



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI  
VBH-YL-2012-0001

**AYDIN İLİNDE SATIŞA SUNULAN BROİLER ETLERİNDE  
BAZI ANTİBİYOTİK KALINTILARININ VARLIĞININ  
ARAŞTIRILMASI**

**Yeliz TEKGÜL**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Filiz KÖK**

**AYDIN-2012**

T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI  
VBH-YL-2012-0001

AYDIN İLİNDE SATIŞA SUNULAN BROİLER ETLERİNDE  
BAZI ANTİBİYOTİK KALINTILARININ VARLIĞININ  
ARAŞTIRILMASI

Yeliz TEKGÜL

DANIŞMAN

Doç. Dr. Filiz KÖK

AYDIN-2012

T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE  
AYDIN

Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Yeliz TEKGÜL tarafından hazırlanan “Aydın İlinde Satışa Sunulan Broiler Etlerinde Bazı Antibiyotik Kalıntılarının Varlığının Araştırılması” başlıklı tez 27.09.2012 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

**Unvanı, Adı ve Soyadı :**

1. Doç. Dr. Filiz KÖK
2. Doç. Dr. Ergün Ö. GÖKSOY
3. Prof. Dr. Cengiz GÖKBULUT

**Üniversitesi :**

- Adnan Menderes Üniversitesi  
Adnan Menderes Üniversitesi  
Adnan Menderes Üniversitesi

**İmzası:**



Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu (tezin türü) tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... Sayılı kararıyla ..... tarihinde onaylanmıştır.

Doç. Dr. Sacide KARAKAŞ

Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Hayvansal kaynaklı gıda maddeleri, insan vücudunda sentezlenmeyen eksojen aminoasitleri içermeleri dolayısıyla beslenmede yer alması zorunlu protein kaynaklarıdır. Tavuk etleri, % 25-30 oranında protein içermesi dolayısıyla, hayvansal kaynaklı protein içeren gıdaların en önemlilerindedir.

Tavuk eti; ince lifli, bağdoku ve yağ oranı düşük, kolay çiğnenebilir ve sindirilebilir nitelikte, düşük kalorili, B grubu vitaminleri ve demir gibi mineral maddeler, esansiyel aminoasitler ve yağ asitleri bakımından zengin bir besindir. Özellikle broiler ırkı, hızlı gelişmelerinden ve hastalıklara karşı dirençli olmalarından ötürü kanatlı et ihtiyacının karşılanmasında büyük öneme sahiptir. Broilerler, hemen hemen her bölge şartlarında yetişebilen, kısa zamanda yüksek canlı ağırlığına ulaşan, et verimi yüksek olan hayvanlardır.

Günümüzde geçerli olan yoğun işletmecilik modelinde, tarımsal üretim kaynakları en ekonomik şekilde kullanılarak hayvan başına maksimum verimin elde edilmesini sağlayacak ilkeler esas alınmaktadır. Bunun sağlanabilmesi için de daha verimli hayvan ırklarının geliştirilmesi, hastalıklara karşı koruyucu ve iyileştirici sağaltım uygulamalarının etkinleştirilerek yaygınlaştırılması, yem hammaddeleri ve karma yem kalitesinin iyileştirilmesi, besi hayvanlarında yemden yararlanma yeteneğinin geliştirilmesi ve birim zamanda en fazla canlı ağırlık kazancı sağlayabilecek yetiştiricilik yöntemleri ile biyoteknoloji uygulamaları vazgeçilmez seçenekler haline gelmiştir.

Diğer kasaplık hayvanlarda olduğu gibi broiler ırkı kanatlılarda da hastalıkların sağaltımı ve önlenmesi, gelişmenin hızlandırılması ve yemden yararlanmanın artırılması, paraziter hastalıkların kontrolü ve beslenmenin desteklenmesi amacıyla çok sayıda ilaç, hormon, vitamin ve mineral madde kullanılmaktadır. Doğrudan, yem ya da suya katılarak uygulanan ilaç ve diğer kimyasal maddelerin kullanılmalarını takiben kasaplık hayvanın doku ve organlarında biriken değişmemiş metabolitler, parçalanma ürünleri, serbest veya bağlı haldeki ilaç ya da kimyasal madde miktarları kalıntı olarak tanımlanmaktadır.

Koruyucu veya sağaltım amacıyla antibiyotik uygulanmış kasaplık hayvanlar kesim öncesi bekleme süreleri dikkate alınmadan kesildiğinde, karkaslarında ve tüketilebilir organlarda antibiyotik kalıntıları bulunacağından; bu etleri tüketen kişilerde alerjiden anaflaktik şoka kadar değişen şiddette zehirlenmelere, dirençli suşların ortaya çıkmasına,

ince ve kalın bağırsak bakteri florasının bozulmasına, teratojenik, mutajenik, karsinojenik etkilere neden olabilmektedir.

Kanatlı sektöründe kullanılan antibiyotikler arasında tetrasiklinler ve fenikoller yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerdir. Fenikoller grubunda yer alan kloramfenikolün hayvanlarda kullanımının yasaklanması, yetiştiricileri florfenikol kullanımına yöneltmiştir. Bu anlamda tetrasiklin grubu ve florfenikol gibi antibiyotiklerin broiler etlerinde bulunma olasılığı halk sağlığı açısından önemlidir. Bu çalışmada; Aydın ilinde çeşitli market ve kasaplardan elde edilen, farklı marka ve/veya zamanlarda toplanmış 80 adet broiler ırkı etlerde florfenikol ve tetrasiklin antibiyotiklerinin kalıntısı incelenerek halk sağlığı ve gıda güvenliği açısından risk taşıyıp taşımadığı araştırılmıştır. Çalışmamız; Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (VTF 12045) tarafından desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
KABUL VE ONAY	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1.GİRİŞ	1
1.1. Tavuk Etinin Besleyici Değeri	9
1.2. Antibakteriyel İlaçlar	10
1.2.1. Sülfonamidler	11
1.2.2. Penisilinler	12
1.2.3. Sefalosporinler	12
1.2.4. Kinolonlar	13
1.2.5. İyonofor Grubu Antibiyotikler	13
1.2.6. Nitrofuranlar ve Nitroimidazoller	14
1.2.7. Aminoglikozidler	14
1.2.8. Tetrasiklinler	15
1.2.9. Fenikoller	16
1.3. Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliğinde Antibiyotik Kullanımı	19
1.4. Tavuk Etinde Antibiyotik Kalıntı Riski	21
1.5. Gıdalardaki Antibiyotik Kalıntılarının Analizinde Kullanılan Teknikler	<b>23</b>
1.6. Gıdalarda Uygulanan Bazı İşlemlerin Antibiyotik Kalıntıları Üzerine Etkileri	24
1.7. Antibiyotik Kalıntılarına İlişkin Yasal Düzenlemeler	26
2. GEREÇ VE YÖNTEM	28
2.1. Materyal	28
2.1.1. Tavuk eti	28
2.1.2. Kullanılan Ekipman	28
2.1.2.1. Cam Malzemeler	28
2.1.2.2. Laboratuvar Araçları	28
2.1.2.3. ELISA Test Kitleri	28

2.1.2.4. LC-MS/MS Cihazı ve Aksesuarları	28
2.1.2.5. Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanması	29
2.1.2.6. Kimyasallar	29
2.1.2.7. Solüsyonlar	29
2.2. Yöntem	30
2.2.1. Numunelerin Hazırlanması	30
2.2.2. ELISA Testi	30
2.2.3. Tetrasiklin Grubu Antibiyotikler İçin ELISA Metodu	30
2.2.4. Florfenikol Grubu Antibiyotikler İçin ELISA Metodu	31
2.2.5. LC-MS/MS Analizi	32
3. BULGULAR	33
4. TARTIŞMA	38
5. SONUÇ	42
ÖZET	44
ABSTRACT	46
KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇMİŞ	61

## SİMGELER VE KISALTMALAR

AB:	Avrupa Birliği (European Union)
ELISA:	Enzim İşaretli İmmunosorbent Testi (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
FAO:	Gıda ve Tarım Teşkilatı (Food and Agriculture Organization)
FDA:	Gıda ve İlaç Uygulaması (Food and Drug Administration)
HPLC:	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (High Pressure Liquid Chromatography)
LC:	Sıvı Kromatografisi (Liquid Chromatography)
LC-MS/MS:	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (High-performance Liquid Chromatography Coupled With Tandem Mass Spectrometry)
MRL:	Maksimum Kalıntı Limitleri (Maximum Residues Limits)
NRC:	Ulusal Araştırma Konseyi (National Research Council)
UV:	Ultraviyole (Ultraviolet)
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
°C:	Santigrat derece (Centigrade degree)
ml:	Mililitre (Milliliter)
nm:	Nanometre (Nanometer)
µl:	Mikrolitre (Microliter)
ppm:	Milyonda bir (Parts per million)
ppb:	Milyarda bir (Parts per billion)



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge.1</b> Çiğ Tavuk Etinin İçerdiği Enerji ve Besin Öğeleri Miktarı (100g)	9
<b>Çizelge.2</b> Tavuk Etinin 100 gramındaki Esansiyel Aminoasit Miktarı	10
<b>Çizelge 3.</b> Yıllara Göre Antibiyotik Büyütme Faktörlerinin Yasaklanması	20
<b>Çizelge 4.</b> Antibiyotik Kalıntı Limitleri	22
<b>Çizelge 5.</b> Broiler Örneklerinde Tetrasiklin ve Florfenikol Antibiyotik Varlığına Ait ELISA Test Sonuçları	33
<b>Çizelge 6.</b> Broiler Etinde LC-MS/MS Analizi Sonucu Elde Edilen Kalıntı Seviyeleri (ppb)	34
<b>Çizelge 7.</b> LC-MS/MS Analiz Sonuçları	34

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 1.</b> Tetrasiklinlerin Yapıları	16
<b>Şekil 2.</b> Florfenikollerin Yapıları	17
<b>Şekil 3.</b> Kloramfenikollerin Yapıları	18
<b>Şekil 4.</b> Tiamfenikollerin Yapıları	18
<b>Şekil 5.</b> Tetrasiklin İçermeyen Numuneden Elde Edilen LC-MS/MS Kromatogramı	35
<b>Şekil 6.</b> 100 ppb Tetrasiklin Enjekte Edilen Numuneden Elde edilen LC-MS/MS Kromatogramı (1)	35
<b>Şekil 7.</b> 100 ppb Tetrasiklin Enjekte Edilen Numuneden Elde Edilen LC-MS/MS Kromatogramı (2)	35
<b>Şekil 8.</b> 500 Ppb Tetrasiklin Enjekte Edilen Numuneden Elde Edilen LC-MS/MS Kromatogramı (1)	36
<b>Şekil 9.</b> 500 Ppb Tetrasiklin Enjekte Edilen Numuneden Elde Edilen LC-MS/MS Kromatogramı (2)	36
<b>Şekil 10.</b> ELISA Testine Göre Tetrasiklin Pozitif Olarak Değerlendirilen En Düşük Miktarda Kalıntı İçeren Örneklerden Birine Ait Kromatogram Sonucu	37
<b>Şekil 11.</b> ELISA Testine Göre Tetrasiklin Pozitif Olarak Değerlendirilen En Yüksek Miktarda Kalıntı İçeren Örneklerden Birine Ait Kromatogram Sonucu	37

# 1. GİRİŞ

Proteinler, yeterli ve dengeli beslenmenin gerçekleşmesi için tüketilmesi gereken en önemli besin unsurlarındandır. Hayvansal gıdalar, insan vücudunda sentezlenmeyen eksojen aminoasitleri içermeleri dolayısıyla beslenmede yer alması zorunlu gıdalardandır. Bu anlamda tavuk eti, % 25-30 protein oranıyla değerli bir protein kaynağıdır (Türker 1997, Uğur ve ark 1999).

2009-2011 yılları arasında dünyada kanatlı eti ve ürünleri üretiminde başı çeken ülkeler sırasıyla ABD (19,7 milyon ton, % 19), Çin Halk Cumhuriyeti (17,4 milyon ton, % 17) ve Brezilya'dır (11,5 milyon ton, % 11). Dünya kanatlı eti ve ürünleri üretiminde ilk on ülkenin aldığı pay % 64'tür. Türkiye ortalama 1.462.000 ton (% 2) ile 10. sırada yer almaktadır. Ülkemiz dünya kanatlı eti ve ürünleri ihracatında ise 16. sıradadır. Mevcut pazarlarımız; Orta Doğu, Uzak Doğu ve Kafkaslar'ı içine alan geniş bir coğrafyaya yayılmış bulunmaktadır. Kümes hayvanları eti ve sakatatı ihracatı gerçekleştirdiğimiz başlıca ülkeler, Irak (% 64), Libya (% 5), Hong Kong (% 5), İran (% 5), Vietnam (% 4) ve % 3 ile Azerbaycan'dır (Anonim 2013).

Günümüzde kanatlı sektörde üretimin artırılması aynı zamanda insan sağlığı açısından gıda güvenliğine uygun ürün elde edilmesi çeşitli uygulamaları beraberinde getirmiştir. Öncelikle verim kayıplarına sebep olan kanatlı hayvan hastalıklarının önlenmesi, yemden yararlanmanın ve canlı ağırlık artışının sağlanması, gelişmenin hızlandırılması, sektörde ilaç kullanımını vazgeçilmez bir uygulama haline getirmiştir. Bu amaçlarla yararlanılan bir dizi ilaç arasında antibiyotikler önemli bir yer tutmaktadır (Ayaz ve Yurttagül, 2008). Ancak, antibiyotik kullanımının sakıncaları dikkate alındığında çiftlik hayvanları endüstrisinde verimi maksimuma çıkarmak için yeni yollar bulunması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Hayvancılıkta et üretimi üç yolla artırılabilir(Tuncer 2007):

1. Büyük çoğunluğunu düşük verimlilerin oluşturduğu yerli hayvanların kültür ırkları ile ıslahı,
2. Mevcut hayvanların rasyonel beslenmesi ve bakımının iyileştirilmesi,
3. Hayvanlarda et verimini arttıran maddelerin kullanılması.

Verimi arttırmada kullanılan yöntemlerden ıslah çalışmalarının gerçekleştirilmesi uzun zaman almaktadır. Nitekim Türkiye'de 1926 yılında sığır popülasyonunda başlatılan

ıslah çalışmaları ve hayvan ithalinin sonucu olarak, 2004 yılında populasyonun % 21'i kültür, % 44' kültür ırkı melezi ve % 35'i yerli ırklardan oluşmuştur. İkinci yol, üreticinin eğitimi ile yem-ürün fiyat ilişkilerine ve hükümetlerin ekonomi politikalarına bağlı olduğundan, zaman alıcı ve devamlılığı kuşkuludur. Et verimini arttıran maddeler, hayvanların genetik yapısı ve beslenme düzeyine bağlı olmaksızın hayvanlara verildiği ilk günden itibaren etkisini gösterdiklerinden verimi arttırmada faydalanılabilecek en etkin yöntemdir (Tuncer 2007).

Veteriner ilaçları ve yemlere katılan katkı maddeleri gibi farmakolojik etkili maddeler, veteriner hekimliği ve hayvan yetiştiriciliğinin önemli ihtiyaçlarından biridir. Kullanılan farmakolojik etkili maddelerden en önemlisi de antibiyotiklerdir. Antibiyotikler, bakteri, mantar, aktinomisetler gibi mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen ya da sentetik olarak hazırlanan, bakterilerin gelişmesini engelleyen veya öldüren maddelerdir. Bakterilere olan etkilerine göre antibiyotikler, bakteriyostatikler ve bakterisidler olarak ikiye ayrılırlar. Antibiyotikler, bakterilerde hücre duvarının sentezini engelleyerek, stoplazmik zarın geçirgenliğini değiştirerek, nükleik asit sentezini önleyerek ve ara metabolizmayı bozarak etkilerini oluştururlar (Kaya ve ark 2002).

Entansif retim şekli ile yetiştirilen broiler pililerine, kesim öncesi devrede hastalıkların önlenmesi ve sağaltımı amacıyla veteriner ilaçları uygulanmaktadır (Anonim 2010, Pavlov ve ark 2008). Hayvansal ve bitkisel üretimde kullanılan ilaç ve kimyasal maddelerin birçoğu uygulandıkları alanlarda ve dahil oldukları canlıların vücudunda kısmen parçalanarak etkisiz hale gelmektedir. Bazıları da son derece yavaş ayrışmaları nedeniyle, giderek artan miktarlarda doku ve organlarda birikim göstermektedir. Özellikle yoğun kullanım alanı bulunan antibiyotiklerin organizmadan atılma süreleri dikkate alınmadığında, hayvansal orijinli besin maddelerinde kalıntılara rastlanılır. Doku ve organlarda bulunan tolerans düzeyinin üzerindeki tüm kalıntılar, tüketiciler için toksikolojik açıdan önem taşır ve tehlikeli kabul edilir (Demir 2004).

Hayvanlarda gereğinden fazla miktarda ilaç kullanımı, ilaç uygulanan hayvanların, ilacın formülasyonu, verilme yolu vb. durumlara göre, belli bir süre geçmeden veya bekletilmeden kasaplık olarak kesilmesi, ruhsatsız ilaç kullanımı, ilaç prospektüsüne (doz ve sre) veya veteriner hekimin talimatına uyulmaması, hatalı ilaç kullanılması, veteriner hekimlerin sağaltım amaçlı olarak antibiyogram yapmadan ilaç vermeleri, ilaç kullanılan hayvanlarda ilacın vücuttan atılmasını yavaşlatan hastalık vb. durumların (böbrek

yetmezliği gibi) bulunması, dokularda kalıntıya rastlanılmasına neden olan etmenlerdir (Bane ve ark 1989, Impens ve ark 2003).

Kalıntılar, insanlarda alerjiden anaflaktik şoka kadar değişen şiddette zehirlenmelere ve teratojenik, mutajenik, karsinojenik etkilere neden olabilmektedir. Dünya Sağlık Örgütünün yayınladığı bir raporda insanlara geçen antibiyotik kalıntılarının vücuttaki dirençsiz ve zararsız bakterileri öldürerek, güçlü ve zararlı bakterilerin çoğalmasına sebep olduğu ve hastalık esnasında kullanılan antibiyotiklerin giderek etkisiz kaldığı belirtilmiştir (Duru ve Şahin 2004).

Kalıntılar, yoğurt, peynir ve sucuk imalatı başta olmak üzere, besin endüstrisinde starter kültürlerin üremesini engelleyerek üretim hatalarının ortaya çıkmasına ve ekonomik kayıplara neden olabilmektedir (Van Den ve ark 2000, Uğur ve ark 1999)

İnsan bağırsağında, doğal florayı oluşturan yaklaşık  $1 \times 10^{11}$  kob/g bakteri bulunmaktadır. Bağırsakta bulunan bakterilerin sindirime yardımcı olmalarının yanında, hastalık yapıcı bakterilerin girişine ve üremelerine engel olmak gibi önemli fizyolojik görevleri mevcuttur. Kalıntılar yolu ile insan vücuduna alınan ilaçlar, ince ve kalın bağırsaklarda bulunan bakteri topluluğunun değişmesine yol açarak doğal flora zarar verebilmektedir (Şanlı 2007).

Hayvansal orjinli gıdalarda bulunan antibiyotik kalıntıları, çeşitli patojen mikroorganizmaları baskı altında tuttuğundan, bu tür gıdaların bakteriyolojik olarak analizleri sırasında yanlış değerlendirmeler yapılabilir (Linton 1977). Özellikle *Salmonella* türleri, antibiyotiklerin etkisi altında maskelenir. *Salmonella* gibi patojen etkenlerin ette mevcut oldukları halde tespit edilememeleri halk sağlığı açısından tehlikelere neden olabilmektedir (Oggard 1973).

Antibiyotiklere direnç geni plazmidler, transpozonlar ve integronlar aracılığıyla konak hücre bölünmesi sırasında vertikal olarak geçtiği gibi, karışık bakteriyel popülasyonlardaki aynı veya farklı tür ve soylardaki patojen veya apatojen bakteriler arasında transdüksiyon, konjugasyon veya transformasyon aracılığı ile horizontal olarak da geçebilmektedir (Doyle 2006). Ankara'daki marketlerden alınan hindi but, göğüs ve kuşbaşı etlerinden izole edilen *Salmonella spp.* % 50.9 düzeyinde tetrasiklin'e, *Listeria monocytogenes* % 83.3 düzeyinde penisilin'e ve *Clostridium perfringens* % 100 düzeyinde trimetoprim'e karşı en fazla dirençli bulunurken, izolatların çoklu antibiyotik direnci gösterdiği saptanmıştır (Erol ve ark 2006).

Florokinolon ve tetrasiklin grubu antibiyotiklerin kanatlılarda yaygın bir şekilde kullanılması sonucu, bu antibiyotiklere karşı termofilik *Campylobacter spp.*'nin artan oranda direnç kazandığı gözlenmiştir. Buna bağlı olarak kanatlı etlerinin, çoklu antibiyotik direnci gösteren enteropatojenik bakterilerin insanlara geçişinde önemli bir kaynak olduğu belirtilmiştir (Sackey ve ark 2001).

Avoparsin'in büyütme faktörü olarak kanatlı yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılmasıyla, enterekoklarda vankomisine karşı çapraz direnç geliştiği ve bu direncin de *Staphylococcus aureus*'a aktarıldığı bildirilmiştir (Borgen ve ark 2000).

Patojen mikroorganizmaların çoklu direnç özelliklerinin antibiyotiklerle artması ve benzer antibiyotik gruplarının insan ve hayvan tedavisinde kullanılıyor olması, insan tedavisinde kullanılacak antibiyotik sayısında büyük bir azalmanın olacağını düşündürmektedir. Dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına neden olan antibiyotiğin etkinliği azalmakta, iyileşme sürecinin gecikmesine bağlı olarak ilaç kullanımı da artmaktadır. Bu dirençli patojenlerin ve direnç genlerinin hayvanlardan insanlara geçmesi, insanlardaki enfeksiyonların tedavisi konusunda ciddi bir kaygı yaratmaktadır (Tollefson ve Karp 2004). Halk sağlığını korumak için dirençli bakterilerin hayvanlardan insanlara geçmesinin kontrol edilmesi gerekmektedir (Van Den ve ark 2000).

Tüketicileri antibiyotiklerin olumsuz etkilerine karşı korumak amacıyla federal devletlerin girişimi sonucu hayvansal kaynaklı gıdalarda kullanılacak ilaçların maksimum limitleri kanunlarla belirlenmiştir (Anonim 2009, Anonim 2010). İlaçların onay aşamasında güvenli kullanımları ile ilgili çalışmalar yapılmakta, firmalar ile protokoller imzalanmaktadır. Bu çalışmalar ilaçların emilimi, dağılımı ve hayvan metabolizmasındaki etkilerini kapsamaktadır (Riviere 1991). Yapılan çalışmalar yenilebilir dokularda uzun süre sonunda yüksek konsantrasyonlu kalıntılara rastlanabileceğini ortaya koymuştur. Hedef doku olarak adlandırılan bu dokular gıda güvenliğini sağlamak amacıyla üretim sonrasında izlenebilmektedir (Clement 1995). Hedef dokulardan alınan örnekler analiz edilerek antibiyotik kalıntı miktarları tespit edilmektedir. Elde edilen değerler insanların tükettikleri diğer et türleri için de örnek teşkil etmekte ve kalıntı sınır değerleri belirlenmektedir. Ürünlerin izlenme süreci olarak adlandırılan bu süreç, analizde kullanılacak dokuların miktarca fazla olması dolayısıyla üreticiler açısından maddi kayba neden olmaktadır. Ayrıca kesimhanelerde hatların dakikada 70-160 kanatlı hayvan karkasının geçişine izin verecek şekilde düzenlenmiş olması, dokuların toplanma sürecini zorlaştırmakta ve

uzatmaktadır. Kan, hayvansal dokulardaki kalıntıları belirlemek için kullanılan alternatif bir maddedir. Bu örnekleme stratejisi işletmelerde ürün kaybını önleyerek maliyeti düşürmekte ve kısa sürede sonuç alınmaktadır ( Berrang ve ark 2007, Anonim 2010) .

Proteinler, yeterli ve dengeli beslenmenin gerçekleşmesi için tüketilmesi gereken en önemli besin unsurlarındandır. Hayvansal gıdalar, insan vücudunda sentezlenmeyen eksojen aminoasitleri içermeleri dolayısıyla beslenmede yer alması zorunlu gıdalardandır. Bu anlamda tavuk eti, % 25-30 protein oranıyla değerli bir protein kaynağıdır (Türker 1997, Uğur ve ark 1999).

2009-2011 yılları arasında dünyada kanatlı eti ve ürünleri üretiminde başı çeken ülkeler sırasıyla ABD (19,7 milyon ton, % 19), Çin Halk Cumhuriyeti (17,4 milyon ton, % 17) ve Brezilya'dır (11,5 milyon ton, % 11). Dünya kanatlı eti ve ürünleri üretiminde ilk on ülkenin aldığı pay % 64'tür. Türkiye ortalama 1.462.000 ton (% 2) ile 10. sırada yer almaktadır. Ülkemiz dünya kanatlı eti ve ürünleri ihracatında ise 16. sıradadır. Mevcut pazarlarımız; Orta Doğu, Uzak Doğu ve Kafkaslar'ı içine alan geniş bir coğrafyaya yayılmış bulunmaktadır. Kümes hayvanları eti ve sakatatı ihracatı gerçekleştirdiğimiz başlıca ülkeler, Irak (% 64), Libya (% 5), Hong Kong (% 5), İran (% 5), Vietnam (% 4) ve Azerbaycan'dır (% 3) (Anonim 2013).

Günümüzde kanatlı sektöründe üretimin artması aynı zamanda insan sağlığı açısından gıda güvenliğine uygun ürün elde edilmesi çeşitli uygulamaları beraberinde getirmiştir. Öncelikle verim kayıplarına sebep olan kanatlı hayvan hastalıklarının önlenmesi, yemden yararlanmanın ve canlı ağırlık artışının sağlanması, gelişmenin hızlandırılması, sektörde ilaç kullanımını vazgeçilmez bir uygulama haline getirmiştir. Bu amaçlarla yararlanılan bir dizi ilaç arasında antibiyotikler önemli bir yer tutmaktadır (Ayaz ve Yurttagül, 2008). Ancak, antibiyotik kullanımının sakıncaları dikkate alındığında çiftlik hayvanları endüstrisinde verimi maksimuma çıkarmak için yeni yollar bulunması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Hayvancılıkta et üretimi üç yolla artırılabilir (Tuncer 2007):

1. Büyük çoğunluğunu düşük verimlilerin oluşturduğu yerli hayvanların kültür ırkları ile ıslahı,
2. Mevcut hayvanların rasyonel beslenmesi ve bakımının iyileştirilmesi,
3. Hayvanlarda et verimini arttıran maddelerin kullanılması.

Verimi arttırmada kullanılan yöntemlerden ıslah çalışmalarının gerçekleştirilmesi uzun zaman almaktadır. Nitekim Türkiye’de 1926 yılında sığır popülasyonunda başlatılan ıslah çalışmaları ve hayvan ithalinin sonucu olarak, 2004 yılında popülasyonun % 21’i kültür, % 44’ü kültür ırkı melezi ve % 35’i yerli ırklardan oluşmuştur. İkinci yol, üreticinin eğitimi ile yem-ürün fiyat ilişkilerine ve hükümetlerin ekonomi politikalarına bağlı olduğundan, zaman alıcı ve devamlılığı kuşkuludur. Et verimini arttıran maddeler, hayvanların genetik yapısı ve beslenme düzeyine bağlı olmaksızın hayvanlara verildiği ilk günden itibaren etkisini gösterdiklerinden verimi arttırmada faydalanılabilecek en etkin yöntemdir (Tuncer 2007).

Veteriner ilaçları ve yemlere katılan katkı maddeleri gibi farmakolojik etkili maddeler, veteriner hekimliği ve hayvan yetiştiriciliğinin önemli ihtiyaçlarından biridir. Kullanılan farmakolojik etkili maddelerden en önemlisi de antibiyotiklerdir. Antibiyotikler, bakteri, mantar, aktinomisetler gibi mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen ya da sentetik olarak hazırlanan, bakterilerin gelişmesini engelleyen veya öldüren maddelerdir. Bakterilere olan etkilerine göre antibiyotikler, bakteriyostatikler ve bakterisidler olarak ikiye ayrılırlar. Antibiyotikler, bakterilerde hücre duvarının sentezini engelleyerek, stoplazmik zarın geçirgenliğini değiştirerek, nükleik asit sentezini önleyerek ve ara metabolizmayı bozarak etkilerini oluştururlar (Kaya ve ark 2002).

Entansif üretim şekli ile yetiştirilen broiler piliçlerine, kesim öncesi dönemde görülen hastalıkların önlenmesi ve sağaltımı amaçlı veteriner ilaçları uygulanmaktadır (Anonim 2010, Pavlov ve ark 2008). Hayvansal ve bitkisel üretimde kullanılan ilaç ve kimyasal maddelerin birçoğu uygulandıkları alanlarda ve dahil oldukları canlıların vücudunda kısmen parçalanarak etkisiz hale gelmektedir. Bazıları da son derece yavaş ayrışmaları nedeniyle, giderek artan miktarlarda birikim gösterirler. Özellikle yoğun kullanım alanı bulunan antibiyotiklerin organizmadan atılma süreleri dikkate alınmadığında, hayvansal orijinli besin maddelerinde kalıntılara rastlanılır. Doku ve organlarda bulunan tolerans düzeyinin üzerindeki tüm kalıntılar, tüketiciler için toksikolojik açıdan önem taşır ve tehlikeli kabul edilir (Demir 2004).

Hayvanlarda gereğinden fazla miktarda ilaç kullanımı, ilaç uygulanan hayvanların, ilacın formülasyonu, verilme yolu vb. durumlara göre, belli bir süre geçmeden veya bekletilmeden kasaplık olarak kesilmesi, ruhsatsız ilaç kullanımı, ilaç prospektüsüne (doz ve süre) veya veteriner hekimin talimatına uyulmaması, hatalı ilaç kullanılması, veteriner



hekimlerin sağaltım amaçlı olarak antibiyogram yapmadan ilaç vermeleri, ilaç kullanılan hayvanlarda ilacın vücuttan atılmasını yavaşlatan hastalık vb. durumların (böbrek yetmezliği gibi) bulunması, dokularda kalıntıya rastlanılmasına neden olan etmenlerdir (Bane ve ark 1989, Impens ve ark 2003).

Kalıntılar, insanlarda alerjiden anaflaktik şoka kadar değişen şiddette zehirlenmelere ve teratojenik, mutajenik, karsinojenik etkilere neden olabilmektedir. Dünya Sağlık Örgütünün yayınladığı bir raporda insanlara geçen antibiyotik kalıntılarının vücuttaki dirençsiz ve zararsız bakterileri öldürerek, güçlü ve zararlı bakterilerin çoğalmasına sebep olduğu ve hastalık esnasında kullanılan antibiyotiklerin giderek etkisiz kaldığı belirtilmiştir (Duru ve şahin 2004).

Kalıntılar, yoğurt, peynir ve sucuk imalatı başta olmak üzere, besin endüstrisinde starter kültürlerin üremesini engelleyerek üretim hatalarının ortaya çıkmasına ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Van Den ve ark 2000, Uğur ve ark 1999)

İnsan bağırsağı içeriğinde, doğal florayı oluşturan yaklaşık  $1 \times 10^{11}$  kob/g bakteri bulunmaktadır. Bağırsakta bulunan bakterilerin sindirime yardımcı olmalarının yanında, hastalık yapıcı bakterilerin girişine ve üremelerine engel olmak gibi önemli fizyolojik görevleri mevcuttur. Kalıntılar yolu ile insan vücuduna alınan ilaçlar, ince ve kalın bağırsaklarda bulunan bakteri topluluğunun değişmesine yol açarak doğal flora zarar verebilmektedir (şanlı 2007).

Hayvansal orjinli gıdalarda bulunan antibiyotik kalıntıları, çeşitli patojen mikroorganizmaları baskı altında tuttuğundan, bu tür gıdaların bakteriyolojik olarak analizleri sırasında yanlış değerlendirmeler yapılabilmektedir (Linton 1977). Özellikle *Salmonella* türleri antibiyotiklerin etkisi altında maskelenir. *Salmonella* gibi patojen etkenlerin ette mevcut oldukları halde tespit edilememeleri halk sağlığı açısından tehlikelere neden olabilmektedir (Oggard 1973).

Antibiyotiklere direnç geni plazmidler, transpozonlar ve integronlar aracılığıyla konak hücre bölünmesi sırasında vertikal olarak geçtiği gibi, karışık bakteriyel popülasyonlardaki aynı veya farklı tür ve soylardaki patojen veya apatojen bakteriler arasında transdüksiyon, konjugasyon veya transformasyon aracılığı ile horizontal olarak da geçebilmektedir (Doyle 2006). Ankara'daki marketlerden alınan hindi but, göğüs ve kuşbaşı etlerinden izole edilen *Salmonella spp.* % 50.9 düzeyinde tetrasiklin'e, *Listeria monocytogenes* % 83.3 düzeyinde penisilin'e ve *Clostridium perfringens* % 100 düzeyinde

trimetoprim'e karşı en fazla dirençli bulunurken, izolatların çoklu antibiyotik direnci gösterdiği saptanmıştır (Erol ve ark 2006).

Florokinolon ve tetrasiklin grubu antibiyotiklerin kanatlılarda yaygın bir şekilde kullanılması sonucu, bu antibiyotiklere karşı termofilik *Campylobacter spp.*'nin artan oranda direnç kazandığı gözlenmiştir. Buna bağlı olarak kanatlı etlerinin, çoklu antibiyotik direnci gösteren enteropatojenik bakterilerin insanlara geçişinde önemli bir kaynak olduğu belirtilmiştir (Sackey ve ark 2001).

Avoparsin'in büyütme faktörü olarak kanatlı yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılmasıyla, enterekolarda vankomisine karşı çapraz direnç geliştiği ve bu direncin de *S. aureus*'a aktarıldığı bildirilmiştir (Borgen ve ark 2000).

Patojen mikroorganizmaların çoklu direnç özelliklerinin antibiyotiklerle artması ve benzer antibiyotik gruplarının insan ve hayvan tedavisinde kullanılıyor olması, insan tedavisinde kullanılacak antibiyotik sayısında büyük bir azalmanın olacağını düşündürmektedir. Dirençli bakterilerin ortaya çıkmasına neden olan antibiyotiğin etkinliği azalmakta, iyileşme sürecinin gecikmesine bağlı olarak ilaç kullanımı da artmaktadır. Bu dirençli patojenlerin ve direnç genlerinin hayvanlardan insanlara geçmesi, insanlardaki enfeksiyonların tedavisi konusunda ciddi bir kaygı yaratmaktadır (Tollefson ve Karp 2004). Halk sağlığını korumak için dirençli bakterilerin hayvanlardan insanlara geçmesinin kontrol edilmesi gerekmektedir (Van Den ve ark 2000).

Tüketicileri antibiyotiklerin olumsuz etkilerine karşı korumak amacıyla federal devletlerin girişimi sonucu hayvansal kaynaklı gıdalarda kullanılacak ilaçların miktarları ortaya konulmuştur (Anonim 2009, Anonim 2010). İlaçların onay aşamasında güvenli kullanımları ile ilgili çalışmalar yapılmakta, firmalar ile protokoller imzalanmaktadır. Bu çalışmalar ilaçların emilimi, dağılımı ve hayvan metabolizmasındaki etkilerini kapsamaktadır (Riviere 1991). Yapılan çalışmalar yenilebilir dokularda uzun süre sonunda yüksek konsantrasyonlu kalıntılara rastlanabileceğini ortaya koymuştur. Hedef doku olarak adlandırılan bu dokular gıda güvenliğini sağlamak amacıyla üretim sonrasında izlenebilmektedir (Clement 1995). Hedef dokulardan alınan örnekler analiz edilerek antibiyotik kalıntı miktarları tespit edilmektedir. Elde edilen değerler insanların tükettikleri diğer et türleri için de örnek teşkil etmekte ve kalıntı sınır değerleri belirlenmektedir. Ürünlerin izlenme süreci olarak adlandırılan bu süreç, analizde kullanılacak dokuların

miktarca fazla olması dolayısıyla üreticiler açısından maddi kayba neden olmaktadır. Ayrıca kesimhanelerde hatların dakikada 70-160 kanatlı hayvan karkasının geçişine izin verecek şekilde düzenlenmiş olması, dokuların toplanma sürecini zorlaştırmakta ve uzatmaktadır. Kan, hayvansal dokulardaki kalıntıları belirlemek için kullanılan alternatif bir maddedir. Bu örnekleme stratejisi işletmelerde ürün kaybını önleyerek maliyeti düşürmekte ve kısa sürede sonuç alınmaktadır ( Berrang ve ark 2007, Anonim 2010) .

### 1.1. Tavuk Etinin Besleyici Değeri

Tavuk eti, sağlıklı ve dengeli beslenme, bedensel ve zihinsel gelişim için tüketilmesi gereken protein kaynaklarının en önemlilerinden biridir. Tavuk eti proteinleri; insan beslenmesinde gerekli tüm aminoasitleri yeterli ve dengeli miktarda içermektedir. Tavuk eti hayvansal protein kaynağı olmasının yanında, bazı mineraller ve B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> vitaminlerini içerdiğinden sağlıklı beslenme için avantajlı bir gıda maddesidir (İnal 1992). Ayrıca düşük miktarda sodyum içerdiğinden tansiyon hastalarına uygun bir besin kaynağıdır. Liflerinin kısa olmasından ötürü sindirimleri kolaydır. 100 g çiğ tavuk etinin içerdiği enerji ve besin öğeleri miktarı **Çizelge 1**'de verilmiştir (Anonim 2013).

**Çizelge.1** Çiğ Tavuk Etinin İçerdiği Enerji ve Besin Öğeleri Miktarı (100g)

Besin Öğeleri	Göğüs	But	Derili Et
Enerji (kkal)	116	126	230
Protein (g)	21,8	19,1	17,6
Yağ (g)	3,2	5,5	17,7
Sodyum (mg)	72	89	70
Potasyum (mg)	330	300	260
Kalsiyum (mg)	10	11	10
Magnezyum (mg)	27	22	20
Demir (mg)	0.5	0.9	0.7
Bakır (mg)	0.14	0.25	0.16
Çinko (mg)	0.7	1.6	1.0
B6 vitamin (mg)	0.53	0.30	0.30
Folik asit (mcg)	8	12	7
Biotin (mcg)	2	3	2
Pantoneikasit (mg)	1.2	1.3	0.9
Tiamin ( B <sub>1</sub> vit)	1.1	0.11	0.08
Riboflavin (B <sub>2</sub> vit)	0.1	0.22	0.14

Tavuk etinin proteinleri insan beslenmesi için gerekli olduğu bilinen tüm esansiyel aminoasitleri yeterli miktarda ve dengeli oranlarda bulundurmaktadır. Bu nedenle protein kalitesi, sindirilme oranı ve biyolojik değeri de yüksektir (Anonim 2009).

**Çizelge.2** Tavuk Etinin 100 gramındaki Esansiyel Aminoasit Miktarı

Aminoasit Çeşidi	Miktar (mg)
Fenilalanin	842
Lösin	1540
Lisin	1871
İzolosin	1125
Triptofan	907
Methionin	556
Valin	750
Teronin	250

Günümüzde ölüm nedenlerinin başında gelen koroner kalp hastalıklarından korunmanın en önemli yolu doymuş yağ asitlerince zengin yağların tüketilmesinden kaçınmaktır. Tavuk etinde doymamış yağ asitleri oranı kırmızı ete göre daha yüksek olduğundan tavuk etince zengin beslenme düzeninde kolesterol seviyesinin çok düşük olduğu ve damar sertliği riskinin azaldığı saptanmıştır (Anonim 2013).

## 1.2. Antibakteriyel İlaçlar

İlaç sanayi özel ihtisas komisyonu raporu 2004 yılı verilerine göre dünya veteriner sağlık ürünleri pazarı 13.7 milyar USD'dir. Hayvansal gıda elde edilmesi amacı ile yapılan hayvan yetiştiriciliğinde kullanılan ürünler global pazarın % 60'ını oluşturmaktadır. Veteriner sağlık ürünleri yurtiçi tüketim miktarlarına bakıldığında Türkiye'de toplam tüketimin % 77'sini hayvansal üretimde önemli kayıplara neden olan bakteriyel ve paraziter hastalıklarla mücadele ile verimlerin artırılmasını destekleyici ürünlerin oluşturduğu görülmektedir. Bu oranın % 33'ünü antibakteriyeller oluşturmaktadır. Antibakteriyel ilaçlar düşük konsantrasyonlarda dahi mikroorganizmaların gelişimini önlemektedir (Botsoglou ve Fletouris 2001, Walsh 2003). Hayvanlarda hastalıkların kontrol ve tedavisinde kullanılan antibakteriyel ilaçlar insanların tedavisinde kullanılanlarla benzerlik göstermektedir (Prescott 2008). Hayvan refahını arttırmak için 1940 yılından bu yana antibakteriyel ilaçlar kullanılmaktadır (Jones ve Ricke 2003). Antibiyotiklerin 1950'lerin başında hayvan yemlerinde kullanılmaya başlanmasıyla

yetiştiricilikte yeni bir dönem başlamıştır. Ancak profilaktik veya gelişmeyi hızlandırıcı olarak kullanılan antibiyotiklerin çoğu, insan ve hayvanlarda patojen bakteri türleri (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*) arasında ortaya çıkan dirençli suşların hızla artması nedeniyle kullanım ömrünü tamamlamak zorunda kalmışlardır (Doyle 2006). Kanatlı hayvanlarda sağaltım ve verimin artırılması amacıyla tetrasiklinler, eritromisin, oleandomisin, izoniazid, sülfamidler, kloramfenikol, linkozamidler, rifampisin, sefalotin, kanamisin, gentamisin, streptomisin, polimiksin B, kolistin gibi antibiyotiklerden faydalanılmaktadır (Anonim 2009).

### 1.2.1. Sülfonamidler

İnsanlardaki bakteriyel hastalıkların sistemik olarak sağaltımı ve önlenmesinde ilk kullanılan ilaçlar sülfanomidlerdir. Sülfanomidler sentetik olarak hazırlanırlar. Sülfanilik asitin (para-aminobenzen sülfonik asit) amidleri ve türevleri sülfonamidler olarak adlandırılmaktadır. Sayıları binleri aşan sülfanomid türevi sentezlenmiş ancak bunlardan yalnızca 25-30 kadarı uygulama alanı bulmuştur. Sülfonamidler gram pozitif bakteriler ile *Rickettsia*, *Chlamydia* ve *Protozoa* türleri üzerinde etkilidirler (Kaya ve ark 2002). Hayvancılıkta terapötik ve profilaktik amaçlı kullanılmaktadırlar. (Wang ve ark 2006). Ancak fotosensivite, toksik epidermal nekroliz sendromu, hematopoetik bozukluklar, porfiriya, hiperbilirubinemi ve kernikterus başlangıcı, tiroid toksisitesi gibi hastalıkları taşıyan hastalarda, sülfonamidlere maruz kalmaları durumunda hastalıklarının seyrinde olumsuzluklar görülebilmektedir (Swarm ve ark 1973, Peters ve ark 1990, Slatore ve Tilles 2004, Wang ve ark 2006). Yapılan çalışmalarda, sülfanomidlerin hastaların % 10' unda aşırı hassasiyeti ve % 60'ında ise immün yetmezliği indükleyebildiği görülmüştür (Dewdey ve ark 1991, Dayan 1993, Berends ve ark 2001). Sülfonamidlerin tedavi amaçlı hayvanlarda kullanılması durumunda ise hayvan vücudunda kalıntıya rastlanabilmektedir (Bevill 1984, 1989, Van Dresser ve Wilcke, 1989, McCaughey ve ark 1990, Waltner-Toews ve McEwen 1994a, 1994b, Riviere ve Spoo, 2001, Buur ve ark 2006, Agwuth ve MacGowan 2006). Neomisin, tylosin, oksitetrasiklin gibi antibiyotikler enjeksiyonlarından 24 saat sonra kaybolurken sülfonamidlerin vücuttan atılması 30 gün sürmektedir (Galer ve Monroe 1996, Van Donkersgoed ve ark 1999, Reeves 2005, 2007).

### 1.2.2. Penisilinler

Penisilinler ampisilin, amoklavin, benzypenisilin gibi antibakteriyalleri içermektedir. Bu antibiyotikler  $\beta$ -laktamlar grubunun üyesi olarak sınıflandırılırlar. Yarım yüzyıldır insan ve hayvanların tedavisinde penisilinlerden yararlanılmaktadır (Wright 1999). *Penicillium notatum* ve *Penicillium chrysogenum* mantarlarından elde edilirler. Günümüze kadar ulaşmış 40'dan fazla penisilin türevidir bulunmaktadır. Penisilinler normal sağaltım dozlarında bakterileri öldürerek etkirler. Streptokoklar üzerinde en etkili antibiyotik grubu penisilinlerdir (Kaya ve ark 2002). Bu bileşikler ve metabolitleri memelilerin çoğunda hafif deri döküntülerinden ölümcül anafilaksiye kadar pek çok alerjik reaksiyona sebep olmaktadır (Adcock ve Rodman 1996). Amerika'da nüfusun % 10'unda penisilin alerjisi bulunmaktadır (Idsoe ve ark 1968, Delage ve Irey 1972). Gıdalardaki penisilin kalıntısının neden olduğu tanımlanmış alerjik durumların sayısı oldukça düşüktür. 1984 yılında konuşma güçlüğü ve mide rahatsızlığı başta olmak üzere çeşitli şikayetlerle hastaneye başvuran hastada yapılan tetkiklerde rahatsızlığın yedikleriyle ilgili olduğu belirlenmiştir. Araştırmalar sonucu hastanın akşam yemeğinde tükettiği ette penisilin kalıntısı bulunduğu anlaşılmıştır. Yaşanan bu vaka bir ilk olarak kayıtlara geçmiştir (Schwartz ve Sher, 1984).

### 1.2.3. Sefalosporinler

Sefalosporinler *Cephalosporium acremonium* kültürlerinden elde edilmiştir. Sefalosporinler insan ve hayvanlarda kullanılan antibakteriyal ajanların önemli bir sınıfıdır. Günümüze kadar dört kuşak sefalosporin geliştirilmiştir. Birinci ve ikinci kuşak sefalosporinler süt sığırlarında mastitis enfeksiyonlarında kullanılırken üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinler diğer pek çok hayvan türünde çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Hornish ve Kotarski 2002). Günlük hayatımızda sıkça tükettiğimiz süt ve diğer hayvansal ürünlerde sefalosporin kalıntısına rastlamak mümkündür. Sayıları azda olsa bazı çiftliklerde hayvanlarda antibiyotik kalıntılarını tespit etmek üzere tarama testleri yapılmaktadır (Jones ve Seymour 1988, Kang ve ark 2005). Bu antibakteriyallerin tüketilmesi sonucu vücutlarında alerjik reaksiyonların görüldüğü kesim nüfusun %5'lik kısmını oluşturmaktadır (Botsoglou ve Fletouris 2001). Ayrıca sefalosporinler özellikle de üçüncü kuşak olanlar aşırı duyarlılık sonucu böbreklerde hasara ya da renal tübül toksisitesine yol açmaktadır. Renal tübül toksisitesinin böbrek hastaları için tehlikeli bir durum olduğu göz önüne alındığında bu kalıntıların geçişi önem arz

etmektedir (Fekety 1990, Schliamser ve ark 1991). Sefalosporinler, dirençli patojen bakteri suşlarının gelişmesine neden olduklarından belirlenen miktarların üzerinde kullanımları yasaktır (Anonim 2008)

#### **1.2.4. Kinolonlar**

Kinolonlar hayvansal üretimde yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerdendir. Yapılarında flor bulundurduklarından florokinolonlar olarak da adlandırılmaktadırlar. Danofloksasin, difloksasin, enrofloksasin, flumekuin, marbofloksasin, oksolinik asit ve sarafloksasinler kinolonların türevlerini oluşturmaktadırlar (Anonim 2009). *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Stafilokok* türleri üzerinde etkilidirler. Kinolonların vücuttaki yarı ömürleri 2-14 saat arasında değişmektedir. Göz, kulak ve deri hastalıklarının sağaltımında kullanılan bu bileşikler, çocuklarda görülen artiküler kıkırdak ve tendon hasarının oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Miyalji ve nörolojik hastalıklar ise kinolon kalıntılarının insan vücudunda sebep olduğu diğer olumsuzluklardandır (Eisele ve ark 2009, Ambrose ve ark 2007, Kiangkitiwan ve ark 2008). Enroflaksasin, danoflaksasin ve orbiflaksasinin kullanıldığı hayvanlardan elde edilen gıdaları tüketen insanlarda bakteriyel direnç gözlemlendiğinden bu antibiyotik grubunun kullanımı durdurulmuştur (Anonim 2006).

#### **1.2.5. İyonofor Grubu Antibiyotikler**

Bu maddeler (monensin, salinomisin gibi) çoğunluğu gram pozitif olan rumen florasını gram negatife dönüştürüp propiyonat üretiminde artışa ve metan oluşumunda azalmaya yol açmaktadırlar (Newbold ve ark 1988, Russell ve Strobel 1989). Keza ruminal propiyonik asit üretimi esnasında hidrojen iyonları meydana gelmeyip ortamda var olan hidrojen iyonları kullanılmaktadır ( $\text{Pirüvat} + 4\text{H} \rightarrow \text{propiyonik asit} + \text{H}_2\text{O}$ ). İyonofor grubu antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanımı hayvansal ürünlerde kalıntı bırakmaları ve bakterilerde dirençlilik oluşturmaları nedeniyle sağlık otoriteleri ve kamuoyunda endişelere yol açmaktadır. Avrupa Birliği iyonofor grubu antibiyotiklerin, üye ülkelerde hayvan beslemede kullanımını 01.01.2006 tarihinden itibaren yasaklamıştır (Anonim 2006).

### 1.2.6. Nitrofuranlar ve Nitroimidazoller

Nitrofuranlar, furan halkasındaki C5 üzerinde nitro grubu taşıyan sentetik maddelerdir. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* ve *Corynebacterium* gram pozitif bakterileri ile *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella* gram negatif bakterileri üzerinde etkilidirler. Bakteriyel ve protozoer bağırsak hastalıklarının sağaltımında kullanılan bu antibiyotik grupları yem katkı maddesi olarak da değerlendirilebilir (Kaya ve ark 2002).

Deri, meme ve uterus hastalıklarının tedavisinde kullanılan nitrofuran ve nitroimidazoller karsinojenik olduklarından dolayı 1990'lı yıllardan önce Amerika'da kullanımı yasaklanmıştır (Tuncer 2007). Karsinojenik etkilerinin yanında bazı insanlarda bu antibiyotiğe karşı aşırı hassasiyet görülmektedir. Hamilelerde karaciğer tahribatı ve otoimmün hepatit ise nitrofuranlar ve nitroimidazollerin neden olduğu diğer olumsuzluklardandır (De Groot ve Conemans 1990, Peedikayil ve ark 2006, Aksamija ve ark 2009). Bu antibakteriyeller stabil formda olup hayvanlarda geri dönüşümsüz olarak depolanabilirler. Bu nedenle genç hayvanlarda nitrofuran ve nitroimidazollerin kullanımı kalıntı riskini arttırmaktadır. Çalışmalar bahsi geçen antibiyotiklerin topikal uygulamalarının hayvan dokularında birikebileceğini ortaya koymuştur (Anonim 2009).

### 1.2.7. Aminoglikozidler

Aminoglikozidler *Streptomyces* ve *Mikromonospora* soyundaki mantarlar tarafından oluşturulurlar. Gram negatif bakteriler üzerinde etkilidirler. Aminoglikozidlere en duyarlı bakteri türleri *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Shigella*, *Serratia türleri* ve *Pseudomonas aeruginosa*'dır (Kaya ve ark 2002).

Aminoglikozidler, hayvanlar ve insanlarda ototoksik ve nefrotoksik özellikler gösterirler (Drusano ve ark 2007). Hamileliği sırasında bu tür antibiyotiklere maruz kalan annelerin bebeklerinde işitme problemlerine rastlanılmıştır (Al-Aloul ve ark 2004, Matz ve ark 2004, Selimoğlu 2007). Aminoglikozidlerin kullanımına bağlı olarak hastalarda ortaya çıkan böbrek hastalıklarının oranı % 10-25 arasında değişmektedir (Taber ve Pasko 2008). Bu antibiyotik grubunun alerjik reaksiyonlara neden olduğu da bilinmektedir (Tinkelman ve Bock 1984, Faridah ve ark 2004). Hayvanlarda kullanıldığı durumlarda tedaviden aylar sonrasında dahi başta kulak ve böbrek olmak üzere diğer bazı organlarda biriktiği gözlenmiştir. Bu nedenlerden ötürü federal devletlerce aminoglikozidler için belirlenmiş tolerans düzeyi oldukça düşüktür (Stead 2000).



### 1.2.8. Tetrasiklinler

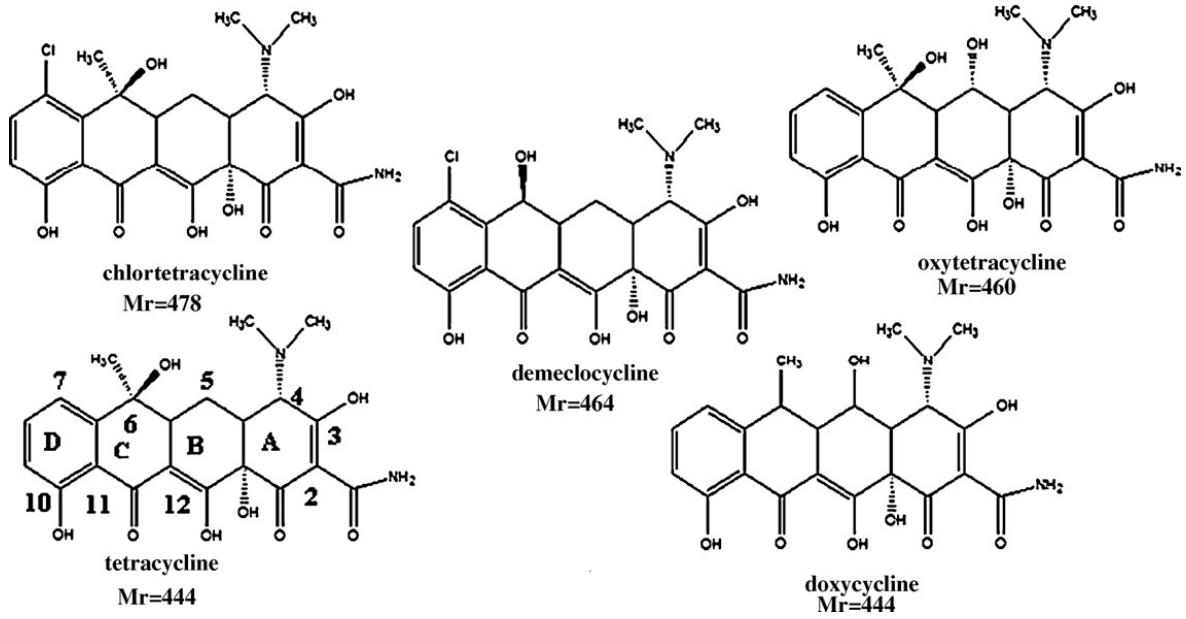
Tetrasiklinler (Şekil 1) kimyasal olarak fonksiyonel karboksi amid grubu ile konjuge 4 halka yapısından oluşmaktadır. Amfoter özellik gösterirler. Tetrasiklinler geniş bir etki spektrumuna sahiptirler. Gram pozitif ve gram negatif bakteriler ile *Chlamydia*, *Spirochetes*, *Actinomyces*, *Mycoplasma* ve *Rickettsia* türleri üzerinde etkilidirler. Oksitetrasiklin, tetrasiklin, klortetrasiklin, minoksilin, metasilin ve doksisisiklin bu sınıf içinde yer alan antibiyotiklerdendir (Cinquina ve ark 2003). Tetrasiklinler, sağaltım güvenliği yüksek olan ilaçlar arasında yer alırlar. Sindirim kanalındaki mikrobiyal flora arasındaki dengenin bozulması, tetrasiklinlerin sağaltımları sırasında karşılaşılan en önemli sorundur. Yüksek dozlarda tetrasiklinle sağaltım sırasında karaciğer hasarı oluşabilmektedir. Uzun süreli sağaltım sonucu lökosit sayısında artış, lenfositlerde şekil bozukluğu ve trombosit sayısında azalış gözlenir (Kaya ve ark 2002).

Tetrasiklinler maliyetlerinin düşük olması dolayısıyla hayvansal üretimde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nedenden dolayı gıdalarda sıklıkla kalıntı olarak karşılaşılan antibiyotiklerdendir (Kennedy ve ark 2000, Oka ve ark 2000, Guigere 2006). Tetrasiklinler pişirme sırasında ısıyı geçirebilir ve nefrotoksik özellikte metabolitler üretebilirler (Fedeniuk 1988, Rose ve ark 1996, Moats 1999). Tetrasiklinlerin yenilebilir dokulardan uzaklaşması kısa bir sürede gerçekleşmektedir. Düşük konsantrasyon düzeylerinde bu durum 24 saat sürmektedir (McEvoy ve ark 1994). Ancak tetrasiklinlerin kemik dokulara bağlanması geri dönüşümsüzdür (Korner ve ark 2001, Zakeri ve Wright 2008).

Çin'de tüm hayvan türlerini kapsamak üzere kas, karaciğer ve böbrek dokularında bulunabilecek tetrasiklin, klortetrasiklin ve doksisisiklin maksimum kalıntı limit değerleri sırasıyla 100, 300 ve 600 µg/kg olarak belirlenmiştir. Avrupa Birliği'ne üye ülkelerde geçerli olan maksimum kalıntı limit değerleri Çin tarafından belirlenmiş değerler ile aynıdır (Anonim 2009). Hayvansal ürünlerde kalıntı miktarının belirlenmesi, ürünlerdeki güvenilirliğin sağlanmasında önem taşımaktadır. Geçmişte kullanılmış bazı yöntemlerin hassasiyetlerinin düşük olması ve zaman almaları dolayısıyla kromatografik analiz metodlarına ihtiyaç duyulmuştur. İnce tabaka kromatografi ve mikrobiyolojik metodlar tetrasiklin kalıntısını belirlemede kullanılan yöntemlerden bazılarıdır (Choma ve ark 1999, Kurittu ve ark 2000).

Pena ve ark (2003) yenilebilir dokularda bulunan tetrasiklin kalıntılarını HPLC ile belirlemek üzere analitik bir metod geliştirmiştir. Wan ve ark (2005), dokulardaki oksitetrasiklin, tetrasiklin ve metasilin kalıntılarını potasyum permanganat, sodyum sülfid,  $\beta$ - siklodekstrin kimyasallarını kullanmak suretiyle HPLC metoduyla tespit etmiştir. Santos ve ark (2007) ise tetrasiklin kalıntısını belirlemek için ultra yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanmıştır.

Şekil 1. Tetrasiklinlerin Yapıları

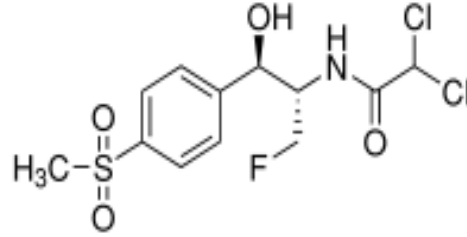


### 1.2.9. Fenikoller

Kloramfenikol, tiamfenikol ve florfenikol bu grupta yer alan antibiyotiklerdendir. Florfenikol (Şekil 2), florlanmış kloramfenikol türevi olup C-3'te yer alan hidroksil grubu yerine florin içermektedir. Florfenikol tiamfenikolün yapısal analogudur. Florfenikol, *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pasteurella multocida* ve *Proteus vulgaris* mikroorganizma türleri üzerine etki etmektedir (Neu ve Fu 1980, Syriopoulou ve ark 1981, Soback ve ark 1995). Florfenikoller protein sentezini engelleyen bir mekanizmaya sahiptirler. Ribozomda peptidil transferaz aktivitesini durdurmaktadırlar (Lobel ve ark 1994). Florfenikoller, hayvanlarda görülen solunum problemleri ve enterik enfeksiyonlarının tedavisinde etkilidir. Fenikol grubunda yer alan florfenikoller buzağı, laktasyon dönemindeki inek, at, tavuk, ördek, keçi ve domuz gibi hayvan türleri için

kullanılabilmektedir (Varma ve ark 1986, Soback ve ark 1995, McKellar ve Varma 1996, Afifi ve Abo El Sooud 1997, El-Banna 1998, Atef ve ark 2000, Liu ve ark 2003).

**Şekil 2.** Florfenikollerin Yapıları



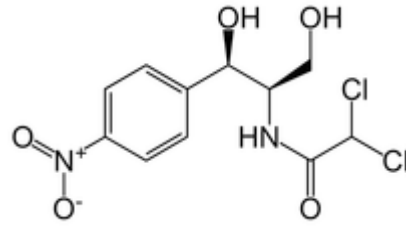
Kloramfenikol molekülüne, nitro grubunun yerine metilsülfonil grubunun bağlanmasıyla tiamfenikol (Şekil 3) oluşmaktadır. Kloramfenikol, gram pozitif ve gram negatif bakteriler ile *Rickettsia* ve *Chlamydia* türleri üzerinde etkilidir (Kaya ve ark 2002). Kloramfenikol *Streptomyces* cinsi toprak bakterileri tarafından doğal olarak üretilmektedir (Wongtavatchai ve ark 2005). Kloramfenikol, ciddi enfeksiyonların tedavisinde diğer antibiyotiklerin etkisiz kaldığı ya da kontrendikasyonlara sebep olduğu durumlarda kullanılmaktadır. Aerobik ve anaerobik mikroorganizmalara karşı aktivite göstermektedir. 1950'lerden beri tifo, menenjit ve bazı merkezi sinir sistemi enfeksiyonlarının tedavisinde kloramfenikollerden yararlanılmaktadır. Kloramfenikolün toksik etkileri doza bağlı olmayıp canlıların göstermiş oldukları hassasiyetle ilintilidir (Hagren ve ark 2005). Bu nedenle bu antibiyotiğe düşük dozda maruz kalınması halinde dahi toksik belirtiler görülebilmektedir. (Black 1984, Settepani 1984, Norcross ve Post 1990, Page 1991, Cooper ve ark 1998, Anonim 2010). Kloramfenikole maruz kalan kişi sayısı yaklaşık olarak 1:10000'den 1:45000'e kadar değişmektedir (Papich ve ark 2001). Kloramfenikol, ölümcülde olabilen, aplastik anemi olarak adlandırılan kan hücrelerinin yeterince üretilmemesi sonucu gelişen kemik iliği yetmezliğine ve lösemiye sebep olabilmektedir (Fraunfelder 1982, Fraunfelder ve ark 1982, Settepani 1984, Page 1991, Anonim 1999, Botsoglou ve ark 2001). Kloramfenikol, çocuklarda ve özellikle yeni doğanlarda yetişkinlere göre daha yavaş metabolize olmaktadır. Pediatrik doz aşıldığında gri bebek sendromu ortaya çıkmaktadır. Gri bebek sendromunda aktif kloramfenikolün serumda birikmesi ve ilacın glukuronite çevrilerek karaciğerden atılımının yetersiz olması sonucunda bebeklerde kardiyovasküler sistem harabiyete uğramaktadır (Anonim 2010).

İçme sularına 5 gün süre ile 40 mg/kg yoğunluğunda kloramfenikol katılan 7 haftalık piliçlerin kas, karaciğer, deri ve vücut yağlarında 0.2 mg/kg, böbreklerinde de 0.6

mg/kg arasında kloramfenikol tespit edilmiştir. İçme sularına ilavesi durdurulduktan ortalama 8 saat sonra vücut yağı ve deride antibiyotik varlığı saptanmamasına karşın, aynı süre karesel kesimlerde 48 saat olarak ölçülmüştür. Kloramfenikol uygulanmasının durdurulmasından 72 saat sonra böbreklerde 0.3 mg/kg düzeyinde bulunmuştur. Deneysel veriler sonucu sağaltım amaçlı ya da katkı maddesi olarak kullanılan kloramfenikolün önemli ölçülerde hayvansal besinlere geçtiği tespit edilmiştir (Ferguson ve ark 2005).

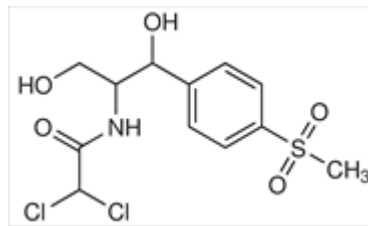
Risklerinden ötürü ABD’de ithal gıdaların denetiminde kloramfenikol, öncelikli olarak göz önünde tutulan bileşiklerdendir. Çin başta olmak üzere bazı ülkelerde kloramfenikol kullanımı devam ettiğinden ithal gıdaların girişinde yapılan kontroller önem kazanmaktadır (Norcross ve Post 1990, Botsoglou ve Fletouris 2001).

**Şekil 3.** Kloramfenikollerin Yapıları



Tiamfenikol (Şekil 4), metilsülfonik grup ile yer alan benzen halkaları üzerinde, nitro grup içeren analog bir kloramfenikoldür. Kloramfenikolün aksine tiamfenikol ve florfenikol nitro grup içermediklerinden daha az toksik özellik göstermektedir. Ancak bu özellikleri, sağlık üzerine olumsuz etki ettikleri sonucunu değiştirmemektedir (Shen ve ark 2009).

**Şekil 4.** Tiamfenikollerin Yapıları



Gıdalarda bulunabilecek kloramfenikol kalıntılarını tespit etmek amacıyla araştırmacılarca çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Pfenning ve ark (1998) gaz

kromatografisi kullanarak sütte bulunan fenikolleri ve benzer şekilde karides dokusunda bulunan kloramfenikol, florfenikol ve tiamfenikolleri miktarca tespit etmiştir. Şüpheli örneklerde bulunan analitlerin varlığını belirlemek üzere kromatografi ve kütle spektrometresini birleştiren metotlar geliştirilmiştir. LC-MS\MS (High-performance Liquid Chromatography Coupled With Tandem Mass Spectrometry), florfenikol bileşiklerini tespit etmek üzere geliştirilmiş hassas bir tekniktir (Zhang ve ark 2008).

### **1.3. Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliğinde Antibiyotik Kullanımı**

Etlik piliç yetiştiriciliğinde uygulanan yoğun besleme programları ile hayvanlarda kısa sürede hızlı bir canlı ağırlık artışı amaçlanmaktadır. Bu amaçla, rasyonların besin madde içerikleri arttırıldığı gibi, rasyonlara gelişmeyi hızlandırıcı büyütme faktörleri de ilave edilebilmektedir (Küçükersan 2002). Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde gelişmeyi hızlandırıcı yem katkı maddeleri arasında antibiyotiklerin önemli bir rolü vardır. 1940'lı yıllarda ABD'de civciv rasyonlarına belli miktarda ilave edilen antibiyotiklerin canlı ağırlık artışında hızlanma sağlanmasıyla antibiyotiklerin anabolik etkiye sahip oldukları belirlenmiştir. Bunun üzerine, 1969 yılında, İsveç Komitesi tarafından antibiyotiklerin hayvanlarda büyümeyi hızlandırıcı olarak kullanımları ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucu antibiyotik büyütme faktörlerinin veteriner reçetesi olmaksızın kullanımında sınırlandırmalar başlatılmıştır. Avrupa Birliği, 1970'lerin başlarında hayvansal yemlerde, tedavi için kullanılan çeşitli antibiyotiklerin ruhsatlarını geçici olarak yürürlükten kaldırmaya başlamıştır (Tuncer 2007). Ruhsatları kaldırılan antibiyotik türlerine ilişkin bilgiler **Çizelge 3**'de verilmiştir.

**Çizelge 3.** Yıllara Göre Antibiyotik Büyütme Faktörlerinin Yasaklanması (Tuncer 2007)

YIL	ÜLKE	KARAR
1969	İsveç	Antibiyotik büyütme faktörleri bilimsel olarak yasaklanmıştır.
1970	Avrupa Birliği	Antibiyotik büyütme faktörlerinde geçici sınırlandırmalar getirilmiştir.
1970	İngiltere	Penisilin ve tetrasiklin yasaklanmıştır.
1971	Avrupa Birliği	Tetrasiklin yasaklanmıştır.
1971	İsveç	Tetrasiklin ve antibiyotik büyütme faktörlerinin bir kısmı yasaklanmıştır.
1986	İsveç	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklanmıştır.
1997	Avrupa Birliği	Avoparcin yasaklanmıştır.
1998	Hollanda	Olaquinox yasaklanmıştır.
1998	Danimarka	Virginamycin ve antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklanmıştır.
1998	İsviçre	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklanmıştır.
1999	Avrupa Birliği	Tylosin phosphate, zinc bacitracin, spiramycin, virginiamycin yasaklanmıştır.
1999	İngiltere	Tylosin phosphate, zinc bacitracin, spiramycin, virginiamycin yasaklanmıştır.
2006	Avrupa Birliği	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklanmıştır.
2006	Türkiye	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklanmıştır.

Büyütme faktörü olarak kullanılan antibiyotik ve benzeri maddelerin etkileri tam olarak açıklanamasa da buna ilişkin çeşitli hipotezler ileri sürülmüştür. Bu görüşlere göre:

1) Besin maddelerinin emilimini engelleyen toksik metabolitlerin üretimini inhibe ederek,

- 2) Gastrointestinal sistemdeki patojen mikroorganizmaların gelişimini engelleyerek,
- 3) Subklinik infeksiyonları azaltarak veya önleyerek etkili oldukları düşünülmektedir (Anadón, Martínez-Larrañaga 1999, Butaye ve ark 2003).

1998-1999 yıllarında, antibiyotiklerin aşırı dozda ve uygun olmayan şekilde kullanımları ile bu maddelere karşı dirençli bakterilerin gelişmesi sonucu, Avrupa Birliği tarafından antibiyotik kökenli büyütme faktörlerinin kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde kullanılmasının geniş ölçüde yasaklandığı bildirilmiştir (Anadón, Martínez-Larrañaga, 1999, Casewell ve ark 2003). Son yıllarda araştırmacılar, antibiyotiklere alternatif olabilecek doğal ve gelişmeyi hızlandırıcı madde arayışı içine girmişlerdir. Bu amaçla probiyotikler, organik asitler ve enzimlerin alternatif olarak kullanımı güncellik kazanmıştır (Küçükersan 2002).

#### **1.4. Tavuk Etinde Antibiyotik Kalıntı Riski**

Antibiyotiklerin yetiştiricilikte kullanılması, insan sağlığı açısından ciddi tehlikelere neden olmaktadır. Alınan ilaçlar başta böbrek ve karaciğer olmak üzere çeşitli organ ve dokularda birikmektedir (Doyle 2006).

Verim artırıcılar grubunda değerlendirilen yem katkı maddeleri iki amaca yönelik olarak kullanılmaktadırlar. Bunlardan ilki, sindirim sistemi hastalıklarına neden olan patojen mikroorganizmaların üremelerine engel olmak, ikincisi ise, hayvanın sindirim sistemi mikroflorasını yararlı mikroorganizmalar lehine çevirerek hayvanın besin maddelerinden daha yüksek düzeyde yararlanmasına olanak sağlamaktır. Bu durum ürünleri tüketen insanların sağlığını tehdit etmektedir. Konvansiyonel hayvansal üretimde, yemlerde olduğu gibi çeşitli katkı maddelerinin kullanılmaları da önemli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. Ayrıca, konvansiyonel hayvansal üretimde ekonomik hayvansal kaynaklı yem olarak, yeterince hijyenik hale getirilememiş ve ilaç kalıntıları içerebilen çeşitli kesimhane yan ürünleri ve kadavra unları kullanılması da bazı sağlık sorunlarına neden olmaktadır (Shane 1999).

Kalıntı yönünden antibiyotiklerin diğer farmakolojik etkili maddelere göre daha önemli olduğu belirtilmektedir. Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin (tetrasiklin, oksitetrasiklin ve klortetrasiklin) geniş spektrumlu olmaları ve toksik etkilerinin düşük olması dolayısıyla kanatlı yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanıldıkları bildirilmiştir. Fenikol grubu antibiyotikler içinde yer alan kloramfenikolün hayvanlarda kullanımı

yasaklanmıştır. Ancak florfenikolün yetiştiricilerce yasal olmadığı halde kullanıldığı yapılan çalışmalarla ortaya konulduğunda tavuk etlerinde tetrasiklin ve florfenikol kalıntılarının saptanması önem taşımaktadır (Cooper ve ark 1998, Furusawa 2000). Halk sağlığı açısından, kesilecek kasaplık hayvanlara kesim gününden 5 gün öncesinde antibiyotik ve benzeri ilaçlar verilmemektedir. Türk Gıda Kodeksine göre antibiyotik kalıntı limitleri **Çizelge 4**'te sunulmuştur (Anonim 2010).

**Çizelge 4.** Antibiyotik Kalıntı Limitleri

Etkili Madde	Durum	MRL/[µg/kg]
Sulfonamid	Sulfonamid grubunda yer alan bütün bileşiklerin toplam kalıntı miktarı 100 µg/kg gecemez	100
B – LAKTAM / PENİSİLİN / Amoksisilin		4
B – LAKTAM / PENİSİLİN / Ampisilin		4
B – LAKTAM / PENİSİLİN / Benzil penisilin		4
B – LAKTAM / PENİSİLİN / Kloksasilin		30
B – LAKTAM / PENİSİLİN / Dikloksasilin		30
B – LAKTAM / PENİSİLİN / Nafsilin	Sulfonamid grubunda yer alan bütün bileşiklerin toplam kalıntı miktarı 100 µg/kg gecemez	30
B – LAKTAM / PENİSİLİN / Oksasilin		30
B – LAKTAM / PENİSİLİN / Penthamat		4
B – LAKTAM / Sefalosiporinler / Sefazolin		50
B – LAKTAM / Sefalosiporinler / Sefasetril	Sığırdada yalnızca meme içi kullanılır	125
B – LAKTAM / Sefalosiporinler / Sefaleksin		100
B – LAKTAM / Sefalosiporinler / Sefapirin		60
B – LAKTAM / Sefalosiporinler / Sefoperazon		50
B – LAKTAM / Sefalosiporinler / Sefkuinom		20
B – LAKTAM / Sefalosiporinler / Seftiofur		100
B – LAKTAM / Sefalosiporinler / Sefaionium		20
Kinolonlar Danofloksasin		30
Kinolonlar Difloksasin	Sütü insan tüketimine sunulan hayvanlarda kullanılamaz	
Kinolonlar Enrofloksasin		100
Kinolonlar Flumequin		50
Kinolonlar Marbofloksasin		75
Kinolonlar Oksolinik asit	Sütü insan tüketimine sunulan hayvanlarda kullanılamaz	
Makrolidler Eritromisin		40
Makrolid Eritromisin		40
Makrolid		50



Timoksin		
Makrolid Makrolid Tulatomisin	Sütü insan gıdası olarak kullanılan hayvanlarda kullanılamaz	
Makrolid Tilosin		50
Florfenikol Bileşikleri	Sütü insan tüketiminde kullanılan hayvanlarda kullanılamaz	
Florfenikol Bileşikleri Tiamfenikol		50
Tetrasiklinler Klortetrasiklin	Ana madde ve Üç empirmenin toplamı 100 /[µg/kg]	100
Tetrasiklinler / Tetrasiklin	Ana madde ve Üç empirmenin toplamı 100 /[µg/kg]	100
Tetrasiklinler /Oksitetrasikjlin	Ana madde ve Üç empirmenin toplamı 100 /[µg/kg]	100
Tetrasiklinler/ Klortetrasiklin	Ana madde ve Üç empirmenin toplamı 100 /[µg/kg]	
Tetrasiklinler/ Doksisiklin	Sütü insan gıdası olarak kullanılan hayvanlarda kullanılamaz	
Ansamisinler / Rifaksimin	Naftalin halkası içerir	60
Linkozamidler/ Linkomisin		150
Linkozamidler/ Pirilmisin		100
Aminoglikozidler / Apramisin	Sütü insan tüketimine sunulan hayvanlarda kullanılamaz	
Aminoglikozidler/ Dihidroksistreptomisin		200
Aminoglikozidler/Gentamisin		100
Aminoglikozidler/ Kanamisin A		150
Aminoglikozidler/Neomisin B		1500
Aminoglikozidler/ Paramomisin	Sütü insan tüketimine sunulan hayvanlarda kullanılamaz	
Aminoglikozidler/ Spektinomisin		200
Aminoglikozidler/ Streptomisin		200
Novobiosin		50
Polipeptitler /Basitrasin	Basitrasin A,B,C nin toplamı	100
Betalaktamaz inhibitörleri /Klavulanik asit		200
Polimiksinler /Kolistin		50

**MRL: Maksimum Kalıntı Limiti**

### 1.5. Gıdalardaki Antibiyotik Kalıntılarının Analizinde Kullanılan Teknikler

Son yıllarda, Avrupa Birliği tarafından ilaç kalıntılarının taranması ve doğrulanmasına ilişkin teknik kriterler getirilmiştir. Avrupa Komisyonu'na göre, kalitatif

metodlar, yasaklı yani tolerans düzeyi sıfır olarak belirlenmiş ilaçların tespitinde kullanılabilir. Kantitatif metodlar ise (özellikle enrofloksasin gibi), maksimum kalıntı limiti (MRL) belirlenmiş ilaçlar için gereklidir (Anonim 2008, Brabander ve ark 1996).

Kalitatif metodlardan olan ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) testi, antijen-antikor (antibody) reaksiyonunun şekillenmesi, oluşan reaksiyonun enzim-substrat ile görünür hale getirilmesi ve spektrofotometre ile okunması esasına dayanmaktadır. Sağlanan absorpsiyon, örnek içindeki aranan madde oranı ile ters orantılı olarak gerçekleşmektedir (Anonim 2006). Kullanımının kolay, sonuca ulaşmak için geçen zamanın kısa (2-2,5 saat) olması, duyarlılık ve belirliliğinin (özgüllüğünün) yüksek ve her kitle fazla sayıda numune ile çalışma olanağı sağlaması ELISA metodunun avantajlarından (Toldra ve Reig 2006, Dorpe ve ark 1996). ELISA metodu kullanılarak elde edilen sonuçların kütle spektrofotometrisi ile doğrulanması gerekmektedir (Rodziewicz ve Zawadzka 2008).

Kapiller elektroforez, misel elektrokinetik kromatografi, yüzey plazmon rezonans, yüksek basınçlı gaz kromatografisi fenikollerin ve tetrasiklinlerin analizinde kullanılan yöntemlerdendir. Yapılan son çalışmalar LC-ESI-MS ve LC-ESI-MS/MS'in antibiyotik kalıntılarının tespitinde kullanılabilecek en hassas metod olduğunu ortaya koymaktadır (Anonim 2010).

## **1.6. Gıdalara Uygulanan Bazı İşlemlerin Antibiyotik Kalıntıları Üzerine Etkileri**

Tolerans düzeyinin üzerinde ilaç kalıntıları içeren gıdalar insan sağlığı açısından tehlikeli olduklarından tüketilmemeleri gerekmektedir. Et, süt ve yumurta gibi hayvansal gıdalar genellikle değişik pişirme işlemleri uygulandıktan sonra tüketilmektedir. Çeşitli araştırmacılar tarafından başta antibiyotikler olmak üzere, çeşitli ilaç kalıntılarının değişik pişirme işlemleri ve depolama sırasında yıkımlanarak etkisiz metabolitlere dönüşebildiği bildirilmiştir (De Paolis ve ark 1977, Fischer ve ark 1992, Rose ve ark 1999).

Isıl işlem sonrası hayvansal gıdalarda ve su ürünlerinde antibiyotik kalıntılarında rastlanılabilmektedir. Gıda üretiminin çeşitli basamaklarında kullanılan yöntemler, bazı antibiyotik türlerinin kalıntı düzeylerinde değişimlere neden olmaktadır. Bu nedenden ötürü antibiyotiklerin farklı ısıl işlemler sonrası stabiliteilerinin değerlendirilmesi önemlidir. Tetrasiklin, penisilin, kloramfenikol gibi antibiyotiklerin pişirme sırasındaki stabiliteileri ile ilgili henüz yeterli bir bilginin olmadığı bildirilmektedir (Shakila ve ark 2006). Isıl işlemin tetrasiklin grubu antibiyotikler üzerindeki etkisi ile ilgili yapılmış çalışmalar, tetrasiklinlerin hayvansal kaynaklı gıdalarda ısıya çok dayanıklı olmadığını

göstermiştir. Bununla birlikte bazı çalışmalarda, kemiklerde bağlı halde bulunan tetrasiklin kalıntılarının 130 °C’de stabil olduğu saptanmıştır (Kühne ve ark 2001). Brander (1970), etteki klortetrasiklin ve oksitetrasiklin kalıntılarının pişirme sırasında yok edildiğini; Shirk ve ark (1957) ise pişirme sırasında klortetrasiklinin izoklorotetrasikline parçalandığını bildirmişlerdir. Feinman ve Matheson (1978) ise, pişirilmiş balık ve karideste klortetrasiklin ve oksitetrasiklin kalıntılarının varlığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde, Katz ve ark (1973), pişirme sırasında, oksitetrasiklinin O ve D-apoksitetrasiklinlere dönüştüğünü bildirmiştir. Etteki ve kemik unundaki tetrasiklin ve klortetrasiklin kalıntılarının ısı işlem sonrası stabilitesinin araştırıldığı bir çalışmada, örnekler 133 °C’de 20, 30, 45 dakika ve 100 °C’de 20 ve 30 dakika boyunca ısı işleme tabi tutulmuştur. Örneklerdeki ısı işlem öncesi ve sonrası tetrasiklin konsantrasyonu HPLC yöntemi ile belirlenmiştir. 133 °C’de tetrasiklin konsantrasyonunun yaklaşık % 50 oranında azaldığı belirtilmiştir. Klortetrasiklinin ise ısıya tetrasiklinden daha duyarlı olduğu ve yaklaşık % 90-100 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen bulguların toksikolojik geçerliliği tartışılmış ve tetrasiklin türevlerinin parçalanma ürünleri ile ilgili daha ileri çalışmalar yapılması tavsiye edilmiştir (Kühne ve ark 2001).

Yapılan bir çalışmada, 100°C’de 10, 20 ve 30 dakika pişirme ve 121 °C’de 10 ve 15 dakika fırınlama işlemlerine tabi tutulan beyaz karidesteki kloramfenikol kalıntılarının stabilitesi mikrobiyal assay yöntemiyle incelenmiştir. Bu yöntemle, 10, 20 ve 30 dakika pişirme işlemine tabi tutulan karideslerde, 1 µg/ml duyarlılıkla, kloromfenikol kaybı sırasıyla % 6, % 12 ve % 29 olarak bulunmuştur. Benzer şekilde, 10 ve 15 dakika fırınlama işlemi uygulanan karideslerde ise kayıp sırasıyla % 9 ve % 16 olmuştur. Kloromfenikol kaybının, sıcaklık ve ısıtma süresindeki artışla doğru orantılı olarak arttığı belirlenmiştir. Farklı konsantrasyona sahip örneklerde, kloramfenikolün geri kazanım oranlarında istatistiksel olarak önemli fark tespit edilmediği belirtilmektedir ( Shakila ve ark 2006).

Rose ve ark (1999) tavuk etlerinde dimetridazol ve ronidazol gibi nitr

imidazol grubu ilaç kalıntılarının pişirme işlemine dayanıklı olduklarını saptamışlardır. Buna karşın, yumurtadaki kalıntılarının pişirme işlemi ile sırasıyla % 14, % 32 düzeylerinde azaldığını gözlemlemişlerdir.

Baydan ve ark (2000), etlik piliç dokularındaki florokinolon grubu ilaçlardan enrofloksasinin kalıntıları üzerine çeşitli pişirme işlemleri (ızgara, tuzlu ve tuzsuz haşlama)

ile -18 °C’de farklı sürelerde (5, 20 ve 30 gün) muhafazanın etkisini araştırmışlardır. Araştırmalar sonucu etlere uygulanan ızgara işleminin ilaç kalıntı miktarına etki etmediği, haşlama işleminin ise kalıntının dokudan suya geçişine neden olduğu gözlenmiştir. Analiz edilen et örnekleri -18 °C’de 5, 20, 30 gün muhafaza edilmiştir. Kalıntı düzeyinin göğüs dokusunda sırasıyla % 20, % 65 ve % 78; but dokusunda % 7, % 53.5, % 78.5; karaciğer dokusunda % 8.6, % 47 ve % 84 oranında bir azalma gösterdiği saptanmıştır.

Van Egmond ve ark (1998) domuz etinde çeşitli antibiyotik kalıntıları üzerine ısı işlemlerinin etkisini incelediklerinde, penisilin, amoksisilin, ampisilin, kloksasilin, oksitetrasiklin, doksisisiklin, kolistin, dihidro-streptomisin ve sülfametoksazol kalıntılarının 134 °C’de 3 atmosfer basınç altında 20 dakika süre ile sterilizasyon işlemi sonucunda tamamen yıkımlanmadığını ve yaklaşık % 10’unun ette kaldığını saptamışlardır.

Bulgaristan’da tobramisin’in tavuk etlerindeki kalıntıları üzerine soğukta muhafazanın etkisi ile ilgili olarak yapılan çalışmanın sonucunda, etlik piliç dokularındaki (but, göğüs eti ve karaciğer) tobramisin kalıntılarının -18 C°’de 60 gün muhafaza ile önemli oranda azaldığı gözlenmiştir (Pavlov ve ark 2005). Kloramfenikolün ısıl işleme karşı dayanıksız bir ilaç olduğu ve pişirme sırasında uygulanan sıcaklık derecesinin artmasına paralel olarak tavuk etlerindeki kalıntı miktarının azalacağı bildirilmiştir (Shakila ve ark 2006).

### **1.7. Antibiyotik Kalıntılarına İlişkin Yasal Düzenlemeler**

İlaç kalıntılarının yol açabilecekleri ekonomik kayıpların önlenmesi ve tüketici sağlığının korunması için, Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Amerika’daki Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), Avrupa Birliği’nin ilgili birimleri ile ülkemizde Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Sağlık Bakanlığı gibi önemli kamu kurumları tarafından sürdürülen çalışma ve uygulamalar arasında birlik ve uyum sağlanmaktadır. Gıdalarda bulunabilecek ilaçlar için belirlenmiş maksimum kalıntı limitleri AB mevzuatı ile uyumlu olarak, Türk Gıda Kodeksi kapsamında 28.04.2002 tarih ve 247739 sayılı Resmi Gazete’de yayınlanan tebliğ ile düzenlenmiştir. 19.01.2005 tarih ve 25705 sayılı Resmi Gazete’de yayınlanan “Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler ile Bunların Kalıntılarının İzlenmesi için Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik” esaslarına göre ülkesel kalıntı izleme planı uygulanmaktadır (Can ve Çelik 2008).

Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler ile Bulunların Kalıntılarının İzlenmesi için Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik Türk Gıda Kodeksi (Anonim 2011) kapsamında 2011 yılında 28145 sayılı Resmi Gazete’de yayınlanmıştır.

Hayvan türü veya gıda çeşidine göre aranacak maddeler ve incelenecek örnek sayısı 96/23/EC sayılı AB direktifi ile uyumlu olarak hazırlanarak, Tarım Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı tarafından Ankara ve İzmir İl Kontrol Laboratuvarları ile Etlik, Bornova ve Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüleri kalıntı izlemede yetkili kılınmıştır (Can ve Çelik 2008).

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Tavuk eti

Materyal olarak, Aydın ili ve çevresinde bulunan süper market ve kasaplardan çeşitli markaların farklı zamanlardaki ticari ürünlerinden toplam 80 adet broiler örneği kullanılmıştır.

#### 2.1.2. Kullanılan Ekipmanlar

##### 2.1.2.1. Cam Malzemeler

- Dereceli Pipetler 5 ml, 10 ml ve 25 ml
- Santrifüj Tüpleri, 50 ml
- Tüpler, 10 ml
- Beherglaslar, 10 ml, 25 ml ve 50 ml
- Balon joje, 5 ml, 10 ml, 25 ml, 50 ml, 100 ml, 500 ml ve 1000 ml

##### 2.1.2.2. Laboratuvar Araçları

- Hassas terazi, CP 423 S (Sartorius, 1 mg hassasiyette)
- Mikro pipetler 10-100 µl, 20-200 µl ve 100-1000 µl (Ependorf), 5000 µl Thermo ya da Isotherm
- Çoklu vorteks (Heidolph)
- Soğutmalı santrifüj, Rotina 35 R (Hettich)
- Vorteks, Velp 2 x<sup>3</sup> (Scientifica)
- Ultrasonik banyo (Beco-Technic)
- Hassas terazi, SBP31 (Scaltec 0,1 mg hassasiyette)

##### 2.1.2.3. ELISA Test Kitleri

- Green Spring Florfenicol ELISA test kit (LSY-10008)
- Tecna SuperScreen Tetra HS ELISA test kit (code AB710/AB711)

##### 2.1.2.4. LC-MS/MS Cihazı ve Aksesuarları

LC-MS/MS analizi Agilent 6460 Triple Quadrapole mass spectrometer ile yapıldı. Kromatografik ayırım Zorbax SB-C18, 100 x 4.6 mm i.d., 3.5 mm genişliğinde kolon ile gerçekleştirildi. Mobil faz A, suda % 0.001 M okzalik asit (% 0.002 formik asit) ve mobil faz B asetonytril (0.001 formik asit) ile hazırlandı. Akış oranı 0,8 ml/dak olmak üzere 0-7.5 dakikada % 90 A, % 10 B, 7,5-8 dakikada % 49A, % 51 B ve 8. dakikada % 90 A, % 10 B olacak şekilde ayarlandı. Enjeksiyon hacmi 20 µl ve kolon ısı 35 °C'ye ayarlandı.

Kütle spektrometre dedektörü pozitif iyonize moda kullanıldı. Kaynak blok ısı 350 °C ve elektrospay kapillar voltajı + 4000 V'da tutuldu. Kolizyon gazı olarak nitrojen kullanıldı.

- Zorbax SB-C18, 3,5µ, 100 mm x 4,6 mm ebadında kolon
- 1200, Liquid Chromatography, (Agilent)
- 1200, Degasser, (Agilent)
- 1200, LC Pompa, (Agilent)
- 6460, Triple Quadrapole Tandem Mass Spectrometre, (Agilent)

#### 2.1.2.5. Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanması

#### 2.1.2.6. Kimyasallar

- Asetonytril, ( Sigma Aldrich ), Kimyasal özelliği: Gradient saflıkta % 99.9'luk
- Oxalic Acid Dihydrate ( Merck ), Kimyasal özelliği: % 99'luk
- Referans Standart: Oxytetracycline-hydrochloride, (Riedel De Haen , 46598), Kimyasal özelliği: Gradient saflıkta % 98.1'lik
- Referans Standart: Tetracycline-hydrochloride (Fluka, 31741), Kimyasal özelliği: Gradient saflıkta % 97.7'lik
- Referans Standart: Chlorotetracycline-hydrochloride (Riedel De Haen , 46133) , Kimyasal özelliği: Gradient saflıkta % 90.0'lık
- Referans Standart: Doxycycline-hyclate (Fluka , 33429) , Kimyasal özelliği: Gradient saflıkta % 98.2'lik

- Referans Standart: Democlocycline-hydrochloride (Sigma Aldrich , D6140) , Kimyasal özelliği: Gradient saflıkta % 98.0'lik

### 2.1.2.7. Solüsyonlar

#### **Mobil Faz A' nın Hazırlanması** ( 6 ay oda sıcaklığı )

0,126g Oksalik Asit bir miktar suda çözülür (yaklaşık 500 ml). İçine 2ml Formik Asit eklenir ve hacmi 1L'ye tamamlanır. 15 dakika Ultrasonik banyoda bekletilir.

**Mobil Faz B' nin Hazırlanması** ( 6 ay oda sıcaklığı ) 900 ml gradient saflıkta saf Asetonitril içine 1 ml Formik asit konulur. 1 lt'ye tamamlanır.

#### **% 70 ' lik MeOH** ( 6 ay oda sıcaklığı )

- 700 ml MeOH saf su ile 1000 ml'ye tamamlanır.
- 0.1 M Na<sub>2</sub>EDTA ( 1 ay oda sıcaklığı )
- 3.72 g Na<sub>2</sub>EDTA bir miktar saf suda çözülerek 100 ml'lik balon jöjeye aktarılır. Saf su ile hacme tamamlanır.

## 2.2. YÖNTEM

### 2.2.1. Numunelerin Hazırlanması

Analiz için laboratuara gelen kas dokusu numuneleri yağ ve derilerinden ayrılarak blender ile homojen bir hale getirildi. Blenderlanmış numune 50-100 g lık naylon poşetlerde saklanarak -20 derecede analize kadar bekletildi.

### 2.2.2. ELISA Testi

Tetrasiklin antibiyotik kalıntısını belirlemek amacıyla Tecna SuperScreen Tetra HS ELISA test kiti (code AB710/AB711) ve florfenikol antibiyotik kalıntısını belirlemek amacıyla Green Spring Florfenicol ELISA test kiti (LSY-10008) kullanıldı. Test işlemi ilgili firmaların önerdiği şekilde aşağıdaki yöntemlere göre yapıldı.

### 2.2.3. Tetrasiklin Grubu Antibiyotikler için ELISA Metodu

Tetrasiklin analizi için Tecna marka test kitlerinden (code AB710/AB711) faydalanıldı. Kitler analizden en az 30 dakika önce buzdolabından çıkarılıp oda ısısında bekletildi

Homojen hale getirilmiş broiler eti örneklerinden 2'şer g alındı ve her bir örnek üzerine 10 kat sulandırılmış dilisyon buffer'inden 8 ml ilave edilip 1'er dakika vortex



yardımıyla dakika homojenize edildi. Örnekler +4 °C' de 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası örnekler 2000 devirde 5 dakika santrifüj edilip, Whatman 1 filtre kağıdı kullanılarak filtre edildi. Her bir örneğin pH'sı 0.5 N NaOH yardımı ile 7.4'e ayarlandı.

Mikropleylerdeki kuyucuklara öncelikle 0 ng/ml, 0.75 ng/ml, 1.5 ng/ml, 2.5 ng/ml, 5 ng/ml, 10 ng/ml standart solüsyonlardan, diğer kuyucuklara da örneklerden 50'şer mikrolitre konuldu ve üzerlerine 50 mikrolitre reseptör solüsyon ilave edilerek pleytler birkaç saniye dairesel olarak yavaşça çalkalandı. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kuyucuklardaki sıvı dökülerek uzaklaştırıldı ve yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkama işlemine tabi tutuldu ve pleytlerdeki fazla su filtre kağıdıyla alındı. Kuyucuklara 100 mikrolitre enzim konjugat solüsyonu eklenerek mikropleyt birkaç saniye dairesel hareketlerle çalkalandı. Mikropleytlere oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Süre sonunda kuyucuklara yıkama solüsyonu ilave edilerek, 3 kez yıkama işlemi gerçekleştirildi. Yıkama sonrası her kuyucuğa 100 mikrolitre developing solüsyonu ilave edildi ve oda ısısında 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında her kuyucuğa 50 mikrolitre stop solüsyon eklenerek, optik dansite (OD) ELX808 Ultra Microplate Reader kullanılarak 450 nm'de okuma yapıldı.

#### **2.2.4. Florfenikol Grubu Antibiyotikler için ELISA Metodu**

Florfenikol için homojenize edilmiş örnekten 3 g tartıldı, üzerine 6 ml etil asetat ilave edilerek, 5 dakika shaker'da karıştırıldı ve 10 dakika süre ile oda ısısında 4000 devirde santrifüje edildi. İşlem sonrasında süpernatantın 2 ml alındı ve 50-60 °C'de nitrojen altında uçuruldu. Kalan kalıntı kısım 1 ml N-hexane ile çözdürüldü ve 1 ml redissolving solüsyonundan (kit içerisinde bulunan ve analiz öncesi birebir dilüe edilen) ilave edilerek 30 saniye süresince shaker'da kuvvetlice bir çalkalama işlemine tabi tutuldu, ve daha sonra da 15 dakika, oda ısısında 4000 devirde santrifüj edildi. Santrifüje edilmiş örneklerin 50 mikrolitresi analiz için kullanıldı.

Florfenikol analizi için ticari test kitlerinden faydalanıldı. Kullanım öncesi tüm reaktifler ve pleytler oda sıcaklığına getirildi (20-25 °C), sıvı haldeki reaktifler kullanım öncesi çalkalandı. Standart solüsyonlar (0 ppb, 0.5 ppb, 1.5 ppb, 4.5 ppb, 13.5 ppb ve 40.5 ppb'lik) ve örnekler 50 mikrolitre miktarında playt'lerdeki kuyucuklara ayrı ayrı konuldu ve üzerlerine 50 mikrolitre antibody solüsyon ilave edildi. Mikropleytlere karanlık ortamda

25 °C' de 60 dakika inkübe edildi. İşlem sonrası her kuyucuğa 250 mikrolitre olacak şekilde yıkama solüsyonundan ilave edildi ve işlem 4-5 kez tekrarlandı ve yıkama solüsyonu tamamen uzaklaştırıldı. Kurutma kağıdıyla ıslaklığı alınmış pleytlerde her kuyucuğa 100 mikrolitre enzim konjugat ilave edildi, pleytler nazik bir şekilde elde birkaç dairesel hareketle döndürülerek, kuyucukların dip kısmının enzim konjugatla kaplanması sağlandı. Karanlık ortamda 25 °C'de 30 dakika inkübe edildi ve süre sonunda 5-5 kez yıkama solüsyonu ile yıkanıp, pleytlerin ıslaklığı giderildi. Her kuyucuğa 50 mikrolitre substrat ve 50 mikrolitre B solüsyonu ilave edilerek karanlık ortamda 25 °C' de 30 dakika inkübe edildi. İnkubasyon sonunda 50 mikrolitre stop solüsyon tüm kuyucuklara ilave edildi ve optik dansite(OD) ELX808 Ultra Microplate Reader kullanılarak 450 nm'de okuma gerçekleştirildi.

### **2.2.5. LC-MS/MS Analizi**

#### **Test Numunesinin Ekstraksiyonu**

50 ml'lik polipropilen santrifüj tüpüne kas doku numunesinden  $2 \pm 0.02$  g tartıldı. İnternal çalışma standart solüsyonundan 100 µl yükleme yapıldı ve birkaç sn vortekslelendikten sonra üzerine 200 µl 0,1 M Na<sub>2</sub>EDTA ve 10 ml % 70'lik MeOH ilave edildi ve tekrar 15 dakika vortekslelendi ve takibinde ise 15 dakika, 4 °C de 4000 rpm'de santrifüje edildi. Her örneğin üst fazındaki sıvıdan 0,5 ml temiz cam tüplere aktarıldı, üzerine 2ml saf su eklenerek 2 dak vorteksleme işlemi ve takibinde 0,45 mikron RC filtreden geçirilerek 2ml'lik viallere alındı ve 20 µl LC-MS/MS sistemine enjekte edildi.

#### **Kontrol Kas Doku Örneğinin Ekstraksiyonu**

50 ml'lik polipropilen santrifüj tüpüne kontrol kas doku numunesinden  $2 \pm 0.02$  g alındı. Ekstraksiyon işlemleri numuneye uygulandığı şekli ile aynen tekrarlandı. 20 µl LC-MS/MS sistemine enjekte edildi.

#### **Spike Kas Doku Örneğinin Ekstraksiyonu (Kalibrasyon Eğrisi İçin)**

4 ayrı 50 ml'lik polipropilen santrifüj tüpüne kontrol kas doku numunesinden  $2 \pm 0.02$  g alındı. Kontrol kas doku örneği içeren tüplere sırası ile 50 ve 100 ul çalışma standart solüsyonu ilavesi sonrası vortekslelendi. Ekstraksiyon işlemleri numuneye uygulandığı şekliyle aynen tekrarlandı. 20 µl LC-MS/MS sistemine enjekte edildi.

#### **Cihaz Koşulları**

Pompa Koşulları: T-flow: 0.8 mL/min, % 10 Pressure limit: P.max: 300 bar

Kolon Fırını Koşulları: Oven Temp: 35°C

Pompa Oranlama Programı: (Başlangıç Mobil Faz A=% 90; Mobil Faz B: %10)

STOP TIME (min) : 10

POST TIME (min) : 5

### MS/MS Koşulları

MSQ SOURCE

Gas Temp.: 350 °C Gas Flow: 10 L/dak.

Sheath Gas Temp.: 400 °C Sheath Gas Flow: 12 L/dak.

Nebuliser: 45 psi Capillary: 4000

### Sonuçların Hesaplanması

Analiz sonucunda elde edilen datalar Masshunter Quantitative Analysis ile değerlendirildi.

## 3.BULGULAR

Bu çalışma, Aydın ilinde satışa sunulan broiler etlerinde tetrasiklin ve florfenikol antibiyotiklerinin varlığını araştırmak amacıyla yapıldı. Çalışmada farklı satış noktalarından elde edilen toplam 80 tavuk eti ELISA test kitleri ile analiz edilerek tetrasiklin ve florfenikol antibiyotik kalıntılarının etlerde bulunup bulunmadığı incelendi. Broiler et örneklerine ait ELISA test sonuçları aşağıda Çizelge 5’de görüldüğü gibidir.

**Çizelge 5.** Broiler Örneklerinde Tetrasiklin ve Florfenikol Antibiyotik Varlığına Ait ELISA Test Sonuçları

Antibiyotik Çeşidi	Pozitif Örnek Sayısı	Negatif Örnek Sayısı
Tetrasiklin	24	56
Florfenikol	-	80

Çizelge 5’de görüldüğü gibi broiler et örneklerinden yapılan ELISA testine göre tetrasiklinler 56 örnekte negatif, 24 örnekte ise pozitif bulunmuş olup, incelenen örneklerin hepsinin florfenikol yönünden negatif olduğu gözlenmiştir.

Elde edilen test sonuçlarına göre pozitif örneklere, LC-MS/MS cihazı kullanılarak doğrulama ve miktar tayini analizi yapıldı ve Türk Gıda Kodeksi belirlen maksimum limit değerleri ile karşılaştırıldı.

ELISA testi sonucu, tetrasiklin yönünden pozitif olarak tespit edilen örnekler, kalıntı miktarını belirlemek üzere LC-MS/MS cihazı kullanılarak analiz edildi. Kullanılan metodun hassasiyetini ölçmek üzere 1 adet blank yani antibiyotik içermeyen numune ile 100 ppb ve 500 ppb tetrasiklin içeren örnekler yani 2 spike ile beraber 24 örnek ekstraksiyonları sonunda cihaza enjekte edildi. Analizler iki tekrarlı yapıldı. 100 ppb antibiyotik enjekte edilmiş örneklerde tetrasiklinlerin geri alınabilirlik oranı % 96–103 olarak tespit edilirken, 500 ppb antibiyotik enjekte edilmiş örneklerde ise bu oran % 104-106 olarak belirlendi. Analiz sonucu elde edilen kalıntı düzeyleri Çizelge 6’da, kromatogramlar ise Şekil 5, Şekil 6, Şekil 7, Şekil 8, Şekil 9’ da verilmiştir.

**Çizelge 6.** Broiler Etinde LC/MS-MS Analizi Sonucu Elde Edilen Kalıntı Düzeyleri (ppb)

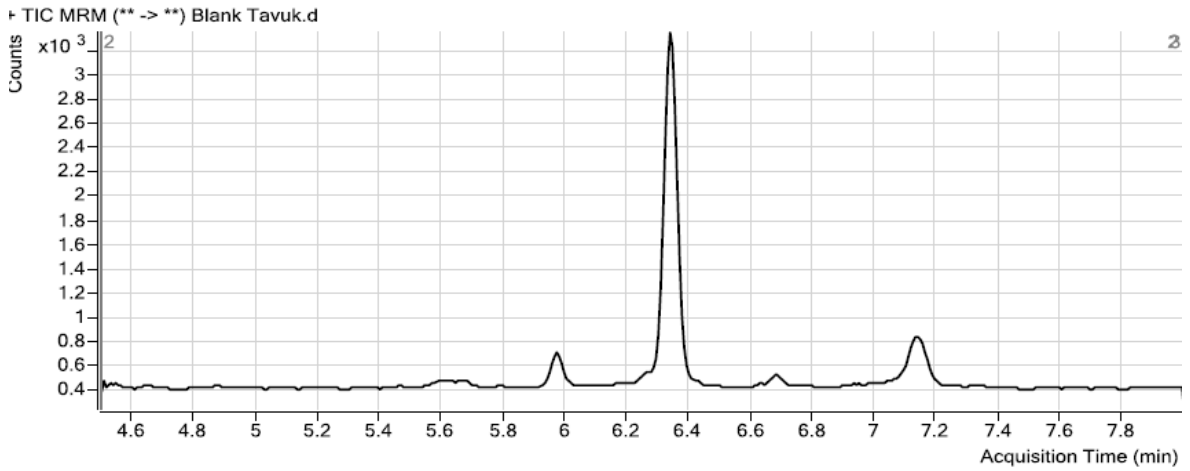
<b>Örnek</b>	<b>Örnek Sayısı</b>	<b>Pozitif Örnek Sayısı</b>	<b>Ortalama Seviye ± SD</b>	<b>Minimum (ppb)</b>	<b>Maksimum(ppb)</b>
<b>Broiler Eti</b>	80	24	30.06±16.07	5.1	76

Çizelge 6’da görüldüğü gibi tetrasiklin içeren örneklerde en düşük tetrasiklin kalıntı miktarı 5.1 ppb olarak, örneklerdeki en yüksek kalıntı miktarı 76 ppb olarak saptandı. Tetrasiklinler yönünden ELISA test pozitif sonuç veren örneklerdeki kalıntı miktarının ortalama 30.06 ppb olduğu tespit edildi. LC-MS/MS kullanılarak analiz edilen 24 örneğin 7’sinde antibiyotik düzeyi tespit edilebilir limit değerinin altında bulundu.

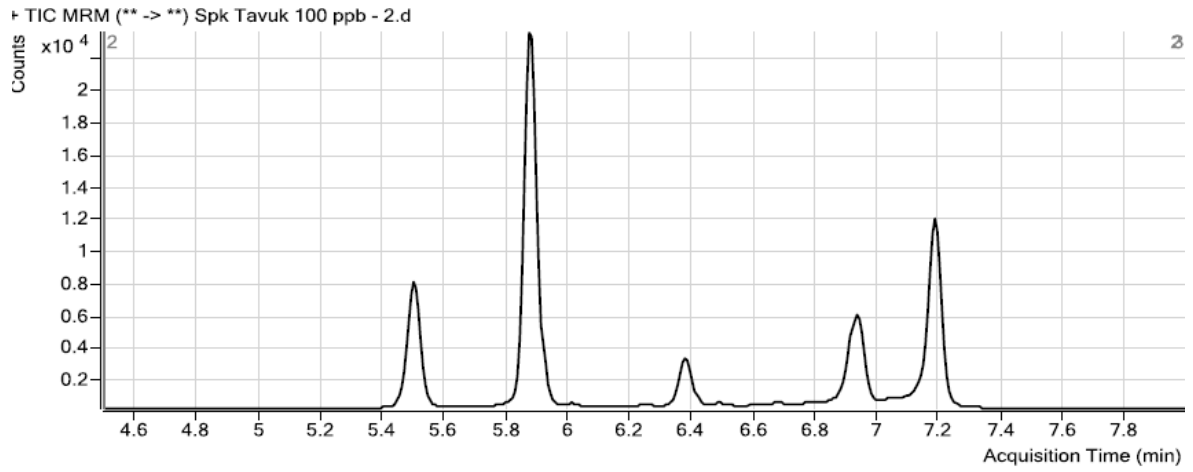
### Çizelge 7. LC-MS/MS Analiz Sonuçları

Tetrasiklin Düzeyi ( $\mu\text{g/g}$ )	Numune Sayısı	Limit Değerleri Aşan Örnek Miktarı(%)
>100	24	% 0

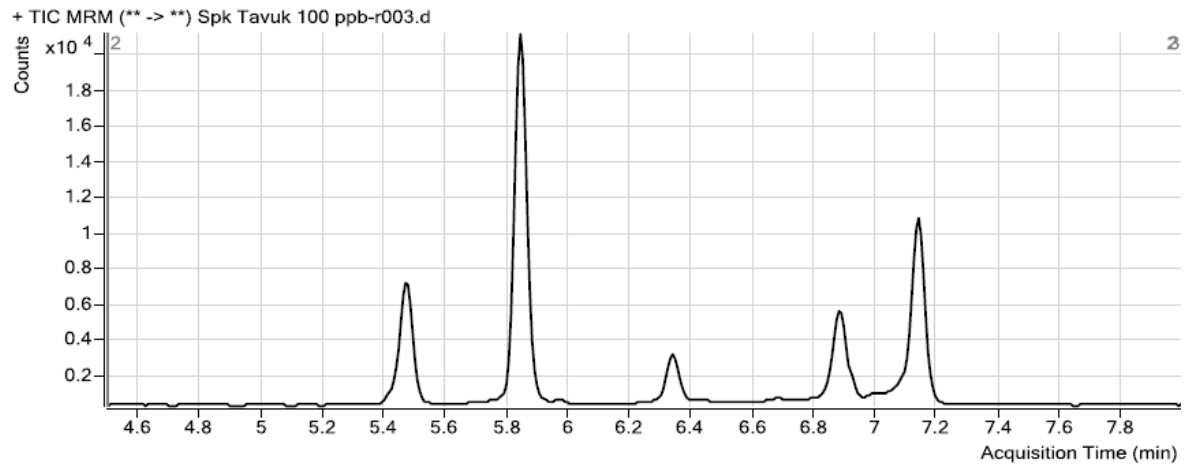
Şekil 5. Tetrasiklin İçermeyen (Blank) Numuneden Elde Edilen LC-MS/MS Kromatogramı



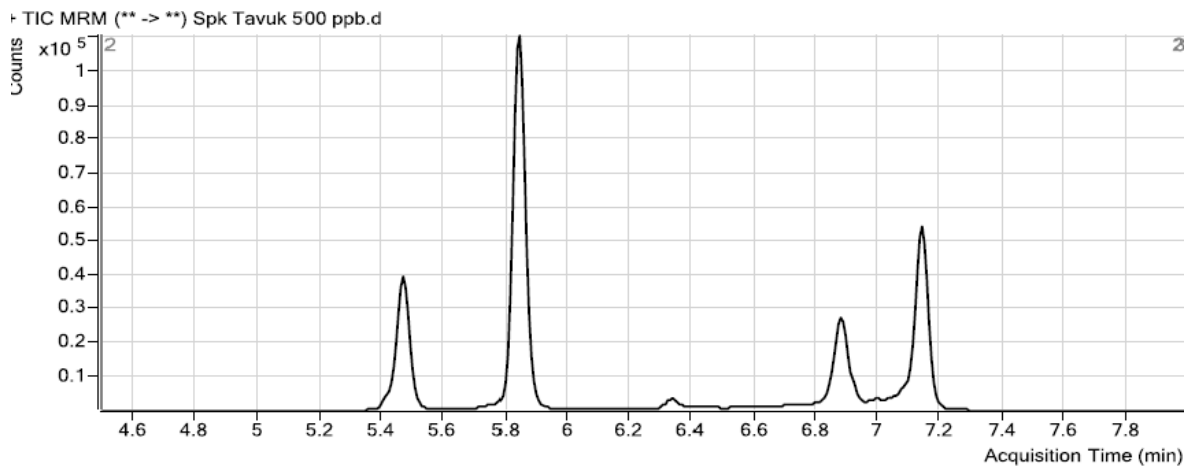
Şekil 6. 100 Ppb Tetrasiklin Enjekte Edilen Numuneye (Spike 1) Ait Lc-Ms/Ms Kromatogramı (1)



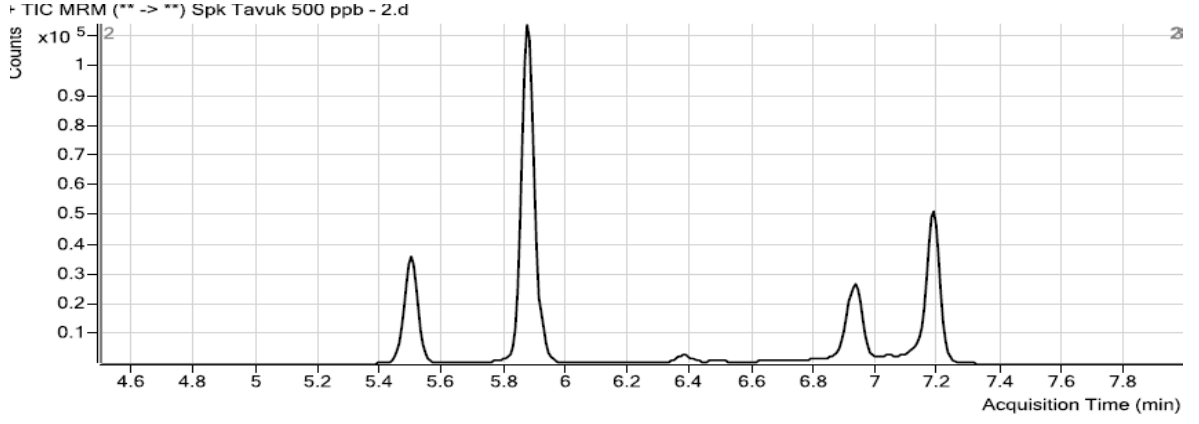
**Şekil 7.** 100 Ppb Tetrasiklin Enjekte Edilen Numuneye (Spike 2) Ait LC-MS/MS Kromatogramı (2)



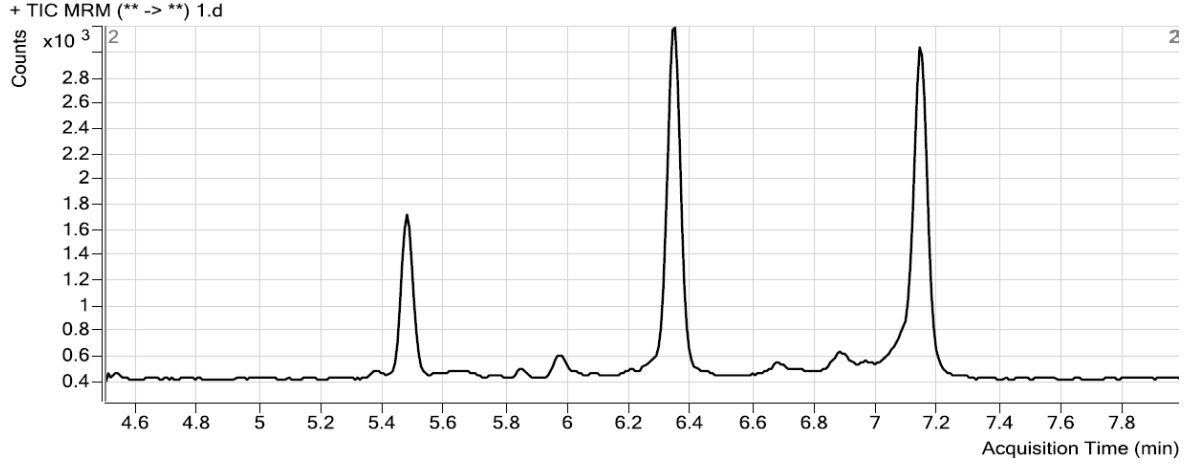
**Şekil 8.** 500 Ppb Tetrasiklin Enjekte Edilen Numuneye (Spike 1) Ait LC-MS/MS Kromatogramı (1)



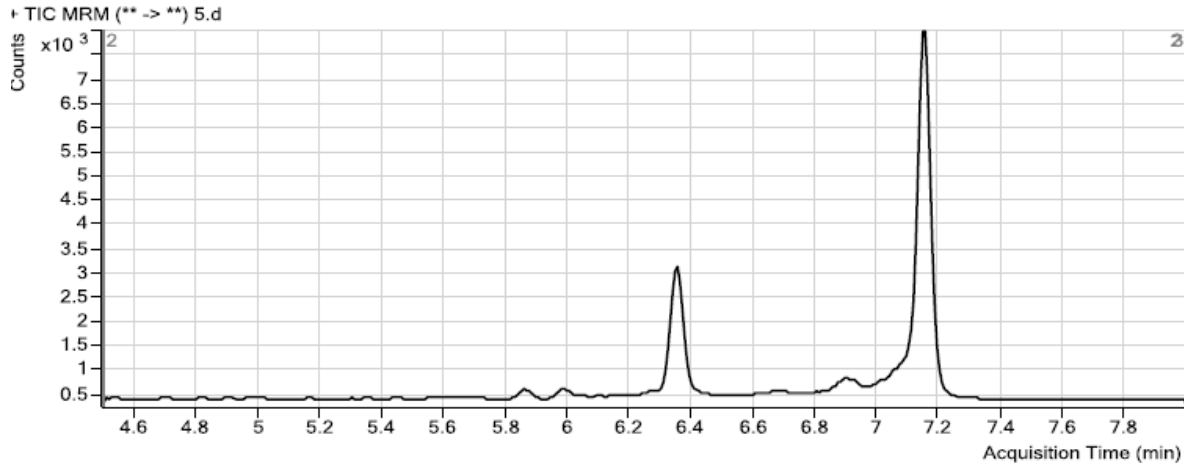
**Şekil 9.** 500 Ppb Tetrasiklin Enjekte Edilen Numuneye (Spike 2) Ait LC-MS/MS Kromatogramı (2)



**Şekil 10.** ELISA Testine Göre Tetrasiklin Pozitif Olarak Değerlendirilen En Düşük Miktarda Kalıntı İçeren Örneklerden Birine Ait Kromatogram Sonucu



**Şekil 11.** ELISA Testine Göre Tetrasiklin Pozitif Olarak Değerlendirilen En Yüksek Miktarda Kalıntı İçeren Örneklerden Birine Ait Kromatogram Sonucu



LC-MS/MS' ten elde edilen sonuçlarda 24 örnek Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Kökenli Gıdalarda Veteriner İlaçları Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliği'ne göre (Anonim 2009) değerlendirildi. Tebliğe göre kanatlı etlerinde bulunabilecek tetrasiklin kalıntı limit değeri 100 ng/g'dır. Analiz edilen örneklerde tetrasiklin düzeyinin izin verilen limitlerin altında olduğu tespit edildi.

#### 4. TARTIŞMA

Aydın ilinde satışa sunulan broiler etlerinde ELISA testi ile florfenikol ve tetrasiklin varlığının araştırıldığı bu çalışmada incelenen 80 adet örneğin hiçbirinde florfenikol kalıntısına rastlanılmazken örneklerin 24'ü tetrasiklin grubu antibiyotik kalıntısı



yönünden pozitif bulunmuştur. Tetrasiklin yönünden pozitif olan 24 örneğin, tetrasiklin kalıntı miktarının yasalara uygunluğunu belirlemek için de LC-MS/MS ile miktar ölçümleri yapılmış olup, örneklerin Türk Gıda Kodeksi (Anonim 2009) MRL değerlerinin altında olduğu gözlenmiştir.

Acet ve ark (1987)'nin 120 broiler piliği üzerinde yaptığı çalışmada oksitetrasiklin (20 mg/kg) ve tetrasiklini (50 mg/kg) piliçlere ağız yoluyla verdikten sonra, plazma, karaciğer, böbrek ve kas dokularında antibiyotik kalıntılarının varlığını araştırmış; oksitetrasiklin kalıntılarına 0.32-2.56 µg/g düzeyinde yalnız böbreklerde, tetrasiklin kalıntılarına 0.080-0.240 µg/g düzeyinde plazma hariç tüm dokularda rastladıklarını belirtmişlerdir.

Akar (1991), 175 tavuk eti ve 175 tavuk karaciğeri olmak üzere toplam 350 numunede ince tabaka kromatografi biyotografik yöntemle kloramfenikol, eritromisin, monensin ve tilosin kalıntılarını araştırmıştır. Tavuk etlerinin % 3'ünde kloramfenikol, % 2.3'ünde eritromisin, % 1.1'inde tilosin; tavuk karaciğerlerinin % 0.57'sinde kloramfenikol, % 1.4'ünde eritromisin, % 1.7'sinde tilosin kalıntıları saptanarak, elde edilen değerlerin tolerans limitlerinin üzerinde olduğu bildirilmiştir. Numunelerin hiçbirinde monensin kalıntısı bulunmadığı belirtilmiştir. Sonuçta, Ankara piyasasında satılan tavuk etlerinin % 5.7'si ve tavuk karaciğerlerinin % 3.4'ünün bu 4 antibiyotikten 3'ünü içerdiği belirlenmiştir.

Öbekçi (2002), Tarım ve Köyişleri Bakanlığı bünyesinde yürütülmekte olan "Kanatlı Etlerinde Ulusal Kalıntı İzleme Genelgesi (Anonim 2001)" doğrultusunda Türkiye'nin değişik illerinden temin ettiği 200 tavuk eti ve 200 tavuk karaciğer örneğini HPLC tekniği ile tetrasiklin grubu antibiyotik (tetrasiklin, oksitetrasiklin ve klortetrasiklin) kalıntıları yönünden incelemiştir. Tavuk etlerinde % 8.1 oranında oksitetrasiklin, % 7 tetrasiklin ve % 5.5 klortetrasiklin; tavuk karaciğerlerinde ise % 74 oranında oksitetrasiklin, % 47 tetrasiklin ve % 5.5 klortetrasiklin kalıntısı bulunduğunu bildirmiştir. Kalıntı düzeylerinin, pozitif sonuç veren numunelerde tolerans limitlerinin altında bulunduğu belirtilmiştir.

Lou ve Ang (2000), tavuk kas örneklerini LC (Liquid Chromatography) metodu ile amoksisilin varlığı yönünden incelediklerinde, ortalama 20 µg/g düzeyinde, % 81.7-82.9 oranında kalıntıya rastladıklarını bildirmişlerdir.

Japonya'da tavuk eti ve tavuk karaciğer örnekleri HPLC metodu ile sülfadimetoksin ve sülfadimetoksinin hidroksil metabolitleri yönünden analiz edildiğinde, sırasıyla 0.1 ve 0.5 ppm düzeyinde, % 0.5 ve % 4.8 oranında kalıntı tespit edildiği belirtilmiştir (Furusawa 2000).

Çin'de HPLC yöntemiyle tavuk etlerinde % 74.7-86.5 oranında sülfametazin ve sülfametoksazol kalıntılarına rastlanılmıştır (Yang ve ark 2003).

Arjantin'de broiler etlerinde florokinolon grubu antibiyotik (siprofloksasin, enrofloksasin, balofloksasin) kalıntılarının tespit edilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, ortalama % 77.47 enrofloksasin, % 87.7 siprofloksasin ve % 96.67 balofloksasin kalıntısı, 0.01-0.1 µg/ml düzeyinde saptanmıştır (Garcia-Ovando ve ark 2004).

Malezya'da 47 adet tavuk eti örneği dörtlü plak test ile sülfonamid, penisilin, sefalosporin, aztreonam ve tetrasiklin antibiyotik kalıntıları yönünden incelendiğinde, 17 örnekte (% 36.17) kalıntı tespit edilerek, örneklerde beta-laktam ve tetrasiklin kalıntılarının daha yaygın bulunduğu bildirilmiştir (Myaing ve ark 2006)

Bergner-Lang ve ark (1993), 517 böbrek, 312 et ve karaciğer örneğinin sırasıyla 223'ü (% 43), 135'i (% 43) ve 18'inde (% 45) antibiyotik kalıntılarına rastladıklarını ve örneklerin 151'inin (10-13.5 µg/kg) tetrasiklin, 60'nın (0.5-100 µg/kg) kloramfenikol ve 2'sinin (12-250 µg/kg) kinolon antibiyotiklerinin kalıntılarını taşıdığını bildirmişlerdir.

Konya'da 60 adet süt örneği ELISA tekniği ile test edilmiş, örneklerin 28'inde (% 46.8) kloramfenikol ve 40'ında (% 66.8) tetrasiklin kalıntısına rastlanmıştır (Unusan 2009).

Erdoğdu ve ark (2009), 275 adet sığır ve koyun eti örneğinden 13'ünü Charm 2 ile taramaları sonucunda tetrasiklin türevi antibiyotik kalıntıları yönünden pozitif örnekler tespit etmişlerdir. HPLC-UV ile analiz edilen örneklerden 11'indeki kalıntı MRL üzerinde (275-2540 µg/kg) örneklerin 1'inde ise MRL altında (32.4 µg/kg) bulunmuştur

Ankara ve çevresinde süt sığırcılığı yapılan kamu ve özel sektöre ait işletmelerden sağlanan 444 çiğ ve pastörize süt örneğinde intertest ve üçlü plak testleriyle kloramfenikol kalıntısı aranmış, intertest yöntemiyle 78 pozitif (% 17.56), 65 şüpheli (% 14.63), 301 negatif (% 67.79), *B. subtilis* ile yapılan üçlü plak yöntemiyle 24 (% 5.40) pozitif, 1 şüpheli (% 0.22), 419 (% 94.36) negatif sonuç elde edilmiştir (Önal ve ark 1993).

Veliođlu (2006), ısıł işlemin antibiyotik kalıntısı üzerine etkisini belirlemek için yaptığı çalışmasında, sütün pastörize edilmesi ve kaynatılması sonucunda, klortetrasiklin konsantrasyonunun sırasıyla, yaklaşık % 41 ve % 48 oranlarında azaldığını, kaynatma işlemi ve pastörizasyon işlemi ile meydana gelen azalmanın birbirinden önemli miktarda farklı olduğunu bulgulamıştır.

şanlı ve ark (1991), 7 ticari firma ve 9 ayrı sütünlük biriminden elde ettikleri 75 çiğ ve 14 pastörize sütün oluşan toplam 89 örneği kloramfenikol kalıntısı yönünden taramış, İnce Tabaka Kromatografi /biyootografik yöntemle 6 sütün örneğinde 0.8-1.6 mg/kg arasında değişen düzeylerde kloramfenikol kalıntısı tespit etmişlerdir.

İsveç'te, balda bulunmaması gereken tetrasiklinin varlığını araştırmak üzere bal ve yumurta örnekleri analiz edilmiştir. Antibiyotik kalıntılarını belirlemek amacıyla test kitleri kullanılmıştır. Kitlerden elde edilen sonuçlar LC/ MS-MS kullanılarak doğrulanmıştır. Analiz sonuçlarına göre 30 İsveç bal örneğinden yalnızca 1'i pozitif olarak değerlendirilmiştir. İncelenen 30 İsveç yumurtasında ise tetrasiklin kalıntısına rastlanılmamıştır. Pozitif olarak değerlendirilen örnek LC/MS-MS kullanılarak analiz edilmiş antibiyotik kalıntısı içermediği tespit edilmiştir (Alfredson ve ark 2004).

Tittleimar ve ark (2007)'nın Kanada'da 1993-2004 yılları arasında su ürünlerinde LC-MS/MS ile 39 farklı veteriner ilacı varlığını araştırdıkları bir çalışmada, 1 adet balıkta 0.4 µg/kg oranında kloramfenikol, 4 adet karideste nitrofuran AOZ 0.5-2 µg/kg seviyelerinde, 3 adet karideste 0.3-0.73 µg/kg seviyelerinde enrofloksasin kalıntısına rastlanıldığını bildirmişlerdir.

Kloramfenikol, sefalosporin, tetrasiklin, sülfonamid, beta-laktam grubu antibiyotikler, kinolonlar, aminoglikozidler ve makrolidlerin çiğ sütünlerde bulunup bulunmadığının araştırılması üzerine yapılan bir çalışmada 3 yıl boyunca Hırvatistan'dan toplanan 129 çiğ sütün örneği incelenmiştir. Antibiyotik kalıntıları mikrobiyolojik ve immünoassay metotları kullanılarak saptanmıştır. Mikrobiyolojik analizler sonucu 36 ve immünoassay sonucu 1 örnek pozitif olarak değerlendirilmiştir. HPLC kullanılarak yapılan doğrulama işlemlerinde 37 örnekten 2 tanesi 12 µg/kg penisilin G, 19 µg/kg amoksisilin, 1671 µg/kg tetrasiklin içermektedir. Belirtilen miktarlar MRL değerlerin üzerinde bulunmuştur (Bilandağic ve ark 2011).

Lee ve ark (2007), çeşitli hayvansal ürünlerde tetrasiklin, makrolid, penisillin, aminoglikozid ve kloramfenikol türlerini içeren 13 antibiyotiği mikrobiyal testler ile

taradıkları çalışmada, 459 adet taranan örnekten 34'ünün muhtemel pozitif olduğunu tespit etmişlerdir.

Chung ve ark (2009), yaptıkları sulfonamid ve kinolon grubuna ait bir çalışmada inceledikleri inek sütü ve keçi sütüne ait 269 örneğin mikrobiyel testler sonucu 21'ini, HPLC analizi sonucunda da 4'ünü pozitif olarak değerlendirmişlerdir.

Akar (1991), 175 tavuk eti ve 175 tavuk karaciğeri üzerinde yaptığı çalışmada tavuk eti örneklerinin %3'ünde ve karaciğer örneklerinin % 0.57'sinde fenikol grubu antibiyotiklerden olan kloramfenikole rastlamıştır. Lee ve ark (2007)'ı hayvansal ürünlerde, Şanlı ve ark (1991) süt ürünlerinde fenikol grubu antibiyotiklerinden kloramfenikol kalıntısına rastlamışlardır. Çalışmamızda kanatlı örneklerinde florfenikol kalıntısı saptanmamıştır. Literatürlere bakıldığında florfenikol kalıntısı üzerine yapılan çalışmaların sayısının oldukça yetersiz olduğu gözlenmektedir. Erdoğan ve ark (2009) koyun ve sığır etleri üzerinde yaptıkları çalışmada incelenen 275 örnekten 11'inde maksimum limit değerlerin üzerinde tetrasiklin kalıntısı bulgulanmıştır. Et, süt ve bal örneklerinde tetrasiklin kalıntısını belirlemek üzere yapılan çalışmalarda genel olarak kalıntıya rastlanıldığı ancak değerlerin limit değerlerin altında kaldığı gözlenmektedir. Bu anlamda yaptığımız çalışma önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Gıda maddeleri içindeki antibiyotik kalıntılarının halk sağlığını etkileyen ciddi bir sorun olmasından dolayı, kümeslerde canlı hayvan kontrollerinin üretici işletmeler tarafından çok daha dikkatli bir şekilde uygulanması ve takip edilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Kanatlı endüstrisi başta olmak üzere gıdalardaki kalıntıları tespit etmek için ilgili kamu kurum ve kuruluşlarınca yapılan denetimler sıklaştırılarak, kullanımı yasaklanmış ilaçların satışlarının ve uygulanmalarının önlenmesi gerekmektedir.

## 5. SONUÇ

Bu çalışmada Aydın ilinde tüketime sunulan, farklı satış yerlerinden, farklı zamanlarda toplanan 80 adet broiler örneğinde tetrasiklin ve florfenikol antibiyotik kalıntısının varlığı araştırılmıştır. Antibiyotik kalıntı varlığı ELISA test kitleriyle ve pozitif örneklerin kalıntı miktar tayini LC-MS/MS cihazı ile yapılmıştır. ELISA test sonuçlarına göre incelenen örneklerin 24'ünün tetrasiklin pozitif olduğu ve örneklerin hiçbirinde

florfenikole rastlanılmadığı gözlenmiştir. Tetrasiklin içeren 24 örneğin ise MRL değeri olan 100 ng/g'ın altında olduğu görülmüştür.

Hayvansal gıdalarda florfenikol ve tetrasiklin grubu antibiyotiklerin seviyelerinin izlenebilmesi için spesifik ve duyarlı analitik metodlara ihtiyaç duyulmaktadır. Kalıntı analizleri için likit kromatografi (LC), gaz kromatografi (GC) ve immunoassay (ELISA) gibi farklı metodlar kullanılmaktadır. 2002/657/EC sayılı komisyon kararına göre şüpheli pozitiflerin doğrulanması için kütle spektrometri (MS) etkili bir metod olup kromatografik ayırım metoduyla birlikte kullanılmak zorundadır. LC-MS/MS hayvansal dokularda “0-tolerans kalıntı seviyesi”ne sahip ilaçlar için kullanılacak güvenilir analitik bir metoddur.

Kümes hayvanlarında antibiyotik kullanımı; verimli üretimi kolaylaştırıp, hastalık insidensini düşürerek hayvan sağlığı ve refahını olumlu yönde etkilemekle birlikte kanatlıların yenilebilir dokularında ilaç kalıntılarının tehlikeli boyutta birikmesine neden olabilmektedir. Bu yüzden halk ve tıp sağlığı uzmanları arasında hayvansal gıdalarda antibiyotik kalıntıları endişe verici konulardandır. Hayvanlarda kullanılan antibiyotikler dirençli bakterilerin gelişimini sağlayarak insan sağlığında kullanılan antibiyotiklerin güçlerini önemli ölçüde azaltmakta, uzun süre maruz kalınması durumunda ise alerjiden anaflaktik şoka kadar değişen şiddette zehirlenmelere ve teratojenik, mutajenik, karsinojenik etkilere neden olabilmektedir. Gıda değeri taşıyan hayvanların tedavilerinde düşük dozlarda kloramfenikol kullanımı dahi yenilenebilir hayvansal dokularda kalıntı riski oluşturarak insan sağlığına zarar verebilmektedir. Bu sebepler dolayısıyla Avrupa Birliği'ne üye ülkelerde, Amerika'da, Türkiye'de ve diğer birçok ülkede kloramfenikolün gıda değeri taşıyan hayvanlarda kullanımı yasaklanırken florfenikol ve tetrasiklin için maksimum kalıntı limiti belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalardan elde edilmiş veriler ışığında gıda değeri taşıyan hayvanların yetiştirilmesinde antibiyotiklerin yasal olmayan şekilde kullanıldığı, ancak florfenikol ve tetrasiklin kalıntısının araştırıldığı çalışmamızda florfenikole rastlanılmamış ve tetrasiklin kalıntı miktarının da kabul edilebilir sınırlarda olması olumlu bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Ancak, hayvansal kaynaklı gıdalarda saptanan MRL değerini aşan antibiyotik kalıntıları gıda güvenliği ve halk sağlığı yönünden potansiyel risk oluşturabileceğinden et ve et ürünleri antibiyotik kalıntısı yönünden belirli aralıklarla analiz edilmelidir. Oluşabilecek riskin önüne geçmek adına üretim ve satış yapan işletmelere yapılan denetimlerin sıklığı arttırılmalı, yalnızca broiler etleri değil diğer tüm hayvansal kaynaklı gıdalar için uygun üretim ve muhafaza koşulları sağlanarak başta antibiyotik kalıntıları olmak üzere tüm kalite kriterlerinin Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği'ne (2009) uygunluğu raf ömrü sonuna kadar izlenmelidir.

## ÖZET

### **Tekgöl, Y. Aydın İlinde Satışa Sunulan Broiler Etlerinde Bazı Antibiyotik Kalıntılarının Varlığının Araştırılması**

Tavuk eti üretimi ve tüketimi tüm dünyada önemli ölçüde artmaktadır. Bu anlamda en fazla üretim yapan ülkeler Amerika Birleşik Devletleri, Çin ve Brezilya'dır. Tavuk eti

gerek yüksek protein içeriği (% 20-22) gerekse tiamin, riboflavin, niasin, vitamin B<sub>6</sub> ve B<sub>12</sub> gibi B grubu vitaminleri açısından iyi bir kaynaktır.

Kümes hayvanlarında antibiyotik kullanımı; verimli üretimi kolaylaştırıp, hastalık insidensini düşürerek hayvan sağlığı ve refahını olumlu yönde etkilemekle birlikte kanatlıların yenilebilir dokularında ilaç kalıntılarının tehlikeli boyutta birikmesine neden olabilmektedir. Bu yüzden halk ve tıp sağlığı uzmanları arasında hayvansal gıdalarda antibiyotik kalıntıları endişe verici konulardandır.

Tetrasiklinler, kanatlı yetiştiriciliğinde kullanılan antibiyotiklerin önemli bir grubudur. Tetrasiklinler kanatlılarda sadece belli hastalıkları önleme ve tedavi etmede değil aynı zamanda büyümeyi hızlandırmak amacıyla da kullanılmaktadır. Tetrasiklinlerin usulsüzce kullanımı hayvanların yenilebilir dokularında kalıntıya, bu da insan sağlığı için toksik etkilere ve alerjik reaksiyonlara sebep olabilir. Ayrıca uzun süreli tetrasiklin kalıntısına maruz kalan kişilerde antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaların gelişmesine yol açabilir.

Florfenikol, kloranfenikol ile aynı uygulama alanlarına sahip geniş spektrumlu antibiyotiklerden olup kloranfenikollerin neden olduğu aplastik anemi riskine sahip değildir. Florfenikoller, birçok ülkede kloranfenikollerin yerine kullanılmaktadır. Ancak bu bileşiğin kullanımı hayvanlarda dirençli mikroorganizmaların oluşmasına ve besin zinciri yoluyla da bu mikroorganizmaların insanlara geçişine neden olabilir. Avrupa Birliği Konseyi insan sağlığını korumak için kanatlı etinde maksimum kalıntı düzeyini tetrasiklin ve florfenikol için 100 ng/g olarak belirlemiştir.

Bu çalışmada Aydın ilinde tüketime sunulan, farklı satış yerlerinden, farklı zamanlarda toplanan 80 adet broiler örneğinde tetrasiklin ve florfenikol antibiyotik kalıntısının varlığı araştırıldı. Antibiyotik kalıntı varlığı ELISA test kitleriyle ve pozitif örneklerin kalıntı miktar tayini LC-MS/MS cihazı ile yapılmıştır. ELISA test sonuçlarına göre incelenen örneklerin 24'ünün tetrasiklin pozitif olduğu ve örneklerin hiçbirinde florfenikole rastlanılmadığı gözlemlendi. Tetrasiklin içeren 24 örneğin ise MRL değeri olan 100 ng/g'ın altında olduğu görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Florfenikol, tetrasiklin, tavuk eti, ELISA, LC-MS/MS

## **ABSTRACT**

### **Tekgöl, Y. Investigating The Presence of Antibiotic Residues in Broiler Meat Sold in Retail Market in Aydın Province**

The production and consumption of chicken meat has increased significantly throughout the world. The largest producers are the United States of America, China and Brazil. Poultry meat is a good source of high biological value protein (20-22 %). Poultry meat has significant content of vitamins from group B such as thiamin, riboflavin, niacin



and vitamin B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub>. In poultry, antibiotic usage had facilitated their efficient production, and also enhanced the health and wellbeing of poultry by reducing the incidence of disease, but unfortunately, edible poultry tissues may be contaminated with harmful concentrations of drug residues. Antibiotic residues in foods of animal origin are one of the sources of concern among the public and medical health professionals.

Tetracyclines (TCs) are important group of antibiotics used in poultry production. TCs are given to animals for not only to prevent and treat certain diseases but also to fraudulently promote growth. However, the abundant and improper use of TCs may result in the presence of their residues in edible animal tissues, which can be toxic and dangerous for human health and potentially cause allergic reactions. Moreover, the long-term presence of TC residues may generate the evolution of microorganisms provoking resistance to antibiotics.

Florfenicol is a broad-spectrum bacteriostatic antibiotic with similar applications as chloramphenicol. However, this antibiotic does not carry the risk of inducing human aplastic anemia that is associated with chloramphenicol. Florfenicol can be used as a replacement veterinary antibiotic for chloramphenicol (CAP) in many countries. The use of this compound may result in antibiotic resistance in treated animals, which transfer these resistant organisms to humans via the food chain.

In order to protect human health, a maximum residue levels (MRLs) for the presence of TC and FF residues in poultry meat have been established by EU Commission to be 100 ng/g.

In this study, the presence of tetracycline and florfenicol antibiotic residues in randomly collected 80 broiler samples, to be consumed; from the retail markets located in Aydın Province were investigated. The presence of residues were determined by using ELISA and the quantitative analysis of the tetracycline and florfenicol antibiotic residues were carried out by using LC-MS/MS. Based on the data gathered from ELISA, 24 of the samples were found to be positive for tetracycline but none of the samples had florfenicol positive result. MRL values of 24 samples were found to be as lower than 100 ng/g.

**Keywords:** Florfenicol, tetracycline, chicken meat, ELISA, LC-MS/MS

## **KAYNAKLAR**

1. Acet A, Ateş M, Erganiş O, Hayvansal dokularda antibiyotik kalıntılarının agar difüzyon tekniği ile tayini. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg., 1987; 3, 197-205.
2. Adcock BB, Rodman DP, Ampicillin-specific rashes. Arch. Fam. Med. 1996; 5: 301-304.

3. Afifi NA ve Abo El Soud K, Tissue concentrations and pharmacokinetics of florfenicol in broiler chickens. *British Poultry Science*, 1997; 38: 425-428.
4. Agwuth K N, MacGowan A, Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tetracyclines including glycylyclines. *J. Antimicrob. Chemother.* 2006; 58: 256-65.
5. Akar F, Ankara piyasasında satılan tavuk eti ve karaciğerlerinde bazı antibiyotik kalıntılarının ince tabaka kromatografi/biyootografik yöntemle araştırılması. Doktora Tez Projesi, Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu, 1991.
6. Akšamija A, Horvat G, Habek D, Žalac D ve Jendriš E, Nitrofurantoin-induced acute liver damage in pregnancy, 2009; 357-361.
7. Alfredsson G, Branzell C, Granelli K, Lundström A, Simple and rapid screening and confirmation of tetracyclines in honey and egg by a dipstick test and LC–MS/MS. *Analytica Chimica Acta*, 2005; 529: 47–51.
8. Al-Aloul M, Crawley J, Winstanley C, Hart CA, Ledson MJ ve Walshaw MJ, Increased morbidity associated with chronic infection by an epidemic *Pseudomonas aeruginosa* strain in CF patients. *Thorax*, 2004;59: 334-336.
9. Anadón A, Martínez-Larrañaga MR, Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects. *Livestock Product. Sci.*, 1999; 59:183-198.
10. Anderson AD, Nelson JM, Rossiter S, Angulo FJ, Public health consequences of use of antimicrobial agents in food animals in the United States. *Microb. Drug Resist.* 2003; 9: 373-379.
11. Anonim, Canlı Hayvan ve Hayvansal Ürünlerde Kalıntı İzleme Genelgesi, Erişim Tarihi: 2001.
12. Anonim, Special Eurobarometer 238, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 2006.
13. Anonim , Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Kökenli Gıdalarda Veteriner İlaçları Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliği, <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2009/02/20090216-6.htm>, Erişim Tarihi:2009
14. Anonim 2009, Türk Gıda Kodeksi Et Ürünleri Tebliği, Erişim Tarihi:2009

15. Anonim, Residue monitoring, Food and Drug Administration Pesticide Program, FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition. [www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodContaminantsAdulteration/default.htm](http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodContaminantsAdulteration/default.htm). Erişim Tarihi: 2010.
16. Anonim, T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu Hayvansal Üretim Haber Bülteni, 2010. p.87.
17. Anonim, <http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/toc11.html> Report on Carcinogens, Eleventh Edition. Erişim Tarihi: 2010.
18. Anonim, Piliç Eti Sektör Raporu, Üretim, Tüketim, Dış Ticaret, Sorunlar ve Görüşler Erişim Tarihi:2013
19. Anonim, T.C. Ekonomi Bakanlığı, Kanatlı Et Sektörü, <http://blog.ibp.gov.tr> Erişim Tarihi:2013.
20. Atef M, El-Gendi AY, Azize-Amer MM and Abd-El Aty AM, Pharmacokinetic properties of florfenicol in Egyptian Goats. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 2000; 107: 147-150
21. Ayaz A, Yurttagül M, Besinlerdeki Toksik Öğeler II, Klasmat Matbaacılık ISBN 978-975-590-243-2 , Ankara.
22. Bane DP, Kniffen TS, Hall WF, Sulfamethazine residues in swine: Comparison of on farm monitoring methods. *Preventive Medicine*, 1989; 7: 303–309.
23. Baguero F, Martinez JL, Canton R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*; 2008, 19: 260-265.
24. Baydan E, Filazi A, Kum C, Sekkin S, Etlik piliçlerde pişirme ve dondurma işlemlerinin ilaç kalıntıları üzerine etkileri: 1. Enrofloksasin üzerine pişirme ve farklı sürelerde soğukta depolamanın etkisi. *Türk Vet. Hek.Derg.*, 2000; 71: 19-22.
25. Becker T, Consumer perception of fresh meat quality: a framework for analysis. *Brit. Food J.* 2000; 102:158-176.
26. Berends B, Van den BF, Van K ve Snijders JM, Human health hazards associated with the administration of antimicrobials to slaughter animals. PartI: An assessment of the risks of residues of tetracyclines in pork. *Vet. Q.* 2001; 23(1): 2-10.
27. Bergner-Lang B, Bourgeois B, Edelhauser M, Klein E, Lippold R, Mollers M, Pletscher D, Chemical Drug Residue Analysis of Inhibitor-positive Samples of

- Meat, Kidney and Liver. Editors: Haagsma N, Ruiters A, Eysenberg PBC. Euro Residue II, Conference of Residues of Veterinary Drugs in Food. Veldhoven, The Netherlands. 1993; p:186-191.
28. Berkelman RL, Emerging infectious diseases in the United States, 1993. *J. Infect. Dis.* 1994; 170(2): 272-277.
  29. Bevill RF, Factors influencing the occurrence of drug residues in animal tissues after the use of antimicrobial agents in animal feeds. *JAVMA* 1984; 185(10): 1124-1126.
  30. Blasco C, Torres C, Pico Y. Progress in analysis of residual antibacterials in food. *Trends in Analytical Chemistry*; 2007, 9: 895-913.
  31. Bilandžić N, Kolanović BS, Varenina I, Scortichini G, Annunziata L, Brstilo M, Rudan N, Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia. *Food Control*, 2011; 22: 1941-1948.
  32. Borgen K, Simonsen GS, Sundsfjord A, Wasteson Y, Olsvik Q, Kruse H, Continuing high prevalence of vanA-type vancomycin-resistant Enterococci on Norwegian poultry farms three years after avoparcin was banned. *J. Appl. Microbiol.*, 2000; 89: 478-485.
  33. Botsoglou NA, Fletouris, Drug residues in foods. Marcel Dekker, Inc. USA, 2001.
  34. Brabander HFD, Pottie G, Coutheyn D, Smets F, To qualify, to quantify or to qualify and quantify? That's the question. Editors: Haagsma N, Ruiters A. Euro Residue III, Conference on residues of veterinary drugs in food, Veldhoven, The Netherlands, 1996; p: 283-287.
  35. Brander GC, Possible hazards to man from the use of drugs in and on animals. *Br. Med. Bull.* 1970; 26: 217-221
  36. Brown M, HACCP in the Meat Industry. Woodhead publishing limited, Cambridge, 2000; p: 38-43; 123-125.
  37. Bruhn CM, Consumer perceptions and concerns about food contaminants. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1999; 459:1-7.
  38. Butaye P, Devriese LA, Haesebrouck F, Antimicrobial growth promoters used in animal feed: Effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria. *Clinic. Microbiol. Rev.*, 2003;16: 175-188.

39. Buur J, Baynes R, Smith G ve Riviere J, Use of Probabilistic Modeling within a Physiologically Based Pharmacokinetic Model To Predict Sulfamethazine Residue Withdrawal Times in Edible Tissues in Swine. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2006 ;50: 2344-2351.
40. Casewell M, Friis C, Marco E, Mc Mullin P, Phillips I, The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2003; 52: 159-161.
41. CAST (Council for Agricultural Science and Technology), Antibiotics in animal feeds. Report No.88 Ames, Iowa. Council for Agricultural Science and Technology, 1981.
42. Cerniglia CE, Kotarski S, Evaluation of veterinary drug residues in food for their potential to affect human intestinal microflora. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 1999; 29(3): 238
43. Chen J, Xu F, Jiang H, Hou Y, Rao Q, Guo P, Ding S. A novel quantum dot-based fluoroimmunoassay method for detection of enrofloxacin residue in chicken muscle tissue. *Food Chemistry*, 2009; 113: 1197–1201.
44. Choma I, Grenda D, Malinowska I ve Suprynowicz Z, Determination of flumequine and doxycycline in milk by a simple thin-layer chromatographic method. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 1999; 1: 7-14.
45. Chung HH, Lee JB, Chung YH, Lee KG, Analysis of sulfonamide and quinolone antibiotic residues in Korean milk using microbial assays and high performance liquid chromatography. *Food Chem.*, 2009; 113: 297-301.
46. Civaner EÇ, Kanatlı Etleri, T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi, 2007.
47. Clement RP, Preclinical drug metabolism programs for food producing animals. *Toxicol. Pathol.* 1995; 23(2): 209-216.
48. Cooper AD, Stubbings GWF, Kelly M, Tarbin JA, Farrington WHH, Shearer G, Improved method for the on-line metal chelate affinity chromatography- high-performance liquid chromatographic determination of tetracycline antibiotics in animal products. *J. Chromatogr.*, 1998; 812: 321-326.
49. Corcia AD, Nazzari M, Liquid chromatographic–mass spectrometric methods for analyzing antibiotic and antibacterial agents in animal food products. *Journal of Chromatography A*, 2002; 974: 53–89.

50. Craigmill AL, Cortright, Interspecies considerations in the evaluation of human food safety for veterinary drugs. *AAPS. Pharm. Sci.* 2002; 4(4): article 34
51. Crosby NT, Determination of veterinary residues in food. *Ellis Hornwood Series in Food Science and Technology.* Ellis Hornwood Limited, U.K., 1991.
52. Dayan AD, Allergy to antimicrobial residues in food: Assessment of the risk to man. *Vet. Microbiol.* 1993; 35: 213-226.
53. Delange C, Irey NS, Anaphylactic deaths. A clinical pathologic study of 43 cases. *J. Forensic Sci.* 1972; 17: 525-540.
54. Demet Ö, Acet A, Tmraş B, Konya’da faaliyet gösteren çeşitli mandırlardan toplanan süt örneklerinde kloramfenikol ilaç kalıntılarının araştırılması. *Selçuk Üniv Vet Fak Derg,* 1992; 1: 35-37.
55. Demir C, Hayvansal gıdalardaki antibiyotik ve hormon kalıntılarının insan sağlığı üzerine olası etkileri ve yasal düzenlemeler. *Dünya Gıda Dergisi,* 2004, sayı: 5, p: 52.
56. De Paolis AM, Katz SE, Rosen JD, Effect of storage and cooking on penicillin in meat. *J.Agric.Food Chem.,* 1977; 25(5).
57. De Ruyck H, De Ridder H, Vanrenterghem R, Vanwambeke F, Validation of HPLC method of analysis of tetracycline residues in eggs and broiler meat and its application to a feeding trial. *Food Addit. Contam.,* 1999; 16: 47-56.
58. Dewdney JM, Maes L, Raynaud JP, Blanc F, Scheid JP, Jackson T, Lens S, Verschueren C, Risk assessment of antibiotic residues of beta-lactams and macrolides in food products with regard to their immuno-allergic potential. *Food Chem. Toxicol.* 1991; 29(7): 477-483.
59. Dokuzlu C, Tayar M, Bursa ve çevresinde çiğ sütlerde antibiyotik varlığının belirlenmesi. *Pendik Vet Mikrobiol Derg,* 31, 2000; 2: 61-64.
60. Donoghue DJ, Antibiotic residues in poultry tissues and eggs: Human health concerns? *Poult. Sci.* 2003; 82: 618-621.
61. Dorpe CV, Cox E, Goddeeris B, Induction of group-specific monoclonal antibodies for penicillins. Editors: Haagsma N, Ruter A. *Euro Residue III, Conference on residues of veterinary drugs in food,* Veldhoven, The Netherlands, 1996; p: 387-391.

62. Dunn PM, The possible relationship between the maternal administration of sulphamethoxyypyridazine and hyperbilirubinaemia in the newborn. *J. Obst. Gyn. Brit. Comm.* 1964; 71: 128–131.
63. Duru M, Şahin A, Türkiye’de sağlıklı ve güvenli hayvansal üretimin gerekliliği. *Hayvansal Üretim*, 2004; 45 (1): 36-41.
64. Drusano GL, Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antimicrobials. *Clinical Infectious Diseases*, 2007; 45: 89-95.
65. El -Banna HA, Pharmacokinetics of florfenicol in normal and *Pasteurella* –infected Muscovy ducks. *British Poultry Science*. 1998; 39: 492-496.
66. Erdoğan AT, Koçyiğit Y, Özdemir G, Coşkun Y, Tüketime sunulan sığır ve koyun etlerinde tetrasiklin türevi antibiyotiklerin kalıntılarının belirlenmesi. 3. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi Kitabı, Bursa, 2009. p. 175.
67. Erol İ, Bilir İ, Ormancı FS, Ayaz ND, İşeri Ö, Sarıgüzel D, Hindi etlerinden izole edilen *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Clostridium perfringens* izolatlarının antibiyotik dirençliliğinin belirlenmesi 2. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi Kitabı, 2006. p. 116-123.
68. Eyssen H, Somer P. Effect of antibiotics on growth and nutrient absorption of chicks. *Poultry Science*; 1963, 42: 1373–1379.
69. Ferguson J, Baxter A, Young P, Kennedy G, Elliott C, Weigel S, Gattermann R, Ashwin H, Stead S, Sharman M, Detection of chloramphenicol and chloramphenicol glucuronide residues in poultry muscle, honey, prawn and milk using a surface plasmon resonance biosensor and Qflex® kit chloramphenicol. *Analytica Chimica Acta*, 2005; 529: 109–113.
70. Fekety FR, Safety of parenteral third-generation cephalosporins. *Am. J. Med.* 1990; 88: 38-44.
71. Feinman SE, Matheson III JC, Draft Environment Impact Statement Subtherapeutic Antibacterial Agents in Animal Feeds. Food and Drug Administration, Department of Health, Education and Welfare, Rockville, Maryland, 1978.
72. Fischer LJ, Thulin AJ, Zabik ME, Booren AM, Poppenga RH, Chapman KJ, Sulfamethazine and its metabolites in pork: Effects of cooking and gastrointestinal absorption of residues. *J.Agric.Food.Chem.*, 1992; 40:1677-1682.11



73. Furusawa N, HPLC determination of sulfadimethoxine and its hydroxy metabolites following SPE of edible chicken tissues. *J. Liquid. Chromatogr. Related Techn.*, 2000; 23, 1413-1422.
74. Galer DM, Monro AM, The safety assessment of drug residues at injection sites. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1996; 19: 312-325.
75. Garcia-Ovando H, Gorla N, Weyers A, Ugnia L, Magnoli A, Simultaneous quantification of ciprofloxacin, enrofloxacin and balofloxacin in broiler chicken muscle. *Arch. Med. Vet.*, 2004; 36: 93-98.
76. Gıdalarda Katkm- Kalmntm ve Bulaşanların İzlenmesi: Gıdalarda veteriner ilaç ve anabolizan maddelerin kalıntı düzeylerinin tespiti. Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa, ISBN 925-7657-97-2. 1997.
77. Gorback SL, Antimicrobial use in animal feed – time to stop. *New Engl. J. Med.* 2001; 345: 1202-1203.
78. Groot AC ve Conemans JMH, Contact allergy to furazolidone. Contact dermatitis, 1990; 22: 202-205.
79. Hornish RE ve Katarski SF, Cephalosporins in veterinary medicine-ceftiofur use in food animals. *Current topics in medicinal chemistry*, 2002; 7: 717-731.
80. Impens S, Reybroeck W, Vercammen J, Courtheyn D, Ooghe S, Wasch K, Smedts W, Brabander H, Screening and confirmation of chloramphenicol in shrimp tissue using ELISA in combination with GC-MS2 and LC-MS2. *Analytica Chimica Acta*, 2003; 483: 153-163.
81. İnal T, Besin Hijyeni Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü, Final Ofset, İstanbul, 1992.
82. Jones FT , Ricke SC, Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds, *Poult. Sci.* 2003; 4: 613-617.
83. Katz SE, Fassbender CA, Dowling JR, JJ Oxytetracycline residues in tissue, organs and eggs of poultry fed supplemented rations. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1973, 56: 77-81.
84. Kaya S, Şahal M, Besinlerimizdeki ilaç kalıntıları, bunlara ilişkin tolerans düzeyleri, ilaç verilmiş hayvanlarda uyulması gereken kesim öncesi bekletme veya sütün kullanılmama süreleri. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 1989; 36: 390-403.

85. Kaya S, Pirinçci İ, Ünsal A, Karaer Z, Tarş B, Bilgili A, Akar F, Veteriner Farmakoloji, cilt:2; baskı: 4. Medisan Yayınevi, 2007; p:737-768, Ankara.
86. Kiangkitiwan B, Doppalapudi A, Fonder M, Solberg K ve Bohner B, Levofloxacin-induced delirium with psychotic features. General hospital psychiatry, 2008; 381-383.
87. Kurittu J, Karp M ve Korpela M, Detection of tetracyclines with luminescent bacterial strains. Luminescence, 2000; 15: 291-297.
88. Kühne M, Körner U, Wenzel S, Tetracycline residues in meat and bone meals. Part 2: The effect of heat treatments on bound tetracycline residues, Food Additives & Contaminants, 2001; 18: 593 - 600
89. Küçükersan K, Büyütme faktörleri. Türk-Koop. Ekin, 2002; 20: 31-34.
90. Lee JB, Chung HH, Chung YH, Lee KG, Development of an analytical protocol for detecting antibiotic residues in various foods. Food Chem., 2005; 105: 1726-1731.
91. Linton AH, Antibiotics, animals and man, an appraisal of a contentious subject. In antibiotics and antibiosis in agriculture, 1st ed. Butterworth Inc: London, 1977; 315-343.
92. Liu JZ, Fung KF, Chen Z, Zeng Z and Zhang J, Pharmacokinetics of florfenicol in healthy pigs and pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumonia* Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003; 47: 820-823.
93. Lobell RD, Varma KJ, Johnson JC, Sams RA, Gerken DF and Aschcraft SM, Pharmacokinetics of florfenicol following intravenous and intramuscular doses to cattle. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 1994; 17: 253-258.
94. Lou W, Ang CY, Determination of amoxicillin residues in animal tissues by solid-phase extraction and liquid chromatography with fluorescence detection. J. AOAC. Int., 2000; 83: 20-25.
95. McCaughey WJ, Elliott CT ve Crooks SRH, Determination of sulphadimidine in animal feedstuffs by an enzyme-linked immunoassay. Food Additives, 1990; 7: 259-264.
96. McKellar QA and Varma KJ, Pharmacokinetics and tolerance of florfenicol in Equidae. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 1996; 28: 209-213.
97. Mottier P, Parisod V, Gremaud E, Guy PA, Stadler RH. Determination of the antibiotic chloramphenicol in meat and seafood products by liquid

- chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2003; 994: 75–84.
98. Neu HC and Fu KP, In vitro activity of chloramphenicol and tiamphenicol analogue. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1980; 18; 311-316.
  99. Okerman L, Van Hoof J, Debeuckelaere W,; Evaluation of the European four-plate test as a tool for screening antibiotic residues in meat samples from retail outlets. *J. AOAC Int.* 1998a; 81: 51–56.
  100. Önal A, Aydın N, Ayaz Y, İşcan D, Savaş N, Süt ve etlerde bulunan bazı antibiyotiklerin çeşitli yöntemlerle saptanması. *Etlük Veteriner Mikrobiyoloji Enstitüsü Dergisi*, 1993; 7: 48-51.
  101. Öbekçi J, Tavuk eti ve karaciğerlerinde tetrasiklin grubu antibiyotiklerin HPLC ile saptanması. *Uzmanlık Tezi. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı*, 2002.
  102. Paige JC, Tollefson L, Miller M, Public health impact on drug residues in animal tissues. *Vet. Hum. Toxicol.* 1997; 39: 162-169.
  103. Papich MG, Van Camp SD, Cole JA, Whitacre MD Pharmacokinetics and endometrial tissue concentrations of enrofloxacin and the metabolite ciprofloxacin after i.v. administration of enrofloxacin to mares, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2002; 25: 343–350.
  104. Pavlov A, Lashev L, Rusev V, Studies on the residue levels of tobramycin in stored poultry products. *Trakia J. Sci.*, 2005; 3: 20-22.
  105. Pena AL, Lino CM, Silveira MIN, Determination of tetracycline antibiotics in salmon muscle by liquid chromatography using post-column derivatization with fluorescence detection. *Journal of AOAC International*, 2003; 86: 925–929.
  106. Peters JM, Walsh MJ ve Franke WW, An abundant and ubiquitous homooligomeric ring-shaped ATPase particle related to the putative vesicle fusion proteins Sec18p and NSF. *EMBO J.* 1990; 6: 1757-67.
  107. Prescott JF, Antimicrobial use in food and companion animals. *Animal Health Research Reviews*; 2008, 9:127-133.
  108. Reeves, Douglas B. *The learning leader. Ascd-Association for Supervision and Curriculum Development*, 2005.
  109. Reig M, Toldra F, Veterinary drug residues in meat: concerns and rapid methods for detection. *Meat Science*, 2008; 78: 60-67.

110. Riviere JE, Pharmacologic principles of residue avoidance for veterinary practitioners. *JAVMA*. 1991;198: 809-816.
111. Riviere JE ve Spoo JW, Aminoglycoside antibiotics. *Veterinary pharmacology and therapeutic* , 2001;7: 797-819.
112. Roberts GKS, Levy AC, Hines LR, Observations on the thyroid gland in rats following the administration of sulfamethoxazole and trimethoprim *Toxicology and Applied Pharmacology*, 24: 351–363.
113. Rodziewicz L, Zawadzka, Rapid determination of chloramphenicol residues in milk powder by liquid chromatography–elektrospray ionization tandem mass spectrometry. *Talanta*, 2008; 75: 846–850.
114. Rose MD, Bygrave J, Sharman M, Effect of cooking on veterinary drug residues in food. Part 9. Nitroimidazoles. *Analyst.*, 1999; 124: 289-294.
115. Sackey BA, Mensah P, Collison E, Sakyi-Dawson E, *Campylobacter, Salmonella, Shigella and Escherichia coli* in live and dressed poultry from metropolitan Accra. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001; 71: 21-28.
116. Santos B, Simonet B, Rios MA, Valcarcel M, On-line coupling of solidphase microextraction to commercial CE–MS equipment. *Electrophoresis*, 2007; 28: 1312–1318.
117. Schwartz HJ, Sher TH, Bisulfite sensitivity manifesting as allergy to local dental anesthesia, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 1985; 75: 525–527.
118. Shakila RJ, Vyla SAP, Kumar RS, Jeyasekaran G, Jasmine GI, Stability of chloramphenicol residues in shrimp subjected to heat processing treatments. *Food Microbiol.*, 2006; 23: 47-51.
119. Shirr RJ, Whitehall HR, Hines LR, A degradation product in cooked chlortetracycline-treated poultry. *Antibiot. Annu. 1956-1957*; 843-845.
120. Soback S, Paape MJ, Filep R and Varma KJ, Florfenicol pharmacokinetics in lactating cows after intravenous intramuscular and intramammary administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1995; 18: 413-417.
121. Soyutemiz E, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ders Notları. Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Bursa, 2005.
122. Stead DA, Current methodologies for the analysis of aminoglycosides. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 2000; 69-93.

123. Syripoulou VP, Harding AL, Goldman DA and Smith AL, In vitro antibacterial activity of fluorinated analogues of chloramphenicol and thiamphenicol. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1981; 19: 294-297.
124. Şanlı Y, Kaya S, Yavuz H, Aydın N, Akar F, Doğan A, Süt örneklerinde kloramfenikol kalıntıları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 1991; 38 (3): 402-416.
125. Taber SS ve Pasko DA, The epidemiology of drug-induced disorders: the kidney. 2008; 679-690.
126. Teuber M, Veterinary use and antibiotic resistance. *Curr. Opin. Microbiol.*, 2001;4: 493-499.
127. Tilman D, Casman KG, Matson PA, Naylor R, Polasky S, Agricultural sustainability and intensive production practices, 2002; 418:671-677.
128. Tinkelman DG ve Bock A, Anaphylaxis presumed to be caused by beef containing streptomycin. *Annals of allergy*,1984; 53: 241- 243.
129. Tittlemier SA, Riet JVD, Burns G, Potter R, Murphy C, Rourke W, Pearce H, Dufresne G, Analysis of veterinary drug residues in fish and shrimp composites collected during the Canadian total diet study, 1993-2004. *Food Addit. Cont.* 2007; 24: 14-20.
130. Toldra F, Reig M, Methods for rapid detection of chemical and veterinary drug residues in animal foods. *Trends in Food Science & Technology*, 2006; 17: 482-489.
131. Tollefson L, Karp BE, Human health impact from antimicrobial use in food animals. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 2004; 34: 514-521.opp
132. Tuncer Hİ, Karma Yemlerde Kullanımı Yasaklanan Hormon, Antibiyotik, Antioksidiyal ve İlaçlar, *Lalahan Hay. Araşt. Ens. Derg.*, 2007; 47(1):29-37.
133. Türker S, Hayvansal Gıdalarda Kalite Kontrolü. *Tamer Matbaacılık*, Ankara, 1997.
134. Uğur M, Nazlı B, Bostan K. *Gıda Hijyeni*. Teknik Yayınları, İstanbul, 1999.
135. Unusan N, Occurrence of chloramphenicol, streptomycin and tetracycline residues in ultra-heat-treatment milk marketed in Turkey. *International Journal of Food Science and Nutrition*,2009; 28: 1-6.

- 136.** Van Den BA, STOBBERINGH E, Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2000; 14: 327–335.
- 137.** Varma KJ, Adams PE, Powers JD, Lamendola JF, Pharmacokinetics of florfenicol in veal calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1986; 9: 412-425.
- 138.** Von Essen SG, McCurdy SA, Health and safety risks in production agriculture. *West. J. Med.* 1998; 169: 214-20.
- 139.** Walton JR, Impact of antibiotic resistance in animal production on public health, *J. Anim. Sci.* 1986; 62 (Suppl 3):74-85.
- 140.** Wang S, Zhan HY, Wang L, Duan ZJ, Kennedy I, Sulphonamide residues in edible animal products: A review. *Food Addit. Contam.* 2006; 23: 362-384.
- 141.** Willis C, Antibiotics in the food chain: their impact on the consumer. *Rev. Med. Microbiol.* 2000; 11: 153-160.
- 142.** Yang Z, Jin S, Liu W, Wang G, Determination of sulfamethazine and sulfamethoxazole in muscle of chicken by high performance liquid chromatography. *Wei Sheng Yan Jiu.*, 2003; 32: 625-627.
- 143.** Yarsan E, Hayvansal Gıdalarıda Kalıntı Sorunu, *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği*, 2012.
- 144.** Zakeri B ve Wright GD, Chemical biology of tetracycline antibiotics This paper is one of a selection of papers published in this Special Issue, entitled CSBMCB-Systems and Chemical Biology, and has undergone the Journal's usual peer review process. *Biochemistry and Cell Biology*, 2008; 86: 124-136.

## ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Kocaeli' de doğdum. İlköğrenimini Çamçeşme İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimini Pendik Yabancı Dil Ağırlıklı Lise'de tamamladım. 2005 yılında Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nü kazandım ve 2009 yılında aynı fakülteden mezun oldum. 2010 yılında Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin/Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Ana bilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladım.

2011 yılında Pamukkale Üniversitesi Çal Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Programına öğretim görevlisi olarak atandım. 2011 yılından bu yana aynı görev yerinde çalışmaya devam etmekteyim.

## TEŐEKKÜR

Tez çalıŐmalarım boyunca ilgi ve yardımlarını gÖrdüğüm, araŐtırmalarımın yapılmasında katkıda bulunan danışmanım Doç. Dr. Filiz KÖK' e, başta Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Ergün Ö. GÖKSOY olmak üzere tezimin tüm aŐamalarında destek ve yardımlarını esirgemeyen ADÜ Veteriner Fakóltesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve araştırma görevlisine, Bornova Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Toksikoloji Laboratuvarı Őefi Turan ERDOĞDU ve uzman veteriner hekim Zehra KÖK'e, eğitim hayatım boyunca bana verdikleri desteklerinden ötürü annem, babam ve kardeşime teŐekkür ederim.