



TÜRKİYE BİLİMSEL VE
TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU

THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL
RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

TILAPIA (OREOCHROMIS HILOTICUS)'LARDA
OXYTETRACYCLINE (OTC)'NİN FARMAKOKİNETİK
YÖNDEN İNCELENMESİ

2002-45 ✓

15

197Y150 (YDABÇAG-651/A)

Doc. Dr. İbrahim CENGİZLER

Yer Deniz Atmosfer Bilimleri ve
Çevre Araştırma Grubu

Earth Marine Atmospheric Sciences and
Environmental Researches Grant Group

TILAPIA (OREOCHROMIS HILOTICUS)'LARDA
OXYTETRACYCLINE (OTC)'NİN FARMAKOKİNETİK
YÖNDEN İNCELENMESİ

2002-45 ✓

15

197Y150 (YDABÇAG-651/A)

Doç.Dr. İbrahim CENGİZLER
(Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi)

ÖZET

Bu çalışma, ortalama boyları $20,59\pm 0.83$ cm ve ortalama canlı ağırlıkları $150,66\pm 0.82$ g olan kültüre alınmış tilapia (*Oreochromis niloticus*)'larda Tetrasiklin grubu bir antibiyotik olan Oksitetrasiklin'in, 75 mg/kg canlı ağırlığa denk olacak dozda hazırlanan solüsyonun şırınga yardımı ile balığın midesine tek doz olarak uygulanımından sonra farmakokinetik parametrelerin ve serum, kas, karaciğer, gonad dokularındaki antibiyotik seviyelerinin günlere bağlı olarak belirlenmesi amacı ile yapılmıştır.

Oksitetrasiklin seviyeleri yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı (HPLC) ile belirlenmiştir. Oksitetrasiklin serum seviyeleri iki kompartmanlı dışa açık modele göre hesaplanmıştır. Biyolojik yarı ömür ($t_{1/2}$) değerleri dokulara göre sıralandığında serum için $t_{1/2}$ 21.1 saat, kas için $t_{1/2}$ 72.8 saat , karaciğer için $t_{1/2}$ 80.5 saat ve gonad için $t_{1/2}$ 73.5 saat olarak hesaplanmıştır.

Anahtar kelimeler : Oksitetrasiklin , farmakokinetik , tilapia (*Oreochromis niloticus*) , HPLC.

ABSTRACT

The aim of this study is to determine the pharmacokinetic properties and tissue levels of the antibacterial agent Oxytetracycline which is belong to the group known as Tetracyclines were studied after the solutions containing a quantity of oxytetracycline corresponding 75 mg/kg body weight were placed in the stomach of the cultured Tilapia (*Oreochromis niloticus*) using a syringe. The average body weight was 150.66 ± 0.82 g and average body length was 20.59 ± 0.83 cm. The tissues were plasma, muscle, liver and gonads.

Oxytetracycline levels were determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Two compartmental method were used to determine the oxytetracycline levels. Biological half-life ($t_{1/2}$) for serum was 21.1 h, muscle 72.8 h, liver 80.5 h and for gonads 73.5 hours .

Key words : Oxytetracycline , pharmacokinetic , tilapia (*Oreochromis niloticus*), HPLC.

1.GİRİŞ

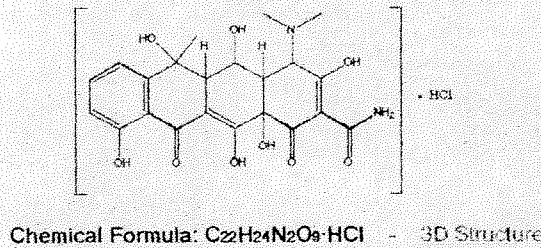
Ülkemizde yapılan balık yetiştiriciliği, son 20 yılda oldukça hızlı bir gelişme göstermiş olup ülke ekonomimiz açısından da önemli bir sektör haline gelmiştir. Ancak kültüre alınan balıkların çok çeşitli zararlılara maruz kalmaları ve buna bağlı olarak oluşan balık ölümleri su ürünleri yetiştiriciliğinde önemli bir sorundur.

Balık ölümlerine neden olan zararlıları, bakteriyel, virütik, parazitik ve mantar hastalıkları olmak üzere başlıca 4 grup altında toplayabiliriz. Bu 4 grup zararlılardan en fazla ekonomik kayıplara neden olan mikroorganizmalar bakterilerdir.

Su ürünleri yetiştiriciliğinde, bakteriyel hastalıkların tedavisinde farklı antibiyotik grupları kullanılmakta olup daha çok geniş spektrumlu antibiyotikler tercih edilmektedir.

Oksitetrasiklin.HCl dünyada ve ülkemizde ki su ürünleri işletmelerinde bakteriyel hastalıkların tedavisinde oldukça yaygın kullanılan Tetraksiklinler grubuna dahil geniş spektrumlu bir antibiyotiktir.

Oksitetrasiklin .HCl'in kimyasal formülü ve yapısı Şekil 1. de verilmiştir.



Şekil 1. Oksitetrasiklin .HCl'in kimyasal formülü ve yapısı

Oksitetrasiklin.HCl balıklardaki bakteriyel hastalıklara karşı oldukça etkili bir antibiyotik olmasına karşın, insan kullanımı açısından çeşitli yan etkileri nedeni ile diğer antibiyotik grupları daha çok tercih edilmektedir ancak insanlarda da yaygın bir biçimde kullanılabilir.

Tetrasiklinler grubuna dahil antibiyotiklerin yan etkilerini Kayaalp (1992), Gastrointestinal sistemdekiyan etkileri, dişlerde ve kemiklerde diskolorasyon (renk bozukluğu), karaciger üzerine toksik etki, böbrekle ilgili yan tesirler, alerjik belirtiler, fotosensibilizasyon, beyin pseudotümörü, hematolojik bozukluklar, santral sinir sistemi ile ilgili yan tesirler ve gebelerde fôtus ile ilgili toksik etkilerden başka katabolik asidoz oluşumunu bildirmiştir. Yine Kayaalp (1992), gebelik sırasında uzun süre tetrasiklin verilmesinin, fôtusun kemiklerinde ve süt dişlerinde renklenmeye ilave olarak gelişme bozukluklarına ve deformitelere de yol açabileceğini bildirmiştir.

İnsan sağlığı açısından çok sayıda yan etkileri bulunan bu antibiyotik grubunun balık hastalıklarının tedavisinde kullanılması oldukça dikkat edilmesi gereken bir konudur. Oksitetrasiklin.HCl ile tedavi edilmiş balıkların vücutlarından antibiyotiğin atılmadan insan tüketimine sunulması söz edilen bu antibiyotiğin insan vücuduna geçmesi ve yukarıda belirtilen yan etkilere sebep olmasını sağlamaktadır.

Balıklarda kullanılan bir ilacın uygulandıktan sonra kan ve çeşitli dokulardaki yoğunluğunun kaç günde maksimum düzeye çıktığı ve balık vücudundan tedaviden kaç gün sonra ilacın atıldığını saptamak ancak farmakokinetik inceleme ile olanaklı olmaktadır.

Bu araştırma ülkemizde de yetiştiriciliği yapılan Tilapia (*Oreochromis niloticus*)'larda bakteriyel hastalıklara karşı kullanılan Oksitetrasiklin.HCl'in farmakokinetik yönden incelenmesi amacı ile kurgulanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tilapia (*Oreochromis niloticus*) ile ilgili yapılan çalışmalar arasında, Oksitetrasiklin.HCl'in farmakokinetik yönden incelenmesine ilişkin yerli yada yabancı kaynağa rastlanmamıştır. Ancak sazan, alabalık, deniz levreği, çipura, kalkan gibi diğer balık türlerinde hem oksitetrasiklin, hemde diğer antibiyotik grupların farmakokinetik yönden incelendiği yabancı yayınlara bulunmaktadır. Grondel ve ark.(1987), sazan (*Cyprinus carpio L.*)'lara farklı yöntemlerle uyguladıkları oksitetrasiklin'in farmakokinetiğini ve dokulara dağılımını incelemiştir. Bu çalışmada intravenöz, intramusküler ve oral olarak 60 mg/kg canlı ağırlık dozunda oksitetrasiklin uygulaması yapılmış, plazmadaki oksitetrasiklin konsantrasyonlarını intravenöz ve intramuskuler uygulamadan 27 gün sonra 0.22 ± 0.02 ve 0.18 ± 0.0 olarak, oral uygulama da 3. günde 0.06 ± 0.0 olarak belirlemiştir. Kas dokusunda intramuskuler uygulamadan sonraki günlerde ilacın belirlenemeyecek düzeye indiğini tespit etmişlerdir.

Iversen ve ark.(1988), balık dokularındaki oksitetrasiklin miktarının saptanmasında yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı kullanarak katı faz ekstraksiyonun optimizasyonu için yaptıkları bir çalışmada, 10gr kas ve 5gr karaciğer dokusunu ekstrakte edip oksitetrasiklin miktarlarına bakmışlardır. Buna göre kas dokusunda $1 \mu\text{g/g}$ ve karaciğer dokusunda $1 \mu\text{g/g}$ oksitetrasiklin'e rastlamışlardır.

Iversen ve ark.(1989), gökkuşuğu alabalığının plazmasında oksitetrasiklin miktarını u.v dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı kullanarak belirlemiştir. Kullandıkları gökkuşuğu alabalıklarına 150 mg/kg dozunda oksitetrasiklin uygulayıp günlere bağlı olarak plazmadaki oksitetrasiklin miktarlarını ölçmüşlerdir. Çalışma sonucunda 3. gün plazma konsantrasyonu $1.8 \mu\text{g/ml}$ en yüksek değerine ulaşmış 14. günde $0.7 \mu\text{g/ml}$ değerine düşmüştür. 14. günden sonra ise oksitetrasiklin değeri belirlenemez yoğunluklara değin düşmüştür.

Ueno ve ark.(1989), 240 gr'lık gökkuşuğu alabalığı (*Oncharhyncus mykiss*) dokularında yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı kullanarak oksitetrasiklin geri dönüşümünü belirlemiştir. Yaptıkları çalışmaya göre kas dokusunda %74,

serumdan %82, karaciğerden %75, böbrek dokusunda %72, kemik dokuda %73 ve deride %65 oranında geri dönüşüm elde etmişlerdir.

Kusser ve Newman (1990), balık dokularında oksitetrasiklin birikimini hassas bir biyodeny yöntemi kullanarak yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazından elde ettikleri sonuçlarla karşılaştırmışlardır. Coho salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)'lara 100 mg/kg dozunda oksitetrasiklini 21 gün boyunca oral yolla uyguladıktan 69 gün sonra 0.06 ppm değerinde oksitetrasiklin saptamışlar ancak daha sonraki örneklemelerinde oksitetrasiklin belirleyememişlerdir.

Uno ve ark(1992), kültüre alınmış gökkuşuğu alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*), Amago Salmon (*Onchorhynchus rhodurus*) ve sarı kuyruk (*Seriola guingueradiata*)'ta oksitetrasiklini farmakokinetik yönden incelemişlerdir. Oral yolla 100 mg/kg canlı ağırlık dozunda oksitetrasiklin uygulandıktan sonra 1-4 ml serum, 5-10 gr kas, 1-5 gr karaciğer dokularında oksitetrasiklin miktarlarını yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazında ölçmüşlerdir. Gökkuşuğu alabalığında uygulamadan 8 gün sonra kanda, 20 gün sonra kasta ve 33 gün sonrada karaciğerde oksitetrasiklinin saptayamamışlardır. Amago Salmon'da ise 8. gün serumda, 16. gün kasta, 28. günde karaciğerde belirlenen miktarlara dönüştüğünü bildirmişlerdir. Sarı kuyrukta ise 8.gün serumda, 8.gün kasta ve 20.gün karaciğerde belirlenemediğini tespit etmişlerdir.

Gentleman ve ark.(1993), farklı antibiyotik gruplarının kullanıldığı farmakokinetik çalışmalara örnek olarak Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) kas dokusunda yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı kullanarak sulphadiazin ve trimethoprim belirlemeye çalışmışlardır.

Zheng ve ark.(1994), yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı kullanarak yaptıkları çalışmada, Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)'nun kas, karaciğer ve deri dokularındaki diğer bir antimikrobiyal olan Romet-30 un dağılımı incelenmiştir.

Xu ve Rogers (1994), oksitetrasiklini Çizgili Levrek (*Morone saxatilis*)'e 50 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulamış ve ayrıca 75 mg/kg dozunda da oral yolla yeme karıştırarak uygulamıştır. Uygulamadan sonra kas dokusundaki birikimi 24.günden sonra saptanamayacak düzeye değin azaldığı ortaya konmuştur.

Elema ve ark.(1996), denizde yetiştirilen atlantik salmon (*Salmo salar*)'da oksitetrasiklinin oral yolla uygulanmasına bağlı biyoyararlanımını araştırmışlardır. 50 mg/kg canlı ağırlık dozunda oksitetrasiklini yeme karıştırarak uyguladıktan sonra, oral biyoyararlanım oranını %2 olarak belirlemiş ve serumdaki oksitetrasiklin düzeyinin 6.günden sonra belirlenemediğini saptamışlardır.

Malvisi ve ark.(1996), Deniz Levreği (*Dicentrarchus labrax*) ve Çipura (*Sparus aurata*)'lara oral yolla 75 mg/kg dozunda 14 gün boyunca oksitetrasiklin uygulamışlar ve dokulardaki dağılımını ve birikimini incelemişlerdir. Araştırmada yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı kullanılmış ve sonuçlara göre, Çipura'larda kas dokusunda 20 gün sonra 0.1 µg/kg düzeyinde oksitetrasiklin saptamışlardır. Ancak araştırmada kullanılan levreklerin bir kısmı deneme sırasında öldüğü için eser miktarda oksitetrasikline rastlamışlardır.

Son yıllarda oksitetrasiklinin balıklardaki kullanımının bir çok ülkede yasaklanmasından sonra farmakokinetik çalışmalar daha farklı antimikrobiyal ilaçlarda yoğunlaştırılmıştır.

Samulsen ve Ervik.(1997), Flumequine adlı antimikrobiyal ilacı intravenöz, intraperitonal ve oral yolla Atlantik Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*)'a 25 mg/kg tek doz olarak uygulamışlardır. Bu çalışmaya göre Flumequine oral olarak 240 saat sonra, 0.11 ± 0.03 , intravenöz olarak 240 saat sonra 0.15 ± 0.03 ve intraperitonal olarak 240 saat sonra kan örneklerinde 0.23 ± 0.08 µg/ml olarak belirlemişlerdir.

Poher ve ark(1997), Deniz Levreği (*Dicentrarchus labrax*)'ne 10 mg/kg dozunda oxolinic asiti intravasküler yolla enjekte ederek farmakokinetik yönden incelemişlerdir. Buna göre 240 saat sonra plazmadaki oxolinic asit varlığı 0.004 ± 0.03 µg/ml olarak belirlenmiştir.

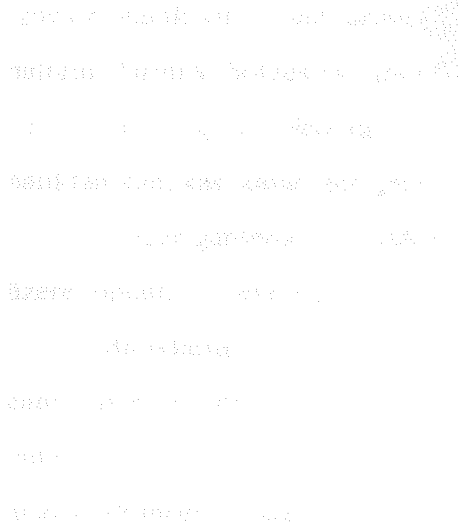
3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Balıklar

Araştırmada kullanılan Cichlidae familyasına ait Tilapia (*Oreochromis niloticus*)'lar Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi'nin Tatlısu balıkları araştırma istasyonundan sağlanmış olup araştırma bu istasyonda gerçekleştirilmiştir. Deney süresince kullanılan Tilapia'lar deney grubunda 68 adet, kontrol grubunda da 68 adet olmak üzere, toplam 136 adet olarak 4m x 1m x 1m ölçülerindeki iki ayrı, ince-uzun beton havuzlarda tutulmuştur. Kullanılan balıklar ortalama boyları 20.59 ± 0.83 cm ve ortalama ağırlıkları 150.66 ± 0.82 gr olan bireylerden oluşturulmuştur. Deney boyunca ortalama su sıcaklığının $19.2 \pm 0.71^\circ\text{C}$ olduğu belirlenmiştir.

Tekelioğlu (1993), Tilapia'ların tropik kökenli balıklar oldukları için ılık ve sıcak suları sevdiğini, en iyi gelişmeyi 20°C 'nin üzerinde ve $26^\circ\text{-}30^\circ\text{C}$ civarındaki su sıcaklıklarında gösterdiğini belirtmiştir. Araştırmada kullanılan balık türü Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Resim 1. de görülmektedir.



Resim 1. Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

3.1.2. Kimyasal Maddeler

Oksitetrasiklin.HCl Sigma Chemicals Co (St. Louis, MO.,U.S.A.), adlı firmadan ve Sep-pak C₁₈ Cartridge, Waters Assoc (Milford, MA.,U.S.A.) adlı firmadan alınmıştır. Doku homojenizasyonunda kullanılan kimyasal maddeler triklorasetik asit, disodyum etilendiamintetraasetat (EDTA) Carlo Erba Reagenti s.r.l Montedison Group tarafından sağlanmıştır. E. Merck Chemicals tarafından üretilen n-hekzan kullanılmış olup, diğer kimyasallar analitik ve yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazında kullanılan kimyasallardır.

3.2 Metod

3.2.1. İlacın uygulanması

Balıklar araştırmadan önce makroskopik ve mikroskopik olarak sağlık kontrolünden geçirilip sağlıklı bireyler ilaç uygulamasından 3 gün önce aç bırakılmışlardır. 75 mg/kg canlı ağırlık dozunda tartılan ilaçlar 1 ml distile suda çözdürülerek solüsyon haline getirilmiş ve ayrı ayrı hazırlanan solüsyonlar 1 ml'lik B. D Plastipak marka enjektöre çekilmiştir. Balıklara ilaç uygulaması tek tek ve iğnesiz olarak kullanılan şırınga yardımı ile yapılmıştır. Enjektör, pensle ağzı açılan balığın farinks bölgesini geçinceye kadar içeri sokulmuş ve buradan solüsyon verilmiştir. İlaç uygulandığı birinci günde 0.5, 1, 3, 6, 9, 12, 24 saatte bir 4'er balıktan kan, kas, karaciğer, gonad dokuları alınmıştır.

Diğer günlerde ise sırası ile 2, 3, 5, 8, 12, 16, 20, 24, 28 ve 33. günler olmak üzere toplam 17 defa örnekleme yapılmıştır.

Balıkların kuyruk sapının kesilmesi ile dorsal aortadan alınan kan 10 ml'lik cam tüplerde toplanmış ve balık kanları alındıkları gün santrifüj edilerek serumları elde edilmiştir. Disseke edilen balıklardan kas, karaciğer ve gonad dokuları alınıp analiz edilinceye kadar -20°Cde tutulmuşlardır.

3.2.2 Oksitetrasiklin Analizi

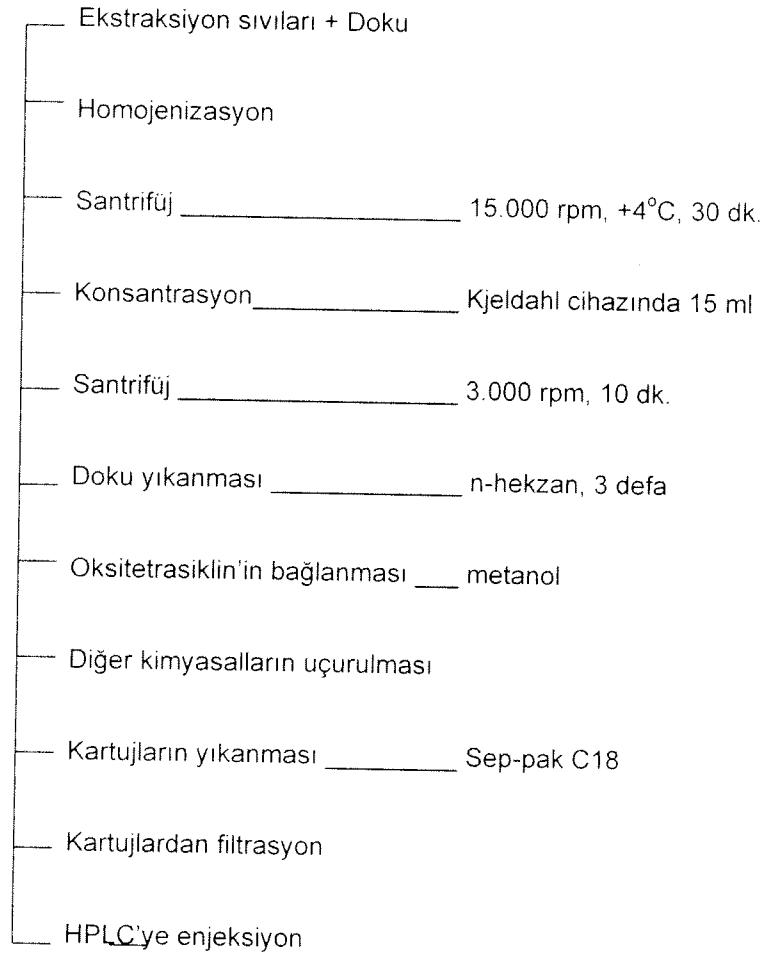
Oksitetrasiklin miktarının belirlenmesi Ueno ve ark.(1989) tarafından önerilen metoda göre yapılmıştır.

10 gr kas, 1.5 ml serum, 1.93 ± 0.22 g karaciğer, 0.88 ± 0.15 g gonad dokuları 200 ml'lik beherlere konarak 30 ml, %0.5 disodyumetilendiamintetra asetat (EDTA) içeren %5'lik triklorasetik asit eklenmiştir. Dokular ayrı ayrı Heidolph marka homojenizatörde 2 dakika kadar homojenize edilmiştir. Daha sonra 15.000 rpm devrli Heraeus marka santrifüj cihazında $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika santrifüj edilerek üst tarafta kalan sıvı Genex marka otomatik pipetle alınmış ve vakumlu ortamda 35°C 'de 300 ml'lik Kjeldahl cihazında 15 ml'ye yoğunlaştırılmıştır.

Hazırlanan yoğun çözelti ağzı kapaklı santrifüj tüplerine alınıp 5 ml n-hekzan eklenmiştir. 3 dakika kadar elde çalkalandıktan sonra, 10 dakika 3.000 rpm'de santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrası organik katman atılarak n-hekzan uygulaması üç defa tekrarlanmıştır.

20 ml metanol, 20 ml su, 10 ml %5'lik EDTA ile ön ıslatma yapılmış ve 30 ml su ile yıkanarak Waters marka Sep-pak C_{18} kartujlar hazırlanmıştır. Doku sıvıları, sıvı kromatografi cihazına enjekte edilmeden önce filtre etmek amacı ile Sep-pak C_{18} kartujlardan geçirilmiştir.

Metanol ile tutulan oksitetrasiklin birikimi diğer kimyasalların uçurulması yöntemi ile elde edilmiş ve birikim 1 ml asetonitril-su (3:7) karışımı ile yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazına (HPLC)'ye enjekte edilmiştir. Doku ekstraksiyon metodu Şekil 2'de şematize edilmiştir.



Şekil 2 Doku ekstraksiyon metodu

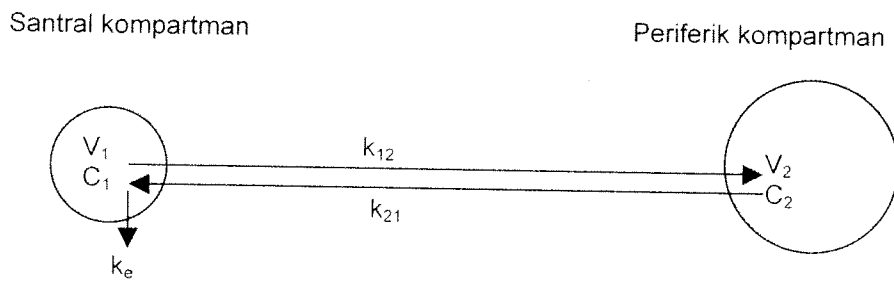
3.2.3 HPLC Çalışma Özellikleri

Kullanılan HPLC sistemi, Hewlett Packard HP 1100 Serisi olup bu seriye ait u.v. dedektörlerdir. Dalga boyu 360 nm, hassasiyet 0.004 AUF5, Kolon tipi C₁₈ (25 cm X 4 mm I.D.,Hewlett Packard), sıcaklık, mobil faz, metanol-asetonitril-0.2 M okzalik asit (1:1:3.5), pH 1.73, kolondan akış hızı 1 ml/dk ve enjeksiyon hacmi 20 µl olarak HPLC şartları ayarlanmıştır.

3.2.4 Farmakokinetik Analiz Programı

Uno ve ark.(1991), antibiyotik konsantrasyonun zamana bağlı olarak belirlenmesinde kullanılan en uygun farmakokinetik analiz metodunun çok kompartmanlı modellerden biri olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan farmakokinetik analiz 2 kompartmanlı emilmeli modele göre hesaplanmıştır. İki kompartmanlı emilmeli modelde, balık vücudunun iki kompartmandan oluştuğu varsayılmaktadır. Bu kompartmanlar, ufak sanal hacimli santral kompartman ve daha büyük sanal hacimli periferik kompartmandan oluşmaktadır.

Santral kompartman, plazma, böbrek ve karaciğer gibi çok kanlanan organların interstisyel sıvı hacminden, yani hücreler arası sıvı hacminden oluşmaktadır. Periferik kompartman, adipöz dokular ve iskelet kasları gibi az kanlanan organların interstisyel sıvı hacminden oluşmaktadır. Absorbe edilen ilaç ilk önce santral kompartmana verilir ve buradan atılır. Periferik kompartmanda ilaç dışarı atılmaz, bu kompartman depo görevi görür. İki kompartman arasında ilaç iki yönde serbest difüzyona uğrar ve bu difüzyonlar da eliminasyonun birinci derece kinetiğine uyar. İki kompartmanlı dışarı açık model aşağıdaki Şekil 3’de şematize edilmiştir.



k_{12} , k_{21} ve k_e : Birinci derece hız sabitleri.

V_1 : Santral kompartmanın sanal hacmi.

V_2 : Periferik kompartmanın sanal hacmi.

C_1 : Santral kompartmandaki ilaç konsantrasyonu.

C_2 : Periferik kompartmandaki ilaç konsantrasyonu.

Şekil 3. İki kompartmanlı dışarıya açık modelin şematik olarak gösterilmesi.

Bu modelde D dozundaki ilacın uygulanma bitimini başlangıç zamanı (t_0) kabul edersek ;

t_0 'da $C_1 = D/V_1$ ve $C_2 = 0$ 'dır.

C_1 'in t anındaki değerini hesaplamak için aşağıdaki denklem kullanılır.

$$C_1 = A.e^{-\alpha.t} + B.e^{-\beta.t}$$

Denklemden ;

$\alpha = kd =$ Dağılım döneminin başlangıçtaki eğimi,

$k_e = \beta =$ Total eliminasyon hız sabitini aynı zamanda eliminasyon döneminin eğimini gösterir.

B = Başlangıçtaki ilaç konsantrasyonu

$C_1 = t_0$ anındaki yani başlangıçtaki gerçek ilaç konsantrasyonu ve $C_1 = A + B$ dir.

A = Herhangi bir an daki ilaç konsantrasyonudur ve genellikle $A = C_1 - B$ formülü ile bulunur.

Herhangi bir andaki ilaç konsantrasyonunun yarıya inmesi için geçen zaman $T_{1/2}$ ile gösterilir ve $T_{1/2} = \ln 2 / k_e$ formülü ile hesaplanır.

$k_e =$ eliminasyon hız sabiti olup önceki formülde bulunan β değerine eşittir.

$k_e = \beta$ ise $t_{1/2} = \ln 2 / \beta$ şeklinde de yazılabilir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Tek dozda direk mideye solüsyon halinde verilerek yapılan uygulama sonrasında dokudaki oksitetrasiklin miktarları saptanmıştır.

İlaç uygulamasından 0.5 saat sonra tüm dokularda oksitetrasiklin'e rastlanmıştır. Dokulardaki en yüksek oksitetrasiklin değerleri sırasıyla serumda 6 saat sonra 1.11 µg/ml, kasta 1 saat sonra 0.61 µg/g ve gonadlarda 3 saat sonra 0.52 µg/g olarak saptanmıştır.

İlaç uygulamasından 8 gün sonra serumda, 16 gün sonra kasta, 24 gün sonra karaciğerde, 18 gün sonra gonadlarda saptanamayacak miktarlara düştüğü görülmüştür.

Dokulardaki zaman bağlı oksitetrasiklin miktarları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. 75 mg/kg^{*1} tek doz uygulamadan sonra Tilapia (*Oreochromis niloticus*) dokularındaki zamana bağlı oksitetrasiklin düzeyleri.

<u>Uygulama</u> <u>sonrası zaman</u>	<u>Serum</u>	<u>Kas</u>	<u>Karaciğer</u>	<u>Gonad</u>
0.5 saat	0.26 ^{*2}	0.20	4.13	0.22
1 saat	0.29	0.61	10.7	0.43
3 saat	0.41	0.48	12.1	0.52
6 saat	1.11	0.28	6.23	0.38
9 saat	0.36	0.23	6.02	0.31
12 saat	0.28	0.19	5.16	0.23
24 saat	0.23	0.16	5.02	0.12
2 gün	0.19	0.15	4.86	0.09

3 gün	0.09	0.09	4.11	0.07
5 gün	0.06	0.06	3.01	0.03
8 gün	*3	0.06	2.14	0.03
12 gün	-	0.03	1.09	-
16 gün	-	-	0.12	-
20 gün	-	-	0.03	-
24 gün	-	-	-	-
28 gün	-	-	-	-
33 gün	-	-	-	-

*1 Su sıcaklığı 19.2 °C

*2 µg / ml veya g.

*3 Saptanamadı.

Ağız yoluyla verilen oksitetrasiklinin *Tilapia (Oreochromis niloticus)*'ya ait kan serumu ve bazı dokulara ait biyolojik yarı ömür değerleri Çizelge 2. de verilmiştir.

Çizelge 2. *Tilapia (Oreochromis niloticus)*'ya ait biyolojik yarı ömür değerleri.

<u>Yarı ömür</u>	<u>Serum</u>	<u>Kas</u>	<u>Karaciğer</u>	<u>Gonad</u>
T _{1/2} (saat)	21.1	72.8	80.5	73.5

Kalibrasyon amacı ile 0.1 ppm, 0.3 ppm, 0.5ppm, 1 ppm, 1.5 ppm ve 2 ppm oksitetrasiklin yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazına enjekte edilerek standart oksitetrasiklin değerleri elde edilmiştir. Bu kalibrasyon işlemi her zaman

dilimine ait doku sıvılarının analizinden önce yapılmıştır. Örnek olarak karaciğer dokularının analizinden önce kalibrasyon amacı ile 0.3 ppm oksitetrasiklin'in yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazına enjeksiyonundan sonra elde edilen standart kromatogramı Şekil 4'de verilmiştir.

Şekil 4. 0.3 ppm standart oksitetrasiklin kromatogramı.

İlaç enjeksiyonundan 6 saat sonra kontrol grubundan alınan karaciğer dokusundaki oksitetrasiklin varlığını yansıtan kromatogram Şekil 5'de verilmiştir.

Şekil 5. İlaç enjeksiyonundan 6 saat sonra kontrol grubundan alınan karaciğer dokusundaki oksitetrasiklin kromatogramı.

İlaç enjeksiyonundan 6 saat sonra deney grubundan alınan karaciğer dokusundaki oksitetrasiklin varlığını yansıtan kromatogram Şekil 6'da verilmiştir.

Şekil 6. İlaç enjeksiyonundan 6 saat sonra deney grubundan alınan karaciğer dokusundaki oksitetrasiklin varlığını yansıtan kromatogram.

Ueno ve ark(1989), tetrasiklin grubu antibiyotiklerin yiyeceklerde ve tüketilebilir hayvan dokularındaki miktarlarının saptanmasının yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) cihazında geri faz (RP)'in kullanılarak yapıldığını bildirmektedirler. Yapılan bu çalışmada da tetrasiklin grubuna dahil bir antibiyotik olan oksitetrasiklin'in kullanılmasından dolayı analizler geri faz (RP) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazında geri faz kullanılarak yapılan analizlerden yukarda örnek olarak verilmiş kromatogramlarda oksitetrasiklin analiz değerleri Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. Örnek kromatogramlarda oksitetrasiklin analiz değerleri.

Gruplar	Pik	Kolon terk süresi Dakikada	Pik genişliği	Pik alanı
0.3 ppm standart OTC	1	2.9	0.0854	4.71920
Deney Grubu	1	2.9	0.0794	61.32811
Kontrol Grubu	--	--	--	--

Bjorklund ve Bylund.(1990), Gökkuşığı Alabalığında 75 mg/kg dozdaki oral uygulama sonrasında serumdaki oksitetrasiklin biyolojik yarılanma ömrünü 5, 10, 16°C'de ortalama 8.9 , 6.1 ve 4.8 gün olarak bildirmişlerdir.

Grondel ve ark.(1987), Sazan plazmasında 20°C'de 60 mg/kg dozu intravenöz olarak uyguladıktan sonra biyolojik yarı ömrü 5.8 gün bulmuşlardır.

Uno ve ark.(1992), Gökkuşığı Alabalığı, Amago Salmon ve Sarı Kuyruk'ta aynı amaçlı yaptıkları bir çalışmada ağızdan uygulanan 100 mg/kg dozunda oksitetrasiklin'in serum biyolojik yarı ömür değerleri balık türlerine göre sırasıyla 1.0 , 0.7 ve 1.2 gün bulmuşlardır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada Tilapia (*Oreochromis niloticus*)'ların dokularındaki oksitetrasiklin miktarlarının zamana bağlı değerleri saptanmış olup oksitetrasiklin'in oral yolla verilmişinden 16 gün sonra kas dokusunda oksitetrasiklin bulunmadığı, ancak halen karaciğer dokusunda mevcut olduğu gözlenmiş olup, 24. günden itibaren karaciğerde de saptanamaz miktarlara düştüğü belirlenmiştir.

Ayrıca balıklara uygulanan antibiyotiklerin gonadlara da geçtiği saptanmıştır ancak balıkların üremesi üzerinde olumlu veya olumsuz bir etki yapıp yapmadığı araştırma konusudur.

Araştırmanın sonucuna göre kültüre alınmış Tilapia (*Oreochromis niloticus*)'larda rastlanan her hangi bir bakteriyel hastalığa karşı oksitetrasiklin uygulanması durduktan sonra 24 gün geçmeden tüketime sunulması önerilebilir.

Balıklarda yapılan farmakokinetik çalışmalara ne yazık ki ülkemizde rastlanılmamaktadır. Bu araştırmanın bundan sonra yapılacak çalışmalara temel oluşturması, benzeri çalışmalara destek vermesi, konu ile ilgili bulguların artırılması ve halk sağlığı açısından önemli ölçüde değerli bilgilere ulaşılmasını sağlayabilir.

KAYNAKLAR

BJORKLUND , H. AND BYLUND G. , 1990. Temperature-related absorption and excretion of oxytetracycline in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) Aquaculture , 102, 363 – 372.

ELEMA , M . O . , HOFF , K . A . , KRISTENSEN , H . G . , 1996 . Bioavailability of Oxytetracycline from medicated feed administered to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater , Aquaculture , 143 , 7-14.

GENTLEMAN , M.S . , BURT , H.M . , KITTS , D. D . , Mc ERLANE , K. M . , 1993. High performance liquid chromatographic determination of sulphadiazine and trimethoprim in Chinook salmon muscle tissue , Journal of Chromatography , 633 , 105- 110.

GRONDEL , J. L . , NOUWS , R. V . , DEJONG , M. & SCHUTTE ,R. ve DRIESSENS , F., 1987 . Pharmacokinetics and tissue distribution of oxytetracycline in carp , *Cyprinus carpio* L . , following different routes of administration , Journal of Fish Diseases , 10 , 153-163.

IVERSEN , B . , AANESRUD , A., KOLSTAD , A.K . , 1989. Determination of Oxytetracycline in plasma from rainbow trout using HPLC with ultraviolet detection , Journal of Chromatography , 493 , 217-221.

KAYAALP , O . , 1992. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Kitabı Cilt 1 Feryal Matbaacılık , Ankara 1068s.

KUSSER , W .C . , NEWMAN , S. G . , 1990. Detection of Oxytetracycline Residues in Fish Tissues using a sensitive bioassay , Journal of Fish Diseases , 13 , 545-548.

MALVISI , J . , ROCCA , G . , ANFOSSI , P . , GIOGETTI , G . , 1996 . Tissue distribution and residue depletion of Oxytetracycline in Sea Bream (*Sparus aurata*) and Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) after oral administration , Aquaculture , 147 , 159 – 168.

POHER , I . , BLANC , G . , LOUSSOUARN , S . , 1997. Pharmacokinetics of oxolinic acid in Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) , after a single rapid intravascular injection , J. Vet Pharmacol. Therap., 20 , 267 – 275.

SAMULSEN , O . B . , ERVIK , A . , 1997. Single dose Pharmacokinetic study of flumequine after intravenous , intraperitoneal and oral administration to Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) held in seawater at 9°C , Journal of Fish Diseases , 20 , 287 – 296.

TEKELIOĞLU , N. , 1993. İç Su Balıkları Yetiştiriciliği Kitabı , Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları Ders Kitabı No:2 , Adana 367 s.

UENO , R . , UNO , K . , KUBOTA , S . S . , HORIGUCHI , Y . , 1989. Determination of Oxytetracycline in Fish Tissues by HPLC , Nippon Suisan Gakkaishi , 55(7) , 1273 - 1276.

UNO , K . , AOKI , T . , UENO , R . , 1992. Pharmacokinetic study Oxytetracycline in cultured rainbow trout , amago salmon and yellowtail , Nippon Suisan Gakkaishi, 58(6) , 1151-1156.

XU , D . , ROGERS , W . A . , 1994. Oxytetracycline Residue in Striped Bass muscle Journal of Aquatic Animal Health , 6: 349 – 354.

ZHENG , M ., LIU , H ., HALL , S . F ., KITTS , D. D ., Mc ERLANE , K. M .,
1994. High performance liquid chromatographic analysis of Romet-30 in Chinook
salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) : wash – out time , tissue distribution in muscle
liver and skin , and metabolism of sulfadimethoxine , Journal of Chromatography ,
670 , 77-88 .

ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında Adana'da doğdum. İlk , orta ve lise öğrenimimi Adana'da tamamladım.

1991 yılında Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesini kazandım ve 1995 yılında lisans eğitimimi tamamlayıp 1996 yılında yüksek lisans eğitimime başladım.

Halen Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsüne bağlı araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.