

Levrek'lerde (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) Sağaltım Sonrası Oksitetrasiklinin Kas ve Derideki Rezidüsünün Belirlenmesi*

*Fikri Balta¹, Haşmet Çağırğan²

¹Rize Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Rize, Türkiye

²Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, İzmir, Türkiye

*E mail: fikribalta@hotmail.com

Abstract: *Determination of residue in muscle and skin of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) after oxytetracycline treatment.* The research were carried out in order to determine residue depletion of oxytetracycline HCl in the muscle and skin of *Listonella anguillarum* infected sea bass (*Dicentrarchus labrax*) which were held in floating net cage placed in sea water. They were fed with commercial pelleted diet at a rate of 1 %biomass. Oxytetracycline HCl were given to fish one time in a day 75 mg/kg living weight for 10 days in the fed. It was attached to the pellet with mixing starch. Muscle and skin without scales and bones were sampled from fish netted at different intervals after last treatment (1st, 2nd, 3rd, 4th, 5th, 9th, 10th, 14th, 15th, 19th, 20th, 24th, 25th, 29th, 30th, 37th and 44th day). Oxytetracycline HCl were extracted from muscle and skin tissues by using 0.1 M KH₂PO₄ or 2 %0.1 M HCl containing methanol and determined in bacteriological method. *Bacillus cereus* var. *mycooides* (ATCC-11778) were used as test organism and seeded on to Antibiotic Medium No: 2 (pH 5.95 ± 0.05). A great variation were recorded in tissue residue of oxytetracycline HCl depending variation of feed intake. Oxytetracycline concentrations in muscle of naturally *Listonella anguillarum* infected sea bass were declined under maximum residue limit (MRL) 20 days (0.034 µg/g) after treatment ceased. This is equal to 456 degree/days. However, skin oxytetracycline HCl concentration was declined bellow MRL (0.046 µg/g), 30 days after treatment ceased. This is equal to 684 degree/days.

Key Words: Oxytetracycline HCl, Tissue residues, Sea bass, *Dicentrarchus labrax*.

Özet: Denizde ağ kafeslerde tutulan doğal yolla *Listonella anguillarum* ile enfekte levrek (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) balıklarının kas ve derilerinde oksitetrasiklin HCl rezidüsü belirlendi. Balıklar canlı ağırlık hesabı ile %1 pelet yemle beslendi. Oksitetrasiklin HCl ilave edilen yem balıklara günde bir kez, 75 mg/kg/ canlı ağırlık hesabı ile 10 gün süreyle verildi. Oksitetrasiklin HCl pelet yeme nişasta ile karıştırılarak tutturuldu. Tedavi bittikten sonra 1., 2., 3., 4., 5., 9., 10., 14., 15., 19., 20., 24., 25., 29., 30., 37. ve 44. günlerde balık örnekleri alındı. Balıklar keçe ile yakalanıp pulları ve kemikleri ayırdıktan sonra kas ve derileri homojenizatları hazırlandı. Dokulardaki Oksitetrasiklin HCl rezidüsü, 0.1 M KH₂PO₄ veya %2 0.1 M HCl içeren metanol ile ekstrakte edildikten sonra bakteriyolojik yöntemle *Bacillus cereus* var. *mycooides* (ATCC-11778) ve Antibiyotik Medium No: 2 (pH 5.95 ± 0.05) kullanılarak belirlendi. Yem alımındaki farklılığa bağlı olarak dokulardaki oksitetrasiklin HCl düzeyinde balıktan balığa büyük farklılıklar görüldü. Doğal olarak *Listonella anguillarum* ile enfekte levrek balıklarının kas dokusunda maksimal rezidü limitinin (MRL) altına tedavi bittikten 20 gün sonra ulaşıldı (0.034 µg/g). Bu 456 derece/gün'lük süreye denktir. Fakat derideki oksitetrasiklin HCl konsantrasyonu, tedaviden sonraki 30. günde (0.046 µg/g) MRL düzeyinin altına inmiştir. Bu da 684 derece/gün'e eşittir.

Anahtar Kelimeler: Oksitetrasiklin HCl, doku rezidüleri, levrek, *Dicentrarchus labrax*.

*Bu çalışma doktora tezinden özetlenmiştir.

Giriş

Oksitetrasiklin HCl (OTC) tatlı su, tuzlu su ve akvaryum balıklarının bakteriyel hastalıklarının tedavisinde tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır (Hambali ve Ahmad 1992, Sano 1998, Subasinghe 1992). 1950 yıllarda Avrupa Ülkeleri ve Amerika'da OTC'nin birçok bakteriyel balık hastalıklarının sağaltımında tercih edilen antibakteriyel ajan olarak kullanıldığı bildirilmektedir (Austin ve Austin 1987, Alderman 1988). Furunkulozis, vibriozis, pasteurellozis ve yersiniyozis gibi sistemik, kolonaris gibi topikal balık hastalıklarının sağaltımında OTC birçok ülkede yaygın olarak kullanılan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir (Malvisi ve diğ.1996). Balıklarda OTC dozu oral yolla 50–100 mg/kg canlı ağırlık ve topikal olarak ise 30–50 mg/l. dozda kullanılmaktadır (Austin ve Austin 1997). Son yıllarda ülkemizde de bakteriyel balık

hastalıklarının tedavisinde OTC en yaygın kullanılan antibiyotiklerden biri olarak dikkat çekmektedir.

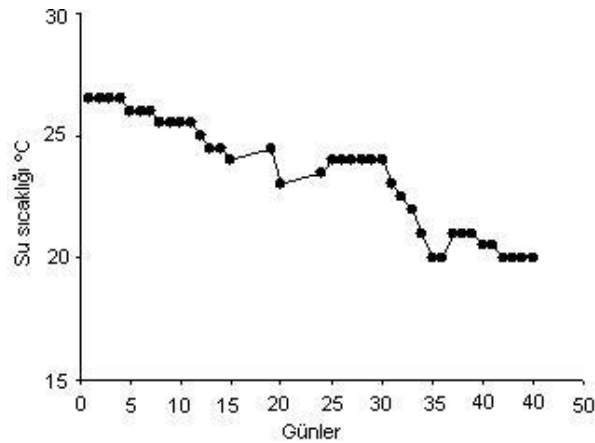
Balıklarda kullanılan ilaçların emilimi, dokulardaki dağılımı ve vücuttan atılımı balık türüne bağlı olarak birçok faktörden (anatomik, fizyolojik, metabolik ve boşaltım sistemlerindeki farklar) ve çevresel faktörlerden (pH, tuzluluk ve su sıcaklığı) etkilenmektedir. Hasta balıklarda antibakteriyel ajanların kullanılması ile tedaviden sonra ette kalan antibiyotik yenildiğinde tüketici sağlığını olumsuz yönde etkileme riski vardır. Sucul ortamda kullanılan antibiyotikler bentik flora ve faunayı bozucu etkileri yanı sıra dirençli bakterilerinde ortaya çıkmasına neden olduğu bildirilmiştir (Björklund 1991). Bakteriyel balık hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibakteriyel ilaçlar insan sağlığı açısından riskler oluşturmakta ve balık etindeki kemoterapotik maddelerinin maksimal rezidü limitinin (MRL) üzerinde olmaması gerektiği

bildirilmektedir. Avrupa Topluluğu (AT) ülkelerine ihraç edilen balıklarda OTC rezidüsünün tolare edilebilir miktarı 0,1 µg/g'in altında olması gerekmektedir (Anonim 1997, Kaya 1994).

Bu çalışmada doğal olarak enfekte olan levrek balıklarında kullanılan OTC'nin kas ve derideki rezidüsü mikrobiyolojik yöntemle belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Ortalama ağırlıkları $303,68 \pm 35,05$ (224-385 g) 200 adet levrek balığı (*Dicentrarchus labrax*) 5m x 5m x 5m ebatlardaki yüzer ağ kafese konuldu. Araştırmanın başlangıcında 26,5 °C ölçülen su sıcaklığı son örneklemede 20 °C'e düştü. Su sıcaklıkları saat 13.00'de yemleme yapılmadan önce ölçüldü ve grafik halinde Şekil 1'de verildi.



Şekil 1. Araştırma süresince ölçülen su sıcaklığı.

Denemenin yapılacağı çiftliğe getirilen levrek balıklarındaki stresi azaltmak için adaptasyona bırakıldı. Balıklarda 2 gün içinde enfeksiyona bağlı ölümler görüldü. Hastalıklı levreklerden yapılan izolasyon ve identifikasyon sonucunda ölüm nedeninin *Listonella anguillarum* (Syn. *Vibrio anguillarum*) olduğu, patojenin antibiyogram sonuçlarına göre OTC'ye duyarlı olduğu tespit edildi. Balıklara ilk 4 gün müdahale edilmedi. Bu süre içinde balıkların %10'u öldü. Çeşme suyu ile önceden nemlendirilmiş 4 numara pelet levrek yemine (Pınar Levrek Yem: Kuru madde %88, ham protein %46, ham selüloz %3, ham kül %13, Ca %,2, P %1,5, ham yağ %12, vitaminler ve iz elementler) 75 mg/kg dozunda oksitetrasikline HCl (BP 98,7) ilave edildi. İlaçlı yemin üzeri iyice kaplamak için 2 gr nişasta ilave edildi. İlaçlı yem oral yolla 10 gün süre ile deneme balıklarına verildi. Yemleme el ile %1 canlı ağırlık üzerinden günde 1 kez, her gün saat 13.30'da yapıldı. Kontrol grubuna ve 10 günlük OTC ile sağaltım sonrasında tüm balıklara, ilaç içermeyen aynı yem, aynı miktarında verildi.

Bu çalışmada balıklara OTC içeren yem verilmeden önce kontrol grubu için rasgele seçilmiş 10 adet levrek

balığının kas ve derilerinden örnekler alındı. Deri ve kas örneklerinde OTC rezidüsü arandı. Rezidü olmadığı anlaşıldıktan sonra OTC ilave edilmiş yem deneme grubuna yedirilmeye başlandı.

Sağaltım boyunca 10 gün örnekleme yapılmadı. Rezidü analizleri için günde bir kez rasgele 5 adet balık alındı. Örnekler 10 günlük sağaltımdan sonraki 11. gün örneklemenin 1. günü olmak üzere 1., 2., 3., 4., 5., 9., 10., 14., 15., 19., 20.,24., 25., 29., 30., 37. ve 44. günlerde her gün saat 13.00'da alındı.

Balıkların her biri ayrı ayrı tartıldıktan sonra pulları kazınarak uzaklaştırıldı. Balıklardan deri ve kas örnekleri sol operkulumun hemen arkasından, dorsal yüzgeç ile yanıl çizgi arasında kalan dorso-lateral bölgeden makas ve pens yardımı ile yaklaşık 1'er gram tartılıp 5 ml'lik plastik santrifüj tüplerine konuldu. Deri örneklerinde pul ve kas bulunmamasına, kas örneklerinde ise kemik bulunmamasına özen gösterildi. Örnekler 0,0001 gr duyarlılıkla hassas terazide (Scaltek) tartıldı. Alınan doku örnekleri naylon poşetlere konularak üzerine gerekli bilgiler yazılıp etiketlendikten sonra -20°C'de derin dondurucuda en çok 3 ay bekletildi. Derin dondurucuda saklama esnasında deri ve kastaki OTC miktarlarında değişiklik olup olmadığı ön denemelerle belirlendi.

Levrek balıklarından alınan kas ve deri örneklerin ekstraksiyonu için 0,1 M KH₂PO₄ (Carlo-Erba) veya %2 0,1M HCL (Carlo-Erba) içeren metanol (Riedel) ile homojenize edilerek ekstrakte edildi. Bakteriolojik yöntemle OTC'nin tayininde Antibiotic Medium No: 2 (Difco, 0270-14-4) kullanıldı (pH'a 5,95±0,05). Test mikroorganizması olarak kullanılan *Bacillus cereus* var. *mycoides* (ATCC 11778) Etlik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nden temin edildi. Balıkların sağaltımında ve standart zon oluşturmak için %98,7'lik OTC (BP 1993) kullanıldı. Standart, kas ve deri örneklerinde OTC'in meydana getirdiği zon çapları duyarlılığı 0,01 mm olan dijital kumpas (Mitutoyo) ile ölçüldü.

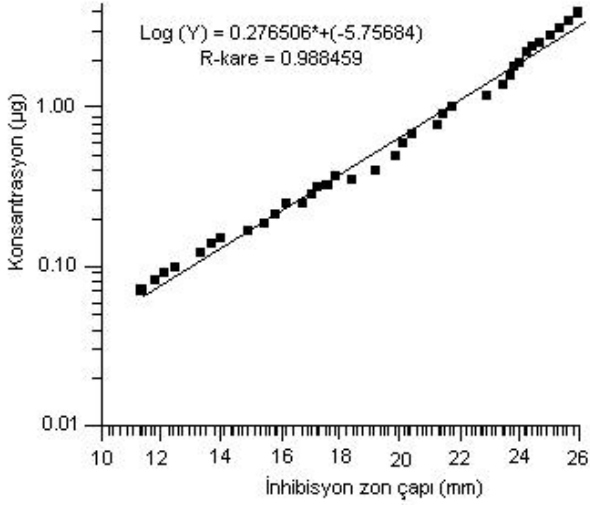
Bu çalışmada OTC rezidü analizleri iki farklı yöntem ile gerçekleştirildi. Arret ve diğ. (1971) ve Horwitz (1980) tarafından tarif edilen mikrobiyolojik agar-diffüzyon metoduna göre yapılan rezidü analizlerinde ölçülebilen minimum miktarı 0,1 µg/g altına düşürülemedi. Ayrıca doku homojenizatlarının bazılarında inhibisyon zon çapları oluşmadı. Bu nedenle kas ve deri homojenizatlarında zon oluşmayan örnekler ile rezidü miktarlarının 0,1 µg/g altına düşürmek için Salte ve Liestol (1983) tarafından bildirilen yöntem ile analizler tekrarlandı.

Arret ve diğ. (1971) tarif ettiği metot 3'e göre *Bacillus cereus* var. *mycoides* (ATCC 11778) sporları hazırlandı. Bakteri sporlarının üretilmesi için pH 5.95±0,05 ayarlanmış Antibiotic Medium No: 2 penassay base agar (Difco) kullanıldı. Ekim yapılan besi yerleri 24 saatlik inkübasyondan sonra üreyen bakteriler steril ortamda, steril su ile yıkanarak 50 cc'lik santrifüj tüpüne alındı. 70 °C'deki su banyosunda 30 dakika bekletilerek bakterilerden spor elde edildi. Saf spor süspansiyonu 5000 devir/dakika (rpm)'da 20 dakika santrifüj edildi. Sıvı kısım dikkatlice bir şişeye alındı. Sporum üzerine 30 cc steril saf su ilave edilip iyice çalkalandıktan sonra aynı devir ve dakika santrifüj edilip sıvı kısım uzaklaştırıldı. Bu işlem üç

kez tekrarlandı. Hazırlanan *Bacillus cereus* var. *mycoides* sporu rezidü analizleri için kullanılan besi yerlerine ilave edilmek üzere +4°C'de buzdolabında saklandı.

%98,7'lik OTC 101,317 mg hassas terazide tartılarak 100 cc 0,1 N HCl asit çözeltisinde eritildi. Ayrıca aynı şekilde %2'lik 0,1 M HCl içeren metanol solüsyonu ile OTC stok standart solüsyonu hazırlandı. 0,45 µ'luk milipor filtreden geçirilerek steril edildi ve -20°C'de derin dondurucuda saklandı.

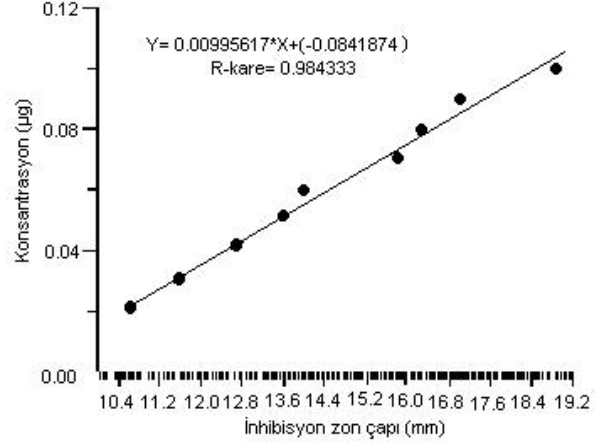
%0,2'lik KH₂PO₄ ile hazırlanan stok solüsyondan 0,01 µg/ml'den başlayarak 4 µg/ml'e kadar OTC dilüsyonu hazırlandı. Negatif kontrol olarak OTC içermeyen ve standartların dilüsyonunda kullanılan sulandırıcı (0,1 M KH₂PO₄, pH 6,0) kullanıldı. Ekstraksiyon %2'lik HCl içeren metanol ile yapıldığında, standart dilüsyonlarında aynı sıvı ile hazırlandı. 0,01 µg/ml'den başlayarak 1 µg/ml'e kadar çok sayıda OTC standardı hazırlandı. Besi yerinde açılmış 6 adet 9 mm çaplı deliklere her bir standarttan 100 µl konuldu. 0,1 M KH₂PO₄ ile hazırlanan OTC standartlarına karşılık gelen zon çapları grafik halinde Şekil 2'de ve %2 HCl içeren metanol ile hazırlanan OTC standartlarına karşılık gelen zon çapları ise grafik halinde Şekil 3'de verildi.



Şekil 2. %0,2'lik KH₂PO₄ ile hazırlanan OTC standartları ve oluşturduğu zon çapları (Logaritmik regresyon yapılmıştır).

Levrek balıklarının kas ve deri örneklerindeki OTC %0,2'lik pH 6,00'a ayarlanmış KH₂PO₄ veya %2 HCl içeren metanol ile ekstrakte edildi. Örnekler 1:1 (W/V) oranında 1 cc sulandırıcı ilave edildi. Kas örnekleri 8000 devir/dakika ve deri örnekleri 15000 devir/dakika 2-3 dakika homojenizatörde (IKA T-8) homojenize edildi. Örnekler 5'er adet alındı ve her bir dokudan 3'er paralel çalışıldı. Homojenizatörün bıçak ve şaft kısmı yeni örneklerin homojenizasyonundan önce sırasıyla 0,1 M HCl ve %0,2'lik KH₂PO₄ (pH 6) ile yıkanıp kâğıt havlu ile kurutuldu. Homojenize edilen örnekler soğutmalı santrifüjde (Hettich, EBA 12 R); kas homojenizatları 15°C'de 15000

devir/dakika da 20 dakika, deri homojenizatları ise 30°C'de 18000 devir/dakika da 30 dakika santrifüje edildi. Üste kalan berrak sıvı kısım dikkatlice ependorf tüplerine alınıp -20°C'de derin dondurucuda analiz edilinceye kadar saklandı.



Şekil 3. %2 HCl içeren metanol ile hazırlanan OTC standartları ve oluşturduğu zon çapları (Logaritmik regresyon yapılmıştır).

Bu yöntemle yapılan rezidü analizlerinde bazı örneklerde inhibisyon zon çapı oluşmadığı ve son örneklerde ölçülebilen rezidü seviyeleri 0,1 µg/g altına düşmediği görüldü. Bu balıklardan tekrar kas ve deri örnekleri 1'er gram tartılarak Salte ve Liestol (1983) tarafından bildirilen %2'lik 0,1 M HCl içeren metanol solüsyonu ile 1:1 (W/V) oranında sulandırıldıktan sonra aynı şekilde homojenize edilip santrifüje edildi. Berrak sıvı kısım ağız lastik kapakla kapatılabilen 5 ml'lik çam şişelere alınarak oda sıcaklığında vakum altında evaporator yardımıyla şişe içeriği tamamen uçuruldu. Şişelere 0,3 ml KH₂PO₄ ilave edilerek iyice çalkalandıktan sonra 100 µl otomatik pipet ile alınıp 3'er paralel olacak şekilde besi yerlerindeki kuyucuklara konuldu.

Besi yeri 9 cm çaplı steril plastik petri kaplarına 8'er ml döküldü. Soğutulup kurutulduktan sonra, her bir petri kutusuna 6 adet olmak üzere birbirinden eşit uzaklıkta 9 mm çaplı steril içi boş silindirik porselen boncuklar yerleştirildi. Üzerine 8 ml, 0,4 ml/100 ml *Bacillus cereus* var. *mycoides* (ATCC 11778) spor süspansiyonu ilave edilmiş besi yeri döküldü. Besi yerine ilave edilmesi gereken spor süspansiyonu ön denemeler ile belirlendi. Spor ilave edilmiş besi yeri petrilere döküldükten sonra buzdolabında 2 saat bekletildi. Soğuduktan sonra boncuklar alındı. Daha sonra oluşan çukurlara mikropipet ile 100'er µl analizi yapılacak ekstrakt veya standartlar 3'er paralel olmak üzere ilave edildi. Besi yerleri 30 °C'de 18 saat inkube edildikten sonra, bakterinin üremediği şeffaf zonlar dijital kumpasla ölçüldü. Dilüsyonlarda pipet hatalarını gidermek için 1-5 ml veya 20-200 µl arasında ölçüm yapabilen otomatik pipetler kullanıldı. Levrek balıklarının kas ve derilerinde ölçülen OTC miktarları Tablo 1'de verildi.

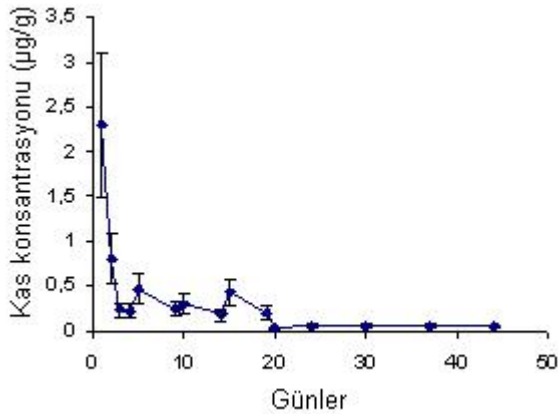
Bulgular

10 günlük OTC sağaltımı bittikten sonraki ilk gün alınan örnek 1. gün olmak üzere, örneklerin alındığı günlerde levrek balıklarının kas ve derilerindeki ortalama OTC rezidü miktarları ile standart sapmaları tablo 1'de ve grafik olarak kastaki şekil 4'de ve derideki şekil 5'de verilmiştir. Levrek balığının kaslarından 9. ve 15. günü alınan 5 örnekten 1'inde, 4. ve 14. gününde 2'sinde, 3. ve 9. günlerde ise 3'ünde zon oluşmazken 20.gün ve daha sonraki günlerde alınan kas örneklerinin hiçbirinde zon oluşmadığı görüldü. Levrek

balıklarının derisinde 9. ve 14. günü 5 örnekten 1'inde, 4., 19. ve 24. günlerinde 2'sinde, 3. ve 20. günlerinde ise 3'ünde zon meydana gelmezken, 30.gün ve daha sonraki günlerde alınan deri örneklerinin hiçbirinde zon oluşmadığı görüldü. Bu örnekler Salte ve Liestol (1983) yöntemine göre, %2'lik 0,1 M HCL içeren metanol ile ekstraksiyon yapıldıktan sonra analiz edildiğinde ölçülebilir miktarlarda rezidünün varlığı tespit edildi. Levrek balıklarının kas ve derileri potasyum dihidrojen fosfat ile ekstraksiyon yapıldığında okunabilen en düşük OTC miktarları kasda 0,180 µg/ml, deride ise 0,158 µg/ml olarak bulundu.

Tablo 1. Levreklerde OTC ile sağaltım sonrası kasta ve deride ölçülen rezidü miktarlarının ortalamaları ve standart sapmaları (\pm s.d.).

| Örneklerin alındığı günler (n = 5) | Kasta ölçülen OTC miktarı (µg/g) | Deride ölçülen OTC miktarı (µg/g) |
|------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 2,290 \pm 1,95 (0,700 - 5,320) | 3,420 \pm 2,96 (0,820 - 7,600) |
| 2 | 0,810 \pm 0,51 (0,494 - 1,720) | 1,480 \pm 1,07 (0,680 - 3,340) |
| 3 | 0,241 \pm 0,10 (0,172 - 0,416) | 0,245 \pm 0,13 (0,135 - 0,420) |
| 4 | 0,235 \pm 0,09 (0,142 - 0,382) | 0,173 \pm 0,03 (0,210 - 0,320) |
| 5 | 0,476 \pm 0,09 (0,384 - 0,612) | 0,880 \pm 0,19 (0,720 - 1,210) |
| 9 | 0,248 \pm 0,08 (0,168 - 0,346) | 0,231 \pm 0,07 (0,115 - 0,312) |
| 10 | 0,309 \pm 0,05 (0,220 - 0,368) | 0,333 \pm 0,07 (0,250 - 0,410) |
| 14 | 0,188 \pm 0,05 (0,124 - 0,232) | 0,195 \pm 0,05 (0,108 - 0,228) |
| 15 | 0,437 \pm 0,17 (0,230 - 0,680) | 0,585 \pm 0,39 (0,172 - 1,100) |
| 19 | 0,206 \pm 0,10 (0,082 - 0,340) | 0,270 \pm 0,15 (0,135 - 0,500) |
| 20 | 0,034 \pm 0,08 (0,028 - 0,047) | 0,142 \pm 0,07 (0,037 - 0,205) |
| 24 | 0,050 \pm 0,02 (0,028 - 0,068) | 0,125 \pm 0,07 (0,051 - 0,186) |
| 30 | 0,062 \pm 0,02 (0,060 - 0,064) | 0,046 \pm 0,04 (0,041 - 0,049) |
| 37 | 0,055 \pm 0,01 (0,046 - 0,066) | 0,042 \pm 0,02 (0,021 - 0,058) |
| 44 | 0,048 \pm 0,05 (0,042 - 0,055) | 0,031 \pm 0,04 (0,025 - 0,035) |

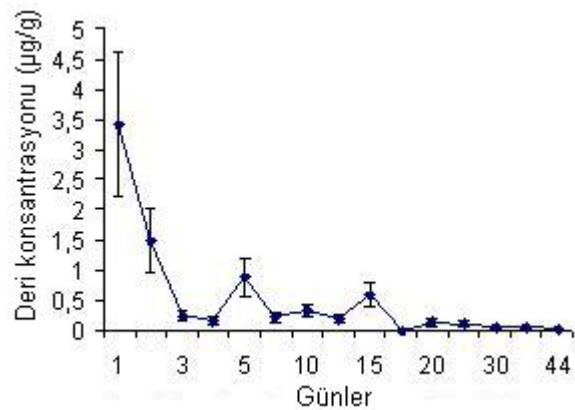


Şekil 4. Levreklerde OTC ile sağaltım sonrası kasta ölçülen rezidü miktarı.

Levrek balıklarının kas ve derilerinde tedavi sonrası yapılan rezidü analizde en yüksek OTC konsantrasyonuna 1. günde ulaşılmıştır. Bu çalışmada her iki metotla ekstraksiyon sonucunda kas ve derideki OTC miktarları ile paralel balık örnekleri arasında büyük farkların olduğu görüldü.

Geri kazanım denemesinde 0,1 M KH₂PO₄, (pH 6,0) ile homojenize edilen levrek balıklarının kas ve deri dokusuna 0,5 µg/g ve 2 µg/g OTC ilave edildiğinde geri kazanım oranı sırası ile kasda %46 ve %39,2, deride ise %73 ve %42 olarak hesap edilmiştir. %2'lik 0,1 M HCL içeren metanol ekstraksiyon yöntemin ile 0,1 µg/g ve 0,05µg/g OTC ilavesiyle

homojenize edildiğinde geri kazanım oranı sırasıyla kasta %63 ve %75, deride ise %35 ve %24 geri kazanım elde edilmiştir. Yemden geri kazanım denemesi, %2 HCL içeren metanol ekstraksiyon yöntemi ile homojenize edilerek yapıldı. Bu deneyde yemden geri kazanım oranı %58 olarak hesap edilmiştir.



Şekil 5. Levreklerde OTC ile sağaltım sonrası deride ölçülen rezidü miktarı.

Listonella anguillarum enfeksiyonu geçirmiş levrek balıklarında kastaki rezidünün 20. günde tolerans düzeyinin altına indiği (0,034 µg/g), deride ise 30. günde tolerans

düzeyinin altına (0,064 µg/g) indiği görülmüştür. Bu çalışmada levrek balıkları OTC ile sağaltımdan sonra bekleme süresi 456 derece/gün olarak hesap edilmiştir. OTC'in yarılma ömürleri ($t_{1/2}$) kasda 0,733 gün, deride ise 0,777 gün olarak bulunmuştur.

Tartışma ve Sonuç

Mikrobiyolojik yöntem kullanılarak yapılan bu araştırma bulgularına göre levreklerin kas ve derilerinde OTC miktarlarında aynı günde yapılan örneklemelerde balıktan balığa çok büyük farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir. Malvisi ve diğ. (1996) 19-28 °C'de su sıcaklığında denizde kültürü yapılan Çipura ve Levreklerde OTC yemi içinde 75 mg/kg canlı ağırlığa dozunda verilerek OTC'nin HPLC yöntemiyle yaptıkları bir çalışmada, paraleller arasında çok büyük farklılıklar olduğunu bildirmiştir. Salte ve Liestol (1983) tatlı suda kültürü yapılan gökkuşuğu alabalıklarında da aynı bireysel farklılıkların bulunduğu bildirmiş, bunu balıkların yemleme esnasında eşit yem almamalarına, tüm balıklarda midenin boşalma zamanının aynı olmamasına, ilacın bağırsaklardan emilimi, vücuttaki metabolize olma ve atılma hızlarının aynı olmaması ile ilgili olabileceğini belirtmiştir. Hustved ve diğ. (1991) alabalıklarda yaptığı çalışmada yeme OTC ilavesinin yem alımını %61 azalttığını, Salte (1992) ise OTC ilave edilmiş yem ile yemlemenin 2. gününde alabalıkların yemi reddettiğini bildirmiştir. Bu çalışmada 11-13 °C su sıcaklığında tutulan levrek balıklarında aynı bulguya rastlanırken, 20°C ve üzerindeki sıcaklıkta yapılan denemelerde OTC ilave edilmiş yemi iştahla aldıkları görülmüştür. Ancak bu çalışmada OTC nişasta ile karıştırılarak pelet yeme ilave edilmiştir. Malvisi ve diğ. (1996) deneme balıklarına ticari olarak OTC ilave edilmiş hazır yem verdiklerini bildirmişlerdir.

Araştırmanın yapıldığı süre içinde ortalama su sıcaklığı 22,8 °C olarak hesaplanmıştır. Bu değer rezidü miktarının Türk Gıda Kodesi'ne göre tolere edilebilir düzeye inmesi için kasta gereken süre 456 derece/gün olarak bulunmuştur. Bu bulgu balıklarda ilaçla tedavi sonrası bekleme süresi olarak kabul edilen 500 derece/gün süre ile uyumaktadır. Malvisi ve diğ. (1996) su sıcaklığının ilk 20 gün 19-20 °C, daha sonraki günlerde ise 24-28 °C olduğu çalışmada, oral olarak aynı dozda ve süreyle 50-70 gramlık çipura balıklarına verilen OTC kas dokusunda tedavi sonrası 10. günde ölçülen rezidü seviyesi 0,092 µg/g'a indiğini, deride ise 20. günde 0,150 µg/g düzeyinde kaldığını, 20. günden sonra ölçümlere devam edilmediği bildirilmektedir. Bu çalışmada levreklerde kastaki rezidünün 20. günde tolerans düzeyinin altına indiği (0,034 µg/g), daha sonra değerlerde yükselme olsa da MRL'in üzerine çıkmadığı, deride ise 30. günde tolerans düzeyinin altına (0,064 µg/g) indiği görülmektedir.

Avrupa Topluluğu ve ülkemizde balıklarda tedavi sonrası yasal bekleme sonrası 500 derece/gün olarak kabul edilmiştir (Björklund 1991, Tennant 1992, Kaya, 1994, Malvisi, 1997). Bu çalışmada ise levrek balıklarındaki bekleme süresi 456 derece/gün olarak hesaplanmıştır.

Alabalıklarda OTC'in esas metabolize olduğu yer karaciğer olup safra yolu ile atıldığı bildirilmektedir (Björklund 1991). Karaciğeri hasarlı Atlantik salmonlarında OTC'in dokulardaki eliminasyon süresi uzamaktadır (Bruno 1989). *Listonella anguillarum* ile deneysel olarak enfekte edilen Ayu balıklarında OTC'in biyolojik yararlılığı sağlıklı balıklara oranla %66 daha az olduğu bulunmuştur (Uno 1996).

Bu çalışmada enfekte levrek balıklarında hesaplanan bekleme süresini, diğer araştırmacıların levrek balıklarında yaptıkları çalışmada her hangi bir sonuç elde edemediklerinden karşılaştırma yapılamamıştır.

Düşük su sıcaklığında (11-13°C) tutulan levreklerde yem alımının çok düşük olması nedeni ile rezidü miktarında sürekli bir düşüş görüldüğünden araştırma sürdürülemediği. Levreklerde yapılacak benzer araştırmaların balıkların iştahla yem aldıkları yüksek su sıcaklığında yapılmalıdır. Ayrıca tedavi süresince balık örneklerinin alınması balıklarda strese neden olacağından tedavi bittikten sonra örneklemelerin yapılması daha uygun olacaktır.

Farmakokinetik yönden bakıldığında, kontrollü şartlarda yapılacak rezidü çalışmalarında bireysel farkları minimize etmek olası ise de sonuçlar hasta balıklara uyarlanması gerekmekte, bu da yanılığa yol açabilmektedir.

Araştırma esnasında levreklerde meydana gelen strese bağlı vibriosisin ortaya çıkmasından sonra OTC ile tedaviye başlanmış olması tamamen doğal şartlarda rezidü analizinin yapılmasını sağlamıştır. Araştırma sonuçlarına göre vibriosisin tedavisinde 75 mg/kg canlı ağırlık hesabı ile OTC 10 gün müddetince verildiğinde sağaltımın başarılı olduğu görülmüştür. Doğal vibriosis yakalanıp OTC ile sağaltılan levreklerde 456 derece/gün'lük bir bekleme süresinin yeterli olduğu görülmüştür.

Bir çok çalışmada her ne kadar OTC'in deniz ortamında bulunan di ve tri- valent iyonlarla şelatlar oluşturarak etki gücünde bir azalma olsa da, 4 mm pelet yemine OTC+nişasta karışımı ile homojenize edilerek balıklara verildiğinde 75 mg dozda levreklerdeki vibriosis enfeksiyonunun sağaltımında etkili olduğu görülmüştür.

Kaynakça

- Alderman, D.J. 1988. Recent Advances In Aquaculture. Fisheries chemotherapy. In: R.J Roberts. Crown Helm., London, 1-61p.
- Anonymous, 1997. Turkish Food Codex Directive. October 16, Numbered 23172 of The Official Gazette, Oxytetracycline HCl level 0,1 ppm in fish meat to be tolerated (in Turkish).
- Arret, B., D.P. Johnson, and A. Kirhbaum. 1971. Outline of details for microbiological assays of antibiotics: Second Revision. Journal of Pharmaceutical Sciences 60: 11, 1689-1694.
- Austin, B., and D.A. Austin. 1987. Bacterial fish pathogens, Disease of farmed and wild fish. Ellis Horwood Ltd. Chichester, UK.
- Björklund, H. 1991. Oxytetracycline and oxolinic acid as antibacterials in aquaculture-analysis, Pharmacokinetics and Environmental Impacts. Academic Disertation. Department of Biology Abo Akademi University. Abo, Finland. 1-43p.
- Bruno, D.W. 1989. An investigation into oxytetracycline in Atlantic salmon, (*Salmon salar* L.). J. Fish Dis., 12: 77-86.
- Hambali, S., and R. Ahmad. 1992. The Use of chemotherapeutic agents for the treatment of bacterial diseases of fish and shrimps in Indonesia, Diseases in Asian Aquaculture, ed: J.M Shariff, R.P. Subasinghe, and

- J.R. Arthur, Fish Health Section Asian Fisheries Society, Manila, Philippines Pp:515-517.
- Horwitz, W. 1980. Methods of analysis of the association of official analytical chemists, 13 th edtn. Section 42, 196-42.201: 42.212b: 42.272-42.274. AOAC. Washington, DC.719-729.
- Hustved, S.O., T. Storebakken, and R. Salte. 1991. Does oral administration of oxolinic acid or oxytetracycline affect feed intake of rainbow trout? *Aquaculture*, 92: 109-113.
- Kaya, S. 1994. Residue in animal products. Report of special expert committee of VHAG. TÜBİTAK, Ankara (in Turkish): 174-212p.
- Malvisi, J. 1997. Chemotherapy in fish farming. Short practical course. Fish health management. 27 January- 7 February 1997, 12 p.
- Malvisi, J., G.D. Rocca, P. Anfossi, and G. Giorgetti. 1996. Tissue distribution and residue depletion of oxytetracycline in sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) after oral administration, *Aquaculture*, Vol. 147: p. 159-168.
- Salte, R., and K. Liestol. 1983. Drug withdrawal from farmed fish. depletion of oxytetracycline sulfadiazine and trimethoprim from muscular tissue of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Acta vet. Scand.* 24, 418-430.
- Salte, R. 1992. Oxyteracycline residue in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) fed a commercial medicated feed. *Acta Vet. Scand.*, 24: 418-430.
- Sano, T. 1998. Control of fish disease, and the use of drugs and vaccines in Japan. *J. Appl. Ichthyol.* 14,131-137.
- Subasinghe, R. P. 1992. The use of chemotherapeutic agents in aquaculture in Sri Lanka, Diseases in Asian Aquaculture. In: J.M Shariff, R.P. Subasinghe, and J.R. Arthur (eds.), Fish Health Section Asian Fisheries Society, Manila, Philippines: 547-553p.
- Tennant, D.R. 1992. Surveillance for residues in farmed fish: principles and problems, In: Conference on problems of chemotherapy in aquaculture: Theory to Reality. Paris,OIE, 525-536p.
- Uno, K. 1996. Pharmacokinetic study of oxytetracycline in healthy and vibriosis-infected Ayu (*Plecoglossus altivelis*). *Aquaculture*, 143, 33-42.