

Sağıtım Dozlarında Uygulanan Bazı Sulfonamidlerin Alabalıkların (Oncorhynchus mykiss) Yenilebilir Dokularında Kalıntı Düzeyleri ile Vücuttan Atılma Sürelerinin Belirlenmesi¹

İdris TÜREL²

Orhan YILMAZ²

Özet

Bu çalışmada, Gökkuşığı alabalıklarında tedavi amacıyla kullanılan sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksinin dokularındaki kalıntı düzeylerinin ne kadar zamanda tolerans limitlerinin altına düştüğü, ilaç uygulamasından ne kadar süre sonra tüketime sunulması gerektiği ve sulfonamid grubu ilaçlar uygulandığı zaman dokularda hangi düzeylerde bulunduğu Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile araştırılmıştır. Gökkuşığı alabalıkları 3 ay süreyle su ortamına ve yeme alıştırdıktan sonra canlı ağırlıkları tartılarak, grup ortalamaları birbirine yakın olacak şekilde 180 adet balık, her grupta 36 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Grubun herbirine bir sulfonamid türevi 200 mg/kg/gün dozunda 14 gün süreyle uygulandı.

Balıklar, en son ilaç uygulamasından sonra 1., 3., 5., 7., 9., 11., 13., 15., 17., 19. ve 21 günlerde üçerli gruplar halinde alınarak kas dokuları blenderde parçalanarak homojen hale getirildi. Bu örneklerin ekstraksiyon işleminden sonra, sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksinin kas dokusundaki dağılımları Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Metoduyla tesbit edildi.

Sulfadiazin (0.097 ± 0.01 ppm), sulfamerazin (0.1 ± 0.02 ppm), sulfametazin (0.07 ± 0.02 ppm) ve sulfametoksazol (0.081 ± 0.043 ppm) 11. günde, sulfadimetoksinin ise (0.095 ± 0.02 ppm) 7. günde tolerans limitinin altına indiği saptandı. Gökkuşığı alabalığı kas dokusunda sulfadiazin 17. günde 0.018 ± 0.003 ppm, sulfamerazin 19. günde 0.01 ± 0.002 ppm, sulfametazin 17. günde 0.01 ± 0.001 ppm, sulfametoksazol 15. günde 0.004 ± 0.001 ve sulfadimetoksin ise 11. günde 0.003 ± 0.0005 ppm düzeyinde belirlendi.

Gökkuşığı alabalıklarının sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin ve sulfametoksazol için 11. günden, sulfadimetoksin için ise 7. günden sonra tüketime sunulabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Sıvı kromatografisi, Sulfonamidler, İlaç kalıntıları, Gökkuşığı alabalığı

Summary

The determination of residues in edible tissues and withdrawal times of some sulfanamides, administered with therepetic doses to Rainbow trout

In this study, sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole and sulfadimethoxine were applied to the rainbow trouts. How long it takes to lower below tolerance limits for the resudue levels accumulated in tissues, consumption time after medication, and accurance levels of sulfonamide group in tissues were researched by using HPLC. The experimental rainbow trouts were adapted for the feed and water conditious for a period of three months. After their body were weighed and total 180 rainbow trouts were devided into five groups. Each group contained 36 fishes. Each group was treated with a sulfonamide derivative (200 mg/kg/day) for 14 days.

After the latest application of medicines, live fish samples were taken on 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 and 21 days, and their muscle tissue were homogenized with blender. After extraction process of the samples, distributions of sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole and sulfadimethoxine in muscle tissue were determined by HPLC.

It was found that tolerance limits of sulfadiazine (0.097 ± 0.01 ppm), sulfamerazine (0.100 ± 0.02 ppm), sulfamethazine (0.070 ± 0.02 ppm) and sulfamethoxazole (0.081 ± 0.04 ppm) lowered on 11th day. However, tolerance limit of sulfadimethoxine (0.095 ± 0.02 ppm) lowered on 7th day. Sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine, sulfamethoxazole and sulfadimethoxine were determined as 0.018 ± 0.003 ppm on 17th day, 0.010 ± 0.02 ppm on 19th day, 0.010 ± 0.001 ppm on 17th day, 0.004 ± 0.001 ppm on 15th day and as 0.003 ± 0.0005 ppm on 11th day in the tissue of rainbow trouts, respectively.

It was also determined that the rainbow trouts would be able to be consumed after 11th day in terms of sulfadiazine, sulfamerazine, sulfamethazine and sulfamethoxazole. Nevertheless, it was after 7th day for sulfadimethoxine.

Key words: Liquid chromatography, Sulfonamides, Drug residues, Rainbow trout

¹Bu çalışma, Y.Y.Ü. Araştırma Fonu tarafından desteklenen doktora tezinden özetlenmiştir. (Proje No: 97-VF-004)

²Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, VAN

Giriş

Günümüzde insanların karşılaştığı en büyük sorunlardan biri de beslenme sorunudur. Bu nedenle yeni gıda kaynakları araştırılmaktadır. Gıda maddesi açığının kapatılması için deniz ürünlerinin değerlendirilmesi ve bu ürünlerin gıda olarak kullanılması için yoğun çalışmalar sürdürülmektedir.

Doğal olarak mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen ve çoğu sentetik olarak hazırlanan, bakterilerin çoğalmasını önleyen ya da onları öldürebilen antibakteriyel ilaçlar, beşeri ve veteriner hekimlikte hastalıkların sağaltılması veya önlenmesinde kullanılırlar. İlk kez 1949 yılında az miktarda yeme katılarak verilen bazı antibiyotiklerin domuz ve piliçlerde büyümeyi hızlandırdıkları anlaşılmıştır. Bundan sonra çok sayıda antibakteriyel madde, gelişmeyi hızlandırıcı özellikleri bakımından denenmiştir (1). Hastalık, kültür balıkçılığının yoğun olduğu işletmelerde kaçınılmaz bir faktördür ve kültürü yapılmış türlerin üretimi ve sağlıklarının sürdürülebilmesi için antibakteriyel ve diğer tedavi edici ajanların kullanılması zorunludur (2-7).

Patojen mikroorganizmalar suda, havaya göre çok daha hızlı ve kolay yayılır ve taşınırlar. Yaşama ortamı olarak su, biyolojik ve kimyasal özellikleri bakımından daha karmaşıktır; suda oksijenin elverişliliği ve alınabilirliği daha düşüktür. Balıkların ve patojenlerin su ortamındaki sıcaklığa bağlılıkları, hastalıkların sabit bir inkübasyon zamanına sahip olmayışları gerçeğini gündeme getirmektedir. Çevresel etkiler, su ortamında çok yüksek seviyededir ve inkübasyon süresi değişim gösterir (8).

Kültür balıkçılığının yapıldığı işletmelerde sulfonamidler, Mycobacterium spp, Nocardia spp, Renibacterium salmoninarum, Aeromonas salmonicida, Edwardsiella tarda, Edwardsiella ictaluri, Proteus rettgeri, Flexibacter columnaris, Vibrio anguillarum, Vibrio ordalli ve Pseudomonas spp bakterilerinin sebep olduğu enfeksiyonlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (4,9,10).

İlaçların aşırı dozda uygulanmalarından veya kabul edilen ilaç atılma zamanına uyulmaması sonucu sulfonamid kalıntılarını içeren balık etlerinin, tüketici olan insanlar üzerinde bir sağlık riski oluşturacağı, aynı zamanda spesifik patojen mikroorganizmalarda da direnç gelişimine yol açacağı düşünülmektedir (4,11,12).

Bununla birlikte antibakteriyel ajanların kullanımı, kültür balıklarında ilaç kalıntı problemleri için potansiyel bir tehlike arz etmektedir (2).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, sulfametazinin karsinojenik (tiroid kanseri) bir etkiye sahip olabileceği kuşkusunu artırmaktadır (13-17).

Türkiye geneline yaygınlaşan alabalık işletmelerinde, koruyucu ve sağıtıcı amaçla yaygın olarak sulfonamidler kullanılmaktadır. Balıkların yemlerine katılarak veya parenteral olarak sağıtıcı ya da koruyucu amaçla verilen sulfonamidler önerilen şekilde kullanılmadıklarında, ilaç uygulanan balıkların yenilebilir dokularında ve bunlardan elde edilen ürünlerde kalıntı bırakırlar. Böyle sulfonamid kalıntıları içeren besin maddeleri, insan tüketimi için uygun değildir (18). Zira, et ve diğer hayvansal ürünlerde bulunabilecek çok az miktardaki sulfonamid kalıntıları, insanlarda allerjik reaksiyonlara ve ilaçlara dirençli bakterilerin şekillenmesine neden olurlar (13,18).

FDA (Food and Drug Administration), sulfonamidlerin yenilebilir dokulardaki tolerans düzeylerini 0.1 ppm olarak belirlemiştir (2,3,14,19).

Bu çalışmada, Gökkuşluğu alabalığı (Oncorhynchus mykiss - Rainbow trout) dokularında sulfonamid kalıntı düzeylerinin, ne kadar zamanda tolerans limitlerinin altına düştüğünün; ilaç uygulamasından ne kadar süre sonra tüketime sunulması gerektiğinin ve sulfonamid grubu ilaçlar uygulandığı zaman dokularda hangi düzeylerde bulunduğunun saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal:

Sulfonamid standartları: Sulfadiazin (Sigma), Sulfamerazin (Sigma), Sulfametazin (Sigma), Sulfametoksazol (Sigma), Sulfadimetoksin (Sigma)

Kimyasal maddeler: Sodyum hidroksid (Merck), Asetonitril (Merck LiChrosolv), Dikloro metan (Merck LiChrosolv), n-Hekzan (Merck LiChrosolv), Aseton (Merck LiChrosolv), Fosforik asit %35 (Carlo Erba), di-Sodyum hidrojen fosfat anhidr (Merck), Triklorasetik asit (Merck).

Aletler: Cecil marka Ultraviyole (UV) dedektörlü Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC), C-R3A Chromatopac (Shimadzu), ODS kolon, Degase cihazı (Millipore), Blender (Arçelik), Çalkalayıcı (Gerhardt), pH metre (Nel), Santrifüj cihazı (Heraeus SEPATECH, Minifuge RF), Terazi (Sartorius)

Metot:

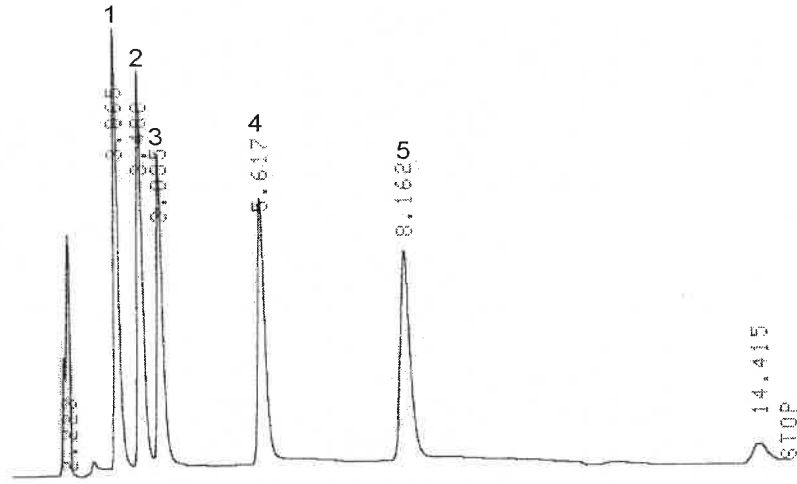
Gökkuşığı alabalıkları 3 ay süreyle su ortamına ve yeme alıştırdıktan sonra canlı ağırlıkları tartılarak, grup ortalamaları birbirine yakın olacak şekilde 180 adet balık, her grupta 36 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Grubun herbirine bir sulfonamid türevi 200 mg/kg/gün dozunda 14 gün süreyle uygulandı.

Balıklar, en son ilaç uygulamasından sonra 1., 3., 5., 7., 9., 11., 13., 15., 17., 19. ve 21 günlerde üçerli gruplar halinde alınarak kas dokuları blenderde parçalanarak homojen hale getirildi. Bu örneklerin ekstraksiyon işleminden sonra, sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksinin kas dokusundaki dağılımları Hormazabal ve arkadaşlarının (20) kullandıkları Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi Metodu modifiye edilerek tesbit edilmiştir.

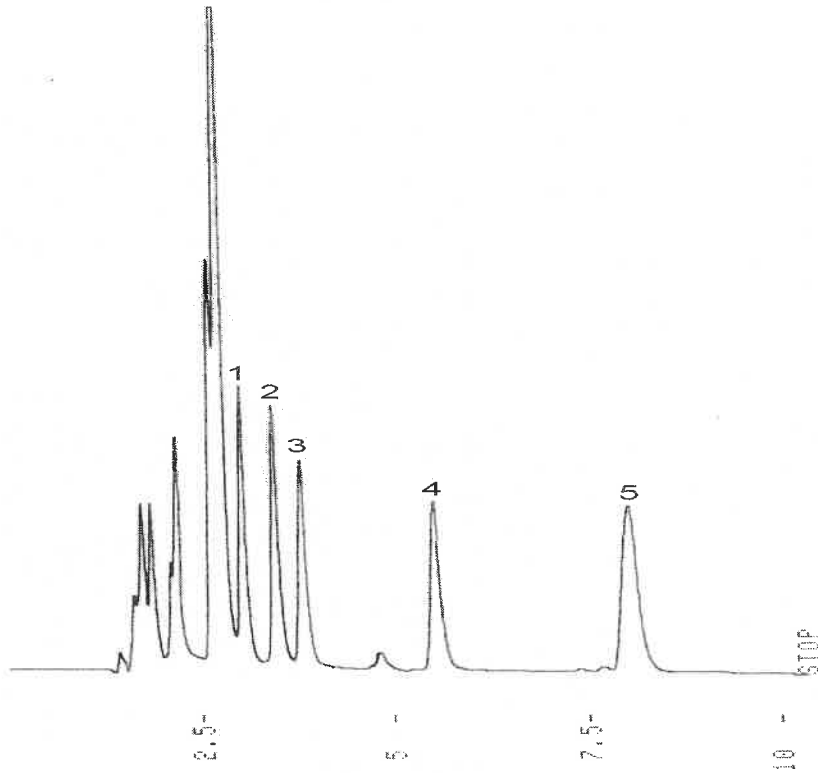
Kromatografik şartlar: Mobil faz: Asetonitril - 0.017 M H₃PO₄, (30:70, v/v), Akış hızı: 1.4 ml/dk., Rekorder: 8 mm/dk., Dalga boyu: Bütün standartlar için 270 nm.

Standartların hazırlanması: Sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksin standartları karışımı 20 µl'de 20 ng olacak şekilde hazırlandı. Standart karışımından 20 µl HPLC'ye enjekte edilerek standart pikleri alındı. Elde edilen kromatogram Şekil 1'de gösterilmiştir.

Balık kas dokusuna 1 ppm standart katılarak ekstraksiyon ve temizleme işlemine tabi tutuldu. Elde edilen eluatın 20 µl'si Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisine enjekte edilerek elde edilen piklerin alanlarına göre kalibrasyon yapıldı. Elde edilen kromatogram Şekil 2'de verilmiştir. Bundan sonra numunelerin okunmasına geçildi.



Şekil 1: Sulfadiazin (1), sulfamerazin (2), sulfametazin (3), sulfametoksazol (4) ve sulfadimetoksinin (5) 20 ng miktarlarındaki miks standart çözeltisi ile elde edilen kromatogram.



Şekil 2: Sulfadiazin (1), sulfamerazin (2), sulfametazin (3), sulfametoksazol (4) ve sulfadimetoksin (5) katılmış balık dokusundan elde edilen kromatogram.

Bulgular

Tablo 1. Balık kas dokusunda saptanan sulfonamid türevlerinin günlere göre dağılımı (ppm)

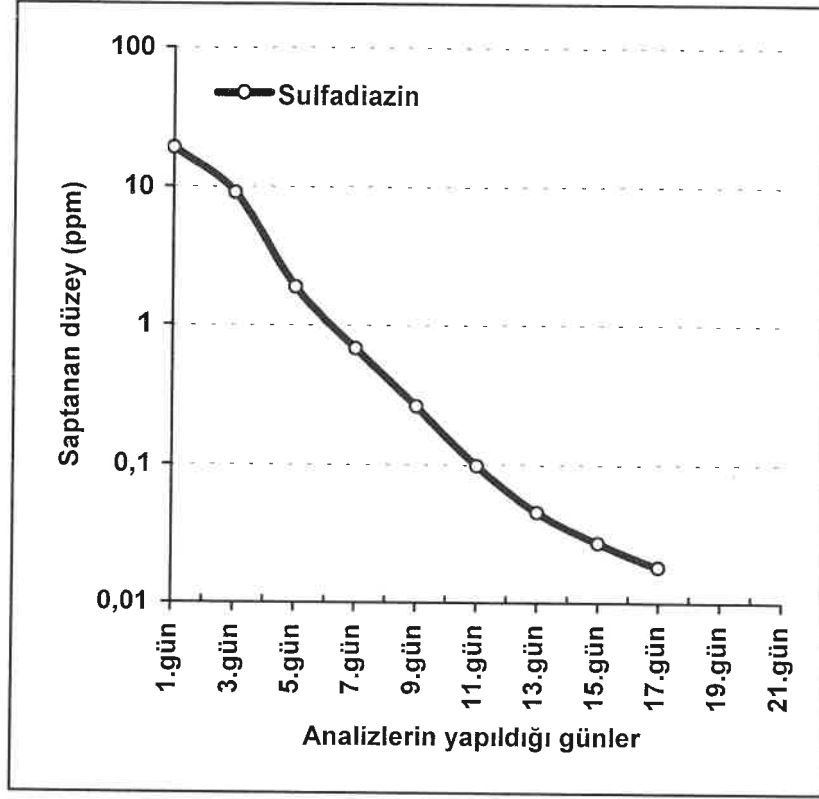
Günler	Sulfadiazin	Sulfamerazin	Sulfametazin	Sulfametoksazol	Sulfadimetoksin
1.gün	18.90±1.76	29.46±1.035	71.94±5.02	100.08±4.01	21.55±2.66
3.gün	8.94±0.18	15.76±0.80	55.63±5.76	58.44±21.77	18.54±0.40
5.gün	1.87±0.29	2.70±0.24	6.64±1.02	23.37±1.14	1.03±0.38
7.gün	0.68±0.16	0.84±0.19	0.57±0.06	9.24±0.93	0.095±0.02
9.gün	0.26±0.09	0.4±0.09	0.32±0.04	1.81±1.55	0.065±0.02
11.gün	0.097±0.01	0.1±0.02	0.07±0.02	0.081±0.043	0.003±0.0005
13.gün	0.045±0.01	0.05±0.007	0.048±0.005	0.020±0.008	Saptanamadı
15.gün	0.027±0.001	0.029±0.001	0.024±0.003	0.004±0.001	Saptanamadı
17.gün	0.018±0.003	0.017±0.001	0.010±0.001	Saptanamadı	Saptanamadı
19.gün	Saptanamadı	0.01±0.002	Saptanamadı	Saptanamadı	Saptanamadı
21.gün	Saptanamadı	Saptanamadı	Saptanamadı	Saptanamadı	Saptanamadı

Balık kas dokusunda saptanan sulfonamid kalıntıları

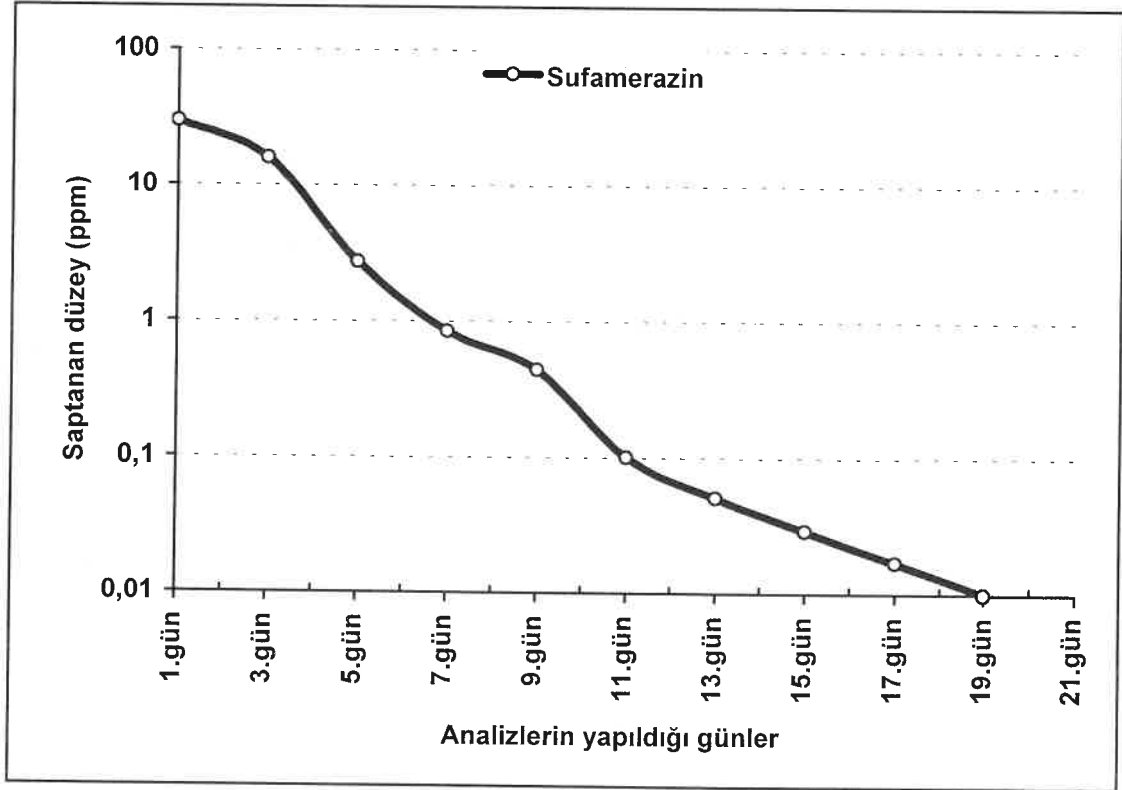
Sağıtım dozunda 14 gün sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksin uygulanmış Gökkuşığı alabalıklarında, deneme sonunda kas dokusunda saptanan sulfonamid türevlerinin günlere göre dağılımı Tablo 1'de verilmiştir.

Deneme sonunda Gökkuşığı alabalıklarının kas dokusunda saptanan sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksinin günlere göre dağılımı Şekil 3, 4, 5, 6 ve 7'de gösterilmiştir.

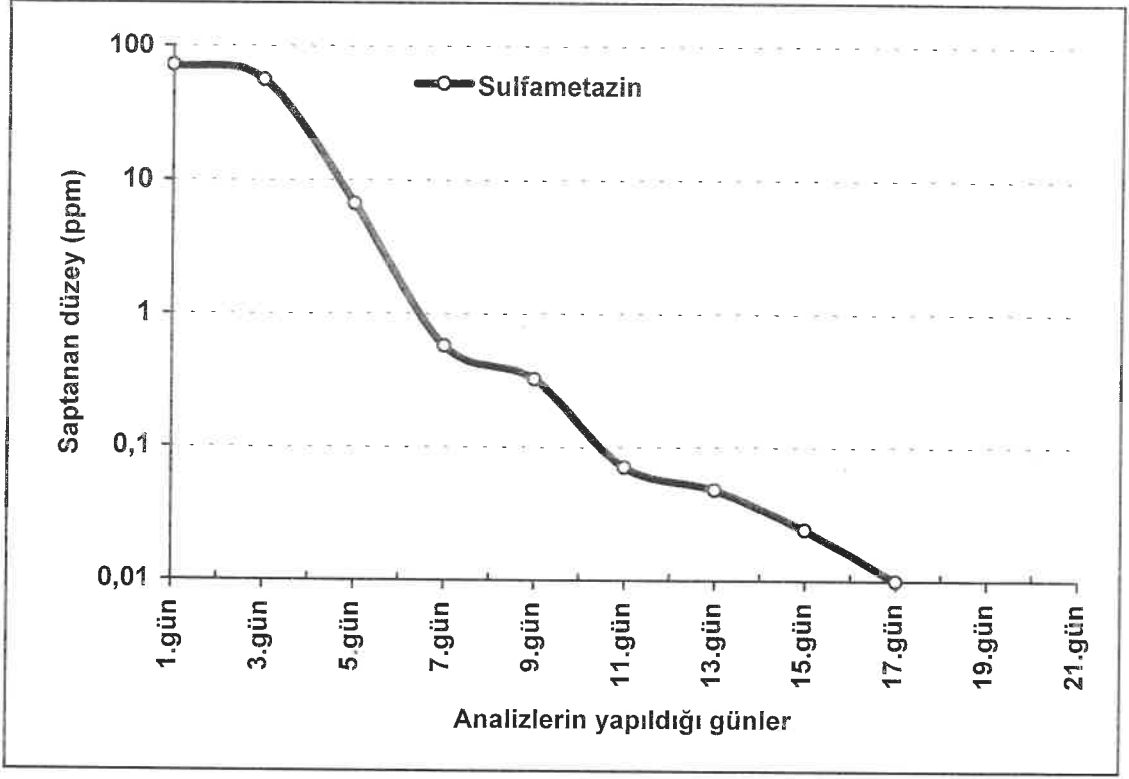
Balık kas doku örneklerinde saptanan sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksinine ait kromatogramlar Şekil 8, 9, 10, 11 ve 12'de verilmiştir.



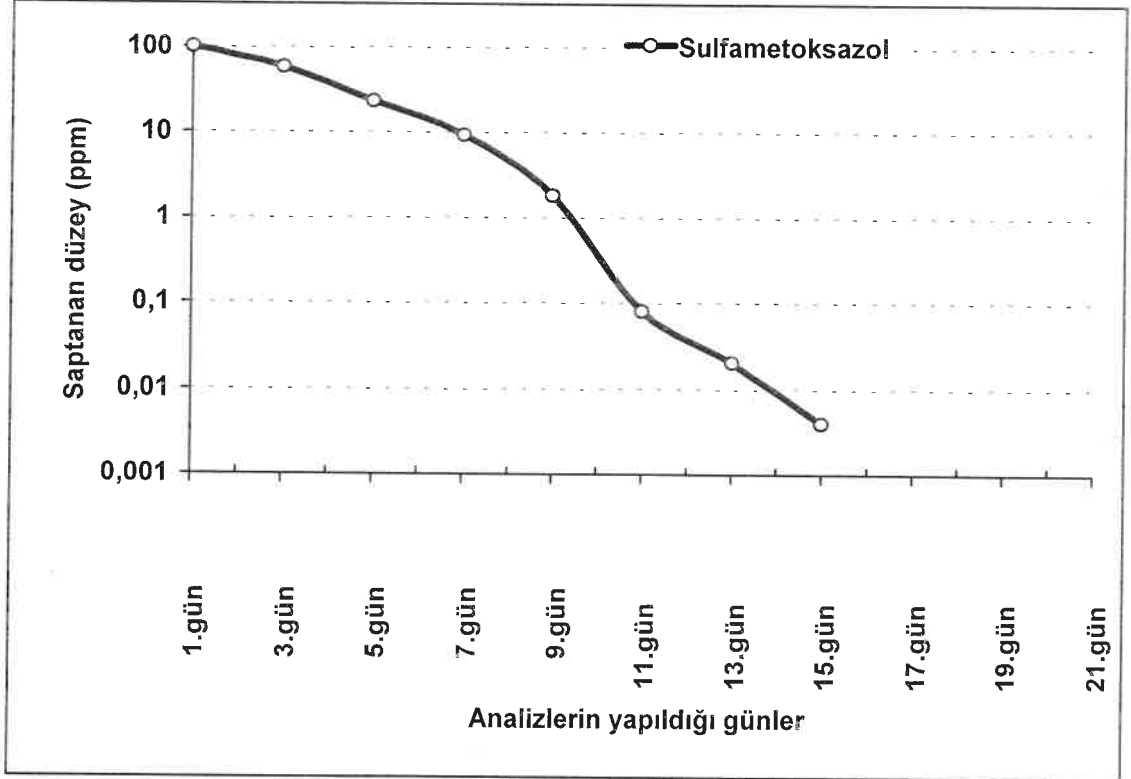
Şekil 3: Sulfadiazin düzeylerinin günlere göre dağılımı.



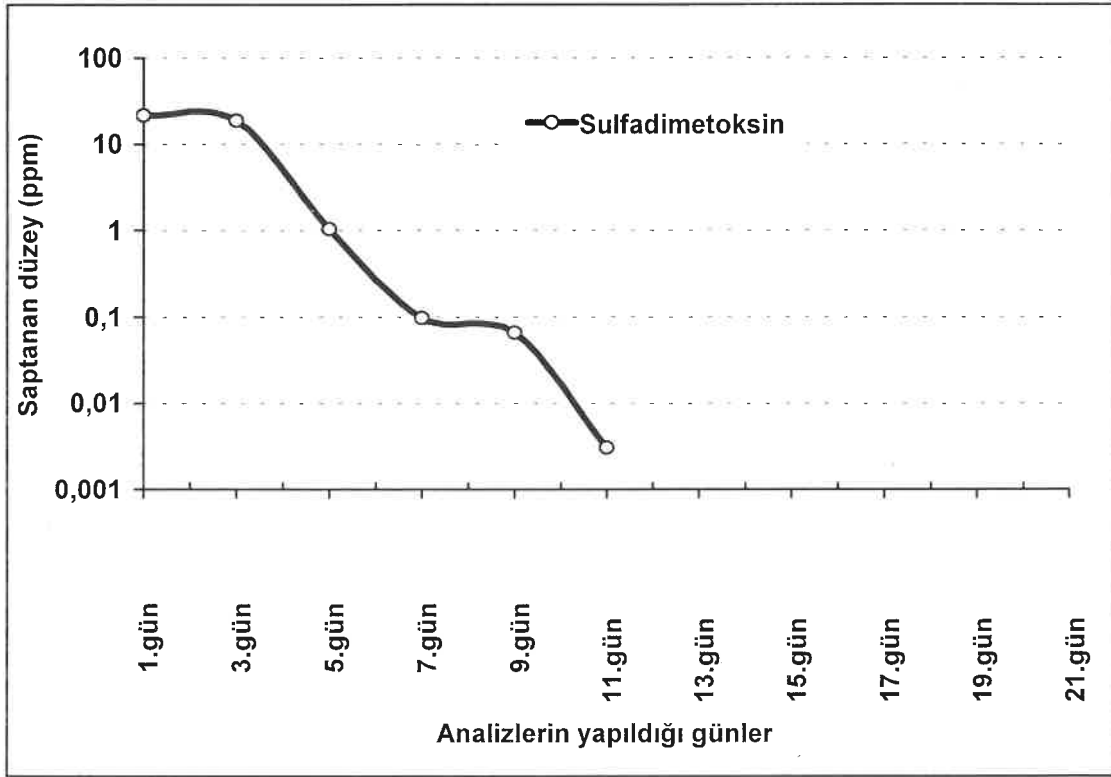
Şekil 4: Sulfamerazin düzeylerinin günlere göre dağılımı.



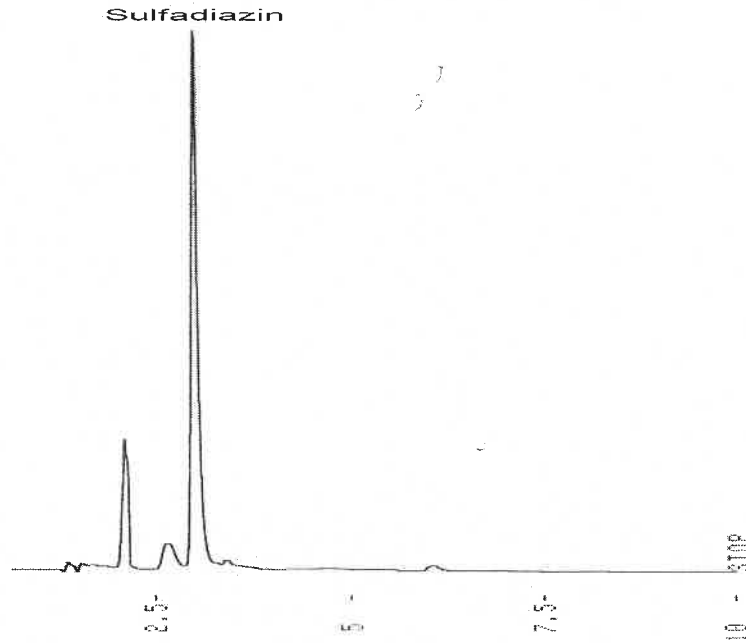
Şekil 5: Sulfametazin düzeylerinin günlere göre dağılımı.



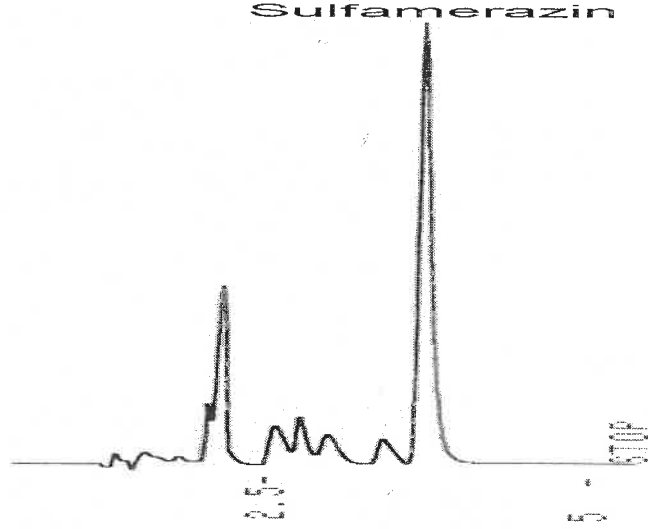
Şekil 6: Sulfametoksazol düzeylerinin günlere göre dağılımı.



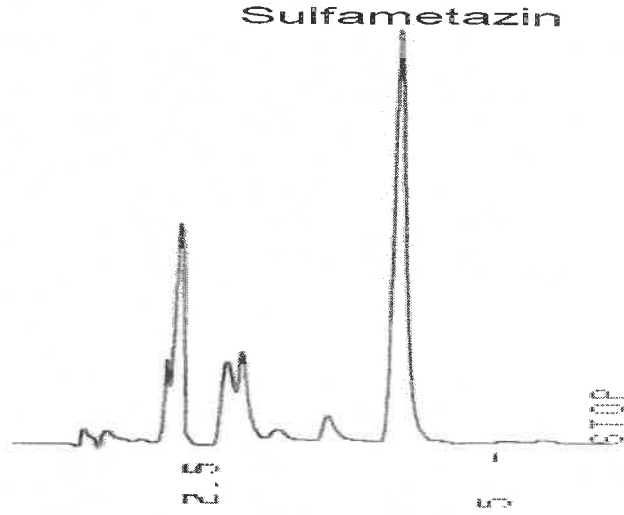
Şekil 7: Sulfadimetoksin düzeylerinin günlere göre dağılımı.



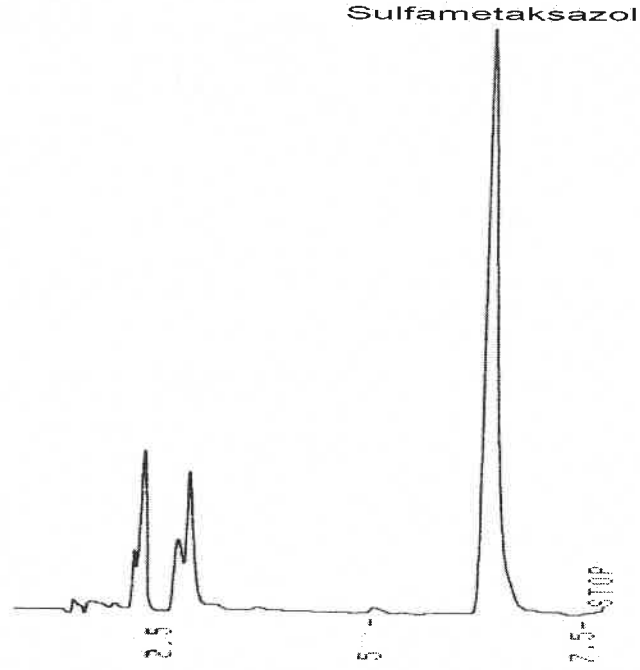
Şekil 8: Balık kas doku örneklerinde saptanan sulfadiazin kromatogramına örnek.



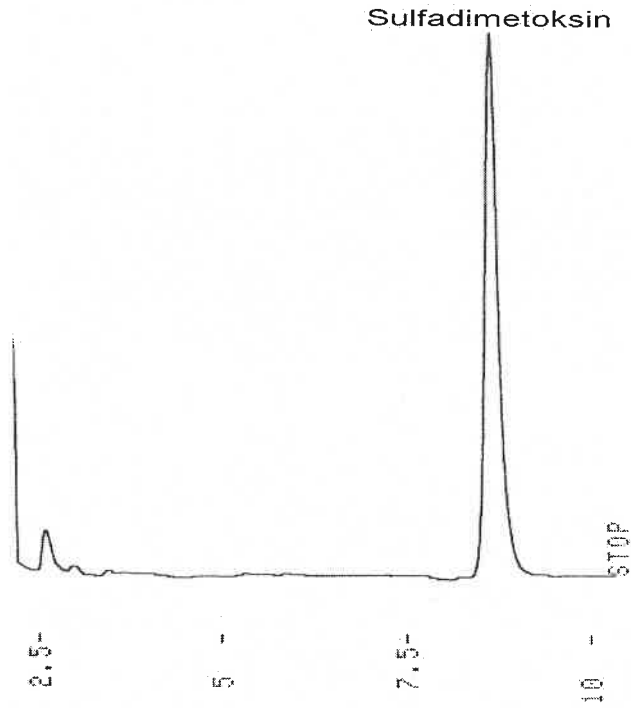
Şekil 9: Balık kas doku örneklerinde saptanan sulfamerazin kromatogramına örnek.



Şekil 10: Balık kas doku örneklerinde saptanan sulfametazin kromatogramına örnek



Şekil 11: Balık kas doku örneklerinde saptanan sulfametaksazol kromatogramına örnek.



Şekil 12: Balık kas doku örneklerinde saptanan sulfadimetoksin kromatogramına örnek.

Tartışma ve Sonuç

Hayvansal besinlere yansıyan antibakteriyel ilaç kalıntılarının tüketici insanlarda başlıca akut ve kronik toksisite, allerjik, teratojenik, mutajenik ve karsinojenik etki riski yaratmasından kaynaklanan sakıncalar söz konusu olur. Antibakteriyel ilaçlar hayvansal besinlere yansıyan kalıntılarıyla çok yönlü toksisite riski yaratması bakımından çok önemli bir konuma sahiptir. Dolayısıyla hemen her tür hayvansal besinde endüstriyel ölçekte ve yaygın nitelikli kirlenme kaynağı oluşturabilir. Ayrıca antibakteriyel ilaç çeşitleri biyolojik yönden çok etkin oldukları için, çok düşük kalıntı düzeylerinde bile sağlık sakıncası oluşturabilir (21-26).

Tüketime sunulan hayvansal gıdalarda, insan sağlığı açısından ihmal edilemeyecek sıklıkta ve boyutlarda özgün bileşik ve etkin metabolitler halinde sulfonamid türevi kalıntılarının bulunabileceği anlaşılmıştır. Besinlere yansıyan veya hayvan dışkılarıyla çevreye yayılan sulfonamid türevleri ve etkin metabolitleri ısıl işlemlere ve çevre koşullarına çok dayanıklı olduklarından, özellikle besin ve çevre kirlenmesi yönünden önem taşırlar (25).

İnsanlar arasında sulfonamid türevlerine karşı aşırı duyarlılık yönünden önemli bireysel ayrımlar bulunmaktadır. Bununla beraber gerek sağıtım amacıyla ve gerekse besin kirliliği halinde sulfonamid alımına bağlı olarak, sulfonamidlere maruz kalan insanlarda % 1.5-2 sıklıkla çeşitli deri ve mukoz membran lezyonları ile serum hastalığı şeklinde sulfonamid allerjilerinin gelişebileceği anlaşılmıştır. Ayrıca, önceden sulfonamidlere duyarlı hale gelmiş bireylerde anafilaktoid tipte reaksiyon gelişebileceğine ilişkin raporlar bulunmaktadır (12,23,24,25).

Long ve arkadaşları da (15) antibakteriyel ilaçlarla sağıtılan hayvanlardan elde edilen ürünlerin maksimum kalıntı limitleri saptansa dahi, piyasadaki bu ürünlerde ilaç kalıntılarının bulunmadığının kabul edilemeyeceğini belirtmektedirler.

FDA, ABD'inde kültür balıkçılığının önemli bir kısmını oluşturan Kanal Yayın balıklarındaki sulfadimetoksin kalıntıları için tolerans limitini 100 ng/g olarak belirlemiştir (2,3).

Avustralya'da sığır ve domuz kas dokusunda, sulfametazin ve sulfadiazin için maksimum kalıntı limiti 0.1 ppm olarak kabul edilmiştir (29).

Kanada ve ABD'de Som balığını da içine alan yenilebilir hayvansal dokularda sulfonamidler için resmi tolerans limitinin, 0.1 ppm olduğuna dikkat çekilmiştir (4).

Belçika ve Japonya'da, yenilebilir hayvan dokularında sulfonamidler için sıfır tolerans düzeyi kabul edilmektedir (17,30,31). ABD, İsviçre ve İngiltere'de yasal düzenlemelere göre yenilebilir hayvan dokularında 0.1 ppm sulfonamid kalıntılarını tolerans düzeyleri olarak kabul etmektedir (17). Bu tolerans düzeyleri aynı zamanda Avrupa Ekonomik Topluluğu tarafından da kabul edilmektedir (27,28).

Sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksin uygulanmış Gökkuşluğu alabalıklarının kas dokusunda tesbit edilen sulfonamid kalıntılarının günlere göre dağılımı Tablo 6.1.1'de verilmiştir. Deneme sonunda sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin ve sulfametaksazolun 11. günde, sulfadimetoksinin ise 7. günde tolerans limitinin altına indiği saptanmıştır.

Bazı araştırmacılar Kanal Yayın balıklarında ve Som balıklarında sağıtım dozunda kullanılan sulfadimetoksinin vücuttan atılma periyodunu sırasıyla 3 gün ve 6 hafta olarak saptamışlardır (4,6). Sulfonamid uygulamasının durdurulmasını takiben balıkların 15 gün geçmeden (32,33), alabalıkların sulfametazin için 21 gün geçmeden (34) tüketime sunulmaması gerektiği bildirilmiştir. Bununla birlikte su sıcaklığı ve ilaç katılan yemlerin alımındaki değişimi içine alan bazı faktörler, en fazla ilaç uygulanmış balıkların kas dokularındaki sulfadimetoksin kalıntı seviyesini etkileyebilir (6).

Nizamlıoğlu (35) tarafından Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile yapılan çalışmada, Broyler piliçlerinin kırmızı kas dokusundaki sulfadoksinin 6. günde tolerans limitinin altına düştüğü belirlenmiştir.

Tarafımızdan yapılan bu çalışmada ise, balık kas dokusunda sulfadiazin 17. günde 18 ppb, sulfamerazin 19. günde 10 ppb, sulfametazin 17. günde 10 ppb, sulfametaksazol 15. günde 4 ppb, sulfadimetoksin ise 11. günde 3 ppb düzeyinde saptanmıştır.

Araştırmacılar HPLC ile yapmış oldukları sulfonamid analizlerinde saptama limitini et, süt ve yumurtada 2 ppb (14,36), 2-20 ppb (37), 10-20 ppb (29,38); balda 50 ppb (39); sütte 5 ppb (40), 10 ppb (41,42); hayvan yemlerinde 20 ppb (43) olarak saptanmıştır.

Kitts ve arkadaşları (4), Som balıklarına 5 gün süreyle 40 mg/kg dozda Romet-30 (sulfadimetoksin: ormetoprim, 5: 1) uygulayarak yaptıkları bir çalışmada HPLC ile Charm II test metodunu karşılaştırmışlardır. Sulfadimetoksin için elde edilen sonuçlar sırasıyla 1. günde 3.24, 2.62 ppm; 4. günde 2.46, 1.54 ppm; 7. günde 1.02, 0.52 ppm ve 10. günde 0.60, 0.44 ppm düzeyinde bulmuşlardır. Bu çalışmada HPLC metodunun duyarlılığı 50 ppb, Charm II test metodunun duyarlılığının ise 10 ppb düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir. Elde edilen sonuçlarda bireysel olarak balıklardaki ilaç birikim düzeyinin büyük oranda farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Horie ve arkadaşları (30) tarafından HPLC ile Gökkuşuğu alabalıklarında yapılan çalışmada sulfadimetoksin, sulfamonometoksin ve sulfisozol için tesbit limitini 50 ppb, rekoveri analizlerinde ise geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 82.7, % 84.2 ve % 83.2 olarak hesaplamıştır.

HPLC ile Ikai ve arkadaşları (31) Gökkuşuğu alabalıklarında 0.5 ppm'le yaptıkları rekoveri analizlerinde sulfatiazol, sulfadiazin, sulfamerazin, sulfadimidin, sulfametokspiridazin, sulfamonometoksin, sulfisozol, sulfametoksazol, sulfadimetoksin ve sulfakinoksalin için geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 89.2, % 95.6, % 97.6, % 74.7, % 91.5, % 93.7, % 95.1, % 95.0, % 92.8 ve % 91.1 olarak hesaplamışlardır. Rutin analizlerde sulfonamidlerin 50 ppb'ye kadar rahatlıkla ölçülebileceğini, eluatın 100 µl sulandırılmasıyla 10 ppb'ye kadar saptanabileceğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar Gümüş balıklarında aynı sulfonamidlerin geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 85.6, % 92.2, % 95.4, % 79.8, % 89.5, % 93.5, % 92.7, % 91.8, % 90.2 ve % 87.1 olarak saptamışlardır.

Özkazanç ve Kaya (44) tarafından uyarlanmış Spektrofotometrik - İnce Tabaka Kromatografik Metoda göre dana ve kanatlılara ait 93 doku örneğinde yapılan rekoveri analizlerinde, 0.1 ppm sulfonamid kalıntısının güvenle ölçülebileceğini, 0.05 ppm sulfonamid kalıntısının da bu metotla tesbit edilebileceğini bildirmişlerdir. Analiz materyali olarak kullandıkları karaciğer, kas ve böbrekte dört farklı sulfonamid türevinin 0.1, 0.5 ve 1.0 ppm düzeyinde geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 90.6, % 89.7 ve % 90.8 olarak hesaplamışlardır.

Nose ve arkadaşları (45) tarafından HPLC ile Gökkuşuğu alabalıklarında yapılan rekoveri analizlerinde sulfamerazin, sulfamonometoksin, sulfisozol ve sulfadimetoksin için geriye kazanç oranları sırasıyla % 76.5, % 77.9, % 81.3 ve % 91.8 olarak hesaplanmıştır. Saptama limitlerini ise sulfamerazin için 40 ppb, sulfamonometoksin, sulfisozol ve sulfadimetoksin için 60 ppb olarak belirlemişlerdir.

Gehring ve arkadaşları (7) HPLC ile yaptıkları çalışmada Coho salmon'larda sulfadiazinin duyarlılığını 1 ppb, Atlantik Salmon'larda ise 10 ppb seviyesinde olduğunu tesbit etmişlerdir. Ayrıca Coho Salmon'larda yapmış oldukları rekoveri çalışmalarında sulfadiazinin 1, 5, 10 ve 20 ppb'sinin geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 84.5, % 85.0 ve % 83.9, Atlantik Salmon'ların 10 ppb'sinde ise % 82.6 olduğunu saptamışlardır.

Hormazabal ve Rogstad (20) tarafından HPLC ile Atlantik salmon'ların kas, karaciğer ve plazmalarında yapılan sulfadiazinin rekoveri analizlerinde geriye kazanç oranı % 80, % 74 ve % 92 olarak hesaplanmıştır.

Sıvı Kromatografik Metotla Som balığı kas dokusunda Reimer ve Suarez (46) tarafından yapılan analizlerde, sulfapridin, sulfamerazin, sulfametazin, sulfadimetoksin ve sulfadiazin için saptama limiti sırasıyla 48, 66, 228, 150 ve 100 ppb olarak belirlenmiştir. Ayrıca sulfonamidlerin rekoveri analizlerinde geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 66, % 71, % 82, % 75 ve % 66 olarak hesaplanmıştır. Aynı araştırmacılar İnce Tabaka Kromatografik Metotla Som balığı kas dokusundaki aynı sulfonamidlerin geriye kazanç oranlarını sırasıyla % 57, % 63, % 60, % 63 ve % 61 olarak hesaplamışlar ve tesbit limitini ise sulfamerazin için 100 ppb, diğer sulfonamidler için 40 ppb olarak saptamışlardır (47).

Kanal Yayın balıkları kas dokularında Long ve arkadaşları (48) tarafından Sıvı Kromatografik Metotla yapılan rekoveri analizlerinde, sulfadimetoksinin 50, 100, 200, 400, 800 ve 1600 ppb düzeyinde, geriye kazanç oranları ortalama olarak % 101.1 olarak hesaplanmıştır.

Walker ve Barker (2), Kanal Yayın balıklarında Sıvı Kromatografik Metotla yapmış oldukları çalışmada sulfadimetoksinin saptama limitini kas dokusunda 26 ppb, plazmada ise 33 ppb olarak belirlemişlerdir."

Şanlı ve arkadaşları (49) Spektrofotometrik Metotla sulfakinoksalin ve sulfadimetoksinin yumurtaya geçme özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada, ilaç uygulamasının kesilmesini izleyen 5. günde yumurta akına geçen sulfakinoksalin kalıntısının 0.1 ppm düzeyine inmesine karşın, yumurta sarısına geçen ilaç kalıntısı 12. günde 0.1 ppm düzeyinin altına inmiştir. Sulfadimetoksin kalıntısının yumurta

akında 8. günde 0.1 ppm'lik değerlerin altına inmesine karşın, yumurta sarısındaki ilaç kalıntısının 12. günde 0.1 ppm düzeyinin altına indiği saptanmıştır. Her iki sulfonamid türevinin de saptama limiti 0.03 ppm olarak belirlenmiştir.

HPLC ile Diserens ve arkadaşları (36) tarafından çeşitli sulfonamid türevlerinde 10 - 100 µg/kg arasında et, süt ve yumurta da yapılan rekoveri analizlerinde geriye kazanç oranları sırasıyla sulfadiazin için % 88, % 70, % 83, sulfamerazin için % 90, % 88, % 85, sulfamerazin için % 92, % 88, % 85, sulfametoksazol için % 96, % 84, % 83 ve sulfadimetoksin için ise % 88, % 89, % 86 olarak hesaplanmıştır.

Takatsuki ve Kikuchi (50), GC - MS metoda göre Silver Salmon'ların kas dokusu örneklerinde yaptıkları rekoveri analizlerinde sulfamerazin, sulfametazin, sulfametoksazol ve sulfadimetoksin için 1 ve 0.2 ppm düzeyinde geriye kazanç oranlarını herbir ilaç için sırasıyla %96 ve %78, %99.7 ve %86.1, %97.3 ve %101.9, %92.2 ve %84.2 olarak hesaplamışlardır.

Van Poucke ve Van Petechem (28), domuzlara 5 gün süreyle 80 mg/kg dozda, günde bir kez uygulanan sulfatiazol ve sulfametazinin HPTLC metoduyla yapılan kalıntı analizlerinde 10. günde 100 ppb seviyesine düştüğünü, 14. günde enjeksiyon bölgesinde 25 ppb konsantrasyonundan daha fazla sulfametazinin bulunduğunu saptamışlardır.

Bui (51) tarafından Sıvı Kromatografik Metotla değişik hayvanların doku örneklerinde yapılan rekoveri analizlerinde 50 ppb düzeyindeki sulfonamid kalıntılarının rahatlıkla ölçülebileceği gösterilmiştir. Saptama limitinin ise 20 ppb olduğu belirlenmiştir.

İnsan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri sebebiyle, insan tüketimine sunulan hayvansal gıdalarda ilaç kalıntılarının belirli tolerans limitlerinin altında olması gerekmektedir. Değişik hayvansal gıdalarda ilaç kalıntılarının belirlenen tolerans limitlerinin altına düşmesi için gerekli bekleme zamanlarının da belirlenerek gıdaların buna uygun olarak insan tüketimine sunulması gerekmektedir.

Gökkuşağı alabalıklarının sulfadiazin, sulfamerazin, sulfametazin ve sulfametoksazol için 11. günden, sulfadimetoksin için ise 7. günden sonra tüketime sunulabileceği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

1. Kaya, S. Hayvansal üretimde gelişmeyi hızlandırıcı maddeler ve sakıncaları. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 31(3), 410-423 (1984).
2. Walker, C.C. and Barker, S.A. Extraction and liquid chromatographic analysis of sulfadimethoxine and 4-N-acetylsulfadimethoxine residues in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) muscle and plasma. J. AOAC Int., 77(6), 1460-1466 (1994).
3. Milner, N.P., Johnson, M.R. and Perry, K.J. Determination of sulfadimethoxine and ormetoprim residues in channel catfish filets after treatment with romet and evaluation of a commercially available rapid diagnostic test for drug residues in fish filets. J. AOAC Int., 77(4), 875-881 (1994).
4. Kitts, D.D., Zheng, M., Burns-Flett, E. and Mcerlane, K.M. Comparison of sulfadimethoxine residue analyses in salmon muscle using HPLC and Charm II test. J. Food Protec., 58(6), 678-682 (1994).
5. Boison, J.O. and Keng, L.J.Y. Determination of sulfadimethoxine and sulfamethazine residues in animal tissues by liquid chromatography and thermospray mass spectrometry. J. AOAC Int., 78(3), 651-658 (1994).
6. Walker, C.C. and Barker, S.A. Extraction and Enzyme immunoassay of sulfadimethoxine residues in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) muscle. J. AOAC Int., 77(4), 908-916 (1993).
7. Gehring, T.A., Rushing, L.G. and Thompson, H.C. Liquid chromatographic determination of sulfadiazine in salmon by postcolumn derivatization and fluorescence detection. J. AOAC Int., 78(5), 1161-1164 (1995).
8. Çetinkaya, O. Su Ürünleri ve Hastalıkları Ders Notları. Y.Y.Ü. Vet. Fak. (1996).
9. Austin, B. and Austin, D.A. Bacterial Fish Pathogens. Ellis Horwood Ltd., England (1987).
10. Roberts, R.J. and Shepherd, C.J. Handbook of Trout and Salmon Disease. The Alden Press, Oxford (1990).
11. Nouws, J.F.M., Mevius, D., Vree, T.B., Baakman, M. and Degen, M. Pharmacokinetics, metabolism, and renal clearance of sulfadiazine, sulfamerazine, and sulfamethazine and of their N₄-acetyl and hydroxy metabolites in calves and cows. Am. J. Vet. Res., 49(7), 1059-1065 (1988).
12. Franco, D.A., Webb, J. and Taylor, C.E. Antibiotic and sulfonamide residues in meat: Implications for human health. J. Food Protec., 53(2), 178-185 (1990).
13. Long, A.R., Hsieh, L.C., Malbrough, M.S., Short, C.R. and Barker, S.A. Multiresidue method for the determination of sulfonamides in pork tissue. J. Agric. Food Chem., 38, 423-426 (1990).
14. Boison, J.O.K. and Keng, L.J.Y. Determination of sulfamethazine in bovine and porcine tissues by reversed-phase liquid chromatography. J. AOAC Int., 77(3), 558-564 (1994).
15. Long, A.R., Hsieh, L.C., Malbrough, M.S., Short, C.R. and Barker, S.A. A multiresidue method for the isolation and liquid chromatographic determination of seven sulfonamides in infant formula. J. Liquid Chromatog., 12(9), 1601-1612 (1989).
16. Charm, S.E., Zomer, E. and Salter, R. Confirmation of widespread sulfonamide contamination in Northeast U.S. market milk. J. Food Protec., 51(12), 920-924 (1988).
17. Van Poucke, L.S.G., Depourcq, G.C.I. and Van Peteghem, C.H. A quantitative method for the detection of sulfonamide residues in meat and milk samples with a high-performance thin-layer chromatographic method. J. Chromatog. Sci., 29, 423-427 (1991).
18. Tömek, S. Su ürünleri işleme teknolojisi ders notları. E.Ü. Su Ürünleri Fak., Bornova-İzmir (1990).
19. Matusik, J.E., Guyer, C.G., Geleta, J.N. and Barnes, C.J. Determination of desaminosulfamethazine, sulfamethazine, and N⁴-Acetylsulfamethazine by gas chromatography with electron capture detection and confirmation by gas chromatography-chemical ionization mass spectrometry. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 70(3), 546-553 (1987).

20. Hormazabal, V. and Rogstad, A. Simultaneous determination of sulphadiazine and trimethoprim in plasma and tissues of cultured fish for residual and pharmacokinetic studies. *J. Chromatog.*, 583, 201-207 (1992).
21. Kaya, S. ve Şahal, M. Besinlerimizdeki ilaç kalıntıları, bunlara ilişkin tolerans düzeyleri, ilaç verilmiş hayvanlarda uyulması gereken kesim öncesi bekleme veya sütün kullanılmasına süreleri. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 36(2), 390-403 (1989).
22. Kaya, S., Yavuz, H., Akar, F., Liman, B.C. ve Filazi, A. Mezbahadan sağlanan sığır et, karaciğer ve böbrek örneklerinde antibiyotik kalıntıları. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 39(1-2), 13-29 (1992).
23. Dayan, A.D. Allergy to antimicrobial residues in food: assessment of the risk to man. *Vet. Microbiol.*, 35, 213-226 (1993).
24. Van Dresser, W.R. and Wilcke, J.R. Drug residues in food animals. *JAVMA*, 194(12), 1700-1710 (1989).
25. Şanlı, Y. Hayvan yetiştiriciliğinde antibakteriyel ilaç kullanımı ve çok yönlü sakıncaları. Türkiye'de Veteriner İlaçları Üretimi, Pazarlanması, Güvenle Kullanımı ve Kalıntı Sorunları Sempozyumu, 13-14 Ekim 1994, s. 33-61, Ankara (1994).
26. FAO Residues of Veterinary drugs in foods. Report of joint FAO/WHO Expert Consultation, Rome, 29 October-5 November 1984, FAO Food and Nutrition paper No: 32. pp. 1-54 (1985).
27. Horie, M., Saito, K., Hoshino, Y., Nose, N., Nakazawa, H. and Yamane, Y. Simultaneous determination of residual synthetic antibacterials in fish by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatog.*, 538, 484-491 (1991).
28. Ikai, Y., Oka, H., Kawamura, N., Hayakawa, J., Yamada, M., Harada, K., Suzuki, M. and Nakazawa, H. Improvement of chemical analysis of antibiotics: XVII. Application of an amino cartridge to the determination of residual sulfonamide antibacterials in meat, fish and eggs. *J. Chromatog.*, 541, 393-400 (1991).
29. Horwitz, W. Analytical methods for sulfonamides in foods and feeds. II. Performance characteristics of sulfonamide methods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 64(4), 814-824 (1981).
30. Van Poucke, L.S.G. and Van Peteghem, C.H. Pharmacokinetics and tissue residues of sulfathiazole and sulfamethazine in pigs. *J. Food Protec.*, 57(9), 796-801 (1994).
31. Walker, L.V., Walsh, J.R. and Webber, J.J. High-performance liquid chromatography of sulfonamides extracted from bovine and porcine muscle by solid-phase dispersion. *Journal of Chromatography*, 595, 179-184 (1992).
32. Kaya, S., Baydan, E ve Özdemir, M. Balık hastalıklarının sağlığında ilaç kullanımı. *Türk Vet. Hek. Derg.*, 9(1), 34-42 (1997).
33. Aoki, T. Chemotherapy and drug resistance in fish farm in Japan. In: "Diseases in Asian aquaculture 1" Ed. M. Shariff, R.P. Sabasinghe and J.P. Arthur, 519-528, Fish Health Section, Asian Fisheries Society (1992).
34. Booth, N.H. Toxicology of drug and chemical residues. In: "Veterinary pharmacology and Therapeutics" Ed. N.H. Booth, and L.E. McDonald, 1149-1204, Iowa State Univ Press. Ames (1988).
35. Nizamlioğlu, F. Sulfonamid - trimetoprim kombinasyonu uygulanan broyler piliçlerin plazma, kırmızı kas ve karaciğer ilaç düzeyleri ve atılma sürelerinin araştırılması. *Veterinarium*, 3(2), 22-26 (1992).
36. Diserens, J.M., Renaud-Bezot, C. and Savoy-Perroud, M.C. Simplified determination of sulfonamides residues in milk, meat and eggs. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 87(7), 205-211 (1991).
37. Aerts, M.M.L., Beek, W.M.J. and Brinkman, U.A.Th. Monitoring of veterinary drug residues by a combination of continuous flow techniques and column switching high-performance liquid chromatography: 1. Sulfonamides in egg, meat and milk using post-column derivatization with dimethylaminobenzaldehyde. *J. Chromatog.*, 435, 97-112 (1988).
38. Horii, S., Momma, C., Miyahara, K., Maruyama, T. and Matsumoto, M. Liquid chromatographic determination of three sulfonamides in animal tissue and egg. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73(6), 990-992 (1990).
39. Horie, M., Saito, K., Nose, N. and Nakazawa, H. Simultaneous determination of sulfonamides in honey by liquid chromatography. *J. AOAC Int.*, 75(5), 786-789 (1992).
40. Weber, J.D. and Smedley, M.D. Liquid chromatographic determination of sulfamethazine in milk. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 72(3), 445-447 (1989).
41. Hoffmeister, A., Suhren, G. and Heeschen, W. High-pressure liquid chromatographic determination of sulfadimidine residues in milk - Incidence in consumer milk from various European countries. *Milchwissenschaft*, 46(12), 770-774 (1991).
42. Smedley, M.D. Liquid chromatographic determination of multiple sulfonamide residues in bovine milk: Collaborative study. *J. AOAC Int.*, 77(5), 1112-1122 (1994).
43. Torel, J., Cillard, J., Cillard, P. and Vie, M. Simultaneous analysis of three antimicrobial agents in feed premix by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 323, 447-450 (1985).
44. Özkazanç, N. ve Kaya, S. Hayvanların pişmemiş yenilebilir dokularında sulfonamid analizi. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 30, 624-638 (1983).
45. Nose, N., Hoshino, Y., Kikuchi, Y., Horie, M., Saitoh, K. and Kawachi, T. Simultaneous liquid chromatographic determination of residual synthetic antibacterials in cultured fish. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 70(4), 714-717 (1987).
46. Reimer, G.J. and Suarez, A. Liquid chromatographic confirmatory method for five sulfonamides in salmon muscle tissue by matrix solid-phase dispersion. *J. AOAC Int.*, 75(6), 979-981 (1992).
47. Reimer, G.J. and Suarez, A. Development of a screening method for five sulfonamides in salmon muscle tissue using thin-layer chromatography. *J. Chromatog.*, 555, 315-320 (1991).
48. Long, A.R., Hsieh, L.C., Malbrough, M.S., Short, C. and Barker, S.A. Matrix solid phase dispersion isolation and liquid chromatographic determination of sulfadimethoxine in catfish (*Ictalurus punctatus*) muscle tissue. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73(6), 868-871 (1990).
49. Şanlı, Y., Kaya, S. ve Özkazanç, N. Tavukçulukta kullanılan bazı sulfonamid türlerinin yumurtaya geçme özellikleri üzerinde araştırmalar. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 34(1), 16-30 (1987).
50. Takatsuki, K. and Kikuchi, T. Gas chromatographic-mass spectrometric determination of six sulfonamide residues in egg and animal tissues. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 73(6), 886-892 (1990).
51. Bui, L.V. Liquid chromatographic determination of six sulfonamide residues in animal tissues using postcolumn derivatization. *J. AOAC Int.*, 76(5), 966-975 (1993).