{AB}	-4,53±1,46 ^{AB}
	LPS+Comb	4,23±0,30	3,48±0,83	3,78±0,79	3,66±1,20	4,05±0,92	3,85±0,96	2,16±0,64
Hct %	Ceft	25,3±1,70	24,8±1,62	24,6±1,28	24,6±1,42	24,5±1,38	22,5±1,28	23,3±1,25
	Comb	25,8±1,86	25,1±2,02	24,3±1,35	23,6±1,89	24,8±1,83	24,3±1,83	25,5±1,08
	LPS+Ceft	24,0±0,81	25,1±1,85	24,1±2,08	25,5±2,52	26,0±2,06	21,5±1,97	20,6±1,56
	LPS+Comb	25,0±1,34	27,8±1,92	24,6±2,29	24,4±2,13	27,3±2,70	25,1±2,50	21,6±1,99
Hbc g/dL	Ceft	7,86±0,52	7,70±0,50	7,65±0,40	7,65±0,44	7,58±0,43	6,98±0,40	7,25±0,39
	Comb	8,00±0,58	7,80±0,62	7,41±0,43	7,35±0,58	7,70±0,57	7,55±0,57	7,53±0,46
	LPS+Ceft	7,60±0,19	7,81±0,57	7,50±0,64	7,91±0,77	8,06±0,63	6,70±0,61	6,76±0,41
	LPS+Comb	7,83±0,41	7,73±0,50	7,60±0,71	7,45±0,55	8,11±0,68	7,40±0,56	6,48±0,62
Glukoz mg/gL	Ceft	106±14,4	108±12,3	118±17,4	114±13,4	101±15,3	102±7,69	82,8±7,87
	Comb	92,8±4,33 ^C	100±5,16 ^{BC}	93,3±1,81 ^C	147±14,4 ^A	103±7,50 ^{BC}	128±9,30 ^{AB}	108±3,57 ^{BC}
	LPS+Ceft	70,5±2,34 ^{AB}	88,6±14,1 ^A	90,1±4,28 ^A	40,3±10,2 ^{BC}	35,6±9,40 ^{BC}	30,1±7,29 ^C	47,8±6,47 ^{BC}
	LPS+Comb	78,5±3,59	88,6±11,0	83,5±4,24	73,6±22,0	72,6±8,45	63,8±2,86	54,8±12,4
Laktat mmol/L	Ceft	2,25±0,59	1,66±0,32	1,73±0,34	1,81±0,49	1,16±0,22	1,51±0,19	1,93±0,47
	Comb	1,73±0,34	1,16±0,12	1,50±0,31	1,40±0,20	1,71±0,26	1,90±0,24	2,16±0,11
	LPS+Ceft	0,83±0,08 ^B	2,20±0,37 ^B	2,45±0,45 ^B	9,75±2,28 ^A	7,38±2,42 ^{AB}	5,75±2,09 ^{AB}	1,36±0,17 ^B
	LPS+Comb	1,26±0,18 ^D	1,75±0,23 ^{CD}	1,90±0,07 ^{CD}	8,45±0,92 ^B	12,5±0,64 ^A	12,4±0,80 ^A	4,81±1,55 ^C

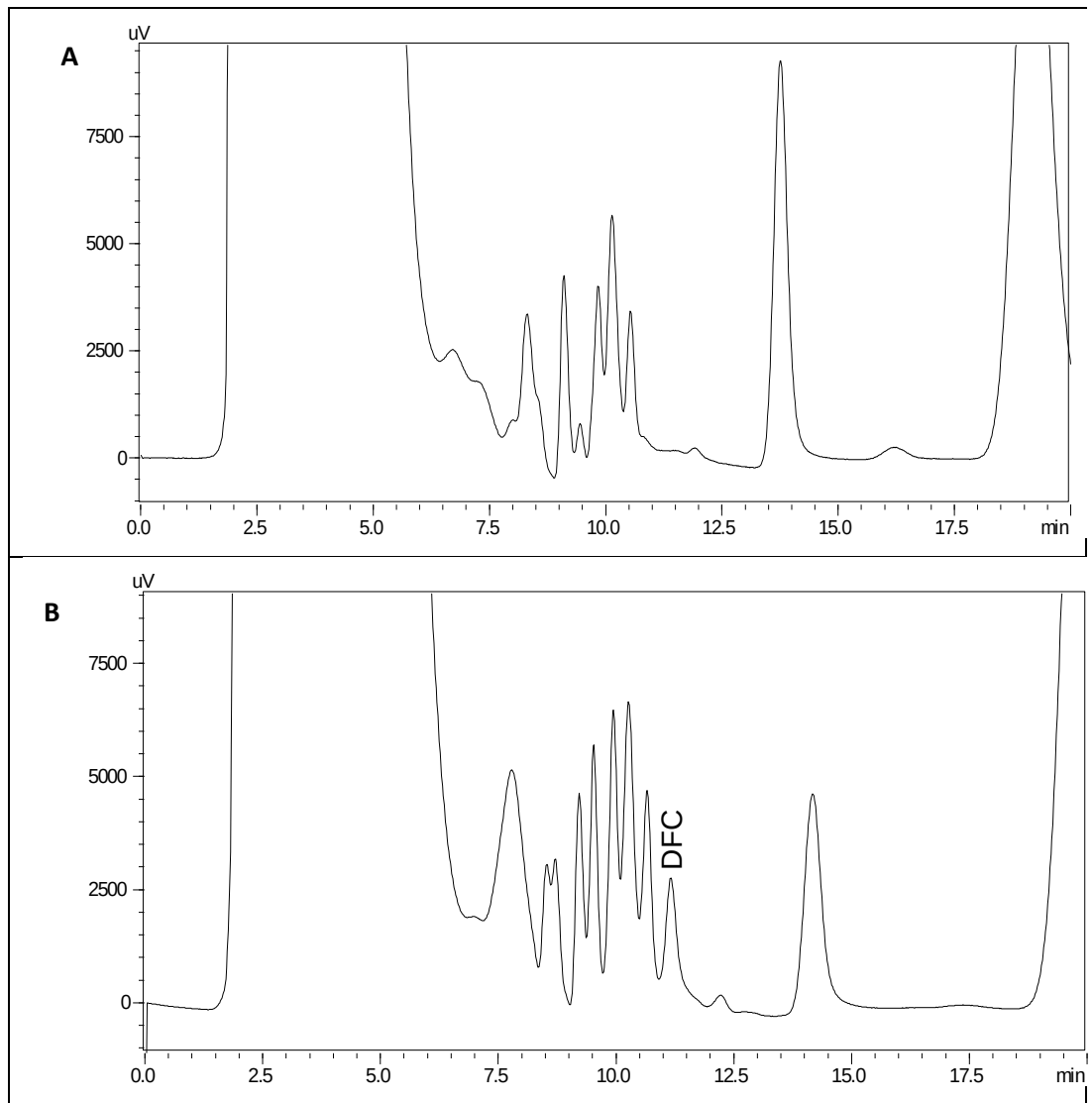
A, B, C, D: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir (p<0,05). pCO₂; venöz kanda parsiyel CO₂ basıncı, pO₂; venöz kanda parsiyel O₂ basıncı, HCO₃; bikarbonat iyon konsantrasyonu, HCO₃std; standart bikarbonat, tCO₂; total CO₂, BEecf; base excess extra cellular fluid, BEb; base excess blood, Hct; hematokrit, Hbc; hemoglobin.

3. 2. Plazma İlaç Düzeylerinin Belirlenmesi

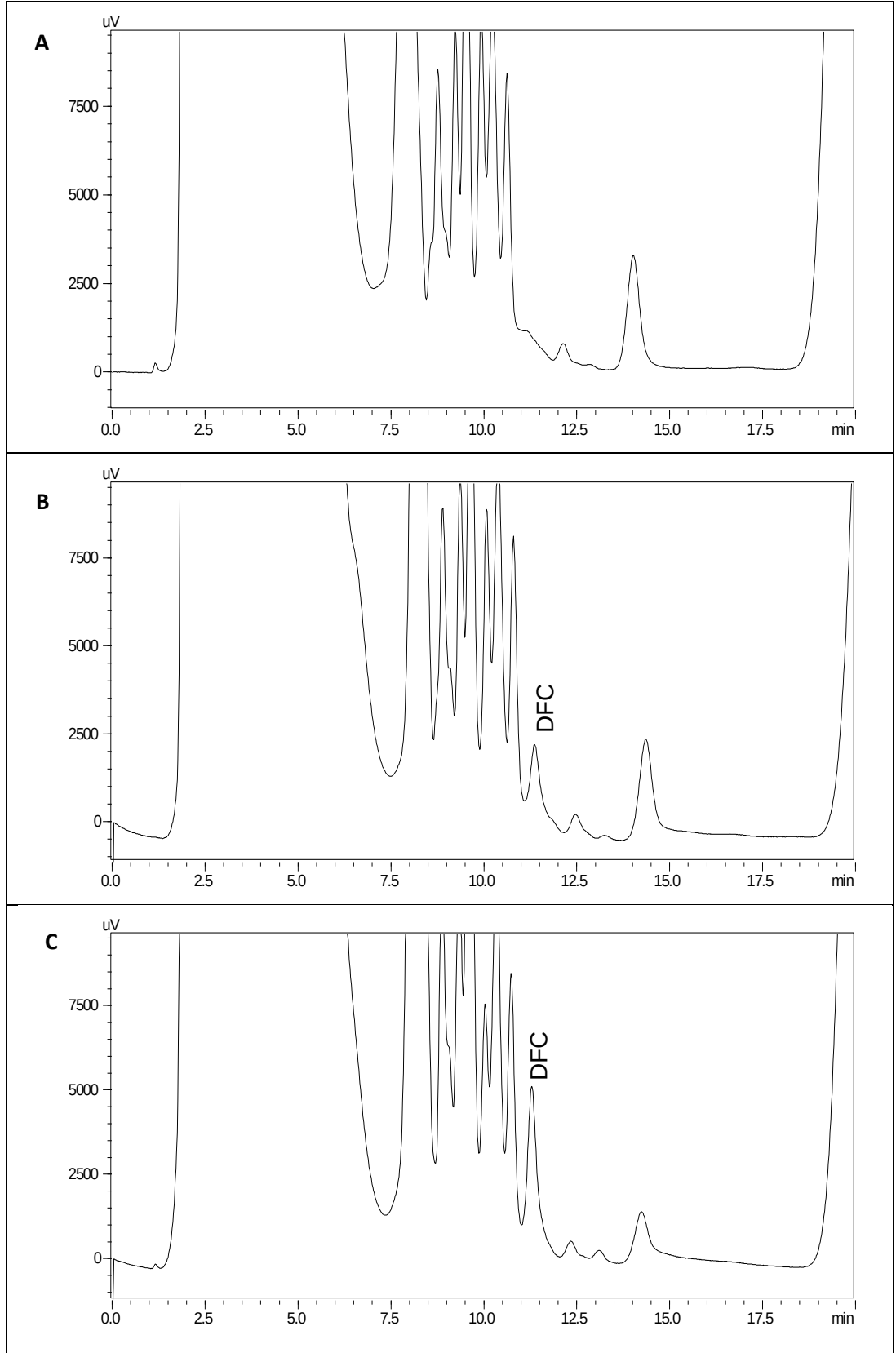
3.2.1. Metot Validasyonu

Özgünlük (Specificity)

Ana madde ve metabolitlerini içermeyen su (Şekil 3.1) ve buzağı plazma (boş plazma) örneklerinin HPLC sistemine uygulanması sonrasında kromatogram üzerinde DFC alıkonma zamanında plazma kaynaklı piklere rastlanmadı (Şekil 3.2).



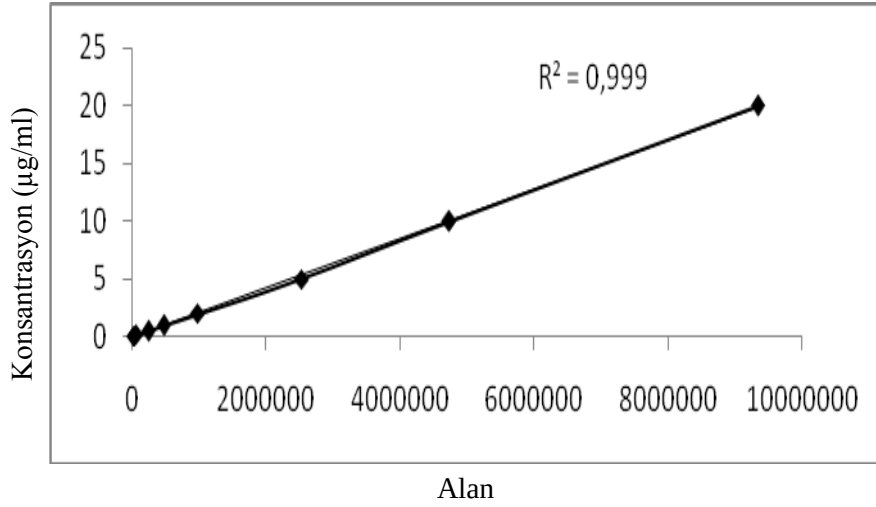
Şekil 3.1. Desfurilseftiofurun suda gözlenen HPLC kromatogramları, A; seftiofur yüklenmemiş su örneği, B; seftiofur yüklenmiş su örneği (2 µg/mL).



Şekil 3.2. Desfurilseftiofurun plazmada gözlenen HPLC kromatogramları A; seftiofur yüklenmemiş buzağı plazma örneği, B; seftiofur yüklenmiş plazma örneği (2 µg/mL), C; seftiofurun 2.2 mg/kg dozunda uygulaması sonrası 1. saatteki buzağı plazma örneği.

Doğrusallık (Linearity)

Çalışma standartları stok solüsyon (1 mg/mL) dilüsyonları şeklinde hazırlandı. Bu dilüsyonların su ve plazmaya yüklenmesi sonrası yapılan ekstraksiyon sonucu elde edilen süpernatantın 20 µL'si HPLC sistemine enjekte edildi. Konsantrasyonlar ve bu konsantrasyonlara karşılık gelen pik alan değerleri kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisi ve hesaplanan korelasyon katsayısı (R^2) plazma için Şekil 3.3'de gösterildi. Suda ise R^2 değeri 0,9996 olarak bulundu.



Şekil 3.3. DFC'nin farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış plazma yüklemelerinin (0,05-20 µg/mL) kalibrasyon eğrileri ve korelasyon katsayıları.

Duyarlılık (Sensitivity)

LOD: S/G oranının en az 3 olduğu DFC konsantrasyonu 0,05 µg/mL olarak tespit edildi. LOQ: S/G oranının en az 10 olduğu DFC konsantrasyonu 0,1 µg/mL olarak tespit edildi.

Geri Kazanım (Recovery)

Geri kazanım düşük (0,5 µg/mL), orta (2 µg/mL) ve yüksek (10 µg/mL) seviyedeki kalite kontrol örnekleri için sırasıyla %96,39±2,72; 93,90±1,77 ve 94,56±4,49 olarak hesaplandı.

Kesinlik (Precision) ve Gerçeklik (Accuracy)

Metodun kesinliği ve gerçekliği düşük (0,5 µg/mL), orta (2 µg/mL) ve yüksek (10 µg/mL) konsantrasyonlarındaki kalite kontrol örnekleri ile değerlendirildi. Gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik ve gerçeklik değerleri Çizelge 3.5 sunuldu.

Çizelge 3.5. Desfurilseftiofurun plazma kesinlik ve gerçeklik değerleri.

Parametre	Yüklenen Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)		
	0.5	2	10
GIHOK (n=3)	0,514	1,969	9,506
SS	0,022	0,033	0,564
%VK	4,361	1,696	5,932
Bias (%)	2,737	-1,545	-4,938
GAHOK (n=3)	0,502	2,004	10,048
SS	0,018	0,056	0,616
%VK	3,625	2,811	6,125
Bias (%)	0,344	0,199	0,483

GIHOK; gün içi hesaplanan ortalama konsantrasyon, GAHOK; günler arası hesaplanan ortalama konsantrasyon, SS; standart sapma, VK; varyasyon katsayısı.

3.3. Farmakokinetik Parametreler

Buzağılarda seftiofurun Kİ yolla tek doz (2,2 mg/kg) uygulama sonrasında Ceft, LPS+Ceft, Comb ve LPS+Comb gruplarına ait DFC'nin plazma konsantrasyon-zaman eğrileri (Şekil 4.4) çizilerek, iki kompartmanlı dışa açık modele göre farmakokinetik parametreler hesaplandı (Çizelge 3.6).

Comb grubu emilim hız sabiti (k_a)'nin LPS uygulanan iki grupta; emilim yarı ömrünün ($t_{1/2a}$) ise diğer bütün gruplara göre farklı olduğu ($p<0,05$) görüldü. Uygulamayı takiben ilacın Ceft, LPS+Ceft, Comb ve LPS+Comb gruplarında sırasıyla 7,73; 7,86; 6,54 ve 5,74 $\mu\text{g/mL}$ 'lik doruk plazma konsantrasyonlarına (C_{dorum}) ulaştığı gözlemlendi (Çizelge 3.6). İlacın kombine tedavi gruplarında daha kısa sürelerde doruk plazma konsantrasyonuna (T_{dorum}) ulaştığı ($p<0,05$) görüldü.

Kontrol grubu olarak planlanan Ceft grubuna göre değerlendirildiğinde tek başına LPS uygulamasının (LPS+Ceft) EAA_{0-46} artırdığı, kombine uygulamaların ise azalttığı ($p<0,05$) tespit edildi.

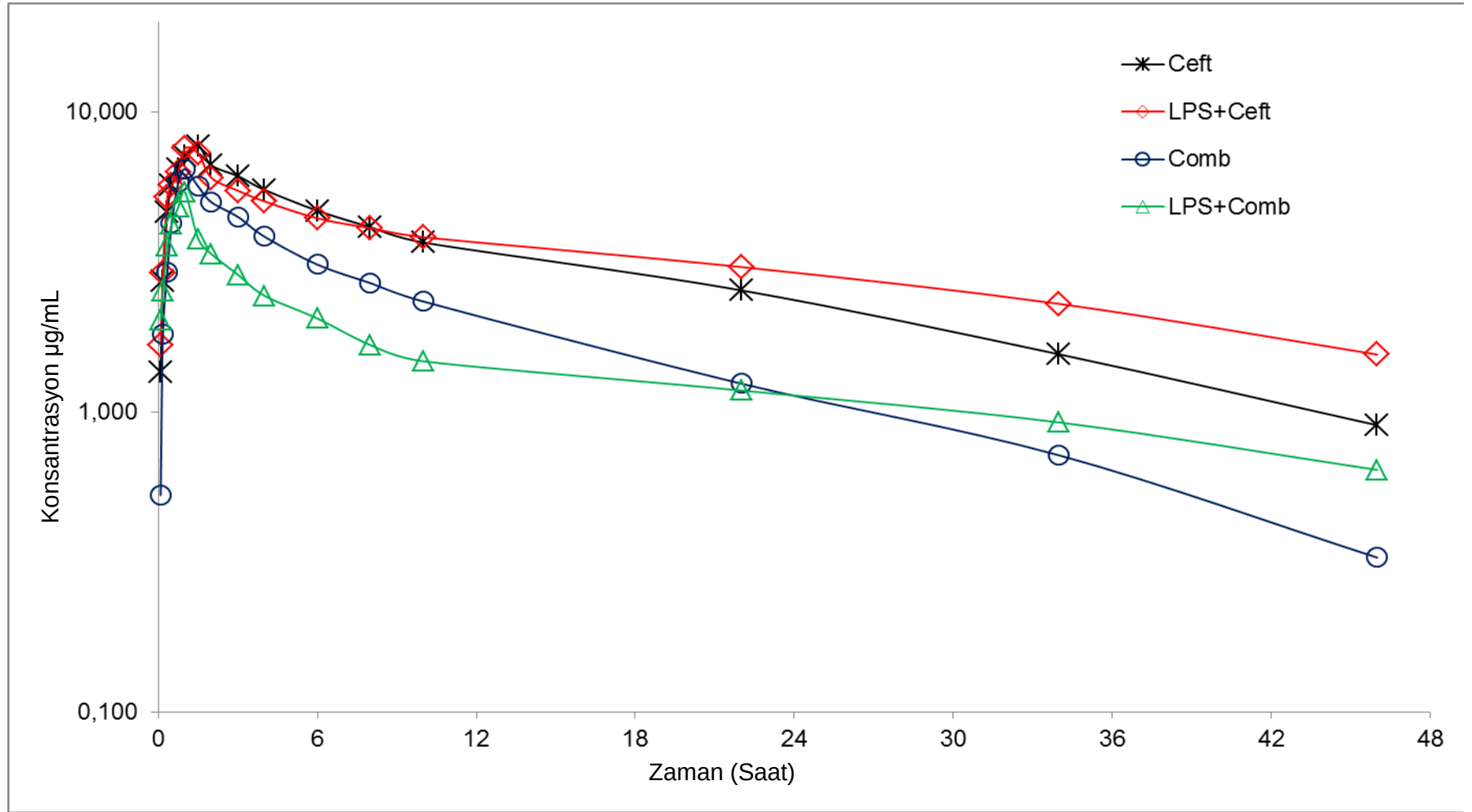
Merkezi dağılım hacminin (V_{1F}) LPS+Comb grubunda en büyük, Comb grubunda ise en küçük değerlerde olduğu, en büyük periferik dağılım hacminin (V_{2F}) de yine LPS+Comb grubunda gerçekleştiği hesaplandı ($p<0,05$).

Kontrol grubu olarak planlanan Ceft grubuna göre değerlendirildiğinde LPS+Ceft grubunda atılım yarı ömrünün ($t_{1/2\beta}$) uzadığı ($p<0,05$), kombine uygulama gruplarındaki yarı ömürlerin ise birbirleri ile benzer olduğu ($p>0,05$) belirlendi. Kombine tedavi uygulanan gruplarda klerensin (CL/F) diğer iki gruba göre arttığı ($p<0,05$) tespit edildi (Çizelge 3.6).

3.4. Mikrobiyolojik Prosedür

3.4.1. MİK belirleme

Seftiofur ve DFC için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri “Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji AD”dan temin edilen *E. coli* ATCC 25922 ve sahadan izole edilen *E. coli* ATCC 31616 suşu ile belirlendi. *E.coli* suşlarının DFC ve seftiofura duyarlılığı (MİK) mikrodilüsyon tekniği ile NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2008) önerilerine göre bulanıklığın görülmediği en düşük antibiyotik konsantrasyonu olarak belirlendi. Bu çalışmada seftiofur ve ana metaboliti olan DFC’un MİK değeri *E. coli* ATCC 25922 için sırasıyla 2.56 µg/mL ve 10,24 µg/mL, seftiofur’un MİK değeri *E. coli* ATCC 31616 için 10,24 µg/mL olarak hesaplandı.



Şekil 3.4. Seftiofurun sağlıklı ve septik şoklu buzağılarda tek doz (2,2 mg/kg) Kİ uygulaması sonrası desfurilseftiofurun Ceft, LPS+Ceft, Comb ve LPS+Comb gruplarında yarı logaritmik plazma konsantrasyon-zaman eğrileri (n=6).

Çizelge 3.6. Seftiofurun sağlıklı ve septik şoklu buzağılarda tek doz (2,2 mg/kg) Kİ uygulaması sonrası DFC'nin farmakokinetik parametreleri.

Parametre	Ceft	LPS+Ceft	Comb	LPS+Comb
k_a (1/saat)	1,86±0,45 ^{AB}	2,18±0,66 ^A	1,21±0,25 ^B	2,52±0,78 ^A
$t_{1/2a}$ (saat) (HO)	0,37±0,09 ^B	0,32±0,17 ^B	0,57±0,12 ^A	0,27±0,10 ^B
T_{doruk} (saat) (Aralık)	1,5 ^A (1,5)	1,5 ^A (1-1,5)	1 ^B (1-1,5)	1 ^B (0,75-1)
C_{doruk} (µg/mL)	7,73±0,81 ^A	7,86±0,98 ^A	6,54±0,85 ^{AB}	5,74±1,47 ^B
EAA_{0-46} (saat*µg/mL)	153±26 ^B	223±41 ^A	100±17 ^C	86±17 ^C
α (1/saat)	0,59±0,32	0,70±0,48	0,98±0,21	1,19±0,59
$t_{1/2\alpha}$ (saat) (HO)	1,17±1,26	0,99±0,69	0,71±0,16	0,58±0,48
V1F (mL/kg)	212±22 ^{AB}	220±56 ^{AB}	189±36 ^B	281±75 ^A
V2F (mL/kg)	182±64 ^B	254±168 ^B	342±97 ^B	568±126 ^A
k_{10} (1/saat)	0,07±0,01 ^{BC}	0,05±0,02 ^C	0,12±0,03 ^A	0,10±0,03 ^{AB}
k_{12} (1/saat)	0,26±0,17 ^B	0,38±0,31 ^{AB}	0,56±0,11 ^{AB}	0,77±0,41 ^A
k_{21} (1/saat)	0,30±0,16	0,30±0,18	0,34±0,14	0,36±0,18
β (1/saat)	0,04±0,01 ^A	0,02±0,00 ^B	0,04±0,01 ^A	0,03±0,01 ^{AB}
$t_{1/2\beta}$ (saat) (HO)	19,90±3,46 ^B	32,56±6,11 ^A	17,90±2,54 ^B	23,39±5,88 ^{AB}
CL/F (mL/saat/kg)	14,70±2,57 ^B	10,16±2,24 ^B	22,52±4,19 ^A	26,68±7,81 ^A
k_{12}/k_{21}	0,86±0,31 ^B	1,25±0,92 ^{AB}	1,84±0,55 ^{AB}	2,12±0,69 ^A
V1F+V2F (mL/kg)	394±67 ^B	474±162 ^B	532±112 ^B	850±169 ^A

A, B, C: Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki açıdan önemlidir ($p<0,05$). k_a ; emilim hız sabiti, $t_{1/2a}$; emilim yarılanma ömrü, T_{doruk} ; doruk plazma konsantrasyonuna ulaşma zamanı, C_{doruk} ; doruk plazma konsantrasyonu, EAA ; eğri altında kalan alan, α ; dağılım dönemi hız sabitesi, $t_{1/2\alpha}$; dağılım yarılanma ömrü, V1F; merkezi kompartman dağılım hacmi, V2F; periferel kompartman dağılım hacmi, k_{10} ; merkezi kompartman eliminasyon hız sabiti, k_{12} ; merkezi bölmeden çevresel bölmeye geçiş hızı sabitesi, k_{21} ; çevresel bölmeden merkezi bölmeye geçiş hız sabitesi, β ; atılım dönemi hız sabitesi, CL/F; total vücut klerensi, $t_{1/2\beta}$; eliminasyon yarılanma ömrü, HO; harmonik ortalama.

4. TARTIŞMA

4.1. Klinik skarlama

Emme refleksinin uygulamayı takip eden 30. dakikadan (-1,5.saatten) itibaren LPS+Ceft grubunda daha belirgin olmakla birlikte azalarak tamamen kaybolduğu, mukozaların siyanotik hale geldiği, dışkılama aralığının kısalđıđı, solunum tipinin değiştii ve genel durumun bozulduğu tespit edildi (Çizelge 3.1). Benzer yaşıardaki (24-36 saatlik) buzağılarda gerçekleştirilen çalışmada (Gerros ve ark 1995), Dİ infüzyonla uygulanan *E. coli* endotoksinin emme refleksi ve mukozal görünüm başta olmak üzere kontrol değerlere göre tüm skarlama parametrelerinde artış görüldüğu vurgulanmaktadır. Ohtsuka ve ark (1997)'da buzağılarda yaptıkları çalışmada LPS uygulamasını takip eden 1 saat içinde iştahsızlık, ishal ve salya akıntısı, bronkoveziküler solunum ve yüksek kalp sesi gibi klinik semptomların oluştuğunu bildirmektedir. Buzağılarda gerçekleştirilen diğer çalışmalarda (Bieniek ve ark 1998, Borderas ve ark 2008, Singh ve ark 2011, Coşkun ve Şen 2012a) farklı skor parametreleri için benzer bulgulara rastlanmaktadır.

Yeni doğan taylarda sepsiseminin erken tanısı için valide edilmiş geçerli bir skarlama metodu olmasına rağmen, buzağılarda duyarlı, spesifitesi yüksek bir skarlama yöntemi henüz oluşturulamamıştır (Constable 2007a, Fecteau ve ark 2009). Klinik skarlama subjektif bir değerlendirme sistemi olmasına rağmen, bu çalışmada da olduğu gibi hayvanlarda hem doğal (Thomas ve ark 2004) hem de deneysel endotoksemi değerlendirmesinde en yaygın kullanılan yöntemlerdendir (Fecteau ve ark 2009, Castagnetti ve ark 2010, Coşkun ve Şen 2012a). Bu skarlama yöntemlerine bazen beşeri hekimlikte olduğu gibi laboratuvar bulguları da dahil edilmektedir (Fecteau ve ark 2009). Yeni doğan sepsisemisi birkaç saatten birkaç günlük yaştaki hayvanlarda yaygındır. Yeni doğan canlılarda gözlenen sepsiste klinik olarak boylu boyuna yatış, depresyon, emme refleksinde belirgin azalma, dehidrasyon, ateş, ishal, çökmüş veya şişkin mukozalar, güçsüzlük ve hızlı ölüm yaygın olarak görülür (Yıldız ve ark 2003, Constable 2007b). Kombine ilaç tedavisinin öncelikle dışkılama sıklığını engellediği (Çizelge 3.1), mukozal görünüm, emme refleksi ve genel durum üzerindeki

endotoksinin negatif etkilerini, farklı terapötik ajan uygulamaları ile buzağılarda elde edilen sonuçlara benzer şekilde (Margolis ve ark 1987, Ohtsuka ve ark 1997, Constable 2009, Fecteau ve ark 2009, Nagy 2009) azalttığı belirlendi (Çizelge 3.1).

4.2. Monitorizasyon

LPS+Ceft grubunda monitorizasyonla orta tansiyonda düzenli olmayan istatistiki düşüşler belirlendi (Çizelge 3.2). Gerros ve ark (1995) ile Margolis ve ark (1987) mevcut araştırmaya benzer şekilde LPS uygulamalarının ortalama kan basıncını düşürdüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca Singh ve ark (2011) deneysel endotoksemi oluşturdukları buzağılarda ortalama sistolik, diyastolik ve ortalama arteriyal kan basıncının düştüğünü bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada LPS+Comb grubundaki ilaç uygulamalarının orta tansiyon üzerindeki değişimleri engellediği gözlemlendi ($p>0,05$, Çizelge 3.2). Mevcut araştırmada kolloidal sıvı ve özellikle 20-30 µg/kg/saat dozundaki dopamin uygulamaları ile LPS'nin neden olduğu tansiyondaki değişimlerin kontrol altına alınabildiği ve ortalama kan basıncındaki düşmelerin engellenebildiği belirlendi. Hastalardaki hipotansiyon durumlarında kalbin kontraktilesini artırarak kalp verimi ve oksijen salınımını artırabilen dopamin ve dobutamin gibi inotropik ajanlar oldukça faydalıdır (Khilnani 2005, Barrington 2008, İnce 2011). Tedavide kullanılan kolloid solüsyonlar pahalı oldukları için sığırlarda tedavide nadiren kullanılmaktadır. Özellikle hipertonic tuzlu çözeltilerle kombine kolloid sıvı kullanımının, tedavide tek başına hipertonic tuz çözeltilerine göre daha etkili oldukları ifade edilmiştir (Kozat ve Voyvoda 2006, Constable 2007a, b, Elmas 2009). Glukokortikoidler ise kardiyovasküler sistemde beta reseptör ekspresyonunu artırarak ve bu reseptörlerin dolaşımında bulunan katekolaminlere karşı duyarlılığını yükselterek vasküler ton ve miyokardiyal kontraktileti artırıp kan basıncının (tansiyon) yükselmesine neden olabilmektedir (Subhedar 2003).

LPS uygulanan gruplarda beden ısı ve solunum ile kalp atım sayılarında düzensiz yükselmeler gözlemlendi ($p<0,05$, Çizelge 3.2). Mevcut araştırmanın bulguları buzağılar üzerinde gerçekleştirilen diğer çalışmalarla (Margolis ve ark 1987, Gerros ve ark 1995, Bieniek ve ark 1998, Borderas ve ark 2008, Coşkun ve Şen 2012a) benzer olduğu gözlenirken, *E. coli* endotoksini infüze edilen

buzağılarda beden ısı, solunum ve kalp atım sayılarının artarken tiplerinin de değiştiği bildirilmiştir (Kinsenberg ve ark 1994).

Endotoksemi durumlarında hemodinamik belirtiler genelde iki faz görünümüne sahiptir. Erken fazda sistemik kan basıncı normale çok yakın veya çok az aşağıda olmasına rağmen, kalp atım sayısı ve gücü artmıştır. Bu dönem endotokseminin hiperdinamik fazı olarak bilinir. Bu fazda dokuların oksijen ihtiyacı arttığından, metabolik gereksinimi karşılamak üzere kan akımı da artırılmaya çalışılır. Kalp verimi ve oksijen salınımı yükselmiş olmasına rağmen, hiperdinamik fazda kan akım hızı henüz dokuların ihtiyacını karşılamaya yetecek durumda değildir. Bu fazda etkilenen hayvanlarda hiperventilasyon, kapiller dolum zamanında düşme ve konjesyon olmuş müköz membranlar gözlenir. Barsak ve böbrek gibi organlarda mikrosirkülasyon işlemleri devam eder. Barsak mukozasında işemi görülür ve ishal oluşabilir. Azalan böbrek perfüzyonu idrar miktarını azaltır. Endotokseminin kontrol altına alınamaması durumunda, hiperdinamik faz şokun hipodinamik fazına doğru ilerler. Kalp veriminde azalma, sistemik hipotansiyon ve merkezi venöz dönüşte azalma başlıca değişikliklerdir. Hipotermi, hızlı düzensiz nabız, uzamış kapiller dolum zamanı, siyanotik müköz membranlar, asidoz ve hipoksemi bu fazdaki diğer belirtileri oluşturur. Deri ve ekstremiteler soğuktur. Şiddetli akciğer ödemi, pulmoner hipertansiyonda artış, laktik asidozis ve çoklu organ yetmezlikleri gözlenir (Titheradge 1999, İskit ve Guc 2004, Constable 2007a).

4.3. Hemogram ve Kan Gazı Parametreleri

Septik şoklarda kan tablosunda hızlı değişimler her zaman beklenmektedir. Mevcut araştırmada LPS+Ceft grubunda WBC ve trombosit sayılarında düşmeler ($p<0,05$) belirlendi. Trombosit sayısındaki belirlenen düşme ($p<0,05$) ise deney sonuna kadar düzelmedi. Ayrıca LPS+Comb grubunda RBC sayısında ise düzensiz istatistiki değişimler tespit edildi. LPS uygulanan gruplarda WBC sayılarında gözlenen düşmelerin ($p<0,05$) son örnekleme zamanında artışa ($p<0,05$) döndüğü belirlendi (Çizelge 3.3). Endotoksin uygulaması ile oluşan nötropeniden sonra başlayan fakat ondan daha uzun süren bir trombositopeni şekillenir (Constable 2007a, Fecteau ve ark 2009, Coşkun ve Şen 2012b). Ayrıca, deneysel endotoksemi oluşturulmuş buzağılarda RBC, PCV ve Hb seviyelerinin

ilk 6 saat boyunca değişmediği ancak bu durumun, oluşan hemokonsantrasyon nedeniyle sıvı kısmın damar dışına çıkması ve depo eritrositlerin salıverilmesi ile ilişkili maskelenmiş bir değişim olabileceği bildirilmektedir (Kinserbergen ve ark 1994). Comb grubunda son örnekleme zamanında gözlenen WBC sayısındaki yükselmeler ile trombosit sayısındaki düzensiz istatistiki değişimlerin (izelge 3.3) deksametazon uygulaması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Ohtsuka ve ark 1997, Constable 2007a, Elmas 2009).

LPS+Ceft grubunda pH, BEcf ile BEb değerinde 2. saatte düşme ($p<0,05$) belirlenirken, HCO_3 ve HCO_3 std değerinde düzensiz değişimler belirlendi. Aynı grupta 2. saatte laktat düzeyinde artışlar ($p<0,05$) ile glukoz da 10. saatte düşme ($p<0,05$) tespit edildi. LPS+Comb grubunda 2. saatte pH değerinde, 4. saatte HCO_3 değerinde, 2. ile 4. saatlerde HCO_3 std değerinde 4. saatte düşme ($p<0,05$) belirlendi. LPS+Comb grubunda 2. saatte belirlenen yüksek laktat düzeyi ($p<0,05$) deney sonuna kadar düşmedi (izelge 3.4).

Bieniek ve ark (1998) buzağılarda gerçekleştirdikleri deneysel endotokseminde kan glukoz düzeyini düşük tespit etmişlerdir. Endotoksik şok, laktik asidoz ve genellikle önce hiper sonra hipoglisemiye neden olabilir. Endotokseminin şiddeti ve oluşum hızına bağlı olarak, kan glukoz seviyesinde azalma, karaciğer glikojeninin gözden kaybolması ve dokuların glukoz toleransında değişiklik söz konusu olabilir (Kinserbergen ve ark 1994, Gerros ve ark 1995, Titheradge 1999, Coşkun ve şen 2012b). Karaciğer glikojeninin mobilizasyonu ve glukoz üretim hızının yükselmesine bağlı olarak erken fazda hiperglisemi, ilerleyen fazda ise hipoglisemi gelişebilmektedir. Hipoglisemi bulgusu uzamış veya şiddetli endotokseminde daha belirgindir (Constable 2007a).

Margolis ve ark (1987) *E. coli* endotoksini uygulamasını takiben kan pH'sı ve beraberinde arteriyal bikarbonat seviyelerinin düştüğünü tespit etmişlerdir. Constable ve ark (1991)'da buzağılara endotoksin uygulanmasından 30 dakika sonra kan pH'sının belirgin şekilde düştüğünü (7,25) bildirmişlerdir. Endotoksemi durumlarında belirlenen yüksek laktat seviyesi arteriyal hipoksi, zayıf doku perfüzyonu, aerobik metabolizma ile anerobik glikolizin hücresel dönüşümündeki azalma ile laktatın karaciğerde glukozla dönüşümünün yetersizliğinden kaynaklanabilir (Margolis ve ark 1987, Gerros ve ark 1995, Coşkun ve şen

2012b). Hiperlaktatemi son yıllarda her ne kadar diğer diagnostik bulgularca desteklenemezse de hastalık şiddetinin, hastanın acil ve yoğun bir tedaviye ihtiyacı olduğunun ve prognozunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Barrington 2008, Castagnetti ve ark 2010). Aynı araştırmacılara göre bu faydalı prognostik parametre hızlı ulaşılabilen, oldukça verimli, hastalığın klinik durumuna göre çok hızlı değişen, kritik durumdaki yeni doğan tayların tedavisinin akıbetini belirlemede kullanılabiliyen ucuz maliyetli bir veridir. Bu çalışmada da hiperlaktateminin septik şoklu hayvanlarda çok belirgin olduğu tespit edildi. Mevcut araştırmada septik şokta gelişen şiddetli metabolik asidoz ve hipoglisemi kombine tedavi içinde uygulanan sodyum bikarbonat ve glukoz takviyeleri sayesinde kontrol altına alınabildi (Çizelge 3.4). İshalli veya ishalsiz seyreden buzağı endotoksemi tedavi protokollerinde benzer uygulamalar yer almaktadır (Constable 2007a,b, 2009, Fecteau ve ark 2009, Elmas 2009). Comb grubunda 22. saatte pH değerinde düşme ($p<0,05$) ile 2. saatte glukoz değerinde yükselmeler ($p<0,05$) belirlendi. Son örnekleme zamanında pH değerinde alınan istatistiki fark rakamsal olarak dikkate alındığında venöz kan için bildirilen aralıklarda olduğu (Probo ve ark 2012), yükselen glikoz değerinin ise uygulanan glukokortikoidden kaynaklanabileceği (Kaya 2000) kanaatine varıldı. Ceft grubunda belirlenen pO_2 düzeyindeki istatistiki değişimler (Çizelge 3.4) ise açıklanamamakla birlikte denek sayısının azlığından kaynaklanan bireysel farklılıktan köken alabileceği sonucuna varıldı.

4.4. Farmakokinetik

4.4.1. Metot

Çalışmada sağlıklı ve deneysel olarak endotoksemi oluşturulmuş yeni doğan buzağılarda seftiofurun plazmadaki düzeyleri belirlenerek HPLC-UV'de metot validasyonu yapıldı. Genel olarak metodun kesinliği için kabul edilen kriter olan varyasyon katsayısının %15'den düşük ve gerçeklik için kabul edilen bias aralığının ise $\pm\%15$ değerleri içinde olması gerekir (EMA 2009).

Çalışmada elde edilen gün içi ve günler arası varyasyon katsayıları (sırasıyla $<\%5,95$ ve $<\%6,13$), geri kazanım ($>\%92,17$) ve bias değerlerinin

[%(2,737)-(-4,938) ve %(0,344)-(0,483)] kabul edilen sınırlar içinde olması metodun DFC tayininde kullanılabilir olduğunu gösterir.

Bu çalışmada duyarlılık düzeylerinin (LOD: 0,05 µg/mL, LOQ:0,1 µg/mL) benzer şekilde uygulanan diğer metoda (LOD: 0,15 µg/mL, LOQ: 0,4 µg/mL) (Jacobson ve ark 2006) göre daha düşük ve analize elverişli olduğu görüldü. DFC tayininde kullanılan bu metod diğer yöntemlere (Jaglan ve ark 1994, Beconi-Barker ve ark 1995, De Baere ve ark 2004, Jacobson ve ark 2006) göre basit, pratik ve ekonomik olması nedeniyle ilacın biyolojik sıvılardaki analizlerine katkı sağlayacağına inanılmaktadır.

4.4.2. Plazma İlaç Düzeyleri

Bu çalışmada seftiofurun sağlıklı ve deneysel olarak septik şok oluşturulmuş buzağılarda kas içi uygulama sonrası belirlenen farmakokinetiği, sağlıklı buzağı (Brown ve ark 1996), ala geyik (Drew ve ark 2004a), lama ve alpagada (Drew ve ark 2004b) yapılan farmakokinetik çalışmalarda olduğu gibi iki kompartmanlı dışa açık modele uygunluk gösterdi (Şekil 4.4). Uygunluk analizi, direk bakı ve AIC kullanılmadan yapılan farmakokinetik çalışmada (Washburn ve ark 2005) ise seftiofurun farmakokinetik parametrelerinin hesaplanmasında non-kompartmantal modelin de tercih edildiği görüldü.

Seftiofur hayvanlarda uygulanmayı takiben vücutta hızla etkin metabolitlerine dönüşür ve *in vivo* olarak en etkili metaboliti DFC'dur (Beconi-Barker ve ark 1995, Salmon ve ark 1996). Bu nedenle çalışmada plazma DFC konsantrasyonu ve farmakokinetik özellikleri belirlendi. Benzer şekilde buzağı (Brown ve ark 1996), inek (Brown ve ark 1999, 2000), koyun (Craigmill ve ark 1997), keçi (Doré ve ark 2011), at (Collard ve ark 2011), tay (Hall ve ark 2011), poni (Bosch ve ark 2006), domuz (Tang ve ark 2009), geyik (Drew ve ark 2004a), ördek (Chung ve ark 2007), fil (Dumonceaux ve ark 2005), lama ve alpagada (Drew ve ark 2004b) yapılan çalışmalarda da DFC farmakokinetiği göz önüne alınarak değerlendirmeler yapıldığı bildirilmektedir.

Brown ve ark (1996) tarafından 7 günlük buzağılarda gerçekleştirilen çalışmada seftiofurun (2,2 mg/kg) kas içi yolla uygulanması sonrasında DFC'un

analiz edildiği ve elde edilen farmakokinetik verilerin bu çalışmada kontrol grubu olarak belirlenen Ceft fazındaki sonuçlara çok benzer olduğu görüldü (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Seftiofurun tek doz (2,2 mg/kg) kas içi uygulama sonrası desfurilseftiofurun sağlıklı buzağılardaki (n=6) bazı farmakokinetik parametreleri.

Parametre	DFC (Brown ve ark 1996)	DFC (Bu çalışma)
C _{doruk} (µg/mL)	10,1±4,23	7,73±0,81
T _{doruk} (saat) (Aralık)	1-2	1,5
k _a (1/saat)	2,02±1,02	1,86±0,45
t _{1/2ka} (saat) (HO)	0,433±0,221	0,37±0,09
EAA (saat*µg/mL)	173±73,9	153±26
CL/F (mL/saat/kg)	14,3±4,44	14,7±2,57
t _{1/2β} (saat)	22,2±7,43	19,9±3,46
Vd (mL/kg)	352±83,80	394±67

C_{doruk}; doruk plazma konsantrasyonu, T_{doruk}; doruk plazma konsantrasyonuna ulaşma zamanı, k_a; emilim hız sabiti, t_{1/2ka}; emilim yarılanma ömrü, EAA; eğri altında kalan alan, CL/F; total vücut klerensi t_{1/2β}; eliminasyon yarılanma ömrü, Vd_{ss}; dağılım hacmi, DFC; desfurilseftiofur.

Comb grubu emilim hız sabiti (k_a)'nin LPS+Ceft ve LPS+Comb gruplarından ve emilim yarı ömrünün (t_{1/2ka}) ise diğer bütün gruplardan farklı olduğu (p<0,05) görüldü. İlacın kombine tedavi gruplarında daha kısa sürelerde (p<0,05) pik konsantrasyona ulaştığı (T_{doruk}) ve LPS+Comb grubundaki C_{doruk}'un diğer gruplara göre düşük olduğu (p<0,05) görüldü (Çizelge 3.6). LPS kullanılarak deneysel endotoksemi oluşturulan buzağılarda, Kİ yolla uygulanan oksitetrasiklinin emilim yarılanma ömrünün (t_{1/2ka}) kısaldığı (Kumar ve Malik 2001), oral olarak uygulanan levofloksasinin ise emilim yarılanma ömrünün uzadığı bildirilmektedir (Kumar ve ark 2009). *E. coli* toksininin, neden olduğu ateşe bağlı olarak ampisilinin emilimini sağlıklı hayvanlara göre hızlandırdığı ve yüksek plazma konsantrasyonuna ulaştırdığı, buna karşılık titreme gözlenmeyen kas bölgelerine uygulanan ampisilinin emilim hızının yavaşladığı öne sürülmektedir (Traş ve Elmas 2005). Septik şok durumunda parenteral uygulanan ilaçların emilimi yavaşlar ve/veya tam olmaz (De Paepe ve ark 2002, Mckinnon ve Davis 2004, Boucher ve ark 2006). Tüm bu bulgular doğrultusunda hastalık

halinin parenteral uygulanan ilaçların emilimi üzerindeki etkilerinin karmaşık olduğu ve emilim hızındaki değişimin (çabuk veya geç) hastalığın özellikle dönem (hiper-hipodinamik) ve şiddetine bağlı olduğu söylenebilir.

Septik şokun hipodinamik fazında (düşük kardiyak verim ve sistemik vasküler direnç) ortaya çıkan hipotansiyonu düzeltmek için uygulanan damar içi sıvı ve dopamin gibi ajanlar kardiyak insidensde artışa neden olur. Ayrıca bu uygulamalar böbrek kan akışını ve dolayısıyla beta-laktamların klerensini artırarak antibiyotiğin kandaki konsantrasyonlarında düşüşe neden olur (Roberts ve Lipman 2006, Roberts ve ark 2007, Scaglione ve Paraboni 2008). Bu çalışmada LPS+Comb grubunda sıvı tedavisi ve dopamin uygulamalarının septik şoka bağlı hipotansiyonu ortadan kaldırdığı gözlemlendi (Çizelge 3.2). Kombine tedavi gruplarında uygulanan bu ilaçların kan hacmini ve basıncını düzenleyerek dokuların kanla perfüzyonunu artırmasına bağlı olarak seftiofurun emilimini hızlandırabilir. Ayrıca kombine tedavi gruplarındaki emilim ile ilgili parametrelerde gözlenen farklılıklar ilacın vücuttan hızlı atılımı ile ilişkilendirilebilir.

Deneyssel endotokseminin şiddet derecesi ile dönemi (hipodinamik/hiperdinamik) de göz önüne alınarak seftiofurun emilimini geciktirirken biyoyararlanımını ($EAA_{LPS+Ceft}/EAA_{Ceft}$, Çizelge 3.6) artırdığı, kombine tedavi uygulamalarının ($EAA_{LPS+Comb}/EAA_{Ceft}$, Çizelge 3.6) ise emilim hızını artırırken miktarını azalttığı ifade edilebilir. Bu bulgulara dayanarak tedavi sırasında ilacın etkisinin çabuk başlaması isteniyorsa ilacın etkili plazma konsantrasyonuna ulaşması zor olduğundan ilaçların emilim prosesli yollarla uygulanmaması önerilebilir.

Merkezi dağılım hacmi ($V1F$)'nin Comb grubunda en küçük değerlerde olduğu, en büyük periferik dağılım hacmi ($V2F$)'nin ise LPS+Comb grubunda gerçekleştiği hesaplandı ($p<0,05$, Çizelge 3.6). Ayrıca LPS+Comb grubunda k_{12}/k_{21} oranının ($2,12\pm0,69$), Ceft grubuna ($0,86\pm0,31$) göre yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$, Çizelge 3.6). Benzer şekilde yoğun bakım ünitelerinde yatan sıvı tedavisi ve katekolamin uygulanan sepsis-septik şoklu insanlarda meropenem, seftazidim, sefepim, piperasilin-tazobaktam, piperasilin, seftriakson, amikasin ve vankomisin dağılım hacminin arttığı ve bununla eş zamanlı olarak C_{donuk} 'un

düştüğü (Gous ve ark 1995, Botha ve ark 1996, Delattre ve ark 2010, Taccone ve ark 2010, Garot ve ark 2011, Seyler ve ark 2011) bildirilmektedir. Ayrıca deneysel olarak enfekte edilen domuzlarda seftiofur (Tantituvanont ve ark 2009), buzağılarda sefepim (Pawar ve Sharma 2008), köpeklerde ise amoksisilinin (Marier ve ark 2001) dağılım hacimlerinde artış olduğu gösterilmiştir. Gous ve ark (2005) ise yoğun bakım ünitesinde yatan sepsisli hastalarda siprofloksasinin (400 mg/8 saat arayla, Dİ) kontrol grubuna göre plazma konsantrasyonu ve dağılım hacminin değişmediğini bildirmektedir.

Beta-laktamlar hücre dışı sıvıda dağılım gösterir (Pea ve ark 2005, Scaglione ve Paraboni 2008). Endotoksinler çeşitli endojen mediyatörleri aracılığıyla damar endotelyumunu direk veya indirek olarak etkileyerek daralma ve genişlemeye neden olur. Bu durum kan akışını değiştirip endotel hasarına ve kapiller geçirgenlikte artışa neden olarak suda çözünen ilaçların dağılım hacminin genişlemesine ve kan konsantrasyonlarında ise azalmaya neden olur (Roberts ve Lipman 2007). Sıvı tedavisi ve patolojik durumlar (sepsis, travma, yanık, asites gibi) hücre dışı sıvı hacminde artışa neden olarak beta-laktam antibiyotiklerin dağılım hacmini daha da artırır (Mckinnon ve Davis 2004, Roberts ve ark 2006). Ayrıca plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanan kolloid çözeltilerle yapılan sıvı tedavileri ile plazma protein miktarını ve proteinin ilaca karşı ilgisinin azalmasına (Traş ve Elmas 2005) yol açan septik şok durumlarında seftiofur gibi plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanan ilaçların serbest kısımlarının kolaylıkla dokuya geçişinin artışı beklenmelidir. Bu değerlendirmeler ışığında, endotoksemi tedavisinde yer alması gereken kombine uygulamaların eksiksiz yapılması, septik şok hallerinde seftiofurun dağılım hacminin daha da genişlemesi dokuya hızlıca dağılıp geç dönmesine neden olabilir.

Kontrol grubu olarak planlanan Ceft grubuna göre değerlendirildiğinde LPS+Ceft grubunda atılım yarı ömrünün uzadığı ($p<0,05$), kombine uygulama gruplarındaki yarı ömürlerin ise benzer olduğu ($p>0,05$) belirlendi (Çizelge 3.6). LPS+Ceft grubunda atılım yarı ömrünün ($t_{1/2\beta}$) Ceft ve Comb gruplarındakilerden daha uzun ($p<0,05$), klerensinin ise daha düşük olduğu görüldü ($p<0,05$). Kombine gruplarda atılımın en temel göstergesi olan klerens (CL/F)'in diğer iki gruba göre arttığı ($p<0,05$) belirlendi (Çizelge 3.6). Deneysel olarak enfekte

edilmiş domuzlarda seftiofurun (Tantituvanont ve ark 2009), buzağılarda sefepimin (Pawar ve Sharma 2008) ve köpeklerde amoksisilin (Marier ve ark 2001) sağlıklılara göre yarılanma ömrünün uzayıp klerensinin arttığı, septik şoklu insanlarda sefpiromun yarılanma ömrünün uzadığı (Lipman ve ark 2001), domuzlarda deksametazon ile eş zamanlı kullanılan enrofloksasin klerensinin arttığı ve yarılanma ömrünün kısaldığı bildirilmektedir (Post ve ark 2003). Hipoalbuminemi gelişmiş ve hemodinamik olarak aktif ilaçlar kullanılmış septik şoklu hastalarda seftriaksonun (Joynt ve ark 2001) ve sefepimin (Lipman ve ark 1999) klerensinin arttığı, bunun aksine yoğun bakım ünitelerinde yatan sıvı tedavisi ve katekolamin uygulanan sepsis-septik şoklu insanlarda piperasilin-tazobaktam, meropenem, seftazidim, sefepim sağlıklı insanlarla kıyaslandığında klerensinin azaldığı görülmüştür (Pea ve ark 2005, Taccone ve ark 2010, Garot ve ark 2011).

Damar içi infüzyon şeklinde uygulanan dopaminin buzağılarda vasküler direnci artırarak ortalama arteriyel kan basıncını artırdığı bildirilmiştir (Greiner ve ark 1990). Şok durumlarında hemodinamiği ve böbreklere gelen kan akışını düzeltmek amacıyla kullanılan hemodinamik olarak aktif olan ilaçlar (dopamin, dobutamin) veya diüretikler (furosemid) renal kan akışını ve dolayısıyla klerensi artırır (Pea ve Furlanut 2001, Pea ve ark 2005, Petrosillo ve ark 2010). Ayrıca yüksek doz deksametazon kullanımının oksidatif stresi ve organ hasarlarını engelleyerek (Yazar ve ark 2010) hayatta kalmayı artırdığı bildirilmiştir (Er ve ark 2009).

Septik şok durumlarında gerçekleşen dolaşım ve böbrek yetmezlikleri özellikle böbrek yoluyla vücuttan uzaklaştırılan ilaçların yarı ömrünün uzamasına neden olabilmektedir. Septik şok ve benzeri hastalık durumlarında oluşan patofizyolojik olaylar ilaçların hem emilimini hem de atılımını değiştirebilir (Hasegawa ve ark 1999). Seftiofur karaciğer ve böbrekler yoluyla vücuttan uzaklaştırıldığından (Mckinnon ve Davis 2004) bu iki büyük eliminasyon organının perfüzyon hızı değiştiğinde ve hasar oluştuğunda ilaçların eliminasyon hızında değişiklikler oluşabilir (Mckinnon ve Davis 2004, Morgan 2009, Hackett ve Gustafson 2011). Başta sıvı tedavisi olmak üzere kombine tedavi uygulamalarının ise homeostasisi sürdürmedeki başarı oranları nispetinde septik

şoka rağmen ilaç yarı ömrünü normal seviyelere yaklaştırabileceği, sadece kombine uygulamanın ise beklendiği gibi ilaç atılım hızını (CL) arttırdığı ($p<0,05$) gözlemlendi. EAA, k_{10} ve CL/F değerleri de bu durumu destekler niteliktedir.

Kontrol grubu olarak planlanan Ceft grubuna göre değerlendirildiğinde sadece LPS uygulamasının (LPS+Ceft) EAA₀₋₄₆ değerini artırdığı, kombine uygulamaların ise azalttığı ($p<0,05$) tespit edildi (Çizelge 3.6). Septik şok ve benzeri hastalık durumlarında oluşan patofizyolojik olaylar hem emilimi hem de atılımı geciktirebilir (Hasegawa ve ark 1999, Hackett ve Gustafson 2011). LPS+Ceft grubunda atılım yarı ömrünün ($t_{1/2\beta}$) Ceft ve Comb gruplarındakilerden daha uzun ($p<0,05$), klerensinin ise daha az olması ($p<0,05$) buradaki durumun daha çok emilim gecikmesi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Kombine tedavi gruplarındaki LPS uygulamasına rağmen EAA azalması ($p<0,05$, Çizelge 3.6) ise kan basıncı ve hacmini destek uygulamalarla optimum şartlara yakın halde tutulması yanında özellikle sıvı tedavisinin etkisi ile ilacın böbreklerden daha hızlı bir şekilde uzaklaştırılması ile ilişkilendirilebilir. Bu gruplardaki CL/F ve k_{10} büyük, $t_{1/2\beta}$ LPS+Comb grubuna göre daha kısa olması bu görüşü desteklemektedir. Kombine tedavi gruplarında emilimin yavaşlamasından ziyade atılımın hızlanması, EAA'daki değişimleri açıklamada öne çıkmaktadır.

Bu bulgular seftiofurun kombine tedavi uygulanan gruplarda daha hızlı ve kısa sürede atıldığını, ancak LPS+Ceft grubunda ise daha çok emilimin gecikmesi ile ilişkili olarak atılım hızının yavaşladığını göstermektedir. Septik şokun şiddet derecesi ile ilişki olmak kaydıyla sıvı tedavisi başta olmak üzere homeostazı sağlamak amacıyla yapılan tüm kombine uygulamaların ilaç atılım hızını artırdığı, bu nedenle ilaç dozaj rejiminde değişikliklerin oluşabileceği dikkate alınmalıdır.

Kritik hastalıklarda ortaya çıkan patofizyolojik değişimler beta-laktamların farmakokinetiğinde tahmin edilemeyen sonuçlar doğurabilir. Sepsis yanında hemodiyaliz ve hemofiltrasyon gibi destek tedaviler de ilaçların farmakokinetiğini etkiler. Proteinlere bağlanmanın değişmesi ve kapiller kaçak sendromu (capillary leak sendrom), klerens ve dağılım hacminde artış yanında, antibiyotik konsantrasyonlarında düşüşe neden olurken, böbrek ve karaciğer bozuklukları da klerensin azalması ve antibiyotik konsantrasyonunda artışa neden olur (Roberts ve

ark 2007, Petrosillo ve ark 2010). Sepsisli hastalarda ortaya çıkan hiperdinamik faz ve kapiller kaçak sendromu hücrelerarası sıvı hacminin artışına neden olarak çoğu beta-laktamın dağılım hacminde de artışa yol açabilir (Roberts ve Lipman 2006, Roberts ve Lipman 2009). Böyle hastalarda gözlenen ancak tahmin edilemeyen farmakokinetik profil antibiyotiklerin doku konsantrasyonlarının azalmasına bağlı olarak etkide de azalmaya neden olabilir (Brunner ve ark 2000, Joukhadar ve ark 2001, Roberts ve Lipman 2006). Terapötik ilaç düzeyi izleme yöntemi (TDM) beta-laktamlar için normalde gerekmediği halde konsantrasyonlarını optimize etmek, klinik sonuçları iyileştirmek ve antibiyotik direnç gelişimini azaltmak amacıyla yüksek MİK değerine sahip mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlar ve sepsis gibi kritik hastalıklarda kullanılabilir (Roberts ve ark 2010, Sime ve ark 2012).

Beta-laktamların aktivitesi zamana bağımlıdır ve maksimum bakterisid aktivite için en önemli ve kullanılabilir tahmin edici parametre, bir doz aralığında MİK'in üzerinde seyreden serbest ilacın $5 \times \text{MİK}$ ($t > 4-5 \times \text{MİK}$) değeri üzerinde kalmasına bağlı olduğu ve klinik iyileşme için bu değerin doz aralıklarında %100 sürdürülmesi gerekliliğini ortaya koyar (Roberts ve Lipman 2007, Pea ve Viale 2009, Roberts ve Lipman 2010, Sime ve ark 2012). Bazı *in vitro* bulgular beta-laktam konsantrasyonunun direncin ortaya çıkmasını engellemek için $t > 6 \times \text{MİK}$ kadar muhafaza edilmesi gerektiğini öne sürmektedir (Tam ve ark 2005). Yüksek kan konsantrasyonu dokuda etkili antibiyotik konsantrasyonu olasılığını artırır.

Yapılan çalışmalarda beta-laktamların plazmada etkili konsantrasyonlara rahatlıkla ulaştığı ancak enfeksiyon bölgelerinde bakteriyel eradikasyon için yetersiz düzeylerde kaldığı bildirilmektedir (Brunner ve ark 2000, Joukhadar ve ark 2001). Bu durum pek çok kritik hastada beta-laktamların maksimum antibiyotik aktivitesiyle ilişkili farmakokinetik/farmakodinamik hedefe ulaşma olasılığını azaltır (Roberts ve Lipman 2007, Roberts ve ark 2007, Udy ve ark 2010). Bu nedenle kritik hastalarda farmakokinetiği tahmin edilemeyen beta-laktamlar için dozaj rejimi belirlemede terapötik ilaç düzeyi izleme yöntemi dozu optimize etmek amacıyla kullanılma potansiyeline sahip değerli bir uygulama olarak görülmektedir (Roberts ve ark 2010, Sime ve ark 2012, Sinnollareddy ve ark 2012).

Salmon ve ark (1996) tarafından yapılan çalışmada *E. coli* (ATCC 25922) için seftiofur ve DFC'nin MİK'nun 0,25 µg/mL olarak tespit edildiği bildirilmektedir. Bu değere göre bu çalışmada *E. coli* için seftiofur 5xMİK (Taccone ve ark 2010) değerine (1,25 µg/mL); Ceft grubunda 5. dakikada ulaşım (1,35 µg/mL) 34. saate (1,55 µg/mL), LPS+Ceft grubunda 5. dakikada ulaşım (1,66 µg/mL) 46. saate (1,55 µg/mL), Comb grubunda 10. dakikada ulaşım (1,81 µg/mL) 10. saate kadar sürdüğü (2,34 µg/mL) ve LPS+Comb grubunda ise 5. dakikada ulaştığı (2,03 µg/mL) 10. saate kadar (1,48 µg/mL) bu düzeyin üzerinde kaldığı gözlemlendi. Bu veri üzerinden yapılan değerlendirmede bu araştırmadaki Ceft ve LPS+Ceft deneme gruplarının tavsiye edilen doz aralığında (2,2 mg/kg, günde bir) $t > 5 \times \text{MİK}$ değerini %100 sağladığı rahatlıkla görülebilmektedir. Elde edilen $t > 5 \times \text{MİK}$ değerlerine göre etkin bir tedavi için LPS+Comb grubu dikkate alındığında tavsiye edilen dozun artırılması veya doz aralığının ise günde en az iki defaya çıkarılması akılcı bir yol olarak önerilebilir.

Bu çalışmada *E. coli* (ATCC 25922) için elde edilen seftiofur ve DFC'un MİK'lerinin sırasıyla 2,56 ve 10,24 µg/mL, 5xMİK değerlerinin ise sırasıyla 12,8 µg/mL ve 51,2 µg/mL olduğu belirlendi. Sahadan elde edilen patojen *E. coli* (ATCC 31616) suşu için de seftiofurun MİK 10,24 µg/mL, $t > 5 \times \text{MİK}$ değerinin ise 51,2 µg/mL olduğu tespit edildi. Bu çalışmada belirlenen farmakokinetik veriler dikkate alınarak, DFC için hazırlanan en yüksek konsantrasyon olan 10,24 µg/mL antibiyotik konsantrasyonunda MİK hesaplanamadı. Her iki *E. coli* suşu için hiç bir deneme grubunda günlük doz aralığında $t > 5 \times \text{MİK}$ 'in sağlanamadığı görüldü. Bu sonuçlara göre ilacın MİK'nun bölgeler ve hatta aynı bakterinin suşları arasında dahi farklılık arz edebileceği tedavilerde dikkate alınmalıdır.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Mevcut çalışmada;

Yeni doğan buzağlarda deneysel septik şok oluşturmak için çalışmada kullanılan LPS doz ve uygulama şeklinin başarılı sayılabileceği,

Kombine tedavi uygulamalarının başta klinik skora, monitorizasyon, hematolojik ve kan gazı parametreleri üzerinde endotoksinin neden olduğu negatif etkileri düzelttiği,

Özellikle dopamin ve kolloid sıvı uygulamalarının çok kritik olan arteriyel kan basıncını dengelemede çok başarılı olduğu,

Seftiofurun sağlıklı buzağlarda belirlenen farmakokinetik parametrelerinin daha önce sağlıklı buzağlar üzerinde yapılan çalışmalardakine benzer olduğu,

Oluşturulan deneysel şok modeli, hastalık durumunda oluşabilecek benzer patolojik değişikliklerin ortaya çıkmasına neden olduğundan seftiofurun elde edilen farmakokinetik verilerinin yeni doğan septisemisi tedavisinde faydalı olabileceği,

Hastalık halinin parenteral uygulanan ilaçların emilimi üzerindeki etkilerinin karmaşık, emilim hızındaki değişimin (çabuk veya geç) de özellikle hastalığın dönem (hiper-hipodinamik) ve şiddetine bağlı olduğu,

Deneysel endotokseminin seftiofurun emilimini geciktirirken biyoyararlanımını artırdığı, kombine tedavi uygulamalarının ise emilim hızını artırırken miktarını azalttığı,

Endotoksemi tedavisinde yer alan kombine uygulamaların eksiksiz yapılması septik şok hallerinde seftiofurun dağılım hacminin daha da genişlemesine yani dokuya hızlı dağılıp geç dönmesine neden olduğu,

Endotokseminin seftiofurun emiliminin gecikmesi ile ilişkili olarak atılım hızını yavaşlattığı, yapılan tüm kombine uygulamaların ise seftiofurun atılım hızını artırdığı,

Literatürdeki MİK değerlerine göre belirlenen dozaj rejiminde genelde arzu edilen $t > 5 \times \text{MİK}$ oranı sağlanırken, çalışmada tespit edilen MİK değerleri dikkate alındığında yeterli seviyeye ulaşamadığı sonuçlarına varıldı.

Ayrıca yeni doğan buzağı septisemilerinin etkin bir şekilde tedavi edilebilmesi için seftiofurun tavsiye edilen dozunun artırılması veya doz aralığının kısaltılması,

Septik şok tedavisinde kullanılan seftiofur gibi ilaçların emilim prosesli yollarla uygulanmaması,

İlacın MİK'nun bölgeler ve hatta aynı bakterinin suşları arasında dahi farklılık gösterebileceğinden bu tür hastalıkların tedavilerinde bunun göz önünde bulundurulması,

Seftiofurun konsantrasyonlarını optimize etmek, klinik sonuçları iyileştirmek ve antibiyotik direnç gelişimini azaltmak için terapötik ilaç düzeyi izleme işleminin uygun antibiyotik tedavisi için kullanılabileceği önerileri öne çıkmaktadır.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Seftiofurun Yeni Doğan Buzağlardaki Dozaj Rejimi Üzerine Deneysel Şok Ve Kombine Tedavi Uygulamalarının Etkilerinin Belirlenmesi

“Feray ALTAN”

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2013

Mevcut araştırmanın amacı, sağlıklı ve *E. coli* LPS kullanılarak endotoksemi oluşturulmuş buzağlarda desfuroylceftiofur (DFC) farmakokinetiği üzerine dopamin, deksametazon ve sıvı tedavisini içeren kombine tedavinin etkilerini belirlemektir.

Çalışma iki grup iki fazlı olarak 18 yeni doğan sağlıklı erkek buzağı üzerinde gerçekleştirildi. Birinci grup (çapraz dizayn) birinci fazda (Ceft) tüm hayvanlara FTS (%0.9 NaCl, Dİ) uygulamasını takiben ikinci saatte seftiofur (2.2 mg/kg, Kİ) uygulandı. İkinci fazda (LPS+Ceft), beş günlük temizlenme süresinden sonra LPS (*E. coli* 0111:B4, 2 µg/kg, Dİ) uygulamasını takiben ikinci saatte aynı dozda seftiofur uygulandı. İkinci grup (paralel dizayn) birinci fazda (Comb) birinci grup birinci fazdaki uygulamalara ilave olarak kombine tedaviler yapıldı. İkinci fazda (LPS+Comb) LPS uygulanmasını takiben ikinci grup birinci fazdaki uygulamaların aynısı gerçekleştirildi. Klinik skorlama, monitorizasyon, kan gazları ve hemogram parametre ölçümleri septik şokun tanısı için belirlendi. DFC konsantrasyonları plazmada HPLC yardımıyla belirlendi. DFC'nin farmakokinetik parametreleri hesaplandı.

LPS'nin klinik skorlama, monitorizasyon, kan gazı ve hemogram parametrelerinde septik şok yönünde değişikliklere neden olduğu belirlenirken kombine uygulamaların bunları düzeltebildiği görüldü ($p<0,05$). DFC kombine tedavi gruplarında daha kısa sürede pik konsantrasyona ulaştığı ve klerensin aynı gruplarda arttığı ($p<0,05$) tespit edildi. Kombine tedavi uygulanan gruplarda DFC'nin EAA_{0-46} 'si Ceft ve LPS+Ceft gruplarına göre düşüktü ($p<0,05$). LPS+Ceft grubunda DFC'nin eliminasyon yarılanma ömrü Ceft ve Comb grubuna göre uzundu ($p<0,05$).

Sonuç olarak, kombine tedavi endotoksemik buzağlarda DFC'nin farmakokinetiğini değiştirdi. Endotoksemi durumunda seftiofurun ideal dozaj rejimini belirlerken kombine tedavinin göz önünde bulundurulması gerekir.

Anahtar kelimeler; Seftiofur; farmakokinetik; deneysel endotoksemi; kombine tedavi; dozaj rejimi.

7. SUMMARY

Determination of effects of experimental shock and combined therapy applications on dosage regimen of ceftiofur in newborn calves

The purpose of this study was to determine the effects of combined therapy including dopamine, dexamethasone and fluid replacement on the desfuoylceftiofur (DFC) pharmacokinetics in healthy and *E. coli* LPS-induced endotoxemic calves.

This study was performed as two phases in two groups on neonatal healthy 18 male calves. In the first phase (Ceft) of the first group (cross over design), ceftiofur (2.2 mg/kg, IM) was injected at two hours of physiological saline administration (0.9 NaCl, IV) to calves. In the second phase (LPS+Ceft), ceftiofur following the withdrawal period (5 days) was administered at the same dose at two hours of LPS (*E. coli* 0111:B4, 2 µg/kg, IV) administration. In the first phase (Comb) of the second group (parallel design), the combined treatments were done in addition to the applications in the first phase of the first group. In the second phase (LPS+Comb), same application of the first phase of second group were treated following LPS administration. Clinical scores, motorization, blood gases and hemogram values were determined in order to diagnosis of septic shock. Plasma levels of DFC were measured using HPLC. Pharmacokinetic parameters of DFC were calculated.

While LPS caused the alterations like to septic shock in the clinical scoring, monitoring, blood gases and hemogram parameters, the combined therapy improved ($p<0,05$) the irregularities in these parameters. It was determined that DFC reached the peak concentrations in shorter times in combined treated groups and its clearance increased in same groups. Area under the curves (AUC_{0-46}) of DFC in combined treated groups decreased ($p<0,05$) when compared to Ceft and LPS+Ceft. The elimination half-life of DFC in LPS+Ceft was longer compared to Ceft and Comb ($p<0,05$).

In conclusion, the combined therapy altered the pharmacokinetic of DFC in endotoxemic calves. The combined therapy should be considered in the determination of ideal dosage regimen of DFC in the endotoxemia.

Key words: Ceftiofur; pharmacokinetic; experimental endotoxemia; combined therapy; dosage regimen.

8. KAYNAKLAR

1. Aitken AE, Richardson TA, Morgan EA. Regulation of drug-metabolizing enzymes and transporters in inflammation. *An Rev Pharmacol Toxicol.* 2006; 46: 123-149.
2. Akarsu ES, Mamuk S. Escherichia coli lipopolysaccharides produce serotype-specific hypothermic response in biotelemetered rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007; 292: 1846-1850.
3. Allen SD, White RD. Incidence of infective agents in northern Utah and southeastern idaho-dairy calf diarrhea. *Agri-Practice.* 1985; 6: 23-31.
4. Andes D, Craig WA. Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: A critical review. *Int J Antimicrob Agents.* 2002; 19: 261-268.
5. Barrington KJ. Hypotension and shock in the preterm infant. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2008; 13: 16-23.
6. Beagley JC, Whitman KJ, Baptiste KE, Scherzer J. Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. *J Vet Intern Med.* 2010; 24: 261-268.
7. Beconi-Barker MG, Roof RD, Millerioux L, Kausche FM, Vidmar TH, Smith EB, Callahan JK, Hubbard VL, Smith GA, Gilbertson TJ. Determination of ceftiofur and its desfuroylceftiofur-related metabolites in swine tissues by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Appl.* 1995; 673: 231-44.
8. Berchtold J. Treatment of calf diarrhea: Intravenous fluid therapy. *Vet Clin Food.* 2009; 25: 73-99.
9. Bicknell E, Noon TH. Neonatal calf diarrhea. *Anim Care Health Maint.* 1993; 19-23.
10. Bieniek K, Szuster-Ciesielska A, Kamińska T, Kondracki M, Witek M, Kandefer-Szerszen M. Tumor necrosis factor and interferon activity in the circulation of calves after repeated injection of low doses of lipopolysaccharide. *Vet Immunol Immunopathol.* 1998; 62: 297-07.
11. Borderas TF, de Pasille AM, Rushen J. Behavior of dairy calves after a low dose of bacterial endotoxin. *J Anim Sci.* 2008; 86: 2940-2927.
12. Bosch G, Van Duijkeren E, Bergwerff AA, Rijkenhuizen ABM, Ensink JM. Clinical efficacy of local administration of ceftiofur in a Staphylococcus aureus infection in tissue cages in ponies. *J Vet Pharmacol Ther.* 2006; 29: 31-36.
13. Botha FJ, VanDer Bijl P, Seifart HI, Parkin DP. Fluctuation of the volume of distribution of amikacin and its effect on once-daily dosage and clearance in a seriously ill patient. *Intensive Care Med.* 1996; 22: 443-446.
14. Boucher BA, Wood GC, Swanson JM. Pharmacokinetic changes in critical illness, *Crit Care Clin.* 2006; 22: 255-271.
15. Boyer A, Chadda K, Salah A, Annane D. Glucocorticoid treatment in patients with septic shock: effects on vasopressor use and mortality. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2006; 44: 309-318.
16. Brown SA, Chester ST, Robb EJ. Effect of age on the pharmacokinetics of single dose ceftiofur sodium administered intramuscularly or intravenously to cattle. *J Vet Pharmacol Ther.* 1996; 19: 32-38.
17. Brown SA, Hanson BJ, Mignot A, Millérioux L, Hamlow PJ, Hubbard VL, Callahan JK, Kausche FM. Comparison of plasma pharmacokinetics and bioavailability of ceftiofur

sodium and ceftiofur hydrochloride in pigs after a single intramuscular injection. *J Vet Pharmacol Ther.* 1999; 22: 35-40.

18. Brown SA, Chester ST, Speedy AK, Hubbard VL, Callahan JK, Hamlow PJ, Hibbard B, Robb EJ. Comparison of plasma pharmacokinetics and bioequivalence of ceftiofur sodium in cattle after a single intramuscular or subcutaneous injection. *J Vet Pharmacol Ther.* 2000; 23: 273–280.
19. Brunner M, Pernerstorfer T, Mayer BX, Eichler HG, Müller M. Surgery and intensive care procedures affect the target site distribution of piperacillin. *Crit Care Med.* 2000; 28: 1754-1759.
20. Buttenschoen K, Radermacher P, Bracht H. Endotoxin elimination in sepsis: physiology and therapeutic application. *Langenbecks Arch Surg.* 2010; 395: 597–605.
21. Cambier C, Clerbaux T, Detry B, Marville V, Frans A, Gustin P. Effects of intravenous infusions of sodium bicarbonate on blood oxygen binding in calves with diarrhea. *Vet Rec.* 2005; 156: 706-710.
22. Castagnetti C, Pirrone A, Mariella J, Mari G. Venous blood lactate evaluation in equine neonatal intensive care. *Theriogenology.* 2010; 73: 343–57.
23. Choi G, Gomersall CD, Tian Q, Joynt GM, Freebairn R, Lipman J. Principles of antibacterial dosing in continuous renal replacement therapy. *Crit Care Med.* 2009; 37: 2268-2282.
24. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature.* 2002; 420: 885-91.
25. Chung HS, Jung WC, Kim DH, Lim JJ, Son HY, Kim S, Lee HJ. Ceftiofur distribution in plasma and tissues following subcutaneously administration in ducks. *J Vet Med Sci.* 2007; 69: 1081-1085.
26. Collard WT, Cox SR, Lesman SP, Grover GS, Boucher JF, Hallberg JW, Robinson JA, Brown SA. Pharmacokinetics of ceftiofur crystalline free acid sterile suspension in the equine. *J Vet Pharmacol Ther.* 2011; 34: 476-481.
27. Constable PD, Schmall LM, Muir WW, Hoffsis GF. Respiratory, renal, hematologic, and serum biological effects of hypertonic saline solution in endotoxemic calves. *Am J Vet Res.* 1991; 52: 990-998.
28. Constable PD. Uses of antibiotics to prevent calf diarrhea and septicemia. *Bovine Pract.* 2003; 37: 137-142.
29. Constable PD. Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. *J Vet Intern Med.* 2004; 18: 8-17.
30. Constable PD. General Medicine. In: Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD, editors. *Veterinary Medicine.* 10th Edition. Philadelphia, USA, Saunders, 2007a. Pp. 51.
31. Constable PD. Veteriner klinik çalışmalarda yeni yaklaşımlara yönelik mesleki eğitim toplantısı. 10-12 Eylül 2007. SÜ Veteriner Fakültesi. Konya. 2007b.
32. Constable PD. Treatment of calf diarrhea: antimicrobial and ancillary treatments. *Vet Clin Food Anim.* 2009; 25: 101-120.
33. Coşkun A, Sen İ. Acute phase response and clinical changes in calves with lipopolysaccharide induced endotoxemia. *Eurasian J Vet Sci.* 2012a; 28: 21-26.
34. Coşkun A, Sen İ. Haematological, biochemical and coagulation changes in calves with endotoxemia. *Agricultural J.* 2012b; 7: 37-41.

35. Courtin F, Craigmill AL, Wetzlich SE, Gustafson CR, Arndt TS. Pharmacokinetics of ceftiofur and metabolites after single intravenous and intramuscular administration and multiple intramuscular administrations of ceftiofur sodium to dairy goats. *J Vet Pharmacol Ther.* 1997; 20: 368-373.
36. Craig WA. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: Rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis.* 1998; 26: 1–10.
37. Craigmill AL, Brown SA, Wetzlich SE, Gustafson CR, Arndt TS. Pharmacokinetics of ceftiofur and metabolites after single intravenous and intramuscular administration and multiple intramuscular administrations of ceftiofur sodium to sheep. *J Vet Pharmacol Ther.* 1997; 20: 139-144.
38. Cunnington A, Nadel S. New therapies for sepsis. *Curr Top Med Chem.* 2008; 8: 603-614.
39. De Baere S, Pille F, Croubels S, Ceelen L, De Backer P. High-performance liquid chromatographic-UV detection analysis of ceftiofur and its active metabolite desfuroylceftiofur in horse plasma and synovial fluid after regional intravenous perfusion and systemic intravenous injection of ceftiofur sodium, *Anal Chim Acta.* 2004; 512: 75-84.
40. Delattre IK, Musuamba FT, Nyberg J, Taccone FS, Laterre PF, Verbeeck RK, Jacobs F, Wallemacq PE. Population pharmacokinetic modeling and optimal sampling strategy for Bayesian estimation of amikacin exposure in critically ill septic patients. *Ther Drug Monit.* 2010; 32: 749-756.
41. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, Vincent JL. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: *Intensive Care Med.* 2008; 34: 17–60.
42. De Paepe P, Belpaire FM, Buylaert WA. Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations when treating patients with sepsis and septic shock. *Clin Pharmacokinet.* 2002; 41: 1135-1151.
43. Doğan MD, Ataoglu H, Akarsu ES. Effects of different serotypes of *Escherichia coli* lipopolysaccharides on body temperature in rats. *Life Sci.* 2000; 67: 2319-2329.
44. Doré E, Angelos JA, Rowe JD, Carlson JL, Wetzlich SE, Kieu HT, Tell L. Pharmacokinetics of ceftiofur crystalline free acid after single subcutaneous administration in lactating and nonlactating domestic goats (*Capra aegagrus hircus*). *J Vet Pharmacol Ther.* 2011; 34: 25-30.
45. Drew ML, Waldrup K, Kreeger T, Craigmill AL, Wetzlich SE, Mackintosh C. Pharmacokinetics of ceftiofur in red deer (*Cervus elaphus*). *J Vet Pharmacol Ther.* 2004a; 27: 7–11.
46. Drew ML, Johnson L, Pugh D, Navarre CB, Taylor IT, Craigmill AL. Pharmacokinetics of ceftiofur in lambs and alpacas. *J Vet Pharmacol Ther.* 2004b; 27: 13–20.
47. Dumonceaux G, Isaza R, Koch DE, Hunter RP. Pharmacokinetics and IM bioavailability of ceftiofur in Asian elephants (*Elephas maximus*), *J Vet Pharmacol Ther.* 2005; 28: 441–446.
48. Elmas M, Yazar E, Uney K, Er Karabacak A. Influence of *Escherichia coli* endotoxin-induced endotoxaemia on the pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous administration in rabbits. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2006a; 53: 410-414.
49. Elmas M, Yazar E, Uney K., Karabacak A. Pharmacokinetics of flunixin after intravenous administration in healthy and endotoxaemic rabbits. *Vet Res Commun.* 2006b; 30: 73-81.

50. Elmas M, Yazar E, Uney K, Er Karabacak A, Traş B. Pharmacokinetics of enrofloxacin and flunixin meglumine and interactions between both drugs after intravenous co-administration in healthy and endotoxaemic rabbits. *Vet J.* 2008; 177: 418-424.
51. Elmas M. Veteriner İlaç. Sıvı-elektrolit tedavi/Glukokortikoidler. Yazar E. İstanbul. Nobel Matbaacılık. 2009; 174-200; 220-232.
52. Elmas M, Üney K, Altan F, Er A, Yazar E. Tavşan plazmasında seftiofur ve aktif metaboliti desfurilseftiofurun HPLC-UV validasyonunun belirlenmesi ve farmakokinetik çalışmaya uygulaması. SÜBAP Proje no: 11401102. 2011.
53. El-Shaboury SR, Saleh GA, Mohamed FA, Rageh AH. Analysis of cephalosporin antibiotics. *J Pharm Biomed Anal.* 2007; 45: 1–19.
54. EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit). Committee for Veterinary Medicinal Products Ceftiofur Summary report. London, UK, 1999, 1-6.
55. EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit). Committee for Veterinary Medicinal Products Ceftiofur Summary report. London, UK, 2002, 1-3.
56. EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit). Committee for Veterinary Medicinal Products Ceftiofur Summary report. London, UK, 2006, 1-3.
57. EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit). European public assessment report (EPAR) Naxel. London, UK, 2009, 1-2.
58. EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit). Committee For Medicinal Products For Human Use (Chmp). Guideline on validation of bioanalytical methods. London, UK. 2009.
59. EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit). Withdrawal assessment report Naxel 200 mg/ml suspension for injection for horses International Non-proprietary Name Ceftiofur. London, UK, 2010, 1-15.
60. Er A, Uney K, Altan F, Cetin G, Yazar E, Elmas M. Effects of different doses of dexamethasone plus flunixin meglumine on survival rate in lethal endotoxemia. *Acta Vet-Beograd.* 2009; 59: 47-51.
61. Favalaro EJ. Laboratory testing in disseminated intravascular coagulation. *Semin Thromb Hemost.* 2010; 36: 458-467.
62. Fecteau G, Smith BP, George LW, Septicemia and meningitis in thr newborn calf. *Vet Clin Food Anim.* 2009; 25: 195-208.
63. Fleckenstein JM, Hardwidge PR, Munson GP, Rasko DA, Sommerfelt H, Steinsland H. Molecular mechanisms of enterotoxigenic *Escherichia coli* infection. *Microbes Infect.* 2010; 12: 89-98.
64. Foster DM, Smith GW. Pathophysiology of Diarrhea in calves. *Vet Clin Food Anim.* 2009; 25: 13–36.
65. Franchini M, Lippi G, Manzato F. Recent acquisitions in the pathophysiology, diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation. *Thromb J.* 2006; 21: 1-9.
66. Garmendia J, Frankel G, Crepin VF. Enteropathogenic and Enterohemorrhagic *Escherichia*

- coli Infections: Translocation, Translocation Translocation. *Infect Immun.* 2005; 73: 2573-2585.
67. Garot D, Respaud R, Lanotte P, Simon N, Mercier E, Ehrmann S, Perrotin D, Dequin PF, Le Guellec C.. Population pharmacokinetics of ceftriaxone in critically ill septic patients: a reappraisal. *Br J Clin Pharmacol.* 2011; 72: 758-767.
 68. Gerlach H, Keh D. Sepsis in 2003: are we still in the middle of nowhere?. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2004; 17: 97-106.
 69. Gerros TC, Semrad SD, Proctor RA. Alterations in clinical, hematological and metabolic variables in bovine neonatal endotoxemia. *Can J Vet Res.* 1995; 59: 34-39.
 70. Girbes ARJ, Beishuizen A, Strack van Schijndel RJM. Pharmacological treatment of sepsis. *Fundam Clin Pharmacol.* 2008; 22: 355–361.
 71. Goncalves-Pereira J, Póvoa P. Antibiotics in critically ill patients: a systematic review of the pharmacokinetics of β -lactams. *Crit Care.* 2011; 15: 2-17.
 72. Gous AG, Dance MD, Lipman J, Luyt DK, Mathivha R, Scribante J. Changes in vancomycin pharmacokinetics in critically ill infants. *Anaesth Intensive Care.* 1995; 23: 678-682.
 73. Gous A, Lipman J, Scribante J, Tshukutsoane S, Hon H, Pinder M, Mathivha R, Verhoef L, Stass H. Fluid shifts have no influence on ciprofloxacin pharmacokinetics in intensive care patients with intra-abdominal sepsis. *Int J Antimicrob Agents.* 2005; 26: 50-55.
 74. Greiner AS, Skeehan TM, Larach DR, Schuler HG, Pierce WS. Vascular responses to dopamine and dobutamine in the awake calf during constant aortic flow or constant aortic pressure. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1990; 15: 392-397.
 75. Gyles CL. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: An overview. *J Anim Sci.* 2011; 85: 45-62.
 76. Hackett ES, Gustafson DL. Alterations of drug metabolism in critically ill animals. *Vet Clin Small Anim.* 2011; 03: 1-11.
 77. Hall TL, Tell LA, Wetzlich SE, McCormick JD, Fowler LW, Pusterla N. Pharmacokinetics of ceftiofur sodium and ceftiofur crystalline free acid in neonatal foals. *J Vet Pharmacol Ther.* 4, 403-09, (2011).
 78. Hasegawa T, Takagi K, Kitaichi K. Effects of bacterial endotoxin on drugs pharmacokinetics. *Nagoya J Med Sci.* 1999; 62: 11–28.
 79. Hessen MT, Kaye D. Principles of use of antibacterial agents. *Infect Dis Clin N Am.* 2004; 18: 435–450.
 80. Hodgson JC. Endotoxin and mammalian host responses during experimental disease. *J Comp Pathol.* 2006; 135: 157-175.
 81. Hodgins DC, Shewen PE. Vaccination of neonates: Problem and issues. *Vaccine.* 2012; 30: 1541–1559.
 82. Hornish RE, Kotarski SF. Cephalosporins in veterinary medicine—ceftiofur use in food animals. *Curr Top Med Chem.* 2002; 2: 717-731.
 83. Hunt JM. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). *Clin Lab Med.* 2010; 30: 21-45.
 84. İnce E. Therapy of sepsis and septic shock. *J Pediatr Inf.* 2011; 5 (1): 106-118.
 85. İskit AB, Guc MO. A new therapeutic approach for the treatment of sepsis. *Med Hypotheses.* 2004; 62: 342-345.

86. Jacobson GA, Martinod S, Cunningham CP. Determination of ceftiofur in bovine plasma by HPLC-DAD. *J Pharm Biomed Anal.* 2006; 40: 1249-1252.
87. Jacobi J. Pathophysiology of sepsis. *Am J Health-Syst Pharm.* 2002; 59: 3-8.
88. Jaglan PS, Roof RD, Yein FS, Arnold TS, Brown SA, Gilbertson TJ. Concentration of ceftiofur metabolites in the plasma and lungs of horses following intramuscular treatment. *J Vet Pharmacol Ther.* 1994; 17: 24-30.
89. Joynt GM, Lipman J, Gomersall CD, Young RJ, Wong EL, Gin T. The pharmacokinetics of once-daily dosing of ceftriaxone in critically ill patients. *J Antimicrob Chemother.* 2001; 47: 421-429.
90. Joukhadar C, Frossard M, Mayer BX, Brunner M, Klein N, Siostrzonek P, Eichler HG, Müller M. Impaired target site penetration of beta-lactams may account for therapeutic failure in patients with septic shock. *Crit Care Med.* 2001; 29: 385-391.
91. Kalman D, Barriere SL. Review of the pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use of cephalosporins. *Tex Heart Inst J.* 1990; 17: 203-215.
92. Kaya S, Beta-laktamlar. In: Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A, editörler. *Veteriner Uygulamalı Farmakoloji*, 3. baskı, Ankara, Medisan, 2000, 269-321.
93. Kayaalp SO, Sempatomimetik ilaçlar. In: Kayaalp SO, editör. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, 10. baskı, Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd Şti, 2009, 972-994.
94. Khan AA, Slifer TR, Araujo FG. Protection against lipopolysaccharide-induced death by fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44: 3169–3173.
95. Khilnani P. Shock: Management guidelines. *Apollo Medicine.* 2005; 2: 277-286.
96. Kinsenbergen M, Bruckmaier RM, Blum JW. Metabolic, endocrine and haematological response to intravenous *E. coli* endotoxin administration in 1-week-old calves. *J Vet Med A.* 1994; 41: 530-547.
97. Kozat S, Voyvoda H. İshalli buzağılarda kristalloid (laktatlı ringer) ve kolloid+kristalloid (% 6 dekstran-70+ laktatlı ringer) infüzyon solüsyonlarının rehidratasyon etkinliği. *YYÜ Sağ Bil Derg.* 2006; 9: 139-151.
98. Kumar R, Malik JK. Effects of multiple injections of *Escherichia coli* endotoxin on the pharmacokinetics and dosage regimens of a long-acting formulation of oxytetracycline (OTC-LA) in cross-breed calves. *Veterinarski Arhiv.* 2001; 71: 245-263.
99. Kumar R, Malik JK. Influence of endotoxin on the disposition kinetics and dosage regimens of oxytetracycline in calves. *J Vet Pharmacol Ther.* 2003; 26: 159–164.
100. Kumar S, Kumar S, Kumar V, Singh KK, Roy BK. Pharmacokinetic studies of levofloxacin after oral administration in healthy and febrile cow calves. *Vet Res Commun.* 2009; 33: 887-893.
101. Kumar B, Shekhar P, Kumar N. A Clinical study on neonatal calf diarrhea. *Intas Polivet.* 2010; 11: 233-235.
102. Levi M, Ten Cate H, Van Der PT. Endothelium: interface between coagulation and inflammation. *Crit Care Med.* 2002; 30: 220-224.
103. Levi M. Antithrombin in sepsis revisited. *Crit Care.* 2005; 9: 624-625.
104. Lipman J, Wallis SC, Rickard C. Low plasma cefepime levels in critically ill septic patients: pharmacokinetic modeling indicates improved troughs with revised dosing. *Antimicrob*

Agents Chemother. 1999; 43: 2559-2561.

105. Lipman J, Wallis SC, Rickard CM, Fraenkel D. Low ceftiofur levels during twice daily dosing in critically ill septic patients: pharmacokinetic modelling calls for more frequent dosing. *Intensive Care Med.* 2001; 27: 363-370.
106. Liu S, Guo D, Guo Y, Zhou W. Preparation and pharmacokinetics of ceftiofur sodium liposomes in cows. *J Vet Pharmacol Ther.* 2010; 34: 35-41.
107. Lopez-Bojorquez LN, Dehesa AZ, Reyes-Teran G. Molecular mechanisms involved in the pathogenesis of septic shock. *Arch Med Res.* 2004; 35: 465-479.
108. Lorenz I. An update on calf diarrhoea Part 1: Pathophysiology and treatment. *Ir Vet J.* 2009; 62: 58-60.
109. Margolis JH, Bottoms GD, Fessler JF. The efficacy of dexamethasone and flunixin meglumine in treating endotoxin-induced changes in calves. *Vet Res Commun.* 1987; 11: 479-491.
110. Marrier JF, Beaudry F, Ducharme MP, Fortin D, Moreau JP, Masse R, Vachon PA. Pharmacokinetic study of amoxicillin in febrile beagle dogs following repeated administrations of endotoxin. *J Vet Pharmacol Ther.* 2001; 24: 379-383.
111. Martinez M, Modric S. Patient variation in veterinary medicine: Part I. influence of altered physiological states. *J Vet Pharmacol Ther.* 2009; 33: 213-226.
112. McKenzie C. Antibiotic dosing in critical illness. *J Antimicrob Chemother.* 2011; 66: 25-31.
113. McKinnon PS, Davis SL. Pharmacokinetic and pharmacodynamic issues in the treatment of bacterial infectious diseases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004; 23: 271-288.
114. Mehrotra R, De Gaudio R, Palazzo M. Antibiotic pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations in critical illness. *Intensive Care Med.* 2004; 30: 2145-2156.
115. Meyer S, Giguère S, Rodriguez R, Zielinski RJ, Grover GS, Brown SA. Pharmacokinetics of intravenous ceftiofur sodium and concentration in body fluids of foals. *J Vet Pharmacol Ther.* 2008; 32: 309-316.
116. Millemann Y. Diagnosis of neonatal calf diarrhea. *Revue Méd Vét.* 2009; 160: 404-409.
117. Modric S, Martinez M. Patient variation in veterinary medicine part-II influence of physiological variables. *J Vet Pharmacol Ther.* 2010; 34: 209-223.
118. Monshouwer M, Hoebe KH. Hepatic (dys-)function during inflammation. *Toxicol In Vitro.* 2003; 17: 681-686.
119. Morgan ET. Impact of infectious and inflammatory disease on cytochrome p450-mediated drug metabolism and pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther.* 2009; 85 434-438.
120. Munford RS. Detoxifying endotoxin: time, place and person. *J Endotoxin Res.* 2005; 11: 69-84.
121. Nagy B, Fekete P. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in veterinary medicine. *Int J Med Microbiol.* 2005; 295: 443-454.
122. Nagy DW. Resuscitation and critical care of neonatal calves. *Vet Clin Food Anim.* 2009; 25: 1-11.
123. Nguyen HB, Rivers EP, Abrahamian FM, Moran GJ, Abraham E, Trzeciak S, Huang DT, Osborn T, Stevens D, Talan DA. Severe sepsis and septic shock: Review of the literature and emergency department management guidelines. *Ann Emerg Med.* 2006; 48: 28-54.

124. Nicolau DP. Pharmacodynamic optimization of β -lactams in the patient care setting. *Crit Care*. 2008; 12: 1-5.
125. Ohtsuka H, Higuchi T, Matsuzawa H, Sato H, Takahashi K, Takahashi J, Yoshino TO. Inhibitory effect on LPS-induced tumor necrosis factor in calves treated with chlorpromazine or pentoxifylline. *J Vet Med Sci*. 1997; 59: 1075-1077.
126. Ok M, Güler L, Turgut K, Ok U, Sen I, Gündüz IK, Birdane MF, Güzelbekteş H. The studies on the etiology of diarrhoea in neonatal calves and determination of virulence gene markers of *Escherichia coli* strains by multiplex PCR. *Zoonoses Public Health*. 2008; 56: 94-101.
127. Opal SM, Yu RLJ. Antidotoxin strategies for the prevention and treatment of septic shock. New approaches and future directions. *Drugs*. 1998; 55: 497-408.
128. Opal SM. The host response to endotoxin, antilipopolysaccharide strategies, and the management of severe sepsis. *Int J Med Microbiol*. 2007; 297: 365-377.
129. Owens RC, Shorr AF. Rational dosing of antimicrobial agents: Pharmacokinetic and pharmacodynamic strategies. *Am J Health-Syst Pharm*. 2009; 66: 23-30.
130. Pawar YG, Sharma SK. Influence of *E. coli* lipopolysaccharide induced fever on the plasma kinetics of cefepime in cross-bred calves. *Vet Res Commun*. 2008; 32: 123–130.
131. Pea F, Furlanut M. Pharmacokinetic aspects of treating infections in the intensive care unit: focus on drug interactions. *Clin Pharmacokinet*. 2001; 40: 833-868.
132. Pea F, Viale P, Furlanut M. Antimicrobial therapy in critically ill patients: a review of pathophysiological conditions responsible for altered disposition and pharmacokinetic variability. *Clin Pharmacokinet*. 2005; 44: 1009-1034.
133. Pea F, Viale P. Bench-to-bedside review: Appropriate antibiotic therapy in severe sepsis and septic shock - does the dose matter?. *Crit Care*. 2009; 13: 1-13.
134. Pehourcq F, Jarry C. Determination of third-generation cephalosporins by high-performance liquid chromatography in connection with pharmacokinetic studies. *J Chromatogr A*. 1998; 812: 159-178.
135. Petrosillo N, Drapeau CM, Agrafiotis M, Falagas ME. Some current issues in the pharmacokinetics/pharmacodynamics of antimicrobials in intensive care. *Minerva Anesthesiol*. 2010; 76: 509-524.
136. Petrovic V, Teng S, Piquette-Miller M, Regulation of drug transporters during infection and inflammation. *Mol Interv*. 2007; 7: 100-111.
137. Post LO, Farrell DE, Cope CV, Baker JD, Myers MJ. The effect of endotoxin and dexamethasone on enrofloxacin pharmacokinetic parameters in swine. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003; 304: 889-895.
138. Probo M, Giordano A, Moretti P, Opsomer G, Fiems LO, Veronesi MC. Mode of delivery is associated with different hematological profiles in the newborn calf. *Theriogenology*. 2012; 77: 865-872.
139. Raghavan M, Marik PE. Management of sepsis during the early “golden hours”. *J Emerg Med*. 2006; 31: 185-199.
140. Roberts JA, Lipman J. Antibacterial dosing in intensive care pharmacokinetics, degree of disease and pharmacodynamics of sepsis. *Clin Pharmacokinet*. 2006; 45: 755-773.
141. Roberts JA, Lipman J. Optimizing use of beta-lactam antibiotics in the critically ill. *Semin*

Respir Crit Care Med. 2007; 28: 579-585.

142. Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Crit Care Med.* 2009; 37: 840-851.
143. Roberts JA, Paratz J, Paratz E, Krueger WA, Lipman J. Continuous infusion of β -lactam antibiotics in severe infections: a review of its role. *Int J Antimicrob Agents.* 2007; 30: 11-18.
144. Roberts JA, Ulldemolins M, Roberts MS, McWhinney B, Ungerer J, Paterson DL, Lipman J. Therapeutic drug monitoring of β -lactams in critically ill patients: proof of concept. *Int J Antimicrob Agents.* 2010; 36: 332-339.
145. Roberts JA, Roberts MS, Semark A, Udy AA, Kirkpatrick CM, Paterson DL, Roberts MJ, Kruger P, Lipman J. Antibiotic dosing in the 'at risk' critically ill patient: Linking pathophysiology with pharmacokinetics/pharmacodynamics in sepsis and trauma patients. *BMC Anesthesiology.* 2011; 11: 1471-1453.
146. Robins-Browne RM, Hartland EL. Advances in pediatric gastroenterology and hepatology *Escherichia coli* as a cause of diarrhea. *J Gastroenterol Hepatol.* 2002; 17: 467-475.
147. Rosenfeld Y, Shai Y. Lipopolysaccharide (Endotoxin)-host defense antibacterial peptides interactions: role in bacterial resistance and prevention of sepsis. *Biochim Biophys Acta.* 2006; 1758: 1513-1522.
148. Salmon SA, Watts JL, Yancey RJ. In vitro activity of ceftiofur and its primary metabolite, desfuroylceftiofur, against organisms of veterinary importance. *J Vet Diagn Invest.* 1996; 8: 332-336.
149. Sanchez LC. Equine neonatal sepsis. *Vet Clin Equine.* 2005; 21: 273-293.
150. Sarwari AR, Mackowiak PA. The pharmacologic consequences of fever. *Infect Dis Clin North Am.* 1996; 10: 21-32.
151. Scaglione F, Paraboni L. Pharmacokinetics/pharmacodynamics of antibacterials in the intensive care unit: setting appropriate dosing regimens. *Int J Antimicrob Agents.* 2008; 32: 294-301.
152. Seyler L, Cotton F, Taccone FS, De Backer D, Macours P, Vincent JL, Jacobs F. Recommended β -lactam regimens are inadequate in septic patients treated with continuous renal replacement therapy. *Crit Care.* 2011; 15: 2-9.
153. Sheldon IM, Bushnell M, Montgomery J, Rycroft AN. Minimum inhibitory concentrations of some antimicrobial drugs against bacteria causing uterine infections in cattle. *Vet Rec.* 2004; 155: 383-387.
154. Sinnollareddy MG, Roberts MS, Lipman J, Roberts JA. β -Lactam pharmacokinetics and pharmacodynamics in critically ill patients and strategies for dose optimization: a structured review. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2012; 39: 489-496.
155. Sime FB, Roberts MS, Peake SL, Lipman J, Roberts JA. Does beta-lactam pharmacokinetic variability in critically ill patients justify therapeutic drug monitoring? a systematic review. *Ann Intensive Care.* 2012; 28: 2-11.
156. Singh D, Bansal SK, Ghumman GS. Effect of flunixin meglumine alone and in combination on haemodynamics during bovine endotoxic shock and after treatment. *JBSE.* 2011; 4: 29-33.
157. Steiner AA, Hunter JC, Phipps SM, Nucci TB, Oliveira DL, Roberts JL, Scheck AC, Simmons DL, Romanovsky AA. Cyclooxygenase-1 or 2 which one mediates

lipopolysaccharide-induced hypothermia?, *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009; 297: 485-494.

158. Subhedar NV. Treatment of hypotension in newborns. *Semin Neonatol*. 2003; 8: 413-423.
159. Taccone FS, Laterre PF, Spapen H, Dugernier T, Delattre I, Layeux B, De Backer D, Wittebole X, Wallemacq P, Vincent JL, Jacobs F. Revisiting the loading dose of amikacin for patients with severe sepsis and septic shock. *Crit Care*. 2010; 14: 2-9.
160. Tam VH, Schilling AN, Neshat S, Poole K, Melnick DA, Coyle EA. Optimization of meropenem minimum concentration/MIC ratio to suppress in vitro resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49: 4920-4927.
161. Tang S, Xiao J, Guo G, He J, Hao Z, Xiao X. Preparation of a newly formulated long-acting ceftiofur hydrochloride suspension and evaluation of its pharmacokinetics in pigs. *J Vet Pharmacol Ther*. 2009; 33: 238-245.
162. Tantituvanont A, Yimprasert W, Werawatganone P, Nilubol D. Pharmacokinetics of ceftiofur hydrochloride in pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Antimicrob Chemother*. 2009; 63: 369-373.
163. Taxt A, Aasland R, Sommerfelt H, Nataro J, Puntervoll P. Heat-stable enterotoxin of enterotoxigenic *Escherichia coli* as a vaccine target. *Infect Immun*. 2010; 78: 1824-1831.
164. Tell L, Harrenstien L, Wetzlich S, Needham M, Nappier J, Hoffman G, Caputo J, Craigmill A. Pharmacokinetics of ceftiofur sodium in exotic and domestic avian species. *J Vet Pharmacol Ther*. 1998; 21: 85-91.
165. Textoris J, Wiramus S, Martin C, Leone M. Overview of antimicrobial therapy in intensive care units. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011; 9: 97-09.
166. Thomas E, Roy O, Skowronski V, Zschiesche E, Martin G, Böttner A. Comparative field efficacy study between cefquinome and gentamicin in neonatal calves with clinical signs of septicemia. *Revue Méd Vét*. 2004; 155: 489-493.
167. Titheradge MA. Nitric oxide in septic shock. *Biochim Biophys Acta*. 1999; 1411: 437-455.
168. Tomlinson JE, Blikslager AT. Interactions between lipopolysaccharide and the intestinal epithelium. *JAVMA*. 2004; 224: 1446-1452.
169. Toutain PL, Del Castillo JRE, Bousquet-Melou A. The pharmacokinetic-pharmacodynamic approach to a rational dosage regimen for antibiotics. *Res Vet Sci*. 2002; 73: 105-114.
170. Traş B, Elmas M. İlaç Farmakokinetiğini etkileyen faktörler. In: Traş B, Elmas M, editörler. *Klinik Farmakokinetik*, 1. Basım, Konya, S. Ü. Basımevi, 2005, 44-111.
171. Traş B, Yazar E, Elmas M. Bölüm yazarı Şok tedavisinde kullanılan ilaçlar. editör“Veteriner Hekimliğinde İlaç Kullanımına Pratik ve Akılcı Yaklaşım”, 2. baskı, Konya, S.Ü Basımevi, 2009; 119-20.
172. Udy AA, Roberts JA, Boots RJ, Paterson DL, Lipman J. Augmented renal clearance: implications for antibacterial dosing in the critically ill. *Clin Pharmacokinet*. 2010; 49: 1-16.
173. Ueyama J, Nadai M, Kanazawa H, Iwase M, Nakayama H, Hashimoto K, Yokoi T, Baba K, Takagi K, Takagi K, Hasegawa T. Endotoxin from various gram-negative bacteria has differential effects on function of hepatic cytochrome P450 and drug transporters. *Eur J Pharmacol*. 2005; 510: 127-134.
174. Urizar JP, Granados-Soto V, Flores-Murrieta FJ, Castaneda-Hernandez GP.

Pharmacokinetic/pharmacodynamic modelling Why. Arch Med Res. 2000; 31: 539-545.

175. Van Amersfoort ES, Van Berkel TJ, Kuiper J. Receptors, mediators, and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. Clin Microbiol Rev. 2003; 16: 379-414.
176. Van Krimpen PC, Van Bennekom WWP, Bult A. Penicillins and cephalosporins Physicochemical properties and analysis in pharmaceutical and biological matrices. Pharm Weekbl Sci. 1987; 9: 1-23.
177. Yang KH, Lee MG. Effects of Endotoxin Derived from Escherichia coli Lipopolysaccharide on the Pharmacokinetics of Drugs. Arch Pharm Res. 2008; 31: 1073-1086.
178. Yamaoka K, Nakagawa T, Uno T. Application of Akaike's information criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. J Pharmacokinet Biopharma. 1978; 6: 165-175.
179. Yazar E, Konyalioglu S, Col R, Birdane YO, Bas AL, Elmas M. Effects of vitamin E and prednisolone on some oxidative stress markers in endotoxemic rabbits. Revue Méd Vét. 2004a; 155: 538-542.
180. Yazar E, Col R, Konyalioglu S, Birdane YO, Elmas M, Bas AL. Effects of vitamin E and prednisolone on biochemical and haematological parameters in endotoxaemic New Zealand white rabbits. Bull Vet Inst Pulawy. 2004b; 48: 105-108.
181. Yazar E, Er A, Uney K, Bülbül A, Avcı GE, Elmas M, Traş B. Effects of drugs used in endotoxic shock on oxidative stress and organ damage markers. Free Radic Res. 2010; 44: 397-402.
182. Yıldız C, Yıldız H, Kavuncuoğlu S, Şiraneci R. Yeni doğan sepsisin erken tanısında prokalsitonin. Çocuk Sağ Hast Derg. 2003; 46: 90-97.
183. Yun SS, Kim SP, Kang MY, Nam SH. Inhibitory effect of curcumin on liver injury in a murine model of endotoxemic shock. Biotechnol Lett. 2010; 32: 209-214.
184. Xu C, Li CYT, Kong ANT. Induction of phase II and III drug metabolism/transport by xenobiotics. Arch Pharm Res. 2005; 28: 249-268.
185. Wang L, Bastarache JA, Ware LB. The coagulation cascade in sepsis. Curr Pharm Des. 2008; 14: 1860-1869.
186. Washburn K, Johnson R, Clarke CR, Anderson K, Lucas M, Bryson W, Robinson J, Dame K, Hubbard V, Callahan K, Robb E. Penetration of ceftiofur into sterile vs. Mannheimia haemolytica-infected tissue chambers in beef calves after subcutaneous administration of ceftiofur crystalline free acid sterile suspension in the ear pinna. J Vet Pharmacol Ther. 2005; 28: 247-251.
187. Wenz JR, Garry FB, Lombard JE, Elia R, Prentice D, Dinsmore R.P., Efficacy of parenteral ceftiofur for treatment of systemically mild clinical mastitis in dairy cattle. J Dairy Sci. 2005; 88: 3496-3499.
188. Wynn JL, Wong HR. Pathophysiology and treatment of septic shock in neonates. Clin Perinatol. 2010; 37: 439-479.
189. Zeerleder S, Hack E, Willemin WA. Disseminated intravascular coagulation in sepsis. Chest. 2005; 128: 2864-2875.

9. EKLER

EK A. Etik Kurul Kararı



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
VETERİNER FAKÜLTESİ
ETİK KURUL (SÜVFEK) KARARLARI



Toplantı Tarihi	10.02.2010	Toplantı Sayısı	2010/03	Karar Sayısı	2010/010
Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji ABD Öğretim Üyesi Prof. Dr. Muammer ELMAS tarafından sunulan "Seftiofurun Yeni Doğan Buzağılardaki Dozaj Rejimi Üzerine Deneysel Şok ve Kombine Tedavi Uygulamalarının Etkilerinin Belirlenmesi" isimli tez projesi değerlendirilmiştir. Projede, Tigem Tarım İşletmelerinden temin edilecek olan 20 buzağı kullanılacağı, endotoksin verilen buzağılarda sefalosporin grubu bir antibiyotik olan seftiofurun etkinliğinin farmakokinetik ve farmakodinamik parametrelerin ölçülmesi ile belirleneceği, ilaç uygulamasından sonra 15 günlük dönemde kan alınacağı, çalışma sonunda hayvanların sağlıklarına kavuşturulacağı bildirilmektedir. Başvuruda, Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul Yönergesi ilkelerine uyulduğuna, projenin hayvan kullanım etiği açısından "Uygun olduğuna" oy birliği ile karar verilmiştir.					
TOPLANTIYA KATILMADI Prof. Dr. Mehmet MADEN Başkan		 Mehmet UYSAL SÜVFEK Başkanı ASLI GİBİDİR			
 Prof. Dr. Sadettin İPIRDAMAZ Üye		TOPLANTIYA KATILMADI Gürkan HIZLI Konya Doğayı ve Hayvanları Koruma Derneği Üyesi			
 Prof. Dr. Fatma İNAL Raportör Üye	 Prof. Dr. Vahdettin ALTUNOK Üye	 Hüseyin AYDIN Sivil Üye			

10. ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Karşıyaka/İZMİR’de doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Diyarbakır’da tamamladı. 1996 yılında Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ni kazandı. 2001 yılında mezun oldu. 2005 yılında Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji A.B.D’na araştırma görevlisi olarak atandı. 2007 yılında Selçuk Üniversitesi Farmakoloji ve Toksikoloji A.B.D.’na doktora eğitimini tamamlamak üzere atandı. Halen Selçuk Üniversitesi Farmakoloji ve Toksikoloji A.B.D da araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır. 2004 yılında meslektaşı Semih ALTAN ile evlendi. Bir kız çocuk annesidir.