



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2014; 28 (1): 05 - 08
http://www.fusabil.org

Alabalıkların Yenilebilir Doku Örneklerinde Florfenikol Kalıntılarının Araştırılması *

Sedat GÖKMEN¹
Gürdal DAĞOĞLU²
Burcu GÜL BAYKALIR²

¹ Amasya Üniversitesi,
Suluova Meslek
Yüksekokulu,
Amasya, TÜRKİYE

² Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Farmakoloji ve Toksikoloji
Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

Florfenikolün alabalıklarda yenilebilir dokularındaki (deri, kas ve karaciğer) kalıntı miktarının araştırıldığı bu çalışmada; Elazığ'daki beş farklı alabalık işletmesinden 25 adet hasat öncesi ve 25 adet hasat dönemine ait toplam 50 adet alabalık kullanılmıştır. Numunelerdeki florfenikol düzeyleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Analizler sonucunda hasat öncesi dönemdeki alabalıkların deri dokusunun %44'ünde, kas dokusunun %32'sinde ve karaciğer dokusunun %16'sında, hasat dönemindeki alabalıkların ise deri dokusunun %40'ında, kas dokusunun %36'sında ve karaciğer dokusunun %32'sinde florfenikol saptanmıştır. Hasat öncesi kas dokusundaki florfenikol miktarının ($3.52 \pm 0.89 \mu\text{g/g}$) hasat dönemindeki kas dokusundan ($0.69 \pm 0.21 \mu\text{g/g}$) istatistiksel olarak daha yüksek olduğu ($p < 0.05$), deri ile karaciğer dokularında ise istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı ($p > 0.05$) görülmüştür.

Çalışma sonucunda gerek hasat öncesi ve gerekse hasat dönemindeki alabalıkların yenilebilir dokularındaki (deri, kas ve karaciğer) florfenikol ortalama miktarlarının Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ndeki kalıntı limitinin üzerinde olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Alabalık, florfenikol, HPLC, kalıntı.

Investigation of Florphenicol Residue in Edible Tissues of Rainbow Trout

In this study, residue levels of florphenicol in edible tissues of rainbow trout (skin, muscle and liver) were investigated. For this purpose, a total 50 rainbow trouts from 5 different facilities from Elazığ (25 at pre-harvest and 25 during harvest) were used. Florphenicol levels of samples were examined with high performance liquid chromatography (HPLC).

As a result of the analysis, florphenicol was detected from 44% of skin samples, 32% of muscle samples and 16% of liver samples of the rainbow trouts from pre-harvest and 40% of skin samples, 36% of muscle samples and 32% of liver samples from rainbow trouts taken during harvest. Residual amount of florphenicol at muscle samples taken from pre-harvest rainbow trouts ($3.52 \pm 0.89 \mu\text{g/g}$) were found to be statistically higher than samples taken during harvest ($0.69 \pm 0.21 \mu\text{g/g}$) ($p < 0.05$). There was no statistically difference detected from skin and liver samples ($p < 0.05$).

As a result of study, mean residue levels of florphenicol at edible tissue of rainbow trout (skin, muscle, liver) taken during both pre-harvest and harvest, found to be higher than residue limits by Turkish Food Codex.

Key Words: Rainbow trout, florphenicol, HPLC, residue.

Giriş

Bakteriyostatik etkili ve geniş etki spektrumuna sahip olan florfenikol (1-5) dirençli bakterilere bile etkili olması, dokulara iyi geçebilmesi ve istenmeyen etkilerinin az olması (6-8) nedeniyle alabalıkların sistemik enfeksiyonlarında güvenilir bir şekilde yaygın olarak kullanılabilen bir antibiyotiktir (4, 9-14). Özellikle son yıllarda kültür balıkçılığında dirençli bakteri prevalansında görülen artışlar enfeksiyona bağlı hastalıklarının tedavisinde florfenikolü oldukça önemli kılmaktadır (15-17).

Alabalıklardaki farmakolojik dozu 10 mg/kg canlı ağırlık olup 10 gün süre ile balık yemlerine katılarak uygulanmaktadır (5, 8, 18, 19). 5-15°C' lik sıcaklıktaki suda yaşayan balıklara oral yolla uygulandığında biyoyararlanımı %96.5, yarı ömrü 12 saat ve plazma proteinlerine bağlanma oranı ise düşüktür (%10-20). Dokulara iyi geçebilen bir antibiyotik olmasından dolayı alabalıkların sistemik enfeksiyonlarında güvenilir bir şekilde kullanılabilir. Yağda çözünürlüğü düşük olduğundan kas içi uygulamalarda emilim daha yavaştır. Kas içi veya deri altı yolla verildikten sonra vücutta beyin omurilik sıvısı da dahil tüm kesimlere iyi girmekte ve etkili yoğunluk sağlanmaktadır (1, 4, 8, 9, 15, 19-21).

* Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından VF.12.02 no'lu proje ile desteklenen ve Sedat GÖKMEN'in "Alabalıklarda Hasat Öncesi ve Hasat Döneminde Yenilebilir Doku Örneklerinde Florfenikol Kalıntılarının Araştırılması" isimli yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

Geliş Tarihi : 24.12.2013
Kabul Tarihi : 29.01.2014

Yazışma Adresi Correspondence

Burcu GÜL BAYKALIR
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Farmakoloji ve Toksikoloji
Anabilim Dalı,
Elazığ - TÜRKİYE

brcgul@firat.edu.tr

Bu alışma Elazığ'daki 5 farklı alabalık işletmesindeki alabalıkların yenilebilir dokularındaki (deri, kas ve karaciğer) florfenikol kalıntı miktarlarını belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Elazığ'daki 5 farklı alabalık işletmesinin her birinden 5'er adet olmak üzere 25'er adet hasat öncesi (yaklaşık 100 g) ve hasat dönemi sırasında (yaklaşık 250 g) toplam 50 adet alabalık toplandı. Toplanan bu alabalıklar analiz edilinceye kadar -20°C'de muhafaza edildi.

Alabalıkların deri, kas ve karaciğer doku örneklerinde florfenikol düzeyleri floresan dedektör kullanılarak yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC)'nde analiz edildi. Dokularda florfenikol ekstraksiyon ve yıkama işlemleri Jeffery ve ark. (20) tarafından önerilen metoda göre yapıldı. Florfenikol için Pouliquen ve Morvan (8) alışmasındaki mobil faz kullanıldı. En düşük saptama limiti 0.05 ng/g, ortalama geri kazanım değeri ise %82.8 olarak bulunmuştur.

İstatistiksel değerlendirmeler 'SPSS for Windows 11.5' paket programı kullanılarak yapıldı. Hasat öncesi ve hasat dönemi balıkların doku florfenikol değerleri parametrik test varsayımlarını karşılamadığı için Mann Whitney-U testi yapıldı. Ayrıca, her grup kendi içerisinde dokular arasındaki farklılıklar için Kruskal Wallis testi yapıldı. Sonuçlar \pm standart hata (SH) olarak ifade edildi ve $P < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak farklı kabul edildi.

Bulgular

Analizler sonucunda hasat öncesi dönemdeki alabalıkların deri dokusunun %44'ünde, kas dokusunun %32'sinde ve karaciğer dokusunun %16'sında, hasat dönemindeki alabalıkların ise deri dokusunun %40'ında, kas dokusunun %36'sında ve karaciğer dokusunun %32'sinde florfenikol saptanmıştır. Hasat öncesi ve hasat dönemi alabalıklarda dokularda belirlenen ortalama florfenikol miktarları ve farklılıkların istatistiksel önemi Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hasat öncesi ve hasat dönemi alabalıklarda doku florfenikol miktarları ($\mu\text{g/g}$).

Dokular	Hasat Öncesi	Hasat Dönemi	P Değerleri
Deri	1.48 \pm 0.37	1.61 \pm 0.65	0.973
Kas	3.52 \pm 0.89	0.69 \pm 0.21	0.001*
Karaciğer	2.39 \pm 1.09	0.70 \pm 0.15	0.073
P Değerleri	0.078	0.459	

* $P < 0.05$

Tartışma

Veteriner hekimlikte özellikle gıda değerleri olan hayvanlarda antibakteriyel ilaçların ve özellikle florfenikol kullanımı önemli bir yere sahiptir. Yetiştiricilikte kullanılan antibiyotiklerin başta böbrek, karaciğer ve kas olmak

üzere çeşitli organ ve dokularda birikebilmesi nedeniyle başta hayvansal gıdalar olmak üzere insan sağlığı ve ülke ekonomisini olumsuz yönde etkilemektedir (13).

Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA)'nin balık hastalıklarında kullanılmak üzere onay verdiği çok az sayıda antibakteriyel ilaç bulunmaktadır. Bunların başlıcaları penisilinler, oksitetrasiklin, kotrimaksazol ve sülfamerazindir. Ancak, farklı ülkelerde bakteriyel balık hastalıklarında bunlara ek olarak kullanılmasına izin verilen antibiyotikler içerisinde florfenikol, kloramfenikol, eritromisin ve ampisilin bulunmaktadır (3, 4). Florfenikol Türk Gıda Kodeksi'ne (TGK) göre, su ürünlerinde kalıntı kontrolü yapılacak antibiyotikler içerisinde yer almaktadır (18).

TGK'ne göre, florfenikol ve en önemli metaboliti olan florfenikolamin'in balıklarda hedef organdaki (deri ve kas gibi) maksimum kalıntı limiti 1000 $\mu\text{g/kg}$ 'dır. Literatür bilgilerine göre toplam miktarın %65'inin florfenikol, %35'inin ise florfenikolamin şeklinde metabolize edildiği bilinmektedir (19, 22). Bu çalışmada balık dokularında sadece florfenikol düzeyleri belirlenmiştir. Metaboliti olan florfenikolamin düzeylerinin analizleri yapılamadığından kalıntı miktarlarının hesaplanmasında metabolit miktarı olan %35'lik kısım dahil edilmemiştir. Buna rağmen yapılan analizler sonucunda hasat öncesi alabalıkların kas, deri ve karaciğer dokularında sadece florfenikol miktarlarının bile TGK'ndeki limitlerden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Hasat döneminde alabalıkların deri, kas ve karaciğer dokularındaki florfenikol miktarının bile, metaboliti olan %35'lik florfenikolamin oranı dikkate alındığında TGK limitinden az da olsa daha yüksek olduğu anlaşılacaktır.

Kalıntı düzeylerine bakıldığında hasat öncesi ve hasat dönemlerine ait kas dokusu florfenikol düzeylerinin sırasıyla ortalama 3.52 ve 0.69 $\mu\text{g/g}$ olduğu, karaciğerde ise bu değerlerin sırasıyla 2.39 ve 0.70 $\mu\text{g/g}$ olduğu anlaşılmaktadır. Sonuçlar analiz edildiğinde hasat öncesi kas ve karaciğer dokularında kalıntı miktarlarının oldukça düştüğu anlaşılmaktadır.

Balık yetiştiriciliğinde görülen hastalıkların çoğunun yavru dönemlerinde görüldüğu bilinmektedir. Özellikle florfenikol veya diğer birçok antibiyotik bu erken dönemde görülebilen hastalıkların sağaltımında kullanılmaktadır. Hasat öncesi dönemde florfenikol miktarının kas ve karaciğerde yüksek olması nedeniyle bu dönemlerde antibakteriyel ilaç kullanımının daha yaygın olduğu ve bu dokularda birikim gösterebileceği kanaatine varılmıştır. Çalışmada hasat döneminde florfenikol düzeylerinin daha düşük olması hasat dönemlerine yakın zamanlarda hem hastalıkların hem de ilaç kullanımının azalması ile açıklanabilir.

Yapılan çalışmada deride kalıntı değerlerinin hasat öncesi 1.48 $\mu\text{g/g}$ ve hasat döneminde ise 1.61 $\mu\text{g/g}$ doku olduğu tespit edilmiştir. Anlaşılacağı üzere hasat dönemi deri örneklerinde florfenikol kalıntı miktarı istatistiksel olarak önemli olmasa da hasat öncesi değerinden yüksek bulunmuştur. Hayvansal gıdalarda deri dokusu genellikle insanlar tarafından tüketilmemesine karşın,

balık tüketiminde bu durum farklılık gösterebilmektedir. Çünkü özellikle küçük balıklar genellikle derisiyle birlikte tüketilen canlılardır. Derinin bağ dokudan zengin olması, balıklarda ilaca ilk maruz kalan bölge oluşu ve diğer nedenlere bağlı olarak kalıntı miktarlarının yüksek düzeylerde olması kaçınılmazdır. Hasat öncesi döneme göre hasat döneminde deri dokusunda fazla miktarda florfenikol düzeylerine rastlanması deride birikim göstermesi ile açıklanabilir.

Feng ve Jia (5) tarafından yapılan çalışmada, tatlı su tilapalarına oral yolla 5 mg/mL florfenikol uygulamasından 24 saat sonra florfenikol miktarının kas dokusunda 1.60 µg/g, karaciğer dokusunda 1.69 µg/g olarak tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada (19), balıklarda 10 mg/kg/gün dozunda florfenikol uygulamasından 1 gün sonrası florfenikolün konsantrasyonu deri ve kas dokusunda sırasıyla 9770 µg/kg ve 6710 µg/kg bulunmuştur. Uygulamadan 7 gün sonra bu düzey deride 930 µg/kg, kas dokusunda 1310 µg/kg'a düşmüştür.

Pinault ve ark. (23), taze su gökkuşuğu alabalıklarına 10 mg/kg/gün dozunda florfenikol verildiğinde kas dokusu rezidü seviyeleri 1, 3, 8 ve 15 gün sonunda sırasıyla 3.37±1.17 ppm, 1.08±0.54 ppm, 0.21±0.11 ppm ve 0.15±0.05 ppm olarak bulunmuştur.

Kaynaklar

1. Akşit D, Kum C. Gökkuşuğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, walbaum 1792)'nda sık görülen patojen mikroorganizmaların tespiti ve antibiyotik duyarlılık düzeylerinin belirlenmesi. YYÜ Vet Fak Derg 2008; 19: 1-7.
2. Arda M, Seçer S, Sarıyüpeoğlu M. Balık Hastalıkları, 1. Baskı, Ankara: Medisana Yayınevi, 2002.
3. Baydan E, Yurdakök B, Aydın FG. Balıklarda antibiyotik kullanımı. J Vet Sci 2012; 3: 45-52.
4. Boyacıoğlu M. Gökkuşuğu Alabalıklarında (*Oncorhynchus Mykiss*) Rtf's'ye (Rainbow Trout Fry Syndrome) Neden Olan *Flavobacterium Psychrophilum* Etkeninin İzolasyonu ve Antibakteriyel Sağaltım Seçeneğinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007.
5. Feng JB, Jia XP. Tissue distribution and elimination of florfenicol in tilapia after a single oral administration in freshwater and seawater at 28 °C. Aquaculture 2008; 276: 29-35.
6. Chou KY, Cheng TY, Chen CM, et al. Simultaneous determination of residual thiamphenicol and florfenicol in foods of animal origin by HPLC/electrospray ionization-MS/MS. J AOAC Int 2009; 92: 1225-1232.
7. Mahmoudian M, Teyebi L, Falahati H, Dibazer S. Pharmacokinetics of florfenicol in young male calves using HPLC. J Pharm Sci Tech 2010; 2: 432-435.
8. Pouliquen H, Morvan ML. Determination of florfenicol in freshwater, sediment and bryophyte fontinalis antipyretica by HPLC with fluorescence detection. Chromatographia 2005; 62: 225-231.
9. Anadon A, Martinez MA, Martinez M, et al. Plasma and tissue depletion of florfenicol and florfenicol-amine in chickens. J Agric Food Chem 2008; 56: 11049-11056.
10. Can HY, Çelik TH. Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı ve kalıntı riski. Vet Hekim Der Derg 2008; 79(4): 35-40.
11. Cannon M, Harford S, Davies J. A comparative study on the inhibitory actions of chloramphenicol, thiamphenicol and some fluorinated derivatives. Antimicrob Agents Chemother 1990; 26: 307-317.
12. Doyle ME. "Veterinary drug residues in processed meats-potential health risk". http://fri.wisc.edu/docs/pdf/FRIBrief_VetDrgRes.pdf 10.03.2013.
13. Gustafson RH, Bowen RE. Antibiotic use in animal agriculture. J Appl Microbiol 1997; 83: 531-541.
14. Murray IA, Shaw WV. O-Acetyltransferases for chloramphenicol and other natural products. antimicrob. Agents Chemother 1997; 41: 1-6.
15. Fukui H, Fujihara Y, Kano H. In vitro and in vivo antibacterial activities of florfenicol, a new fluorinated analog of thiamphenicol, against fish pathogens. Fish Pathol 1987; 22: 201.
16. Nagata T, Oka H. Detection of residual chloramphenicol, florfenicol, and thiamphenicol in yellowtail fish muscles by capillary gas chromatography-mass spectrometry. J Agric Food Chem 1996; 44: 1280-1284.

17. Vue C, Schmidt LJ, Stehly GR, Gingerich WH. Liquid chromatographic determination of florfenicol in the plasma of multiple species of fish. J Chromatogr B 2002; 780: 111-117.
18. Bektemuroğlu B, Şireli M. Kobaylarda kloramfenikol ve florfenikol'ün elektrokardiyogram üzerine etkisi. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2011; 58: 155-160.
19. EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines and Information Technology). Florfenicol (extension to fish). Summary Report-5. 2000.
20. Jeffrey MVR, Ross AP, Melissa CF, Burns BG. Simultaneous determination of residues of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol and florfenicol amine in farmed aquatic species by liquid chromatography/mass spectrometry. Journal of AOAC international 2003; 86: 510-514.
21. Scuka L. Florfenicol-pharmacodynamic, pharmacokinetics and clinical efficacy of oral formulations in domestic animals: A systematic review. Vet Glas 2005; 59: 635-654.
22. Türk Gıda Kodeksi Tebliği. Türk gıda kodeksi hayvansal gıdalarda bulunabilecek veteriner ilaçlarına ait farmakolojik aktif maddelerin sınıflandırılması ve maksimum kalıntı limitlerinin belirlenmesi hakkında tebliği (Tebliğ No: 2011/20), Resmi Gazete Tarihi: 29.04.2011 Resmi Gazete Sayısı: 27919 Mükerrer.
23. Pinault LP, Millot LK, Sanders PJ. Absolute oral bioavailability and residues of florfenicol in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). J Vet Pharmacol Ther 1997; 20: 297-298.
24. EMEA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines and Information Technology). Florfenicol (extension to fish). Summary Report-2. 1997.