

T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ  
FARMAKOLOJİ ve TOKSİKOLOJİ  
ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı

Prof.Dr.Süleyman ŞENER

111673

DOKTORA TEZİ

KANATLILARDA KOLLEKTİF UYGULAMADAN SONRA KLORAMFENİKOL'ÜN  
YUMURTAYA TRANSFERİ ve İSTANBUL'DA TÜKETİLEN YUMURTALARDA  
KLORAMFENİKOL REZİDÜLERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

111673

Araştırma Görevlisi

Murat YILDIRIM

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İSTANBUL

1993

## İÇİNDEKİLER:

1- GİRİŞ.....	1
2- LİTERATÜR BİLGİ.....	4
2.1.- Kloramfenikolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	4
2.2.- Mikroorganizmalar Üzerine Etki Şekli ve Spektrumu.....	5
2.3.- Yapı - Aktivite İlişkisi.....	7
2.4.- Farmakokinetik Özellikleri.....	8
2.4.1.- Emilimi ve Dağılımı.....	8
2.4.2.- Biyotransfarmasyonu ve Atılımı.....	13
2.5.- Direnç Oluşumu.....	14
2.6.- Tıp'ta ve Veteriner Hekimlikte Kullanımı.....	15
2.7.- Kloramfenikolün Yan Etkileri.....	17
2.8.- Kloramfenikolün İmmun Sistem Üzerine Etkisi.....	25
2.9.- Diğer İlaçlarla Etkileşme.....	26
2.10.- Rezidü Çalışmaları.....	27
2.10.1.- Yumurta'da Rezidü Çalışmaları.....	27
2.10.2.- Süt'te Rezidü Çalışmaları.....	28
2.10.3.- Et'te Rezidü Çalışmaları.....	29
2.11.- Kloramfenikolün Hayvansal Dokularda Aranma Yöntemleri..	30
2.11.1.- Mikrobiyolojik Yöntemler.....	31
2.11.2.- Optik Yöntemler.....	31
2.11.2.1.- Kolorimetrik Yöntem.....	31
2.11.2.2.- Fluorometrik Yöntem.....	32
2.11.3.- Kromatografik Yöntemler.....	32
2.11.3.1.- İnce Tabaka Kromatografi.....	32
2.11.3.2.- Gas Kromatografi.....	32
2.11.3.3.- Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi.....	34
2.11.4.- İmmunokimyasal Yöntemler.....	35
3- MATERYAL ve METOT.....	36
4- BULGULAR.....	41
5- TARTIŞMA.....	49
6- ÖZET.....	54
7- SUMMARY.....	55
8- LİTERATÜR LİSTESİ.....	56
9- ÖZGEÇMİŞ.....	68

## TEŞEKKÜR

Başta Doktora Danışmanım Sayın Hocam Prof.Dr.Süleyman ŞENER'e olmak üzere, çalışmam sırasındabüyük ilgi ve desteğini gördüğüm, Sayın Hocam Prof.Dr.Kemal OZAN'a :

Çalışmamızın çeşitli dönemlerindeki değerli yardımlarını gördüğüm Sayın Hocam Doç.Dr.Ayhan ÜNSAL'a, Doç.Dr.Nuray UZUNÖREN,e Yrd.Doç.Dr.Oya KELEŞ'e ve Anabilim Dalı arkadaşlarıma:

Ayrıca, çalışmamızın mali yükünü karşılayan İ.Ü.Araştırma Fonu Sekreterliğine:

Teşekkürlerimi borç bilirim.

## 1- GİRİŞ :

Antibiyotiklerin bulunmasından sonra insan ve hayvanlarda meydana gelen enfeksiyonların tedavisinde bir çığır açılmıştır. Antibiyotikler enfeksiyonların tedavisinde kullanılmalarının yanısıra, hayvanlarda yem dönüşümünü arttırıcı özellikleri nedeniyle hayvan yemlerine belli düzeylerde (20-100 ppm) katılarak kullanılmasına birçok ülkede izin verilmektedir. Gerek sağaltım gerekse verim arttırıcı olarak kullanıldığında, antibiyotiklerin, kullanılan hayvanların ürünlerine (et, süt, yumurta) geçtiği ve bu durumun bir rezidü sorunu yarattığı bilinmektedir.

1969 yılında İngiltere'de Swann Komitesi, 1972 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde İlaç ve Gıda Örgütü tarafından hazırlanan raporlarda, antibiyotiklerin yukarıda anılan amaçlarla kullanımı ile ilgili olarak çeşitli öneriler verilmiş ve bu öneriler kendi hükümetleri tarafından kabul edilmiştir. Bu öneriler başlıca, hayvansal ürünlerdeki antibiyotik rezidülerinin, bu ürünlerin insanlar tarafından tüketimiyle antibiyotiğe önceden duyarlılığa sahip kişilerde allerjik reaksiyonlara ve antibiyotiğin direkt toksik etkisinden dolayı tehlikeli etkiler oluşturabileceği, ayrıca bakterilerin rezistans suşlarının artmasına neden olabileceği belirtilmektedir (149).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 1969 yılında, insanlarda meydana gelen *Salmonella typhi* ve *Salmonella paratyphi* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanım için kloramfenikol'ün bir tercih antibiyotik olduğunu belirtmiş ve değerlendirmesinde, insan tüketimine sunulan gıdalardaki kloramfenikol rezidüleri için kabul edilebilir seviyenin belirlenemeyeceğini rapor etmiştir (148). Aynı örgüt 4 yıl sonra kloramfenikol'ün yalnızca insanlarda tedavi için sınırlandırılmasını ve belirtilen ciddi enfeksiyonların tedavisine ayrılması gerektiğini belirtmiştir (149). Ülkemizde ise kloramfenikol hem beşeri hekimlikte hem de veteriner hekimlikte oldukça yaygın olarak kullanılan bir antibiyotiktir. Kloramfenikol'ün insanlarda kullanımı sonucunda özellikle hemopoietik sistem üzerine iki tür yan etkiye sebep olması nedeniyle, kloramfenikol rezidülerinin ayrı bir önemi vardır.

Kloramfenikol'ün insanlarda hemopoietik sistem üzerine yan etkisi iki türdür:

1-İlacın dozuna bağlı olarak gelişen ve reversibl özellik gösteren kemik iliği baskılanmasıdır. Bu tip, kemik iliği hiposelüleritesi, serum demirinde artış, lenfositlerin ve lenfoblastların stoplazmik vakuolizasyonu, kemik iliği prekürsör hücrelerinin olgunlaşmasındaki durgunluk ile karakterizedir ve ilaç kullanımı kesildiğinde bu semptomlar düzelir.

2-İlk şekilden daha az görülen, doza bağlı olmayan, ilaç kullandıktan haftalar ya da aylar sonra ortaya çıkabilen, irreversibl özellikte ve çoğunlukla öldürücü olan bu tür: pansitopeni, kemik iliği hipoplazisi veya aplazisi ile karakterizedir. Bu tür etkinin oluşma insidensi kloramfenikol kullanan kişilerde 1/25.000-1/40.000'dir. Oluşma mekanizması tam olarak bilinmemektedir (54,61).

Doza bağımsız olarak gelişen fakat nadir görülmesine rağmen çoğunlukla öldürücü özellikte olması nedeniyle, kloramfenikolün ürünleri insanlar tarafından tüketilen hayvanlarda kullanılması, bu ürünlerin tüketimi sonucu insanlarda kemik iliği aplazisine yakalanma riski yaratabileceğinden birçok ülke çiftlik hayvanlarında kloramfenikol kullanımını yasaklama yoluna gitmiştir.

100.000 adet yumurta tavuğu olan bir çiftlikte herhangi bir nedenle kolektif kloramfenikol kullanılması, ortalama % 50'lik bir verimle günde 50.000 adet rezidü içeren yumurtanın insan tüketimine sunulması anlamına gelmektedir ki bu da yukarıda belirtilen 1/25.000-1/40.000'lik insidensi yakalaması açısından ciddi bir potansiyel tehlike ortaya koymaktadır.

Dünya Sağlık Örgütü, özellikle laktasyondaki hayvanlarda ve yumurta tavuklarında olmak üzere ürünleri insanlar tarafından tüketilen hayvanlarda kloramfenikol kullanılmasının yasaklanmasını önermiştir (150). Ancak, ülkemizde bu konu ile ilgili yasal bir düzenleme yoktur.

Çalışmamızın amacı, kloramfenikol'ün yumurta tavuklarının içme sularına 75 - 150 ppm dozlarda verilmesiyle antibiyotiğin yumurtalara ne miktarda ve ne kadar süreyle geçtiğini araştırmak ayrıca nüfusu 8 milyona yaklaşan İstanbul'da tüketilen yumurtalardaki kloramfenikol rezidülerinin profilini ortaya çıkarmaktır.

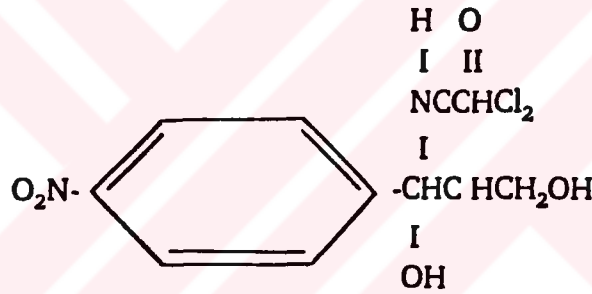


## 2- LİTERATÜR BİLGİSİ:

### 2.1.- Kloramfenikolün Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri:

Kloramfenikol ilk olarak Venezuela'nın Karakas yakınlarında çamurlu bir toprak numunesinde bulunan bir Streptomyces türü mantar (*Streptomyces venezuelae*) kültürlerinden izole edilmiştir (51). Daha sonra başka araştırmacılar tarafından da yine bir Streptomyces türünden izole edilmiş ve özelliklerinin kloramfenikol ile aynı olduğu bildirilmiştir (63).

Kloramfenikolün kimyasal yapısı bulunuşundan kısa bir süre sonra , D - (-)-threo-2-dichloroacetamido-1-p-nitrophenyl-1,3- propanediol olarak açıklanmış (112) ve sentez yoluyla da elde edilmiştir (40). Bugün daha ucuz olduğu için sentez yoluyla üretilmektedir (78,101).



Şekil 1 : Kloramfenikol'un açık formülü ( $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_5$ )

Kloramfenikol renksiz ya da açık sarı renkte oldukça acı lezzette kristalize bir tozdur (134).

Suda oldukça az (2.5 mg/ml), metanol, etanol, etasetat ve asetonda çok çözünen kloramfenikol, petrol eteri ve benzende çözünmez . Oldukça stabil bir antibiyotiktir. Nötr çözeltilerde vekuru formda oldukça dayanıklıdır, sulu çözeltileri 37° C'de bir ay, 100° C'de 5 saat ısıtıldığında bile antibiyotik aktivitesinde kayıp söz konusu değildir (15). Güçlü asidik solusyonlarda en az 24 saat aktivitesini korur fakat pH'sı 10'dan fazla olan çözeltilerde antibiyotik aktivitesini hızla kaybeder.

## 2.2.- Mikroorganizmalar Üzerine etki şekli ve Spektrumu.

Kloramfenikol, antibakteriyel etkisini duyarlı bakterilerdeki protein sentezini inhibe ederek gösterir. Bunun ilk karutı E.coli'de (151) ve Stap.aureus'da (57) biyokimyasal analizler yoluyla sağlanmıştır.

Duyarlı bakterilerde protein sentezinin inhibisyonu, kloramfenikolün bakteriyostatik konsantrasyonlarında meydana gelir ve bu sırada bakterilerdeki nükleik asitlerin sentezi (57,151) ,hücre duvarı sentezi (66),polisakkaritlerin sentezi (62) devam ettiği için bu etki oldukça spesifiktir.

Duyarlı bakterilerde protein sentezinin ilk basamağı olan amino asitlerin aktivasyonu kloramfenikol tarafından etkilenmez (47).

Kloramfenikol, peptit zinciri şekillenmesinin başlamasından çok zincir uzamasını inhibe eder (77). <sup>14</sup>C-Kloramfenikolle yapılan şalışmalarda, kloramfenikolün Staph. aureus ve B.megatorium'un ribozomlarına bağlandığı ve bu bağlanmanın stereospesifik olduğu, ayrıca her ribozom partikülüne bir kloramfenikol molekülünün bağlanabileceği bildirilmiştir (136,152). <sup>14</sup>C-kloramfenikolün 70 S ribozomlarının 50 S alt ünitesine bağlandığı ve bağlanmanın dönüşümlü olduğu gösterilmiştir (154). Aynı şalışmada, kloramfenikole dirençli mikroorganizmalar, mayalar, protozoonlar ve bitki hücrelerinden alınan ribozomlarla yapılan şalışmalarda antibiyotiğin ribozomlara bağlanamadığı, ancak bir protozoan olan Tetrahydema pyriformis 'in yüksek konsantrasyonlarda kloramfekole duyarlı olduğu bulunmuştur.

Etki spektrumu, kloramfenikol gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmaların çoğuna, özellikle salmonella, pastörella, kolibasil, mikoplazma, leptospira, korinobakteriler, kanatlıların kronik solunum sistemi enfeksiyon etmenleri (134) ile riketsiya ve klamidya türlerine ve bunların yanısıra Bacteroides fragilis gibi bazı anaeroblara da etkir (54). Kloramfenikolün vücuttaki terapötik konsantrasyonu 5-10 mikrogram(ug)/ml'dir (101). Tablo: 1'de bazı patojen mikroorganizmalara karşı kloramfenikolün minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) gösterilmiştir (69).



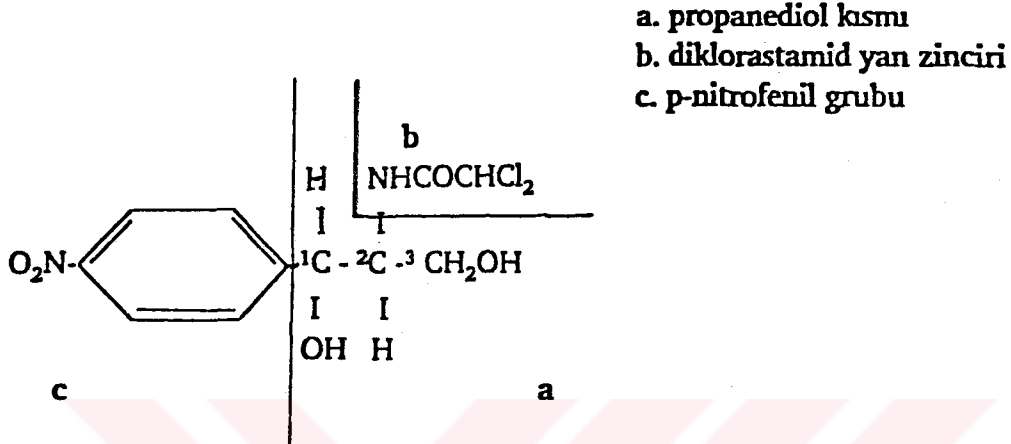
**Tablo.1 : Kloramfenikolün bazı patojen mikroorganizmalara karşı Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MIC).**

MİKROORGANİZMA	MIC ( ug/ml)
<b>Gram (+) bakteriler</b>	
Stap.pyogenes (aureus)	1.000-5.0
Stap.epidermis (albus)	1.000-6.25
Strep.pyogenes (Grup A)	0.300-6.0
Strep.pneumoniae	0.060-12.5
Strep.viridans	0.600-2.5
Bacillus anthracis	0.750-5.0
Clostridium perfringens	2.000-4.0
Diğer Clostridium türleri	0.500-16.0
Actinomyces türleri	0.500-8.0
Peptococcus türleri	0.100-8.0
<b>Gram (-) bakteriler</b>	
Escherichia coli	3.000-50.0
Enterobacter türleri	0.500-64.0
Klebsiella pneumoniae	0.500-25.0
Serratia marcescens	2.500-5.0
Proteus vulgaris	0.120-250
Salmonella typhi	0.750-5
Shigella sonnei	2.500-6.0
Neisseria gonorrhoeae	0.078-6.3
Neisseria meningitidis	0.780-6.25
Haemophilus influenzae	0.200-3.5
Bordetella pertussis	0.200-12.5
Brucella abortus	0.100-10.0
Bacteroides fragilis	0.500-16
Fusaribacterium türleri	0.500-2.0
Pseudomonas aeruginosa	Rezistan

### 2.3.-Yapı - Aktivite İlişkisi

Kloramfenikolün diklorasetik asit grubu içeren nitrobenzen türevi bir antibiyotiktir ve kimyasal yapısı diğer antibiyotiklere göre basittir (78).

Kloramfenikolün 4 adet stereoizomeri vardır ve bunlardan sadece D-thero izomeri antibiyotik aktiviteye sahiptir (65).



a- Kloramfenikolün antibakteriyel aktivitesi için, propanediol kısmı ve özellikle 1 ve 2 no'lu C atomları üzerinde yer alan grupların stereokimyasal gruplaşması mutlaka gereklidir (64,133).

Genel olarak hidroksil gruplarının fonksiyonel karakterlerini etkileyen yapısal değişiklikler antibiyotik aktivitenin tamamen ortadan kalkmasına yol açar (64).

Kloramfenikol'ün bazı diesterleri aktiftir, fakat ester bağının hidroliziyle antibiyotik molekülünün yeniden ortaya çıkması gerekmektedir (64).

b- Diklorasetamid yan zinciri tamamen silinirse arta kalan kısım olan "kloramfenikol base", ham antibiyotik molekülünün yaklaşık % 2 aktivitesine sahiptir (64,65,112).

c- Antibakteriyel güç, para durumundaki fenil grubunun elektronegativitesiyle orantılıdır. İyonogenik gruplaşma ile nitro grubunun yer değiştirmesi antibakteriyel aktivitenin tamamen kaybına yol açar (64).

Nitro grubunun kloramfenikolün hemopoiyetik yan etkisinden sorumlu olduğu sanılmaktadır. Bu grup yerine diğer grupların gelmesi antibakteriyel aktiviteyi

çok değiştirmez(157). Bu grup antibakteriyel aktivite için kesin gerekli değildir (133).

Kloramfenikolün hematolojik toksisitesinden sorumlu olduğu sanılan p-NO<sub>2</sub> grubunun yerine metil sülfonil (SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) grubunun getirilmesiyle bazı avrupa ülkelerinde ve ülkemizde de kullanılan tiamfenikol (46,101) ile tiamfenikol molekülündeki 3 nolu C atomu üzerindeki hidroksil grubu yerine F (Flor) atomunun konmasıyla florfenikol sentezlenmiştir. Bu bileşiklerin antibakteriyel spektrumu kloramfenikole benzerliği ve gelişmiş ülkelerde kloramfenikolün çiftlik hayvanlarında kullanımının yasaklanması nedeniyle özellikle florfenikol kullanıma sunulmuştur (70,103).

#### 2.4.- Farmakokinetik Özellikleri :

##### 2.4.1.Emilimi ve Dağılımı:

Kloramfenikol, antibiyotiklerin en fazla lipofilik olanlarından biridir .Oral yolla veriliminden sonra veya parenteral uygulanmasından sonra vucutta her tarafa yayılır . Kloramfenikol acı lezzette olduğu için oral verilime uygun değildir. Kloramfenikolün acı olmayan palmitat esteri inaktif olmasına rağmen oral verilimden sonra barsaklarda emilmeden önce pankreatik lipaz enzimi tarafından hidrolize edilerek ince barsaktan % 100'e yakın bir oranda absorbe edilir (78). Kloramfenikol rektum mukazasından da oldukça iyi bir şekilde emilir fakat emilimin bireylere göre değişkenliği nedeniyle bu tür kullanım tavsiye edilmez (29,78,112).

Kas içi (İM) verilim için saf kloramfenikolün çoğu hayvan türünde 20 mg/kg'lık doz ile 5 ug/ml'lik minimum terapötik düzeye ulaşlamayacağı bu nedenle bu yolla verilim için uygun kloramfenikol formunun seçiminin oldukça önemli olduğu vurgulanmıştır. Yukarıdaki doz ile belirtilen konsantrasyonlara kloramfenikolün süksinat esteri ile ulaşılabileceği not edilmiştir (79), ancak oral yolla biyoyararlanımın parenteral yoldan daha yüksek olduğu belirtilmiştir (78,125).

Kloramfenikolün biyolojik yarı ömrü yaklaşık 2-3 saat kadardır (91,134) . Bu nedenle ilacın oral olarak ergin ruminantlar dışındaki türlere 6 saat ara ile verilmelidir. Parenteral yolla verildiğinde etkin konsantrasyon uzun süreli olduğu için kas içi yolla 12 saat ara ile verilmesi uygundur (134). Kanda dolaşan kloramfenikolün plazma proteinlerine bağlanma oranı % 30-60 civarındadır ve ilacın plazma proteinlerine bağlanma miktarı ilaç konsantrasyonundan bağımsızdır (29,44).İleri derecede lipoproteinemi durumu, ilacın yarı ömrünün kısalmasına neden olabilir (91).

Kloramfenikolün hayvanlara verilme şekillerinde tür farklılıkları ve yaş oldukça önemlidir. Ergin ruminantlarda oral verilimle, rumen mikroorganizmaları tarafından kloramfenikolün yıkılması nedeniyle ilacın emilimi oldukça düşük olduğu için oral verilim tercih edilmemelidir (44,79,115). Preruminant dönemdeki 4 haftalıktan küçük ruminantlarda kloramfenikol oral olarak verildiğinde non-ruminantlardaki kadar hızlı bir şekilde emilir(79).

Kloramfenikol, oral veya parenteral uygulanmasından ortalama 1 saat sonra başta karaciğer, safra ve böbreklerde olmak üzere hemen tüm dokularda saptanabilir düzeye ulaşır (59,133).

Sığırlara İM ve SC olarak uzun etkili bir kloramfenikol preparatının 90 mg/kg/48 saat dozda verilimini takiben alınan kan numuneleriyle yapılan bir çalışmada, verilimden sonraki 9.-12. saatlerde konsantrasyonun 10-15 ug/ml'ye yavaşça yükseldiği bildirilmiş, her iki yoldan da emilim zamanının birbirinden farklı olmadığı ancak emilim oranının SC enjeksiyondan sonra İM verilime oranla belirgin olarak düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca, kloramfenikolün yarı ömrünün 4.1 saat olduğu bildirilmiştir (115).

Laktasyonun çeşitli devrelerindeki 2-6 yaşlı 8 inekten 4'üne 30 mg/kg SC olarak iki kez, diğer 4'üne aynı yolla 17.4-23.6 mg/kg kloramfenikol verilerek salya ve plazmalarda yapılan çalışmalarda,SC enjeksiyondan sonra salyada: verilimden sonraki 8. dakikada 8-15 ug/g, 2.enjeksiyondan sonraki 8. dakikada 24.56 ug/g'lık maximum

kloramfenikol konsantrasyonu bulunmuş, ilk uygulamadan sonra plazmada 6-10. saatlerde 2.7-4.6 ug/ml, 2.uygulamadan sonra 7.1-10.7 ug/ml'lik kloramfenikol saptanmıştır (49). Aynı çalışmada meme içi uygulamayı takiben plazmada 7.4-15 ug/ml kloramfenikol saptandığı bildirilmiştir .

Sığırlara 100 mg/kg dozda kloramfenikolün oral verilimini takiben serumda , aynı dozun parenteral verilimiyle elde edilen konsantrasyonun ancak 1/40'ı elde edilebilmiştir (81).

Keçilerin rumen sıvısıyla in vitro olarak kloramfenikolün inkubasyonu sonucu kloramfenikolün yıkımlandığı gösterilmiş (98), 22 mg/kg dozda kloramfenikolün oral verilimini takiben plazmada antibiyotiğin saptanamadığı bildirilmiştir (44).

Koyunlara 30 mg/kg dozda SC, İM, İV yolla kloramfenikol verilerek yapılan bir çalışmada, 5 ug/ml'lik terapötik kan konsantrasyonunu 72 saat südürebilmek için her 12 saatte bir İM olarak 60 mg/kg, SC olarak ise 45 mg/kg'lık dozlarda ilacın verilmesi gerektiği bildirilmiştir (42).

Doğumdan 2-6 gün sonra sağlıklı ineklerin uterusları içine (İU), 20 mg/kg kloramfenikolün verilmesiyle carunculuslarda 43.8 ug/g, endometriumda 34.6 ug/g, uterus duvarında 2.8 ug/g, plazmada İ.U. enjeksiyondan 8 saat sonra 2.9 ug/ml'lik kloramfenikol saptanmış ve uterus dokularındaki bu konsantrasyonların uterusun derin dokularında yeterli olduğu, fakat uterusun yüzeysel enfeksiyonları için diğer parenteral yollardan kloramfenikol uygulanması gerektiği belirtilmiştir (30).

Sağlıklı ve E.coli ile enfekte tavuklara 20 mg/kg dozda kloramfenikolün oral, İV ve İM verilmesiyle yapılan bir çalışmada her üç yolla verilmeye de etkili kan konsantrasyonlarından oldukça yüksek konsantrasyonlar elde edilmiş, hasta olanlarda oral ve İM verilimden sonra daha yüksek bir konsantrasyon elde edilmiş ve sebep olarak emilim zamanının uzunluğu ve düşük vucut klirensi gösterilmiştir (12).

Köpeklerde yapılan bir çalışmada 5-10 ug/ml'lik terapötik kan konsantrasyonunun sürdürülebilmesi için kloramfenikolün, günde 150 mg/kg dozda olmak üzere 3 veya 4'e bölünerek oral yolla verilmesi gerektiği bildirilmiştir (50). Bazı hayvan türlerinde kloramfenikolün dozu, veriliş yolu vb bilgiler Tablo: 2'de gösterilmiştir (44,79,125).

Sağlıklı köpeklere 50 mg/kg dozda kloramfenikolün oral verilimi izleyen 1.5, 3, 6 ve 12 saatlerde sakrifiye edilmeleriyle alınan çeşitli doku numunelerinde antibiyotik konsantrasyonun saptanmasıyla yapılan bir çalışmada, kloramfenikolün vucutta eşit bir dağılım göstermediği sonucuna varılmıştır. Beyin hariç tüm dokularda 1.saatte kandan daha yüksek yoğunluklar bulunmuş, ancak beyindeki antibiyotik konsantrasyonunun 12. saatte kandan oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir (142).

Köpeklere kloramfenikolün glisinat tuzunun sudaki ve kloramfenikolün propilen glikoldeki çözeltisinin İM olarak verilmesi sonucu glisinat tuzunun biyoyararlanımının daha iyi olduğu gösterilmiştir (20).

Atlarda 25 mg/kg dozda kloramfenikolün bir kez İV olarak veriliminden sonraki 30.dakikada en yüksek serum konsantrasyonu 6.21 ug/ml, synovial sıvıda 3.89 ug/ml,peritoneal sıvıda 3.5 ug/ml olmak üzere kloramfenikol saptanmış, verilimden 3 saat sonra serumda, 6 saat sonra periton sıvısında, 36 saat sonra idrarda saptanamayacak düzeylere indiği belirtilmiş, atlar için patojen mikroorganizmaların çoğunun minimum inhibitör konsantrasyonunun belirtilen düzeylerden daha yüksek olduğu, ayrıca atlarda hızlı atılım nedeniyle bu dozların yeterli olamayacağı rapor edilmiştir (31).

Midillilerde de 22 mg/kg'lık kloramfenikol'ün İM verilimi ile enjeksiyondan 1 saat sonra 6-8 ug/ml'lik etkili kan yoğunluğuna ulaşamayacağı bildirilmiştir (44). Yavru ve ergin domuzlarda belirtilen dozlarda etkili kan yoğunluğuna verilimden 1 saat sonra ulaşabileceği saptanmıştır (44,111).

Parenteral yolla verilen kloramfenikol, kan serumu yoğunluğunun % 50'si oranında süte geçer, akut mastitis olaylarında bu oranın daha da arttığı bildirilmiştir (133).

Kloramfenikol'ün mastitisli hayvanlara İM, galaktofor (meme içi) ve İM + galaktofor uygulanmasından sonra alınan sütlerde İM verilimden sonra 8.saate, galaktofor. verilimle 24 saate, her iki yolla verilimle de 32. saate kadar kloramfenikol saptanabildiği belirtilmiştir (3)

Sağlıklı ve mastitisli ineklere kloramfenikolün 30 mg/kg' ının İM olarak ve mastitisli her memeye 250 mg'ının 24 saat arayla 2 kez verilmesiyle yapılan bir çalışmada şu sonuçlar alınmıştır ; sağlıklı hayvanlara İM verilimden sonra sütte 24.saatte 3.77 ug/ml, 48. saatte ise 6.32 ug/ml'lik konsantrasyonlarda , mastitisli hayvanların sağlıklı meme içlerine uygulamadan sonra 24.saatte 4.23 ug/ml, 48. saatte 7.42 ug/ml'lik konsantrasyonlarda kloramfenikol saptanmıştır. Mastitli memelere kloramfenikolün galaktofor verilmesini takiben sütte 24. saatte 34.22 ug/ml, 48.saatte 39.96 ug/ml kloramfenikol saptanmıştır. Mastitisli memelerden alınan sütlerde kloramfenikol yoğunluğunun yüksek olmasına , yangı durumunda meme bezi membran permeabilitesinin artmasının neden olduğu ve bundan dolayı akut mastitis durumlarında ilacın galaktofor kullanımının uygun olacağı belirtilmiştir (105).

Diğer birçok antibiyotiğin aksine kloramfenikol, kan-beyin engelini kan düzeyinin 1/2 - 1/4'ü arasındaki düzeylerde geçerek spinal sıvıya kolaylıkla yayılır ve bu yayılma meningeslerde yangı olmadığında bile oldukça iyidir (29,82)

Kloramfenikolün ,plasentaya maternal kan konsantrasyonunun % 30-80'i arasında geçtiği sağlıklı gebe annelerde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (112,122).

Gözün çeşitli kısımlarına ve sıvılarına kloramfenikolün dağılımının incelendiği çalışmalarda, uygulama şekline göre gözün aköz ve vitröz sıvısına, kornea, iris, korioretinal doku, göz siniri, konjuktiva, göz kası ve göz yaşı bezine İV uygulama ile geçtiği , SC enjeksiyon ile sadece aköz sıvıya geçebildiği (85), % 0.5'lik oftalmik kloramfenikol solüsyonunun göze lokal uygulanmasıyla aköz sıvıda 3.5-6.7 ug/ml'lik konsantrasyonlara ulaştığı saptanmıştır (17,58).

#### 2.4.2.- Biotransformasyonu ve atılımı :

İnsanlarda, emilen kloramfenikolün biyotransformasyonunun büyük bir kısmı karaciğerde glukuronik asitle konjuge edilerek gerçekleştirilir ,ayrıca nitro gruplarının barsaklarda bakteriler tarafından indirgenmesi şeklinde de metabolize edilir (78,101,159) .Glukuronik asitle metabolizması sonucunda mikrobiyolojik aktiviteden yoksun, suda çözünebilir konjugasyon ürünleri meydana gelir . İnsanlarda verilen dozun % 90'ı inaktif nitro bileşikler şeklinde ve mikrobiyolojik olarak aktif kloramfenikol'un yaklaşık % 8-10'u idrarla atılır (59,78,82,91). İlacın büyük bir kısmı inaktif metabolitler şeklinde tubuler sekresyonla atılırken aktif kloramfenikol glomeruler filtrasyonla atılır (59). İdrarla atılan aktif kloramfenikolün miktarı düşük olmasına rağmen, idrardaki konsantrasyonları üriner enfeksiyonları tedavi etmek için oldukça yeterlidir (82).

Tablo .2 : Bazı hayvan türlerinde kloramfenikol dozları

Tür	İlaç Şekli	Veriliş Yolu	Doz (mg/kg)	Plazma Yarı ömrü (saat)	Etkili süre (saat)
Kanatlı	Kloramfenikol	İM	50 (hayvan başına)		
	Kloramfenikol	Oral	100-200 mg/L içme suyu ile		
Sığır	Süksinat tuzu	İV-İM	50	2	8-10
	Kloramfenikol	İV	20-30	2	4-5
Keçi	Süksinat tuzu	İV	22	2	2-4
Koyun		İM	50	2	8-10
Domuz	Süksinat tuzu	İV	22	0.9	2
	Süksinat tuzu	İM	50		8-9
	Kloramfenikol	İV	20	1	2
Köpek	Süksinat tuzu	İV	22	4.2	4
Kedi	Süksinat tuzu	İV	22	5.1	4

İnsanlarda kloramfenikolün, küçük bir kısmı (verilen dozun % 2-3'ü) safra yoluyla çoğunlukla inaktif formda atılır. Ratlarda parenteral verilen kloramfenikol, inaktif nitro bileşikler şeklinde safra yoluyla atılır. Bu metabolitler ya enterohepatik sıklusa girerek tekrar geri emilir ya da dışkıyla atılan aril aminlere çevrilmek için barsaklarda redükte



edilir. İnsanlarda oral verilen kloramfenikolün dışkıyla atılan kısmı ihmal edilecek kadar azdır % 1 (59,82).

Yeni doğanlarda, kloramfenikolün metabolizmasında çok önemli olan glukuronik asit sentezinin yetersiz olması ve renal fonksiyonların tam gelişmemesinden dolayı aktif kloramfenikolün birikimi söz konusudur. Bu nedenle yeni doğanlarda kloramfenikolün dikkatli kullanılması gerekmektedir (14,78,147).

Ergin kedilerde de yeni doğanlara benzer şekilde kloramfenikolün inaktivasyonunda büyük öneme sahip olan glukuronik asidin sentezlenmesindeki eksiklikten dolayı, kloramfenikolün tekrarlanan dozlarında ilacın yavaş metabolize edilmesi nedeniyle kanda yüksek kloramfenikol konsantrasyonları meydana gelir ki bu durum kedilerin kloramfenikolün yan etkilerine oldukça duyarlı olmasının nedenidir (125,153).

Ergin kedilerde ve yeni doğanlarda, ergin insanlarda ve diğer hayvan türlerinde bulunamayan bir metaboliti tanımlanmıştır. Bu metabolit, bileşiğin diklorasetat grubunun indirgenmesiyle ve dehalojenasyonu ile meydana gelen glikolik asit amid analogudur. Toksik özellik taşımayan bu metabolitin antibakteriyel etkisi kloramfenikolün % 4'ü kadardır (48,91).

## 2.5.- Direnç oluşumu:

Mikroorganizmalarda kloramfenikole direnç yavaş ve birkaç basamakta gelişir.

Kloramfenikole karşı direnç oluşumunun mekanizması ilk kez 1965 yılında rapor edilmiş ve bu çalışmada, kloramfenikolü inaktive etme yeteneğine sahip E.colinin R. faktör taşıyan suşlarında saptanan bir enzimin varlığı gösterilmiştir (102).

Epizomal transfer R faktör taşıyan E.colinin kloramfenikole rezistans suşları, enzimatik asetilasyonla kloramfenikolü inaktive eder. E.coli hücrelerinin kloramfenikol

ve asetil CoA'nın varlığında, kloramfenikolün mono ve diasetil türevini verir ki, bu türevler antibakteriyel aktiviteden yoksundur (132).

Kloramfenikolü inaktive eden bu enzim (kloramfenikol asetiltransferaz) ilk kez E.colinin R (+) bir suşundan saflaştırılmıştır (123).

E.coli ile yapılan çalışmalara ek olarak Stafilokoklarda da kloramfenikolü asetilasyonla inaktive etme yeteneğine sahip enzimin izolasyonu yapılmıştır (123,134).

Bunların aksine, kloramfenikole rezistans E.coli suşlarının bazı klinik izolatlarının kloramfenikolü inaktive edemediği, bu olaya bu suşlarda kloramfenikole karşı indüklenabilir bir permeabilite bloğuna sahip olmalarının neden olduğu belirtilmiştir (19,94). Gram (-) bakterilerin R plazmidleri ile ve Stap.hycius'la yapılan çalışmalarda da kloramfenikolü inaktive eden enzimin kloramfenikol asetiltransferaz olduğu ve bunun plazmidler aracılığı ile yapıldığı gösterilmiştir (56,119).

## 2.6.- Tıp'ta ve Veteriner Hekimlikte Kullanımı:

Amerika, Kanada, Avustralya, Batı Almanya gibi gelişmiş ülkelerde veteriner hekimlikte kloramfenikolün kullanılması yasalarla düzenlenmiştir. Giriş bölümünde belirtilen nedenlerden dolayı kloramfenikolün adı geçen ülkelerde ürünleri insanlar tarafından tüketilen hayvanlarda ne amaçla olursa olsun kullanımı yasaklanmıştır.

Kloramfenikol ülkemiz de dahil olmak üzere çeşitli ülkelerde hayvanlarda başta koliform ve salmonella enfeksiyonları olmak üzere , pastörella enfeksiyonları, fusiformis etkenlerinin neden olduğu enfeksiyonları, koyunların ayak çürüğü hastalığı, E.coli ve streptococların neden olduğu sığır mastitisleri ve bazı viral hastalıklarda sekonder enfeksiyonların önlenmesi amacı ile kullanılmaktadır (101,133,134).

İnsan hekimliğinde, kloramfenikol ile hastalıkların tedavisine toksisitesinden dolayı daha etkin veya eşit derecede etkin başka ilaç kullanımı mümkünse pek başvurulmaması gerektiği bildirilmiştir (61).

Kloramfenikol insanlarda, tifo'ya karşı ve salmonella'ların neden olduğu diğer sistemik enfeksiyonların tedavisinde bugün için hala tercih edilen bir antibiyotiktir (61,78).

Kloramfenikol kan-beyin engelini en iyi geçen antibiyotiklerden biri olduğu için H.influenza'ya bağlı meningitidislerde kloramfenikolün oldukça etkili olduğu bildirilmiştir (61,78),

Riketsia ve brucella enfeksiyonlarının tedavisinde tetrasiklinlerin kullanılmadığı durumlarda kloramfenikol kullanımının doğru olacağı belirtilerek, ciddi renal yetmezlik ve anuri varlığında bile üriner enfeksiyonların tedavisi için hayat kurtarıcı bir antibiyotik olduğu bildirilmiştir (61,82).

Bunlara ek olarak kloramfenikol, gözün çeşitli kısımlarına çok iyi bir şekilde dağıldığı ve geniş spektrumlu bir antibiyotik olduğu için insan ve hayvanların oftalmik enfeksiyonlarında da kullanılır (54,61,78,82,100).

Kloramfenikolün diğer antibiyotiklerle kombine kullanılmaları: Kloramfenikol ile penisilinler ve streptomisin arasında antagonizma söz konusudur. Bu antibiyotikler geliştirmekte olan bakterilerin hücre zarı oluşumunu engellerler oysa kloramfenikol bakterilerin protein sentezini inhibe ederek üremelerini engeller. Kloramfenikol ile tetrasiklinler arasında additif bir etkileşme vardır. Parenteral yolla özellikle oksitetrasiklinle bir arada kullanılmasının nedeni budur (100,134)

Öte yandan kloramfenikol ile eritromisin ve diğer makrolit antibiyotiklerin bakterilerin ribozomlarına bağlandıkları yerlerin birbirine çok yakın olması nedeniyle bu antibiyotiklerden birinin ribozomlara bağlanmış olması diğerinin bağlanmasını

inhibe eder. Bu nedenle bu antibiyotikler kloramfenikolün etkinliğini azaltırlar ve birarada kullanılmamalıdır (78).

## 2.7.- Kloramfenikolün Yan Etkileri :

Hemopoietik Sistem: İnsanlarda kloramfenikolün kullanımı sonucu hemopoietik sistem üzerine olan yan etkileri en çok dikkat çekenidir, kloramfenikol insanlarda hemopoietik sistem üzerine 2 tip yan ekiye neden olur (159);

1- Yüksek dozda (50 mg/kg) ve uzun süre kloramfenikol alan kişilerin çoğunda görülen ve reversibl olan kemik iliği depresyonudur. Bu depresyon muhtemelen kemik iliğinde hematopoiesisle ilgili hücrelerin mitokondriyel ribozomlarında protein sentezinin bozulmasına bağlıdır ve bu etki sonucu anemi, retikulosit sayısında azalma, serum demir düzeyinde ve bağlama kapasitesinde artma görülür. Kemik iliğinin sitolojik incelemelerinde eritroid prekürsör hücrelerde vakuolizasyon (89), hücre sayılarında çoğalma ve myeloid/eritroid ögelerin oranında yükselme görülür. Yukarıda sayılan etkilerin şiddetinin kandaki serbest kloramfenikole uzun süre maruz kalmaya ve yüksek kloramfenikol plazma seviyesiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (90).

Memeli hücrelerinin genellikle kloramfenikolün biyokimyasal etkilerine dayanıklı olmasına rağmen tavşan ve insan kemik iliği hücrelerinin mitokondriaları ile yapılan çalışmalar, mitokondriyal solunumunu etkilemeksizin kloramfenikolün terapötik konsantrasyonları içinde (10-50 ug/ml) mitokondriyal protein sentezini inhibe ettiği bununda kloramfenikolden kaynaklanan dönüşümlü kemik iliği baskılanması için biyokimyasal bir temel oluşturduğu bildirilmiştir (154). Ayrıca mitokondriaların ultrastrüktürel yapısındaki değişikliklerle serumdaki serbest kloramfenikol arasında çok iyi bir korelasyon vardır . Bu etkilerin tümü ilaç kullanımına ara verildikten sonra düzelmektedir.

Kloramfenikolün p-NO<sub>2</sub> grubunun kloramfenikolün reversibl toksisitesinde saptayıcı bir faktör olmadığı, p-NO<sub>2</sub> grubunun yerine metilsülfonil grubunun getirilmesi ile elde edilen tiamfenikol ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda alınan

sonuçlardan sağlanmıştır. Tiamfenikolün de kloramfenikol gibi aynı şekilde reversibl kemik iliği baskılanması yapmaktadır (114,131). Kloramfenikol ve tiamfenikolün memeli hücrelerinin DNA ve protein sentezine karşılaştırılmalı etkisini araştıran bir çalışmada her iki bileşiminde güçlü bir mitokondriyal protein sentezi inhibitörü olduğu, DNA sentezi üzerine de kloramfenikolün aksine tiamfenikolün çok az bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (160).

Evcil hayvanlarda da bu tip dönüşümlü kemik iliği baskılanması meydana gelir. Ancak bu inhibisyonun oluşması için ilaç konsantrasyonunun yüksek olması gereklidir. Kediler bu tür toksisiteye oldukça duyarlıdır. Kedilere 25-40 mg/kg/gün kloramfenikol verildiğinde semptomların ortaya çıktığı fakat 60-120 mg/kg/gün verildiğinde ise semptomların çok daha ciddi olduğu belirtilmiştir (144).

Köpekler de bu tür yan etkiye duyarlıdır . Fakat kedilerin duyarlılığı köpeklere oranla oldukça fazladır. Bunun nedeninin kedilerde glukuronik asit konjugasyon sisteminin yetersizliği olduğu bildirilmiştir (153). Köpeklerde, kloramfenikolün terapötik konsantrasyonlar içinde kemik iliği mitokondriyalının ferroselataz (ferrochelataze) aktivitesini baskıladığı ve belirgin bir retikulositopeni'ye neden olduğu bildirilmiş ayrıca bu durumun ilaç kullanımı kesildiğinde dönüşümlü olduğu not edilmiştir (88).

Yenidoğan buzağılara 25 mg/kg İV olarak 1 ve 6 kez kloramfenikol verilmesiyle yapılan bir çalışmada kloramfenikolün yüksek kan konsantrasyonlarına rağmen kemik iliği aspiratlarındaki değişikliklerin yok denecek kadar az olduğu ya da hiçbir toksik etki göstermediği bildirilmiştir (34 , 35).

2- İnsanlarda, kloramfenikolün bu tür yan etkisi, oldukça az görülen, çoğunlukla öldürücü, ilacın dozuna bağlı olmayan, ilaç kullanımından haftalar ya da aylar sonra ortaya çıkabilen, dönüşümsüz kemik iliği aplazisi, kloramfenikolün en önemli ve üzerinde en çok durulan yan etkisidir.

İnsanlarda kloramfenikol kullanımı sonucu, 1964 yılına kadar geçen zaman içerisinde meydana gelen aplastik anemi ve pansitopeni olaylarının toplu olarak değerlendirilmesi sonucunda, bu tip toksisitenin ; kloramfenikolün son kullanımından itibaren 2 hafta ile 5 ay sonra ortaya çıktığı kullanılan dozlar ile ilişkili olmadığı pansitopeni ve aplastik bir kemik iliği ile karakterize ve çoğunlukla öldürücü olduğu bildirilmiştir (159).

Kloramfenikolün kullanıma girişinden 1-2 yıl sonra insanlarda kloramfenikolün kullanımını takiben çeşitli öldürücü aplastik anemi olayları rapor edilmiştir (39,128,129,150).

Bu tip yan etkinin, ortaya çıkma insidensinde çeşitli ülkelerde yapılmış epidemiyolojik çalışmalar sonucunda farklı rakamlar verilmiştir, çok nadir görülmesi nedeniyle insidensini tam olarak belirlemenin mümkün olmadığı belirtilmiştir (78)

Amerika Birleşik Devletlerinin California eyaletinde 18 aylık bir süreyi kapsayan çalışmada, aplastik anemiden ölmüş 60 hastanın 10 tanesinde önceden kloramfenikol kullanıldığı saptanmış ve insidensin kloramfenikol için 1/36.118-1/21.671 arasında değiştiği belirtilmiş, ayrıca kloramfenikolün neden olduğu aplastik anemi olaylarının diğer ajanların neden olduğu aplastik anemi olaylarından 13 kez daha fazla olduğu bildirilmiştir (138). Aynı yerde 1957-1961 yılları arasında kloramfenikol kullanılan şahıslarda aplastik anemi riskinin 1/60.000 veya daha fazla olabileceği saptanmıştır (127).

Hollandalı araştırmacıların dünyanın çeşitli ülkelerinde yayınlanan aplastik anemi vakalarının incelenmesi sonucunda insidensin 1/20.000 olduğu bildirilmiştir (109).

İşveçli araştırmacıların 1966-1970 yılları arasında yayınlanmış çalışmaların incelenmesiyle insidensin 1/19.000 olduğunu belirtmişlerdir (28).

Ülkemizde İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 1967-1975 yılları arasındaki 9 yıllık devrede 38 aplastik anemi olayının 5 tanesinin kloramfenikole bağlı olabileceği bildirilmiş fakat ülkemizdeki insidens için bir rakam verilmemiştir (5).

Bir çalışmada kloaramfenikolün neden olduğu 149 aplastik anemi olayının % 83'ünün oral,% 14'ünün parenteral, % 3'ünün de rektal kullanımdan sonra ortaya çıktığını, aplastik aneminin çoğunlukla oral yolla kullanımdan sonra meydana geldiği bildirilmiştir (109).

Kloramfenikolün göze lokal uygulanmasını takiben meydana gelen çeşitli aplastik anemi raporları vardır (2,36).

İtalya'da bir koyun çobanının, koyunların ayak çürüğü hastalığının tedavisi için % 10'luk sprey şeklinde bir kloramfenikol preparatını kullanırken deri ve solunum yoluyla kloramfenikolü aldığı ve bu nedenle de aplastik anemiden öldüğü bildirilmiştir (45). Yine aynı araştırmacıların tavşanlara aynı spreyi deri ve solunum yoluyla birkaç kez uygulanmasıyla tavşanlarda ciddi kemik iliği hipoplazisi görüldüğü belirtilmiştir.

Kloramfenikol kullanımına bağlı olan bu tür kemik iliği baskılanmasının mekanizması tam olarak açıklanamamakla beraber çeşitli hipotezler vardır :

Kloramfenikolden meydana geldiği düşünülen aplastik anemili bir hastanın tedavi edildikten sonra kemik iliği alınarak yapılan bir çalışmada, ilik hücrelerinde nükleik asit sentezinin 50 ug/ml' lik kloramfenikol konsantrasyonunda inhibe edildiği, sağlıklı insanların kemik iliği hücrelerinin nükleik asit sentezinin ise ancak 100 ug/ml'lik konsantrasyonlarda inhibe edildiği bulunmuştur. Bunun nedenlerinin de a) kloramfenikolün neden olduğu aplastik anemili hastaların ilacı atma yeteneklerinin olmaması dolayısıyla yüksek konsantrasyonların meydana gelmesi, b) kloramfenikole karşı aşırı duyarlılığı meydana getirdiği düşünülen genetik faktörlerin olabileceği bildirilmiştir (154).

Kloramfenikolle tedavi edilmiş identikal ikizlerde gelişen aplastik anemi olayının, aplastik anemide bazı genetik faktörlerin rol oynayabilme olasılığını güçlendirdiği vurgulanmıştır (95).

<sup>14</sup>C-Kloramfenikol ve onun metil sülfonil analogu olan tiamfenikolle yapılan çalışmalarda alınan kan numunelerinde biyotransformasyona uğramamış kloramfenikolün G.C. ile ayrıca total radyoaktivite ölçümü ile saptanan konsantrasyonların karşılaştırılması sonucunda G.C. ile elde edilen sonuçların radyoaktivite ölçümüyle elde edilenden belirgin olarak düşük olmasının yanısıra plazmada radyoaktivitenin 72 saat sürdüğü belirtilmiştir. Aradaki bu farkın saptanamayan bir metabolite ait olabileceği ve bu metabolitin aplastik anemiye neden olabileceği vurgulanmıştır (23).

Kloramfenikol molekülündeki p-NO<sub>2</sub> grubunun, tiamfenikol ve para durumundaki diğer birçok kloramfenikol türevi ile yapılan çalışmalarda insan lenfoblastoid hücrelerinde DNA sentezinin inhibisyonu için gerekli olduğu rapor edilmiş ancak, aplastik anemide bu grubun rol oynayamayacağı belirtilmiştir (87). Deoksiribonükleik asit (DNA) sentezinin inhibisyonunun p-NO<sub>2</sub> grubu içeren bileşiklerin, kloramfenikolde bu grubu içerdiği için, memeli hücrelerinde DNA tek sarmal bağını kırmasından dolayı olabileceği kaydedilmiştir (55).

Kloramfenikolün nitroindirgenmeye uğramış metabolitleri ile yapılan *in vivo* çalışmalarda, bu metabolitlerin immunopoietik prekürsör hücrelere, myelopoietik prekürsör hücrelerden daha toksik olduğu ayrıca immunopoietik prekürsör hücrelerin bu metabolitlere daha duyarlı oldukları belirtilerek çalışma sonucunda aplastik anemiye, bu hastalık meydana gelen kişilerde bu metabolitler tarafından meydana getirilen immunolojik bir olayın neden olabileceği belirtilerek, bu tür yan etkiye, doza bağlı olmaması, dönüşümsüz olması ve aralıklı tedavilerle daha sık ortaya çıkması gibi nedenlerden dolayı immunolojik bir mekanizmanın rol oynayabileceği bildirilmiştir (108).



Yapılan bir incelemede aplastik aneminin olası nedenlerinin ya immün bir bozukluk ve ilacın DNA sentezini değiştirmesi ya da reaktif bir metabolit olabileceği düşünülmüştür (53).

Kloramfenikolün nitroindirgenme ürünü olan nitrosokloramfenikol'ün in vitro olarak kemik iliğindeki DNA sentezi üzerine kloramfenikolden daha toksik olduğu ve aynı zamanda reaksiyonun irreverzibl (dönüşümsüz) olduğu gösterilmiştir (156).

1981 yılından sonra yapılan çalışmalarda nitrosokloramfenikolün bazı özelliklerinin tanımlanmasıyla, bu indirgenme ürününün aplastik anemiye neden olamayacağı belirtilmiştir (73,158). Bunun sebepleri arasında 1) nitrosokloramfenikolün ancak 1978 yılında sentetik olarak elde edilmesi, 2) henüz kloramfenikolün bir metaboliti olarak rapor edilmemesi, 3) stabil olmayan yapısı nedeniyle insan kanında çok çabuk bir şekilde (2 saniye) elimine edilmesi, 4) yapılan deneylerde nitrosokloramfenikolün ancak çok yüksek yoğunluklarda karaciğeri geçebilmesi, 5) açıklanan bu özellikler nedeniyle bu ürünün kemik iliğine ulaşamaması gösterilmiştir. Ancak bu metabolitin kemik iliğinde oluşma olasılığı üzerinde durulmuş fakat şimdiye kadar böyle bir durumun rapor edilmemesi nedeniyle kloramfenikolün başka bir metabolitinin aplastik anemiye neden olduğu düşünülmüştür (11, 72,86).

İnsanlarda kloramfenikolün metabolik biyotransformasyonunun karaciğerde ve barsaklardaki bakteriler tarafından sindirim sisteminde gerçekleştiği düşünülerek, kloramfenikolün mikrobiyal indirgenmeye uğramış metabolitleri ile çalışılmıştır. İntestinal bakteriler tarafından meydana getirildiği bilinen kloramfenikol metabolitleri ile yapılan çalışmalarda, bunlardan biri olan dehidro-kloramfenikolün oldukça düşük konsantrasyonlarda ( $10^{-4}$  M), nitrosokloramfenikol gibi insan kemik iliği hücrelerinin DNA'sındaki tek sarmal bağının kırılmasına sebep olduğu gösterilmiştir. Nitrosokloramfenikolün aksine dehidrokloramfenikolün kemik iliğine ulaşacak kadar stabil olması ve bu bileşiğin kemik iliğinde tespit edilmesinin aplastik anemiye neden olabileceği fikrini destekler nitelikte olduğu belirtilmiş ve yine bu bileşiğin predispoze

şahıslarda eninde sonunda stem hücre hasarı oluşturmaması, aplastik anemi ve lökemi ile sonuçlanacağı fikri son olarak kabul edilmiştir (86).

Tavşanlara, sıgır gama globulinine bağlanmış olan indirgenmiş kloramfenikol'ün verilmesiyle kloramfenikole karşı özel bir antikor üretildiği gösterilmiştir (67). Kloramfenikol insan ve tavşanlarda antijenik bir madde olmadığı için anti-kloramfenikol antikorları bir klinik problem olarak kabul edilmemektedir (68). Anti-kloramfenikol antikorlarını doğal olarak meydana getiren iki ciddi aplastik anemili hastada antibiyotik aktivite ile anti-kloramfenikol antikorlarının etkileşmesini test etmenin, hastalık çok ileri safhada olduğu için mümkün olmadığı bildirilmiştir. Ayrıca, kloramfenikolün neden olduğu aplastik anemili iki hastanın serumlarında anti-kloramfenikol antikorlarının varlığını kesin olarak açıklayan bir rapor olmadığı bildirilmiştir (155).

Hayvanlarda kloramfenikolün neden olduğu irreverzibl kemik iliği aplazisi olaylarına rastlanmamıştır. Yapılan deneysel çalışmalarda bu başarılammıştır (16). Ancak tek bir çalışmada , sığırlara 10 gün boyunca 100 mg/kg dozda kloramfenikolün oral ve İV verilmesiyle son verilişten yaklaşık 6 hafta sonra hayvanlar sakrifiye edilmiş ve oral kloramfenikol verilen hayvanların kemik ilikleri incelenmiştir. Bu inceleme sonucunda tüm hayvanlarda kısmen ya da komple kemik iliği aplazisi saptandığı açıklanmıştır. Kloramfenikolün İV verilmesiyle sağlanan aplazi sonuçlarının oral verilimle sağlanandan çok daha az olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada periferel kanın incelenmesi sonucu eritroit prekürsör hücrelerde az miktarda stoplazmik vakuolizasyon tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda serumda kloramfenikol konsantrasyonunun, İV verilimle, oral verilimin ancak 1/40'ına eşit yoğunluklar elde edilmiş ve kloramfenikolün ya doğrudan kemik iliğine toksik etkisinden ya da rumen mikroorganizmaları tarafından toksik bir araürüne çevrilerek insan ve hayvanlarda meydana gelen aplastik anemiye neden olabileceği belirtilmiştir (81).

**Gri Bebek Sendromu** : Kloramfenikolün 1 haftalıktan küçük bebeklere yüksek dozlarda (100 mg/kg) verilmesiyle oluşan, başlangıçta kusma, anoreksi, abdominal şişkinlik, siyanoz, yeşilimsi renkte dışkı, uyuşukluk ve derinin gri renğiyle karakterize bir semptomlar kompleksi olarak tanımlanmaktadır (14). İlk semptomların ortaya çıkmasından sonraki 2 gün içerisinde bu semptomları vazomotor kollaps takip eder ve genellikle ölümlü sonuçlanır. Bu yan etkiye neden olarak, bu yaş grubu içerisindeki bebeklerde kloramfenikolün biyotransformasyonunda önemli olan glukuronik asit sentez mekanizmasının yeterince gelişmemesi ve ilacın glukuronik asitle konjugasyona girememesi dolayısıyla saf kloramfenikolün serumda artan yoğunluğu gösterilmektedir (14,32,78,). Bunun yanısıra atılım fonksiyonlarının tam gelişmemesi ki kloramfenikol erginlerde glomerüler filtrasyonla atılırken yeni doğanlarda glomerüler filtrasyon oranı erginlerinkinin % 30-50'si olması nedeniyle kloramfenikol atılımının azalacağı da bildirilmiştir (147). Kloramfenikolün bebeklerde gerekli olmadığı sürece kesinlikle kullanılmaması eğer gerekiyorsa veriliş yoluna göre 25-50 mg/kg dozda kullanılması ayrıca kan konsantrasyonunun ölçülmesi gerektiği bildirilmiştir (82).

Kloramfenikolün çok sık olmamakla beraber sidirim sistemi bozuklukları, allerjik reaksiyonlar, geniş spektrumlu bir antibiyotik olduğu için süper enfeksiyonlara neden olabileceği belirtilmiştir (78).

Kloramfenikolün aşırı dozlarını uzun süre alan hastaların optik sinirinde nöropati geliştiği ve dikkatle izlenmez ise körlükle sonuçlanabileceği kaydedilmiştir (38,60,76).

Kedilerde 120 mg/kg/günlük oral kloramfenikolün 14 gün boyunca verilmesiyle, merkezi sinir sistemi depresyonu, dehidratasyon, ağırlık kaybı, ishal, kusma görülmüş ve kan tablosu incelendiğinde lenfositlerin, myeloid ve eritroid prekürsör hücrelerin vakuolizasyonu, eritroid hücrelerin olgunlaşmasında durgunluk tespit edilmiştir. Dozun yarısı 21 gün verildiğinde ise aynı semptomların daha hafif görüldüğü bildirilmiştir. Kedilerin kloramfenikole köpeklerden daha duyarlı oldukları belirtilerek sebebinin glukuronik asit konjugasyon sisteminin gelişmemesi gösterilmiştir (141,143,153).

Yeni doğan buzağılara 100 mg/kg dozda İV olarak kloramfenikolün 17 günde 8 kez verilmesiyle ciddi gastrointestinal bozukluklar ve diare, ayrıca hızlı İV enjeksiyonu takiben ciddi hipotansiyon görülmüş, hematolojik bozuklukların önemli olmadığı belirtilmiştir (38). Aynı bir çalışmada da 90 mg/kg kloramfenikolün sığırlara İV verilimiyle 2 sığırdan kardiyovasküler şok görüldüğü ve bunlardan birinin öldüğü not edilmiştir (27).

Sığırlara 6 hafta boyunca 60 mg/kg dozda kloramfenikolün İM verilmesiyle kontrol grubuna göre ağırlık kazancının azaldığı belirtilmiştir (93).

Domuzlarda 10 mg/kg günlük kloramfenikolün salmonella enfeksiyonunun tedavisi için kullanıldığı bir durumda kloramfenikole aşırı duyarlılık bildirilmiş ilaç kullanımı kesildiğinde durumun düzeldiği belirtilmiştir (130).

## 2.8.- Kloramfenikolün İmmun Sistem Üzerine Etkisi :

Kloramfenikolün deney hayvanlarında çok büyük dozlarda kullanılması sonucu antikor üretiminin primer cevabını bloke ettiği bulunmuş ve buna ek olarak kloramfenikolün sekonder immün yanıt üzerine etkisinin primer immün yanıt üzerine etkisinden daha belirgin olduğu bildirilmiştir (135).

Kloramfenikolün tavşanlarda yapılan deri transplantasyonunun yaşama süresini uzatığı ve bu etkinin kloramfenikol analoglarından 4-6 kez daha güçlü olduğu bulunmuştur (145), ancak bu etkinin oluşabilmesi için klinikte kullanılan dozlardan daha yüksek dozlar gereklidir (135).

Önceden immunize edilmiş tavşanlardan alınan lenf yumruları sekonder yanıt meydana getirmek için in vitro olarak stimüle edildiğinde , ortamda 15-20 günlük periyot süresince 50 ug/ml'lik kloramfenikolün sürekli varlığının, sekonder immün yanıtın tamamına yakını baskılandığı bulunmuştur (7,145).

Kloramfenikol, primer immün cevaba daha önceden sahip olan bir subjeye bir antijenin verilmesini takiben kanda antikorların tekrar ve hızlı bir şekilde görünmesi

olarak tanımlanan anamnestic yanıtı inhibe eder. Bu etki, kloramfenikolün önceden tetanoz toksini ile immunize edilmiş ve bu toksine tekrar maruz kalmış kişilerde verilen 2. toksine karşı antikor oluşumunu inhibe etmesiyle gösterilmiştir (43,122).

Kloramfenikolün immunosüpresif etkisinin, hem invitro hemde invivo olarak, antijenik stimülasyona cevap vermede, şekillenmiş mRNA'nın fonksiyonuyla etkileşmesi sonucu oluştuğu kaydedilmiştir (16).

Bu bilgiler dikkate alınarak kloramfenikol aktif immunizan (aşı) araçlarla bir arada kullanılmamalıdır (78).

Kloramfenikol, gentamisin ve tetrasiklin'in galaktofor uygulanmasından sonra alınan sütlerde yapılan incelemelerde, kloramfenikolün somatik hücre sayısını belirgin bir şekilde arttırdığı polimorfonükleer lökositlerin (PMNL) morfolojisinde değişimlere neden olduğu belirtilerek, bazı antibiyotiklerin fagositik fonksiyonları inhibe etmesi dolayısıyla, mikroorganizmalara karşı vücudun savunma mekanizmasını bozabileceği bildirilmiştir (104).

Kloramfenikol, tiamfenikol ve florfenikol ile aynı şekilde yapılan başka bir çalışmada ise kloramfenikolün nötrofillerin solunum aktivitesini tamamen bloke ettiği ve fagositozis'i baskıladığı bulunmuştur. Tiamfenikol ve florfenikolün kloramfenikole benzer antimikrobiyel aktivitesi nedeniyle bu 2 antibiyotiğin kullanımının doğru olacağı bildirilmiştir (103).

## 2.9.-Diğer İlaçlarla Etkileşme :

Kloramfenikol tedavi dozlarında karaciğerde mikrozomal enzimleri inhibe etmesi nedeniyle karaciğer mikrozomal enzimleri tarafından metabolize edilen bazı ilaçların (bishidroksikumarin, fenitoin, tolbutamid, varfarin) metabolizması kloramfenikol tarafından inhibe edilir ve bu ilaçların toksisitesi arttırılabilir (78).

Fenitoin ve barbütatlar, karaciğer mikrozomal enzimlerini indükleyerek kloramfenikolün metabolizmasını artırır ve kloramfenikolün kan düzeyini düşürürler (71,78,110).

Fenobarbital anestezisinden önce kloramfenikol verilmesinin uyuma zamanını belirgin olarak uzattığı belirtilmiştir. Kloramfenikol, fenilbutazon ve rifampin'in birlikte kullanılması sonucu, kloramfenikolün önceden verilmesinin fenilbutazonun atılım oranında belirgin bir artışa, rifampin'in atılım oranında ise belirgin bir düşmeye neden olduğu kaydedilmiştir (33). Bu nedenle yukarıda sayılan ilaçlar kloramfenikol ile birlikte kullanılmamalıdır.

## **2.10.- Rezidü Çalışmaları :**

### **2.10.1.-Yumurta'da Rezidü Çalışmaları :**

Kloramfenikolün 500 ppm miktarda yem ile 9 gün boyunca verilmesiyle toplanan yumurtalarda radyoimmünassay ile yapılan analizlerde 1.ve 9. günlerde sırasıyla 50 ve 2416 ppb rezidü tespit edilmiştir. Antibiyotik verilimi kesildikten sonraki 11. günde kloramfenikolün saptama limitinin altına ( 1 ppb) düştüğü bildirilmiştir (75).

Kloramfenikolün 500 mg/L olmak üzere içme suyu ile 10 gün verilmesiyle, son ilaçlı suyun veriliminden sonra toplanan yumurtaların sarılarında radyoimmünassay yöntemi ile yapılan analizler sonucunda 1.günde 1200-1550 ppb, 5.günde 800-1600 ppb, 9.günde 565-1150 ppb, 16.günde 4.6-6 ppb kloramfenikol rezidüsü saptanmıştır. Yine aynı çalışmada, tavukların yumurtlamaya başlamasından 14 gün önce kloramfenikol verilmesiyle yumurtlamaya başladıktan sonra yumurtalarda rezidü saptanamayacağı kaydedilmiştir (120).

Kloramfenikolün 14 gün boyunca yemle 400 ppm dozda verilmesinin hemen ardından alınan yumurtalarda 1.gün 0.2-0.5 ppm kloramfenikol rezidüsü saptanmıştır. Yapılan analizlerde en yüksek kloramfenikol konsantrasyonu 900 ppb olarak

açıklanarak, kloramfenikolün yumurta sarısında yumurta beyazından yaklaşık olarak her durumda 3-4 kez daha fazla konsantrasyonlarda bulunduğu kaydedilmiştir (108).

Kloramfenikolün tavukların içme sularına 500 ppm 7 gün ve 1000 ppm 5 gün süreyle verilmesini takiben 1 gün sonra alınan yumurtalarda kloramfenikol yoğunluğunun 137-1040 ppb olduğu ve 6 gün sonra alınan yumurtalarda maksimum kloramfenikol yoğunluğu 500 ppm verilen grupta 1617 ppb, 1000 ppm verilen grupta 2331 ppb olarak tespit edilmiştir. Bu çalışma sonunda ilaç verilimi durdurulduktan en az 18-20 gün sonra, rezidülerin 1 ppb'nin altına düştüğü için, yumurtaların insan kullanımına sunulması gerektiği kaydedilmiştir (117).

Tavukların içme sularına 40 ppm kloramfenikol 5 gün süreyle verilmesinin ardından yumurtaların sarı ve beyazında yapılan analizlerde, ilacın veriliminin durdurulmasını takip eden 80.saatte sarıda 0.33 ppm ve beyazda 0.17 ppm kloramfenikol rezidüsü saptanmıştır (24).

Kloramfenikolün 500 mg/kg düzeyde yeme katılarak 5 gün verilmesinin ardından 1 gün sonradan başlayarak yumurtada artan miktarlarda (58-197 ppb) kloramfenikol tespit edildiği ve ilacın kesilmesini takip eden 5. günde rezidünün 7.25 ppm olduğu ayrıca yumurtalarda 30.günden itibaren rezidü tespit edilemediği bildirilmiştir. Aynı çalışmada kloramfenikolün 20 ve 40 mg/kg yeme katılarak verilmesiyle elde edilen yumurtalarda, 20 ppm'lik kloramfenikol dozunda , rezidü tespit edilemediği, 40 ppm'lik kloramfenikol dozunda ise yumurtalarda ortalama olarak 5-20 ppb rezidü tespit edildiği kaydedilmiştir (4).

### 2.10.3.- Süt'te Rezidü Çalışmaları :

Mastitisli ineklerin bir grubuna 10 mg/kg dozda kloramfenikolün İM olarak, başka bir grubuna her meme lobuna 2 g meme içi olarak, diğer bir gruba 10 mg/kg İ.M. olarak ve her meme lobuna 1 g kloramfenikol verilmesiyle belirli saatlerde toplanan sütlerde yapılan analizlerde saptanan kloramfenikol rezidülerinin (mg/L olarak sonuçları şöyledir ;

	1.saatte	8.saatte	24.saat	32.saat
1. 10 mg/kg (İM)	24	0.096	-	-
2. Meme içi 2 g	488	0.2	0.019	-
3. 10 mg/kg İM + 1 g Meme İçi	784	0.5	0.2	0.038

Çalışma sonucunda 1.grupta 8.saatten, 2.grupta 24.saatten, 3.grupta 32.saatten itibaren alınan sütlerde kloramfenikol rezidüsü saptanamadığı bildirilmiştir (3).

Sağlıklı ve mastitisli ineklere 30 mg/kg kloramfenikolün İM olarak 24 saat arayla 2 kez verilmesinin ardından alınan sütlerde yapılan çalışmalarda 24.saatte alınan sütlerde şu sonuçlar alınmıştır (ug/ml) ;

	Sağlıklı İnekler	Mastitisli İnekler	
		Yangılı Meme	Sağlam Meme
24.saat	3.77	4.23	3.39
48.saat	6.32	7.42	6.01

Mastitisli hayvanların yangılı meme loblarından alınan sütlerde kloramfenikol yoğunluğunun fazla olmasının meme bezi membran geçirgenliğinin fazla olmasına bağlı olabileceği kaydedilmiştir (105).

### 2.10.3.- Et'te Rezidü Çalışmaları :

9-11 haftalık buzağılara, 13.6 mg/kg kloramfenikolün İV ve İM, 6.8 mg/kg İV olarak 24 saat arayla 2 defa verilmesini takiben 2-72 saat aralıklarla kesildikten sonra kas numunelerinde yapılan analizlerde şu sonuçlar alınmıştır ;



## Kloramfenikol konsantrasyonları (ppm)

	Saat	Enjeksiyon Bölgesi	Omuz Bölgesi	Gluteal Bölge
6.8 mg/kg/gün (İM)	2	918	3.60	2.67
	6	296	5.22	3.26
	24	408	0.203	0.382
	48	13.2	0.185	0.162
	72	19.4	0.360	7.68
13.6 mg/kg/gün (İM)	2	3390	3.36	7.18
	4	756	8.85	6.64
	24	444	7.53	8.67
	48	270	0.205	0.335
	72	1.77	0.219	0.449
13.6 mg/kg/gün (İV)	2	75.9	68.2	74.4
	4	33.6	33.6	32.6
	24	0.290	0.174	0.371
	48	0.122	0.371	0.079

Çalışmanın sonucunda, kloramfenikolün İM olarak verilmesiyle enjeksiyon bölgesindeki kloramfenikol konsantrasyonunun, aynı dozun İV olarak uygulanmasından ortalama 40 kat fazla olması nedeniyle bu bölgenin kloramfenikol rezervuarı gibi davrandığı kaydedilmiştir (52).

Piliçlere 40 ppm kloramfenikolün içme suyu ile 5 gün verilmesinin ardından kesilen hayvanların böbreklerinde 0.5 ppm'in üzerinde, deri, iç yağı ve kaslarda 0.2 ppm düzeyinde rezidü saptanmış 24 saat sonra kesilenlerde ise böbrekler haricinde tüm dokularda rezidü saptanamadığı bildirilmiştir (24).

### 2.11.- Kloramfenikolün Hayvansal Dokularda Aranma Yöntemleri :

Kloramfenikolün dokularda saptanması için önce ekstraksiyona tabi tutulması daha sonra çok iyi bir temizlenme safhasından geçirilerek analiz edilmesi gerekmektedir. Hayvansal dokulardaki kloramfenikol rezidüleri için insanlara Acceptable Daily Intake (ADI), yani günlük kabul edilebilir bir miktar verilememesi nedeniyle en duyarlı metotların geliştirilmesine çalışılmıştır.

Kloramfenikol hayvansal dokularda saptanması için birçok metot bildirilmiştir. En yoğun kullanılan analiz metotları hakkında bilgiler verilmiştir.

### 2.11.1.- Mikrobiyolojik yöntemler :

Temel prensibi, bir mikroorganizmanın gelişmesinin inhibisyonuna dayanan ve test mikroorganizması olarak *Shigella sonnei* (59), *Sarcina lutea* (ATTC 9341)(1,126) gibi mikroorganizmaların kullanılmasıyla yapılan birçok mikrobiyolojik metot vardır. Ancak mikrobiyolojik metodların duyarlılığının 1-10 ppm arasında olması ve diğer antibiyotikler ile etkileşiminin mümkün olması nedeniyle, bu metotla eğer antibiyotiğin tabiatı bilinmiyorsa antibiyotiğin identifikasyonunun yapılamaması gibi dezavantajları vardır (92).

Mikrobiyolojik metodlar ile İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K.)'nin birlikte uygulanması olarak tanımlanan İ.T.K. + biyotografi yöntemiyle, rezidünün İ.T.K.'de geliştirilmeden önce bir test mikroorganizması içeren agar plakası ile yüz yüze teması sonucu agar plakası üzerinde oluşan inhibisyon zonlarından yararlanılarak antibiyotiğin konsantrasyonunun saptanması, ayrıca İ.T.K.'de antibiyotiğin Rf değerinden de identifikasyonu yapılabilmektedir (26,80,116). Aynı mekanizmayla kağıt kromatografisi yöntemiyle, test mikroorganizması olarak *Bacillus subtilis* kullanılarak da kloramfenikolün saptanabileceği bildirilmiştir (22).

### 2.11.2.- Optik Yöntemler :

#### 2.11.2.1.-Kolorimetrik Metot :

Renkli çözeltilerin ışığı absorbe etmelerinin ölçümüne dayanan bu metot ile, biyolojik sıvı ve dokularda mikrobiyolojik olarak aktif kloramfenikolün yanısıra kloramfenikolün nitro grupları içeren inaktif metabolitleri ve aromatik nitro bileşiklerde aranabilmektedir. Spesifik bir metot değildir ve duyarlılığı 100 ppb civarındadır (21,59,92).

### 2.11.2.2.- Fluorometrik Yöntem :

Kloramfenikolün nitro grubunun HCl bulunan bir ortamda indirgenerek, aromatik nitro grubunun, pH 4.3-5'de, fluorescamin ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan floresans'ın okunmasıyla çeşitli vucut sıvılarında ve dokularında kloramfenikol yoğunlukları saptanabilir. Bu metodun duyarlılığı plazma için 60 ppb, kas için 100 ppb, karaciğer ve safra için 600 ppb olarak belirtilmiştir (37).

### 2.11.3.- Kromatografik yöntemler :

#### 2.11.3.1.- İnce Tabaka Kromatografisi (İ.T.K):

Hayvansal dokularda çok iyi bir ekstraksiyon ve iyi bir saflaştırma ile bu yöntemle iyi sonuçlar alınabileceği bildirilmiştir. Plakaya uygulanan numunelerin, kalay klorür ve fluorescamine sprey çözeltileri ile muamelesi sonucu oluşan sarı floresansın ölçümü ile numunedeki kloramfenikol rezidüleri saptanabilir. Açıklanan bu reaksiyonun oldukça spesifik olduğu ve, saptama limitinin ise 50 ppb olduğu kaydedilmiştir Bu çalışmada, kloramfenikol verilen domuzların çeşitli dokularında ve tavukların yumurtalarında yüksek basınçlı likit ve ince tabaka kromatografi yöntemleri ile yapılan rezidü çalışmaları sonucunda bu yöntemin kloramfenikol rezidülerinin saptanması için kullanılabilceği bildirilmiştir (74).

Süt, et ve yumurtalarda kloramfenikol rezidülerinin saptanması için, silica gel G kaplı plakalar üzerine spotlanan numunelerin önce kalay klorür ve sonra p-dimetilaminobenzaldehit çözeltilerinin spreyi ile ortaya çıkan sarı renkli spotlar ile 10-100 ppb'lik konsantrasyonlarda rezidü saptanabileceği bildirilmiştir (8).

#### 2.11.3.2.-Gas-Likit Kromatografi (G.C.) :

Hayvansal dokularda bu yöntemle kloramfenikol rezidülerinin aranması için bir çok yöntem vardır. Gaz-Likit kromatografide kloramfenikol rezidülerinin aranabilmesi için, numuneden ekstraksiyondan sonra kloramfenikolün GC'de kullanılacak uçucu bir bileşik sağlamak için türevlendirilmesi gerekmektedir. Aşağıda belirtilen türevlendirme

solusyonları ile kloramfenikol muamele edildiğinde kloramfenikolün ditrimethylsilyether, diester derivatı elde edilir ki bunlarda oldukça uçucu bir bileşiklerdir (137). Kloramfenikol molekülüne elektroforetik grup veya gruplarının eklenmesi Electron Capture Detector (ECD) ile saptama yapıyorsa saptama limitini düşürebilir (144). Türevlendirme (Silylatin) solusyonu olarak içerisine heksamethylsilazane ,chlorotrimethylsilane ve piridin (3+1+9 birim oranında hazırlanarak) karışımı veya heptafluoro-butryic anhidride (HFBA), N,O-bis(trimethylsilyl)acetamide (BSA) ve trimethylsilylN,N-dimethylcarbamate (DMCTMS) solusyonları kullanılır (13,96,97,137).

Dedektör olarak Elektron Capture Dedector (ECD) (10,97,137) ve Flame Ionization Detector (FID) (84,96) kullanılarak yapılan GC çalışmalarında, kloramfenikol bu ajanlar ile sililasyon reaksiyonuna uğratarak aranabilmektedir.

Sütlerde kloramfenikol rezidülerinin aranması için GC'ye adapte edilen bir çalışmada, heptafluorobutyric anhydride ile sililasyon sonucu çok düşük konsantrasyonlarda rezidülerin saptanabileceği açıklanmış ve saptama limitinin 50 ppb olduğu kaydedilmiştir (137).

Hayvansal dokularda ECD kullanılarak yapılan GC çalışmalarında dokularda iyi bir ekstraksiyon ve temizleme ile 5 ppb veya daha az miktarda kloramfenikol rezidülerinin saptanmasının mümkün olacağı bildirilmiştir. Bu çalışmada C18 (Octadecyl) mini kolonu kullanılarak analizi olumsuz yönde etkileyen birçok doku komponentinin uzaklaştırılmasıyla duyarlılığın daha da arttırılabileceği kaydedilmiştir (97).

Süt, et ve yumurtada kloramfenikol rezidülerinin GC ve Radyoimmunoassay (RIA) metotları kullanılarak yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada, C18 mini kolonu kullanılarak çok etkin bir temizleme ile saptama limiti GC için 1 ppb'ye düşürülmüştür. RIA ile ise bu limitin 0.2 ppb olduğu kaydedilmiştir (10).

### 2.11.3.3.- Yüksek Basıncılı Likit Kromatografi (High Pressure Liquid Chromatography -HPLC-) :

Bu metot ile hayvansal doku ve çeşitli vucut sıvılarında kloramfenikol rezidülerinin varlığı ortaya konabilmektedir. Bu metodun duyarlılığı GC'den biraz düşük olmasına rağmen numunenin hazırlanması kısa sürdüğü ve spesifik olduğu için önerilmektedir (92). Ancak metodun performansının uzunluğundan daha önemli olduğu kaydedilerek bunun göz önünde bulundurulması gerektiği bildirilmiştir (6).

Yumurta, et, süt ve balık etlerine HPLC metodu kullanılarak saptama limitinin 2-10 ppb olduğu ve basit çalışma prosedürleri ile bu metodun rutin analizler için uygun olduğu belirtilmiştir (18).

Diğer bir HPLC metodu ile yumurtalarda iyi bir ekstraksiyon ve temizleme işleminden sonra saptama limiti 1 ppb olarak açıklanmıştır (108).

Hayvansal dokularda kloramfenikol rezidülerinin, HPLC ile tespit edilmesinden sonra ve GC-MS (Mass Spektrofotometri) ile elde edilen verilerin doğruluğunun araştırıldığı bir çalışmada, numuneden % 75 geri kazanma ve 10 ppb düzeyinde bir saptama limiti ile HPLC metodunun rutin olarak kullanılabilceği bildirilmiştir. Ayrıca GC ile saptama limitinin 5 ppb kadar düşük seviyelerdeki rezidülerin saptanabileceği kaydedilmiştir (25).

Karaciğer, böbrek ve kas numunelerinde HPLC metoduyla yapılan bir çalışmada böbrek ve karaciğer dokularının ekstraksiyonundan önce B-glukuronidaz enzimi ile 37°de 90 dakika inkube edilerek kloramfenikolün, glukuronid metaboliti şeklindeki inaktif bileşiğin bu enzimle parçalanarak serbest kloramfenikolün açığa çıkartılması ve saptanması sağlanmıştır (74).

Sığır karaciğerinde kloramfenikol rezidülerinin HPLC metoduyla arandığı bir çalışmada, karaciğerde p-450 sitokrom aktivitesinin in vitro olarak devam ettiği düşünüldükçe bu organda kloramfenikolün aranması sırasında çeşitli problemler ile karşılaşıldığı belirtilmiştir. İn vitro olarak bu aktivitenin güçlü bir inhibitörü olan

piperonil butokit'in karaciğer homojenatlarına ilavesiyle elde edilen kloramfenikol yoğunluğu 12.1 ppb olarak bulunurken bu madde eklenmeyen aynı numunelerde 6.6 ppb kloramfenikol bulunmuştur. Analizlerden önce karaciğer numunelerinin % 2.5 oranında piperonil butokitle muamele edilmesi ve soğutulması ile in vitro p-450 sitokrom metabolizmasından doğan kloramfenikol kaybının en aza indirilebileceği kaydedilmiştir (106).

#### 2.11.4.- İmmunokimyasal Metotlar :

Kloramfenikol rezidülerinin aranması için saptama limiti 0.1-1 ppb arasında değişen çeşitli immunokimyasal metotlar son yıllarda yayınlanmıştır. İmmunokimyasal metotlardan ELISA (Enzyme-Linked İmmunosorbent Assay)(139 140), Radyoimmunoassay (RIA), Enzyme Immunoassay metodları (83,100) ile kloramfenikol rezidülerinin aranması mümkün olmasına rağmen spesifik antikor hazırlanması gerektiği için rutin analizlerde kullanılmasının güç olabileceği bildirilmiştir (92).

### 3- MATERYAL ve METOT:

#### 3.1.- MATERYAL:

Çalışmamızda deney hayvanı olarak 30 adet Hyline ırkı yumurta tavuğu kullanıldı. Tavuklar 30 haftalıkken alındı ve deneyin başlangıcına kadar sağlıklı bakım ve beslenme koşullarında kümese adaptasyonları sağlandı. Deney başlangıcına kadar geçen süre içerisinde kloramfenikol kullanılmadı. Tavuklar 54 haftalık olduğunda deneye başlandı ve 15'er adetlik 2 gruba ayrıldı.

Kloramfenikol, Top-Kim ilaç firmasından % 98,88 saflıkta temin edildi. Standart kloramfenikol ile GC'de karşılaştırmalı olarak analiz edilerek verilen bilgi doğrulandı.

1.gruba, 75.9 mg kloramfenikol 1 litre içme suyuna hesap edilerek ,

2.gruba, 151.8 mg kloramfenikol 1 litre içme suyuna hesap edilerek katıldı. Kloramfenikol'ün önce yaklaşık 0.5 L suda manyetik karıştırıcıda tamamen erimesi sağlanarak 1 litreye tamamlandı. İlaçlı su 7 gün boyunca her gün taze olarak hazırlanarak tavuklara verildi ve 7. günün bitiminde sistemdeki ilaçlı su tamamen boşaltılarak yerine normal su verilmeye başlandı.

İlaçlı su verilmeye başlanmasından itibaren 30 gün boyunca elde edilen yumurtalar numaralanarak analize kadar marketlerde muhafaza koşulları olan normal oda ısısında muhafaza edildi. Analiz edilecek yumurtaların seçimi, ortalama olarak günde her gruptan 8-10 yumurtadan rastgele 6 adedinin seçilmesiyle yapıldı.

İstanbul'da satışa sunulan yumurtalardaki kloramfenikol rezidülerinin tespiti için analiz edilecek yumurtaların seçiminde en yoğun alışveriş merkezleri tercih edildi. İstanbul'un Avrupa ve Asya yakasında bulunan Migros, Gima gibi büyük marketlerle, oldukça yaygın olan daimi halk pazarlarından en az 6 adet olmak üzere rastgele yumurtalar satın alındı. Analiz için bunlardan rastgele 2 adedi seçildi ve bu yumurtalar birlikte homojenize edilerek analiz için hazırlandı. Bazı büyük marketlerden numune alınması çeşitli zamanlara yayılarak farklı zamanlarda üretilen yumurtalardaki rezidüleri araştırılmaya çalışılmıştır. 56 marketten alınan yumurta sayısı toplam 324 adettir.

**Alet ve Malzemeler:****Alet:**

Packard marka, (Model 427) , Ni<sup>(63)</sup> Electron Capture Detectör'lü GC cihazı

DuPont marka kaydedici

% 3 OV-101 Gas-Chrom Q, 0.2 mm iç çaplı 2 m uzunluğunda cam gaz kromatografi kolonu

Saf azot gazı doldurulmuş gaz tüpü (Habaş)

10 ve 50 mikrolitrelik Mikro enjektör (Hamilton)

Santrifüj tüpü ,12 ml'lik, (Teknik cam)

Santrifüj

**Kimyasal Malzeme:**

Kloramfenikol (Sigma C-0378)

Asetonitril (J.T.Baker, Rezidü Analizi için)

Etil Asetat (J.T.Baker, Rezidü Analizi için)

n-Hexan (J.T.Baker, Rezidü Analizi için)

Kloroform (J.T.Baker, Rezidü Analizi için)

Metanol (J.T.Baker, Rezidü Analizi için)

Hexametildisilasan (Sigma)

Chlorotrimethylsilane (Sigma)

Pyridine, susuz (Sigma)

Son 3 madde sırasıyla 3+1+9 h/h oranında karıştırılarak türevlendirme solusyonu olarak kullanıldı.

Diklorometan (Merck)

C-18 Mini Ekstraksiyon Kolonu (J.T.Baker)



### 3.2.- METOT: /

Gas kromatografik analizler için yumurtalardan kloramfenikolün ekstraksiyonunda ARNOLD ve ark. (9) uyguladıkları yöntem kısmen değiştirilerek uygulandı.

#### Numunenin Ekstraksiyonu:

Yumurta önce havana kırılarak mikserle homojenize edildi ve homojenizattan santrifüj tüpüne 6 g alındı. Santrifüj tüpü girdap karıştırıcıda karıştırılırken 5 ml asetonitril otomatik pipetle damla damla ilave edilerek 2 dakika karıştırıldı. Yumurta, bazen bu işlem yapılırken pıhtılaştığı için, temiz bir cam baget ile karıştırılmaya yardım edildi. Asetonitril ve yumurta tam olarak homojen olduğunda 4000 devirde 10 dakika santrifüje edildi. Yağları gidermek için üst kısım temiz bir santrifüj tüpüne alınarak üzerine 5 ml n-hexan ve 2 ml su konuldu. Çok iyi bir şekilde karıştırıldıktan sonra 1700 devirde santrifüje edildi ve üst kısım otomatik pipetle alınarak atıldı. 5 ml n-hexan ile aynı işlem tekrarlandı. Kalan kısım üzerine 3.5 ml etil asetat konularak karıştırıldı ve 1700 devirde santrifüje edildi. Üstte kalan organik kısım temiz bir santrifüj tüpüne otomatik pipetle alınarak azot gazı altında 40°C'de kuruyana kadar uçuruldu. Bu şekilde kurutulan numuneler analiz için buzdolabında 1 gün kadar bekletilebilir.

#### Numunenin temizlenmesi:

Ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen kuru kısım C-18 mini kolonundan geçirilmek üzere 3 ml su ile çok iyi bir şekilde karıştırıldı.

Mini kolonlar, yöntem ve kullanım klavuzunda belirtildiği şekilde ön yıkamaya tabi tutuldu. Kolonlar sırasıyla 5 ml metanol, 5 ml kloroform, 5ml metanol ve 10 ml su ile yıkandı. Sonra 3 ml su da çözülen kuru numune kolondan geçirildi ve kolon 5 ml su ile yıkandı. Yukarıda kolondan geçirilen tüm sıvılar atıldı. Bu işlemi takiben kolonun alt kısmına temiz bir santrifüj tüpü konuldu ve kolon 3 ml asetonitril + su (1:1) ile yıkanarak rezidüler alttaki tüpe alındı. Bunun üzerine 10 ml etil asetat konularak çok

iyi bir şekilde karıştırıldı ve 1000 devirde santrifüje edildi. Üstteki organik kısım otomatik pipetle temiz bir tüpe alınarak 40<sup>0</sup>C'de azot gazı altında kuruyana kadar uçuruldu.

Gas kromatografi için kuru kısım üzerine 50 ul hexa-methyldisilasane + chlorotrimethylsilane + pyridin (h/h, 3:1:9) karışımından ilave edilerek hemen azot gazı altında kurutuldu ve 1 ml n-hexan ilave edilerek tüpün ağzı kapandı. GC'ye 2 ul mikroenjektörle enjekte edildi.

**Gas Kromatografi :**

Kolon alete takılmadan önce 1 gün boyunca içerisinde azot gazı geçirildi ve alete takıldı. Aşağıda belirtilen koşullarda (Fırın sıcaklığı 15°C fazla olmak üzere) kolonun aktivasyonu sağlandı.

Taşıyıcı gaz : N<sub>2</sub> , akış hızı 40 ml/dakika  
Fırın ısısı : 210°C  
Enjeksiyon ısısı : 215°C  
Detektör ısısı : 300°C  
Kağıt hızı : 0.5 cm/dakika  
E.C.D. Current : 4  
Attenuation : 32

**Standart solusyonları:**

500 ppm'lik standart kloramfenikol stok solusyonu : 50 mg kloramfenikol (Sigma)  
100 ml'lik balon jöjeye konuldu ve metanol ile tamamlandı.

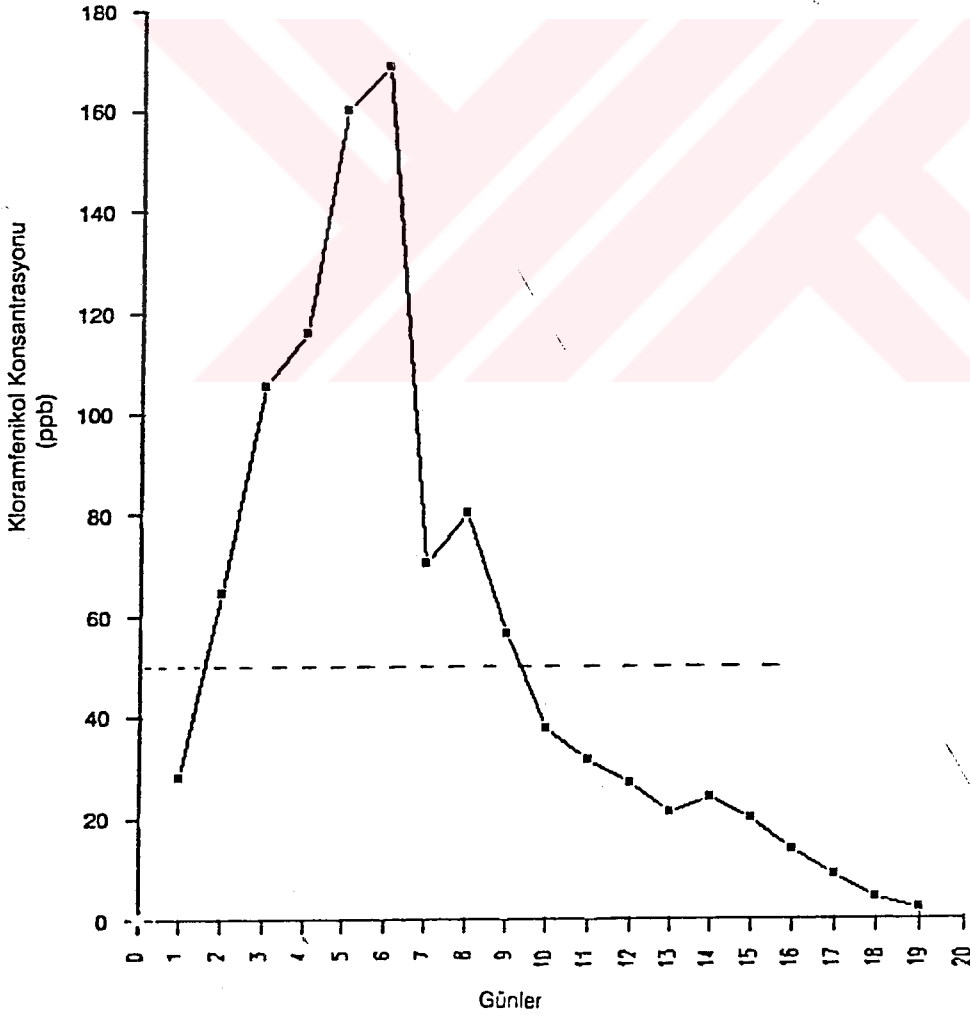
5 ppm'lik standart kloramfenikol solusyonu : Stok solusyondan 0.5 ml alınarak  
balon jöjede 25 ml'ye metanolla tamamlandı.

5 ppm'lik solusyondan tüplere 5, 10, 15, 20 ,25 ve 50 ul alınarak türevlendirme solusyonu ile reaksiyona girmesi sağlandı. Azot gazı altında uçuruldu ve n-hexan ile sulandırıldı. Alete 2 ul enjekte edilerek standart kromatogramları alındı. Numunelerin enjeksiyonundan evvel çeşitli konsantrasyonlarda standartlar hazırlanarak dedektörün duyarlılığı kontrol edildi. Numune + Standart çalışmaları sonucunda maddenin numuneden geri kazanımının (recovery) % 85 olduğu bulundu. GC cihazına enjekte edilecek 2 ul'lik standart solusyonlarındaki 50-200 pg kloramfenikol miktarı, dedektörün duyarlılık sınırları içerisinde bulundu ve metodun duyarlılığı 1 ppb olarak tespit edildi.

#### 4- BULGULAR:

Numune + standart çalışmaları sonucunda antibiyotiğin yumurtadan geri kazanımının % 85 olduğu bulundu. Metodun duyarlılığı 1 ppb olarak tespit edildi. İnce tabaka kromatografi ile yapılan ön çalışmalarla metodun duyarlılığı 50 ppb olarak tespit edildi ve bu çalışmalar sonucunda İ.T.K. metodunun çok duyarlı çalışmalar için kullanılamayacağına karar verildi. Elde edilen verilerin tümü gas kromatografik analizlere aittir.

Yumurta tavuklarının içme sularına 75-150 mg/L olmak üzere kloramfenikolün verilmesinin hemen ardından toplanan yumurtalarda günlere göre kloramfenikol konsantrasyonları sırasıyla Grafik 1 ve 2'de (Tablo 4'de) İstanbul'da tüketime sunulan yumurtalardaki kloramfenikol rezidüleri Tablo 3'de gösterilmiştir.

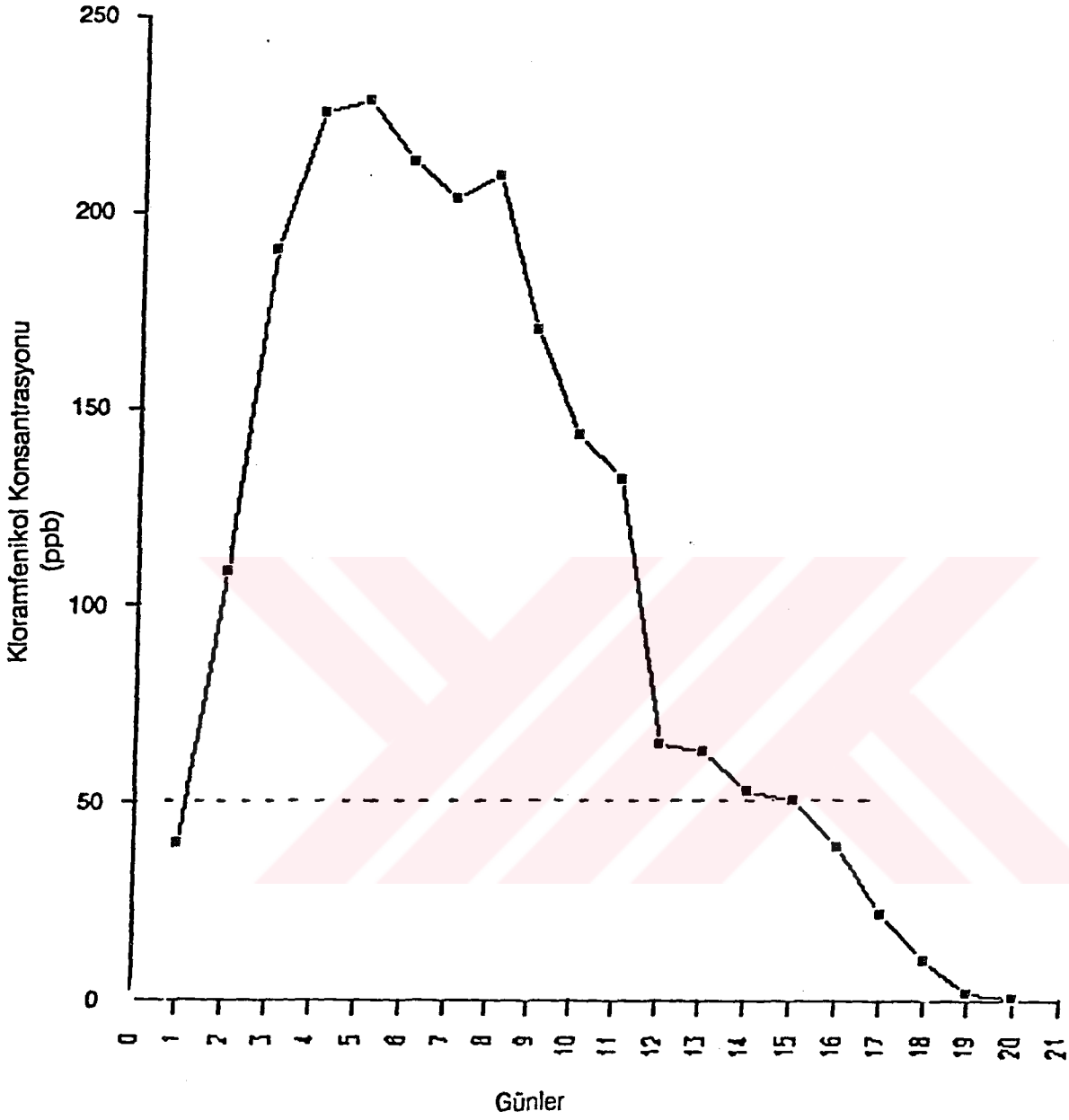


Grafik 1: Kloramfenikolün 75 mg/L dozda 7 gün verilmesini takiben elde edilen yumurtalardaki kloramfenikol konsantrasyonları (ppb).

Grafik 1'den de görüleceği gibi koramfenikol içeren içme suyunun verilmesini izleyen 1.günden itibaren yumurtalarda kloramfenikol saptanmaya başlamıştır. 1. ve 6. günler arasında yumurtada gittikçe artan miktarlarda kloramfenikol saptanmış ve en yüksek kloramfenikol 6. günde 168.50 ppb olarak bulunmuştur. İlaçlı suyun veriliminin kesilmesinden sonra kloramfenikol rezidülerinin hızla düşmeye başladığı tespit edilmiştir. İlaç verilimi kesildikten sonra 12 gün boyunca yumurtalarda kloramfenikol saptanmış ve en düşük kloramfenikol 19. günde 2.05 ppb olarak bulunmuştur. İlaç vermeye başlanmasından ancak 20 gün sonra yumurtalarda kloramfenikol düzeyi saptanabilir limitlerin altına düşmüştür.

Grafik 2'de 150 ppm dozda kloramfenikolün içme suyu ile verilmesi sonucunda da 75 ppm verilen gruba benzer bir şekilde yumurtalarda kloramfenikolün ilk günden itibaren gittikçe arttığı bulunmuştur. En yüksek kloramfenikol 5. günde 228.11 ppb olmak üzere 3. ve 7. günler arasında 200 ppb'yi aşan miktarlarda kloramfenikol rezidüsü bulunmuştur. 16.güne kadar yumurtalarda kloramfenikol konsantrasyonunun 50 ppb'nin üzerinde olduğu ve ancak 21. günde saptanamayacak düzeye indiği tespit edilmiştir.

Her iki uygulama ile yumurtalardaki kloramfenikolün, ilaç uygulanmasının kesilmesinden ancak 12-13 gün sonra saptama limiti olan 1 ppb'nin altına düştüğü belirlenmiştir. Ayrıca en yüksek kloramfenikol rezidüleri, ilaç uygulanması sırasında 3. ve 7. günler arasında tespit edilmiştir.



Grafik 2: Kloramfenikolün 150 mg/L dozda 7 gün verilmesini takiben elde edilen yumurtalardaki kloramfenikol konsantrasyonları (ppb)

İstanbul'un çeşitli semtlerindeki daimi halk pazarlarının ve bazı büyük marketlerin çeşitli şubelerinde satışa sunulmuş yumurtalarda bulunan kloramfenikol rezidüleri Tablo 3'de gösterilmiştir. 54 çift yumurtanın analizi yapılmıştır ve bunlardan sadece 6 adedinde 1.90-5.36 ppb arasında değişen miktarlarda kloramfenikol rezidüsü saptanmıştır.

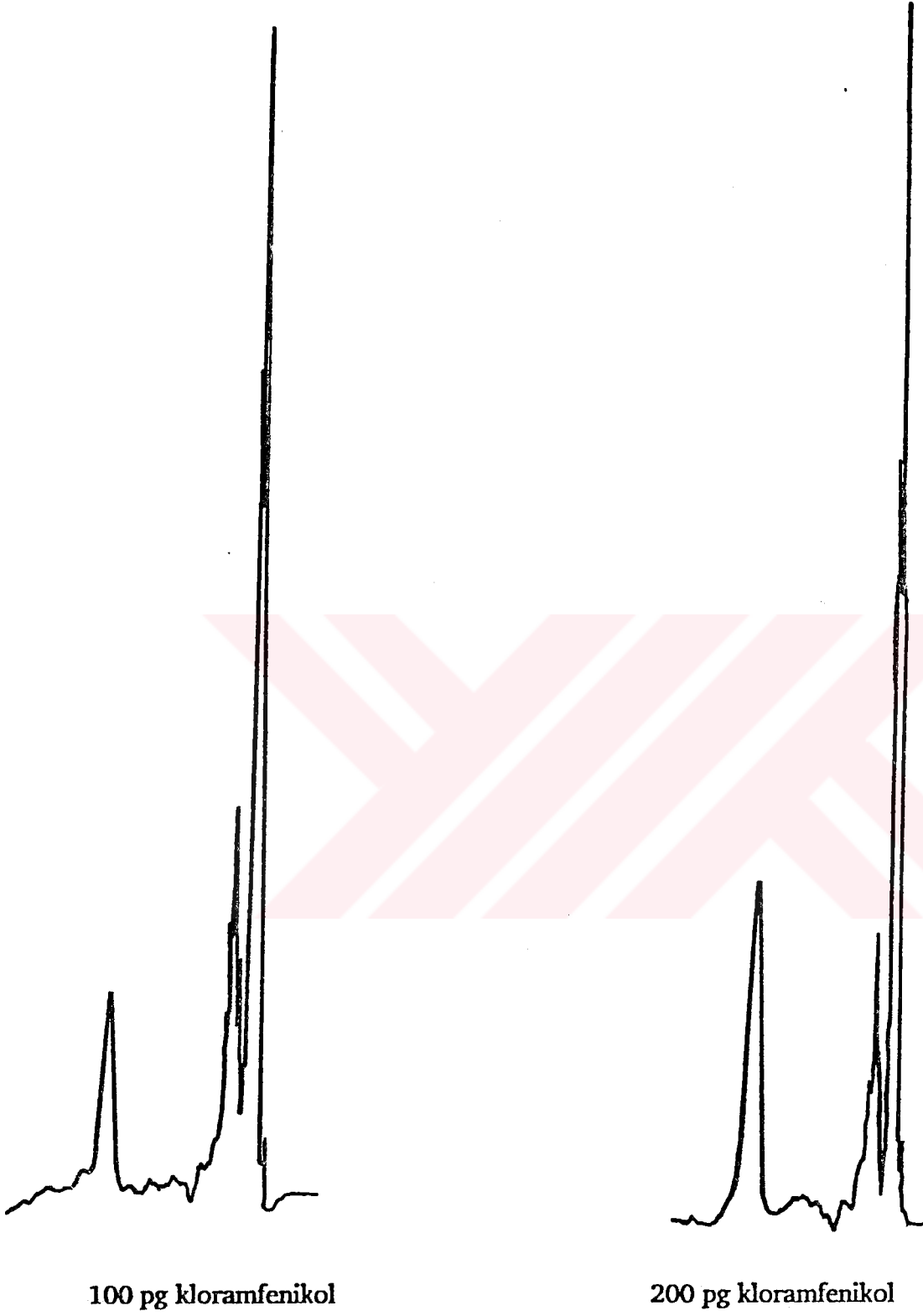
Satıldığı Yer	Rezidü Miktarı (ppb)	Analiz Edilen Yumurta Sayısı	Alınan Yumurta Sayısı
Migros (Cennet Şubesi)	5.36	3	18
Migros (Kızıltoprak Ş.)	2.45, 2.60	2	12
Migros (Şişli Ş.)	-	3	18
Gima (Avcılar Ş.)	-	3	18
Gima (Ümraniye Ş.)	-	2	12
Gima (Florya Ş.)	-	1	6
Belpa (Merter)	-	2	12
Metro G.Market	-	1	6
Yeni Karamürsel (Şişli)	3.32	2	12
Çeşitli Semtlerdeki Daimi Halk Pazarları	3.20	13	78
Çeşitli Marketler	1.90	22	132
<b>Toplam</b>		<b>54 çift</b>	<b>324 adet</b>

Tablo 3 : İstanbul'da satışa sunulmuş yumurtalardaki kloramfenikol rezidüleri ve satış yerleri (Her pozitif sonuç 1 çift yumurtaya aittir)

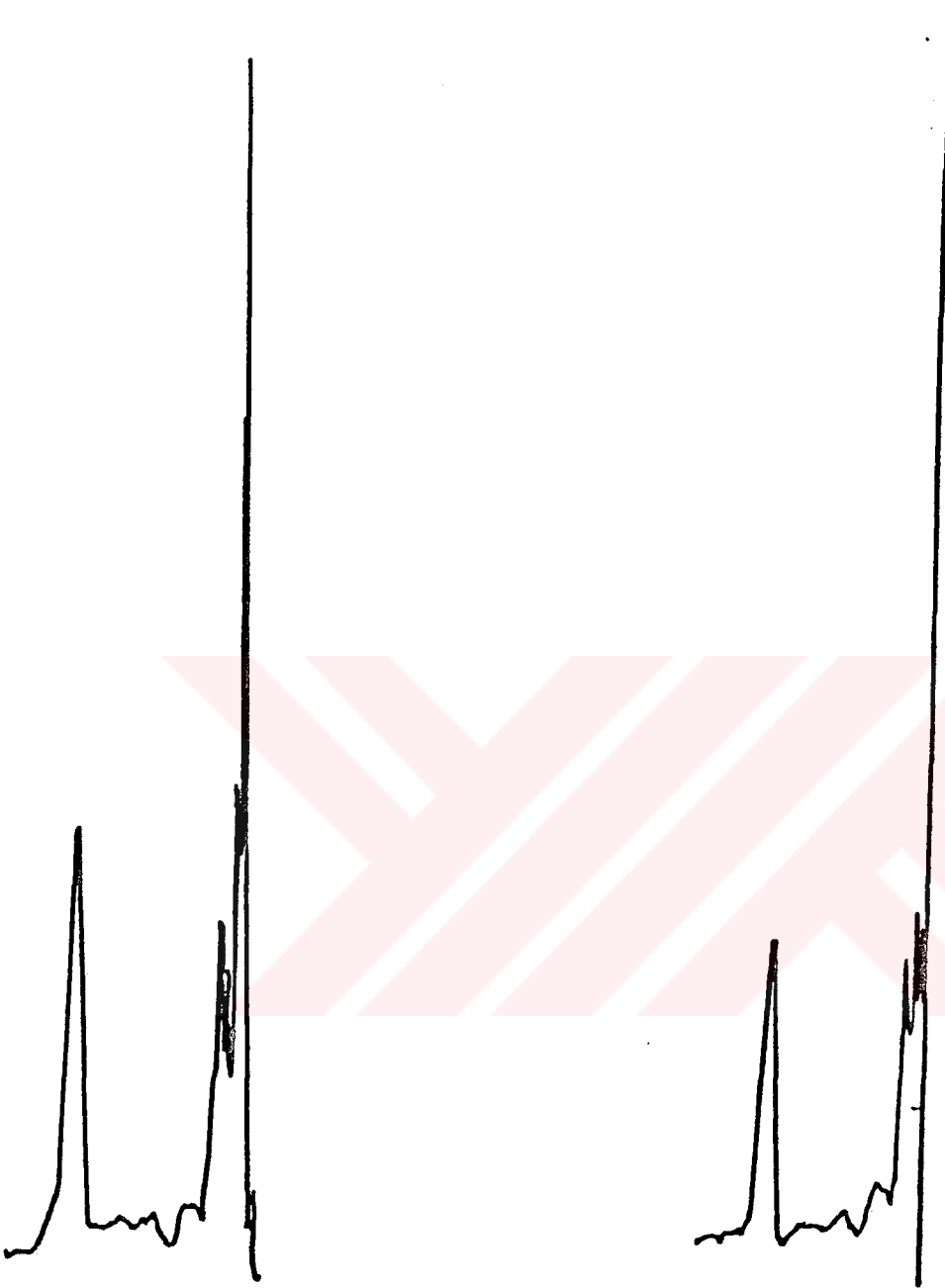
Tavuklara kloramfenikol'ün 75-150 mg/L içme suyu ile 7 gün süreyle verilmesini takiben alınan yumurtalardaki kloramfenikol düzeyleri (ppb = ug/kg)

Gün	75 mg/L			150 mg/L		
	X	Qn	n	X	Qn	n
1	28.86	8.18	3	39.67	7.39	3
2	67.00	12.90	3	109.06	13.70	3
3	105.00	4.86	3	192.10	10.58	3
4	116.22	5.32	3	225.66	8.73	3
5	161.23	8.42	3	228.11	9.27	3
6	168.50	5.26	3	214.60	12.40	3
7	70.32	12.78	3	203.05	10.84	3
8	80.20	4.50	3	208.49	4.54	3
9	56.47	4.74	3	173.87	12.65	3
10	37.36	2.47	3	150.97	6.23	3
11	31.26	1.31	3	146.67	4.82	3
12	26.49	1.70	3	69.49	4.38	3
13	23.07	1.56	3	68.94	3.06	3
14	24.03	2.90	3	54.20	3.16	3
15	19.46	1.118	3	52.07	3.83	3
16	14.09	2.59	3	39.40	1.90	3
17	9.03	1.30	3	23.42	5.60	3
18	4.66	1.16	3	11.80	4.21	3
19	2.05	0.70	3	1.57	1.23	2
20	-		3	0.99	0.72	2
21	-		3	-		2





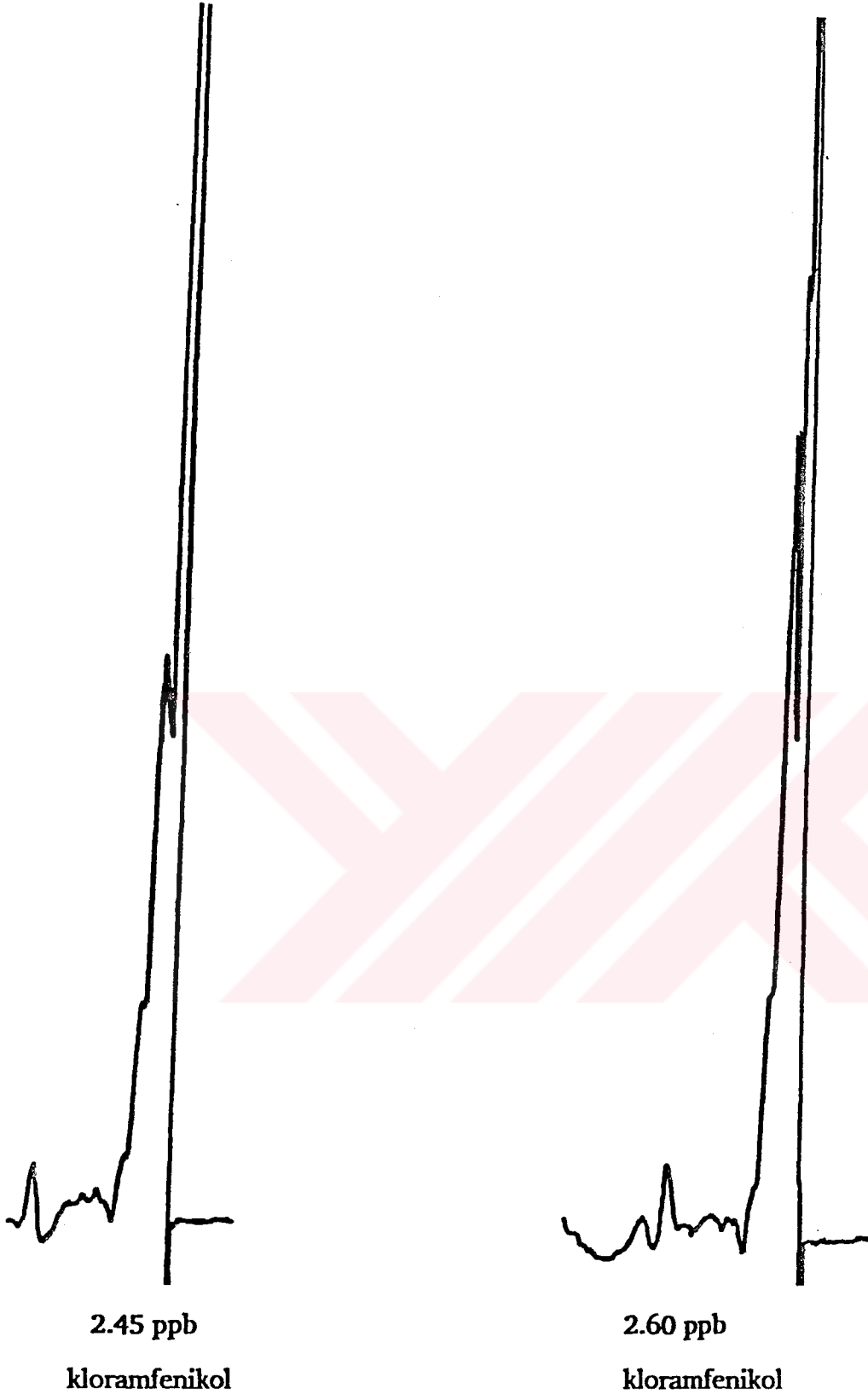
Kromatogram 1: Çeşitli konsantrasyonlardaki kloramfenikol standartlarına ait kromatogramlar



2.grup 9.güne ait  
yumurta kromatogramı

2.grup 2.güne ait  
yumurta kromatogramı

Kromatogram 2: Deney hayvanlarından elde edilen yumurtalardaki kloramfenikol kalıntılarını gösteren kromatogramlar.



Kromatogram 3: İstanbul'da tüketime sunulan yumurtalarda saptanan kloramfenikol rezidülerine ait kromatogramlar.

## 5- TARTIŞMA:

Kloramfenikolün insanlarda kullanılması sonucu oluşan aplastik aneminin doza bağlı olmaması nedeniyle hayvansal ürünlerdeki kloramfenikol rezidülerinin halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike yaratabileceği düşünülerek çeşitli ülkelerde kloramfenikolün, ürünleri insanlar tarafından tüketilen hayvanlarda her ne amaçla olursa olsun kullanılması yasaklanmıştır. Bu yasağı kontrol amacı ile hayvansal ürünlerdeki rezidülerin saptanması için çok çeşitli analitik metotlar yayınlanmıştır. Yukarıda belirtildiği gibi aplastik aneminin doza bağlı olmaması, bulunabilecek en düşük yoğunluklardaki kloramfenikolü saptayacak metotlara ihtiyaç vardır. Gas kromatografinin saptama limitinin 1 ppb düzeyinde olması nedeniyle bu tür bir yöntem seçilmiştir. Ayrıca rutin analizlerde bu tür cihazların kullanım güçlüğü ve ekonomik koşullar göz önüne alınarak, rutin çalışmalar için İnce Tabaka Kromatografi metodu oturtulmaya çalışılmış ve bu metodun saptama limiti 50 ppb olarak bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan ekstraksiyon yöntemi, özellikle mini kolon kullanılarak az bir miktar numune ile çalışmanın mümkün olması ayrıca büyük miktarlarda ekstraksiyon solventlerine ihtiyaç göstermediği ve ekonomik olması nedeniyle seçilmiştir.

Yukarıda sayılan türevlendirme (Silylation) ajanlarının tümüyle kapiller kolon kullanılarak GC/ECD'de yapılan karşılaştırmalı çalışmada, DTMCTMS solusyonu ile kloramfenikolün türevlendirilmesinin, diğer ajanlara göre daha stabil bir türev oluşturduğu için tercih edildiği bildirilmiştir (144).

İçme suyu içerisine katılacak kloramfenikolün miktarı ile ilgili olarak ülkemizde satışı yapılmakta olan bir preparatın prospektüsünde belirtilen dozlar esas alınmıştır. Bundan amaç, ülkemizde, bir spesiyalitenin yumurta tavuklarında kullanımı sonucu meydana gelebilecek rezidü problemlerine bir bakış açısı sağlamaktır.

Yumurta üretimi, ülkemizde diğer hayvan yetiştiriciliği branşları göz önüne alındığında oldukça bilinçli yapılan bir iştir. Buna rağmen yetiştiricinin ilaç kullanımı, konusunda yeterince bilinçli olmaması , bu alanda kullanılan ilaçların satışında

gelişmiş ülkelerdeki yasal düzenlemelerle veteriner hekimlerin reçetesi olmaksızın kloramfenikolün satışının mümkün olmaması ve ülkemizde kloramfenikol dahil istenilen her ilacın herkese satışının yapılabilmesi gibi nedenlerden dolayı diğer hayvansal ürünlerde olduğu gibi yumurtada da rezidülerin bir problem olduğu bilinen bir gerçektir. Bu nedenle kloramfenikol dahil diğer birçok ilacın bilinçsiz kullanılmasıyla oluşan rezidüer halk sağlığı açısından bir tehlike oluşturmaktadır. Ancak bazı ilaç firmaları konuya iyi bir yaklaşım göstererek satışa sundukları kloramfenikol preparatlarının yumurta tavukları ve süt ineklerinde kullanılmaması gerektiğini prospektüslerinde belirtmişlerdir.

Çalışmamızda deney hayvanlarına kloramfenikolün verilmesinin ardından yumurtalarda bulunan kloramfenikol rezidüerinin ilacın vermeye başlanmasının ardından ancak 20 gün sonra saptama limitinin (1 ppb) altına düştüğü bulunmuştur. Başka bir deyişle ilacın uygulanmasına son verilmesinin ardından, ancak 13 gün sonra yumurtalarda rezidü saptanamamıştır. Yumurta tavukları ile yapılan deneysel çalışmalarda ilacın veriliminin durdurulmasının ardından kloramfenikolün saptanamayacak düzeye gelmesi için geçmesi gereken gün konusunda çeşitli rakamlar verilmiştir. Yemle 9 gün boyunca 500 mg/kg kloramfenikolün verilmesinin kesilmesinden ancak 11 gün sonra rezidünün 1 ppb'nin altına ineceği belirtilmiştir (75). İçme suları ile 500 mg/L ve 1000 mg/L kloramfenikolün 5 ve 7 gün süreyle verilmesinin kesilmesinden ancak 18-20 gün sonra kloramfenikolün saptanamayacağı belirtilmiştir (43). Yumurta tavuklarına 500 ppm kloramfenikol içeren içme suyunun 10 gün verilmesiyle ilacın son veriliminden itibaren toplanılan yumurtaların sarılarında RIA yöntemi ile rezidüerinin araştırıldığı bir çalışmada, rezidüerinin 23-30 gün sonra saptanamayacak düzey olan 1 ppb'nin altına indiği bildirilmiştir (120).

Çalışmamızda deney hayvanlarına kloramfenikol verilmesi sonucunda elde edilen yumurtalardaki kloramfenikol konsantrasyonlarının diğer çalışmalar ile karşılaştırılmasında, kullandığımız kloramfenikol miktarına yakın miktarlarda kloramfenikol kullanılan çalışmaların sonuçları dikkate alınmıştır.

Belirtilen bu rakamlar arasındaki farklılıkların kullanılan analiz yöntemine ve tavukların yediği yem ve içtikleri su miktarına dolayısıyla kloramfenikol miktarına bağlı olabileceği kanısındayız. Keza kloramfenikolün içme suyu ile verilmesiyle yapılan çalışmalarda tavuk başına günlük su tüketimi ile ilgili bilgiler verilmemiştir. Ayrıca tavukların su tüketimi ile ortam sıcaklığının ilişkili olduğu da göz önüne alırsa ortam ısısının içme suyu ile tavuk başına alınan kloramfenikol miktarını da etkilemesi olasıdır. İçme suyu ile yapılan deneyler göz önüne alındığında çalışmamızda deney gruplarında bulunan kloramfenikol konsantrasyonları oldukça düşüktür. Deney sırasında ortam ısısının oldukça düşük olmasının günlük su tüketimi azaltması nedeniyle bu farklılığın normal olduğu kanısındayız.

İnsanlardaki dönüşümsüz toksik etki bakımından hayvansal dokularda kloramfenikol rezidülerinin miktarının önemli olmadığı ve kloramfenikol rezidülerinin ne kadar süre devam ettiği bizce daha önemlidir.

Kloramfenikolün yumurtanın sarı ve beyazına farklı oranlarda geçtiği çeşitli çalışmalar ile kaydedilmiştir. Yumurta sarısına kloramfenikolün beyazından 2-4 kez daha fazla miktarda geçtiği belirtilmiştir (108). Bu nedenle yumurtada kloramfenikol rezidülerinin rutin analizleri için yumurta sarısının kullanılması uygun olabilir.

Tavuklarda kullanım amacı ile Türkiye'de satışa sunulmuş kloramfenikol içeren bazı spesiyal ilaçların prospektüsünde profilaktik ve terapötik amaçla kloramfenikolün kullanılması önerilmiştir. Profilaktik amaçla kullanım terapötik amaçla kullanımdan daha fazla tehlikeli olabilir. Çünkü, hasta hayvanlarda yumurta verimi hastalık nedeniyle belli oranda azalacaktır.

Kloramfenikolün diğer antibiyotiklere göre oldukça stabil olan yapısı nedeniyle hayvansal ürünlerdeki kloramfenikol rezidülerinin pişirme ile pek etkilenmeyeceği belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada yumurtaların yarım saat pişirilmesinin ardından rezidülerin ancak % 20 oranında azaldığı bulunmuştur (24).

Ayrıca kloramfenikolün neden olduğu aplastik aneminin mekanizmasının bilinmemesine rağmen bu etkiye kloramfenikol metabolitlerinin neden olabileceği belirtilmiştir (118). Yenilebilir hayvansal ürünlerdeki kloramfenikol metabolitlerinin bu ürünlerin tüketimi ile duyarlı kişilerde bu tür bir etkiye yol açabileceği, bu nedenle bilinen analitik metotlarla bu metabolitlerin identifiye edilemeyeceği kaydedilmiştir (41). Hayvansal ürünlerdeki kloramfenikol rezidülerine ek olarak kloramfenikolün glukuronid metabolitinin insanlar tarafından alınmasıyla, B-glukuronidaz aktivitesi nedeniyle bu metabolitin tekrar kloramfenikole çevrilmesi söz konusudur. Ancak, bu metabolit de bilinen metotlar ile yenilebilir hayvansal ürünlerde saptanamamaktadır (122). Belirtilen durumlar kloramfenikol rezidülerinin önemini daha da arttırmaktadır.

İstanbulda tüketime sunulan yumurtalarda saptanan kloramfenikol rezidüleri bu konuda İstanbul'da yapılan ilk çalışmadır.

Satılan yumurtaların menşeyi ile ilgili olarak bazı büyük marketlerden alınan bilgiler sonucunda yumurtaların Kütahya, İzmir, Balıkesir bölgesinden getirildiği saptanmıştır. Daimi halk pazarlarından bu tür bir bilgi edinilememiştir.

Elde edilen verilerden yola çıkarak Türkiye'de kişi başına yıllık yumurta tüketiminin 100-110 adet olduğu ve tavukların yumurtlama dönemi içerisinde 1 kez bile olsa kloramfenikol kullanıldığı düşünülürse insanların bu yumurtalardan en az birinden kloramfenikolü alma ihtimali vardır. Dünya Sağlık Örgütü insanlar için, kloramfenikolün hayvansal kökenli gıdalarda günlük kabul edilebilir miktarını verememiştir. Bunun nedeni kloramfenikolün insanlarda nadir de olsa çoğunlukla öldürücü olan aplastik anemiye sebep olmasıdır. Bu durumu dikkate alarak gelişmiş ülkelerin birçoğu, çiftlik hayvanlarında kloramfenikolün kullanılmasını yasaklamıştır

Kloramfenikol preparatlarının ülkemizde pazarlanması, ayrıca kloramfenikol için hayvansal gıdalarda tolerans düzeyi verilmemesi, kısaca bu konuların denetimsiz olması, çiftlik hayvanlarında kloramfenikolün her ne amaçla olursa olsun kullanılmasıyla bu hayvanların ürünlerinde oluşan kloramfenikol rezidüleri nedeniyle,

insanlarımız kloramfenikolün yan etkilerine oldukça açık hale gelmektedir. İstanbul'da satışa sunulan yumurtaların kloramfenikol rezidüleri yönünden analiz edilmesi sonucunda analiz edilen 54 yumurtanın 6 adedinde rezidü bulunması bunun bir göstergesidir.

Kloramfenikol rezidüsü içeren gıdaların insanlarda aplastik anemi açısından potansiyel bir tehlike oluşturabileceği göz önüne alınarak kloramfenikolün çiftlik hayvanlarında kullanımının yasaklanması bu yapılamaz ise kollektif uygulama preparatlarının kullanımının yasaklanmasının doğru olacağı kanısındayız.





## 6. ÖZET:

Veteriner hekimlikte antibiyotiklerin, hayvanlarda meydana gelen bakteriyel enfeksiyonların tedavisinin yanısıra, yem dönüşümünü arttırmaları nedeniyle de geniş bir kullanım alanı vardır. Bu durumun halk sağlığı açısından önemli bir tehlike olan rezidü sorununu yarattığı bilinmektedir.

Kloramfenikolün yumurta tavuklarına oral yolla verilimiyle yumurtalara ne oranda ve ne kadar süreyle geçtiğini ayrıca İstanbul'da tüketilen yumurtalardaki kloramfenikol rezidülerinin saptanmasının amaçlandığı çalışmamızda, 30 adet yumurta tavuğu 15'er lik 2 gruba ayrılarak, 1.gruba 75 ppm, 2.gruba 150 ppm dozda kloramfenikol içme suları ile 7 gün boyunca verildi. İlacın verilmeye başlanmasından itibaren alınan yumurtalarda kloramfenikol konsantrasyonları gas ve ince tabaka kromatografi ile saptandı.

Başlangıçtan itibaren kloramfenikol konsantrasyonları, 1-7. günlerde 1.grupta 28.86-70.32 ppb, 2.grupta 39.67-203.05 ppb idi. En yüksek kloramfenikol konsantrasyonu 1.grupta 6.günde 168.5 ppb, 2.grupta 5.günde 228.11 ppb olarak saptandı. İlacın kesilmesinden sonra 1.grupta 13.günden, 2.grupta 14. günden itibaren kloramfenikol konsantrasyonları saptama limitinin (1 ppb) altına düştü.

İstanbul'da satışa sunulan yumurtalarda yapılan analizlerde 324 yumurtanın 54 çiftinin 6 sında 1.90-5.36 ppb kloramfenikol rezidüsü saptandı.

Kloramfenikol, kalıntı düzeylerinde bile insanlarda aplastik anemiye neden olduğundan Dünya Sağlık Örgütü (WHO) yumurta tavuklarında ve laktasyondaki hayvanlarda kloramfenikol kullanımının yasaklanmasını tavsiye etmiştir.

İstanbul'da tüketilen yumurtalarda kloramfenikol rezidülerinin ortaya konması insanlarımızın bu tehlike ile karşı karşıya kaldığını göstermektedir.

Çalışma sonucunda, ülkemizde kolektif uygulama preparatlarının satışının kontrolsüz olması, ayrıca kloramfenikol için bekleme süreleri ve tolerans düzeylerinin verilmemesi dolayısıyla kolektif preparatların kullanımının yasaklanması önerilmiştir.

## 7. SUMMARY

Antibiotics are widely used to treatment bacterial infections as well as increase feed conversion in veterinary medicine. It is known that this situation results in residue problems which is dangerous from the point of view public health.

The aim of this investigations was to determine the extent of transmission into eggs of chloramphenicol given orally to laying hens and residue levels of chloramphenicol in eggs consumed in Istanbul.

Laying hens used in this study divided into two groups which consist of 15 animals each. 75 ppm chloramphenicol was given to first group, 150 ppm chloramphenicol was given to second group via drinking water for seven days.

After medication started the concentration of chloramphenicol obtained from hens were measured by G.L.C. and T.L.C. methods. On days 1-7, the concentration of chloramphenicol was 28.86 - 70.32 ppb in the first group and it was 39.67 - 203.11 ppb in the second group after medication started. The highest concentration of chloramphenicol was determined as 168.5 ppb on days 6 in the first group and 228.11 ppb on day 5 in the second group.

After medication ceased, the concentration of chloramphenicol decreased below the level of detection limit after 13th days in the first group and after 14th days in the second group.

The chloramphenicol residue levels of 1.90-5.36 ppb were determined in 6 out of 54 pairs of total 324 eggs marketing in Istanbul.

The determination chloramphenicol residues in eggs consumed in Istanbul showed that our people are in face of danger.

Because residue levels of chloramphenicol also cause aplastic anemia in humans World Health Organization (WHO) recommended that the use of chloramphenicol in food producing animals, particularly laying hens and lactating animals is prohibited. The marketing of its collective preparations in our country are not controlled, and also no information about withdrawal time and tolerans level of chloramphenicol are available, so it is suggested the use of its collective preparation should be prohibited.

## 6. LİTERATÜR LİSTESİ :

- 1- ABDEL-NASSER, M., ACET, H. A., ERGANİŞ, O., TRAŞ, B.(1990): A disc assay technique for the determination of chloramphenicol residues in eggs. *Assuit Vet. Med. J.*, 24(47),201-207.
- 2- ABRAMS, S. M., DEGNAN, T. J., VINCIGUERRA, V.(1980): Marrow aplasia following topical application of chloramphenicol eye oinment. *Arch. Int. Med.*, 140, 576-577.
- 3- ACET, A., DEMET, Ö., DİNÇ, D. A., TRAŞ, B., BAŞ, A. L.(1992): Tedavi dozlarında kloramfenikol uygulanan ineklerin sütlerinde kloramfenikol düzeyleri ve atılma sürelerinin araştırılması. *S. Ü. Vet. Fak. Derg.*,8(1),61-63.
- 4- ACET, A., TUNCER, Ş. D., COŞKUN, B., DEMET, Ö., TRAŞ, B., BAYTOK,E.(1989):Kloramfenikolün yumurta tavuklarında verim üzerine etkisi ve yumurtada kloramfenikol rezidülerinin aranması. *S.Ü. Vet. Fak.Derg.*, ,5(1),241-251.
- 5- AKSOY, M.(1978): Lösemilerin etyolojisinde kimyasal lokemojen ve genetik faktörlere ait izlenimler. *Türk Hematoloji Derneği Kongresi*, 3-17.
- 6- ALLEN, E. H.(1985): Rewiew of Chromatographic Methods for Chloramphenicol Residues in Milk, Eggs, and Tissues from Food Producing Animals. *J. Assoc. Off . Anal. Chem.*, 68(5), 990-999.
- 7- AMBROSE, C. T., COONS, A. H.(1963): Studies on antibody production VIII. The inhibition effect of chloramphenicol on the synthesis of antibody in tissue culture. *J. Exp. Med.*, 117,1075-1088.
- 8- ANONIM (1984): FDA clamps down on chloramphenicol use in food animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 184(9), 1041.
- 9- ARNOLD, D., SOMOGYI, A.(1985): Trace analysis of chloramphenicol residues in eggs, milk, and meat : Comparison of gas chromatography and radioimmunoassay. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 66(5), 984-990.
- 10-ARNOLD, D., BERG, D., BOERTZ, A. K.,MALLICK, U., SOMOGYI, A. (1984): Radioimmunologische bestimmung von chloramphenicol-rückstanden in muskulatur, milch und eiern. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 35, 121-148.
- 11-ASCHERLY, M., EYER, P., KAMPFFMEYER, H.(1985): Formation and disposition of nitrosochloramfenicol in rat liver. *Biochem.Pharm.*,34(20),3755-3763.
- 12-ATEF, M., ATTA, A. H., AMER, A. M.(1991): Pharmacokinetics of chloramphenicol in normal and Escherichia coli infected chickens. *British Poultry Science*,32,589-596.

- 13-BALIZS, G., ARNOLD, D. (1989): Reference standards for residue analysis of chloramphenicol in meat and milk : a critical study. *Chromatographia*, 27(9/10), 489-493.
- 14-BARLETT, J. G.(1982): Chloramphenicol. *Med. Clin. North Am.*,66(1), 91-102.
- 15-BARTZ, Q. R.(1948): Isolation and characterization of chloramphenicol. *J. Biol. Chem.*, 172, 445-450.
- 16-BEARD, N. S., ARMENTRAUT, S. A., WEISBERGER, A. S.(1969):Inhibition of mammalian protein synthesis by antibiotics. *Pharmacological Review*, 21(3), 213-245.
- 17-BEASLEY, H., BOLTRALIK, J. J., BALDWIN, H. A.(1975):Chloramphenicol in aqueous humor after topical application. *Arch.Ophtalmol.*, 93, 184-185.
- 18-BECHEIRAZ, M., MALDEMANN, A., ETTER, R.(1983): Bestimmung von chloramphenicol in tierischen lebensmitteln. *Mitt. Gebiete Lebensm Hyg.*, 74, 147-155.
- 19-BENVENISTE, R., DAVIES, J.(1973): Mechanism of antibiotic resistance in bacteria. *Ann. Rev. Biochem.*, 42, 471-506.
- 20-BERGT, G., STOWE, C M.(1975): Comparison of bioavailability of two chloramphenicol preparations in dogs after intramuscular injection. *Am. J. Vet. Res.*, 36(10), 1481-1482.
- 21-BESSMAN, S. P., STEVENS, S.(1950): A colorimetric method for the determination of chloromycetin in serum or plasma. *J. Lab. Clin.Med.*, 35, 129-135.
- 22-BETINA, V.(1964): A systematic analysis of antibiotics using paper chromatography. *J. Chrom.*, 15, 379-392.
- 23-BONANOMI, L., DELLA BELLA, D., GAZZANIGA, A.(1975): Newer developments in chloramphenicol metabolism. *Pharm. Res. Commun.*,7(5), 437-441.
- 24-BOOTH, N. H.(1988): Drug and chemical residues in the edible tissues of animals.In: BOOTH, N.H., McDONALD, L. E.(Eds.): *Veterinary pharmacology and therapeutics*. 6th Ed., Iowa State University Press/ AMES.
- 25-BORIES, G. S. F., PELERAN, J. C., WAL, J. M.(1983): Liquid chromatographic determination and mass spectrometric confirmation of chloramphenicol residues in animal tissue. *J. Assoc. Off. Anal.Chem.*, 66(6), 1521-1526.
- 26-BOSSUYT, R., VAN RENTERGHEM, R., WAES, G.(1976): Identification of antibiotic residues in milk by thin-layer chromatography. *J.Chrom.*, 124, 37-42.

- 27-BOUSQEUT, E.(1990): Pharmacokinetics in calf of long action chloramphenicol formulation administered intravenously and intra-muscularly. *Ann.Rech. Vet.*, **21**, Supply 1, 47s-55s.
- 28-BÖTTIGER, L. E.(1974): Drug-induced aplastic anemia in Sweden with special reference to chloramphenicol. *Postgraduate Med. J.*,**50**(Suppl. 5), 127-131.
- 29-BRANDER, G. C., PUGH, D. M., BYWATER, R. J.(1982): *Veterinary applied Pharmacology & Therapeutics* (4.th Edition). Bailliere Tindall, London.
- 30-BRETZLAFF, K. N., OTT, R. S., KORITZ, G. D., LOCK, T. F.,NEFF-DAVIS, C. A., GUSTAFSSON, B. K, DAVID, L. E.(1988): Distribution of chloramphenicol in the genital tract of postpartum cows. *Am. J. Vet. Res.*, **49**(6), 914-917.
- 31-BROWN, M. P., KELLY, R.H., GRONWALL, R. R., STOVER,S. M.(1984): Chloramphenicol sodium succinate in the horse: Serum, synovial, peritoneal, and urine concentration after single-dose intravenous administration. *Am. J. Vet. Res.*, **45**(3), 578-580.
- 32-BURNS, L. E., HODGMAN, J. E., CASS, A. B.(1959): Fatal circulatory collapse in premature infants receiving chloramphenicol. *N. Eng. J. Med.*, **261**(26), 1318-1321.
- 33-BURROWS, G. E., MacALLISTER, C. G., TRIPP, P., BLACK, J.(1989):Interaction between chloramphenicol, acepromazine, phenylbutazone, rifampin and thiamylal in the horse. *Equine Vet. J.*, **21**(1), 34-38.
- 34-BURROWS ,G. E., TYLER, R. D., SANGIAH, S., KEETON, R. D.(1988):Experimental chloramphenicol intoxication in neonatal calves : intravenous administration. *Res. Vet. Sci.*, **45**, 101-106.
- 35-BURROWS, G.E., TYLER, R.D., CRAIGMIL, A.L., BARTO, P.B.(1984):Chloramphenicol and the neonatal calf. *Am. J. Vet. Res.*, **45**(8),1586-1591.
- 36-CARPENTER, G.(1975): Chloramphenicol eye-drops and marrow aplasia. *Lancet*, **2**, 326-327.
- 37-CLARENBURG, R., RAMAKRISHNA RAO, V.(1977): A fluorometric method to assay chloramphenicol. *Drug Met. Disp.*, **5**(3), 246-252.
- 38-COCKE, J. G., BROWN, R. E., GEPPERT, L. J.(1966):Optic neuritis with prolonged use of chloramphenicol. *J. Pediatr.*, **68**(1), 27-31.
- 39-CONE, T. E., ABELSON, S. M.(1952): Aplastic anemia following two days of chloramphenicol therapy. *J. Pediatr.*, **41**, 340-342.
- 40-CONTROULIS, J., REBSTOCK, M. C., CROOKS, H. M.(1949):Chloramphenicol (chloromycetin). *V. Synthesis. J. Am. Chem. Soci.*,**71**, 2463-2468.

- 41-CORDLE, M. K.(1988): USDA regulation of residues in meat and poultry products. *J. Anim. Sci.*, 66, 413-433.
- 42-DAGORN, M., GUILLOT, P., SANDERS, P.(1990): Pharmacokinetics of chloramphenicol in sheep after intravenous, intramuscular and subcutaneous administration. *The Veterinary Quarterly*, 12(3), 166-174.
- 43-DANIEL, T. M., SUHRLAND, L.G., WEISBERGER, A. S.(1965):Suppression of the anamnestic response to tetanus toxoid in man by chloramphenicol. *N. Engl. J. Med.*, 273(7), 367-369.
- 44-DAVIS, L. E., NEFF, C. A., BAGGOT, J. D., POWERS, T. E.(1972):Pharmacokinetics of chloramphenicol in domesticated animals. *Am. J.Vet. Res.*, 33(11), 2259-2266.
- 45-DEL GIACCO, PETRINI, M. T., JANNELLI, S., CARCASSI, U.(1981):Fatal bone marrow hypoplasia in a shepherd using chloramphenicol spray. *Lancet*, 2, 945.
- 46-DELLA BELLA, D.(1981): Biological properties of chloramphenicol as related to structural features: from classical knowledge to future developments.In:NAJEAN, T., TOGNONI, G., YUNIS, A. A.(Eds): Safety problems related to chloramphenicol and tiamphenicol therapy. New York, RAVEN.
- 47-DE MOSS, J. A., NOVELLI, G. D.(1955): An amino acid dependent exchange between inorganic pyrophosphate and ATP in microbial extracts. *Biochem. Biophys. Acta*, 18, 592.
- 48-DILL, W. A., THOMPSON, E. M., FISKEN, R. A., GLASKO, A. J.(1960): A new metabolite of chloramphenicol. *Nature*, 185, 535-536.
- 49-DOTTER, A., KROKER, R., ARNOLD, D.(1990): The pharmacokinetics of chloramphenicol in plasma and saliva of dairy cows. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 13, 81-85.
- 50-EADS, F. E., GLASKO, A. J, WOLF, L. M.,EHRlich, J.,GALBRAITH,M.(1952): Blood level studies in dogs following the administration of chloromycetin. *Am. J. Vet. Res.*, 13, 204-206.
- 51-EHRlich, J., BATRTZ, Q. R., SMITH, R. M., JOSLYN, D. A.,BURKHOLDER, P. R.(1947): Chloromycetin, a new antibiotic from a soil actinomycete. *Science*, 106, 417.
- 52-EPSTEIN, R. L., ASHWORTH, R. B., SIMPSON, R. M.(1986):Chloramphenicol concentration in calf muscle tissue. *Am. J. Vet. Res.*, 47(9), 2075-2077.
- 53-FERRARI, V., PAJOLA, E.(1981): Types of haemopoietic inhibition by chloramphenicol and tiamphenicol. NAJEAN, Y., TOGNONI, G.,YUNIS, A. A.(Eds.): Safety problems related to chloramphenicol and thiamphenicol therapy.

- 54-FRASER, C. M.(1986): The Merck Veterinary Manual.(6th Ed.), Merck and Co. Inc., Rahway, NJ, USA, pp.1528-1532.
- 55-FREEMAN, K. B., PATEL, HASMUKH, P.(1977): Inhibition of deoksiribonucleic acid synthesis in Ehrlich ascites cells by chloramphenicol. *Mol. Pharm.*, 13, 504-511.
- 56-GAFFNEY, D. F., FOSTER, T. J., SHAW, W. V.(1978):Chloramphenicol acetyltransferases determined by R plasmids from gram-negatif bacteria. *J. Gen Micr.*, 109, 351-358.
- 57-GALE, E. F., FOLKES, J. P.(1953): The assimilation of amino-acids by bacteria. *Biochem. J.*, 53, 493-498.
- 58-GEORGE, A. J., HANNA, C.(1977): Ocular penetration of chloramphenicol. *Arch. Ophthalmol.*, 95, 879-882.
- 59-GLASKO, A. J., WOLF, L. M., DILL, W. A.(1949): Biochemical studies on chloramphenicol (Chloromycetin), II. Tissue distribution and excretion studies. *J. Pharm. Exp. Therap.*,445-459.
- 60-GODEL, V., NEMET, P., LAZAR, M.(1980): Chloramphenicol optic neuropathy. *Arch. Ophthalmol.*, 98,1417-1421.
- 61-GOODMAN, L. S., GILMAN, A.(1975): Pharmacological basis of therapeutics,(15th Ed.), The Macmillan Company.
- 62-GOLDBERG, I. H.(1965): Mode of action of antibiotics. II. Drugs affecting nucleic acid and protein synthesis. *Am. J. Med.*, 39,722-752.
- 63-GOTTLIEB, D., BHATTACHARYYA, B. K., ANDERSON, H. W., CARTER, H. E.(1948): Some properties of an antibiotic obtained from a speciesof streptomyces. *J. Bacteriol.*, 59, 409-417.
- 64-GOTTLIEB, D., SHAW, P. D.(1967): Antibiotics,, Mechanism of action. Vol. 1, Springer Werlag Berlin, Heidelberg, New York, pp309-330.
- 65-HAHN, F. E.(1969): Relationship between the structure of chloramphenicol and its action upon peptide synthetase.*Experientia*, 24(8), 856-858.
- 66-HANCOCK, R., PARK, J. T.(1958): Cell-wall synthesis by *Staphylococcus aureus* in the presence of chloramphenicol. *Nature*, 161, 1050-1052.
- 67-HAMBURGER, R. N.(1966): Chloramphenicol-specific antibody. *Science*, 152, 203-204.
- 68-HAMBURGER, R.N., DOUGLAS, J. H.(1969): Chloramphenicol-specific antibody. IV. Neutralization of antibiotic effect on *Escherichia coli*. *Immunology*, 17, 599-602.

- 69-HODGMAN, J. E.(1961): Chloramphenicol. *Pediatr. Clin. North Am.*,**8**, 1027-1042.
- 70-HUBER, W. G.(1988): Aminoglycosides, macrolides, lincosamides, polymyxins, chloramphenicol, and other antibacterial drugs. In: BOOTH, N. H., McDONALD, L. E.(Eds.), *Veterinary pharmacology and therapeutics*, 6th ed., Iowa State University Press/ AMES.
- 71-HOUSTON, D. M., COCHRANE, S. M., CONLON,P.(1989): Phenobarbital toxicity in dogs concurrently treated with chloramphenicol.*Canadian Vet. J.*, **30(7)**, 598.
- 72-ISILDAR, M., JIMENEZ, J. J., ARIMURA, G. K., YUNIS, A.A.(1988):DNA damage in contact cells induced by bacterial metabolites of chloramphenicol. *Am. J. Hematol.*, **28**, 40-46.
- 73-JANSSEN, G., VANDERHAEGHE, H. (1973) : Preparation of trimethylsilyl derivatives of chloramphenicol for gas-liquid chromatography. *J. Chrom.*, **82**, 297-306.
- 74-JOHANNES, V. B., KÖRFER, K. H., SCHAD, J., ULBRICH, I.(1983):Bestimmung von chloramphenicol rückstanden in eBbaren gewebe.*Archiv für Lebensmittelhygiene*, **34**, 1-28.
- 75-JOOS, V. S., BAUM, F.(1986): Radioimmunologischer nachweis von chloramphenicol in eiern nach verfütterung an legehennenn. *Tierarztl. Umschau*, **41**, 220-225
- 76-JOY, R. J. T., SCALETTAR, R., SODEE, D. B.(1960): Optic and peripheral neuritis, probable effect of prolonged chloramphenicol therapy. *J. Am. Med. Assoc.*, **173(15)**, 185-188.
- 77-JULIAN, G. R.(1965): [<sup>14</sup>C]Lysine peptides synthesized in an in vitro *Escherichia coli* system in the presence of chloramphenicol. *J. Mol. Biol.*, **12**, 9-16.
- 78-KAYAALP, O.(1986): Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. *Cilt 1, Sayfa 693-701. Ulucan Matbaası, ANKARA.*
- 79-KNIGHT, A. P.(1981): Chloramphenicol therapy in large animals. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **178(3)**, 309-310.
- 80-KORSRUD, G. O., NATLOR, J. M., SALISBURY, C. D., MacNEIL, J. D. (1987): A comparison of three bioassay techniques for the detection of chloramphenicol residues in animal tissue. *J. Agric. Food Chem.*,**35**, 556-559.
- 81-KRISHNA, G., AYKAC, I., SIEGEL, D.(1981): Recent studies on the mechanism of chloramphenicol activation responsible for aplastic anemia. Safety problems related to chloramphenicol and thiamphenicol therapy. In:NAJEAN, Y.,TOGNONI, G., YUNIS, A. A. (Eds.): *Safety problems related to chloramphenicol and thiamphenicol therapy.*



- 82-KUCERS, A., BENNETT, N. McK.(1979): The use of antibiotics, a comprehensive review with clinical emphasis. Third Ed., William Heinemann Medical Books Ltd, LONDON.
- 83-LAURENSEN , J. J., NOUWS, J. F. M.(1990): Monitoring of chloramphenicol residues in muscle tissue by an immunoassay (La Carte test). *The Veterinary Quarterly*, 12(2), 121-123.
- 84-LEAST, C. J., WEIGAND, N. J., JOHNSON, G. F., SOLOMON, H. M.(1977) : Quantitative gas-chromatographic flame-ionization method for chloramphenicol in human serum. *Clin. Chem.*, 23(2), 220-222.
- 85-LEOPOLD, I. H., NICHOLS, A. C., VOGEL, A. W.(1950): Penetration of chloramphenicol U.S.P.(chloromycetin) into the eye. 43, 22-36.
- 86-LIM, L. O., YUNIS, A. A.(1983): Enzymatic reduction of chloramphenicol and nitrochloramphenicol by rat liver microzomal preparations. *Pharmacology*, 27, 58-64.
- 87-MANYAN, D. R., ARIMURA, G. K., YUNIS, A. A.(1975): Comparative metabolic effects of chloramphenicol analogues. *Mol. Pharm.*, 11,520-527.
- 88-MANYAN, D. R., ARIMURA, G. K., YUNIS, A. A.(1972):Chloramphenicol - induced erytroid suppression and bone marrow ferrochelataase activity in dogs. *J. Lab. Clin. Med.*, 79(1),137-144.
- 89-McCURDY, P. R.(1961): Chloramphenicol bone marrow toxicity, *J. Am. Med. Assoc.*, 176, 588.
- 90-McCURDY, P. R.(1963): Plasma concentration of chloramphenicol and bone marrow suppression. *Blood*, 21(3), 363-372.
- 91-MEISSNER, H. C., SMITH, A. L.(1979): The current status of chloramphenicol. *Pediatrics*, 64(3), 348-356.
- 92-MILHAUD, G.(1985): Les residues de chloramphenicol et leur toxicite. *Ann. Rec. Vet.*, 16(2), 133-148.
- 93-MITEMA, E. S., MUSEWE, V. O.(1984): Effects of chronic chloramphenicol administration on weight gains and serum cortisol levels in calves. *Br. Vet. J.*, 140, 437-443.
- 94-NAGAI, Y., MITSUASHI, S.(1972): New type of R factors incapable of inactivating chloramphenicol. *J. Bacteriol.*, 109(1), 1-7.
- 95-NAGAO, T., MAUER, A.(1969): Concordance for drug-induced aplastic anemia in identical twins. *N. Eng. J. Med.*, 281(1), 7-10.

- 96-NAKAGAWA, T., MASADA, M., UNO, T. (1975) :Gas chromatographic determination and gas chromatographic-mass spectrophotometric analysis of chloramphenicol, tiamphenicol and their metabolites. *J. Chrom.*, 111, 355-364.
- 97-NELSON, J. B., COPELAND, K. F. T., FORSTER, R. J., CAMPBELL, D.J., BLACK, W. D.(1983) : Sensitive gas-liquid method for chloramphenicol in animal tissue using electron capture detection. *J.Chrom.*,276, 438-444.
- 98-NIJMELJER, S. M., SAMURIWO, E., VAN DUIN, C. T. M., VAN MIERT,A. S. J. P. A. M.(1990): Oral chloramphenicol in dwarf goats-influence of vasopressin on its absorbtion and effect of diet on its biodegradation in ruminal fluid samples. *J. Vet.Pharma. Therap .*, 13, 408-414.
- 99-NOUWS, J. F. M., LAURENSEN, J. J.(1990): Monitoring of chloramphenicol residues by immunoassay (La Carte test). *TheVeterinary Quarterly*, 12(2), 121-123.
- 100-NOUWS, J. F. M., REEK, F., AERTS, M. M. L., BAAKMAN, M.,LAURENSEN, J.(1987): Monitoring slaughtered animals for chloramphenicol residues by an immunoassay test kit (Quik-Card). *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 38, 1-32.
- 101-OZAN, K.(1990): Kemoterapötik ilaçlar, Ders Notu, İ.Ü.Veteriner Fakültesi.
- 102-OKAMOTO, S., SUZUKI, Y.(1965): Chloramphenicol-,dihydro-streptomycin-, and kanamycin-inactivating enzymes from multiple drug-resistant E.Coli carrying episome "R". *Nature*, 208, 1301-1303
- 103-PAAPE, M.J., MILLER, R. H., ZIV, G.(1990): Effects of florfenikol, chloramphenicol, and thiamphenicol on phagocytosis, chemiluminescence, and morphology of bovine polymorphonuclear neutrophil leucocytes.*J. Dairy Sci.*,73, 1734-1744.
- 104-PAAPE, M.J., NICKERSON, S. C., ZIV, G.(1990): In vivo effects of chloramphenicol, tetracycline, and gentamycine on bovine neutrophil function and morphologic features. *Am. J. Vet. Res.*, 51(10), 1055-1061.
- 105-PAL, B., VERMA, B. B., KOY, B. K., BANERJEE, N. C.(1989):Chloramfenicol levels in blood and milk of healty and mastitic buffaloes after therapeutic administration. *Ind. J. Anim. Sci.*, 59(3), 365-366.
- 106-PARKER, R. M.,SHAW, I.C.(1988): Determination of chloramphenicol in tissue\_ problems with in vitro metabolism. *Analyst*, 113, 1875-1876.
- 107-PAZDERNIK, T. L., CORBETT, M. D.(1979): Effects of chloramphenicol reduction product on hemopoietic precursor cells in vitro. *Pharmacology*, 19, 191-195.

- 108-PETZ, V. M. (1984): Rückstände im ei nach behandlung von legehennen mit chloramphenicol und furazolidon. *Archiv für Lebens mittelnhygiene*, 35, 49-72.
- 109-POLAK, B. C. P., WESSELING, H., SCHUT, D., HERXHEIMER, A., MEYLER, L. (1972): Blood dyscrasias attributed to chloramphenicol. *Acta Med. Scan.*, 192, 409-414.
- 110-POWELL, D. A., NAHATA, M. C., DURRELL, D. C., GLAZER, J. P., HILTY, M. D. (1981): Interactions among chloramphenicol, phenytoin and phenobarbital in a pediatric patient. *J. Pediatr.*, 98(6), 1001-1003
- 111-RAO, V. R., CLARENBURG, R. (1977): Pharmacocinetics of intra-venously injected chloramphenicol in baby pigs. *Drug Met. Disp.*, 5(3), 253-258.
- 112-REBSTOCK, M. C., CROOKS, H. M., CONTROULIS, J., BARTZ, Q. R. (1949): Chloramphenicol (chloromycetine). IV. Chemical Studies. *J. Am. Chem. Soci.*, 71, 2458-2462.
- 113-ROSS, S., BURKE, F. G., SITES, J., RICE, J. C. (1950): Placental transmission of chloramphenicol (chloromycetine). *J. Am. Med. Assoc.*, 142(17), 1361.
- 114-RUBIN, D., WEISBERGER, A. S., CLARK, D. R. (1960): Early detection of drug induced erythropoietic depression. *J. Lab. Clin. Med.*, 56(3), 453-4662.
- 115-SANDERS, P., GUILLOT, P., MOUROT, D. (1988): Pharmacokinetics of long-acting chloramphenicol formulation administered by intra-muscular and subcutaneous routes in cattle. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 11, 183-190.
- 116-SALISBURY, C. D. C., RIGBY, C. E., CHAN, W. (1989): Determination of antibiotic residues in Canadian slaughter animals by thin-layer chromatography/bioautography. *J. Agric. Food Chem.*, 37, 105-108.
- 117-SCHERK, V. F., AGHTE, O. (1986): Rückstansuntersuchungen von hühnereiern auf chloramphenicol mittels radioimmunoassay. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 37, 129-156.
- 118-SCHMID, von A. (1983): Chloramphenicolrückstände in lebensmitteln tierischer herkunft als potentielle ursache der aplastischen anamie des menschen. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.*, 90, 201-246.
- 119-SCHWARZ, S., CARDOSO, M., BLOBEL, H. (1989): Plasmid-mediated resistance in *Staphylococcus hyicus*. *J. Gen. Microbiol.*, 135, 3329-3336.

- 120-SCHWARZER, V. C., DORN, P.(1987): Chloramphenicol-rückstände im eidotter nach behandlung von jung- und legehennen. Tierarztl. Umschau, 42, 897-902.
- 121-SCOTT, W. C., WARNER, R. F.(1950): Placental transfer of chloramphenicol (chloromycetin). J. Am. Med. Assoc., 142(17),31-32.
- 122-SETTEPANI, J. A.(1984): The hazard of using chloramphenicol in food animals. J. Am. Vet. Med. Assoc., 184(8), 930-931.
- 123-SHAW, W. V., BRODSKY, R. F.(1968): Characterization of chlor-amphenicol acetyltransferase from chloramphenicol resistant Stap.aureus.J.Bacteriol.,95(1), 28-36.
- 124-SHEWAG, S. E.(1964): Antibody formation in vitro by seperated spleen cells: Inhibition by actinomycin or chloramphenicol.Science, 146, 659-661.
- 125-SISOIDA, C. S.,(1980): Pharmacotherapeutics of chloramphenicol in veterinary medicine. J. Am. Vet. Med. Assoc., 176(10),1069-1071.
- 126-SINGER, C., KATZ, S. E.(1985): Microbiological assay for chloramphenicol residues. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 68(5),1037-1041.
- 127-SMICK, K. M., CONDIT, P. K., PROCTOR, R. L., SUTCHER, V.(1964):Fatal aplastic anemia, an epidemiological study of its relationship to the drug chloramphenicol. J. Chron. Dis., 17, 899-914.
- 128-SMILEY, R. K., CARTWRIGHT, G. E., WINTROBE, M. M.(1952): Fatal aplastic anemia following chloramphenicol (Chloromycetin) administration. J. Am. Med. Assoc., 149(10), 914-918.
- 129-STURGEON, P.(1952): Fatal aplastic anemia in children following chloramphenicol (chloromycetin) therapy. J. Am. Med. Assoc.,149(10), 918-921.
- 130-SUDHAN, N. A., THAKUR, D. K., VERMA, B. B.(1990): Hypersensitivity reaction in pigs due to chloramphenicol. Indian Vet. J., 67,559-560.
- 131-SUHRLAND, L. G., WEISBERGER, A. S.(1962): Hematologic toxicity of a chloramphenicol analogue. Am. J. Med. Sci.,243, 54-60.
- 132-SUZUKI, Y., OKAMOTO, S., KONO, M.(1966): Basis of chlor-amphenicol resistance in naturally isolated resistant Staphylococci. J. Bacteri., 92(3), 798-799.
- 133-ŞANLI, Y.(1988): Veteriner farmakoloji, Kemoterapötik ilaçlar, A.Ü.Veteriner Fakültesi Yayınları, No:412, Ders kitabı.A.Ü.Basımevi, ANKARA.
- 134-ŞENER, S.(1992): Veteriner farmakoloji ve klinik formüller.Pethask Yayınları No:1, Gebze-KOCAELİ.

- 135-TURK, J. L.(1972): Immunology in clinical medicine. 2nd Edition, William Heinemann Medical Books Limited, LONDON.
- 136-VASQUEZ, D.(1964): Uptake and binding of chloramphenicol by sensitive and resistant organism. *Nature*, 203, 257-258.
- 137-WAL, J. M., PELERAN, J. C., BORIES, G. (1979): Electron Capture Detection of chloramphenicol using a heptafluorobutyrate derivative , application to residues in milk . *J. Chrom.*, 168,179-185.
- 138-WALLERSTEIN, R. O.,CONDIT, P. K, KASPER, C. K, BROWN, J. W.,MORRISON, F. R.(1969): Statewide study of chloramphenicol therapy and fatal aplastic anemia .*J. Am. Med. Assoc.*, 208(11), 2045-2050.
- 139-WAN DE WATER, C., HAAGSMA, N.(1990): Sensitive streptavidin-biotin enzyme-linked immunosorbent assay for rapid screening of chloramphenicol residues in swine muscle tissue. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73(4), 534-540.
- 140-WAN DE WATER, C., HAAGSMA, N.(1991): Analysis of chlor-amphenicol residues in swine tissues and milk: comparative study using different screening and quantitative methods. *J.Chrom.*,566, 173-185.
- 141-WATSON, A. D. J.(1991): Chloramphenicol 2.Clinical pharmacology in dogs and cats. *Aust. Vet. J.*, 68(1), 2-5.
- 142-WATSON, A. D. J.,McDONALD, P. J.(1976): Distribution of chloramphenicol in some tissue and extravascular fluids of dogs after oral administration. *Am. J. Vet. Res.*, 37(5), 557-559.
- 143-WATSON, A. D. J., MIDDLETON, D. J.(1978): Chloramphenicol toxicosis in cats. *Am. J. Vet. Res.*, 39(7), 1199-1203.
- 144-WEBER, L. (1990): Trace analysis of chloramphenicol residues in egg powders by capillary gas chromatography-electron capture detection, *J. Chrom. Sci.*, 28, 501-504.
- 145-WEISBERGER, A. S., DANIEL, T. M.(1969): Suppresssion of antibody synthesis by chloramphenicol analogs. *Proc. Soc. Exp.Biol. Med.*, 131, 570-575.
- 146-WEISBERGER, A. S., WOLFE, S.(1964): Effect of chloramphenicol on protein synthesis. *Federation Proceedings*, 23, 976-983.
- 147-WEISS, C. F., GLASKO, A. J., WESTON, J. K.(1960):Chloramphenicol in newborn infant, A physiologic explanation of its toxicity when excessive doses. *New Eng. J. Med.*, 262(16),787-794.
- 148-WHO (1968): Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: Some antibiotics.Technical Report Series No: 430, GENEVA.

- 149-WHO (1973): Long-term programme in environmental pollution control in Europe, Control of harmful residues in food for human and animal consumption, The public health aspects of antibiotics in feedstuffs. Bremen, 1-5 October, Regional Office for Europe, COPENHAGEN.
- 150-WHO (1988): Evaluation of certain veterinary drugs residues in food. Thirty-second Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Technical Report Series No:32, GENEVA.
- 151-WISSEMAN, C. L., SMADEL, J. E., HAHN, F. E., HOPPS, H. E. (1954): Mode of action of chloramphenicol, I. Action of chloramphenicol on assimilation of ammonia and on synthesis of proteins and nucleic acids in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, **67**, 662-673.
- 152-WOLFE, A. D., HAHN, F. E. (1964): Studies on chloramphenicol, ribosomes, and an amino acid-incorporation system of *E. coli* origin. *Federation Proceedings*, **23**, 269.
- 153-YOXALL, A. T., HIRD, J. F. R. (1979): Pharmacological basis of small animals medicine (1st Ed.), Blackwell Scientific Publication. England.
- 154-YUNIS, A. A. (1960): Patterns of inhibition by chloramphenicol of nucleic acid synthesis in human bone marrow and leucemic cells. *J. Lab. Clin. Med.*, **56**(6), 831-838.
- 155-YUNIS, A. A. (1978): Pathogenic mechanism in bone marrow suppression from chloramphenicol and thiamphenicol. In: HIBINO, S., TAKAKU, F., SHAHIDI, N. T. (Eds.): *Aplastic anemia*, pp.333, Baltimore, London, Tokyo Univ. Park Press.
- 156-YUNIS, A. A. (1981): Chloramphenicol toxicity and the role of the p-NO<sub>2</sub> in aplastic anemia. In: NAJEAN, Y., TOGNONI, G., YUNIS, A. A. (Eds.): *Safety problems related to chloramphenicol and thiamphenicol therapy*. New York. Raven.
- 157-YUNIS, A. A. (1984): Differential in-vitro toxicity of chloramphenicol, nitroso-chloramphenicol, and thiamphenicol. *Sex. Trans. Dis.*, **11**(4) Supp., 340-342.
- 158-YUNIS, A. A., ARIMURA, G. K., ISILDAR, M. (1987): DNA damage induced by chloramphenicol and its nitroso derivative: Damage in intact cells. *Am. J. Hematol.*, **24**, 77-84.
- 159-YUNIS, A. A., BLOOMBERG, G. R. (1964): Chloramphenicol toxicity: Clinical features and pathogenesis. *Progress in hematology*, **4**, 138-159.
- 160-YUNIS, A. A., MANYAN, D. R., ARIMURA, G. K. (1973): Comparative effect of chloramphenicol and thiamphenicol on DNA and mitochondrial protein synthesis in mammalian cells. *J. Lab. Clin. Med.*, **81**(5), 713-718.

## 9. ÖZ GEÇMİŞ

1962 yılında Ordu'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi İstanbul'da tamamladım. 1980 yılında girdiğim İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 1985 yılında mezun oldum.

1987 yılında aynı fakültenin Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak göreve başladım ve aynı yıl güz döneminde doktora sınavını kazanarak doktora başladım.

Halen İ.Ü.Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.