

T. C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL OLARAK SULFADİAZİN VE TRİMETOPRİM VERİLEN GÖKKUŞAĞI  
ALABALIKLARINDA REZİDÜ VE BAZI SPESİFİK OLMAYAN İMMUNE SİSTEM  
PARAMETRELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Behire İŞİL DİDİNEN

DOKTORA TEZİ  
SU ÜRÜNLERİ TEMEL BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

ISPARTA,2005

## İÇİNDEKİLER

	<u>sayfa</u>
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1.GİRİŞ.....	1
2.KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1. Kemoterapinin Tanımı.....	3
2.2. Balıklarda Antibakteriyel Maddelerin Kullanımı.....	3
2.3. Balıklarda Kullanılan Güçlendirilmiş Sulfonamidler .....	4
2.4. Tribriksen(sulfadiazine-trimethoprim(5:1)).....	4
2.4.1. Tribriksenin Antibakteriyel Etkisi.....	6
2.4.2. Tribriksenin Balıklarda Kullanımı, Uygulanma Yolları ve Dozları.....	7
2.4.3. Trimethoprim ve Sulfadiazinin Balıklardaki Farmakokinetiği.....	7
2.4.3.1. Trimethoprim ve Sulfadiazinin Balıklarda Absorbsiyonu ve Dağılımı.....	7
2.4.3.2. Trimethoprim ve Sulfadiazinin Balıklardaki Boşaltımı .....	10
2.4.4. Trimethoprim ve Sulfadiazine'in Balıklardaki Maksimum Rezidü Limitleri ve Arınma Süreleri.....	11
2.4.5. Sulfadiazine ve Trimethoprimin Balıkların Bağışıklık Sistemine Etkileri... 15	15
2.4.6. Sulfadiazine ve Trimethoprimin Diğer Toksik Etkileri.....	16
2.4.8. Sulfadiazine ve Trimethoprimin Balıklarda Rezidüsü .....	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
3.1. Rezidü Denemesi.....	19
3.1.1. Materyal.....	19
3.1.1.1. Araştırmada Kullanılan Balık ve Uygulama Yeri:.....	19
3.1.1.2. Araştırmada Kullanılan Su Kaynağı ve Suyun Kalitesi.....	19
3.1.1.3. Araştırmada Kullanılan İlaçlar.....	19
3.1.1.4. İlacın Uygulanması.....	20
3.1.1.5. Örneklemeye Günleri.....	20

3.1.2. Yöntem.....	20
3.1.2.1. Örneklerin Ekstraksiyonu.....	21
3.1.2.2. Kromatografik Şartlar.....	21
3.1.2.3. Stok Solüsyonlar, Kalibrasyon Eğrilerinin Hazırlanması ve Geri Kazanım Denemeleri.....	24
3.2. Sulfadiazine ve Trimetoprimin Gökkuşığı Alabalıklarının Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemine Etkisinin Belirlenmesi Amacıyla Kurulan Denemeye Ait Materyal ve Yöntem.....	24
3.2.1. Materyal.....	24
3.2.1.1. Balık .....	24
3.2.1.2. Araştırmada Kullanılan Su Kaynağı ve Kalitesi.....	25
3.2.1.3. İlacın Uygulanması.....	25
3.2.1.4. Balıkların Örneklenmesi.....	25
3.2.2. Yöntem.....	25
3.2.2.1. NBT-pozitif Hücrelerin Sayımı.....	25
3.2.2.2. Eritrosit ve Total Lökosit sayımı.....	26
3.2.2.3. Serum Lizozim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	26
3.2.2.4. Hematokrit Değerinin Saptanması.....	26
3.3. İstatiksel Analizler.....	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. Sulfadiazin ve Trimetoprim'in Dokulardaki Geri Kazanım Oranları.....	27
4.2. Sulfadiazinin Doku Dağılımı.....	27
4.3. Trimetoprimin Doku Dağılımları.....	29
4.4. Sulfadiazine ve Trimetoprimin Kas, Karaciğer ve Derideki Rezidü Seviyeleri İle İlgili Bulgular.....	31
4.5. Sulfadiazine ve Trimetoprim'in Kasdaki Maksimum Kalıntı Konsantrasyonu Altına Düşme Süreleri İle İlgili Bulgular.....	43
4.6. Tribriksen Uygulamasının Gökkuşığı Alabalıklarının Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemine Etkileri ile İlgili Bulgular.....	44
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	49
6. KAYNAKLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	58

## DENEYSEL OLARAK SULFADİAZİN VE TRİMETOPRİM VERİLEN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA REZİDÜ VE BAZI SPESİFİK OLMAYAN İMMUNE SİSTEM PARAMETRELERİNİN ARAŞTIRILMASI

### ÖZET

Bu araştırmada, 12 °C su sıcaklığında tutulan gökkuşağı alabalıkları(*Oncorhynchus mykiss* Walbaum)'na i.p. ve oral yolla tribriksen (sulfadiazine/trimethoprim, 5:1) uygulandıktan sonra, sulfadiazine ve trimethoprimin dokulara dağılımları, rezidüleri ve maksimum kalıntı konsantrasyonu altına düşme süreleri HPLC ile belirlenmiştir.

Bu amaçla ortalama 180g ve 70g ağırlığındaki balıklardan oluşan iki grup balığa 125 mg/kg canlı ağırlık dozunda intraperitoneal enjeksiyonla, bir grup balığa (ortalama 180 g ağırlığında) da 30 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribriksen uygulanmıştır. Uygulamalardan sonraki 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50 ve 57. günlerde alınan balıklara ait kas, karaciğer ve deri örnekleri analizlere kadar -30 °C'de muhafaza edilmiştir.

Sulfadiazine'in 180g ağırlığındaki balıklarda kasdaki maksimum kalıntı limitinin (0.1µg/g) altına düşme süresi 15 gün iken, 70g ağırlığındaki balıklarda 8 gün olarak bulunmuştur. Sulfadiazinin kasda maksimum kalıntı konsantrasyonunun (0,1µg/g) altına düşme süresi ilacın i.p. ve oral olarak verildiği grupta 15 gün olarak belirlenmiştir.

Trimethoprimin kasda maksimum kalıntı konsantrasyonunun (0,05 µg/g) altına düşme süresi tüm gruplarda 15 gün olarak bulunmuştur.

Bu araştırmada, ayrıca tribriksen'in gökkuşağı alabalıklarının spesifik olmayan bağışıklık sistemine etkileri belirlenmiştir. Bu amaçla ortalama 54 g ağırlığındaki balıklara 30 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribriksen uygulamasını takiben 1, 8, 15, 22 ve 29. günlerde balıkların kan örnekleri alınıp, hematokrit değeri, NBT(+) nötrofil sayısı, eritrosit sayısı ve toplam lökosit sayısı incelenmiş ve serum lizozim aktivitesinin tesbiti için de serum örnekleri analizlere kadar -30 °C'de muhafaza edilmiştir. Buna göre, gökkuşağı alabalıklarında tribriksen uygulamasının NBT(+) nötrofil sayısını ve hematokrit değerini azalttığı ve eritrosit sayısını artırdığı belirlenmiştir. Serum lizozim aktivitesi ve lökosit sayısına ise etkisinin olmadığı saptanmıştır.

**ANAHTAR KELİMELER:** *Oncorhynchus mykiss*, rezidü, doku dağılımı, sulfadiazin, trimetoprim, spesifik olmayan bağışıklık

**INVESTIGATION OF RESIDUE AND SOME NON-SPECIFIC IMMUNE SYSTEM  
PARAMETERS IN RAINBOW TROUT APPLIED SULFADIAZINE AND  
TRIMETHOPRIM AS EXPERIMENTAL**

**ABSTRACT**

In this study, we determined tissue distribution, residue and withdrawal times of tribrissen(sulphadiazine/trimethoprim, 5:1) after intraperitoneal and oral administration in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) at 12 °C.

For this purpose, tribrissen was intraperitoneally administered to two group fishes with a mean of 180 g and 70 g for single dose of 125mg/kg fish. However, it was orally administered to third group rainbow trout with a mean of 180g, for seven days dose of 30 mg/kg biomass/day. Immediately after the end of administration, muscle, liver and skin samples of fishes were collected in 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50 and 57<sup>th</sup> days and stored at -30 °C until the analyses were performed.

The withdrawal times of sulphadiazine in muscle of 180g weighting fish was 15 days while it was 8 days for 70 g weighting fishes. After i.p. and oral administrations, withdrawal times of sulphadiazine in muscle was founded 15 days. Withdrawal times of trimethoprim, in all groups' was 15 days in muscle.

In addition, effect of tribrissen application on non-specific defence mechanisms of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) has been determined. For this purpose, tribrissen was incorporated into feed and orally administered to fishes with a mean of 54 g, for seven days at the therapeutic dose of 30 mg/kg biomass/day, at a water temperature 13 °C and immediately after the end of administration blood samples of fishes were collected in 1, 8, 15, 22 and 29<sup>th</sup> days and nitroblue tetrazolium (NBT)(+) neutrophil number, haematocrite levels, erythrocyte and total leucocyte number examined. Removed serum samples for serum lysozyme activities determination stored -30 °C until the analyses were performed. As the results of this studies showed that NBT(+) neutrophils and haematocrit levels reduced and enhanced erythrocyte number after administration of tribrissen. Total leucocyte number and serum lysozyme activities was not effected from tribrissen administration.

**KEY WORDS** : *Oncorhynchus mykiss*, residue, tissue distribution, sulphadiazine, trimethoprim, non-specific defence

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Ülkemizde kültür yoluyla üretilen balık türleri arasında en yüksek üretim potansiyeline sahip olan gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'dır. Yetiştiriciliğinin intensif bir şekilde yapılması ile bakteriyel hastalıklar(yersiniosis, soğuksu hastalığı, streptococcosis) sıklıkla yaşanmaktadır. Bakteriyel hastalıkların tedavisinde çeşitli antibakteriyel maddeler kullanılması balıkların dokularında kalıntılara (rezidü) neden olmaktadır. Gökkuşığı alabalıklarının bakteriyel hastalıklarının tedavisinde kullanılan ilaçların balık kas ve derisindeki kalıntıları balığın yenmesiyle insanlar tarafından alınmakta, alerji ve anafleksinin de içinde olduğu akut ve kronik toksikasyonlara yol açabilmektedir. Bu nedenle insan besini olarak tüketilecek olan balıklarda tribriksen kalıntısının tüketim esnasında maksimum kalıntı seviyesinin üzerinde olmaması gerekmektedir. Antibakteriyel ilaçların kullanımının getirdiği sorunlardan bir diğeri de ilacın, balığın bağışıklık sisteminin üzerinde baskılayıcı etkisinin olmasıdır.

Bu araştırmada, gökkuşığı alabalıklarının bakteriyel hastalıklarının tedavisinde kullanılan tribriksen'in kas, karaciğer ve derideki dağılımı, rezidüsü ve arınma süresinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca ilacın gökkuşığı alabalıklarının spesifik olmayan bağışıklık sistemine etkileri de incelenmiştir.

Çalışmamda yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Öznur DİLER'e, Yrd. Doç. Dr. Soner ALTUN'a, Arş.Gör. Seçil EKİCİ'ye, Arş.Gör, N. Özgür AYBAL'a, Arş.Gör. Arife KAPLAN'a ve çalışmamı maddi olarak destekleyen SDÜ Araştırma Projeleri Yönetim Birimine (Proje no. 03 D 729) teşekkürlerimi sunarım.

<b>Şekiller Dizini</b>	<b><u>Sayfa</u></b>
Şekil 2.3.1. Sulfadiazine ve trimethoprim'in formülü (Haller vd., 2002).....	5
Şekil 2.4.1. Güçlendirilmiş sulfonamidlerin etki mekanizması.....	6
Şekil 3.1.2.2.1. 70g ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarına injeksiyonla sulfadiazin ve trimetoprim uygulaması sonrası 1. gün kas ekstraktından elde edilen kromatogram.....	22
Şekil 3.1.2.2.2. 70g ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarına injeksiyonla sulfadiazin ve trimetoprim uygulaması sonrası 1. gün karaciğer ekstraktından elde edilen kromatogram.....	22
Şekil 3.1.2.2.3. 70g ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarına injeksiyonla sulfadiazin ve trimetoprim uygulaması sonrası 1. gün deri ekstraktından elde edilen kromatogram.....	23
Şekil 3.1.2.2.4. 10ppm konsantrasyonlarda hazırlanan sulfadiazin ve trimetoprim standart solüsyonlara ait kromatogram.....	23
Şekil 4.4.1. 180gr ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben kasdaki sulfadiazine kalıntı miktarları ( $\mu\text{g/g}$ )...	33
Şekil 4.4.2. 180gr ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben karaciğerdeki belirlenen sulfadiazine kalıntı miktarları ( $\mu\text{g/g}$ ).....	33
Şekil 4.4.3. 180gr ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben deride belirlenen sulfadiazine kalıntı miktarları ( $\mu\text{g/g}$ ).....	34

- Şekil 4.4.4. 180gr ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben kasdaki trimethoprim kalıntı miktarları ( $\mu\text{g/g}$ ).....36
- Şekil 4.4.5. 180gr ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben karaciğerde belirlenen trimethoprim kalıntı miktarları ( $\mu\text{g/g}$ ).....36
- Şekil 4.4.6. 180g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben deride belirlenen trimetoprim miktarları( $\mu\text{g/g}$ ).....37
- Şekil 4.4.7. 180g ve 70g ağırlığındaki gökkuşığı alabalıklarına injeksiyonla 125mg/kg dozunda tribriksen uygulanmasını takiben kasda tespit edilen sulfadiazine miktarları( $\mu\text{g/g}$ ).....39
- Şekil 4.4.8. 180g ve 70g ağırlığındaki gökkuşığı alabalıklarına injeksiyonla 125mg/kg dozunda tribriksen uygulanmasını takiben karaciğerde tespit edilen sulfadiazine miktarları( $\mu\text{g/g}$ ).....39
- Şekil 4.4.9. 180g ve 70g ağırlığındaki gökkuşığı alabalıklarına injeksiyonla 125mg/kg dozunda tribriksen uygulanmasını takiben deride tespit edilen sulfadiazine miktarları( $\mu\text{g/g}$ ).....40
- Şekil 4.4.10. 180g ve 70g ağırlığındaki gökkuşığı alabalıklarına injeksiyonla 125mg/kg dozunda tribriksen uygulanmasını takiben kasda elde edilen trimethoprim miktarları( $\mu\text{g/g}$ ).....42
- Şekil 4.4.11. 180g ve 70g ağırlığındaki gökkuşığı alabalıklarına injeksiyonla 125mg/kg dozunda tribriksen uygulanmasını takiben karaciğerde elde edilen trimethoprim miktarları( $\mu\text{g/g}$ ).....42
- Şekil 4.4.12. 180gr ve 70gr ağırlığındaki gökkuşığı alabalıklarına injeksiyonla 125mg/kg dozunda tribriksen uygulanmasını takiben deride elde edilen trimethoprim miktarları( $\mu\text{g/g}$ ).....43



- Şekil 4.6.1. 30mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribrissen verilen balıklarla kontrol grubu balıkların serum lizozim aktiviteleri (unit/ml) ..... 46
- Şekil 4.6.2. 30mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribrissen verilen balıklarla kontrol grubu balıkların hematokrit değerleri(%) .....46
- Şekil 4.6.3. 30mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribrissen verilen balıklarla kontrol grubu balıkların NBT(+) nötrofil sayıları .....47
- Şekil 4.6.4. 30mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribrissen verilen balıklarla kontrol grubu balıkların eritrosit sayıları( $\times 10^6/\mu\text{l}$ ).....47
- Şekil 4.6.5. 30mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribrissen verilen balıklarla kontrol grubu balıkların toplam lökosit sayıları( $\times 10^5/\mu\text{l}$ ) .....48

<b>Çizelgeler Dizini</b>	<b><u>Sayfa</u></b>
Çizelge 2.4.4.1. Bazı ülkelerde su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanımına izin verilen antimikrobiyal ilaçların listesi (Schnick vd., 1997).....	12
Çizelge2.4.4.2. Ülkemizde Yetiştiriciliği Yapılan Ürünlerinde Kullanımı Yasaklanmış Madde Grupları(Anonim, 2003a) .....	13
Çizelge 4.2.1. 70g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla sulfadiazin ve trimetoprim verilmesini takiben kasdaki sulfadiazinin dokulardaki dağılımı.....	28
Çizelge 4.2.2. 180g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla sulfadiazin ve trimetoprim verilmesini takiben sulfadiazinin dokulardaki dağılımı.....	28
Çizelge 4.2.3. 180g ağırlığındaki balıklara oral olarak sulfadiazin ve trimetoprim verilmesini takiben sulfadiazinin dokulardaki dağılımı.....	28
Çizelge 4.3.1. 70g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla sulfadiazine ve trimetoprim verilmesini takiben trimetoprimin doku dağılımı.....	30
Çizelge 4.3.2. 180g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla sulfadiazine ve trimetoprim verilmesini takiben trimetoprimin doku dağılımı.....	30
Çizelge 4.3.3. 180g ağırlığındaki balıklara oral olarak sulfadiazine ve trimetoprim verilmesini takiben trimetoprimin doku dağılımı.....	30
Çizelge 4.4.1. 180g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla ve oral yolla tribissen verilmesini takiben kas, karaciğer ve deride belirlenen sulfadiazine miktarları ( $\mu\text{g/g}$ ).....	32

- Çizelge 4.4.2. 180g ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben kas, karaciğer ve deride belirlenen trimethoprim kalıntı miktarları ( $\mu\text{g/g}$ ) (su sıcaklığı  $12^\circ\text{C}$ ).....35
- Çizelge 4.4.3. 180g ve 70g ağırlığındaki gökkuşaağı alabalıklarına enjeksiyonla 125mg/kg dozunda tribriksen uygulanmasını takiben kas, karaciğer ve deride elde edilen sulfadiazine miktarları( $\mu\text{g/g}$ ).....38
- Çizelge 4.4.4. 180g ve 70g ağırlığındaki gökkuşaağı alabalıklarına enjeksiyonla 125mg/kg dozunda tribriksen uygulanmasını takiben kas, karaciğer ve deride elde edilen trimethoprim miktarları( $\mu\text{g/g}$ ).....41
- Çizelge 4.6.1. 30mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribriksen verilen balıklarla kontrol grubu balıkların serum lizozim aktiviteleri (unit/ml), hematokrit değerleri(%), NBT(+) nötrofil sayıları, eritrosit sayıları( $\times 10^6/\mu\text{l}$ ), toplam lökosit sayıları( $\times 10^5/\mu\text{l}$ ).....45





## 1. GİRİŞ

İntensif balık yetiştiriciliğinde hastalık problemleri sıklıkla yaşanmaktadır. Yüksek stoklama yoğunluğu, bakteriyel hastalıkların yaygın olarak görülmesine neden olmakta ve eğer tedavi yapılmazsa, balık ölümlerinden ve büyümenin yavaşlamasından dolayı büyük ekonomik kayıplar olabilmektedir (Bjöklund ve Bylund, 1990). Bu nedenle balık yetiştiriciliğinde kemoterapötikler(örneğin, tetrasiklinler, sulfonamidler ve quinolonlar) yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Treves-Brown, 2000). Güçlendirilmiş sulfonamidler (5:1 oranında, sulfonamidler ve diaminyopyrimidine kombinasyonları) salmon, gökkuşuğu alabalığı, levrek ve çipura yetiştiriciliğinde farklı bakteriyel balık patojenlerine karşı yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Güçlendirilmiş sulfonamidler grubuna giren tribriksen akuakültürde birçok ülkede (İspanya, İngiltere, Norveç, İtalya, Yunanistan, İzlanda, Finlandiya, Danimarka, Kanada ve Türkiye) kullanılan lisanslı bir antibiyotiktir (Papapanagiotou vd., 2000; Costello vd., 2001).

Akuakültürde antibakteriyel maddelerin kullanımı, yetiştiriciliği yapılan balıkların dokularında kalıntılara neden olmaktadır. Dokulardaki antimikrobiyal ilaçların varlığı ile mümkün olabilecek tehlikeler alerji, toksik etkiler, insan bağırsak florasında kolonizasyonda değişiklikler ve insandaki patojenlerde direnç gelişimi olarak sıralanabilir. Bu potansiyel tehlikeler, yetiştiriciliği yapılan balıklarda kalıntı seviyelerinin ciddi bir şekilde kontrolünü gerekli kılmıştır (Bjöklund vd., 1991; Papapanagiotou vd., 2000)

Ülkelerin antibiyotiklerin kullanımı ve kalıntıları ile ilgili politikaları değişiklik göstermektedir. Örneğin Asya'daki ülkelerde su ürünleri yetiştiriciliğinde pek çok ilacın kullanımına sınırlama getirilmezken, Avrupa ülkelerinde ilaç kullanımı sınırlıdır ve izne tabidir ( Schnick vd., 1997). Ülkemizde ise Tarım ve Köy İşleri Bakanlığının 2003 yılına ait kalıntı izleme genelgesine göre kullanımı yasaklanan antimikrobiyal maddeler chloramphenicol, nitrofuranlar (furozolidon dahil) ve dapsonedir.

Antibakteriyel ilaçların balıkların bağışıklık sistemine sayısız etkisi vardır ve bu etki kullanılan ilacın türüne göre değişmektedir. İlaçların lymphoid dokularla etkileşimi bağışıklık sisteminin fonksiyonlarını ve dengesini değiştirebilir ve bağışıklık sisteminin baskılanması, kontrolsüz hücre proliferasyonu, patojenlere karşı konakçının savunma mekanizmasındaki değişimlere ve neoplazi gibi istenmeyen etkilere neden olabilir (Lunden ve Bylund, 2002).

Bu araştırmanın amacı; gökkuşuğu alabalıklarında tribrissen'in deri, kas, karaciğerdeki dağılımını, rezidüsü ve maksimum rezidü seviyesinin altına düşme süresini tespit etmek ve tribrissen'in gökkuşuğu alabalığının spesifik olmayan bağışıklık sistemine etkilerini belirlemektir.

## **2. KAYNAK ÖZETLERİ**

### **2.1. Kemoterapinin Tanımı**

Kemoterapi, 19. yüzyılın sonlarında Paul Ehrlich tarafından ortaya atılmış bir terimdir. Konakçıya zarar vermeksizin veya çok az zarar vererek, vücudu istila eden bakteri, virus, protozoa, iç ve dış parazitlerin gelişmelerini durduran veya onları öldüren kimyasal maddelerle yapılan bir sağaltım şeklidir (Kaya, 1991).

### **2.2. Balıklarda Antibakteriyel Maddelerin Kullanımı**

Akuakültürde bakteriyel infeksiyonların tedavisi için antibakteriyel maddelerin kullanımı 1930'lu yılların sonunda ABD'de sulfamerazin'in kullanımıyla başlamıştır. 1950'li yıllarda oksitetrasiklin ABD'de ve Avrupa'da, 1970'lerde oksolinik asit Japonya'da balık yetiştiriciliği endüstrisine girmiştir. ABD'de yapılan araştırmalar güçlendirilmiş sulfonamidlere yoğunlaşmış, ancak balıklarda kullanımı için yasal izni 1985'de verilmiştir. Güçlendirilmiş sulfonamidlerin kullanımı frunkulosis'in tedavisi için yarar sağlamıştır ( Austin ve Austin, 1987; Schinick, 1988; Samuelsen, 1994). Sulfonamidlerin girmesini takiben, sulfonamidlere karşı dirençli bakterilerin görülmesinden dolayı akuakültürde diğer antimikrobiyal bileşikler (kloramfenikol, oksitetrasiklin, kanamisin, nifurprazine, oksolinik asit, sodyum nifurstyrenata ve flumequine) hızlı bir şekilde yaygınlaşmıştır (Austin ve Austin, 1987).

Günümüzde balık yetiştiriciliğinde kullanılan antibakteriyel ilaç grupları tetrasiklinler (oksitetrasiklin, chlortetrasiklin, tetrasiklin, doxysiklin), penicilinler (ampicillin, amokxicillin), macrolidler (eritromisin), sulfonamidler (sulfamerazin, sulfadimidin, sulfadimethoksin, sulfamonomethoksin), güçlendirilmiş sulfonamidler (tribrissen, romet 30), quinolonlar ve fluoroquinolonlar (nalidiksik asit, oksolinik asit) ve nitrofuranlar (furazolidon, nitrofurantoin) dır (Treves-Brown, 2000).



### 2.3. Balıklarda kullanılan güçlendirilmiş sulfonamidler

Sulfonamidler geniş etki alanına sahip antibakteriyel maddelerdir. Bu nedenle balık hastalıkları için kullanılan ilk modern ilaçlar bu grubun üyelerindedir. Bununla birlikte çok hızlı direnç gelişimine neden olabildiklerinden, bir pyrimidine kombinasyonu ile sinerjik etki gösterdiklerinden, kombinasyonları çok daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu durum çok sayıda sulfonamid için geliştirilmiştir. Pyrimidine olarak, farmakokinetik profili aynı olanlar seçilmektedir. Sulfonamidlerle en çok kullanılan diamino-pyrimidine'ler trimetoprim ve ormetoprim 'dir (Treves-Brown, 2000).

Balıklarda farklı bakteriyel patojenlere karşı yaygın olarak kullanılan güçlendirilmiş sulfonamidler tribrissen (sulfadiazin, trimetoprim, 5:1) ve Romet 30 (sulfamethoxine, ormetoprim 5:1)'dur (Papapanagiotou vd., 2000).

Güçlendirilmiş sulfonamidler, çok sayıdaki bakteriyel enfeksiyona karşı aktiftir. Bu enfeksiyonlar *Aeromonas salmonicida*, *A. hydrophila*, *A. punctata*, *A. liquafaciens*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio salmonicida*, *Pasteurella piscicida*, *Yersinia ruckeri*, *Edwardsiella tarda*'nın sebep olduğu enfeksiyonlardır. *Streptococ*'lara aktiviteleri zayıftır. *Pseudomonas* spp.'lere karşı etkisizdirler (Plump vd., 1987; Brown, 1993; Treves-Brown, 2000).

### 2.4. Tribrissen (sulfadiazin-trimetoprim)

Tribrissen, 5 birim sulfadiazin ve 1 birim trimetoprim'den oluşan kombine bir ilaçtır. Sinonim ismi Co-trimazine'dir. Ticari olarak %40 aktif madde içeren beyaz renkli toz halinde, metal ve polipropilen ambalajlarda bulunur. Balıkların yemlerine ilave edilir (Anonim 2003b).

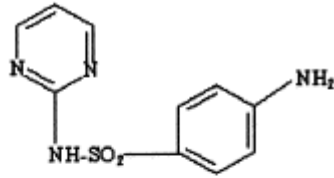
Sulfadiazin, bir sulfaprimidin bileşiğidir. Beyaz ve açık renkte, kokusuz, tatsız, ışık etkisiyle kararlı toz yapıda bir kimyasaldır. Suda çözünmez, seyreltik mineral asit ve alkali sodyum hidroksit çözeltilerinde (sulu) kolay çözünür. Açık havada

karbondioksit absorbe eder. Böylece sudaki çözünürlüğü azalır. Sulfonamidlerin genel antibakteriyel spektrumuna sahiptir (Şener, 1990). Gram negatif ve bazı gram pozitif bakterilere karşı kullanılır. pH 9'un altındaki sularda tortulaşır. Solüsyonu hazırlandığında raf ömrü bir gündür (Herwing, 1979).

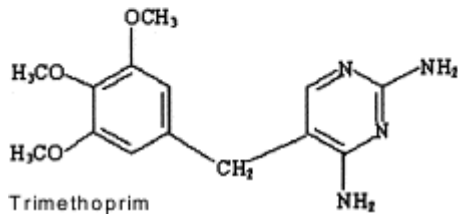
Sulfanomidler, büyük oranda sentetik bileşiklerdir. Çoğunluğu sulfanilamid'in türevleridir. Bazlarda asitlere göre çok daha iyi çözünürler. Sodyum tuzları genellikle injeksiyonlar için formüle edilir. Herhangi bir sulfanamidin sodyum tuzunun çözünebilirliği genellikle diğerlerinin varlığından etkilenmez ve bu nedenle sulfonamidlerin karışımlarının kullanılmasıyla daha konsantre solüsyonlar elde edilebilir (Treves-Brown, 2000).

Trimetoprim, ticari olarak başarılı olan ilk diamino-pyrimidine güçlendiricidir. Sulfonamidlerin etkinliğini geliştirir ve destekler (Brown, 1993). Beyaz veya krem rengine, kristalize bir tozdur (Şener, 1990).

Farklı oranlarda trimetoprim ve sulfonamid denenmiş ve sonuç olarak optimum oranın 1:5 olduğu tespit edilmiştir, bu oran insan ve diğer memeliler için üretilen ticari ürünlerde de aynıdır (Treves-Brown, 2000).



Sulphadiazine



Trimethoprim

Şekil 2.3.1. Sulfadiazin ve trimetoprimin formülü (Haller vd., 2002)

### 2.4.1. Tribriksen'in Antibakteriyel Etkisi

Tribriksenin antibakteriyel etkinliği, sulfadiazin ve trimetoprimin ayrı ayrı etkinliğinden daha büyüktür. Kombinasyon kullanımı bakteriyel direncin gelişimini tamamen önlemez, geciktirir. Çünkü bakteri iki ilaca birlikte direnç faktörlerini üretmek zorundadır. Güçlendirilmiş sulfonamidler bakteride folik asitin sentezinde birbirini takip eden iki basamağın birinin sulfonamid, diğerinin diamino-pyrimidine ile inhibe edilmesi ile bakteriye etki etmektedirler. Sulfonamidler p-amino benzoik asit analogudur ve folik asit içindeki p-aminobenzoik asitin birleşmesini inhibe eder. Böylece folik asit sentezini ve bakteriyel gelişimi önler. Trimetoprim ve ormetoprim ise sulfa ilaçların dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe eden etkisini güçlendirir (Arda, 1997; Samuelsen vd., 1997; Campbell, 1999; Treves-Brown, 2000) (Şekil 2.4.1.1).

p-amino-benzoikacid (PABA)

↓ ← Sulfonamidler tarafından inhibe edilir

folik asit

↓ ←diamino-pyrimidin'ler inhibe eder

folinik asit

Şekil 2.4.1.1. Güçlendirilmiş sulfonamidlerin etki mekanizması

Sulfadiazin genellikle sadece bakteriostatik etkiye sahiptir. Trimetoprim ile birlikte kullanıldıklarında duyarlı bakteri suşlarına karşı bakterisidal bir etki gösterirler. Tribriksen, sulfonamidlere dirençli suşlara karşı etkilidir. Hem Gram (-), hem de Gram (+) bakterilere etkili, geniş spektrumlu bir ilaçtır. *Aeromonas* türleri, *Yersinia ruckeri*, *Vibrio anguillarum*, *Eschericia coli*, *Proteus* türleri, *Salmonella* türleri, *Shigella* türleri ve *Streptococcus* türlerine karşı etkilidir. Sulfadiazin ve trimetoprimin birlikte kullanımı, tek başlarına kullanımlarına göre minimum inhibitör konsantrasyonlarını da düşürmektedir (Anonim, 2003b).

### **2.4.2. Tribriksenin Balıklarda Kullanımı, Uygulanma Yolları ve Dozları**

Tribriksen gökkuşağı alabalıklarında; frunkulosis, yersiniosis ve vibriosis, denizde yetiştiriciliği yapılan balıkların tümünde ise vibriosisin tedavisinde kullanılmaktadır (Austin ve Austin, 1987; Bruno vd., 1995a; Bruno vd., 1995b; Noga, 2000). Çoğunlukla yeme ilave edilerek balıklara verilmektedir. Yeme ilavesi sıvı bitkisel yağla yapılır. Tavsiye edilen tedavi dozu 30 mg/kg canlı ağırlık /gün x 5-7 gün 'dür (Austin ve Austin, 1987; Noga, 2000). Tribriksen, Norveç'te salmon yetiştiriciliğinde ise, 75-100 mg/kg dozunda 5-7 gün süreyle kullanılır (Brown, 1993). Tribriksen balıklarda intra peritoneal injeksiyon yoluyla 125 mg/kg dozunda tek doz şeklinde kullanılmaktadır (Noga, 2000). Banyo yoluyla ise, 500 mg sulphadiazine ve 100 mg trimetoprim/lt su dozunda 72 saat süreyle uygulandığında etkili olduğu görülmüştür (Horsberg, 1997; Samuelsen vd., 1997).

### **2.4.3. Trimetoprim ve Sulfadiazinin Balıklardaki Farmakokinetiği**

İlaçların farmakokinetik özellikleri, tedavi edici potansiyellerinin ve yaptıkları kalıntıların ölçülmesi için önemlidir. İlaçların çevreye etkileri açısından da farmakokinetiklerinin bilinmesi önemlidir. Çeşitli ülkelerdeki araştırmacılar farklı ilaçların farklı balık türlerindeki farmakokinetik özelliklerini çalışmışlardır. Bu araştırmacıların çalışmalarının sonuçlarına göre ilaçların farmakokinetik özellikleri birçok biyolojik faktörden (anatomik, fizyolojik, metabolik, boşaltım sistemindeki farklar, balığın türü, balığın yaşı, sağlık durumu) ve çevresel faktörlerden ( pH, tuzluluk ve su sıcaklığı, ilacın veriliş şekli) etkilenmektedir (Björklund ve Bylund, 1990; Ellis, 1991; Çağırğan vd., 1999; Treves-Brown, 2000).

#### **2.4.3.1. Trimetoprim ve Sulfadiazinin Balıklarda Absorbsiyonu ve Dağılımı**

Sulfadiazin ve trimetoprimin farmakokinetik özellikleri ile ilgili verilerin sayısı azdır. Salmonidler ve diğer balık türleri ile yapılan çalışmalara göre bu iki ilaç balık vücudunda birbirlerinden farklı davranırlar. Trimetoprim barsaktan tamamen hızlı bir şekilde absorbe edilip, 12. saatte plazmada en yüksek değerine ulaşırken,

sulfadiazinin sadece %50'si absorbe edilir ve serumdaki ve dokulardaki maksimum konsantrasyona ulaşma hızı daha yavaştır (Horsberg vd., 1997). Bu ilaçların absorpsiyonu su kalitesinden (Sıcaklık, pH ve salinite) yüksek derecede etkilenir. Gökkuşığı alabalıklarına oral olarak tribriksen verildikten sonra düşük su sıcaklığında daha iyi absorbe olduğu ifade edilmektedir. Gökkuşığı alabalıklarına 5 mg/kg canlı ağırlık /gün dozunda 5 gün süreyle yeme ilave edilerek trimetoprim verilmesini takiben 24. saatte trimetoprimin absorpsiyonunun kas+deride yapılmış analizler sonucunda, 6 °C'de tutulan balıklarda 18 °C'de tutulanlara göre daha yüksek bulunduğu ifade edilmektedir (Jacobsen, 1989). Hormazabal ve Rogstad (1992), 8 °C sıcaklığında ve %0 29 tuzluluktaki suda tutulan sağlıklı Atlantik salmonlarına 100 mg tribriksen /kg canlı ağırlık dozunda yeme ilave edilerek yapılan tek uygulamayı takiben örneklenen balıkların plazmalarındaki antibiyotik konsantrasyonları açısından geniş farklılıklar olduğunu, trimetoprimin hızlı bir şekilde absorbe olup dağıldığını ve plazmadaki en yüksek konsantrasyona (3,25 µg/ml) uygulamadan sonraki 12. saatte ulaştığını, sulfadiazinin ise en yüksek konsantrasyona (20,3 µg/ml) uygulamadan sonraki 24. saatte ulaştığını, 120. saatte sulfadiazin (1,27 µg/ml) ve trimetoprim (0,61 µg/ml) konsantrasyonlarının hızlı bir şekilde azaldığını ifade etmişlerdir. Sulfadiazinin plazmada uygulamadan 2 hafta sonra tespit edilemediğini, trimetoprimin ise 0,36 µg/ml konsantrasyonda bulunduğunu belirtmişlerdir.

Bergsjö vd. (1979), 7 ve 15 °C'de tatlı suda tuttuğu gökkuşığı alabalıklarına izotopla-ışaretleli trimetoprimi oral olarak uyguladıktan sonra trimetoprimin absorpsiyon süresi 15 °C'de, 7 °C'dekine göre yarıya düştüğünü, boşaltımının daha yüksek sıcaklıklarda hızlandığını ifade etmişlerdir. Trimetoprimin özellikle gözün uveal kanalında ve deride birikim gösterdiğini, bu birikimin nedeninin trimetoprimin melanine ilgisinden olduğunu bildirmişlerdir. Bu durum balığın yüzeyine ilacın sürülmesinden önce, oral uygulamayla derideki enfeksiyonların (ülser için değil) tedavisi için etkin bir yol olacağını göstermektedir (Bergsjö vd., 1979). Samuelson vd. (1997) de banyo yoluyla uygulandığında trimetoprimin iyi absorbe olduğunu bildirmektedirler.

Tribrisen'in yeme ilave edilerek verilmesini takiben sulfadiazinin gökkuşığı alabalığı dokularında trimetoprim'den daha uzun süre kaldığı belirtilmektedir. 10°C'nin altındaki su sıcaklıklarında 30mg/kg canlı ağırlık dozunda oral olarak uygulandığında kas dokusundaki kalıntı seviyeleri sulfadiazin için 60 günden sonra 0,04µg/g, trimetoprim için 45 günden sonra 0,002 µ/g'ın altına inmektedir (Salte ve Liestol, 1983). Bergsjo vd. (1979)'ne göre ise 7 °C'de tutulan gökkuşığı alabalıklarında sulfadiazin ve trimetoprim absorpsiyonlarını karşılaştırdıklarında sulfadiazinin, trimetoprime göre dokularda daha hızlı absorbe olduğunu ve trimetoprimin dokularda daha uzun süre kaldığını rapor etmişlerdir.

Sulfadiazin oral olarak uygulandığında absorpsiyonu düşüktür. Bergsjo vd. (1979), 7°C su sıcaklığındaki suda tutulan 140 gr ağırlığındaki sağlıklı gökkuşığı alabalıklarına 25 mg/kg canlı ağırlık dozunda izotopla işaretli sulfadiazin'i jelatin kapsüller içinde mideye anatomik bir cımbızla yerleştirdikten sonraki 2. saatte midede sınırlı bir miktarda absorbe olduğunu, 4. saatte absorpsiyonun tüm vücut boyunca belli bir dereceye ulaştığını, en yüksek birikimin mide-bağırsak boşluğu hariç, karaciğer, böbrek ve deride görüldüğünü, en düşük birikimin kemik, kıkırdak ve tendon dokularında, düşük dereceli birikimlerin ise kas, solungaç ve safrada meydana geldiğini ifade etmişlerdir. Uygulamadan sonraki 8. saatte ise deride ve gözün uveal boşluğunda birikim olduğu, 72. saatte safradaki miktarının kan, karaciğer ve böbrektekinden daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Bergsjo vd.,1979).

Banyo yoluyla ilacın uygulanması esnasında sıcaklık, pH, tuz miktarı gibi farklı parametreler absorpsiyon derecesini etkilemektedir. Bu parametrelerin ve benzer parametrelerin değiştirilmesiyle absorpsiyonu artırabilmek mümkün olabilmektedir . Suya ilaç ilave edildiğinde muhtemelen birkaç absorpsiyon yolu vardır. Deriden absorpsiyon nisbeten azdır. Tuzlu sudaki absorpsiyon miktarı, balık su içeceğinden barsaktan olacaktır. Bununla birlikte absorpsiyon esas olarak solungaçlardan olmaktadır (Horsberg, 1997). Bergsjo ve Soggen (1980), 75 mg/l dozunda banyo yoluyla trimetoprim'i üç farklı grup gökkuşığı alabalığına uyguladıktan sonra, tuzlu suya adapte edilenlerde uygulamadan sonraki 10. saatte 1 µg/ml'lik plazma

konsantrasyonuna ulaşırken, tuzlu suya adapte edilmeksizin koyulan balıklarda 24-48 saat sonra bu değere ulaştığını, tatlı suda tutulan grupta ise bu konsantrasyona ulaşılmadığını ifade etmişlerdir. Adaptasyona tabii tutulan balıklar su içmeye başladıkları ve ilacın sadece solungaçlardan değil, mide ve barsaklardan da alındığı için, tuzlu suya adapte edilen balıklarda diğer iki gruba göre trimetoprimin daha iyi absorbe olmuştur (Bergsjö ve Sogner, 1980).

Sulfonamidler banyo yoluyla uygulandığında gökkuşağı alabalığı ve *Gadus norhua*'da iyi absorbe olduğu ifade edilmektedir (Samuelsen vd., 1997). Diğer antibakteriyel ilaçlara göre sulfonamidlerin bir avantajı solungaçlardan daha iyi absorbe edilmeleridir. Bu nedenle banyo ile tedavide kullanılmaları uygundur. Özellikle juvenil balıkların tedavisinde kullanılırlar. Deniz balıkları devamlı su içtikleri için suyla aldıkları ilaç bağırsak mukozasından absorbe edilebilir. Bununla birlikte kullanılan doz, suyun pH'sından ve sıcaklığından önemli derecede etkilenmektedir. Çünkü sulfonamidlerin çözünürlükleri pH'ya bağlıdır (Treves-Brown, 2000).

#### **2.4.3.2. Trimetoprim ve Sulfadiazinin Balıklardaki Boşaltımı**

Her iki ilacın, uygulamadan sonra artan miktarları boşaltımının safradan gerçekteştiğini göstermektedir. Boşaltım safra haricinde solungaç ve böbreklerden gerçekteşebilir. Sadece yağda çok iyi çözünebilen bileşikler solungaç membranından difüzyon yoluyla geçer. Bu iki ilacın solungaçlardan boşaltımının zayıf olduğu ifade edilmektedir. Diğer organlarda birikimin azalıp, böbreklerde yüksek olması böbreklerden de boşaltımın olduğunu göstermektedir (Bergsjö vd., 1979; Tan ve Wall, 1995).

Tuzlu suda tutulan gökkuşağı alabalıklarında tatlı sudakilere göre daha yüksek plazma ve doku konsantrasyonları, tribrissen'in kısmen azalan böbrek boşaltımının bir sonucu olabilir. Böbrek fonksiyonları ve idrar (ürine) üretiminin balığın tatlı sudan tuzlu suya transferiyle tamamen değiştiği bilinmektedir. Farklı şartlar altında balıkta trimetoprimin boşaltımı ile ilgili pek çok faktör bilinmemektedir, fakat glomerular

filtrasyon oranında bir azalma, ilacın böbrek boşaltımını muhtemelen 15 kattan daha fazla etkilemektedir. İlacın toplam boşaltımının solungaçlar, deri ve karaciğer gibi diğer boşaltım yollarına bağlı olarak etkilendiği, bunun da trimetoprimin eliminasyonunda önemli bir rol oynadığı ifade edilmektedir (Bergsjö ve Sogren, 1980).

#### **2.4.4. Trimetoprim ve Sulfadiazinin Balıklardaki Maksimum Rezidü Limitleri ve Arınma Süreleri**

Maksimum rezidü seviyesi (MRL), besin maddelerinde bir maddenin bulunmasına izin verilen en yüksek miktardır (Kaya, 1991).

Çeşitli ülkelerde (örneğin; Amerika'da) temel politika hiç ilaç kalıntısının olmamasıdır. Yani sıfır tolerans uygulamasıdır. Oysaki, bütün ilaçlar hayvansal organizmalardan zamana bağlı olarak elemine olurlar ve hiçbir zaman sıfıra ulaşmazlar. Sadece kimyasal olarak tespit edilebilecek düzeyin altına inmiş olurlar(Treves-Brown, 2000).

Maksimum rezidü limiti ülkeler arasında değişebilen bir parametredir. Balık türleri ya da ilaç kombinasyonları için eliminasyon yarılanma ömrü sıcaklıkla değişecektir ve bu değişimlerden dolayı yasal şartlarda ülkeler arasında değişmektedir. Bu hem doza, hem kullanma süresine, hem de ilacın formülasyonuna bağlıdır. Bu nedenle, MRL ilacın bir özelliğidir ve uygulamayı takiben arınma süresi balık türlerine, ilacın formülasyonuna, dozuna ve su sıcaklığına bağlıdır (Bjorklund vd., 1991; Treves-Brown, 2000).



Çizelge 2.4.4.1. Bazı ülkelerde su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanımına izin verilen antimikrobiyal ilaçların listesi ( Schnick vd., 1997)

Antimikrobiyal	Japonya	Avustralya	Avrupa	Kanada	ABD
Alkyltrimethylammonium calciumoxytetrasikline					
Amoxicillin	X		X		
Ampicillin	X				
Bicozamycin benzoate	X				
Cyanphenicol	X				
Doxycyline	X				
Erytromycin	X				
Florfenicol	X		X	X	
Flumequine	X		X		
Josamycin	X				
Kitasamycin	X				
Lincomycin	X				
Myroxacin	X				
Nalidixic acid	X				
Nifurstylenic acid	X				
Novobiocin	X				
Oleandomycin	X				
Oxolonic acid	X		X		
Oxytetracycline	X		X	X	X
Penicillin-dihydrostreptomycin			X		
Phosphomycin	X				
Piromidic acid	X				
Spiramycin	X				
Sulphadiazine-trimetoprim			X	X	
Sulphadimethoxine	X				
Sulphadimethoxine- ormetoprim				X	X
Sulphamerazine			X		X
Sulphamonomethoxine	X				
Sulphamonomethoxine- ormetoprim	X				
Sulphisozole	X				
Thiamphenicol	X				

Çizelge 2.4.4.2. Yetiştiricilik ürünlerinde kullanımı yasaklanmış madde grupları(Anonim, 2003a)

Grup A Anabolizan Maddeler(Hormonlar) ve Yasaklanmış Maddeler
A1-Stilbenler, Stilbenlerin türevleri, onların tuzları ve esterleri
3-Steroidler, anabolik steroidler
Grup B (X)
Farmakolojik olarak aktif maddeler
Aristolochia spp. Ve ondan üretilen türevleri
Chloramphenicol
Chloroform
Chlorpromazine
Colchicine
Dapsone
Dimetrizadole
Metronidazole
Nitrofuranlar (furazolidone dahil)
Ronidazole

Balıklarda çeşitli dokular arasında MRL bakımından farklar bulunmaktadır. Bununla birlikte bazı durumlarda balık kası ve derisi için arınma sürelerinin saptanması amacıyla ayrı rezidü verileri gerekli olmuştur. Trimetoprim, özellikle deride birikim yapan antibiyotiktir ve İngiltere’de, balıklarda güçlendirilmiş sülfanomidlerin arınma süresini belirlemede bazı tüketicilerin sadece balık derisini tükettikleri göz önüne alınmaktadır (Treves-Brown, 2000). Sulfadiaizin’in balık dokularındaki maksimum kalıntı limiti (MRL) 0.1 µg/g, trimetoprimin 0.05 µg/g’ dir (Anonim, 2003a).

Arınma süresi, hayvanlarda ilaçların kullanımının sona erdiği tarihten itibaren besin olarak kullanılabilmesi zamana kadar geçen süredir. Arınma süresi, ilacın ya da metabolitinin tüketici bakımından güvenli bir şekilde kullanılabilmesi kalıntı düzeyinin altına indiği zaman olarak düşünülür. Bu saptanırken maksimum rezidü

seviyesinin bilinmesi gerekir ki bu değer ilaç ya da metaboliti için geçerlidir. Farklı ülkelerde farklı MRL seviyeleri bulunmaktadır ve MRL politik bir faktördür. Arınma süresi hem ilaca, hem de balığa bağlı olmakla birlikte, çoğunlukla balığa bağlıdır. Özellikle balığın yaşadığı evre ve sıcaklık önemli bir faktördür( Treves-Brown, 2000).

Su rünleri yetiştiriciliğinde tedavi veya koruyucu amaçlı kullanılacak maddelerin mutlaka Tarım ve Köy İşleri Bakanlığından su ürünlerinde kullanılmak üzere ruhsat almış olmaları zorunludur. Su rünleri yetiştiricilik sektöründe kullanılan maddelerin normalde vücuttan atılım süresi su sıcaklığına ve maddenin özelliğine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bu nedenle, atım süresi dikkate alınırken gün/C olarak değerlendirilmelidir. Yani, alınan bir maddenin vücutta kalıntısı su sıcaklığı ile doğru orantılıdır. Numune olarak 500 gün/C atım süresi olan bir maddenin, 10 C su sıcaklığında  $500/10=50$  günde atılımı söz konusudur. Ülkemizde ipura, levrek yetiştiriciliği yapılan Ege ve Akdeniz 'deki yaz sıcaklığı ortalama 22 C civarında seyretmektedir. Bu demektir ki, kullanılan maddenin atım süresi  $500/22=23$  gün olarak düşünülebilir. Kış günlerindeki ortalama su sıcaklığının ise ortalama 16C olacağı düşünülürse  $500/16=32$  gün olarak hesap edilir. Bunun yanı sıra, alabalık yetiştiriciliğinde bu süreler, su sıcaklığına bağlı olarak biraz daha fazla sürmektedir (Anonim, 2003a).

Tribrissen ile 30 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 10 günden fazla olmayacak şekilde tedavi edilen balıklarda 10 C su sıcaklığı için, kasdaki arınma süresi 20 gün, derideki arınma süresi 60 gündür (Salte ve Liestol, 1983).

Trimetoprimin deriden atılım zamanı, 5 kat daha yüksek dozda verildiğinde çok da fazla değişmez. Trimetoprim 12 C'de 5mg/kg canlı ağırlık x 5gn dozunda kullanıldığında derideki arınma süresi 100 gün iken, 15 C'de 25mg/kg canlı ağırlık x 5gn dozunda kullanıldığında 80 gün olarak ifade edilmektedir. Fakat kasdaki arınma süresi dozun artırılmasıyla artmaktadır. Trimetoprimin 12 C'de 5mg/kg canlı ağırlık x 5 gün dozunda kullanıldığında kasdaki arınma süresi 8 gün iken,

15 °C’de 25mg/kg canlı ağırlık x 5gün dozunda kullanıldığında kasdaki arınma süresinin 35 gün olduğu ifade edilmektedir (Jacobsen, 1989).

#### **2.4.5. Sulfadiazin ve Trimetoprimin Balıkların Bağışıklık Sistemine Etkileri**

Balıkta antibakteriyel ilaçların kullanımının pek çok zararları ve yan etkileri (bağışıklık sistemini baskılaması, nefrotoksisite, gelişme geriliği, dirençli bakteriyel suşların gelişimi, balık çiftliklerinin sedimentlerinde ve balık ürünlerindeki kalıntılar) vardır (Björklund vd., 1991; Grondel vd., 1987). Antibakteriyel ilaçların bağışıklık sistemine sayısız etkisi vardır ve kullanılan ilaca göre değişir. İlaçların lymphoid dokularla etkileşimi bağışıklık sisteminin fonksiyonlarını ve dengesini değiştirebilir ve istenmeyen etkilere örneğin; bağışıklık sisteminin baskılanması, kontrolsüz hücre proliferasyonu, patojenlere karşı konakçının savunma mekanizmasındaki değişimlere ve neoplaziye dahi neden olabilir. Bazı ilaçların ise bağışıklık işlemlerini uyardığı görülmektedir. Buna zıt olarak oskitetrasiklin, oksolinik asit ve florfenikolün sazanlarda ve gökkuşacağı alabalıklarında bağışıklık sistemini baskılayıcı etkileri rapor edilmiştir (Rijkers vd., 1980, 1981; Grondel vd., 1987; Siwicki vd., 1989; Lunden vd., 1998, 1999).

Bağışıklık cevabında ilaçların farmakokinetikleri hakkında örneğin, absorpsiyonları, doku dağılımları, penetrasyonları ve eliminasyonlarını bilmek gerekmektedir (Lunden ve Bylund, 2002).

Son zamanlarda bazı önemli balık hastalıklarına karşı etkin aşuların bulunması balık çiftliklerinde antibakteriyellerin kullanımını önemli ölçüde azaltmıştır. Fakat yine de hastalıklardan dolayı oluşan kayıpları azaltmak için sıklıkla kemoterapiye başvurulur. Balıklar aşılandığında oluşan muamele stresi, balıkları infeksiyöz hastalıklara karşı duyarlı hale getirir ve aşıdan hemen sonra hastalık salgınlarından dolayı balık çiftlikleri zarara uğrar. Koruyucu bağışıklık gelişmeden önceki bu safhada balık antibakteriyellerle tedavi edilebilirse oluşabilecek ağır hastalık salgınlarından korunulabilir. İlaç balığın bağışıklık tepkisi ile zıt bir ilişki içinde değilse bu uygulama çok önemli bir tedbirdir (Lunden ve Bylund, 2002).

Lunden ve Bylund (2002), 77±14 gr ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarından oluşan deney gruplarından birine 1. gün 30mg/kg vücut ağırlığı dozunda oral intübasyonla tribrissen, 2. gün i.p. olarak *Aeromonas salmonicida/Vibrio anguillarum* aşısı, 3. ve 6. günlerde aynı dozda ve aynı yolla tribrissen verirken, ikinci grup balığa sadece 2.gün aşı verip, üçüncü grup balığa ise tedavi veya aşı uygulamamışlardır. Bu uygulamalardan sonraki 4 hafta boyunca yapılan incelemeler sonucunda tedavi edilmiş ve edilmemiş gruplar arasında lizozim aktivitesi ve sirküle lenfosit sayıları açısından fark bulunmadığını ifade etmişlerdir. Tribrissenle tedavi edilen balıkların lenfosit seviyelerinde önemsiz derecede bir yükselme olduğunu, sulfadiazin/trimetoprim kombinasyonunun kullanılması aşından sonra bağışıklık yanıtına negatif etkisinin olmadığını, bu ilaç kombinasyonunun aşı ile birlikte hastalık salgınlarından ve ölümlerden korunmak için yararlı olabileceğini ifade etmişlerdir.

Grondel vd. (1985) ise, farklı sulfonamidlerin (sulfatroksazol, sulfadimethoksin, sulfadimidin) ve sulfatroksazolün trimetoprimle kombinasyonunun (5:1) injeksiyonla sazan balıklarına verildikten sonra (su sıcaklığı 22 °C) in vitro'da lökosit proliferasyonunu zenginleştirdiğini göstermişlerdir.

#### **2.4.6. Tribrissen'in Diğer Toksik Etkileri**

*Cirrhinus mrigala*'ya sulfadiazin, sulfadimidin ve sulfamerazin'le 200 mg/kg balık/gün dozunda 90 gün boyunca verildikten sonra ağırlık kazançları üzerinde negatif bir etkiye neden olmadıkları rapor edilmektedir (Ramaiah vd., 1989). Tribrissenin yeme ilavesinden sonra yeme ilgi azalır, oldukça lezzetsizdir (Hormazabal ve Rogstad, 1992). Tribrissen, doz aşımında kristalleşmeye neden olduğundan tehlikelidir. Aynı zamanda başka bir ilaçla kullanımından sakınılmalıdır. Özellikle diklorvosla kullanımı tehlikeli olabilir. Tozu solunduğunda alerjik reaksiyonlara sebep olduğu da rapor edilmiştir (Brown, 1993).

#### 2.4.8. Sulfadiazin ve Trimetoprimin Balıklarda Rezidüsü

Hayvanlarda hastalıkların tedavisi, önlenmesi ve kontrolü, gelişmenin hızlandırılması amacıyla doğrudan veya yeme yada suya katılarak uygulanan ilaç ve diğer kimyasal maddelerin kullanılmalarını takiben hayvanların doku ve organlarında biriken veya depolanan değişmemiş metabolitler, parçalanma ürünleri, serbest yada bağlı haldeki ilaç yada kimyasal madde miktarı kalıntı veya rezidü olarak tanımlanır. Doku ve organlardaki tolerans düzeyinin üzerindeki tüm kalıntılar toksikolojik yönden önem taşırlar ve tehlikeli olarak kabul edilirler (Kaya, 1991; 1994).

Jacobsen (1989), farklı sıcaklıklarda (6, 12, 18°C) tuttuğu gökkuşağı alabalıklarına 5 mg/kg canlı ağırlık /gün dozunda 5 gün süreyle trimetoprim uygulamasından sonra HPLC ile belirlediği trimetoprimin 6 °C'de tutulan balıkların kas+derisinde tedavi bittikten sonraki 36. güne kadar ölçülebildiğini, 12 °C'de tutulan balıkların kaslarında tedaviden sonraki 8. günde trimetoprim tespit edilmediğini, 18 °C'deki balıkların kas+deri örneklerinde tedaviden sonraki 3. günde 0.015 mg/kg konsantrasyonunda trimetoprim bulunduğunu, ilacın metabolik ve boşaltım organlarındaki örn.; karaciğer, böbrek, deri ve hava kesesi birikiminin olduğunu ifade etmektedir.

Salte ve Lisetol (1983), 8.1 °C'de tuttıkları gökkuşağı alabalıklarına 15mg/kg balık/gün dozunda 10 gün süreyle, 7.6 ve 9.7 °C'de tuttıkları gökkuşağı alabalıklarına 30 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 10 gün süreyle tribissen verildikten sonra ilaç kalıntılarının grup içindeki bireyler arasında önemli derecede değiştiğini belirtilmişlerdir. Bu farkın, ilaç uygulanan yemin alımı, mide boşaltım oranı, ilaçların absorpsiyonu ve balıkların metabolik ve boşaltım performanslarına (bu faktörler soğukkanlı türlerde sıcaklığa bağlıdır) bağlı olduğu ifade edilmektedir. Kas dokusunda ilacın arınma süresi su sıcaklığı ile yakın ilişkili bulunmuştur. 9.7 °C'de tutulan balıklarda sulfadiazinin rezidüel doku seviyeleri 60 gün sonra 0.04 µg/g'ın altına düşmüştür. Tedavi bittikten sonra rezidü seviyesi 1. ve 5. günlerde azalmaya başlayıp, 10-12 gün sonra sabit bir seviyeye geçmiştir. Rezidü

konsantrasyonlarındaki azalma, yani ilacın eliminasyonu balık ağırlığından etkilenmemiştir. *Oncorhynchus nerke*'nin metabolik oranının da hemen hemen tüm sıcaklıklarda balık büyüklüğünden etkilenmediği ifade edilmiştir.

Sulfadiazinin 150, 200 ve 250 mg/kg canlı ağırlık dozunda 10 gün süreyle *Labeo rohita* ve *Cirrhinus mrigala* fingerlinglerine verildikten sonra dokudaki konsantrasyonlarının, kullanıldığı dozla arttığı belirtilmiştir. Aynı balıklarda sulfamerazin ve sulfadimidin, sulfadiazinden çok daha hızlı absorbe olduğu, her iki balıkta da ilaç uygulandıktan sonraki 4-6. günlerde sulfadiazin seviyesinin yükseldiği, karaciğer ve böbrekte 6. ve 8. günler arasında yüksek kaldığı belirtilmektedir. Sulfadiazinin karaciğer ve böbrekteki konsantrasyonu diğer dokulardakinden yüksek olduğu, uygulamadan sonraki 10. günde sulfadiazin konsantrasyonunun hızla azalmaya başladığı, sulfadiazinin kas hariç, karaciğer ve böbrekte kullanılan tüm dozlarda 0.5 mg/kg ve daha yukarısında konsantrasyona ulaştığı rapor edilmektedir (Ramaiah, 1988).

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1. Rezidü Denemesi**

##### **3.1.1. Materyal**

###### **3.1.1.1. Araştırmada Kullanılan Balık ve Uygulama Yeri**

Araştırmada kullanılan balıklar Sağdurlar Alabalık İşletmesi'nden temin edilip, SDÜ Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Ünitesine nakledildi. Araştırmada ortalama 180 g ve 70 g ağırlığındaki toplam 150 adet sağlıklı gökkuşığı alabalığı kullanıldı. Her gruba 50'şer balık gelecek şekilde 180 g ağırlığındaki balıklar iki gruba ayrılırken, 3. grup 70 g ağırlığındaki balıklardan oluşturuldu. Balıklar iki hafta süreyle adaptasyona tabii tutuldu. Adaptasyon periyodu boyunca ağırlıklarının %2'si oranında gökkuşığı alabalığı ticari pelet yemiyle sabah ve akşam olmak üzere iki kez besleme yapıldı. Denemeye başlamadan önce balıklar iki gün aç bırakıldı.

Araştırma süresince balıklar 0.6 m<sup>3</sup> hacimli, içerisinde 400 l su bulunan 3 adet yuvarlak fiberglas tanka yerleştirildi.

###### **3.1.1.2. Araştırmada Kullanılan Su Kaynağı ve Suyun Kalitesi**

Araştırmada kullanılan artezyen suyunun debisi 12 l/dak, tanklardaki suyun ortalama pH'sı 7.2, oksijeni 7.4 ppm ve sıcaklığı 12 °C olarak ölçülmüştür.

###### **3.1.1.3. Araştırmada Kullanılan İlaçlar:**

Araştırmada sulfadiazin (Sigma, minimum %99.0 saflıkta) ve trimetoprim (Fluka, %98.5 saflıkta) kullanıldı.



#### **3.1.1.4. İlacın Uygulanması**

180 g ağırlığındaki balıklardan oluşan gruplardan birine 30 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle sabah ve akşam olmak üzere iki öğün %1 oranında, yeme sıvı yağ ile ilave edilerek tribriksen verildi. Kullanılan ilaı yem günlük olarak hazırlandı.

180 g ağırlığındaki balıklardan oluşan ikinci gruba 125 mg/kg canlı ağırlık dozunda bir kez intra peritoneal olarak 0.2ml tribriksen solüsyonu uygulandı. 70 g ağırlığındaki üçüncü gruba yine 125 mg/kg canlı ağırlık dozunda olacak Şekilde bir kez intra peritoneal olarak 0.2 ml tribriksen solüsyonu uygulandı. Solüsyon hazırlanırken Sulfadiazinin çözülmesi için 1N NaOH solüsyonu kullanıldı ve solüsyonun pH'sı 11'e ayarlandı. Daha sonra üzerine saf suda süspanse edilen trimetoprim eklendi (Horsberg vd., 1997).

#### **3.1.1.5. Örnekleme Günleri**

Uygulamadan sonra 1, 8, 15, 22, 29, 36, 45, 52 ve 57. günlerde her gruptan en az 4 balık olacak Şekilde balık alındı. Balıklar derin dondurucuda mekanik anesteziye tabii tutulduktan sonra öldürülerek kas, karaciğer ve deri örneklere alındı. Alınan örneklere analizlere kadar -30°C'de muhafaza edildi.

#### **3.1.2. Yöntem**

Dokulardaki trimetoprim ve sulfadiazinin eŐ zamanlı olarak tespiti için Hormazabal ve Rosgstad (1992) 'ın balık dokularında sulfadiazin ve trimetoprimin eŐ zamanlı olarak tespitinde kullandığı HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografi) metodu kullanılmıŐtır.

### 3.1.2.1. Örneklerin ekstraksiyonu

1 g doku tartıldıktan sonra üzerine 3 ml saf suda hazırlanmış % 0.7'lik trichloroacetic acid (TCA)(Merck) ilave edildi. Homojenizasyondan sonra, elde edilen homojenizat kas ve karaciğer için +4 °C'de, deri için +15 °C'de 10000 rpm 'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernat, MFS 25 disposable syringe filtre (Cellular Acetate Cat no. CS045)'den süzüldü ve süzüntü 10000 rpm'de 2 dak. santrifüj edildi ve HPLC'ye injekte edildi (Hormazabal ve Rosgstad, 1992).

### 3.1.2.2. Kromatografik Şartlar

Analizlerde, Shimadzu HPLC Sistemi kullanıldı.

Shimadzu HPLC Sistemi'nin Özellikleri:

Dedektör: DAD dedektör SPD-M 10AVP, sulfadiazin için 240nm, trimetoprim için 270 nm.

System controller: SCL-10AVp

Pump: LC-10ADvp

Degasser: DGU- 14A

Column oven: CTO-10ACvp

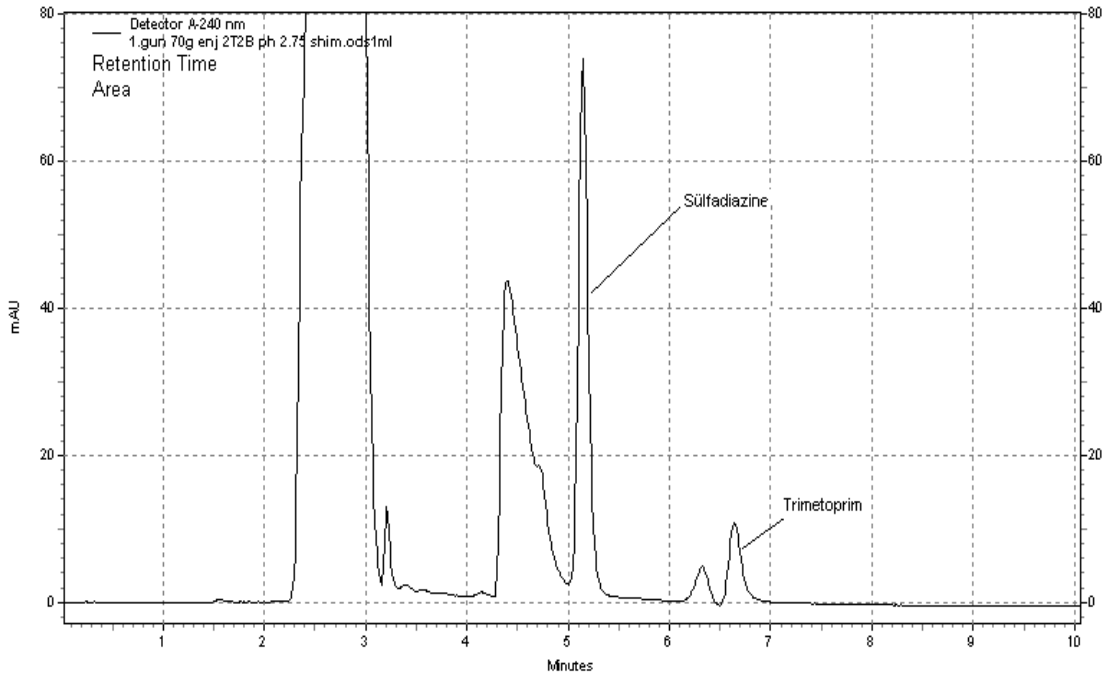
Kolon : Shim. Pack Perp-ODS kolon

Mobil faz : %20 acetonitril (Fluka) ( pH: 2,75'e NaOH (Merck) ile ayarlanır)

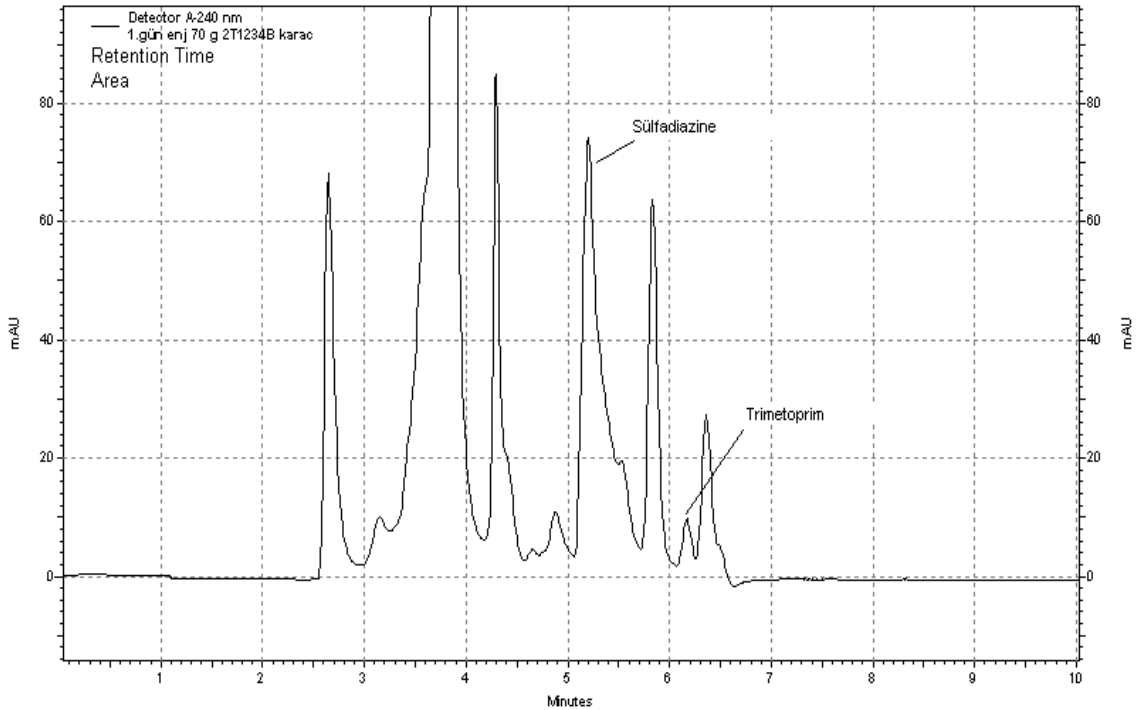
Akış Hızı : 1 ml / dakika

Kolon sıcaklığı : 30 °C

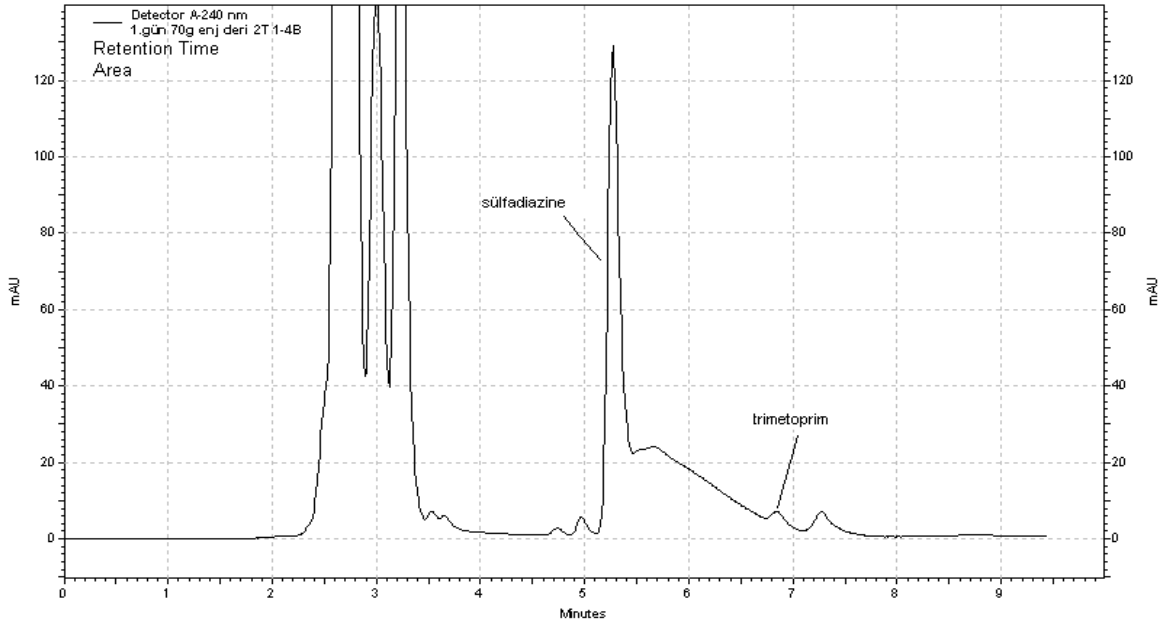
Enjeksiyon Hacmi: 20 µl



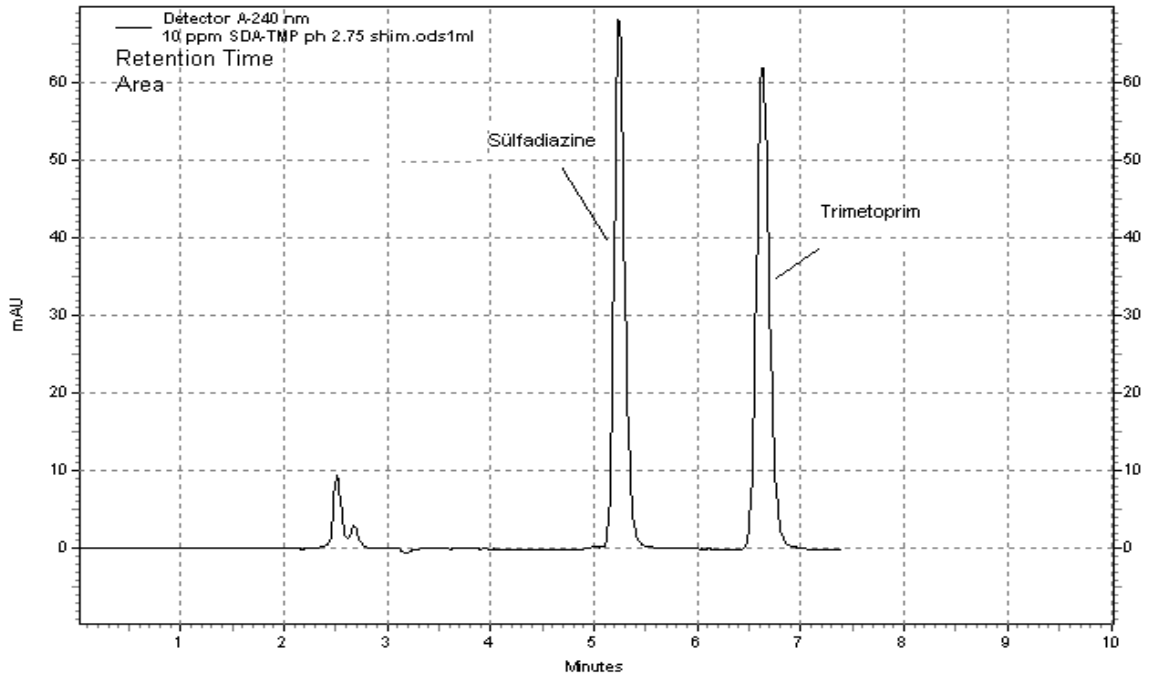
Şekil 3.1.2.2.1. 70 g ağırlığındaki gökkuşuğu alabalıklarına injeksiyonla sulfadiazin ve trimetoprim uygulaması sonrası 1. gün kas ekstraktından elde edilen kromatogram.



Şekil 3.1.2.2.2. 70g ağırlığındaki gökkuşuğu alabalıklarına injeksiyonla sulfadiazin ve trimetoprim uygulaması sonrası 1. gün karaciğer ekstraktından elde edilen kromatogram.



Şekil 3.1.2.2.3. 70g ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarına injeksiyonla sulfadiazin ve trimetoprim uygulaması sonrası 1. gün deri ekstraktından elde edilen kromatogram.



Şekil 3.1.2.2.4. 10 ppm konsantrasyonlarda hazırlanan sulfadiazin ve trimetoprim standart solüsyonlara ait kromatogram

### **3.1.2.3. Stok Solüsyonlar, Kalibrasyon Eğrilerinin Hazırlanması ve Geri Kazanım Denemeleri**

Stok solüsyonlar (100 ppm konsantrasyonda) %20 acetonitril ile hazırlanıp (pH 2.75) seyreltilerek kullanıldı. İnternal standart olarak sulfadiazin (Sigma-Aldrich, %99.9, HPLC assay) ve trimetoprim(Sigma-Aldrich, %99.2, HPLC assay) kullanıldı.

Sulfadiazin için 0.025 ppm – 40 ppm, trimetoprim için 0.02-2.5 ppm arasındaki konsantrasyonlarda kalibrasyon eğrileri hazırlandı (Hormazabal ve Rosgstad, 1992).

Sulfadiazin ve trimetoprimin ekstraksiyon geri kazanımları, ilaçsız doku örneklerine 0.025 µg/g sulfadiazin ve 2,5 µg/g trimetoprim eklenerek tespit edildi (Hormazabal ve Rogstad, 1992)

## **3.2. Sulfadiazin ve Trimetoprimin Gökkuşığı Alabalıklarının Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemine Etkisinin Belirlenmesi Amacıyla Kurulan Denemeye Ait Materyal ve Yöntem**

### **3.2.1. Materyal**

#### **3.2.1.1. Balık**

Araştırmada kullanılan balıklar Sağdırlar Alabalık İşletmesinden temin edilip, SDÜ Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Ünitesine nakledildi. Ortalama ağırlıkları 54 g olan 100 adet gökkuşığı alabalığı kontrol ve ilacın uygulanacağı grup olmak üzere ikiye ayrıldı. Balıklar iki hafta süreyle adapte edildi ve deneme başlamadan önce 2 gün aç bırakıldı.

Araştırma süresince, balıklar 0.6 m<sup>3</sup> hacimli, içerisinde 400 lt su bulunan 2 adet yuvarlak fiberglas tanka yerleştirilmiştir.

### **3.2.1.2. Araştırmada Kullanılan Su Kaynağı ve Kalitesi**

400 l hacmindeki tanklar kullanıldı. Denemede kullanılan artezyen suyunun debisi 12 l/sn, ortalama pH'sı 7.2, oksijeni 7.5 ppm., sıcaklık 13 °C olarak ölçüldü.

### **3.2.1.3. İlacın Uygulanması:**

Bir gruba 30 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda sulfadiazin/trimetoprim kombinasyonu (5:1) %1 oranında, yeme ayçıçek yağıyla ilave edilerek 7 gün süreyle sabah ve akşam olmak üzere verildi. Diğer gruba (kontrol grubu) ise sadece yağ ilave edilen yem 7 gün boyunca sabah ve akşam olmak üzere iki öğün verildi. Deneme süresince %1'lik besleme oranına devam edildi.

### **3.2.1.4. Balıkların Örnekleme**

## **3.2.2. Yöntem**

### **3.2.2.1. NBT-pozitif Hücrelerin Sayımı**

NBT-pozitif hücrelerin sayımında Anderson vd., (1992) tarafından tanımlanan metot kullanıldı. Buna göre, % 0.2 oranındaki Nitroblue tetrazolium (NBT)(Sigma, N-6876) solüsyonu, steril % 0.9'lik tuzlu su ile taze olarak hazırlandı. Lamel üzerine 50 µl kan damlatıldıktan sonra kağıt mendillerin ıslatılıp içine konulduğu nemli petri kutularında 25 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Daha sonra kırmızı kan hücrelerini uzaklaştırmak için pH 7'ye ayarlanmış fizyolojik tuzlu su ile lamel nazik bir şekilde yıkandı. Daha sonra bir damla NBT solüsyonu damlatılmış lam üzerine kırmızı kan hücrelerinden arındırılmış lamel kapatıldı ve nemli petri kutularında 25 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Pozitif koyu mavi boyanmış hücreler mikroskopta x40 büyütmede her balıktan 5 lamelde 5 farklı alanda sayıldı ve ortalamaları alındı.

### 3.2.2.2. Eritrosit ve Total Lökosit sayımı

Heparinize şırınga ile alınan kan örneği Natt-Herick eriyiği ile eritrosit sulandırma pipeti aracılığıyla 100 kat sulandırılarak Thoma lamında eritrosit ve total lökosit sayımı yapıldı (Kocabatmaz vd., 1982; Hoffman ve Lomel, 1984).

### 3.2.2.3. Serum Lizozim Aktivitesinin Belirlenmesi:

2 mg liyofilize *Micrococcus lysodeikticus* hücreleri (Sigma, M 3770, ATCC No. 4698), 10 ml 0.05 M sodyum fosfat buffer (pH 6.55) ile süspanse edildi. Bu solüsyondan spektrofotometre hücrelerine 3 ml alındı ve üzerine 50µl balık serumu eklendi. Bu işlemi takiben 30 saniye ve 4.5 dakika sonra Shimadzu (UV-120-02) spektrofotometrede 540nm'de iki ayrı ölçüm yapıldı. Bir unit lizozim aktivitesi, absorbansdaki 0.001/dak'lık azalma olarak tanımlandı (Engstad vd., 1992).

### 3.2.2.4. Hematokrit Değerinin Saptanması:

Hematokrit değeri (%) mikrohematokrit yöntemiyle belirlendi. Mikrohematokrit tüplerinin  $\frac{3}{4}$ ' ü kan ile doldurulduktan sonra, tüpün kan olmayan ucu alevde yakılarak kapatıldı ve daha sonra Nüve marka hematokrit santrifüjünde 10500 devir/dakika 5 dakika santrifüje edildi. Santrifüj işlemi sonrasında % hematokrit değeri santrifüjün skalasından okundu (Blaxhall, ve Daisley, 1973).

## 3.3. İstatiksel Analizler

Gruplar arasındaki ayırım, varyans analizi ve Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Bu hesaplamalar SPSS 11.05 istatistik programında yapılmıştır. Önem düzeyi olarak  $P < 0.05$  seçilmiştir (Özdamar, 2001).

## 4. BULGULAR

### 4.1. Sulfadiazin ve Trimetoprimin Dokulardaki Geri Kazanım Oranları

Sulfadiazinin dokulardaki geri kazanım oranı kasda ve karaciğerde %90, deride ise %80 olarak belirlenirken; trimetoprimin kasda %90, karaciğerde %85 ve deride % 80 olarak tespit edilmiştir.

### 4.2. Sulfadiazinin Dokularda Dağılımı

70 g ağırlığındaki balıklara injeksiyonu takiben, 1. günde deride belirlenen sulfadiazin miktarı (45,85 µg/g), karaciğer (21,65 µg/g) ve kasdaki sulfadiazin miktarından(14,31 µg/g) daha yüksek olduğu belirlenmiştir. (Çizelge 4.2.1.).

180 g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla tribrissen uygulanmasını takiben 1 . gün sulfadiazin miktarı deride (60,05 µg/g), karaciğer (24,85 µg/g) ve kastakine (11,31 µg/g) göre, karaciğerdeki miktarı da kasdakine göre daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.2.2.).

İlacın oral olarak uygulandığı 180g ağırlığındaki balıklarda da uygulama sonrası 1.gün derideki sulfadiazin miktarı (8,43 µg/g), karaciğer (2,98 µg/g) ve kasdakinden (2,03 µg/g) daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.2.3.).



Çizelge 4.2.1. 70g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla sulfadiazine ve tirmethoprim verilmesini takiben sulfadiazinin dokulardaki dağılımı

Uygulama sonrası geçen süre(gün)	Dokularda belirlenen sulfadiazin konsantrasyonları( $\mu\text{g/g}$ ) ve standart sapmaları( $\pm\text{s.d}$ )		
	Kas	Karaciğer	Deri
1	14,31 $\pm$ 0,247	21,65 $\pm$ 3,606	45,85 $\pm$ 0,919
8	0,09 $\pm$ 0,035	0,13 $\pm$ 0,035	0,13 $\pm$ 0,049
15	-	-	-
22	TE	TE	0,11 $\pm$ 0,014
29	TE	TE	TE

TE : Tespit edilemedi.

(-) : Analiz yapılamadı.

Çizelge 4.2.2. 180g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla sulfadiazine ve tirmethoprim verilmesini takiben sulfadiazinin dokulardaki dağılımı

Uygulama sonrası geçen süre(gün)	Dokularda belirlenen sulfadiazin konsantrasyonları( $\mu\text{g/g}$ ) ve standart sapmaları( $\pm\text{s.d}$ )		
	Kas	Karaciğer	Deri
1	11,31 $\pm$ 0,233	24,85 $\pm$ 1,767	60,05 $\pm$ 7,424
8	0,26 $\pm$ 0,035	0,13 $\pm$ 0,035	0,12 $\pm$ 0,056
15	0,07 $\pm$ 0,007	TE	-
22	TE	TE	TE
29	TE	TE	TE

TE : Tespit edilemedi.

(-) : Analiz yapılamadı.

Çizelge 4.2.3. 180g ağırlığındaki balıklara oral olarak sulfadiazine ve tirmethoprim verilmesini takiben sulfadiazinin dokulardaki dağılımı

Uygulama sonrası geçen süre(gün)	Dokularda belirlenen sulfadiazin konsantrasyonları( $\mu\text{g/g}$ ) ve standart sapmaları( $\pm\text{s.d}$ )		
	Kas	Karaciğer	Deri
1	2,03 $\pm$ 0,035	2,98 $\pm$ 0,325	8,43 $\pm$ 2,927
8	0,23 $\pm$ 0,021	0,10 $\pm$ 0,028	0,10 $\pm$ 0,007
15	TE	TE	-
22	TE	TE	TE
29	TE	TE	TE

TE : Tespit edilemedi.

(-) : Analiz yapılamadı.

### 4.3. Trimetoprimin Doku Dağılımları

70 g ağırlığındaki balıklar ilacın enjeksiyonla uygulanmasını takiben 1. gün kasdaki trimetoprim miktarı (1.81  $\mu\text{g/g}$ ), deri (1.51 $\mu\text{g/g}$ ) ve karaciğerdekenden (1.31 $\mu\text{g/g}$ ) daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.3.1).

180 g ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla tribriksen uygulaması sonrası 1.gün derideki trimetoprim konsantrasyonu (1,56  $\mu\text{g/g}$ ), karaciğer (1,30  $\mu\text{g/g}$ ) ve kasdakine (0,94  $\mu\text{g/g}$ ) göre daha yüksek bulunmuştur(Çizelge 4.3.2).

180 g ağırlığındaki balıklara oral yolla tribriksen uygulaması sonrası 1. gün karaciğerdeki trimetoprim miktarı (1,24  $\mu\text{g/g}$ ), deri (1,01  $\mu\text{g/g}$ ) ve kastakinden (0,37  $\mu\text{g/g}$ ) daha yüksek çıkmıştır. Uygulama sonrası 8. günde ise kasdaki trimetoprim miktarı (0,28  $\mu\text{g/g}$ ), karaciğerdekenden (0,23  $\mu\text{g/g}$ ) daha yüksek bulunmuştur. Trimetoprim, kasda 15. günden sonra belirlenemezken, karaciğerde 29. güne kadar varlığını sürdürmüştür (Çizelge 4.3.3).

Çizelge 4.3.1. 70g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla sulfadiazine ve tirmethoprim verilmesini takiben trimetoprimin doku dağılımı

Uygulama sonrası geçen süre(gün)	Dokularda belirlenen trimethoprim konsantrasyonları( $\mu\text{g/g}$ ) ve standart sapmaları( $\pm\text{s.d}$ )		
	Kas	Karaciğer	Deri
1	1,81 $\pm$ 0,254	1,31 $\pm$ 0,169	1,51 $\pm$ 0,240
8	0,14 $\pm$ 0,035	0,39 $\pm$ 0,028	1,03 $\pm$ 0,042
15	-	-	-
22	TE	0,13 $\pm$ 0,060	0,48 $\pm$ 0,176
29	TE	0,06 $\pm$ 0,007	-

TE : Tespit edilemedi.

(-) : Analiz yapılamadı.

Çizelge 4.3.2. 180g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla sulfadiazine ve tirmethoprim verilmesini takiben trimetoprimin dokulardaki dağılımı

Uygulama sonrası geçen süre(gün)	Dokularda belirlenen trimethoprim konsantrasyonları( $\mu\text{g/g}$ ) ve standart sapmaları( $\pm\text{s.d}$ )		
	Kas	Karaciğer	Deri
1	0,94 $\pm$ 0,155	1,30 $\pm$ 0,077	1,56 $\pm$ 0,148
8	0,63 $\pm$ 0,042	0,41 $\pm$ 0,106	0,38 $\pm$ 0,176
15	TE	0,19 $\pm$ 0,021	-
22	TE	0,12 $\pm$ 0,014	0,25 $\pm$ 0,091
29	TE	0,06 $\pm$ 0,007	-

TE : Tespit edilemedi.

(-) : Analiz yapılamadı.

Çizelge 4.3.3. 180g ağırlığındaki balıklara oral olarak sulfadiazine ve tirmethoprim verilmesini takiben trimetoprimin dokulardaki dağılımı

Uygulama sonrası geçen süre(gün)	Dokularda belirlenen trimethoprim konsantrasyonları( $\mu\text{g/g}$ ) ve standart sapmaları( $\pm\text{s.d}$ )		
	Kas	Karaciğer	Deri
1	0,37 $\pm$ 0,014	1,24 $\pm$ 0,028	1,01 $\pm$ 0,084
8	0,28 $\pm$ 0,021	0,23 $\pm$ 0,014	0,34 $\pm$ 0,141
15	TE	0,17 $\pm$ 0,036	-
22	TE	0,10 $\pm$ 0,016	0,10 $\pm$ 0,007
29	TE	0,08 $\pm$ 0,034	-

TE : Tespit edilemedi.

(-) : Analiz yapılamadı.

#### **4.4. Sulfadiazin ve Trimetoprimin Kas, Karaciğer ve Derideki Rezidü Seviyeleri ile İlgili Bulgular**

İnjeksiyonla uygulama sonrası 1. günde kasda tespit edilen sulfadiazin konsantrasyonu (11,31 µg/g), oral uygulama sonrası 1. gün elde edilen sulfadiazin konsantrasyonundan (2,03 µg/g) önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur (P<0.05). Uygulama sonrası 8 ve 15. günlerde kasda belirlenen sulfadiazine rezidü miktarları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır (Çizelge 4.4.1.) (Şekil 4.4.1.).

Karaciğerde sulfadiazinin birikimine uygulama yöntemlerinin etkisine bakıldığında injeksiyon sonrası 1. gün elde edilen sulfadiazin miktarı (24,85 µg/g) oral uygulama sonrası elde edilen sulfadiazin miktarından (2,98 µg/g) önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur (p<0.05). Uygulama sonrası 8 ve 15. günlerde karaciğerde belirlenen sulfadiazine rezidüleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır (Çizelge 4.4.1.) (Şekil 4.4.2).

Uygulama yollarının ilaçların derideki birikimine etkisine bakıldığında injeksiyon uygulaması sonrasında 1. gün deride elde edilen sulfadiazin konsantrasyonu (60,05 µg/g), oral uygulama sonrası deride elde edilen sulfadiazin konsantrasyonundan (8,43 µg/g) önemli ölçüde daha yüksek çıkmıştır (p<0.05). Uygulama sonrası 8. günde iki grupta derideki sulfadiazin konsantrasyonları arasında önemli bir fark bulunmamıştır. 22. günde ise deride iki grupta da sulfadiazin tespit edilememiştir (Çizelge 4.4.1.) (4.4.3.).

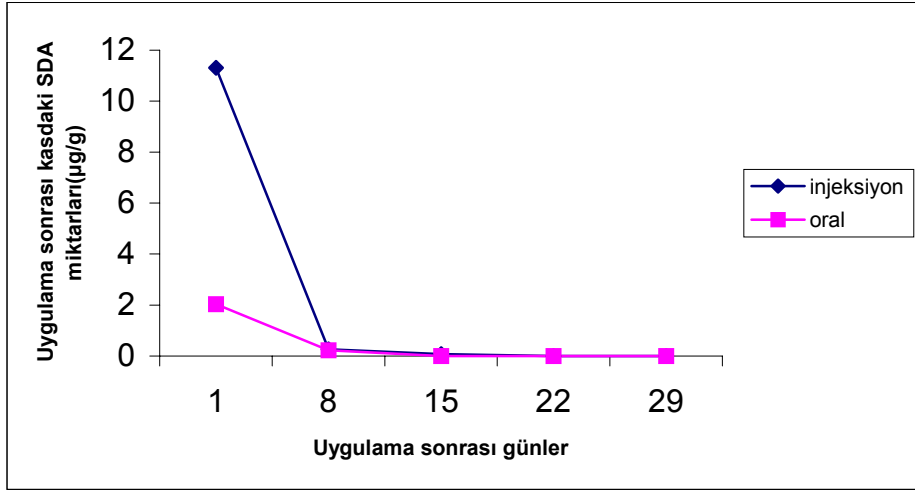
Çizelge 4.4.1. 180 g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla ve oral yolla tribrisen verilmesini takiben kas, karaciğer ve deride belirlenen sulfadiazin miktarları ( $\mu\text{g/g}$ )

Günler	Uygulama yolu	Sulfadiazin konsantrasyonu( $\mu\text{g/g}$ )		
		Kas	Karaciğer	Deri
1	İnjesiyon	11,31 $\pm$ 3,797 <sup>a</sup>	24,85 $\pm$ 1,767 <sup>a</sup>	60,05 $\pm$ 7,424 <sup>a</sup>
	Oral	2,03 $\pm$ 0,035 <sup>b</sup>	2,98 $\pm$ 0,325 <sup>b</sup>	8,43 $\pm$ 2,927 <sup>b</sup>
8	İnjesiyon	0,26 $\pm$ 0,035 <sup>b</sup>	0,2 $\pm$ 0,007 <sup>c</sup>	0,12 $\pm$ 0,056 <sup>b</sup>
	Oral	0,23 $\pm$ 0,021 <sup>b</sup>	0,10 $\pm$ 0,028 <sup>c</sup>	0,10 $\pm$ 0,007 <sup>b</sup>
15	İnjesiyon	0,07 $\pm$ 0,007 <sup>b</sup>	TE	-
	Oral	TE	TE	-
22	İnjesiyon	TE	TE	TE
	Oral	TE	TE	TE
29	İnjesiyon	TE	TE	-
	Oral	TE	TE	-

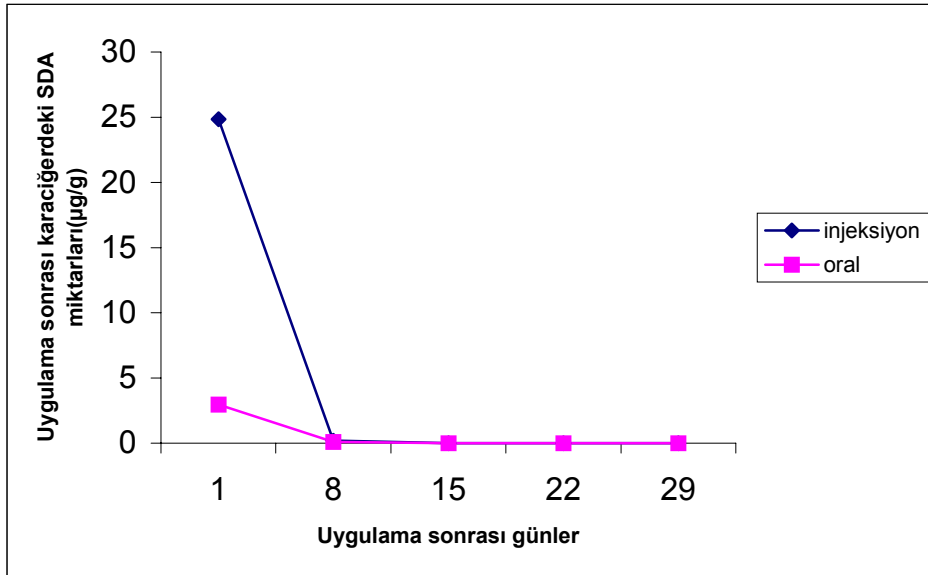
Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplara ait ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ( $p<0,05$ ).

TE : Tespit edilemedi.

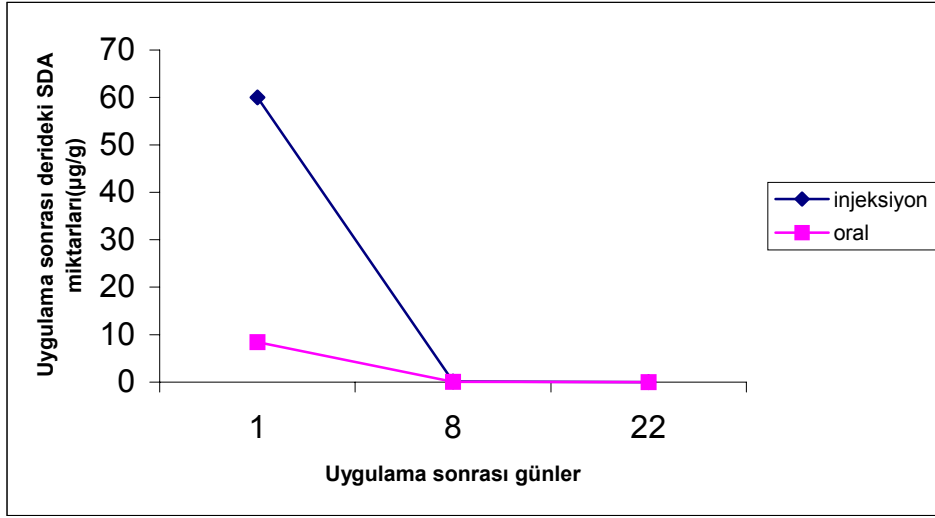
(-) : Analiz yapılamadı.



Şekil 4.4.1. 180 g ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben kasdaki sulfadiazin kalıntı miktarları ( $\mu\text{g/g}$ )



Şekil 4.4.2. 180 g ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben karaciğerdeki belirlenen sulfadiazin kalıntı miktarları ( $\mu\text{g/g}$ )



Şekil 4.4.3. 180 g ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla ve oral yolla tribrisen verilmesini takiben deride belirlenen sulfadiazin kalıntı miktarları (µg/g)

Kasdaki trimetoprim konsantrasyonları karşılaştırıldığında enjeksiyonla ilacın verildiği grupta uygulama sonrası 1. gün elde edilen trimetoprim konsantrasyonu (0.94 µg/g) oral uygulama sonrası 1. gün elde edilen trimetoprim konsantrasyonundan (0.37 µg/g) önemli ölçüde daha yüksek çıkmıştır ( $p < 0.05$ ). Uygulama sonrası 8. günde de ilaçların enjeksiyonla verildiği grupta 0.63 µg/g, oral uygulama sonrası 0.28 µg/g konsantrasyonunda trimetoprim belirlenmiştir. Uygulama sonrası 15, 22, 29. günlerde ise iki grupta da trimetoprim tespit edilebilir limitin altına inmiştir (Çizelge 4.4.2.) (Şekil 4.4.4.).

Karaciğerdeki trimetoprim konsantrasyonlarına uygulama yollarının etkisine bakıldığında, enjeksiyon uygulaması sonrası 8. gün elde edilen trimetoprim konsantrasyonu (0.41 µg/g), oral uygulama sonrası 8. gün elde edilen trimetoprim konsantrasyonundan (0.23 µg/g) önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Diğer örnekleme günlerinde belirlenen trimetoprim konsantrasyonları arasında fark bulunmamıştır (Çizelge 4.4.2.) (Şekil 4.4.5.).

Deride, injeksiyonla uygulama sonrası 1. gün 1.56 µg/g konsantrasyonda trimetoprim tespit edilirken, oral uygulama sonrası 1.01µg/g konsantrasyonda trimetoprim belirlenmiştir.

Çizelge 4.4.2. 180 g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben kas, karaciğer ve deride belirlenen trimetoprim kalıntı miktarları (µg/g) (Su sıcaklığı 12°C)

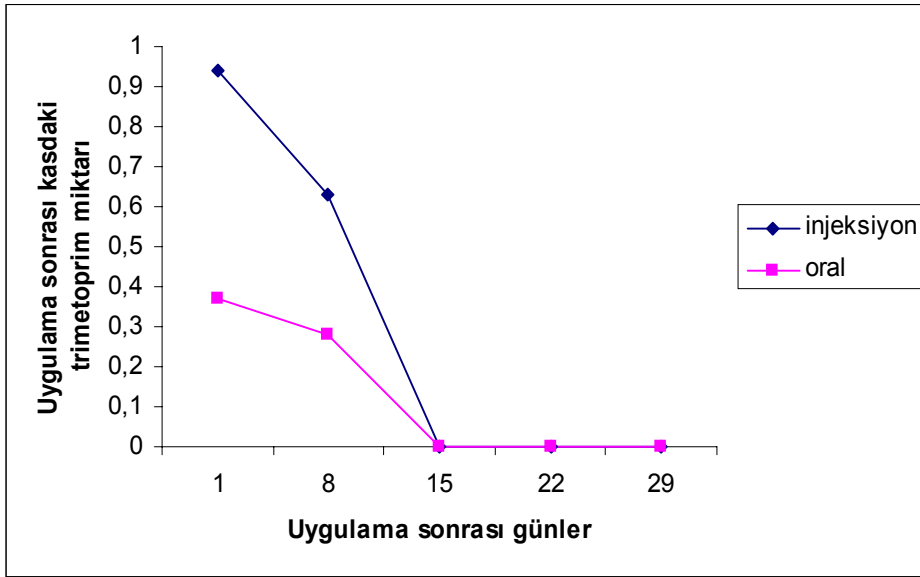
Günler	Uygulama yolu	Trimetoprim konsantrasyonu(µg/g)		
		Kas	Karaciğer	Deri
1	İnjeksiyon	0,94±0,155 <sup>a</sup>	1,03±0,077 <sup>a</sup>	1,56±0,148 <sup>a</sup>
	Oral	0,37±0,014 <sup>c</sup>	1,24±0,028 <sup>a</sup>	1,01±0,084 <sup>b</sup>
8	İnjeksiyon	0,63±0,042 <sup>b</sup>	0,41±0,106 <sup>b</sup>	0,38±0,176 <sup>c</sup>
	Oral	0,28±0,021 <sup>c</sup>	0,23±0,014 <sup>c</sup>	0,34±0,141 <sup>c</sup>
15	İnjeksiyon	TE	0,19±0,021 <sup>dc</sup>	-
	Oral	TE	0,17±0,036 <sup>edc</sup>	-
22	İnjeksiyon	TE	0,12±0,014 <sup>edc</sup>	0,25±0,091 <sup>c</sup>
	Oral	TE	0,10±0,016 <sup>ed</sup>	0,10±0,007 <sup>c</sup>
29	İnjeksiyon	TE	0,06±0,007 <sup>e</sup>	-
	Oral	TE	0,08±0,034 <sup>ed</sup>	-

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplara ait ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

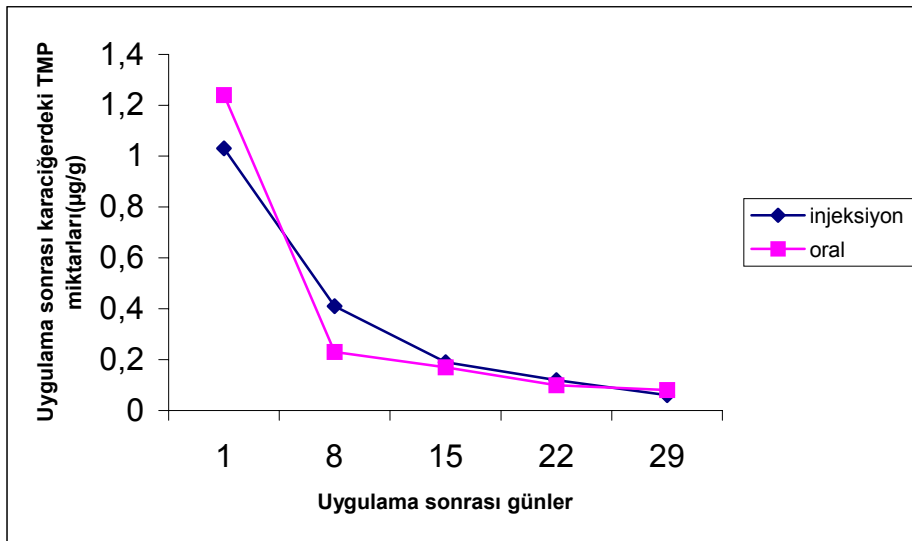
TE : Tespit edilemedi.

(-) : Analiz yapılamadı.

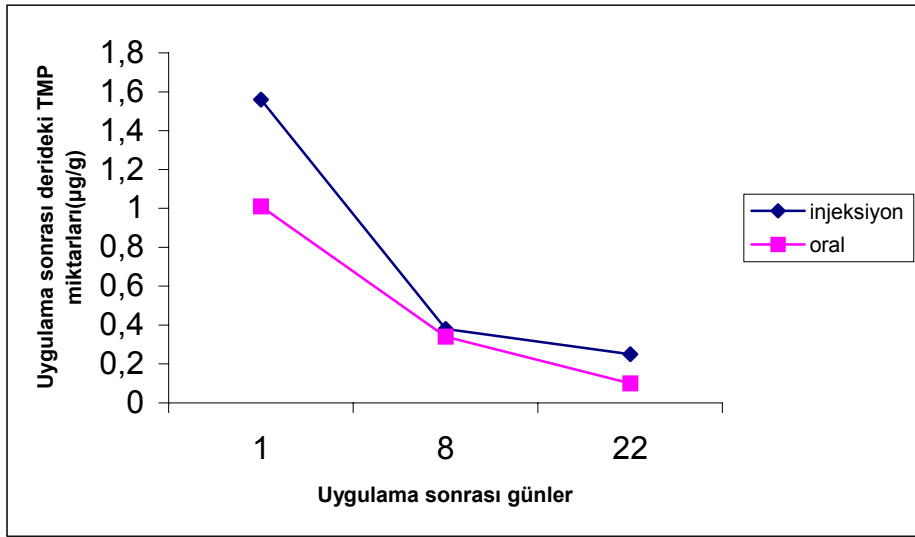




Şekil 4.4.4. 180g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben kasdaki trimetoprim kalıntı miktarları (µg/g)



Şekil 4.4.5. 180 g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben karaciğerde belirlenen trimetoprim kalıntı miktarları (µg/g)



Şekil 4.4.6. 180 g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla ve oral yolla tribriksen verilmesini takiben deride belirlenen trimetoprim kalıntı miktarları (µg/g)

Uygulamadan sonraki 1. gün 70 g ağırlığındaki balıkların kas dokularındaki sulfadiazin konsantrasyonu (14.31 µg/g), 180 g ağırlığındaki balıkların kaslarındaki sulfadiazin konsantrasyonundan (11.31 µg/g) daha yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Uygulamadan sonraki 8. gün ise 70g ağırlığındaki balıkların kas dokularında 180g ağırlığındaki balıklara göre daha hızlı bir arınma gerçekleşmiş ve 70g ağırlığındaki balıklarda 180 g ağırlığındaki balıklara göre daha düşük miktarda sulfadiazin belirlenmiştir (Çizelge 4.4.3) (Şekil 4.4.7.).

Karaciğer dokusunda ise 1 ve 8. günlerde 180 g ağırlığındaki balıklarda bulunan sulfadiazin konsantrasyonu, 70 g ağırlığındaki balıklarda belirlenen sulfadiazin konsantrasyonundan daha yüksek bulunmuştur, fakat aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir ( $p > 0.05$ ) (Çizelge 4.4.3.) (Şekil 4.4.8.).

Deride, uygulamadan sonraki 1. gün 180g ağırlığındaki balıklarda, 70g ağırlığındaki balıklara göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek konsantrasyonda sulfadiazin tespit edilmiştir. Diğer örnekleme günlerinde ise deride belirlenen sulfadiazin rezidü miktarı balık ağırlığından etkilenmemiştir (Çizelge 4.4.3.) (Şekil 4.4.9.).

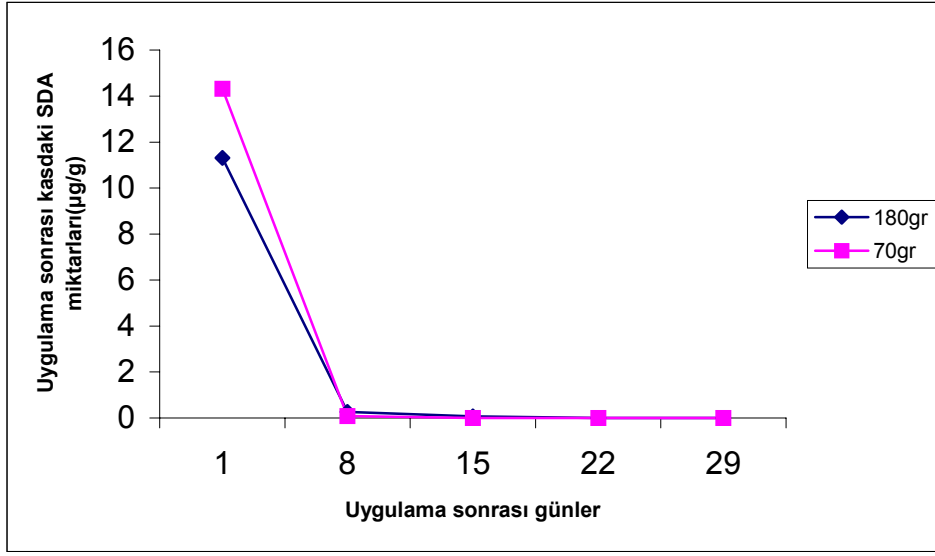
Çizelge 4.4.3. 180g ve 70g ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarına injeksiyonla 125mg/kg dozunda tribrisen uygulanmasını takiben kas, karaciğer ve deride tespit edilen sulfadiazin miktarları( $\mu\text{g/g}$ )

Uygulama sonrası geçen süre(gün)	Balık ağırlığı(g)	Dokulardaki sulfadiazin miktarları( $\mu\text{g/g}$ )		
		Kas	Karaciğer	Deri
1	180	11,31 $\pm$ 0,233 <sup>a</sup>	24,85 $\pm$ 1,767 <sup>a</sup>	60,05 $\pm$ 7,424 <sup>a</sup>
	70	14,31 $\pm$ 0,247 <sup>b</sup>	21,65 $\pm$ 3,606 <sup>a</sup>	45,85 $\pm$ 0,919 <sup>b</sup>
8	180	0,26 $\pm$ 0,035 <sup>c</sup>	0,20 $\pm$ 0,007 <sup>b</sup>	0,12 $\pm$ 0,056 <sup>c</sup>
	70	0,09 $\pm$ 0,035 <sup>c</sup>	0,13 $\pm$ 0,035 <sup>b</sup>	0,13 $\pm$ 0,049 <sup>c</sup>
15	180	0,07 $\pm$ 0,007 <sup>c</sup>	TE	-
	70	TE	TE	-
22	180	TE	TE	TE
	70	TE	TE	0,11 $\pm$ 0,014 <sup>a</sup>
29	180	TE	TE	-
	70	TE	TE	-

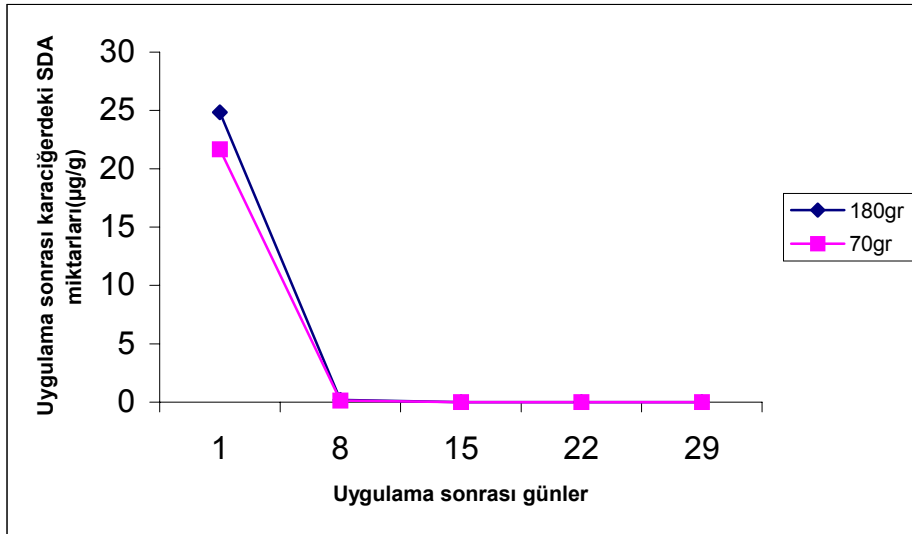
Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplara ait ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

TE : Tespit edilemedi.

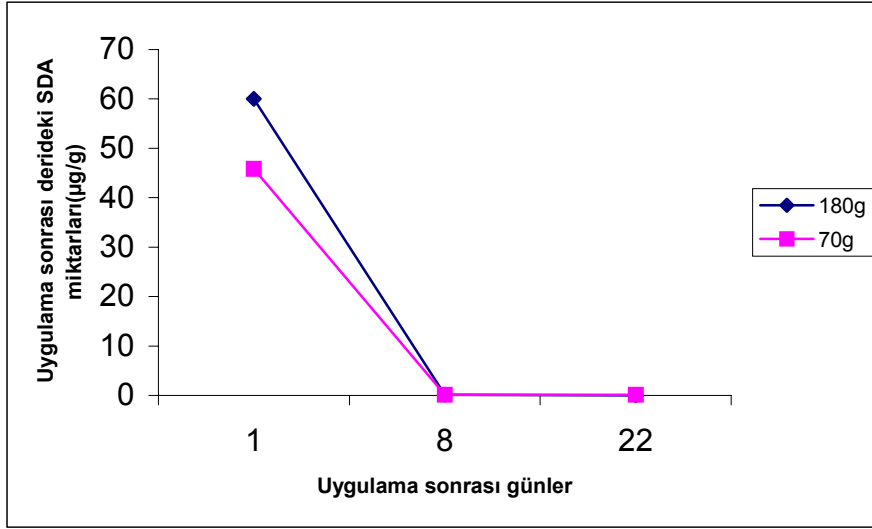
(-) : Analiz yapılamadı.



Şekil 4.4.7. 180g ve 70 g ağırlığındaki gökkuşığı alabalıklarına injeksiyonla 125 mg/kg dozunda tribissen uygulanmasını takiben kasta tespit edilen sulfadiazin miktarları( $\mu\text{g/g}$ )



Şekil 4.4.8. 180 g ve 70 g ağırlığındaki gökkuşığı alabalıklarına injeksiyonla 125 mg/kg dozunda tribissen uygulanmasını takiben karaciğerde tespit edilen sulfadiazin miktarları ( $\mu\text{g/g}$ )



Şekil 4.4.9. 180 g ve 70 g ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarına injeksiyonla 125 mg/kg dozunda tribriksen uygulanmasını takiben deride tespit edilen sulfadiazin miktarları ( $\mu\text{g/g}$ )

70 g ağırlığındaki balıklarda uygulama sonrası 1. gün kas dokusunda belirlenen trimetoprim konsantrasyonu ( $1.81\mu\text{g/g}$ ), 180g ağırlığındaki balıkların kas dokusunda belirlenen trimetoprim konsantrasyonundan ( $0.94\mu\text{g/g}$ ) daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Uygulama sonrası 8. gün ise 70g ağırlığındaki balıklarda daha hızlı bir arınma gerçekleşmiş ve 70g ağırlığındaki balıklarda 180g ağırlığındaki balıklara göre daha düşük konsantrasyonda trimetoprim belirlenmiştir. (Çizelge 4.4.4.)(Şekil 4.4.10).

70g ve 180g ağırlığındaki balıklarda tüm örnekleme günlerinde, karaciğerde belirlenen trimetoprim konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır (Çizelge 4.4.4.)(Şekil 4.4.11)

Deride ise, uygulama sonrası 1. gün 70g ve 180g ağırlığındaki balıklarda belirlenen trimetoprim konsantrasyonlarının birbirine çok yakın olduğu görülürken, 8. gün 70g ağırlığındaki balıklarda deride belirlenen trimetoprim konsantrasyonu ( $1.03\mu\text{g/g}$ ), 180g ağırlığındaki balıklarda deride belirlenen trimetoprim konsantrasyonundan ( $0.38\mu\text{g/g}$ ) daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.4.4.) (Şekil 4.4.12).

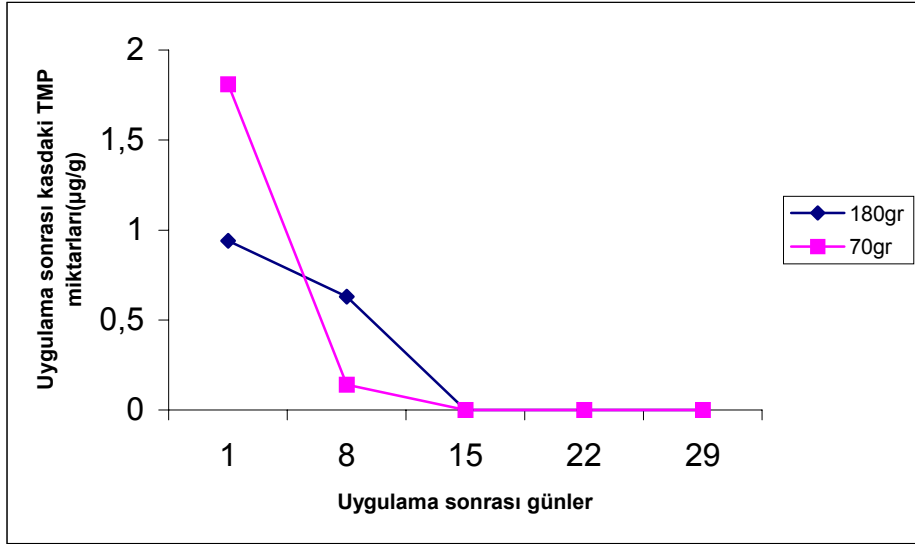
Çizelge 4.4.4. 180 g ve 70 g ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarına injeksiyonla 125mg/kg dozunda tribrisen uygulanmasını takiben kas, karaciğer ve deride tespit edilen trimetoprim miktarları( $\mu\text{g/g}$ ) (Su sıcaklığı 12 °C)

Uygulama sonrası geçen süre(gün)	Balık ağırlığı(g)	Dokulardaki trimetoprim miktarları( $\mu\text{g/g}$ )		
		Kas	Karaciğer	Deri
1	180	0,94 $\pm$ 0,155 <sup>b</sup>	1,30 $\pm$ 0,077 <sup>a</sup>	1,56 $\pm$ 0,148 <sup>a</sup>
	70	1,81 $\pm$ 0,2548 <sup>a</sup>	1,31 $\pm$ 0,169 <sup>a</sup>	1,51 $\pm$ 0,240 <sup>a</sup>
8	180	0,63 $\pm$ 0,042 <sup>b</sup>	0,41 $\pm$ 0,106 <sup>b</sup>	0,38 $\pm$ 0,176 <sup>c</sup>
	70	0,14 $\pm$ 0,035 <sup>c</sup>	0,39 $\pm$ 0,028 <sup>b</sup>	1,03 $\pm$ 0,042 <sup>b</sup>
15	180	TE	0,19 $\pm$ 0,021 <sup>c</sup>	-
	70	TE	-	-
22	180	TE	0,12 $\pm$ 0,014 <sup>c</sup>	0,25 $\pm$ 0,091 <sup>c</sup>
	70	TE	0,13 $\pm$ 0,060 <sup>c</sup>	0,48 $\pm$ 0,176 <sup>c</sup>
29	180	TE	0,06 $\pm$ 0,007 <sup>c</sup>	-
	70	TE	0,06 $\pm$ 0,007 <sup>c</sup>	-

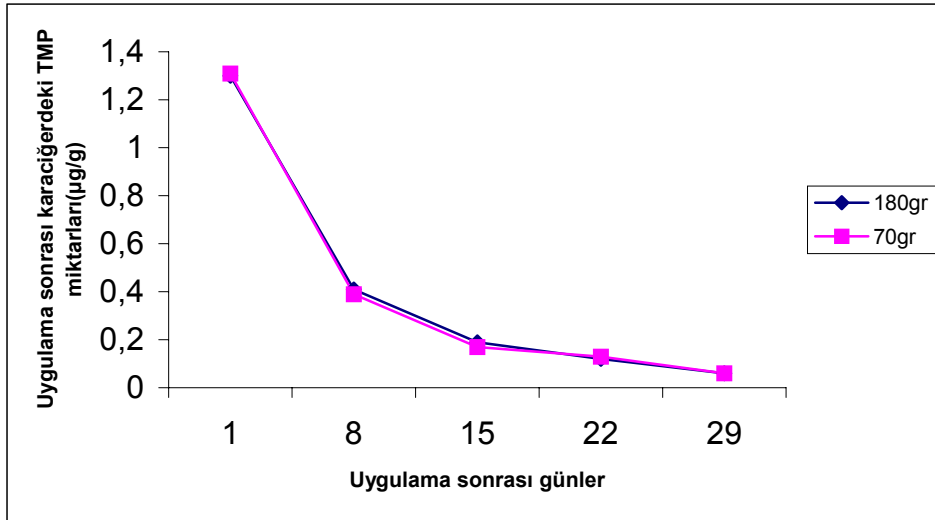
Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplara ait ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiki olarak önemlidir ( $p < 0,05$ ).

TE : Tespit edilemedi.

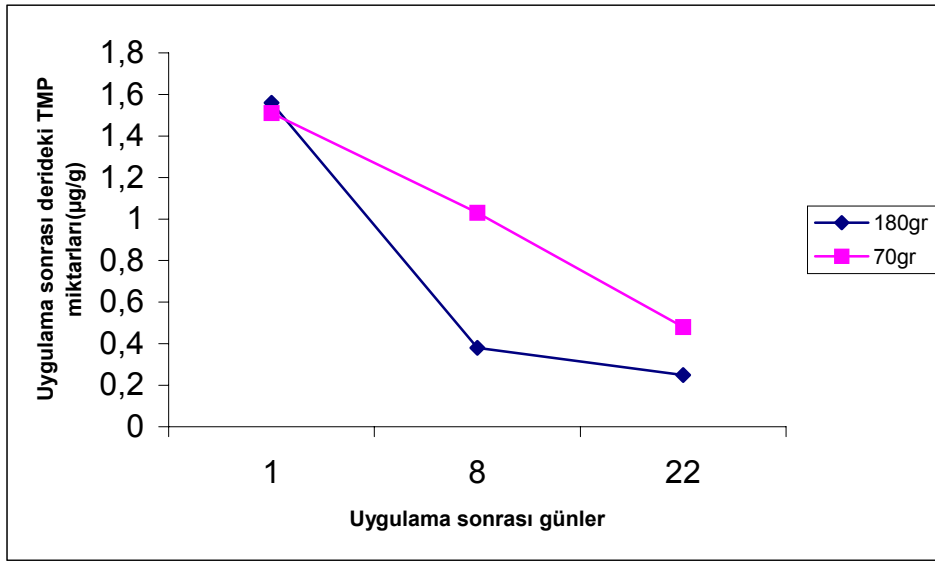
(-) : Analiz yapılamadı.



Şekil 4.4.10. 180 g ve 70 g ağırlığındaki gökkuşuğu alabalıklarına enjeksiyonla 125 mg/kg dozunda tribriksen uygulanmasını takiben kasta tespit edilen trimetoprim miktarları( $\mu\text{g/g}$ ) (Su sıcaklığı 12 °C)



Şekil 4.4.11. 180 g ve 70 g ağırlığındaki gökkuşuğu alabalıklarına enjeksiyonla 125mg/kg dozunda tribriksen uygulanmasını takiben karaciğerde tespit edilen trimetoprim miktarları( $\mu\text{g/g}$ )



Şekil 4.4.12. 180 g ve 70 g ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarına enjeksiyonla 125mg/kg dozunda tribissen uygulanmasını takiben deride tespit edilen trimetoprim miktarları ( $\mu\text{g/g}$ ) (Su sıcaklığı  $12\text{ }^{\circ}\text{C}$ )

#### 4.5. Sulfadiazin ve Trimetoprimin Kasdaki Maksimum Kalıntı Konsantrasyonu Altına Düşme Süreleri İle ilgili Bulgular

Balık ağırlığının farklı oluşu sulfadiazinin kasdaki arınma süresini (maksimum kalıntı seviyesinin altına düşme süresi) etkilediği saptanmıştır. Sulfadiazin ve trimetoprimin 180 g ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla verilmesini takiben sulfadiazinin kasdaki arınma süresi 15 gün iken, 70 g ağırlığındaki balıklarda 8 gün olarak belirlenmiştir. 70 g ağırlığındaki balıkların kas dokularından sulfadiazin daha hızlı arınmıştır.

İlacın uygulanma yönteminin farklı oluşu (i.p. yada oral) sulfadiazinin kasdaki arınma süresini etkilememiştir. Her iki uygulama yöntemi sonrası, sulfadiazinin kasdaki maksimum kalıntı konsantrasyonunun altına düşme süresi 15 gün olarak belirlenmiştir.



Balık ağırlığının trimetoprimin kas ve karaciğerdeki arınma süresine etkisi olmamıştır. Her iki ağırlık grubunda da trimetoprimin kasdaki arınma süresi 15 gün olarak belirlenmiştir.

İlacın uygulanma yönteminin farklı oluşu (i.p. yada oral) sulfadiazinin kasdaki arınma süresini etkilememiştir. Her iki uygulama yöntemi sonrası, sulfadiazinin kasdaki maksimum kalıntı konsantrasyonunun altına düşme süresi 15 gün olarak belirlenmiştir.

Trimetoprimin kasdaki arınma sürelerine uygulama yöntemlerinin de etkisi olmamıştır. Trimetoprimin maksimum kalıntı konsantrasyonunun altına düşme süresi ise her iki uygulama yönteminde de kasda 15 gün olarak belirlenmiştir.

#### **4.6. Tribriksen Uygulamasının Gökkuşığı Alabalıklarının Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemine Etkileri ile İlgili Bulgular**

Tribriksen'in balıkların spesifik olmayan bağışıklık sistemine etkilerini belirlemek amacıyla bir grup balığa 30 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle sıvı yağ ile yeme ilave edilerek tribriksen verilirken, kontrol grubuna 7 gün boyunca sadece sıvı yağ ilave edilen yem verilmiştir. 7 günlük uygulama sonrası 1, 8, 15, 22 ve 29. günlerde balıkların serum lizozim aktiviteleri (unit/ml), hematokrit değerleri(%), NBT(+) nötrofil sayıları, eritrosit sayıları ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ ), toplam lökosit sayıları ( $\times 10^5/\mu\text{l}$ ) belirlenmiştir (Çizelge 4.6.1.)

Uygulama sonrası 1, 8, 22 ve 29. günlerde ilacın verildiği grupta belirlenen hematokrit değerleri (%), kontrol grubuna göre önemli derecede daha düşük bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). (Çizelge 4.6.1.) (Şekil 4.6.2.)

Tribriksen uygulanan grupta, uygulamayı takiben 8. gün kontrol grubuna göre daha düşük miktarda NBT(+) nötrofil bulunmuştur ( $P < 0.05$ ) (Çizelge 4.6.3.) .

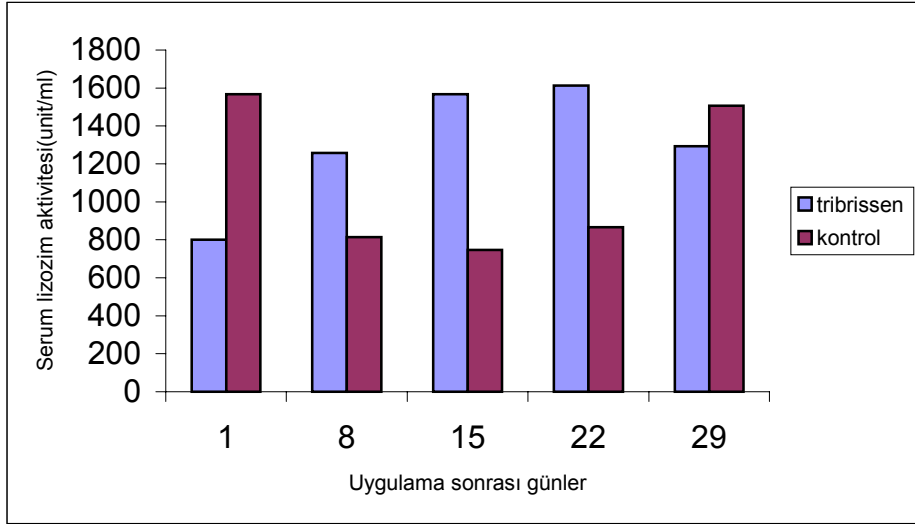
Uygulama sonrası 1, 8 ve 15. günlerde ilaç uygulanan balıkların kanlarındaki eritrosit sayısı ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ ), kontrol grubu balıklara göre daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.6.1.) (Şekil 4.6.4.).

Tribriksen uygulanan grupla, kontrol grubu karşılaştırıldığında uygulama sonrası 1, 8, 15, 22 ve 29. günlerdeki serum lizozim aktiviteleri birbirine benzer bulunmuştur ( $p>0.05$ ) (Çizelge 4.6.1.) (Şekil 4.6.1). İki grup arasındaki toplam lökosit sayıları ( $\times 10^5/\mu\text{l}$ ) arasında da istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ) (Çizelge 4.6.1.) (Şekil 4.6.5.)

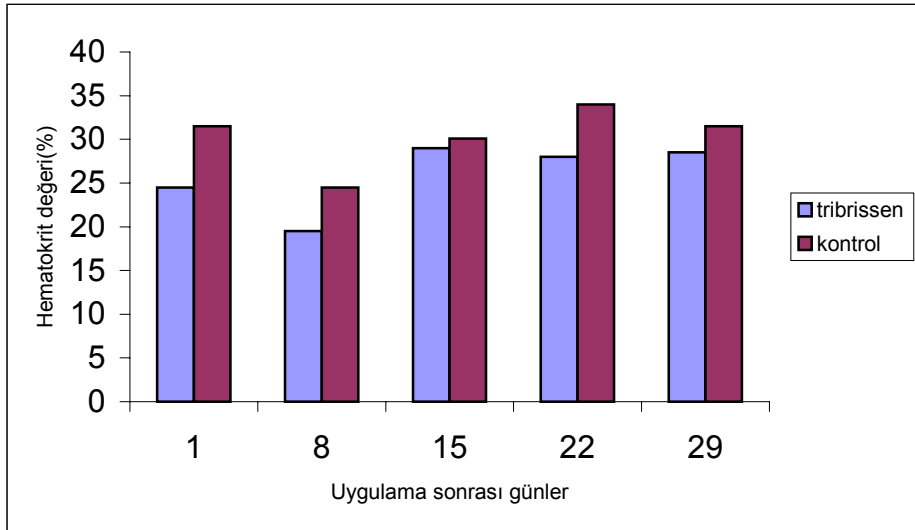
Çizelge 4.6.1. 30mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribriksen verilen balıklarla kontrol grubu balıkların serum lizozim aktiviteleri (unit/ml), hematokrit değerleri(%), NBT(+) nötrofil sayıları, eritrosit sayıları( $\times 10^6/\mu\text{l}$ ), toplam lökosit sayıları( $\times 10^5/\mu\text{l}$ ) (Su sıcaklığı 13°C).

Uygulama sonrası günler	Gruplar	Lizozim aktivitesi (unit/ml)	Hematokrit değeri(%)	NBT(+) nötrofil sayısı	Eritrosit sayısı ( $\times 10^6/\mu\text{l}$ )	Toplam lökosit sayısı ( $\times 10^5/\mu\text{l}$ )
1	Tribriksen	800 $\pm$ 144,22 <sup>ab</sup>	24,5 $\pm$ 0,70 <sup>b</sup>	3,16 $\pm$ 0,22 <sup>abc</sup>	1,57 $\pm$ 0,27 <sup>bc</sup>	0,59 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>
	Kontrol	1566,67 $\pm$ 477,21 <sup>ab</sup>	31,5 $\pm$ 0,70 <sup>de</sup>	4,9 $\pm$ 1,55 <sup>bc</sup>	0,74 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,74 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
8	Tribriksen	1256,66 $\pm$ 448,36 <sup>ab</sup>	19,5 $\pm$ 0,70 <sup>a</sup>	4,1 $\pm$ 0,42 <sup>abc</sup>	2,21 $\pm$ 0,33 <sup>d</sup>	0,65 $\pm$ 0,007 <sup>a</sup>
	Kontrol	813,33 $\pm$ 343,12 <sup>ab</sup>	24,5 $\pm$ 2,12 <sup>b</sup>	7,5 $\pm$ 1,27 <sup>d</sup>	1,54 $\pm$ 0,40 <sup>bc</sup>	0,62 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>
15	Tribriksen	1566,66 $\pm$ 473,84 <sup>ab</sup>	29 $\pm$ 1,41 <sup>cd</sup>	2,5 $\pm$ 0,14 <sup>ab</sup>	2,2 $\pm$ 0,11 <sup>d</sup>	0,88 $\pm$ 0,39 <sup>a</sup>
	Kontrol	746,66 $\pm$ 102,63 <sup>a</sup>	30 $\pm$ 1,41 <sup>cd</sup>	4,05 $\pm$ 2,19 <sup>abc</sup>	1,71 $\pm$ 0,19 <sup>c</sup>	0,74 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>
22	Tribriksen	1613,33 $\pm$ 248,46 <sup>b</sup>	28 $\pm$ 1,41 <sup>c</sup>	3,98 $\pm$ 1,66 <sup>abc</sup>	1,38 $\pm$ 0,19 <sup>bc</sup>	0,70 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
	Kontrol	866,66 $\pm$ 287,28 <sup>ab</sup>	34 $\pm$ 1,41 <sup>e</sup>	5,8 $\pm$ 0,28 <sup>cd</sup>	1,19 $\pm$ 0,014 <sup>ab</sup>	0,72 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>
29	Tribriksen	1293 $\pm$ 456,21 <sup>ab</sup>	28,5 $\pm$ 0,70 <sup>c</sup>	1,47 $\pm$ 0,38 <sup>a</sup>	1,56 $\pm$ 0,02 <sup>bc</sup>	0,74 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>
	Kontrol	1506,66 $\pm$ 861,70 <sup>ab</sup>	31,5 $\pm$ 0,70 <sup>de</sup>	2 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	1,26 $\pm$ 0,11 <sup>bc</sup>	0,76 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>

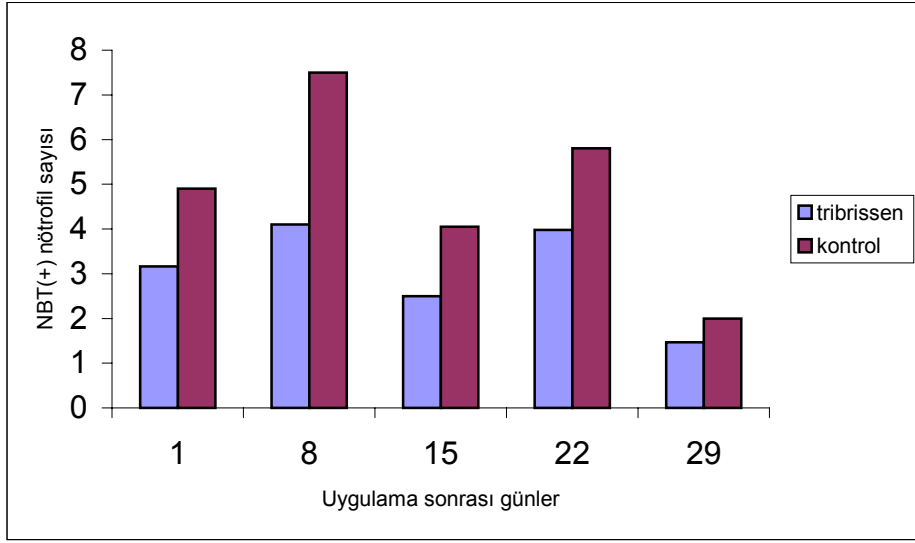
Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplara ait ortalamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ( $p<0,05$ ).



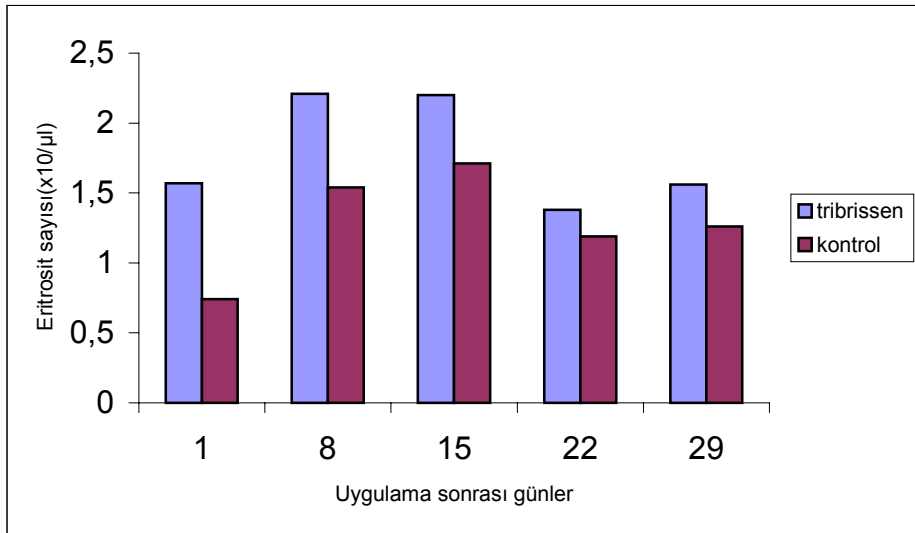
Şekil 4.6.1. 30 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribissen verilen balıklarla kontrol grubu balıkların serum lizozim aktiviteleri (unit/ml) (su sıcaklığı 13 °C).



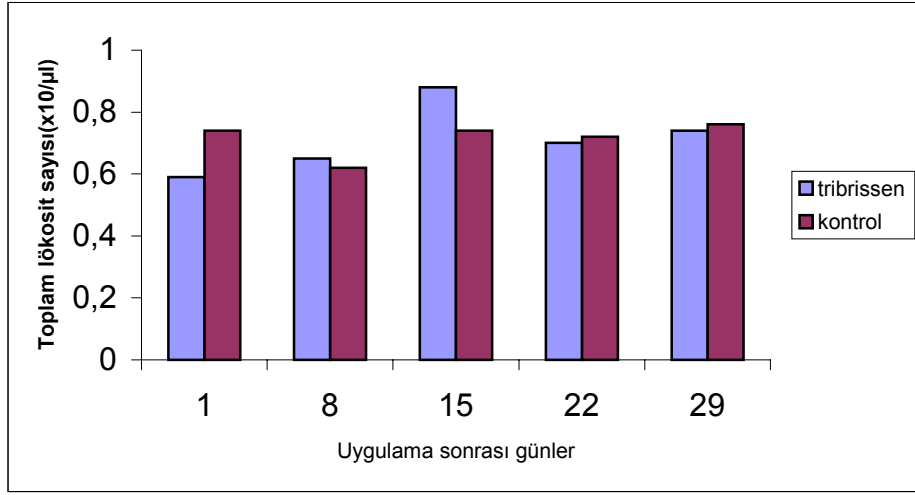
Şekil 4.6.2. 30 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribissen verilen balıklarla kontrol grubu balıkların hematokrit değerleri(%) (su sıcaklığı 13 °C).



Şekil 4.6.3.. 30 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribissen verilen balıklarla kontrol grubu balıkların NBT(+) nötrofil sayıları (su sıcaklığı 13 °C).



Şekil 4.6.4. 30 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribissen verilen balıklarla kontrol grubu balıkların eritrosit sayıları(x10<sup>6</sup>/μl)(su sıcaklığı 13 °C).



Şekil 4.6.5. 30 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 7 gün süreyle yeme ilave edilerek tribissen verilen balıklarla kontrol grubu balıkların toplam lökosit sayıları(x10<sup>5</sup>/μl) (su sıcaklığı 13 °C).

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Denemenin tüm gruplarında tribrissen uygulanmasını takiben 1.gün karaciğerde belirlenen sulfadiazin konsantrasyonları kasdakine göre daha yüksek bulunmuştur. 180g ağırlığındaki balıklara 125 mg/kg balık dozunda tribrissen uygulandıktan sonraki 1. gün karaciğerde 24.85 µg/g, kasda 11.31 µg/g; 180gr ağırlığındaki balıklara 30 mg/kg balık/ gün dozunda 7 gün süreyle tribrissen verilmesini takiben 1. gün karaciğerde 2.98 µg/g, kasda 2.03 µg/g ve 70 g ağırlığındaki balıklara injeksiyonla 125 mg/kg balık dozunda tribrissen uygulamasını sonrasında 1. gün karaciğerde 21.65 µg/g kasda 14,31 µg/g olarak belirlenmiştir. Ramaiah vd. (1988), *Labeo rohita* ve *Cirrhinus mrigala* fingerlinglerine 15, 200, 250 mg/kg balık/gün dozunda 10 gün süreyle yeme ilave edilerek sulfadiazin, sulfamerazine ve sulfadimidine uygulamasını takiben tüm dozlarda karaciğerdeki sulfadiazin, sulfamerazine ve sulfadimidine miktarlarını kasdakinden daha yüksek bulmuştur. Bu araştırmacının bulguları çalışmamızın bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Uno vd. (1993), 15 °C’de tutulan 210-270 g ağırlığındaki gökkuşağı alabalıklarına 300 ve 200 mg/kg balık dozunda yeme ilave ederek sulphamonomethoxine ve sulphadimethoxine uygulamasını takiben 1. gün elde ettikleri sulphamonomethoxine miktarı ise karaciğerde ( 16.9 µg/g), kasdakine (18µg/g) göre daha düşük, 3., 5., 7., 10., 13 ve 16.gün ise karaciğerdeki miktarının kasdaki miktarından daha yüksek olduğu ifade edilmiştir. Sulphadimethoxine’in de, uygulama sonrası 1., 3., 5., 7., 10., 13., 16. ve 20. günlerde karaciğerde kasdakinden daha yüksek miktarda bulunduğu ifade edilmiştir. Zheng vd. (1994), *Oncorhynchus tshawytscha* balıklarına 40mg/kg balık/ gün dozunda 10 gün süreyle Romet 30 ( sulfadimethoxine-ormethoprim, 5:1) uygulaması sonrasında sulfadimethoxine’in karaciğer dokusundaki rezidü seviyelerinin kasdakinden daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Samuelson vd. (1997) de, pisi balıklarında (*Hippoglossus hippoglossus*) 500 mg/lt dozunda sulfadimidine ile 72 saat banyo uygulaması sonrası 1.gün karaciğerde elde ettikleri sulfadimidine konsantrasyonunun (171 µg/g), kasdakinden (125 µg/g) daha yüksek olduğunu belirtmektedirler. Ueno vd. (1994) de, 400 mg/kg balık dozunda oral yolla ortalama 357 g ağırlığındaki sarıkuyruk balıkları (*Seriola quinqueradiata*)’na sulfamonomethoxine uygulamasını takiben 1. gün karaciğerde belirledikleri

sulfamonomethoxine miktarının (1.55 µg/g), kasdakinden (0.96 µg/g) daha yüksek olduğunu ifade etmektedirler.

180g ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla tribriksen uygulaması sonrası 1.gün karaciğerdeki trimetoprim miktarı (1.30µg/g) kasdakine (0,94µg/g) göre daha yüksek bulunmuştur. 180g ağırlığındaki balıklara oral yolla tribriksen uygulaması sonrası da 1. gün karaciğerdeki trimetoprim miktarı (1.24 µg/g), kasdakinden (0.94 µg/g) önemli ölçüde daha yüksek çıkmıştır(P<0.05). Samuelsen vd. (1997), pisi balıklarına 100 mg/l dozunda banyo yoluyla trimetoprim uygulaması sonrası 1. günde karaciğerde elde ettikleri trimetoprim konsantrasyonunun (65 µg/g) kasdakinden (26 µg/g) daha yüksek olduğunu belirtmektedirler. Plakas vd. (1990), kanal yayın balıkları (*Ictalurus punctatus*)' na 4 mg/kg balık dozunda kas içine enjeksiyonla ormetoprim uygulaması sonrası 1, 2 ve 3. günlerde deride karaciğerdekine göre, karaciğerde kasdakine göre daha yüksek miktarda ormetoprim bulunduğunu ifade etmektedirler.

Sulfadiazin ve trimetoprimin 180 g ağırlığındaki balıklara i.p. uygulaması sonrasında özellikle 1. gün kas ve deride belirlenen trimetoprim rezidüleri, oral uygulama sonrası 1. gün elde edilen trimetoprim miktarlarından daha yüksek miktarda bulunmuştur. Plakas vd. (1990) ise 4 mg/kg balık dozunda trimetoprimle aynı gruptan olan ormetoprim'i oral yolla ve kas içine enjeksiyon yoluyla kanal yayın balıklarına uygulamaları sonrası 1. gün kas ve deride elde ettikleri ormetoprim miktarlarının birbirine çok yakın olduğunu belirtmektedirler. Bu araştırmacıların bulgularıyla bulgularımız benzerlik göstermemektedir. Bunun nedeni ilacın aynı gruptan olsa bile farklı oluşu ve balık türünün farklı olmasıdır. Karaciğerde ise oral uygulama sonrası 1. gün belirlenen trimetoprim miktarı, i.p. uygulama sonrası 1. gün belirlenen trimetoprim miktarından daha yüksek bulunmuştur. Plakas vd. (1990) de kanal yayın balıklarına 4mg/kg balık dozunda kas içi ve oral yolla ormetoprim uygulamaları sonrasında 1. gün oral uygulama sonrası karaciğerde belirlenen ormetoprim miktarının, kas içine enjeksiyon sonrası 1. gün belirlenen ormetoprim miktarından daha yüksek olduğunu ifade etmektedirler.

Farklı ağırlıktaki balıklara injeksiyonla sulfadiazin ve trimetoprim uygulaması sonrası sulfadiazinin arınma sürelerinin değiştiği belirlenmiştir. İlaçların 180 g ağırlığındaki balıklara enjeksiyonla verilmesini takiben sulfadiazinin kasdaki arınma süresi yani maksimum rezidü konsantrasyonunun altına düşme süresi 15 gün iken, 70 g ağırlığındaki balıklarda 8 gün olarak belirlenmiştir. 70 g ağırlığındaki balıkların kas dokularından sulfadiazin daha hızlı arınmıştır.

Farklı yöntemlerle sulfadiazin ve trimetoprim verilmesi kasda, sulfadiazinin arınma süresini etkilememiştir. 180 g ağırlığındaki balıklara tribrissenin oral ve i.p. olarak uygulanmasını takiben de kasda ve karaciğerde sulfadiazinin maksimum kalıntı konsantrasyonunun altına düşme süresi uygulamadan sonraki 15. gün olarak bulunmuştur.

Trimetoprimin kasdaki arınma süresine balık ağırlığı ve uygulama yöntemlerinin etkisi olmamıştır. Trimetoprimin maksimum kalıntı konsantrasyonunun altına düşme süresi tüm gruplarda kasda 15 gün olarak belirlenmiştir. Jacobsen (1989) 12°C'de tuttuğu gökkuşağı alabalıklarına 5 mg/kg canlı ağırlık/gün dozunda 5 gün süreyle yeme ilave ederek trimetoprim vermesini takiben, balıkların kaslarında tedaviden sonraki 8. günde trimetoprimi tespit edememiştir. Salte ve Liestol (1983), tribrissenin (sulfadiazine ve trimetoprim) kasdan arınma süresini 10 °C su sıcaklığı için 20 gün olarak belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise tribrissenin(sulfadiazin ve trimetoprim) kasdaki arınma süresi 15 gün olarak belirlenmiştir. Denemede kullandığımız su sıcaklığının daha yüksek olması nedeniyle ilaçlar kasdan daha hızlı arınmıştır.

Tüm gruplarda trimetoprim sulfadiazine göre karaciğerde daha uzun süre tespit edilmiştir. Öyleki, sulfadiazin karaciğerde 15. günde tespit edilemezken, trimetoprim karaciğerde 29. güne kadar bulunmuştur. Bergsjö vd.(1979) de 7 °C su sıcaklığında tutulan gökkuşağı alabalıklarında trimetoprimin, sulfadiazine göre dokularda daha uzun süre kaldığını rapor etmişlerdir.



Sulfadiazin ve trimetoprim, uygulamasının gökkuşığı alabalıklarının spesifik olmayan bağışıklık sistemine etkilerinin incelendiği deneme sonucunda, Sulfadiazin ve trimetoprim uygulamasının gökkuşığı alabalıklarında % hematokrit değerlerini düşürdüğü saptanmıştır. Sulfadiazin ve trimetoprim uygulamasının gökkuşığı alabalıklarında NBT (+) nötrofil sayısı yani nötrofillerin oksidatif yakma mekanizması üzerine etkisi, Sulfadiazin ve trimetoprim verilen grupta kontrol grubuna göre sadece uygulama sonrası 8. günde istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur. Diğer günlerde Sulfadiazin ve trimetoprim uygulaması NBT(+) hücre sayısını etkilememiştir. Akhan vd. (2003), oksitetrasiklin uygulamasının levrek balıkları (*Dicentrarchus labrax*)'nda NBT(+) hücre sayısını azalttığı belirtilmektedir. Sulfadiazin ve trimetoprim verilen balıklardaki eritrosit sayısı uygulama sonrası 1., 8. ve 15. günlerde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Sulfadiazin ve trimetoprim uygulamasının eritrosit sayısını 1, 8 ve 15. günlerde zenginleştirmiştir. Sazan balıklarına oksitetrasiklinin uygulanmasının balıklarda eritrosit sayısını azalttığı rapor edilmektedir (Rijkers vd., 1980). Chloramphenicol de yılan balıklarında i.p. olarak tedavi edici dozda kullanıldığında kırmızı kan hücrelerini etkileyebileceği ve uygulamadan sonraki 48. saatte sirküle eritroblast sayısında önemli bir azalmaya neden olduğu ifade edilmektedir (Treves-Brown, 2000). Sulfadiazin ve trimetoprim uygulamasının gökkuşığı alabalıklarının serum lizozim aktivitesine ve toplam lökosit sayısına etkisinin olmadığı görülmüştür. Lunden ve Bylund (2002) da gökkuşığı alabalıklarına tribrisen uygulaması sonrasında balıkların serum lizozim aktivitesinin ve kanlarındaki toplam lökosit sayısının etkilenmediğini ifade etmektedirler. Sonuç olarak sulfadiazin ve trimetoprim uygulamasının gökkuşığı alabalıklarının spesifik olmayan bağışıklık sistemine önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

## 6. KAYNAKLAR

- Akhan, S., Tanrıku, T.T., Balta, F., Serezli, R., 2003. Levrek (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) 'lerde Oksitetrasiklinin Kullanımının Nötrofillerin Fagositik Aktivitesine Etkisinin İncelenmesi .F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 15(3), 455-461.
- Anderson, P.D., Moritomo, T., Grooth, R., 1992. Neutrophil, glass-adherent, nitroblue tetrazolium assay gives early indication of immunization effectiveness in rainbow trout. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 30, 419-429.
- Anonim, 2003a. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Kalıntı(Rezidü) İzleme Genelgesi(SÜHD/2002/12).
- Anonim, 2003b. Schering-Plough Animal Health, Drug and Diseases Directory, Tribissen 40% Powder, <http://www.spaquaculture.com>
- Arda, M., 1997. Temel Mikrobiyoloji, Medisan Yayın Serisi No.25, 490s.
- Austin, B., Austin, D.A., 1987. Bacterial Fish Pathogens, Diseases of Farmed and Wild Fish, Ellis Horwood Limited, 363pp.
- Bergsjö, T., Nafstad, I., Ingebrigtsen, K. 1979. The Distribution of <sup>35</sup>S-Sulfadiazin and <sup>14</sup>C-Trimetoprim in Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*, *Acta vet. Scand.*, 20, 25-37.
- Bergsjö, T., Sognen, E., 1980. Plasma and tissue levels of trimetoprim in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*, after absorption from fresh and salt water, *Acta Vet. Scand.*, 21, 18-25.
- Björklund, H., Bondestam, J., Bylund, G., 1991. Residues of oxytetracycline in wild fish and sediments from fish farms, *Aquaculture*, 86, 359-367.
- Björklund, H., Bylund, G., 1990. Temperature-related absorption and excretion of oxytetracycline in striped bass muscle, *Journal of Aquatic Animal Health*, 6, 349-354.
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W., 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish Biol.*, 5, 771-781.
- Brown, L., 1993. *Aquaculture for Veterinarians, Fish Husbandry and Medicine*, Pergamon Press, 447pp.

- Bruno, D.W., Alderman, D.J., Schlotfeldt, H.J., Baudin-Larencin, F., Bernoth, E.M., Daelman, W., Palmer, R., Thorud, K., 1995a. What Should I Do? A Practical Guide for the Fresh Water Fish Farmer, a Supplement to Bulletin of The European Association of Fish Pathologists, 15(4).
- Bruno, D.W., Alderman, D.J., Schlotfeldt, H.J., Baudin-Larencin, F., Bernoth, E.M., Daelman, W., Palmer, R., Thorud, K., 1995b. What Should I Do? A Practical Guide for the Marine Fish Farmer, a Supplement to Bulletin of The European Association of Fish Pathologists, 15(4).
- Campbell, K.L., 1999. Sulphonamides updates on use in veterinary medicine. *Veterinary Dermatology*, 10,205-215.
- Costello, M.J., Grant, A., Davies, I.M., Cecchini, S., Papoutsoglou, S., Qigley, D., Saroglia, M., 2001. the control of chemicals used in Europe. *J. Appl. Ichthyol.*, 17, 173-180.
- Çağırğan, H., Tanrıku, T.T., Tokşen, E., Balta, F., 1999. Çipura (*Sparus aurata*) ve Levrek Balıklarında Levrek (*Dicentrarchus labrax*) balıklarında oksitetrasiklinle sağaltım sonrasında kas ve deride rezidüsünün belirlenmesi, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, Veteriner ve Hayvancılık Araştırma Grubu, Proje No. VHAG-1333(197V029), 46 s.
- Grondel, J.L., Gloudemans, A.G.M., van Muiswinkel, W.B., 1985. The influence of antibiotics on the immune system. II. Modulation of fish leukocyte responses in culture. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 9, 251-260.
- Grondel, J.L., Nouws, J.F.M., van Muiswinkel, W.B., 1987. The influence of antibiotics on the immune system: immuno-pharmokinetic. Investigations on the primary anti- SRBC response in carp, *Cyprinus carpio* L., after oxytetracycline injection. *Journal of Fish Diseases*, 10, 35-43.
- Engstad, R.E., Robertsen, B., Frivold, E., 1992. Yeast glucan induces increase in lysozyme and complement-mediated haemolytic activity in Atlantic salmon blood. Reprinted from *Fish&Shellfish Immunology*, 2, 287-297.
- Haller, M.Y., Müller, S.R., McArdel, C.S., Alder, A.C., Suter, M.J.F., 2002. Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimetoprim) in animal manure by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 952, 111-120.
- Herwing, N., 1979. Handbook of Drugs and Chemicals Used in The Treatment of Fish Diseases, A Manual of Fish Pharmacology and Materia Medica, Charles C Thomas Publisher, 272pp.
- Hoffmann, R., and Lomel, R., 1984. Effect of repeated blood sampling on some blood Parameters in Freshwater Fish. *J. Fish. Biol.*, 24, 245-251.

- Hormazabal, V., Rogstad, A., 1992. Simultaneous determination of sulphadiazine and trimetoprim in plasma and tissues of cultured fish for residual and pharmacokinetic studies. *Journal of Chromatography*, 583, 201-207.
- Horsberg, T.E., Martinsen, B., Sandersen, K., and Zernichow, L., 1997. Potantiated sulphonamides: In vitro Inhibitory Effect and Pharmacokinetic Properties in Atlantik Salmon in Seawater, *Journal of Aquatic Animal Health*, 9, 203-210.
- Jacobsen, M.D. 1989. Withdrawal times of freshwater rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, after treatment with oxolinic acid, oxytetracycline and trimetoprim. *Journal of Fish Diseases*, 12, 29-36
- Kaya, S., 1991. Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım Seçenekleri, Ankara, 553-624s.
- Kaya, S., 1994. Kalıntıların bilimsel ve yasal kontrol seçenekleri. Hayvansal ürünlerde kalıntı, TÜBİTAK, Ankara VHAG Özel İhtisas Komisyonu Raporu; 174-212s.
- Kocabatmaz, M., Ekingen, G., 1982. Değişik tür balıklarda kan örneği alınması ve hematolojik metotların standardizasyonu. Veteriner ve Hayvancılık Araştırma Grubu, Proje No: VHAG-557, 72s.
- Lunden, T., Bylund, G., 2002. Effect of sulphadiazine and trimetoprim on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary Immunolog and Immunopathology*, 85, 99-108.
- Lunden, T., Miettinen, S., Lönnström, L.G., Lilius, E.M., Bylund, G., 1998. Influence of oxytetracycline and oxolinic acid on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol.*, 3, 217-230.
- Lunden, T., Miettinen, S., Lönnström, L.G., Lilius, E.M., Bylund, G., 1999. Influence of florfenicol on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 9, 251-260.
- Mc Carthy, D.H., Stevenson, J.P., Salsburg, A.W., 1974. A Comparative pharmacokinetic study of seven sulphonamides and a sulphonamid potentiator, trimetoprim, in rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson). *Aquaculture*, 4, 299-303
- Noga, E.J., 2000. *Fish Diseases Diagnosis and Treatment* , Iowa State University Pres, 367pp.
- Özdamar, K., 2001. Tıp Biyoloji Eczacılık ve Diş Hekimliği Öğrencileri İçin SPSS ile Biyoistatistik, Kaan Kitabevi, 452s.

- Papapanagiotou, E.P., Iossifidou, E.G., Psomas, I.E., Photis, G. 2000. Simultaneous HPLC determination of sulfadionine and trimetoprim in cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.) tissues., J. Liq. Chrom.& Rel. Technol., 23 (18), 2839-2849.
- Plakas, S.M., Dickey, R.W., Barron, M.G., Guarino, A.M., 1990. Tissue Distribution and Renal Excretion of Ormetoprim after Intravascular and Oral Administration in the Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*), Can. J. Fish. Aquat. Sci., Vol.47, 766-771.
- Plump, J.A., Maestrone, G., Quinlan, E. 1987. Use of a potentiated sulfonamide to control *Edwardsiella ictaluri* infection in channel catfish (*Ictalurus punctatus*), Aquaculture, 62, 187-194.
- Ramaiah, N., Manohar, L., Seenappa, D., 1988. Tissue levels of three sulphonamides in the fingerlings of rohu (*Labeo rohita*) and mrigal (*Cirrhinus mrigala*) fed at three different dosages, Indian Journal of Animal Science, 58 (8), 997-1002.
- Ramaiah, N., Manohar, L., Seenappa, D., 1989. Effect of three sulphonamides on the growth of mrigal *Cirrhinius mrigala* (Ham). Indian Journal of Animal Sciences, 59(3), 388-391.
- Rijkers, G.T., Teunissen, A.G., van Oosterom, R., van Muiswinkel, W.B., 1980. The immune system of cyprinid fish. The immuno suppressive effect of the antibiotic oxytetracycline in carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquaculture, 19, 177-189.
- Rijkers, G.T., van Oosterom, R., van Muiswinkel, W.B., 1981. The immune system vof cyprinid fish. Oxytetracycline and the regulation of humoral immunity in carp. Vet. Immunol. Immunopathol., 2, 281-290.
- Salte, R., Liestol, K., 1983. Drug Withdrawal from farmed fish. Depletion of oxytetracycline, sulfadiazin, and trimetoprim from muscular tissue of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Acta Vet. Scand., 24, 418-430.
- Samuelsen, O.B., 1994. Simultaneous determination of ormethoprim and sulphadimethoxine in plasma and muscle of Atlantic Salmon (*Salmo salar*). Journal of Chromathography B, 660, 412-417.
- Samuelsen, O.B., Lunestad, B.T., Jelmert, A., 1997. Pharmacokinetic and efficacy studies on bath-administering potentiated sulphonamides in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L.. Journal of Fish Diseases, 20, 287-296.
- Schnick, R.A., Alderman, D.J., Armstrong, R., Le Gouvello, R., Ishihara, S., Roth, M., 1997. World wide aquaculture drug and vaccine registation progress, Bull. Eur. Ass. Fish. Pathol., 17(6), 251-260.

- Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Dixon, O.W., 1989. Comparisons of nonspecific and specific immunomodulation by oxolinic acid. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 23, 195-200.
- Şener, S., 1990. Veteriner Klinik Farmakoloji ve Formüller, Pethask Veteriner Hekimliği Yayınları, No. 1, 546s.
- Tan, W.P., Wall, R.A., 1995. Disposition kinetics of trimetoprim in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Xenobiotica*, 25 (3), 315-329 (Abstract only).
- Treves-Brown, 2000. *Applied Fish Pharmacology*, Aquaculture Series 3, Kluwer Academic Publ., 309pp.
- Ueno, R., Uno, K., Aoki, T., 1994. Pharmacokinetics of sulphamono methoxine in cultured yellowtail after oral administration. *Food Research International*, 27, 33-37.
- Uno, K., Aoki, T., Veno, R., 1993. Pharmacokinetics of Sulphamonomethoxine and Sulphadimethoxine following oral administration to cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 115, 209-219.
- 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 A*, 670, 77-88

**ÖZGEÇMİŞ**

Adı Soyadı : Behire Işıl DİDİNEN

Doğum Yeri : Trabzon

Doğum Yılı : 29.05.1974

Medeni Hali : Evli

Eğitim ve Akademik Durumu :

Lise : 1989-1991 Trabzon Lisesi

Lisans : 1992-1996 Ondokuz Mayıs Üniv.-Sinop Su Ürünleri Fakültesi

Yüksek Lisans : 1999-2000 SDÜ Fen Bil. Enst. Su Ürünleri Yetiştiriciliği

Yabancı Dil : İngilizce

İş Deneyimi : 1998-2005 Araştırma Görevlisi

DENEYSEL OLARAK SULFADIAZİN VE  
TRİMETOPRİM VERİLEN GÖKKUŞAĞI  
ALABALIKLARINDA REZİDÜ VE  
BAZI SPESİFİK OLMAYAN İMMUNE SİSTEM  
PARAMETRELERİNİN ARAŞTIRILMASI  
Behire Işıl DİDİNEN  
Doktora Tezi  
Su Ürünleri Temel Bilimleri Anabilim Dalı  
ISPARTA, 2005