



## Karadeniz Suyunda Yetişen Kalkan (*Psetta maxima*) Balıklarında Florfenikol'ün Farmakokinetiğinin Belirlenmesi

Erkan TAÇBAŞ<sup>1</sup>, Emine BAYDAN<sup>2</sup>, Mustafa TÜRE<sup>3</sup>, İlyas KUTLU<sup>3</sup>, Cemil ALTUNTAŞ<sup>3</sup>, Gözde Yücel TENKEKİ<sup>4</sup>, Farah Gönül AYDIN<sup>2</sup>, Emre ARSLANBAŞ<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Hayvan Sağlığı Gıda ve Yem Araştırmaları Daire Başkanlığı.

<sup>2</sup> Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı.

<sup>3</sup> Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü.

<sup>4</sup> Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı.

<sup>5</sup> Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı.

**Geliş Tarihi / Received:** 11.08.2022, **Kabul Tarihi / Accepted:** 28.09.2022

### ÖZ

**Amaç:** Bu çalışmada Karadeniz Kalkan Balığında (*Psetta maxima*) tek doz (10 mg kg<sup>-1</sup>) florfenikolün (FF) farmakokinetiğinin belirlenmesi amaçlandı. **Gereç ve Yöntem:** Çalışma Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü bünyesinde bulunan kapalı sistem havuzlarda Karadeniz suyunda (sıcaklık 11±1°C, tuzluluk oranı %0.18, oksijen miktarı 10.02 mg ml<sup>-1</sup> altına düşürülmedi) gerçekleştirildi. Deneyler validasyon (5 adet) ve ilaç denemeleri (60 adet) dahil 65 adet kalkan balığında (42±2 gr) gerçekleştirildi. Kalkan balıkları kas içi ve gavaj yoluyla FF uygulanan gruplar olmak üzere iki gruba ayrıldı. Plazma FF düzeylerinin belirlenmesi yüksek basınçlı sıvı kromatografisi cihazında (HPLC) gerçekleştirildi. Farmakokinetik analizler kompartımanlı olmayan modele göre win-nonlin farmakokinetik program kullanılarak yapıldı. **Bulgular:** Validasyon çalışma sonuçları Göreceli standart sapma (RSD) (%), ortalama geri kazanım (%), LOD ve LOQ (ppm) değerleri üzerinden sırasıyla, %96.19, %85.81±0.026, 0.0039 ve 0.012 ppm olarak belirlendi. Kas içi ve gavaj yoluyla FF uygulama gruplarının Tmax, Cmax, T1/2, Clast, AUClast, Vz\_F\_obs, Cl\_F\_obs değerleri sırasıyla 1 ve 6 saat; 6.60 ve 5.17 mg L<sup>-1</sup>; 48 ve 48 saat; 2.02 ve 1.48 mg L<sup>-1</sup>; 145.39 ve 101.76 saat mg L<sup>-1</sup>; 2.54 ve 3.64 L kg<sup>-1</sup>; 0.033 ve 0.045 L kg saat<sup>-1</sup> olarak belirlendi. **Sonuç:** Araştırma sonuçları FF farmakokinetiğinin balık türü ve yetiştirme koşulları ile ilgili su sıcaklığı, tuzluluk oranı gibi faktörlere bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Farmakokinetik, Florfenikol, Kalkan, Karadeniz, Kas İçi, Mide İçi (Gavaj).

## Determination of the Pharmacokinetics of Florfenicol in Turbot (*Psetta maxima*) Fish Grown in Black Sea Water

### ABSTRACT

**Objective:** In this study, it was aimed to determine the pharmacokinetics of florfenicol (FF) in a single dose (10 mg kg<sup>-1</sup>) in Black Sea Turbot (*Psetta maxima*). **Materials and Methods:** The study was carried out in closed system pools within the Trabzon Fisheries Central Research Institute in Black Sea water (temperature was 11±1°C, the salinity rate was 0.18 %, oxygen did not fall below 10.02 mg ml<sup>-1</sup>). Experiments were performed on 65 turbot fish (42±2 g) including validation (5 specimens) and drug trials (60 specimens). Turbot fish were divided into two groups as FF administered intramuscularly and gavage. Determination of plasma FF levels was performed on a high pressure liquid chromatography device (HPLC). Pharmacokinetic analyzes were performed using the win-nonlin pharmacokinetic program according to the non-compartmental model. **Results:** The results of the validation studies were determined as 96.19, 85.81±0.026, 0.0039 and 0.012 based on Relative Standard Deviation (RSD) %, mean recovery %, LOD and LOQ in ppm, respectively. Tmax, Cmax, T1/2, Clast, AUClast, Vz\_F\_obs and Cl\_F\_obs values of intramuscular and gavage FF administration groups are respectively; 1 and 6 hour; 6.60 and 5.17 mg L<sup>-1</sup>; 48 and 48 hour; 2.02 and 1.48 mg L<sup>-1</sup>; 145.39 and 101.76 hour mg L<sup>-1</sup>; 2.54 and 3.64 L kg<sup>-1</sup>; 0.033 and 0.045 L kg h<sup>-1</sup>. **Conclusion:** The results of the study showed that the pharmacokinetics of FF may vary depending on the fish species and growing conditions, such as water temperature, salinity.

**Keywords:** Pharmacokinetics, Florfenicol, Turbot, Black Sea, Intramuscular, Intra gastric (Gavage).

**Sorumlu Yazar / Corresponding Author:** Emre ARSLANBAŞ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

**E-mail:** [emre.arslanbas@atauni.edu.tr](mailto:emre.arslanbas@atauni.edu.tr)

**Bu makaleye atıf yapmak için / Cite this article:** Taçbaşı, E., Baydan, E., Türe, M., Kutlu, İ., Altuntaş, C., Tenekeci, G.Y., Aydın, F.G., & Arslanbaş, E. (2022). Karadeniz suyunda yetişen kalkan (*psetta maxima*) balıklarında florfenikol'ün farmakokinetiğinin belirlenmesi. *BAUN Sağ Bil Derg*, 11(Supplement 1): 15-21.

<https://doi.org/10.53424/balikesirsbd.1160570>



BAUN Health Sci J, OPEN ACCESS <https://dergipark.org.tr/tr/pub/balikesirsbd>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

## GİRİŞ

Kalkan (*Psetta maxima*), Scophthalmidae ailesinin bir üyesidir (Aydın ve Şahin, 2011). Kalkan balığı Türkiye su ürünleri arasında önemli bir ticari ve besinsel değere sahip yassı balık türlerinden biridir (Aydın ve ark., 2020; Aydın ve Şahin, 2011; Samsun ve ark., 2007). Kalkanlar, Atlantik, Baltık Denizi, Akdeniz ve Karadeniz'in Avrupa kıyı sularında bulunur (Aydın ve ark., 2019). Kalkan yetiştiriciliği 1997 yılında Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nde Tarım ve Köyişleri Bakanlığı ve Japonya Uluslararası İş birliği Ajansı (Japan International Cooperation Agency-JICA) ortaklığında "Karadeniz Kalkanı Avlama Tekniklerinin Geliştirilmesi" projesi ile başlamıştır (Aydın ve ark., 2020). Akdeniz Genel Balıkçılık Komisyonu, FAO ve Merkezi Balıkçılık Araştırma Enstitüsü (Central Fisheries Research Institute-CFRI) işbirlikliği ile Karadeniz Kalkanı'nın üreme mevsimine denk gelen 14-23 Mayıs 2018 tarihlerinde Trabzon'da düzenlenen eğitim toplantısında Kalkan yetiştiriciliğine odaklanılmıştır (Caruso ve ark., 2018).

Balıklarda stres faktörleri immun baskılanma ile bakteriyel ve paraziter hastalıkların gelişmesine neden olur. Türkiye'de 1976-2013 yılları arasındaki yayımlanmış kaynaklardan elde edilen bilgilere göre kalkanlarda bakteriyel ve viral hastalıklardan Vibriosis, Frunculosis (*A. salmonicida*), Flexibacteriosis (*Tenacibaculum maritimum*, önceleri *Flexibacter maritimus*), Coccal Infections (*Lactococcus garvieae*, önceleri *Enterococcus seriolocida*), *Serratia liquefaciens* Infection ve Viral hemorrhagic septicemia (VHS) kaydedilmiştir (Kalaycı ve ark., 2006; Öztürk ve Altınok, 2014). Balık çiftliklerindeki büyük üretim kayıplarına genellikle bakteriyel enfeksiyonlar neden olur. Balıklar poikiloterm canlılardır ve ilaçların farmakokinetiği diğer türlere ve yaşam koşullarına göre balıklarda önemli derecede farklılık gösterir. Bu nedenle, etkili tedavide gereken optimal dozu belirlemek için farmakokinetik çalışmaların hedef balık türünde yapılması gerekir (Ocenda ve ark., 2017).

Antibakteriyel bir ilaç olan florfenikol (FF), sentetik bir amfenikoldür ve kemik iliği baskılanması açısından kloramfenikole göre daha güvenlidir (Kogiannou ve ark., 2020; Lis ve ark., 2011). FF balıklarda çeşitli bakterilere karşı etkili bulunmuş olmakla birlikte, kalkanlarda farmakokinetikleri üzerine çalışmalar sınırlıdır (Ocenda ve ark., 2017).

Bu çalışmada, Türkiye'de Karadeniz suyu koşullarında yetiştirilen kalkanlarda kas içi ve gavajla mideye uygulanan FF'nin farmakokinetiğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Kimyasallar

Florfenikol analitik standart Fluka'dan, FF teknik standart (%99.2, Anhui Liberty Pharmaceutical) bir

Türk veteriner ilaç firmasından temin edildi. Asetonitril, metanol, etil asetat ve diğer HPLC saflıktaki kimyasallar Merck Company'den satın alındı.

### Deney yeri ve koşulları

Çalışma, Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü bünyesinde bulunan kapalı sistem havuzlarda Karadeniz suyunda gerçekleştirildi. Karadeniz suyu sıcaklığı deneme boyunca  $11 \pm 1^\circ\text{C}$ , tuzluluk oranı %0.18, suyun debisi 1 litre dakika<sup>-1</sup> değerlerinde tutuldu. Günlük su değişimi 15 kez olarak yapıldı. Oksijen miktarı 10.02 mg ml<sup>-1</sup>'ye ayarlandı. Kalkan balıklarının temin edildiği sürüden rutin muayene kapsamında 5 balıkta bakteriyel ve paraziter inceleme yapıldı. Bakteriyel muayene için balıkların karaciğer ve böbrekleri Tryptic Soy Agar (TSA, Merck) ve Tiyosülfat-sitrat-safra tuzları-sükroz agar (TCBC, Merck)'de inoküle edildi ve  $25^\circ\text{C}$ 'de üç gün inkübe edildi. İnkübasyondan sonra petri kabı koloni oluşumu için gözlemlendi. Parazit incelemesi için deri ve solungaç kazıma yoluyla örnekler hazırlandı. Örnekler mikroskopik olarak X20 ve X40 büyütmede incelendi (Türe ve ark., 2014). Deneylerde etik izin alınan (Etik no: 42208298-040-04-02) 65 adet kalkan balığı ( $42 \pm 2$  gr) kullanıldı.

### HPLC cihazı çalışma koşulları

Schimadzu Model 20-AT prominence

Photo Diode Array Dedektör

Mobil faz (725ml ultra saf su, 265ml asetonitril, 4ml %10'luk asetik asit)

Kolon sıcaklığı  $25^\circ\text{C}$

Kolon (C 18)

Akış hızı 0.8ml dakika<sup>-1</sup>

Dalga boyu 223nm

Süre 30dk

### Validasyon çalışmaları ve plazma FF analizi

Metot validasyon çalışmaları için 5 adet kalkan balığı kullanıldı. Validasyon çalışmalarında, FF stok ve çalışma standart çözeltileri Van de Riet ve arkadaşları (2003)'nın yöntemi esas alınarak hazırlandı. FF saf standart (Fluka) ile  $100 \mu\text{g ml}^{-1}$  konsantrasyonda ana stok çözeltisi metanol: ultra saf suda (v/v; 3:7) çözdürülerek hazırlandı. Ana stoktan ileri dilüsyonlar ( $0.375, 0.75, 1.5, 3$  ve  $6 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) %0.1 asetik asit çözeltisi kullanılarak yapıldı. Hazırlanan standartlar  $20 \mu\text{l}$  hacimde HPLC cihazına uygulandı. Ölçümler en az 5 tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Sonuçların ortalaması alınarak kalibrasyon eğrisi çizildi (Taçbaşı, 2018). Validasyon Doğrusallık (Linearity;  $0.75, 1.5, 3 \mu\text{g ml}^{-1}$  konsantrasyonlarda, her doz için 3 tekrar), Seçicilik (Selectivity; balık türüne ve matrikse bağımlı olarak 5 farklı kör ve 3 farklı konsantrasyonda bakıldı), Doğruluk (Accuracy) ve Kesinlik (Precision), Tekrar Üretilirlik (Reproducibility; farklı günlerde  $0.75, 1.5$  ve  $3 \mu\text{g ml}^{-1}$  dozlarda üç tekrar olarak) ve Duyarlılık (Sensitivity) parametreleri üzerinden yapıldı. Plazmadan FF analizi için  $0.5 \text{ml}$  kan plazması alınarak %0.1 asetik asitle hacim, cam tüpte  $1 \text{ml}'ye$  tamamlandı. Üzerine  $1 \text{ml}$   $0.1 \text{M}$  fosfatlı tampon çözeltisi (pH:7) eklendi. Bunun da üzerine  $4 \text{ml}$  etil

asetat eklendi. 10 dakika boyunca yüksek hızda çalkalayıcıda karıştırıldı. Daha sonra üstteki 3ml hacimdeki süpernatant başka bir cam tüpe ayrıldı. Geri kalan kısmın üzerine 2ml daha etil asetat eklenerek işlemler tekrarlandı. 2ml hacimdeki süpernatant alınarak daha önceden ayrılmış olan süpernatanta eklendi. Cam tüpteki 5ml etil asetat 40°C azot evaporatörde uçuruldu. Üzerine 1ml mobil faz (725ml ultra saf su, 265ml asetonitril, 4ml %10'luk asetik asit) eklenerek çözdürüldü (Anadón ve ark., 2008; Taçbaşı, 2018; Van de Riet ve ark., 2003).

### Hayvan deneyleri

Araştırmada 60 adet kalkan balığı kullanıldı. Kalkan balıkları kas içi (n:30) ve gastrik gavaj (n:30) grubu olmak üzere iki gruba ayrıldı. İlaç deneme grubundaki balık sayısı her zaman diliminde 5 balıktan ve her balıktan da sadece bir kez kan alınacak şekilde belirlendi.

İlaç deneme gruplarına uygulanacak FF teknik standarttan %100'e tekabül edecek şekilde tartım yapılarak dimetil formamid (2ml) ve fizyolojik tuzlu su (8ml) yardımıyla önce ana stok (100 mg ml<sup>-1</sup>), bundan da tekrar dilüsyonla 10 mg ml<sup>-1</sup>'lik uygulama çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiden balıklara 10 mg kg<sup>-1</sup> c.a FF doz hesabıyla 42 mikrolitre hacimde olacak şekilde gavaj ve kas içi yolla uygulama yapıldı.

Grup 1 ve 2'de bulunan balıklardan 1., 3., 6., 12., 24. ve 48., saat dilimlerinde lityum heparinli tüplere kuyruk venasından yaklaşık 2 ml kan alındı ve en kısa sürede 3000 dev dakikada<sup>-1</sup> 10 dakika santrifüj ile plazmalar elde edildi. Numaralanmış plazma örnekleri analizlere kadar -18°C'de saklandı.

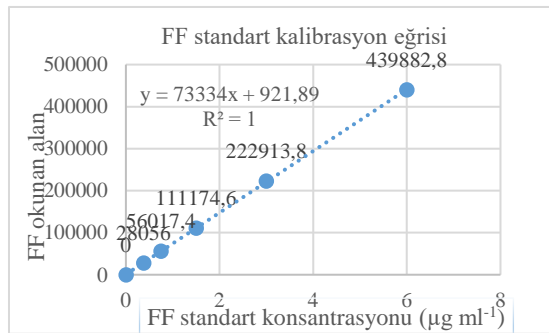
### Farmakokinetik hesaplamalar

Farmakokinetik analiz, win-nolin programı (Version 5.2, Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA) kullanılarak kompartımsız modele göre yapıldı. İlaç deneme gruplarında her zaman dilimindeki ortalama plazma FF düzeyi cihazın LOD üstü belirlediği değerlerin ortalaması alınarak hesaplandı.

## BULGULAR

### Validasyon parametre sonuçları

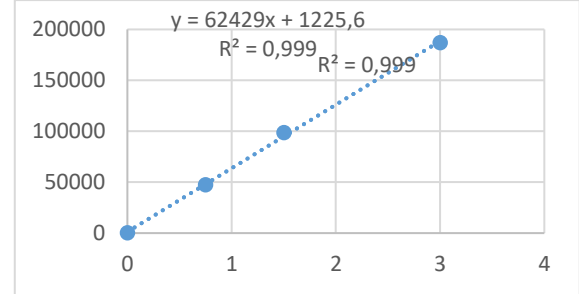
Metot validasyon sonuçları Tablo 1, 2, 3, 4 ve Şekil 1, 2 ve 3'de verilmiştir.



Şekil 1. FF standart kalibrasyon eğrisi (n=5, her konsantrasyon için)

Tablo 1. Kalkan balığı plazmasında üç farklı konsantrasyonda FF için Doğrusallık sonucu.

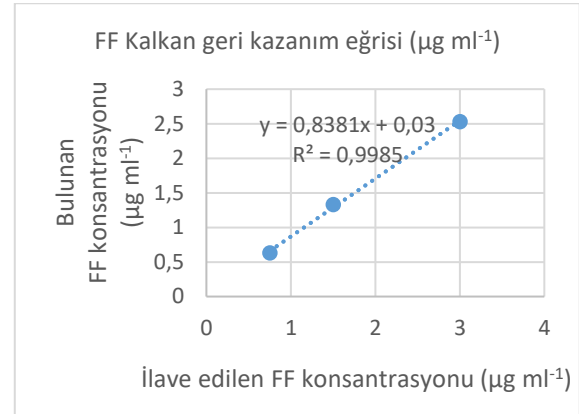
Regresyon formülü	R <sup>2</sup>
$y = 62429x + 1225.6$	0.999



Şekil 2. Kalkan balığı doğrusallık eğrisi

Tablo 2. Kalkan balığı plazmasında FF için geri kazanım sonuçları.

FF (µg ml <sup>-1</sup> )	Ortalama Geri kazanım (µg ml <sup>-1</sup> ) (n=3)	Geri kazanım (%)	RSD (%)
0.75	0.63±0.04	84.11	6.45
1.5	1.33±0.004	88.81	0.35
3	2.53±0.03	84.51	1.38



Şekil 3. Kalkan balığı plazmasında FF geri kazanım eğrisi (n=3, her konsantrasyon için)

Tablo 3. Kalkan balığı plazmasında FF için Tekrar üretilebilirlik sonuçları.

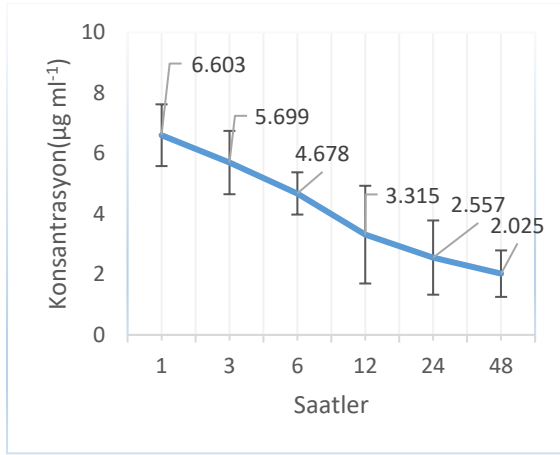
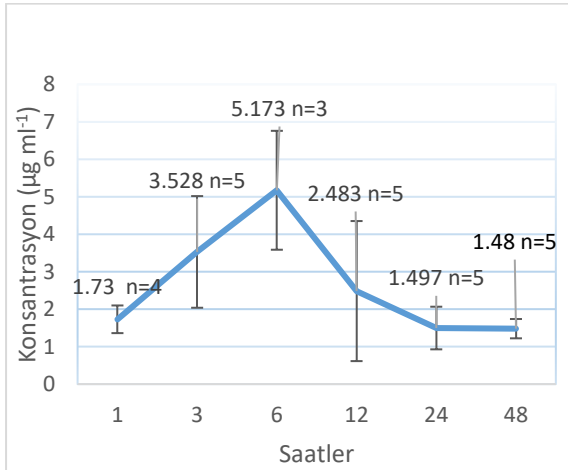
FF (µg ml <sup>-1</sup> )	Göreceli standart sapma RSD (%)
0.75	3.4
1.5	0.05
3	0.0004

**Tablo 4. Kalkan balığı plazmasında FF için Duyarlılık (tespit ve tayin limitleri) sonuçları.**

Florfenikol	Kalkan plazma	
	LOD ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	0.0039
LOQ ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	0.0120	

**İlaç deneme grupları (kas içi ve gavaj) plazma FF sonuçları**

İlaç deneme grupları plazma FF sonuçları Şekil 4 ve 5'de, farmakokinetik parametre analiz sonuçları ise Tablo 5'de verildi.

**Şekil 4. Kalkan balıklarında kas içi  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  uygulanan FF'ye ait ortalama plazma konsantrasyon-zaman eğrisi ( $n=5$ , her zaman dilimi için).****Şekil 5. Kalkan balıklarında gavajla  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  uygulanan FF'ye ait ortalama plazma konsantrasyon-zaman eğrisi ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ ).****Tablo 5. Kalkan balıklarında kas içi ve gavaj yolla  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  dozda uygulanan FF'ye ait farmakokinetik parametre sonuçları.**

	(İM)	(Gavaj)
Tmax (saat)	1	6
Cmax ( $\text{mg L}^{-1}$ )	6.60	5.17
Tlast (saat)	48	48
Clast ( $\text{mg L}^{-1}$ )	2.02	1.48
AUClast (saat $\text{mg L}^{-1}$ )	145.39	101.76
Vz_F_obs ( $\text{L kg}^{-1}$ )	2.54	3.64
Cl_F_obs ( $\text{L kg saat}^{-1}$ )	0.033	0.045
MRTlast (saat)	19.31	19.02
F (%) (Nispi biyoyararlanım)		%69.65

Tmax: Maksimum konsantrasyona ulaşma süresi, Cmax: Maksimum konsantrasyon, Tlast: Son ölçülebilen konsantrasyon zamanı, Clast: Son ölçülebilen konsantrasyon, AUClast: Dozlama zamanından son ölçülebilen konsantrasyona kadar eğri altında kalan alan, Vz\_F\_obs: Terminal fazda belirlenen dağılım hacmi, Cl\_F\_obs: Ekstravasküler uygulama için gözlenen toplam vücut klirensi, MRTlast: Dozlama zamanından ölçülebilen son konsantrasyona kadar olan ortalama kalış süresi.

**TARTIŞMA**

Validasyon parametre sonuçları (Tablo 1, 2, 3, 4 ve Şekil 1, 2, 3) HPLC yönteminin kalkan balığı plazmasında FF analizi için uygun olduğunu göstermiştir.

İlaçların farmakokinetiği, tür, birey ve ilaç gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebilir (Vinarov ve ark., 2021). Farklı balık türlerinde FF'nin farmakokinetiği ile ilgili çalışmalar olmasına rağmen (Pourmolaie ve ark. 2018; Shiry ve ark., 2019; Wang ve ark., 2009; Yanong ve ark., 2005), kalkan balığında yapılmış sadece bir çalışma bulunmaktadır (Ocenda ve ark., 2017). Ancak, çalışılan kalkan balığı türü bu çalışmadakinden (*Psetta maxima*) farklı olarak *Scophthalmus maximus*'tur. Diğer yandan ilaç uygulama şekli de bu çalışmadakinden (kas içi ve gastrik gavaj) farklı olarak ilaçlı yem şeklindedir.

Mevcut çalışmada, *Psetta maxima*'da kas içi uygulanan FF'nin Tmax (saat) ve Cmax ( $\text{mg L}^{-1}$ ) değerleri 1 ve 6.60, gavaj yolla uygulananda ise sırasıyla 6 ve 5.17 olarak bulundu. Bu durum intramüsküler uygulama ile ilacın gavajdan daha kısa sürede daha yüksek kan konsantrasyonlarına ulaştığını göstermektedir. Uygulama yoluna bağlı bu farklılık gavaj uygulamasında ilacın kas içi uygulamaya göre emilim bakımından biyolojik membranlardan geçmesi için zaman gerektirmesine, kas içi uygulamada ise ilacın uygulama yerindeki kapillar damarlar aracılığıyla kana daha kolay ulaşmasına bağlıdır. Deneysel hayvanlarındaki çalışmalar periton içi (ip) uygulamada olduğu gibi parenteral uygulamaların ağız yolu uygulamasına göre daha yüksek biyoyararlanıma



sahip olduğunu bunun da daha kısa tmax'a ulaşma süresi gerektirdiğini bildirmektedir (Al Shoyaib ve ark., 2020).

Kas içi uygulamada Clast (mg L<sup>-1</sup>) ve AUClast (saat mg L<sup>-1</sup>) değerleri gavaja göre daha yüksek olmasına rağmen, Tlast (saat) değerleri esas alınan örnekleme zaman süreci itibarıyla her iki grupta da aynı (48) bulundu. FF'nin dağılım hacmi (Vz\_F\_obs, L kg saat<sup>-1</sup>) ise gavaj yolla verilen grupta daha büyük belirlendi. Bu durum gavaj yolla uygulanan ilacın doku ve organlara daha iyi dağıldığını göstermektedir. Tlast (saat) değerinde olduğu gibi FF'nin MRTlast (saat) değeri de kas içi ve gavaj grubunda birbirine oldukça yakın bulundu (sırasıyla 19.31 ve 19.02). Nispi biyoyararlanım (%), Tmax (saat), Cmax (mg L<sup>-1</sup>), AUC (saat mg L<sup>-1</sup>), MRT (saat) ve klirens (L) değerleri bakımından Ocenda ve arkadaşlarının (2017) kalkanlarda yaptıkları FF farmakokinetik çalışmasındakine göre (sırasıyla 57.1, 13.8, 44.35, 2036.9, 30.2 ve 0.028 ) bu çalışmada FF'nin Nispi biyoyararlanımı daha yüksek (% 69.65), im ve gavaj her iki uygulama grubunda Tmax daha kısa (sırasıyla 1 ve 6 saat), Cmax (sırasıyla 6.60 ve 5.17 mg L<sup>-1</sup>), AUC (sırasıyla 145.39 ve 104.76 saat. mg L<sup>-1</sup>) ve MRT (sırasıyla 19.31 ve 19.02 saat) değerleri daha düşük, klirens ise benzer sırasıyla 0.033 ve 0.045 L kg saat<sup>-1</sup> bulundu.

AUC vücudun bir ilaca maruz kalma derecesini ifade eder (Scheff, 2011). AUC, ilaç dozu ve uygulama sıklığı, yaş, cinsiyet, boy, kilo, birlikte kullanılan ilaçlar, ilaç metabolize edici enzimlerdeki kalıtsal varyasyonlar, ilaç taşıyıcıları ve/veya ilaç hedefleri, ilaç klirensi (böbrek ve karaciğer fonksiyonu) gibi hastaya özgü faktörlerden etkilenir (Eaton ve ark., 2018). Bu çalışmada Ocenda ve arkadaşları (2017)'na göre biyoyararlanım biraz daha yüksek, klirens benzer çıkmakla birlikte AUC değerindeki düşüklük uygulanan ilaç birim miktarının bu çalışmada Ocenda ve arkadaşları (2017)'ninkine göre (100 mg kg<sup>-1</sup> c.a, ağızdan) daha düşük (10 mg kg<sup>-1</sup> c.a, gastrik gavaj), balık canlı ağırlığının daha az ve kalkan balığı türünün farklı olmasıyla ilgili olabilir. İlacın doğrudan gastrik gavaj yoluyla verilmesiyle ilaçlı yem şeklinde verilmelere göre biyoyararlanımın (F) daha fazla olacağı literatür bilgisiyle örtüşerek (Turner ve ark., 2011) emilimin daha kısa sürede olmasına, dolayısıyla Tmax süresinin daha kısa çıkmasına neden olmuştur. Ancak, Pourmolaie ve arkadaşları (2018) tarafından alabalıklarda yapılan çalışmada gavaj yola göre ilaçlı yem şeklinde verilen FF'nin Cmax değerinin yüksek çıkması yem bileşimine ve bileşimin FF'nin emilmesini artırmasına bağlanmıştır. Bu çalışmada Tmax daha kısa olmakla birlikte Cmax değerinin Ocenda ve arkadaşları (2017)'ninkinden düşük çıkması Ocenda ve arkadaşları (2017)'ninkinde verilen dozun yüksekliği yanında yem bileşiminin de FF'nin emilen miktarını artırmasıyla ilgili olabilir. Diğer yandan su canlılarında yapılan çalışmalar su sıcaklığının ilaç etken maddesinin biyotransformasyonunun değişmesinde önemli etken olduğunu göstermektedir (Cervený ve ark., 2021). FF ile ilgili Nil tilapia

(*Oreochromis niloticus*)'larında yapılan çalışmada su sıcaklığının 24°C'den 32°C'ye çıkmasının eliminasyon hız sabitinin artmasına, eliminasyon yarı ömrünün kısalmasına, emilim yarı ömrünün düşmesine, maksimum serum konsantrasyonunun düşmesi ve bu konsantrasyona ulaşmak için geçen sürenin kısalmasına, AUC'nin yarı yarıya düşmesine, dağılım hacminin artmasına neden olduğu bildirilmiştir (Rairat ve ark., 2019). Yine Rairat ve arkadaşları (2019) tarafından Nil tilapia (*Oreochromis niloticus*)'sında yapılan çalışmada da suyun tuzluluk oranı arttıkça iv uygulanan FF'nin eliminasyon yarı ömrünün kıaldığı, klirensinin arttığı, hızlı atılmaya bağlı olarak AUC değerinin düştüğü, ancak FF'nin ağızdan uygulandığı grupta yüksek tuzluluğa bağlı biyoyararlanımın artmasından dolayı AUC değerinde belirgin bir değişikliğin olmadığı bildirilmiştir. Diğer yandan oksitetrasiklin (OTC)'le ilgili yapılan bir çalışmada da suyun sıcaklığının artmasının AUC değerini düşürdüğü, fakat bunda daha çok ilacın özelliğine bağlı olarak katyonlarla kompleks oluşturmasının da etkili olabileceği bildirilmiştir (Rigos ve Smith, 2015). Mevcut çalışma sonuçlarının bu çalışma sonuçlarıyla örtüşmemesi kalkan balık türündeki biyolojik farklılık ve Karadeniz suyunun özellikleriyle (Karadeniz suyu sıcaklığının deneme boyunca 11±1 santigrat, tuzluluk oranının %0.18, oksijen miktarının 10.02 mg ml<sup>-1</sup>) ilgili olabilir.

Balıklarda antibiyotiklerin, hatta genel anlamda ilaçların PK/PD'sine ve minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. FF'nin PK/PD'sine ve MIC değerlendirmesine ilişkin araştırmalar da oldukça azdır. Bu kapsamda Su ürünlerinde Epidemiyolojik cut-off (ECO) değerleri sadece *Aeromonas salmonicida* için belirlenmeye çalışılmış (Smith, 2007), *V. anguillarum* için sadece bir çalışma bulunmuştur (Smith ve Christofilogiannis, 2007). Nitekim Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)'nin 2018 yılı listesinde de FF'nin ECO ve breakpoint verilerine ilişkin bilgi bulunamamıştır (CLSI, 2018). Ancak, sınırlı da olsa aynı antibiyotiğe yönelik balıklarda bir ECO değeri bulunduğu bunun antibiyotik tedavisine başlamada yardımcı olabileceği de bildirilmektedir.

Çeşitli balık türlerinden izole edilen balık patojenleri için FF'nin etkinlik çalışmalarında MIC değerleri etkenlere göre farklılık göstermekle birlikte *Aeromonas hydrophila* (n=41) için 0.78- >100 µg ml<sup>-1</sup>, *Edwardsiella tarda* (n=76) için 0.2- >100 µg ml<sup>-1</sup>, *Klebsiella* spp. (n=21) için 0.78-25 µg ml<sup>-1</sup>, *Pseudomonas fluorescences* (n=32) için 0.78- >100 µg ml<sup>-1</sup>, *Streptococcus* spp. (n=12) için 0.78- >100 µg ml<sup>-1</sup>, *Vibrio* spp. (n=58) için 0.78-50 µg ml<sup>-1</sup> olarak değiştiği görülmektedir (Ho ve ark., 2000). Lin ve arkadaşları (2022) tarafından *Aeromonas* spp'ine yönelik 8 antibiyotiğe ilişkin ECO çalışmasında da FF için değer 1 µg ml<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada MIC değerine bakılmamış olmakla birlikte, FF'nin diğer araştırmalardaki MIC değerleri (Ocenda ve ark.,

2017) ve en düşük MIC ilacın 48. saate kadar etkili olabileceği düşünülebilir. Ancak, daha kesin veriler elde etmek için mevcut koşullarda MIC değerlerinin araştırılması gerekmektedir.

## SONUÇ

Çalışmadan elde edilen sonuçlar, farmakokinetik parametre değerlerinin balığın türüne ve büyüme koşullarına göre değişebileceğini, bu nedenle özellikle balıklarda spesifik farmakokinetik çalışmaların yapılması gerektiğini göstermiştir.

## Teşekkür

Farmakokinetik analizlere katkılarından dolayı Cengiz GÖKBULUT'a, çalışmamız için ortam ve destek sağlama Trabzon Merkez Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü yönetimine ve personeline teşekkür ederiz. Finansman: Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırma ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM / HSGYAD/15/A11/P03/65).

## Çıkar Çatışması

Yazarlar, bu makalenin araştırılması, yazarlığı ve/veya yayımlanması ile ilgili olarak herhangi bir potansiyel çıkar çatışması beyan etmemektedir.

## Yazar Katkıları

**Plan, tasarım:** ET, EB; **Gereç ve yöntem ve veri toplama:** ET, EB, MT, İK, CA, GYT, FGA, EA; **Veri analizi ve yorum:** ET, EB, MT, İK, CA, GYT, FGA, EA; **Yazım ve eleştirel değerlendirme:** ET, EB, MT, İK, CA, GYT, FGA, EA.

## KAYNAKLAR

Al Shoyaib, A., Archie, S.R., & Karamyan, V.T. (2020). Intraperitoneal route of drug administration: Should it be used in experimental animal studies? *Pharmaceutical research*, 37(1), 1-17. <https://doi.org/10.1007/s11095-019-2745-x>.

Anadón, A., Martínez, M. A., Martínez, M., Ríos, A., Caballero, V., Ares, I., & Martínez-Larrañaga, M. R. (2008). Plasma and tissue depletion of florfenicol and florfenicol-amine in chickens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 11049-11056. <https://doi.org/10.1021/jf802138y>.

Aydın, İ., & Şahin, T. (2011). Reproductive performance of turbot (*Psetta maxima*) in the southeastern Black Sea. *Turkish Journal of Zoology*, 35(1), 109-113. <https://doi.org/10.3906/zoo-0905-26>.

Aydın, İ., Polat, H., & Şahin, T. (2019). Reproductive Performance of Wild and Hatchery-Reared Black Sea Turbot, *Psetta maxima*, in the Southern Black Sea Coast. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20(5), 351-357. [http://doi.org/10.4194/1303-2712-v20\\_5\\_03](http://doi.org/10.4194/1303-2712-v20_5_03).

Aydın, İ., Polat, H., Küçük, E., & Özdemir, M. D. (2020). Turbot and flounder aquaculture. In: Marine Aquaculture in Turkey: Advancements and Management. Turkish Marine Research Foundation (TUDAV). Eds: Çoban, D., Demircan, M.D., Tosun, D.D. Publication No: 59, İstanbul, Turkey.

Caruso, F., Pierraccini, J., Bourdenet, D., & Massa, F. (2018). Technical Training on Turbot Farming and Restocking in Trabzon, Turkey. FAO Aquaculture Newsletter No. 59.

Cervený, D., Fick, J., Klaminder, J., McCallum, E.S., Bertram, M.G., Castillo, N.A., & Brodin, T. (2021). Water temperature affects the biotransformation and accumulation of a psychoactive pharmaceutical and its metabolite in aquatic organisms. *Environment International*, 155, 106705. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106705>.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2018). M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th Edition.

Eaton, K.D., & Lyman, G.H. (2018). Dosing of anticancer agents in adults. *UpToDate*, <https://www.uptodate.com/contents/dosing-of-anticancer-agents-in-adults> (accessed on 25 December, 2018).

Ho, S-P, Hsu, T-Y, Che, M-H, & Wang W-S. (2000). Antibacterial effect of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol against aquatic animal bacteria. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 62(5), 479-485. <http://doi.org/10.1292/jvms.62.479>.

Kalayci, G., Incoglu, S., & Ozkan, B. (2006). First isolation of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) virus from turbot (*Scophthalmus maximus*) cultured in the Trabzon coastal area of the Black Sea in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 26(4), 157.

Kogiannou, D., Nikoloudaki, C., Katharios, P., Triga, A., & Rigos, G. (2020). Evaluation of absorption and depletion of florfenicol in European seabass *Dicentrarchus labrax*. *Veterinary Medicine and Science*, 7(3), 987-997. <http://doi.org/10.1002/vms3.415>.

Lin, Y., Yang, J., Wu, Z., Zhang, Q., Wang, S., Hao, J., Ouyang, L., & Li, A. (2022). Establishment of Epidemiological Resistance Cut-Off Values of Aquatic Aeromonas to Eight Antimicrobial Agents. *Microorganisms*, 10, 776. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10040776>.

Lis, M., Szczyepka, M., Suszko, A., Światała, M., & Obmińska-Mrukowicz, B. (2011). The effects of florfenicol on lymphocyte subsets and humoral immune response in mice. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 14(2), 191-198. <http://doi.org/10.2478/v10181-011-0029-4>.

Ocenda, V-R de, Almeida-Prieto, S., Luzardo-Alvarez, A., Barja, J. L., Otero-Espinar, F.J., & Blanco-Mendez, J. (2017). Pharmacokinetic model of florfenicol in turbot (*Scophthalmus maximus*): Establishment of optimal dosage and administration in medicated feed. *Journal of Fish Diseases*, 40(3), 411-424. <http://doi.org/10.1111/jfd.12525>.

Öztürk, R. Ç., & Altınok, İ. (2014). Bacterial and viral fish diseases in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14, 275-297.

Pourmolaie, B., Eshraghi, H. R., Haghghi, M., Mortazavi, S. A., & Rohani, M. S. (2018). Pharmacokinetics of florfenicol by gavage feeding or medicated feed in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquaculture & Marine Biology*, 7(1), 44-46.

Samsun, N., Yiğit, M., & Çolak, S. Ö. (2007). Türkiye'de kalkan balığı avcılığının durumu ve sorunları. *Su Ürünleri Mühendisleri Derneği Dergisi*, 31, 17-20.

- Scheff, J.D., Almon, R.R., DuBois, D.C., Jusko, W.J., & Androulakis, I. P. (2011). Assessment of pharmacologic area under the curve when baselines are variable. *Pharmaceutical research*, 28(5), 1081-1089. <http://doi.org/10.1007/s11095-010-0363-8>.
- Shiry, N., Shomali, T., Soltanian, S., & Akhlaghi, M. (2019). Comparative single-dose pharmacokinetics of orally administered florfenicol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) at health and experimental infection with *Streptococcus iniae* or *Lactococcus garvieae*. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 42(2), 214-221. <http://doi.org/10.1111/jvp.12736>.
- Smith, P. (2007). A survey of methods and protocols currently being used to determine antimicrobial susceptibility of bacteria associated with fish disease. *Bulletin-European Association of Fish Pathologists*, 27(1), 18-2.
- Smith, P., & Christofilogiannis, P. (2007). Application of normalised resistance interpretation to the detection of multiple low-level resistance in strains of *Vibrio anguillarum* obtained from Greek fish farms. *Aquaculture*, 272(1-4), 223-230.
- Taçbaşı, E. (2018). Sağlıklı ve *Lactococcus garvieae* ile enfekte Gökkuşluğu Alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nda Florfenikol'ün farmakokinetiği. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara.
- Turner, P.V., Brabb, T., Pekow, C., & Vasbinder, M.A. (2011). Administration of substances to laboratory animals: Routes of administration and factors to consider. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 50(5), 600-613.
- Türe, M., Haliloğlu, H.İ., Altuntaş, C., Boran, H., & Kutlu, İ. (2014). Comparison of experimental susceptibility of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), Turbot (*Psetta maxima*), Black Sea Trout (*Salmo trutta labrax*) and Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) to *Lactococcus garvieae*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14(2), 507-513. [https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14\\_2\\_22](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14_2_22).
- Rairat, T., Hsieh, C.Y., Thongpam, W., Sung, C.H., & Chou, C.C. (2019). Temperature-dependent pharmacokinetics of florfenicol in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following single oral and intravenous administration. *Aquaculture*, 503, 483-488.
- Rigos, G., & Smith, P. (2015). A critical approach on pharmacokinetics, pharmacodynamics, dose optimisation and withdrawal times of oxytetracycline in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 7(2), 77-106. <https://doi.org/10.1111/raq.12055>.
- van de Riet J. M., Potter R. A., Christie-Fougere M., & Burns B. G. (2003). Thiamphenicol, florfenicol, and florfenicol amine in farmed aquatic species by liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 23, 510-514.
- Vinarov, Z., Abdallah, M., Agundez, J., Allegaert, K., Basit, A. W., Braeckmans, M., Ceulemans, J., Corsetti, M., Griffin, B., Grimm, M., Keszthelyi, D., Koziolok, M., Madla, C. M., Matthys, C., McCoubrey, L. E., Mitra, A., Reppas, C., Stappaerts, J., Steenackers, N., Trevasakis, N. L., Vanuytsel, T., Vertzoni, M., Weitschies, W., Wilson, C., & Augustijns, P., (2021). Impact of gastrointestinal tract variability on oral drug absorption and pharmacokinetics: An UNGAP review. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 162, 105812. <http://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.105812>.
- Wang, W., Dai, X., Li, Z., & Meng, Q. (2009). Tissue distribution and elimination of florfenicol in Topmouth Culter (*Culter alburnus*) after Oral Administration. *Czech Journal of Food Sciences*, 27, 216-221.
- Yanong, P. R., Curtis, W. E., Simmons, R., Bhattaram, V. A., Gopalakrishnan, M., Ketabi, N., Nagaraja, N. V., & Derendorf, H. (2005). Pharmacokinetic studies of florfenicol in Koi Carp and threespot gourami *Trichogaster trichopterus* after oral and intramuscular treatment. *Journal of Aquatic Health*, 17(2), 129-137. <https://doi.org/10.1577/H03-065.1>.