

TAVŞAN DOKULARINDA ERİTROMİSİN KALINTI DÜZEYLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI

Abdullah Doğan<sup>1</sup> Bilal Cem Liman<sup>1</sup> Hidayet Yavuz<sup>2</sup>  
Ferda Akar<sup>2</sup>, Ayhan Filazi<sup>2</sup>

Studies on the residues of erythromycin in rabbit tissues.

**Summary:** *In* this study, erythromycin at 12.5 mg/Kg. body weight was administered in a single i.m dose to two month old rabbits and the their tissue concentration changes with time were evaluated.

The rabbits were euthanatized in groups of 3 rabbits each at 2, 8, 24 and 48 hours after the erythromycin was administration. Tissues concentrations of erythromycin in kidney, liver, lung and muscle were determined by TLC-Bioautography.

**Özet:** *Bu çalışmada, tavşanlara im yolla uygulanan eritromisin doku kalıntı düzeylerinin saptanması amaçlanmıştır. Çalışmada Yeni Zellanda ırkı iki aylık onbeş adet tavşan kullanılmıştır. Tavşanlar her grupta üçer adet tavşan olmak üzere beş gruba ayrılmıştır. Dört grup tavşana tek doz halinde 12.5 mg / Kg. dozunda eritromisin (Gallimycin) im. yolla uygulanmıştır. Diğer grup kontrol grubu olarak tutulmuştur. İlaç uygulanmasını takiben tavşanlar sırasıyla 2, 8, 24 ve 48 saat sonra eter ile ötanazi edilmiştir. Tavşanların kas, karaciğer, böbrek ve akciğer dokuları alınarak dokulardaki eritromisin kalıntı düzeyleri TLC-Biootografi yöntemi ile tayin edilmiştir.*

### Giriş

Eritromisin, Streptomyces erythreus kültürlerinden elde edilmiş bir makrolid antibiyotiktir. İlaç olarak baz şekli, tuzu ve esterleri kulla-

1 Araş. Gör., A.Ü. Kars Vet. Fak., Kars.

2 Araş. Gör., A.Ü. Vet. Fak., Ankara.

nılır. Baz eritromisin aside dayanısızdır ve ağızdan verildiğinde mide- de önemli ölçüde inaktive edilir. Bu nedenle baz eritromisin aside dayanıklı filmle kaplanmış tabletler veya bağırsak kaplamalı (Enteric-coated) granül ile yada peletlerle doldurulmuş kapsüller şeklinde hazırlanır. Eritromisin serbest baz şeklinden çok esterleri ve tuzları halinde kullanılır. Bunların başlıcası ağızdan verilen stearat ve tiyosiyanat tuzları, etilsüksinat, etilkarbonat ve estolat esterleri ile suda fazlaca çözündükleri için parenteral enjeksiyonluk çözelti hazırlanmasına olanak veren glukohptonat (glukohseptat) ve laktobionat tuzlarıdır (8, 11, 12, 20, 21)

Eritromisin safra ile önemli ölçüde atılır. Safradaki eritromisin yoğunluğu bazen kandakinin 50 katına ulaşabilir. Oral dozun % 2-5'i, i.v. dozun ise % 12-15'i böbreklerden atılır. Eliminasyon yarılanma ömrü 1-3 saattir. Eritromisin azımsanmayacak ölçülerde süt ve idrarla da atılır (1, 2, 6, 19).

Eritromisin düşük toksisiteli bir antibiyotiktir. Ağızdan yüksek dozlarda verildiğinde, özellikle karnivorlarda arasıra anoreksi, bulantı ve ishal yapabilir. Eritromisin, yerel ve yüzeysel uygulamalara bağlı olarak seyrek de olsa deri duyarlılığına sebep olabilmektedir. Bu özelliği nedeniyle yüzeysel enfeksiyonlarının sağıtımında kullanılmaya uygun değildir (3, 9). A.B.D.'de eritromisinin hayvan dokularındaki tolerans limiti 0-0.125 ppm olarak tesbit edilmiştir (13).

### Materyal ve Metot

**A. Materyal:** Bu çalışmada yeni Zelanda ırkı iki aylık 15 adet tavşan kullanılmıştır. Tavşanlar her grupda üçer adet olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. 4 grup tavşana tek doz halinde 12.5 mg /Kg eritromisin i.m yolla uygulanmıştır. Bir grup kontrol grubu olarak tutulmuştur. ilaç uygulamasını takiben tavşanlar 2, 8, 24 ve 48 saat sonra eter ile ötanazi edilerek kas, karaciğer, akciğer ve böbrek dokuları materyal olarak kullanılmıştır.

Araç ve Gereçler:

1. Santrifüj tüpleri. (50 ml).
2. TLC plakaları. 20x20 silikajel G (Merck)
3. Biyoplakalar. Sterilize edilmiş cam plakalar (245x245 mm)
4. Solventler. Metanol, kloroform, aseton, gliserin. (Merck)

5. TLC devalopment solvent sistemi. Metanol, kloroform, aeton, gliserin. (30, 49, 20, 1).

6. Deney bakteri suşu. *B. subtilis* ATCC 6633 Difco spor solusyonları

7. Standard plate caunt agar. (Oxoid).

8. Antibiyotik standardı. Eritromisin (Sigma)

9. Stok solusyonu: 100 mg eritromisin 100 ml metanolde çözdürülür. Buzdolabında saklanır. Haftalık hazırlanır.

10. Çalışma solusyonu: Stok solusyonunun metanol ile 10 kat sulandırılmasıyla elde edilir. Günlük hazırlanır.

**B. Metod:** Neidert, E. ve ark. (15) tarafından bildirilen TLC-Biyootografik metod ile dokularda eritromisin kalıntı analizi yapılmıştır. Bunun için 10 g doku alınıp küçük parçalara ayrıldıktan sonra 50 ml'lik santrifüj tüpüne konur, 10 ml metanol ilave edilir ve mikserde 30 saniye karıştırılır. 2 ml metanol ile 3 kez santrifüj tüpü yıkanır. 700 devirde 10 dakika santrifüj edilir. Üst kısım 1000 ml'lik balona aktarılır. Tüpün tabanında kalan tortu iki kez 10 ml metanolla yıkanır ve diğer metanol ekstraktının bulunduğu balona aktarılır. Balona 200 mg NaCl konur ve 50 C'de 3-4 ml kalıncaya kadar rotavaporda uçurulur. Kalan kısım 125 ml'lik ayırma hunisine aktarılır. İki kez 25 ml kloroformla ekstrakte edilir. Kloroform fazı tamamen kuruyuncaya kadar uçurulur, 0.5 ml metanolde çözdürülerek 5, 10, 20 mikrolitre olarak plakaya uygulanır, plaka devalopmen tankında devalope edilir. Sonra oda ısısında bir saat bekletilerek kurutulur.

**Biyootografi:** Biyoplakalar otoklavda (120 C 1 Atmosfer basınç altında 30 dakika) sterilize edilir. Standard plate caunt agar'dan 23.5 g. tartılır ve üzerine bir litre distile su ilave edilir. 100 C'deki su banyosunda tamamen eriyinceye kadar tutulur. Daha sonra 100 ml balonlara bölünür ve 120 C bir atmosfer basınç altında 30 dakika sterilize edilir, 45-50 C'ye kadar soğutulur. Üzerine 400 mikrolitre *Bacillus subtilis* ATCC 6633 spor solusyonundan ilave edilir. Agar'dan 100 ml olacak şekilde biyoplakaya dökülür. 20 dak. katılaşması için beklendikten sonra TLC plaka biyoplaka üzerine kapatılır, 20 dak. sonra TLC plakası kaldırılır. Biyoplakalar 37 C'da bir gece bekletilir. Ertesi gün oluşan zonlar standardın oluşturduğu zonla karşılaştırılır.

## Bulgular

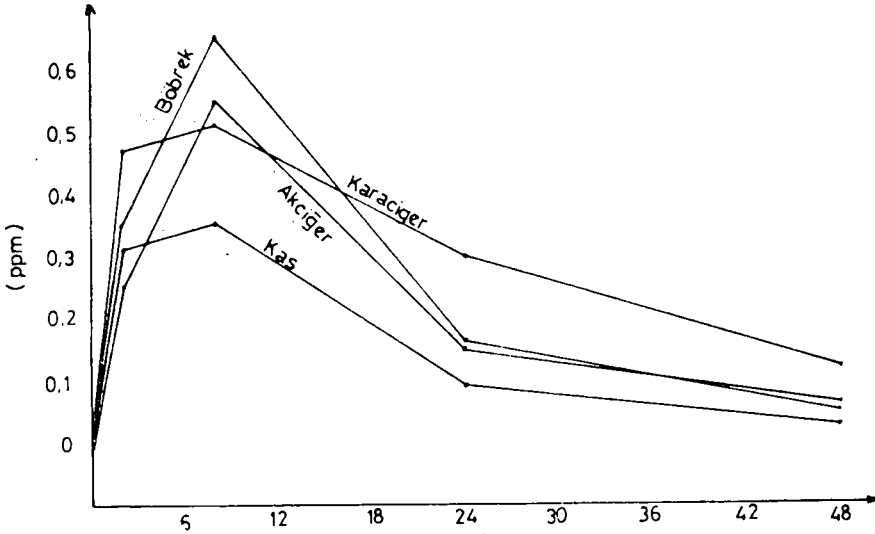
Tavşan dokularındaki eritromisin kalıntı düzeyleri tablo 1'de verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, eritromisin uygulamasını takiben iki saat sonra alınan kas, böbrek, karaciğer ve akciğer dokularındaki eritromisin kalıntı düzeyleri sırasıyla ortalama ppm olarak şöyledir; 0.31, 0.35, 0.47, ve 0.25. Sekiz saat sonra 0.35, 0.65, 0.51 ve 0.55. 24 saat sonra 0.09, 0.16, 0.30 ve 0.15. 48 saat sonra ise 0.026, 0.05, 0.12 ve 0.06'dır. Eritromisin doku kalıntı düzeylerinin zamana göre dağılımı grafik 1'de verilmiştir.

Tab. 1. Eritromisinin dokulardaki kalıntı düzeyleri (ppm)

2 saat sonra	Kas	Böbrek	Karaciğer	Akciğer
Tavşan No 1	0.30	0.35	0.50	0.30
Tavşan no 2	0.35	0.40	0.46	0.25
Tavşan no 3	0.30	0.30	0.47	0.20
Ortalama	0.31	0.35	0.47	0.25
8 saat sonra				
Tavşan no 1	0.35	0.60	0.50	0.60
Tavşan no 2	0.40	0.70	0.55	0.50
Tavşan no 3	0.30	0.65	0.48	0.55
Ortalama	0.35	0.65	0.51	0.55
24 saat sonra				
Tavşan no 1	0.10	0.20	0.30	0.15
Tavşan no 2	0.08	0.20	0.35	0.20
Tavşan no 3	0.09	0.10	0.25	0.10
Ortalama	0.09	0.16	0.30	0.15
48 saat sonra				
Tavşan no 1	0.04	0.10	0.15	0.08
Tavşan no 2	0.03	0.08	0.10	0.07
Tavşan no 3	0.01	0.06	0.12	0.05
Ortalama	0.026	0.05	0.12	0.06

## Tartışma ve Sonuç

Bulgulara göre, iki saat sonra alınan karaciğerdeki eritromisin kalıntı düzeyi ortalama olarak 0.47 ppm iken 8 saat sonra 0.51 ppm'e yükselmiştir. Bu zamanı takiben azalmaya başlamış olup 24 saat sonra 0.30 ppm'e düşmüştür. 48 saat sonra ise 0.12 ppm olarak tesbit edilmiştir. Böbrek dokusunda iki saat sonra ortalama olarak eritromisin kalıntısı 0.35 ppm iken bu değer 8 saat sonra 0.65 ppm'e yükselmiştir. 24 saat sonra 0.16 ppm'e, 48 saat sonra ise 0.05 ppm'e düşmüştür. Akciğer dokusunda iki saat sonra eritromisin kalıntı düzeyi ortalama olarak 0.25 ppm iken bu 8 saat sonra 0.55 ppm olarak tesbit edilmiştir. Daha sonra azalma göstererek 24. saatte 0.15 ppm, 48. saatte ise 0.06 ppm'e düşmüştür,



Grafik. Eritromisin doku kalıntı yoğunluklarının zamana göre dağılımı

Kas dokusunda ise 2. saatte eritromisin kalıntı düzeyi ortalama karaciğerde 0.31 ppm iken, 8 saat sonra 0.35 ppm'e yükselmiş, daha sonra 24. saatte 0.09 ppm'e ve 48. saatte de 0.026 ppm'e düşmüştür.

Yukarıdaki sonuçlara göre, 2. saatteki en yüksek eritromisin doku kalıntısı karaciğer dokusunda, 8. saatte böbrek dokusunda, 24. ve 48. saatte ise yine karaciğer dokusunda tesbit edilmiştir.

Burrows ve ark. (5) tarafından buzağılarda yapılan bir çalışmada 15 mg / Kg dozunda i.m. yolla eritromisin enjeksiyonunu takiben en yüksek doku konsantrasyonuna 5. saatte karaciğer dokusunda rastlanmışlardır. Bunu böbrek, akciğer ve kas dokusu ile serumdaki eritromisin düzeyleri takip etmiştir. 8. saatte ise en yüksek eritromisin doku kalıntı düzeyini böbrek dokusunda tesbit etmişler, bunu akciğer, karaciğer dokusu ile serumdaki eritromisin kalıntı düzeyi izlemiştir. En düşük düzeyde ise kas dokusunda tesbit etmişlerdir.

Baggot, J.D. ve ark. (2) tarafından sığırlara 12.5 mg / Kg dozunda iv. yolla uygulanan eritromisinin dokulardaki düzeyi 6. saatte verilmiş olan dozun % 43'üne ulaşmıştır. 6. saatte santral ve doku kompartmanlarındaki ve elimine edilmiş olan eritromisinin dozunun yüzdeleri sırasıyla 6, 19, ve 75 olarak tesbit etmişlerdir.

Dvorak ve ark. (7) tarafından yapılan bir çalışmada da buzağılara 0.6 gr / Kg dozunda oral yolla uygulanan eritromisin 24. saat sonraki kalıntı analizlerinde en yüksek düzeylerde akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında tesbit edilmiştir.

İntramüsküler yolla 15 mg / Kg dozunda enjekte edilen eritromisin plazma yarılanma ömrü 8-9 saattir ve ortalama en yüksek kan konsantrasyonu ise 0.5 mikrogram / ml'dir. Uygulamadan 2 saat sonra en yüksek konsantrasyonlarda karaciğerde, çene altı bezlerinde, akciğerlerde ve böbreklerde tesbit edilmiştir (9).

Sonuç olarak, parenteral yolla eritromisin uygulanan tavşanlardaki doku kalıntı düzeyleri ilk saatlerde (2 ile 8) yüksek olmakla beraber zamana bağlı olarak azalma göstermiştir.

#### Kaynaklar

1. Atef, M., Hamid, Y.M.A., Al-Samarrae, S.A. (1978). *Erythromycin excretion in sheep and its relation to antibacterial effect*. Zentralblatt für Veterinärmedizin. A 25 (2): 155-161.
2. Baggot, J.D., Gingerich, D.A. (1976). *Pharmacokinetic interpretation of erythromycin and tylosin activity in serum after intravenous administration of a single dose to cows*. Research in Veterinary Science. 21: 318-328.
3. Brander, G.C., Pugh, D.W., Bywater, R.S. (1982). *Veterinary Applied Pharmacology Therapeutics*. 4 th. ed. Bailliere Tindall. London.
4. Burrows, G.E. (1985). *Effects of experimentally induced Pasteurella haemolytica pneumonia on the pharmacokinetics of erythromycin in the calf*. American Journal of Veterinary Research. 46 (4): 798-804.
5. Burrows, G.E., Gentry, M., Ewing, P. (1989). *Serum and tissue concentrations of erythromycin in calves with induced pneumonic pasteurellosis*. Am. J. Vet. Res. 50 (7): 1166-1169.
6. Christopher, J.H. (1987). *Use of erythromycin-rifampin combination in treatment of Rhodococcus equi pneumonia*. Veterinary Microbiology. 14: 337-342.
7. Dvorak, M., Sevcik, R., Strakova, J. (1976). *Content of erythromycin in serum and organs of calves and its toxicity*. Veterinaria Spofa. 18 (1): 13-24.
8. Forth, W., Henschler, D., Rummel, W. (1987). *Pharmakologie und Toxikologie*. 5. Auflage. Bibliographische Institut. Mannheim.
9. Huber, W.G. (1982). *Aminoglycosides, macrolides, lincosamides, polymyxins, chloramphenicol and other antibacterial drugs*. In Booth, N.H. and McDonald, L.E. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 5. th. ed. The Iowa state university press / Ames. pp. 748-771.

10. Gilman, A.G., Goodman, L.S., Giman, A. (1980). *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 6th. ed. Macmillan Publishing Co., Inc. New-York.
11. Kayaalp, S.O. (1987). *Tıbbi Farmakoloji*. cilt 1. 4. baskı. s. 664-670, Ankara
12. Michael, P., Roy, S., Motra, L., Mike, H.C. (1987). *Thin-layer chromatographic determination of erythromycin and other macrolide antibiotics in livestock products*. J. Assoc. Off. Anal., Chem. 70 (4): 691-697.
13. Moats, W.A. (1985). *Chromatographic methods for determination of macrolide antibiotic residues in tissues and milk of foodproducing animals*. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 68 (5): 980-983.
14. Morter, R.L., Boyce, J.R., Amstutz, H. (1986). *Treatment of bovine respiratory disease with erythromycine and amoxicillin*. Bovine Practitioner. 21: 62-64.
15. Neidert, E., Saschenbrecker, P.W. and Tittiger, F. (1987). *Thin-layer chromatography / Bioautographic method for identification of antibiotic residues in animal tissues*. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 70 (2): 197-200.
16. Predoi, G., Savu, C., Gatna, D., Dragut, C., Mihaile, A. (1986). *Therapeutic efficacy of a 5.5 % injectable solution of erythromycin thiocyanate against infectious disease of sheep*. Revista de Cresterea Animalelor. 36 (8): 44-46.
17. Punch, P.I., Costa, N.D., Chambers, E.D., Slatter, D.H., Wilcox, G.E. (1985). *Plasma and tear concentration of antibiotics administered parenterally to cattle*. Research in Veterinary Science. 39 (2): 179-187.
18. Smith, J.A., Isaac-Renton, J.L., Jellett, J.F., Show, A.V., Ngut-Yen, J. (1983). *Inhibitory and lethal activities of rosaramicin, erythromycin and clindamycin against Campylobacter fetus subsp. jejuni and intestinalis*. American J. of Veterinary Research. 44 (8): 1605-1606.
19. Soback, S., Ziv, G., Kurtz, B., Risenberg, R. (1987). *Age dependent oral bioavailability of erythromycin thiocyanate in calves*. Journal of Veterinary Medicine. 34 (2): 102-107.
20. Şanlı, Y. (1988). *Veteriner Farmakoloji*. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları. no. 412. s. 131-140.
21. Takatsuki, K., Isamu, V., Takuro, S. (1987). *Gas chromatographic mass spectrometric determination of macrolide antibiotics in beef and pork using single ion monitoring*. Journal of Chromatography. 391: 207-217.