

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

A.Argun ÖZAK

95504

***Oreochromis niloticus*' larda Oxytetracycline (OTC)'nin
Farmakokinetik Araştırmaları**

SU ÜRÜNLERİ ANA BİLİM DALI

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

ADANA , 2000

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TİLAPİA (*Oreochromis niloticus*)'LARDA OKSİTETRASİKİLİN (OTC)'NİN
FARMAKOKİNETİK ARAŞTIRMALARI

ARGUN AKİF ÖZAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANA BİLİM DALI

Bu tez/....../.... Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği / Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

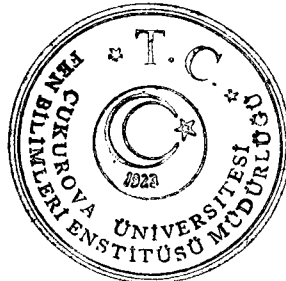
İmza.....
Doç. Dr. İbrahim Cengiz
DANIŞMAN

İmza.....
Y. Doç. Dr. M. Ali Çekirge
ÜYE

İmza.....
Y. Doç. Dr. Nuri Başusta
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Su Ürünleri Ana Bilim Dalında ve TUBİTAK Enstrumental
Analiz Laboratuvar'ında hazırlanmıştır.

Kod No : 1687



İmza.....

Prof. Dr. Melih BORAL
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No : FBE. 97YL.157

Not : Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin , çizelge , şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı , 5846 sayılı Fikir ve Sanat eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
RESİM DİZİNİ.....	VI
1 . GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
3. MATERYAL VE METOD.....	6
3.1. MATERYAL.....	6
3.1.1. BALIKLAR.....	6
3.1.2. KİMYASALLAR.....	7
3.2. METOD.....	7
3.2.1. İLACIN UYGULANMASI.....	7
3.2.2. OKSİTETRASİKLİN BELİRLENMESİ.....	8
3.2.3. HPLC ÇALIŞMA ÖZELLİKLERİ.....	9
3.2.4. FARMAKOKİNETİK ANALİZ PROGRAMI.....	10
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	12
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	17
KAYNAKLAR.....	18
ÖZGEÇMİŞ.....	21

ÖZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TİLAPİA (*Oreochromis niloticus*)’LARDA OKSİTETRASİKLİN (OTC)’NİN
FARMAKOKİNETİK ARAŞTIRMALARI**

ARGUN AKİF ÖZAK

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ ANA BİLİM DALI

Danışman : Doç.Dr. İbrahim CENGİZLER
Yıl : 1999, Sayfa : 21
Jüri : Doç.Dr.İbrahim CENGİZLER
: Yard.Doç. Dr. Nuri BAŞUSTA
: Yard. Doç.Dr. Mahmut Ali GÖKÇE

Bu çalışma, ortalama boyları 20.59 ± 0.83 cm ve ortalama canlı ağırlıkları 150.66 ± 0.82 g olan yetiştiriciliği yapılan tilapia (*Oreochromis niloticus*)’larda Tetrasiklin grubu bir antibiyotik olan Oksitetrasiklin’in, 75 mg/kg canlı ağırlığa denk olacak dozda hazırlanan solüsyonun balığın midesine tek doz olarak enjeksiyonundan sonra farmakokinetik parametreler ve serum, kas, karaciğer, gonad dokularındaki antibiyotik düzeylerinin günlere bağlı olarak belirlenmesi amacı ile yapılmıştır.

Oksitetrasiklin düzeyleri 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 bulunmuştur.

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

**PHARMACOKINETIC STUDY OF OXYTETRACYCLINE IN CULTURED
TILAPIA(*Oreochromis niloticus*)**

ARGUN AKİF ÖZAK

**DEPARTMENT OF FISHERIES
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA**

Supervisor : Assoc. Prof. İbrahim CENGİZLER

Year : 1999, Pages : 21

Jury : Assoc. Prof. İbrahim CENGİZLER

: Asst. Prof. Nuri BAŞUSTA

: Asst. Prof. Mahmut Ali GÖKÇE

The aim of this study was 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 examined 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.

çalışmamın yürütülmesi sırasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Mahmut Ali GÖKÇE'ye, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na, bilimsel destek ve yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Tuncel ANDAÇ ve Sayın Hamide ŞENYUVA'ya, TÜBİTAK Enstrümental Analiz Laboratuvarında çalışan tüm personele teşekkürlerimi bir borç bilirim. Ç.Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Atilla DİKMEN'e, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. İlbeyi AĞABEYOĞLU'na yardımları için ayrıca teşekkür ederim.

Bu tezi maddi ve manevi desteğini esirgemeyen annem İnci ÖZAK ve 1992 yılında kaybettiğim babam Bahattin ÖZAK'a adıyorum.

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1. 75 mg/kg tek doz uygulamadan sonra Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) dokularındaki zamana bağlı oksitetrasiklin düzeyleri.....	12
Çizelge 2. Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)'ya ait biyolojik yarı ömür değerleri.....	13
Çizelge 3. Örnek Kromotogramlarda Oksitetrasiklin analiz değerleri.....	15



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1. Oksitetrasiklin.HCl'in Kimyasal Yapısı ve Formülü.....	1
Şekil 2. Doku Ekstraksiyon Yöntemi.....	9
Şekil 3. İki Kompartmanlı Dışa Açık Modelin Şematik Olarak Gösterilmesi.....	10
Şekil 4. 0.3 ppm Standart Oksitetrasiklin Kromotogramı.....	14
Şekil 5. İlaç Enjeksiyonundan 6 Saat Sonra Kontrol Gurubundan Alınan..... Karaciğer Dokusundaki Oksitetrasiklin Kromotogramı	14
Şekil 6. İlaç Enjeksiyonundan 6 Saat Sonra Deney Gurubundan Alınan Karaciğer Dokusundaki Oksitetrasiklin Miktarını Belirleyen Kromotogram	15



RESİM DİZİNİ**SAYFA**

Resim 1. Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	6
--	---



1. GİRİŞ

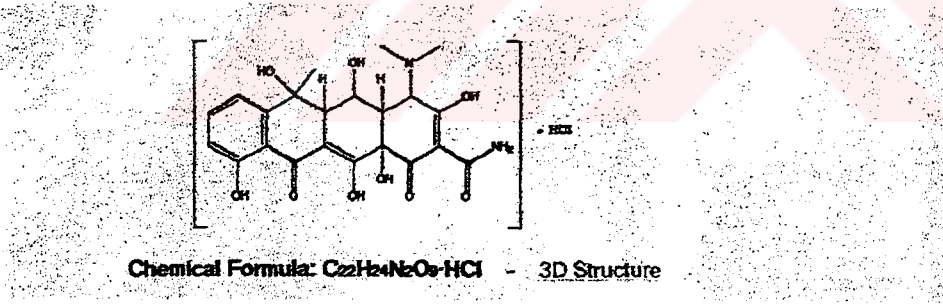
Ülkemizde yapılan balık yetiştiriciliği, son 20 yılda oldukça hızlı bir gelişme göstermiş olup ülke ekonomimiz açısından da önemli bir sektör haline gelmiştir. Ancak yetiştiriciliği yapılan balıkların değişik patojenlere maruz kalmaları ve buna bağlı olarak oluşan balık ölümleri su ürünleri yetiştiriciliğinde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

Balık ölümlerine neden olan patojenleri, bakteriyel, virütik, parazitik ve mantar hastalıkları olmak üzere başlıca 4 grup altında toplayabiliriz. Bu 4 grup patojenden 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 pekte tercih edilmemiştir.

Tetraksiklinler grubuna dahil antibiyotiklerin yan etkilerini Kayaalp (1992), Gastrointestinal sistemdeki yan etkileri, dişlerde ve kemiklerde diskolaryasyon (renk bozukluğu), karaciğer üzerine toksik etki, böbrekle ilgili yan etkiler, alerjik

belirtiler, fotosensibilizasyon, beyin pseudotümörü, hematolojik bozukluklar, santral sinir sistemi ile ilgili yan etkiler ve gebelerde fötüs ile ilgili toksik etkilerden başka katabolik asidoz oluşumunu bildirmiştir. Yine Kayaalp (1992), gebelik sırasında uzun süre tetrasiklin verilmesinin, fötusun 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 bu antibiyotiğin insan vücuduna geçmesi ve böylece yukarıda belirtilen yan etkilere neden olmasını sağlamaktadır.

Balıklarda kullanılan bir medikamentin uygulandıktan sonra kaç günde maksimum düzeye çıktığı ve balık vücudundan kaç gün sonra 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.

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 yayınlar bulunmaktadır. Grondel ve ark.(1987), sazan (*Cyprinus carpio L.*)'lara farklı yöntemlerle uyguladıkları oksitetrasiklin'in farmakokinetiğini ve dokulara dağılımını incelemişlerdir. Bu çalışmada intravenöz, intramusküler ve oral olarak 60 mg/kg canlı ağırlık dozunda oksitetrasiklin uygulaması yapılmış, plazmadaki oksitetrasiklin konsantrasyonlarını intravenöz ve intramusküler uygulamadan 27 gün sonra 0.22 ± 0.02 ve 0.18 ± 0.0 olarak, oral uygulamada 3. günde 0.06 ± 0.0 olarak belirtmişlerdir. Kas dokusunda intramusküler uygulamada sonraki günlerde ilacın belirlenemeyecek düzeye indiğini tespit etmişlerdir.

Iversen ve ark.(1989), balık dokularındaki oksitetrasiklin miktarının saptanmasında yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı kullanarak katı faz ekstraksiyonun optimizasyonu için yaptıkları bir çalışmada, 10 gr kas ve 5 gr karaciğer dokusunu ekstrakte edip oksitetrasiklin miktarlarına bakmışlardır. Buna göre kas dokusunda 1 µg/g ve karaciğer dokusunda 1 µg/g oksitetrasiklin'e rastlamışlardır.

Iversen ve ark.(1989), gökkuşağı alabalığının plazmasında oksitetrasiklin miktarını u.v. dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı kullanarak belirlemişlerdir. Kullandıkları gökkuşağı alabalıklarına 150 mg/kg dozunda oksitetrasiklin uygulayıp, günlere bağlı olarak plazmadaki oksitetrasiklin miktarlarını ölçmüşlerdir. Çalışma sonucunda 3. gün plazma konsantrasyonu 1.8 µg/ml ile en yüksek değerine ulaşmış, 14. gün 0.7 µg/ml değerine düşmüştür. 14. günden sonra ise oksitetrasiklin değeri belirlenemez konsantrasyonlara düşmüştür.

Ueno ve ark.(1989), 240 gr'lık gökkuşağı alabalığı (*Oncharhymus mykiss*) dokularında yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı kullanarak oksitetrasiklin'in geri dönüşümünü belirlemişlerdir. Yaptıkları çalışmaya göre kas

hassas bir biyodeney yöntemi kullanarak, yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazından elde ettikleri sonuçlarla karşılaştırmışlardır. Coho salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)'lara 100mg/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 Gökkuşağı 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. Gökkuşağı alabalığında uygulamadan 8 gün sonra kanda, 20 gün sonra kasta ve 33 gün sonrada karaciğerde oksitetrasiklini saptayamamışlardır. Amago Salmonda ise 8. gün serumda, 16. gün kasta, 28. günde karaciğerde belirlenemeyen 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 grublarının kullanıldığı farmakokinetik çalışmalara örnek olarak Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) kas dokusunda yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazı kullanarak sulphadiazine ve trimethoprin belirlemeye çalışmışlardır.

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

Xu ve Rogers (1994), oksitetrasiklini Çizgili Levrek (*Morone saxsatis*)'e 50 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulamış ve ayrıca 75 mg/kg dozunda da oral yolla yeme karıştırarak uygulamıştır. Uygulamadan sonra kas dokudaki birikimi 24. günden sonra saptayamamışlardır.

oral biyoyararlanım oranını %2 olarak belirlemişler 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, intraperitoneal 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 intraperitoneal olarak 240 saat sonra 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 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 (*Oreochromis niloticus*)'lar deney grubunda 68 ve kontrol grubunda 68 adet olmak üzere toplam 136 adet olarak 4 m x 1 m x 1 m 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 oluşmuştur. 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. Kimyasallar

Oksitetrasiklin.HCl Sigma Chemicals Co (St. Louis , MO. , U.S.A.), adlı firmadan temin edilmiştir ve Sep-pak C18 Cartridge , Waters Assoc (Milford , MA. , U.S.A.) adlı firmadan alınmıştır. Doku homojenizasyonunda kullanılan kimyasallar triklorasetik asit , disodyum etilendiamintetraasetat (EDTA) Carlo Erba Reagenti s.r.l montedison group tarafından sağlanmıştır. E. Merck Chemichals 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 bireylerin ilaç uygulananından 3 gün önce aç bırakılmışlardır. 75 mg/kg canlı ağırlık dozunda tartılan ilaçlar 1 ml distile suda çözülerek 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 enjektör yardımı ile yapılmıştır. Enjektör, pensle ağzı açılan balığın farinks bölgesini geçinceye kadar içeri sokulmuş ve buradan solüsyon enjekte edilmiştir. İlaç uygulananının birinci gününde 0.5 , 1 , 3 , 6 , 9 , 12 , 24 saat'te bir 4'er balıktan kan, kas, karaciğer ve 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 10ml'lik cam tüplerde toplanmış ve balık kanları alındıkları gün santrifüj edilerek serumları elde edilmiştir. Dissekte edilen balıklardan kas, karaciğer ve gonad dokuları alınıp analiz edilinceye kadar -20°Cde tutulmuşlardır.

3.2.2 Oksitetrasiklin Belirlenmesi

Oksitetrasiklin miktarının belirlenmesi Ueno ve ark.(1989)'nın metoduna göre yapılmıştır.

10 gr kas, 1.5 ml serum, 1.93 ± 0.22 g karaciğer ve 0.88 ± 0.15 g gonad dokuları 200 ml'lik beherlere konarak 30 ml, %0.5 disodyummetilendiamintetra asetat (EDTA) içeren %5'lik triklorasetik asit eklenmiştir.

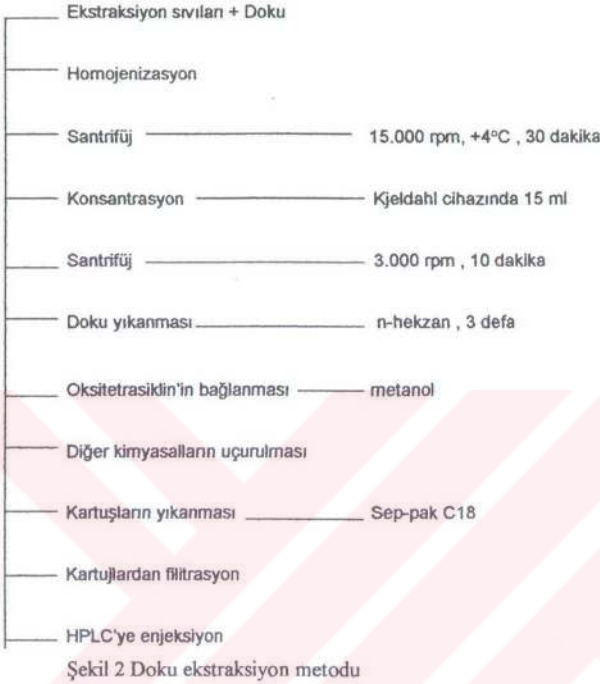
Dokular ayrı ayrı Heidolph marka homojenizatörde 2 dakika kadar homojenize edilmiştir. Daha sonra 15.000 rpm devirli Heraeus marka santrifüj cihazında $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika santrifüj edililerek, üst tarafta kalan sıvı Genex marka otomatik pipetle alınmış ve vakumlu ortamlarda 35°C 'de 300 ml'lik Kjeldahl cihazında 15 ml'ye konsantre edilmiştir.

Konsantre edilen solüsyon ağız tıpalı 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 tabaka atılarak n-hekzan uygulaması üç defa tekrarlanmıştır.

20 ml metanol, 20 ml su, 10 ml %5'lik EDTA ile ön ıslatma yapılmış ve daha sonra 30 ml su ile yıkanarak Waters marka Sep-pak C18 kartuşlar hazırlanmıştır.

Doku sıvıları sıvı kromatografi cihazına enjekte edilmeden önce filtre amacı ile Sep-pak C18 kartuşlardan 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.



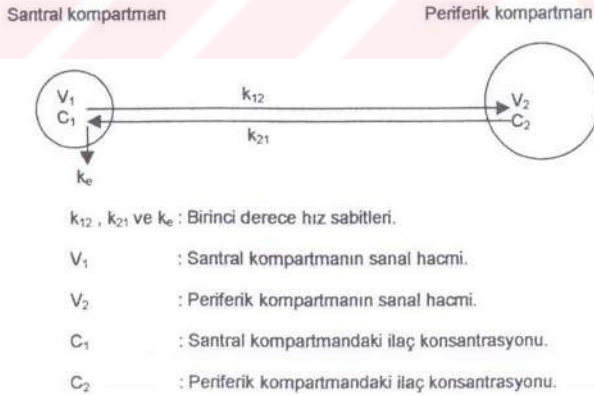
3.2.3 HPLC Çalışma Özellikleri

Kullanılan HPLC sistemi, Hewlett Packard HP 1100 Serisi olup bu seriye ait u.v. dedektörlerdir. Dalga boyu 360 nm, hassasiyet 0.004 AUFS, Kolon tipi C₁₈ (25 cm X 4 mm I.D., Hewlett Packard), sıcaklık 24.2°C, 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 çalışma özellikleri ayarlanmıştır.

3.2.4 Farmakokinetik Analiz Programı

Uno ve ark.(1992), antibiyotik konsantrasyonunun 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 fazla 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 dereceden kinetiğine uyar. İki kompartmanlı dışa açık model aşağıdaki Şekil 3’de şematize edilmiştir.



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 ($C_1 = A + B$)

A = Herhangi bir andaki ilaç konsantrasyonudur ve $A = C_1 - B$ 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 gönderilerek 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 uygulanımından 8 gün sonra serumda , 16 gün sonra kasta, 24 gün sonra karaciğerde, 18 gün sonra gonadlarda saptanamayacak miktarlara düştüğü görülmüştür.

Dokulardaki zamana bağlı oksitetrasiklin miktarları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. 75 mg/kg⁻¹ tek doz uygulamadan sonra Tilapia (*Oreochromis niloticus*) dokularındaki zamana bağlı oksitetrasiklin seviyeleri.

<u>Uygulama</u>	<u>Serum</u>	<u>Kas</u>	<u>Karaciğer</u>	<u>Gonad</u>
<u>sonrası zaman</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.

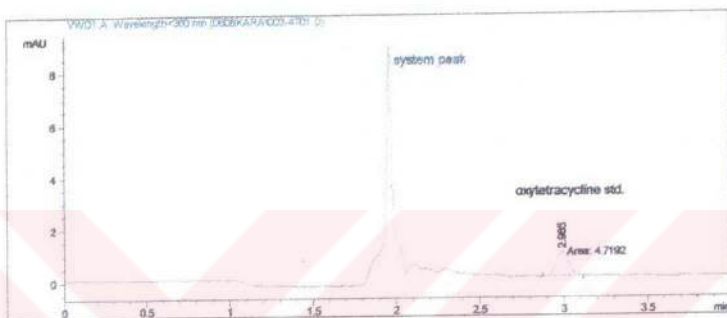
Tilapia (*Oreochromis niloticus*)'ya ait biyolojik yarı ömür değerleri Çizelge 2. de verilmiştir.

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

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

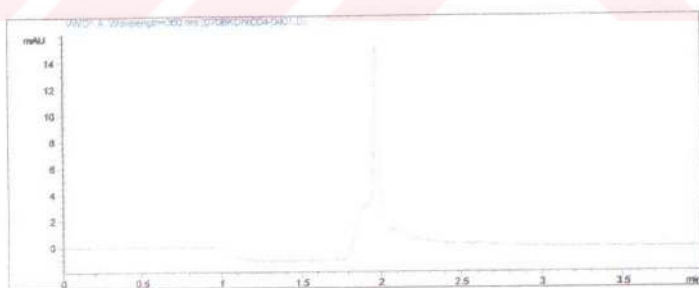
Kalibrasyon amacı ile 0.1 ppm, 0.3 ppm, 0.5 ppm, 1 ppm, 1.5 ppm ve 2 ppm oksitetrasiklin yüksek performanslı sıvı kromatografi cihazına enjekte edilerek standart oksitetrasiklin kromatogramları elde edilmiştir. Bu kalibrasyon işlemi her

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



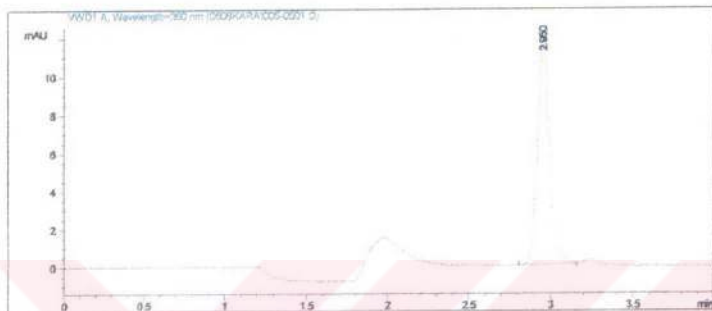
Şekil 4. 0.3 ppm standart oksitetrasiklin kromatogramı.

İlaç enjeksiyonundan 6 saat sonra kontrol gurubundan alınan karaciğer dokusundaki oksitetrasiklin miktarını belirleyen kromatogram Şekil 5'de verilmiştir.



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

İlaç enjeksiyonundan 6 saat sonra deney gurubundan alınan karaciğer dokusundaki oksitetrasiklin miktarını belirleyen kromotogram Şekil 6'de verilmiştir.



Şekil 6. İlaç enjeksiyonundan 6 saat sonra deney grubundan alınan karaciğer dokusundaki oksitetrasiklin miktarını belirleyen kromotogram.

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

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

Çizelge 3. Örnek kromatogramlarda oksitetrasiklin analiz değerleri.

Guruplar	Pik	Kolon terk süresi Dakika	Pik genişliği	Pik alanı
0.3ppm standart OTC	1	2.9	0.0854	4.71920
Deney gurubu	1	2.9	0.0794	61.32811
Kontrol gurubu	--	--	--	--

Bjorklund ve Bylund.(1990), Gökkuşağı Alabalığında 75 mg/kg dozdaki oral uygulama sonrasında serumdaki oksitetrasiklin'in 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), Gökkuşağı Alabalığı, Amago Salmon ve Sarı Kuyruk'ta yaptıkları bir çalışmada 100 mg/kg dozunda oksitetrasiklin'i oral yolla uygulayıp serum biyolojik yarı ömür değerlerini 1.0 , 0.7 ve 1.2 gün olarak bulmuşlardır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada Tilapia (*Oreochromis niloticus*)'ların dokularındaki oksitetrasiklin miktarlarının zamana bağlı değerleri saptanmış olup oksitetrasiklin'in oral yolla verilışinden 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 yetiştiriliciliği yapılan Tilapia (*Oreochromis niloticus*)'larda rastlanan her hangi bir bakteriyel hastalığa karşı oksitetrasiklin uygulandığında tedaviden 24 günden önce tüketime sunulmaması önerilir.

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 Adminastration , Jornal 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 , Jornal 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 , Jomal 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.

