



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BURDUR VE CİVARINDA YETİŞEN SIĞIR ETLERİNDE BAZI ANTİBİYOTİK KALINTILARI

Aslı AYGEL ÖRER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Murat BAYEZİT

BURDUR -2018

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BURDUR VE CİVARINDA YETİŞEN SIĞIR ETLERİNDE BAZI
ANTİBİYOTİK KALINTILARI**

Aslı AYCEL ÖRER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Murat BAYEZİT

Bu Araştırma Burdur Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0334-YL-16 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR -2018

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Aslı AYGEL ÖRER tarafından **Dr. Öğr. Üyesi Murat BAYEZİT** yönetiminde hazırlanan "*Burdur ve Civarında Yetişen Sığır Etlerinde Bazı Antibiyotik Kalıntıları*" başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir

Tez Savunma Tarihi
28/08/2018


Prof. Dr. Yavuz Osman BİRDANE

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji AD

Başkan


Prof. Dr. Asım KART

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Farmakoloji ve Toksikoloji AD

Jüri


Dr. Öğr. Üyesi Murat BAYEZİT

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Farmakoloji ve Toksikoloji AD

Jüri

ONAY

Bu tez, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğr. Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu **20.09/2018** Tarih ve **32** sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa Doğan TEMİZSOYLU


Müdür

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman Hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Murat BAYEZİT, Doç. Dr. Fatma KOCASARI ve sevgili arkadaşım Öğr. Üyesi Hatice AYDOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım. Deneylerimi yapmam için laboratuvarlarını bana açan ve araştırmalarımnda hiçbir yardımı esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Fatma KOCASARI 'ya teşekkür ederim.

0334-YL-16 No`lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın her aşamasında beni her anlamda destekleyen aileme, sevgili eşime sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

28/08/2018

Aslı AYGEL ÖRER

BEYAN

Burdur Ve Civarında Yetişen Sığır Etlerinde Bazı Antibiyotik Kalıntıları

başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



28/08/2018

Aslı AYCEL ÖRER



ONAY

Dr. Öğr. Üyesi Murat BAYEZİT

Danışman

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	i
KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vi
TABLolar	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
TÜRKÇE ÖZET	ix
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Antibiyotik	3
2.2. Kalıntı	5
2.2.1. Antibiyotik Kalıntı Limitleri	7
2.2.2. Antibiyotik Kalıntıların Neden Olabileceği Olumsuzluklar	8
2.2.2.1. İlaç Alerjisi	8
2.2.2.2. Farmakolojik Etki	8
2.2.2.3. Karsinojenik Etki	8
2.2.2.4. Gıda Endüstrisi	9
2.2.2.5. Direnç Gelişmesi	9
2.2.2.6. Sindirim Kanalı Bakteri Topluluğunun Değişmesi	9
2.3. Florfenikol	9
2.4. Sülfonamid	11
2.5. Antibiyotik Kalıntı Analiz Yöntemleri	15
2.5.1. Enzim Bağlı İmmünosorbent Analizi (ELISA)	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. Örneklem ve Materyal	19
3.2. Sığır Eti Örneklerinin Toplanması	20
3.3. ELISA Yöntemi ile Florfenikol ve Sülfonamid Kalıntılarının Aranması	21
3.4. Numunelerin Analizleri	23
3.4.1. Florfenikol	23
3.4.2. Sülfonamid	24
4. BULGULAR	26
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	36
KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	44

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 2.1. Gıdalarda antibiyotik ailesinin tespit dağılımı	3
Şekil 2.2. Antibiyotik kalıntılarının kontrolüne neden olan süreç	6
Şekil 2.3. Florfenikol yapısı	10
Şekil 2.4. Sülfonamidlerin yapıları	13
Şekil 2.5. Gıdalarda antibiyotik tespiti için kullanılan analitik yöntemler	15
Şekil 2.6. Enzim bağlı immünosorbent analizi çalışma prensibi. (a) Antikorla kaplanmış kuyucuk yüzeyi, (b) örnekteki antijenin antikora bağlanması, (c) enzim bağlı (yaban turpu peroksidazı, HRP) antikorun antijene bağlanması ve (d) enzimin ortama eklenen substratla (H ₂ O ₂) reaksiyona girmesi sonucu oluşan ürünün (O ₂) ortamda bulunan kromojenik maddenin (tetrametilbenzidin, TM) renk değiştirmesini sağlaması	18
Şekil 3.1. Araştırmada kullanılan a) florfenikol ve b) sülfonamid kitleri	23
Şekil 4.1. (a) Florfenikol ve (b) sülfonamid antijenlerinin et örneklerindeki bulunma durumunu gösteren Mikroplaka sonuç fotoğrafları	27

TABLÖLAR

	Sayfa
Tablo 2.1. Antibiyotik büyütme faktörlerinin yıllara göre yasaklanması	5
Tablo 2.2. Maksimum kalıntı limitleri	7
Tablo 3.1. Numunelere ait bilgiler	20
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan ticari ELISA kitlerinin içerikleri	22
Tablo 4.1. ELISA mikrolaka okuyucuda florfenikol ve sülfonamid test kitlerinde et örnekleri için okunan optik yoğunluk değerleri	28

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AB	Avrupa Birliği
CAP	Kloramfenikol
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
FAO	Food and Agriculture Organization
g	Gram
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LOD	Detection of Limit
µg/kg	Mikrogram/kilogram
ng	Nanogram
OTC	Oksitetrasiklin
RG	Resmi Gazete
WHO	World Health Organization
ZnB	Çinko Basitrasin

T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Yüksek Lisans Tezi

Burdur ve Civarında Yetişen Sığır Etlerinde Bazı Antibiyotik Kalıntıları

Aslı AYGEL ÖRER

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Tez danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Murat BAYEZİT

BURDUR – 2018

ÖZET

Bu tez çalışmasında Burdur il merkezindeki mezbahalardan toplanan 88 adet sığır etinde florfenikol ve 86 adet sığır etinde sülfonamid kalıntı varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla 100 gr et örnekleri toplanarak ELISA yöntemi kullanılarak florfenikol ve sülfonamid kalıntı analizleri yapıldı. Ayrıca alınan tüm örneklerin hangi hayvanlara ait olduğu kayıt altına alındı. Sonuç olarak 3 adet örnekte florfenikol ve 3 adet örnekte ise sülfonamid kalıntısı tespit edildi. Kalıntı tespit edilen etlerdeki florfenikol ve sülfonamid konsantrasyonları izin verilen maksimum kalıntı limitlerinin altında olduğu tespit edildi. İncelenen diğer 85 adet florfenikol ve 83 adet sülfonamid numunesinde kalıntıya rastlanmadı. Dolayısıyla tüketime sunulan ve analizi yapılan örneklerde florfenikol ve sülfonamid kalıntılarının halk sağlığını tehdit edecek düzeyde olmadığı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: ELISA, Florfenikol, Kırmızı Et, Mezbaha, Sülfonamid.

**Burdur Mehmet Akif Ersoy University
Institute of Health Sciences**

Master of Science

Some Antibiotic Residue of Cattle Meat in Burdur

Aslı AYGEL ÖRER

Department of Pharmacology and Toxicology

Supervisor

Asst. Prof. Dr. Murat BAYEZİT

BURDUR-2018

ABSTRACT

In this thesis, it was aimed to determine the presence of florfenicol in 88 beef meat samples and sulfonamide residue in 86 beef meat samples collected from slaughterhouses in Burdur province center. For this purpose, 100 g of meat samples were collected and florfenicol and sulphonamide residue analyzes were performed by ELISA. It was also recorded which sample belonged to particular animal from which the sample was taken. As a result, fluorfenicol was detected in 3 samples and sulfonamide residues in 3 samples analysed. Concentrations of florfenicol and sulfonamide in the residues detected were found to be below the maximum allowed residue limits. No residue were found in remaining 85 and 83 samples. Therefore, it was concluded that florfenicol and sulfonamide residues in samples were not at a level that would threaten public health.

Key words: ELISA, Florfenicol, Beef Meat Samples, Slaughterhouse, Sulfonamide

1. GİRİŞ

Günümüz toplumlarında nüfusun hızla artması sonucunda, öncelikle hayvansal protein açığının kapatılması için, hayvan yetiştiriciliğinde gerek hastalıkların önlenmesi ve hayvanlarda gelişmeyi hızlandırıcı gerekse etin dayanıklılığını arttırmak amacıyla antibiyotik ve benzeri maddelerin kullanımı hızla yaygınlaşmıştır (42, 65, 66). Dünyada yılda 100 000 - 200 000 ton antibiyotik üretimi yapıldığı tahmin edilmekte ve bunun büyük kısmı tarım, balıkçılık ve veteriner hekimlik alanında kullanılmaktadır (1, 2, 43). 2012 yılında Gökçen ve ark. yaptığı bir derlemeye göre; Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nda ruhsatlı tahmini 1 800 civarında veteriner ilacı bulunmakta ve bu ilaçlardan aşağı-yukarı 500 tanesinin sahada kullanıldığı belirtilmektedir (28).

Antibiyotikler, enfeksiyöz hastalıkların sağaltımında, gıda niteliği taşıyan çiftlik hayvanlarının büyümelerini ve bu hayvanlardan alınan verimleri teşvik edici olarak ve etin dayanıklılığını arttırıcı amaçlarla geniş çapta kullanılmaktadırlar (17, 27, 59, 60). Türkiye'de çeşitli antibiyotiklerin kullanılmaya başlanması, ulusal ve uluslararası düzeyde canlı hayvan ve hayvansal ürünlerin ticaretinin artması, hayvansal gıdaların antibiyotik kalıntıları yönünden analiz edilmelerini mecbur kılmaktadır (66).

Gıda amaçlı yetiştirilen hayvanlarda en çok kullanılan antimikrobiyaller genellikle beş grup altında toplanmaktadır. Bunlar beta-laktamlar, tetrasiklinler, aminoglikozidler, makrolidler ve sülfonamidlerdir (8). Gıdalardaki antibiyotik kalıntıları genellikle alerjik reaksiyonlara, bazı doku ve organlarda zararlara, direnç gelişimine neden olmaktadır (46, 63, 64).

En sık karşılaşılan kalıntılar, antibiyotik kalıntılarıdır. Antibiyotiklerden streptomisin, penisilin, oksitetrasiklin ve neomisin en fazla kalıntı problemi oluşturanlardır. Sülfonamidlerden ise en fazla sülfametazin kalıntı problemi oluşturmaktadır. Antibiyotik kalıntılarına en fazla sığır, dana ve domuz etlerinde rastlanmaktadır (28). Gıdalarda ilaç kalıntıları genellikle alerjik reaksiyonlara, bazı doku ve organlarda zararlara, direnç gelişimine neden olur (42, 52, 55, 56).

Burdur yöresi hayvansal gıda maddeleri ticareti yönünden Akdeniz Bölgesi'nin önemli merkezlerinden birisi konumundadır (44). Ticari bakımdan

Burdur’da il ve ilçe merkezlerinde toplam 7 adet kombinanın bulunması ve bu kombinaların satışlarını ülke geneline gerçekleştirmesi, aynı zamanda Burdur’da tüketime sunulması nedeniyle etlerde antibiyotik kalıntılarının mevcudiyeti açısından incelenmesinin önem arz ettiği kanısına varıldı.

Burdur yöresinde yetiştirilen sığır etlerinde florfenikol ve sülfonamid kalıntı düzeylerini araştırmak ve bu ilaçların bilinçsiz kullanımları sonucu ortaya çıkabilecek ciddi sağlık problemlerine dikkat çekmek amacıyla böyle bir araştırma planlanmıştır.

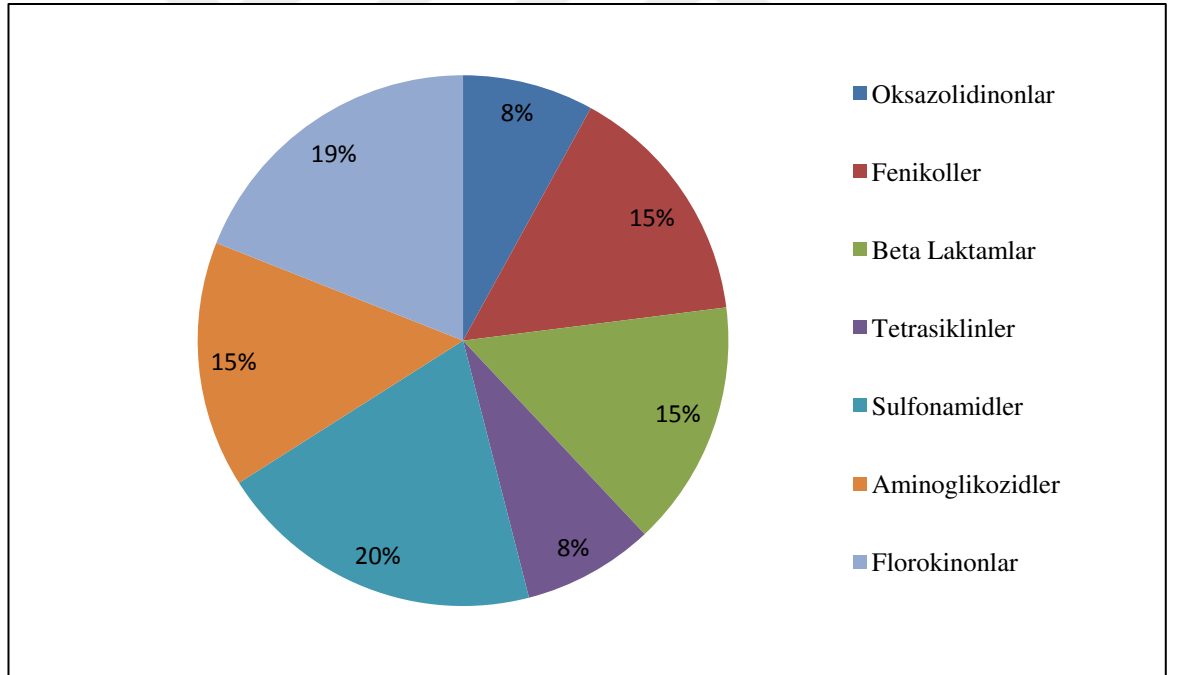


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Antibiyotik

Antibiyotik; mantar aktinomisetler, bakteriler gibi mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen veya sentetik olarak da oluşturulabilen son derece düşük yoğunluklarda dahi bakterileri öldüren veya gelişmesini engelleyen maddeler olarak tanımlanır (19).

Türkiye’de Veteriner Hekimliğinde antibakteriyel ilaçlar tedavi etmek ve koruyucu amaç için kullanılırlar. (65). Veteriner hekimlikte en sık kullanılan antibiyotikler; beta-laktamlar (penisilinler ve sefalosporinler), tetrasiklinler, makrolidler, linkozamidler, kinolonlar, aminoglikozidler sülfonamidler, polimiksinler (50, 65) ve glikopeptidlerdir (65). Yüzde olarak dağılımları Şekil.2.1’de gösterilmiştir (50).



Şekil 2.1. Gıdalarda antibiyotik ailesinin tespit dağılımı (50).

Antibiyotikler gerek verim üzerine etkileri gerekse etki metabolizmaları bakımından araştırmacılar tarafından sıklıkla çalışılmıştır (16). Gelişme hızlandırıcılar yaşamın belirli periyotlarında büyüme oranını etkileyerek üreticiye gereken maddi kazancın sağlanması için geliştirilmiştir. Alınan olumlu sonuçlara olmasına rağmen, olumlu etkisinin olmadığını bildiren raporlar da mevcuttur (16).

Basitrasin, monensin, salinomisin, virginamisin, tilosin, spiramisin, avilamisin, avoparsin (10, 13) ve lasalosid (16) büyüme faktörü olarak kullanılan antibiyotiklerdir.

Antibiyotik katkılı yemlerin yaygın kullanımının, antibiyotik direncini arttırdığına dair yeterli bilgi mevcutken, enfeksiyonları azalttığına dair bulgular çok azdır. En önemli sorun bu direncin genetik transfer yoluyla yayılabilmesidir (34, 60). Yapılan bir araştırmaya göre, 1999 yılında Avrupa Birliği (AB)'nde çiftlik hayvanları için 4 700 ton (%35) antibiyotik kullanılırken, insanlar 8 500 ton (%65) antibiyotik kullanmıştır. Hayvanlara verilen antibiyotiklerin 3 900 tonu (toplam kullanımın %29'u) hasta hayvanların tedavi amacıyla uygulanırken, 786 ton (veya toplam kullanılanın %6'sı) antibiyotik çiftlik hayvanlarında yemlere katılarak, büyüme sağlayıcı yem katkı maddesi olarak kullanılmıştır (67).

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde hayvansal üretimde uygulanan bütün antibiyotiklerin 1/3'ü çiftlik hayvanlarında büyüme ilerletici olarak kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin büyümeyi ilerletici olarak kullanımı ile ilgili yapılan ilk kontrolü 1969'da, İsveç Komitesi yapmıştır. Bu komite, antibiyotik büyüme faktörlerinin veteriner reçetesi yazılmadan kullanımı, sınırlandırmaları uygulamaya konulmuştur. Avrupa Birliği, 1970'lerin ilk yıllarında hayvansal yemlerde, tedavi amacıyla kullanılan çeşitli ana antibiyotiklerin ruhsatlarını geçici olarak yürürlükten kaldırmıştır (59).

Danimarka'da hayvan yemlerinde antibiyotik büyüme faktörlerinin yasaklanmasından önce, *Enterococcus* bakteri türlerinin %60-80'i antibiyotik büyüme faktörlerine karşı dirençli iken, yasaklanmasından sonra bu oranın %5-35 azaldığı saptanmıştır (59).

Dünya Sağlık Organizasyonunun 2003'de hazırladığı rapora göre, Britanya, ABD ve Çin'den 10 bağımsız bilim adamı Danimarka deneyiminin sonuçlarını incelemiş olup antibiyotik kullanımının %54 düştüğünü ve hayvan hastalıklarında büyük bir değişime sebep olmadığını, hayvansal verimliliğe, hayvan sağlığı ve maliyete de anlamlı etkisinin olmadığı kaydedilmiştir. Nekrotik enteritisle ilgili problemlerin yaşanmayışı ise antikoksidiyostatik olarak sürekli olarak iyonofor antimikrobiyallerin kullanılması ile açıklanmıştır (59).

Çiftlik hayvanlarında büyüme faktörü olarak kullanılan bazı antibiyotiklerin farklı ülkelerde yasaklanmasıyla ilgili veriler Tablo 2.1’de verilmektedir (59).

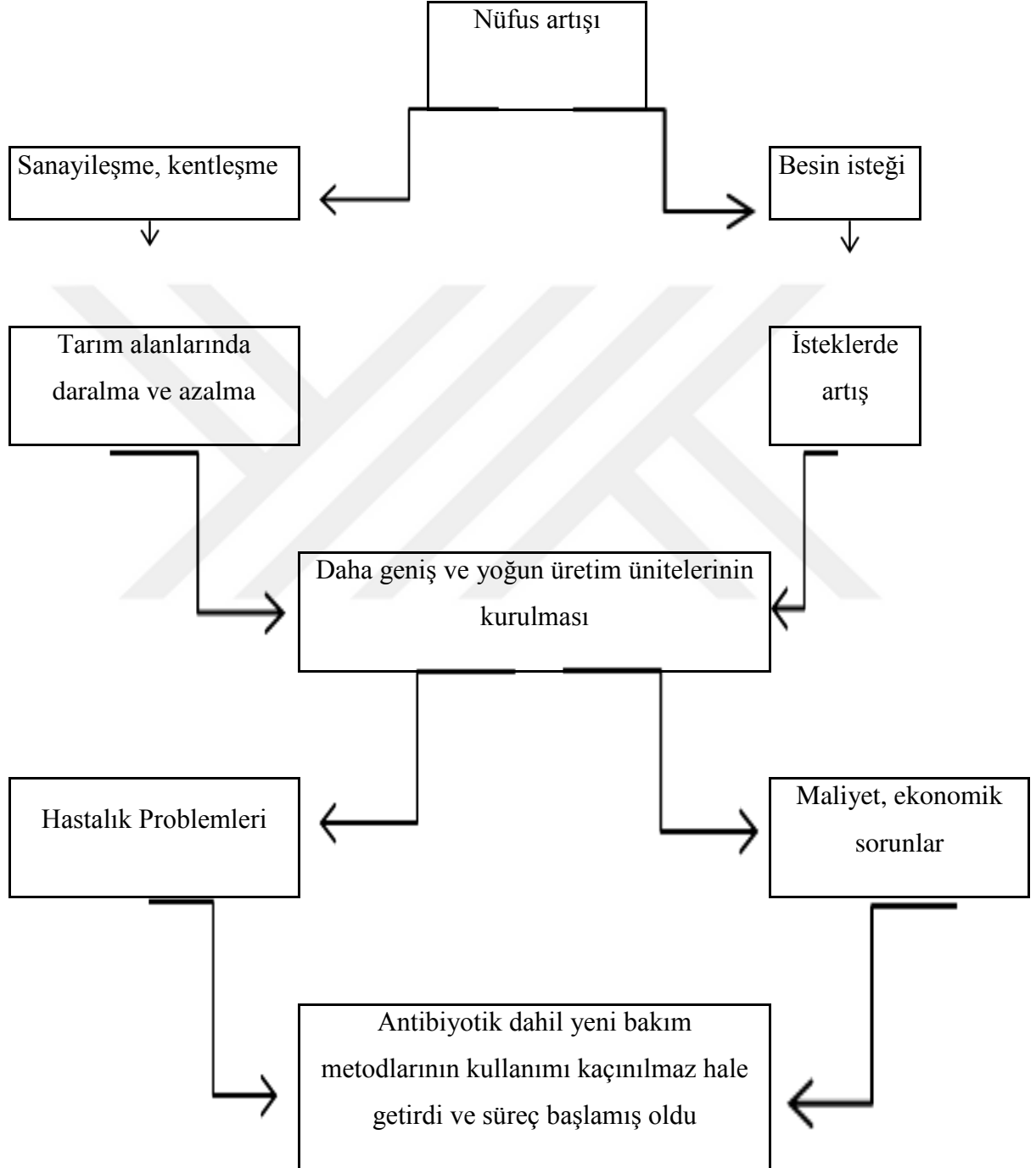
Tablo 2.1. Antibiyotik Büyütme Faktörlerinin Yıllara Göre Yasaklanması (59).

Yıl	Ülke	Antibiyotik Büyütme Faktörleri
1969	İsveç	Antibiyotik büyütme faktörleri yasaklandı.
1970	Avrupa Birliği	Antibiyotik büyütme faktörleri kısıtlamalar başladı.
1970	İngiltere	Penisilin ve tetrasiklin yasaklandı.
1971	Avrupa Birliği	Tetrasiklin yasaklandı.
1971	İsveç	Tetrasiklin ve antibiyotik büyütme faktörlerinin bir kısmı yasaklandı.
1986	İsveç	Antibiyotik büyütme faktörleri yasaklandı.
1997	Avrupa birliği	Avoparsin yasaklandı.
1998	Hollanda	Olaquinox yasaklandı.
1998	Danimarka	Virginamisin ve antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı.
1998	İsviçre	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı.
1998	Avrupa birliği	Tylosin fosfat, çinko basitrasin, spiramisin, virginamisin yasaklandı.
1999	İngiltere	Tylosin fosfat, çinko basitrasin, spiramisin, virginyamisin yasaklandı.
2006	Avrupa birliği	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı.
2006	Türkiye	Antibiyotik büyütme faktörlerinin tümü yasaklandı.

2.2. Kalıntı

Hayvanlarda hastalıkların tedavisi, önlenmesi ve kontrolü ile büyümenin hızlandırılması nedeniyle doğrudan veya dolaylı olarak ilaç ve diğer kimyasal maddelerin kullanılmalarını takiben besin değeri taşıyan doku ve organları ile bunlardan elde edilen besinlerde biriken veya depolanan değişmemiş, metabolitleri, parçalanma ürünleri, serbest veya bağlı haldeki madde kalıntı olarak ifade edilir. (37). Diğer veteriner ilaçları gibi antibiyotikler de farmakokinetik özelliklerine göre sütte, ette ve yumurta gibi hayvansal ürünlerde kalıntı bırakabilir, böylelikle hayvana verilen molekülün bir bölümü tüketicilere geçmektedir. Bu nedenle ürünleri insan

gıdası olarak değerlendirilen hayvanlarda kullanılacak veteriner ilaçlarına ruhsat aşamasında, Birleşmiş Milletlere bağlı kuruluşlarca (WHO, FAO) belirlenen kavramlar çerçevesinde, bazı yaklaşımlar uygulanmaktadır (55). Antibiyotik kalıntılarının kontrolüne neden olan süreç Şekil 2.2’de verilmiştir (27).



Şekil 2.2. Antibiyotik kalıntılarının kontrolüne neden olan süreç (27).

Demir ve ark. (16) 2002 yılında yaptıkları çalışmada 3 aylık dönemde süttten kesilmiş 24 adet kuzuya büyütme yemi ve kaliteli kuru ot ad libitum vermişlerdir. Yaptıkları araştırmada, ZnB (Albac %15'lik), Deneme 1 grubuna 200mg/kg (30 ppm), Deneme 2 grubuna 400 mg/kg (60 ppm) verilmiş ve kontrol grubuna antibiyotik vermemişlerdir. Sonunda tespit edilen besi sonu canlı ağırlıklarını Kontrol, Deneme 1, Deneme 2 gruplarında sırasıyla 230.4, 196.8 ve 198.5 gram olarak bulmuşlardır. Araştırma sonucunda entansif kuzu besisinde konsantre yemlere ZnB değişik oranlarda katılması kuzuların besi performansını, karkas özelliklerini pozitif yönde etkilemediği sonucuna varmışlardır.

2.2.1. Antibiyotik Kalıntı Limitleri

Hayvanlarda veteriner ilaçlarına bağlı kalıntı oluşumu; ilacın dozu, uygulama şekli, galenik yapısı, bekletme süresi ve farmakokinetik özellikleri gibi birçok nedene bağlı olarak değişiklik gösterir (20). Hayvansal gıdalarda bulunmasına izin verilen farmakolojik aktif madde kalıntısının maksimum konsantrasyonu, Maksimum Kalıntı Limitini ifade eder (53). Maksimum kalıntı limitleri Tablo 2.2'de verilmiştir (53).

Tablo 2.2. Maksimum Kalıntı Limitleri (MKL) (53).

Farmakolojik Etkili Madde	Belirleyici Kalıntı	Hayvan Türü	Maksimum Kalıntı Limiti	Hedef organ
Bütün sülfonamid kalıntıları	Ana madde	Gıda üreten/üretilen bütün türler	100 µg/kg	Kas
			100 µg/kg	Yağ
			100 µg/kg	Karaciğer
			100 µg/kg	Böbrek
Florfenikol	Florfenikol ve florfenikol amin olarak ölçülen metabolitleri toplamı	Sığır, koyun, keçi	200 µg/kg	Kas
			3000 µg/kg	Karaciğer
			300 µg/kg	Böbrek

2.2.2. Antibiyotik Kalıntılarının Neden Olabileceğin Olumsuzluklar

2.2.2.1. İlaç Alerjisi

İlaçların büyük bir kısmı bağışıklık sistemini uyararak, çeşitli tiplerde alerjik reaksiyonlara yol açar. Bu tip ilaçların kalıntısını içeren gıdaların da benzeri etkileri ortaya çıkabilir. Penisilinler çok küçük miktarlarda (5 ünite veya 3 µg) alerjik tepkimeye neden olarak ölüme yol açabilirler. Kloramfenikol ölüme götürecek ölçüde kemik iliğini baskı altına alarak alerjik tepkimeye yol açabilir. Kloramfenikolün yol açabileceği etkilerden kaçınmak için, dünyada birçok ülke gıda niteliğindeki hayvanlarda kloramfenikolün kullanımını yasaklanmıştır. Gerek sağaltım, gerekse besin kirliliği halinde sülfonamid alımına bağlı olarak, sülfonamide maruz kalan insanlarda %1.5-2 sıklıkla mukozalarda ve deride lezyonlar ve serum hastalığı şeklinde sülfonamid alerjilerinin oluşabileceği anlaşılmıştır. Önceden sülfonamidlere duyarlı hale gelmiş bireylerde anafilaksi gelişebileceğine ilişkin çalışmalarda bulunmaktadır (26, 46, 56, 64).

2.2.2.2. Farmakolojik Etki

Besinlerdeki ilaç kalıntıları çoğunlukla farmakolojik etkiye yol açabilecek miktarlarda bulunmazlar. Etkinliği yüksek olan bazı maddeler, hayvanların kesim öncesi bekletme süresine uyulmaksızın kesilmeleri durumunda, kendilerini içeren besin maddelerinin tüketilmesiyle insanlarda istenmeyen etkilere neden olabilmektedir. 1990'da Fransa'da klenbuterol kullanılmış buzağuların karaciğerini tüketen 22 birey böyle bir durumla karşılaşmıştır (64).

2.2.2.3. Karsinojenik Etki

Deney hayvanlarında yapılan araştırmalarda karsinojenik olduğu tespit edilen maddelerin gıda niteliği olan hayvanlarda kullanılmasına izin verilmez. Tespit edilen bu madde kalıntılarının uzun süreli kullanılması insanlar için de karsinojenisite tehlikesi arz etmektedir. Karsinojenik etkisi olan bazı maddeler şunlardır; kloramfenikol, nitrofuranlar, bazı sülfonamidler, imidazol bileşikler (metronidazol, ronidazol gibi Aristoloşiya türleri, kolşisin, bazı ağrı kesiciler (ksilazin gibi), bazı pestisitler (63, 64).

2.2.2.4. Gıda Endüstrisi

Antibiyotiklerin vücudu terk etme yollarından biri de süttür. Sütlerdeki antibiyotik kalıntıları sütlerin teknolojik olarak işlenmesini (peynir yapımı, yoğurt gibi) önemli ölçüde etkiler. Bazı antibiyotikler plazmadakinin birçok katı miktarlarda süte geçebilir. Bir yandan tüketici sağlığını olumsuz anlamda etkileyebilecek, diğer yandan da sütteki bakteri kültürünü baskılayabilecek miktarlarda günlerce, sütte bulunabilirler. Antibiyotik kalıntısı barındıran hayvanların etleri sucuk ve benzeri ürünlerin yapılması için uygun değildir. Etlerde bulunan ilaç kalıntıları nitratın nitrite indirgenmesini sağlayacak nitrat redüktaz gibi enzimlerin etkinliğini engeller. Nitrozomiyogloblin şekillenemez ve sucuğun doğal rengi meydana gelemez (63, 64).

2.2.2.5. Direnç Gelişmesi

Antibiyotiklerin kullanımının kaçınılmaz bir yan etkisi, dirençli bakterilerin ortaya çıkması ve yayılmasıdır. Bir çok retrospektif ve prospektif çalışma, bir antibiyotiğin kullanılmasından sonra sadece patojenik bakterilerin direncinin değil, aynı zamanda komensal bakterilerin de arttığını göstermektedir (6). Benzer antibiyotik gruplarının hem beşeri hekimlikte hem de veteriner hekimlikte kullanılıyor olması, ilerde beşeri hekimlikte kullanılacak antibiyotik sayısında büyük bir azalmanın olacağına işaret etmektedir (14, 34, 49). Bakterilerde direnç oluşumu; dirençlilik genlerini antibiyotiği oluşturan mikroorganizmalardan alarak kendilerine uyumlu hale getirmeleri, genlerin aşamalı olarak mutasyona uğraması ve hedef yapıların modifikasyonu şeklinde olur (21).

2.2.2.6. Sindirim Kanalı Bakteri Topluluğunun Değişmesi

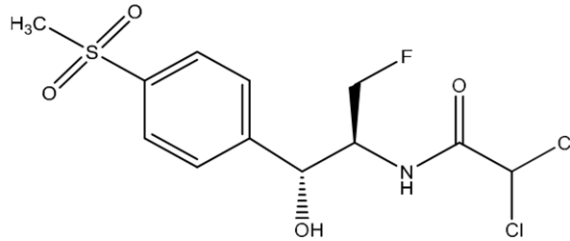
İnsan bağırsağında 400' den fazla bakteri topluluğu vardır. Bunların > %90' ı obligat aneorobiktir. Gıdalardaki antibiyotik kalıntıları insanlardaki bu bakteri topluluğunun özellikle 30 türü (özellikle; *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Peptostreptococcus*, *Peptococcus* türleri) üzerinde olumsuz etkilere yol açarak ekolojik dengeyi bozabilmektedir (48, 63, 65).

2.3. Florfenikol

Amfenikoller; kloramfenikol, florfenikol ve tiamfenikolleri içeren geniş spektrumlu bir antibiyotik sınıfıdır (57). Yapısal olarak birbirlerine benzemelerine

rağmen, florfenikolün antibakteriyel etkinliği kloramfenikolden daha fazladır. Florfenikolün yapısı Şekil 2.3’de verilmiştir (15). Florfenikol, yalnız kloramfenikole duyarlı patojenlere değil, ayrıca kloramfenikole dirençli bakterilere de etkili olması ve yan etkilerinin az olması sebebi ile hayvan hastalıklarının tedavisinde geniş ölçüde kullanılır. İki ilaç arasında önemli noktalarda fark bulunmaktadır. Bunlardan ilki, kloramfenikolde olan para-nitro yerine florfenikolde p-metil sülfonil grubunun bulunmasıdır, ikincisi hidroksil grubundaki 3. karbon atomunda birincil alkol yerine flor atomu bulunmasıdır. Molekül yapısında flor atomu bulunması nedeniyle ilaca karşı daha zor direnç şekillenmektedir. Bu farklılıklar sebebiyle kloramfenikolün aksine kemik iliği baskı altına alınmamaktadır. Bu sebeple diğer hayvanlar gibi besin değeri olan hayvanlarda da güvenle kullanılmaktadır (12).

Veteriner hekimlikte gıda niteliğindeki hayvanlarda antibakteriyellerin ve özellikle florfenikolün kullanımı önemli bir yer teşkil eder. Yetiştiricilikte kullanılan antibiyotikler başta böbrek, karaciğer ve kas olmak üzere çeşitli organ ve dokularda birikebildiğinden başta hayvansal gıdalar olmak üzere insan sağlığına ve ülke ekonomisine olumsuz yönde tesir etmektedir (29).



Şekil 2.3. Florfenikol yapısı (15).

Geliştirilen ilk geniş spektrumlu antibiyotik kloramfenikoldür. Çoğu Gram-pozitif ve birçok Gram-negatif aerobik bakteri için bakteriyostatiktir, ancak daha yüksek konsantrasyonlarda, çok hassas bazı organizmalara karşı bakterisidal olabilir. Birçok *Salmonella* suşları kloramfenikole duyarlı, *Pseudomonas aeruginosa* suşları dirençlidir. İlaç da tüm zorunlu anaeroblara karşı çok etkilidir ve *riketsiya* ve *klamidya* türlerinin büyümesini baskı altına alır. Fenikol sınıfının diğer üyeleri tiamfenikol ve florfenikoldür. Tiamfenikolün antibakteriyel aktivitesi

kloramfenikolün antibakteriyel aktivitesinden daha düşüktür. İnsanlarda kullanımı onaylanmamış olan florfenikolün aktivite spektrumu kloramfenikole benzer ancak daha aktiftir. Florfenikol çoğu vücut dokusuna nüfuz eder fakat beyin omurilik sıvısı ve göz ile ilgili vakalarda kloramfenikolden daha az ölçüde geçer. Sığırlarda, bir doz florfenikol'ün yaklaşık %64'ü değişmemiş olarak idrar ile atılır. Tiamfenikol önemli oranda metabolize olmaz ve idrarla değişmeden atılır (33).

Kloramfenikol ve türevleri olan tiamfenikol ile florfenikol, geniş spektrumlu bakteriyostatik antimikrobik maddelerdir. Kloramfenikol, sentezlenmeden önce *Streptomyces venezuelae*'den elde edilmiştir. Kloramfenikol, kemik iliği toksisitesine neden olduğundan gelişmekte olan ülkelerde sebebiyle beyin apseleri ve göz enfeksiyonlarının tedavisi haricinde tıpta nadiren kullanılmaktadır. Tiamfenikol, birçok ülkede beşeri veya veteriner hekimlik alanında kullanılmaktadır. Tiamfenikol, kırmızı hücre sayısında önleyici etkisi olmasına rağmen, aplastik anemi ise hiç görülememiştir. Bununla birlikte florfenikol, aplastik anemi riskini taşımaktadır. Florfenikol, sığır solunum hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca bazı kloramfenikole dirençli bakterilere karşı da etkindir (41).

2.4. Sülfonamidler

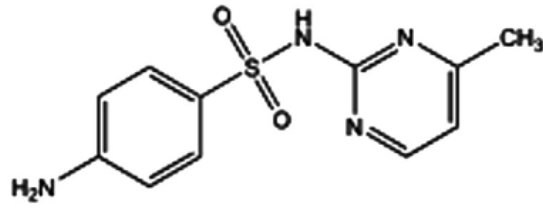
Sülfonamidler, yapılarında benzen halkası, amin grubu ve sülfonamid grubu bulunduran antibakteriyellerdir. Beşeri hekimlikte ve veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanılmaktadır (47). Sülfonamidler, penisilinlerin tedavide kullanılmasına başlanmasına kadar bakteriyel enfeksiyonlarda sistematik kullanılabilen ilk kemoterapötik ilaçlardır (54). Kullanım alanlarının geniş olması sebebiyle hayvan ürünlerindeki sülfonamid kalıntıları, alerjik özelliklerinden dolayı potansiyel sağlık risklerine neden olmakta ve günümüzde kalıntı tespitlerinde ilk sırada yer almaktadır. Sülfonamidler, geniş spektrumlu, bakteriyostatik (bakterinin üremesini engelleyici) etkili antibakteriyellerdir. Gram (+) ve Gram (-) mikroorganizmalara karşı etki gösterirler. Penisilin ve diğer antimikrobiyal ilaçların kullanılması ve pek çok mikroorganizmada sülfonamidlere karşı direnç gelişmesi nedeniyle enfeksiyon tedavisinde tercih edilmemektedirler. 1970'li yıllarda trimetoprim ile sülfometaksazolün kombinasyonun (Baktrim) tedaviye girmesiyle spesifik enfeksiyonlarda tekrar kullanılmaya başlanmışlardır (47).

Günümüze kadar yaklaşık 5 000 civarında sülfonamid çeşitli sentezlenmiş ama bunlardan yalnızca 25-30 kadarı insan ve hayvanlarda uygulama sahası bulmuştur. Sülfonamidler vücutta emilme ve atılma durumlarına göre;

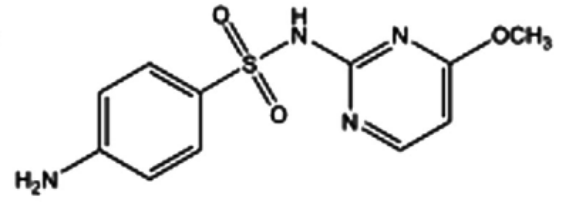
- 1) Hızlı emilen ve atılanlar (sülfizoksazol, sülfadiazin, sülfamethoksazol, sülfametizol, sülfastin, sülfadimidin ve sülfamerazin),
- 2) Hızlı emilip yavaş atılanlar (sülfadimethoksin, sülfathoksipridazin, sülfamethoksidadin, sülfadoksin, sülfafenazol ve sülfasomizol),
- 3) Sindirim kanalında etkili olanlar (sülfaguanidin, fitalilsülfatiazol, fitalilsülfasetamit, sülfasalazin ve süksinilsülfatiazol)
- 4) Lokal etkiye sahip olanlar (sülfasetamit, gümüş sülfadiazin, mafenit, sulfizonidin ve sülfapridin) şeklinde dört grup altında incelenirler (36).

Sülfonamidler genellikle sarı-beyaz renkli, tatları acı, kristalize toz halindedirler. Serbest asit formları suda dağılmaz, etanol ve asetonda kısmen dağılır. Bu bileşiklerin sodyum tuzlarının sudaki çözünürlükleri ise yüksektir. Safrada ve serumdaki çözünürlükleri iyidir (35). Sülfonamidler kimyasal yapı olarak kararlı bileşiklerdir. Sülfotiazol'ün yarı ömrü pH: 3.5 ve 80°C'de 530 yıl olarak tahmin edilmektedir (35).

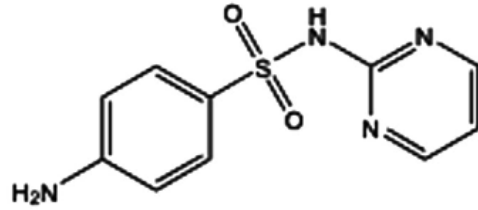
Sülfonamidler para-aminobenzoik asidin (PABA) yapısal olarak analogları ve yarışmalı antagonistleri olması nedeni ile PABA'nın kullanımını engelleyerek folik asit sentezlenmesini engellerler (54). Sülfonamidlerin yapıları Şekil 2.4'de verilmiştir (25).



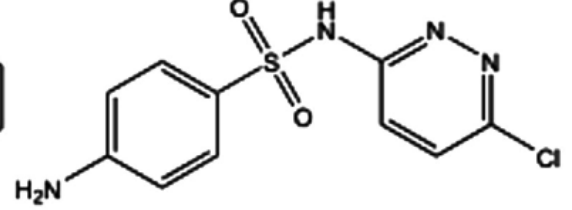
SULFAMERAZINE



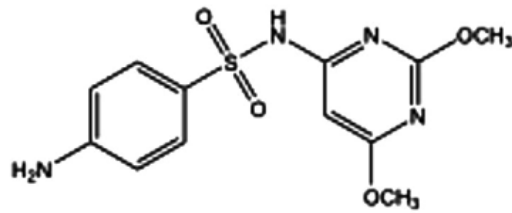
SULFAMONOMETHOXINE



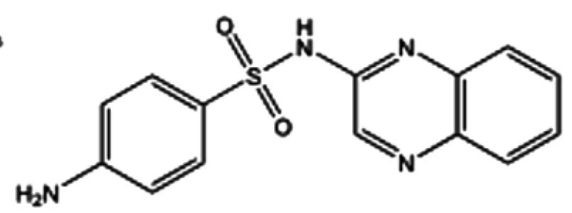
SULFADIAZINE



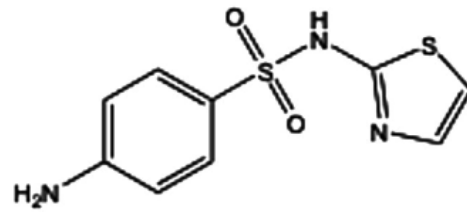
SULFACHLOROPYRIDAZINE



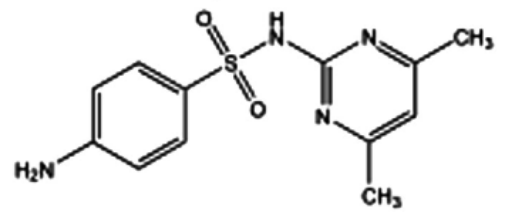
SULFADIMETHOXINE



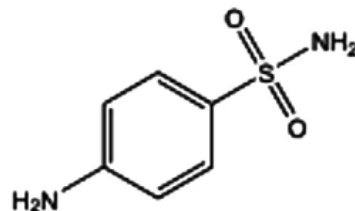
SULFAQUINOXALINE



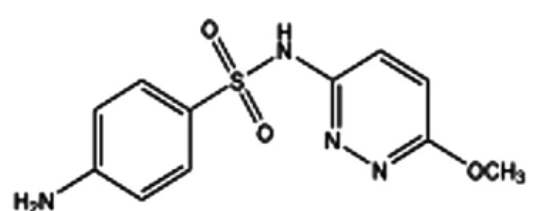
SULFATHIAZOLE



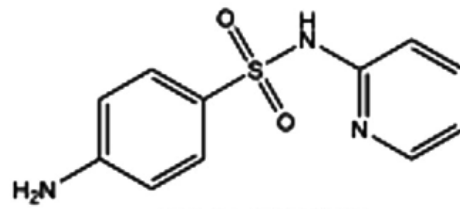
SULFAMETHAZINE



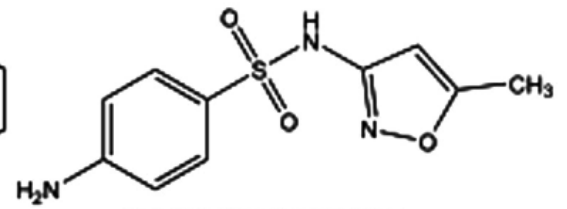
SULFANILAMIDE



SULFAMETHOXYPYRIDAZINE



SULFAPYRIDINE



SULFAMETHOXAZOLE

Şekil 2.4. Sülfonamidlerin yapıları (25).

Sülfonamidler halen çeşitli hastalıkların ve hastalıkların tedavisinde tercih edilen ilaçlardır. Antimikrobiyal sülfonamidler ve metabolitleri kalıcı organik kirleticiler olarak sınıflandırılır. Sülfonamidlerin bozunması ve çevreden uzaklaştırılması için, klorlama ve ileri oksidasyon işlemleri, adsorpsiyon işlemleri, membran işlemleri ve birleştirilmiş işlemler gibi farklı oksidasyon teknikleri gibi çeşitli teknikler uygulanabilir. Sülfonamidler ürogenital, gastrointestinal ve solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde, daha sonra göz, deri ve mukoza zararlı enfeksiyonlarında, yanık enfeksiyonlarının önlenmesi ve tedavisinde kullanılır. Terapide sülfonamid uygulamaları kısmen bakteri direnci ve sülfonamid yan etkileri ile sınırlanır. Direncin üstesinden gelmek ve olumsuz etkileri azaltmak için, yeni antimikrobiyal bileşikler sülfonamid yapısıyla sentezlemek ve mevcut sülfonamid maddeleri ile yeni formülasyonlar geliştirmek için sürekli çabalar gösterilmektedir. Öte yandan, tedavideki sülfonamid uygulamaları, çevreye girmelerine ve direnci sürdürmelerine yol açar. Sülfonamidlerin çevresel akıbeti, bozucu bakteri ve mantarların, sıcaklık, pH ve UV ışınlarının varlığı gibi çeşitli biyotik ve abiyotik faktörlerin etkisine bağlıdır. Ek olarak, mevcut sülfonamidlerin ortamın farklı bölmelerinden ayrılması ve uzaklaştırılması için çeşitli teknikler uygulanabilir. Sülfonamidlerin bozunması, daha az aktif ve toksik bileşiklerin oluşmasına ve sonunda karbondioksitin ve suyun oluşumuna neden olur. Bu şekilde, ortamdaki sülfonamidlerin varlığı sınırlandırılabilir (4). Sülfonamidler enfeksiyöz hastalıkların sağtımında geniş ölçüde kullanılmaktadır. Ancak penisilinler ile diğer kemoterapötiklerin bulunması ve uygulama alanına dâhil edilmeleri sonucu, önemleri zaman içinde giderek azalmıştır. Buna rağmen trimetoprim ve ormetoprim gibi maddelerle hazırlanan kombinasyonları bugün bile birçok bakteriyel ve protozoal enfeksiyonların kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır (36, 40).

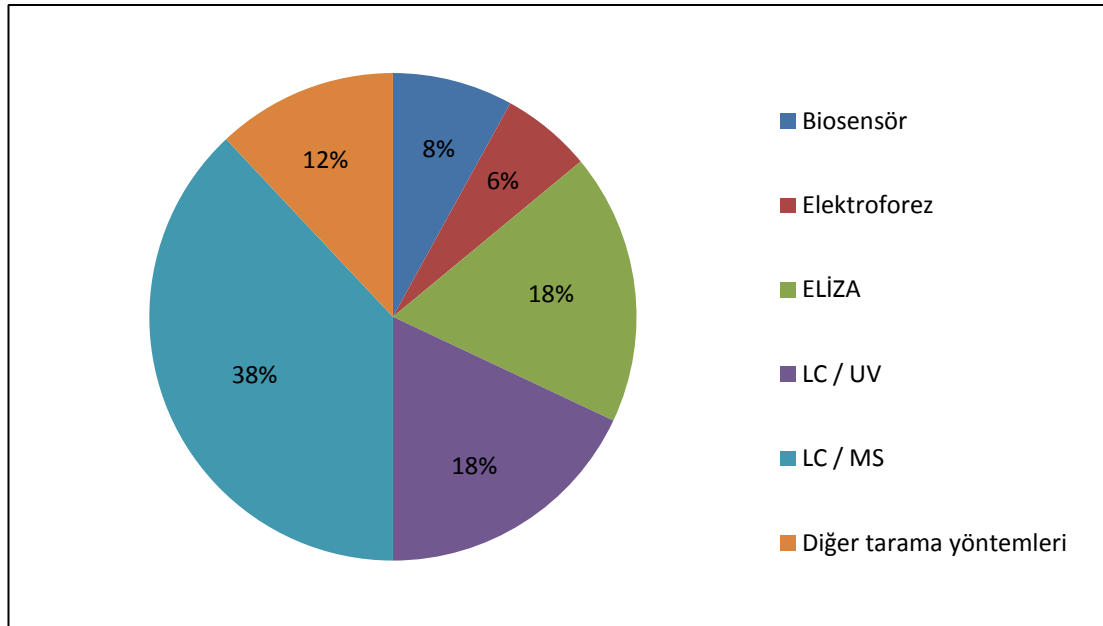
Sülfonamidler genellikle güvenli maddelerdir, ama kullanılırken akut ve kronik nitelikte birçok istenmeyen ve zehirli etkiyle karşılaşılır. Bunların başlıcaları; mide irkiltisi, tükürüş salgısında artış, bulantı, sürgün, kas güçsüzlüğü, idrar yollarında kristalleşme, idrar yapamama, akut hemolitik anemi, akyuvar sayısında azalma, vitamin K eksikliği, yumurta kabuğunun şekillenmesinde bozulma, ürtiker, aşırı duyarlılık tepkimeleri (deri ve mukozalarda dökülme, ilaç hastalığı, ilaç ateşi, karaciğerde hücre ölümü gibi)'dir (38).

Literatürlerde Sülfonamidlerin sıklıkla ateş ve ishale neden olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda hemolitik anemi, Stevens-Johnson sendromu ve toksik epidermal nekroliz nadir görülen yan etkileridir (4).

2.5. Antibiyotik Kalıntı Analiz Yöntemleri

Analiz yöntemleri ‘Hızlı Tarama Metotları’ (Test Kitleri) ile ‘Analitik Cihazlarda Yapılan Yöntemler’ şeklinde iki gruba ayrılabilirler. Hızlı Tarama Metotları içerisinde yaygın olanlardan birisi; Enzim Linked İmmuno Sorbent Assay (ELISA) testi metodudur. Analitik cihazlarda yapılan yöntemler içerisinde Likit Kromatografisi ve Kütle Spektrofotometrisi (LC/MS), Likit Kromatografisi, Kütle Kromatografisi ve Kütle Spektrofotometrisi (LC/MS/MS) sıklıkla uygulanan yöntemlerdir (7). Ayrıca LC/UV, Biosensör ve Elektroferez gibi başka analitik metotlar da vardır (7, 50). Gıdalarda antibiyotik tespiti için kullanılan analitik yöntemlerin yüzde olarak dağılımları Şekil 2.5’de verilmiştir (50).

Hassasiyetinin düşük olması dışında Hızlı Tarama Metotları’nın, Analitik Cihazlarda Yapılan Metotlara göre bazı avantajları bulunmaktadır. Kullanımı basittir, genellikle başlangıç limitlerinin üzerinde EVET ya da HAYIR cevabını verir, hızlıdır, temizleme işlemine gerek duyulmaz, deney yapan kişinin yeteneğine bağlı değildir, laboratuvar koşulu gerektirmez ve düzenek maliyeti enstrümantal tekniklere göre oldukça düşüktür (7).



Şekil 2.5. Gıdalarda antibiyotik tespiti için kullanılan analitik yöntemler (50).

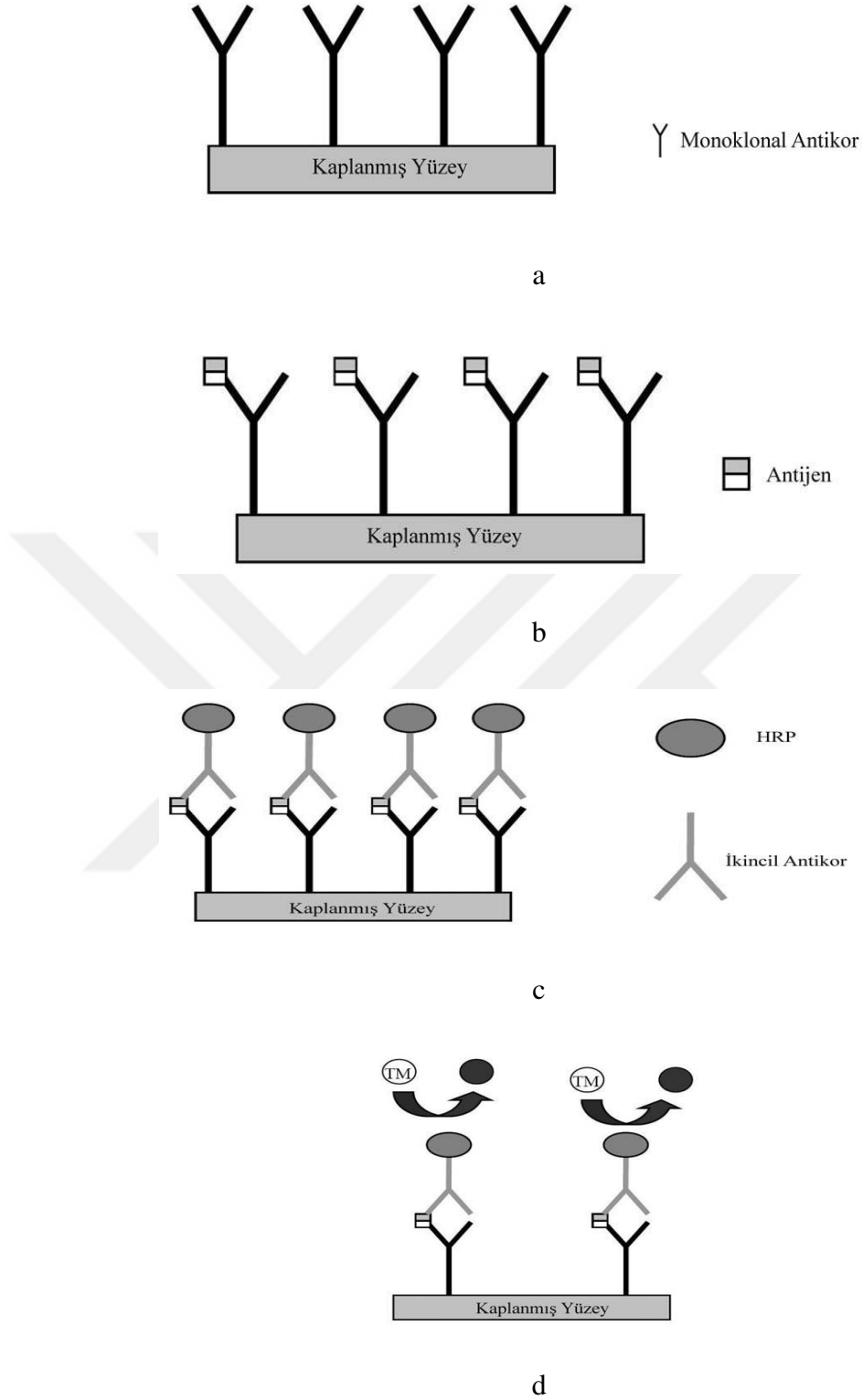
2.5.1. Enzim Bağlı İmmünosorbent Analizi (ELISA)

Veteriner hekimlikte sağaltım ve koruyucu amaçla çok sayıda farmakolojik madde kullanılmaktadır. En sık ve bilinçsiz kullanılanlarının başında ise antibiyotikler gelmektedir. Antibiyotiklerin, hastalıkların tedavisinde önemli rolü olmasına rağmen, hatalı bir biçimde kullanımlarına bağlı olarak et, süt, bal, yumurta gibi hayvansal gıdalarda kalıntı sorunu oluşturmaktadırlar. Antibiyotik kalıntısı içeren besinler halk sağlığı bakımından tehlike oluşturmaktadır. Halk sağlığını koruma amacıyla, Avrupa Birliği hayvansal kökenli besinlerde farmakolojik aktif maddeler için maksimum kalıntı limitleri belirlemiştir. Günümüzde gıdalarda antibiyotik kalıntılarının saptanması için geliştirilmiş mikrobiyal inhibisyon testleri, immunoassayler ve kromatografik yöntemler bulunmaktadır. Enzim-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi antibiyotik kalıntılarının gıdalarda saptanması için uygulanması kolay, yüksek spesifite ve sensitiviteye sahip olan bir yöntemdir. Ayrıca kısa zamanda çok sayıda örneğin incelenmesi mümkün olduğundan önem arz etmekte ve laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (2).

Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) farklı ölçütlere göre sınıflandırılabilir, ancak antibiyotik gibi küçük moleküler ağırlıklı maddeler tek bir bağlanma noktasına sahip oldukları için sadece kompetitif sistemler ile tespit edilebilir. Kompetitif sistemlerde tespit edilecek olan serbest antijen ile işaretli antijen sınırlı sayıdaki antikor için yarışır. Kompetitif sistem kendi içinde doğrudan ve dolaylı olarak ikiye ayrılır. Doğrudan metotta spesifik antikorlar doğrudan ya da ikincil antikorlar vasıtası ile taşıyıcı materyale bağlanır. Serbest ve enzime bağlı antijen, antikor yüzeyindeki boş olan antikor bağlanma noktaları için rekabet ederler. Reaksiyon tamamlandıktan sonra, bağlanmamış olan maddeler yıkanarak uzaklaştırılır. Bu işlemten sonra enzime spesifik substrat ilave olur. Bu substrat enzim tarafından serbest antijen miktarına ters orantılı olacak şekilde katalize edilir. Dolaylı metotta ise proteine bağlı olan antijen taşıyıcı yüzeye bağlanır ve bu antijen ile serbest antijen, serbest haldeki antikoru sınırlı bağlanma noktaları için yarışır. Daha sonra, bağlanmış olan spesifik antikoru saptayabilmek için enzime bağlı olan türe özgü ikincil antikor eklenir ve inkübe edilir. Yıkama aşamasından sonra, enzim spesifik substrat eklenir ve yukarıda açıklandığı gibi reaksiyondaki serbest antijen miktarına ters orantılı olarak renk değişimi izlenir. Diğer bir yönden bu sistemler homolog ve heterolog olarak gruplandırılır. Homolog sistemlerde hem immunojen

hem de antijen-konjugatları aynı hapten ve bağlama metodu ile sentezlenir. Heterolog sistemler de kendi içinde farklı gruplara ayrılabilir. Örneğin hapten heterolojisi, hedef haptene benzer fakat farklı bir antijen kullanılır, köprü heterolojisi immunojenin sentezlenmesinde kullanılan farklı bir bağlama ajanı kullanılır, ya da yan heterolojide hapten molekülünün farklı kısımlarından konjugasyon yapılır. Heterolog sistemlerde, hassasiyet kullanılan antikorun afinitesine bağlı olarak yükseltilebilir (2, 58, 62). ELISA'nın çalışma prensibi şematize olarak Şekil 2.6'da gösterilmiştir (9, 22).





Şekil 2.6. Enzim bağlı immünosorbent analizi çalışma prensibi. (a) Antikorla kaplanmış kuyucuk yüzeyi, (b) örnekteki antijenin antikora bağlanması, (c) enzim bağlı (yaban turpu peroksidazı, HRP) antikorun antijene bağlanması ve (d) enzimin ortama eklenen substratla (H₂O₂) reaksiyona girmesi sonucu oluşan ürünün (O₂) ortamda bulunan kromojenik maddenin (tetrametilbenzidin, TM) renk değiştirmesini sağlaması (9, 22).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Örneklem ve Materyal

Araştırmanın örneklemini Burdur il merkezindeki mezbahalardan toplanan 100'er gramlık 88 adet dişi sığır eti oluşturmuştur. İlgili numuneler 2000-2014 arası doğum tarihli 88 adet sığırın etinden toplanan örneklerde Sülfonamid (multi-sülfonamide II Elisa -Europroxima_510 SULMI [5]06.15) ve Florfenikol (LYS-10008) taramaları ticari ELISA kitleriyle yapılmıştır. Örneklerin hangi hayvana ait olduğu, kulak küpe numaraları, yaşları, hayvan sahiplerinin adı soyadı, işletme numaraları ve adresleri kayıt altına alınmıştır.

Araştırma kapsamında olan her bir hayvanın doğum tarihi, il merkezi veya hangi ilçeden geldiği ve ırkı Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Numunelere ait bilgiler.

Doğum Yılı	Adet	İl/ilçe Merkezi	İrk
2000	1	Bucak(1)	Holstein(1)
2001	1	Merkez(1)	Montofon(1)
2004	2	Karamanlı(1) Merkez(1)	Holstein(2)
2005	1	Bucak(1)	Holstein(1)
2006	7	Bucak(1) Kemer(1) Merkez(3) Yeşilova(2)	Holstein(7)
2007	6	Çeltikçi(1) Karamanlı(1) Merkez(4)	Holstein(5) Simenta(1)
2008	3	Bucak(2) Merkez(1)	Holstein(3)
2009	9	Bucak(2) Çeltikçi(1) Merkez(6)	Holstein(9)
2010	10	Bucak(3) Çeltikçi(1) Kemer(2) Karamanlı(1) Tefenni(1) Yeşilova(1) Merkez(1)	Holstein(9) Simenta(1)
2011	13	Bucak(5) Kemer(5) Merkez(2) Yeşilova(1)	Holstein(13)
2012	14	Merkez(10) Çeltikçi(1) Bucak(3)	Holstein(13) Simental(1)
2013	12	Bucak(5) Çeltikçi(2) Kemer(1) Karamanlı(1) Merkez(2) Yeşilova(1)	Holstein(8) Simental(4)
2014	9	Bucak(3) Merkez(5) Yeşilova(1)	Holstein(8) Montofon(1)

3.2. Sığır Eti Örneklerinin Toplanması

Burdur il merkezindeki mezbahalardan yaklaşık olarak 100 gr olacak şekilde örnekler toplanarak etiketlendi. Toplanan örnekler Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim dalı Araştırma Laboratuvarı'na soğuk zincir altında getirildi. Örnekler ELISA analizine kadar -20 °C ' de muhafaza edildi.

3.3. ELISA Yöntemi ile Florfenikol ve Sülfonamid Kalıntılarının Aranması

Örneklerdeki florfenikol ve sülfonamid antijenlerinin aranması için, Sülfonamid (multi-sülfonamide II Elisa -Europroxima_510 SULMI [5]06.15) ve Florfenikol (LYS-10008)) ticari ELISA kitleri kullanılmıştır. Kullanılan kitlerin içerikleri Tablo 3.2 ve Şekil 3.1’de verilmiştir.

Sığır etleri uygulama öncesi derin dondurucudan (-20°C) ve Sülfonamid (multi-sülfonamide II Elisa -Europroxima_510 SULMI [5]06.15) ve Florfenikol (LYS-10008) kitleri buzdolabından çıkarılıp oda ısısına 20-25°C gelmesi için 1 saat bekletilmiştir.

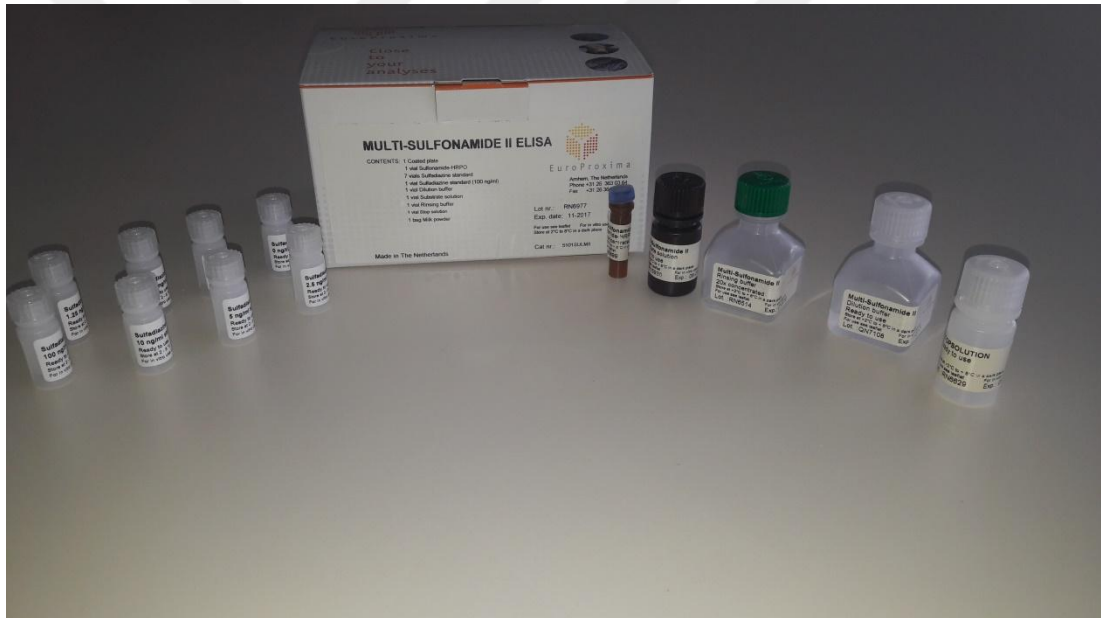
Sülfonamid (multi-sülfonamide II Elisa -Europroxima_510 SULMI [5]06.15) kitimizin tespit limiti (LOD) 4.5 ppb’dir. Florfenikol (LYS-10008) kitimizin tespit limiti (LOD) 0.1 ppb’dir.

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan ticari ELISA kitlerinin içerikleri.

Kit Adı	Kit Bileşeni	Açıklama
Florfenikol Kiti	ELISA plakası	96 kuyulu plak (monoklonal anti-florfenikol antikorları ile kaplanmış)
	Standart solüsyon	0 ppb, 0.5 ppb, 1.5 ppb, 4.5 ppb, 13.5 ppb, 40.5 ppb
	Yıkama	Yıkama tamponu, fosfat tamponlanmış NaCl çözeltisi, %0.1 thimerosal içermektedir
	Antikor	
	Negatif kontrol	Örnek seyreltme tamponu
	Enzim konjugat	Stabilize protein çözeltisi içerisinde biyotinle konjuge edilmiş monoklonal anti-florfenikol antikorları
	Substrat A	Stabilize protein çözeltisi içerisinde streptavidin poliperoksidaz konjugatı
	Substrat B	H ₂ O ₂
	Durdurma çözeltisi	1 N H ₂ SO ₄
	ELISA plakası	96 kuyulu plak (monoklonal anti-sülfonamid antikorları ile kaplanmış)
Sülfonamid Kiti	Diluent 1	Örnek seyreltme tamponu (protein tamponlanmış NaCl çözeltisi)
	Yıkama	Yıkama tamponu, fosfat tamponlanmış NaCl çözeltisi, %0.1 thimerosal içermektedir
	Zero Standart	
	Standart solusyon	0.313 ng/ml, 0.625 ng/ml, 1.25 ng/ml, 2.5 ng/ml, 5.0 ng/ml, 10.0 ng/ml, 100 ng/ml
	Konjugat	Stabilize protein çözeltisi içerisinde sülfonamid karşı biyotinle konjuge edilmiş antikorlar
	Substrat	H ₂ O ₂
	Durdurma çözeltisi	1 N H ₂ SO ₄



a

**b**

Şekil 3.1. Araştırmada kullanılan a) florfenikol ve b) sülfonamid kitleri.

3.4. Numunelerin Analizleri

3.4.1. Florfenikol

Oda ısısına gelen etlerden 30 g idrar kaplarına kesilerek alındı. Her bir kaba 3 ml iyonize su ve 6 ml etil asetat ilave edildi. Shaker’da etler parçalanana kadar tutuldu. 1 dk vortekslenerek 10 dk 3 000 r’da santrifüj edildi. Oluşan karışım cam tüplere aktarıldı. Süpernatant kısımdan 2 ml n-Hexane ile çözdürüldü daha sonra 1ml

redissolving solüsyonundan ilave edilerek 30 sn. vortekslendi. 15 dk 4 000 r'de santrifüj edildi. Florfenikol analizi için ticari test kitlerinden faydalanıldı. Reaktiflere pleytler oda ısısına getirildi (20°C-25°C).

Mikroplate'in

1. kutucuğuna zero standart 50 µl+50 µl enzim konjugat + 50 µl antikor eklendi.
2. kutucuğa zero standart 50 µl+50 µl enzim konjugat + 50 µl antikor eklendi.
3. kutucuğa standart 2 - 50 µl+50 µl enzim konjugat + 50 µl antikor eklendi.
4. kutucuğa standart 3 - 50 µl+50 µl enzim konjugat + 50 µl antikor eklendi.
5. kutucuğa standart 4 - 50 µl+50 µl enzim konjugat + 50 µl antikor eklendi.
6. kutucuğa standart 5 - 50 µl+50 µl enzim konjugat + 50 µl antikor eklendi.
7. kutucuğa standart 6 - 50 µl+50 µl enzim konjugat + 50 µl antikor eklendi.
8. kutucuğa standart 7 - 50 µl+50 µl enzim konjugat + 50 µl antikor eklendi.

Diğer bütün (88 kutucuğa) hazırlanan numunelerin süpernatant kısımlarından 50 µl eklendi. Her birinin üzerine 50 µl enzim konjugat + 50 µl antikor eklendi. Yavaşça karıştırılır. Karanlıkta 25 °C'de 30 dk beklemeye alındı. 4 kez yıkanır ve kurutuldu. Her kutucuğa önce substrat A sonra substrat B konur. Yavaşça ele karıştırıldı. Karanlıkta 25 °C'de 15 dk beklemeye alınır. Her bir kutucuğa 50 µl stop solüsyon eklendi ve 450 nm dalga boyunda ELISA reader' da okunur. Dilusyon katsayısı kitin çalışma prensibine göre 1 olarak alındı.

3.4.2. Sülfonamid

Oda ısısına gelen etlerden 1g idrar kaplarına kesilerek alındı. Her bir kaba 1 ml %100 metanol ilave edilip vortekslendi. Daha sonra her bir kaba 4 ml etil asetat ilave edildi. Shaker'da etler parçalanana kadar tutuldu. Her bir tüp 1dk vortekslenerek 5 dk 3000 r'de santrifüj edildi. Oluşan karışım cam tüplere dökerek aktarıldı. Santrifüj edilen numunelerin süpernatant kısımlarında otomatik pipetle 1 µl alınarak başka tüplere tek tek aktarıldı. Benmari usulü ile 50 °C'de kuruyana kadar buharlaştırıldı. Fosfat tamponlu salin (PBS) hazırlandı. (1lt suyun içine NaCl 8.0 g/L, KCl 0.2g/L, Na₂HPO₄ 1.44 G/L, KH₂PO₄ 0.24 g/L) Buharlaştıran tüplerin her birine 1 µl PBS ve 1 µl n-Hexane eklendi. 1 dk vortekslendi ve 10 dk 3 000 r'de santrifüj edildi. Süpernatant kısımdan her bir tüpe 100 µl alınır ve 150 µl PBS eklenip vortekslenir

Mikroplate'in;

1. kutucuğa 100 µl zero standart (blank) eklendi.
2. kutucuğa zero standart 1 - 50 µl eklenir, üzerine 50 µl konjugat eklendi.
3. kutucuğa zero standart 1 - 50 µl eklenir, üzerine 50 µl konjugat eklendi.
4. kutucuğa standart 2 - 50 µl eklenir, üzerine 50 µl konjugat eklendi.
5. kutucuğa standart 3 - 50 µl eklenir, üzerine 50 µl konjugat eklendi.
6. kutucuğa standart 4 - 50 µl eklenir, üzerine 50 µl konjugat eklendi.
7. kutucuğa standart 5 - 50 µl eklenir, üzerine 50 µl konjugat eklendi.
8. kutucuğa standart 6 - 50 µl eklenir, üzerine 50 µl konjugat eklendi.
9. kutucuğa standart 7 - 50 µl eklenir, üzerine 50 µl konjugat eklendi.
10. kutucuğa standart 8 - 50 µl eklenir, üzerine 50 µl konjugat eklendi.

Kalan tüm kutucuklara sırasıyla numune örneklerinden 50 µl aktarılıp üzerlerine 50 µl konjugat eklendi ve elle yavaşça karıştırıldı. Karanlıkta 30 dk 20 °C-25 °C'de bekletildi. Kutucuklar yıkama tamponuyla 3 kez yıkandı ve kurutuldu. Her kutucuğa 100 µl substrat/kromojen solüsyon eklendi ve elle yavaşça karıştırıldı. Karanlıkta 15 dk 20°C-25°C'de bekletildi. Her kutuya 100 µl stop solüsyonu ilave edilerek ELISA mikrolaka okuyucuda 450 nm'de okuma yapıldı. Dilusyon katsayısı kitin çalışma prensibine göre 12.5 olarak alındı.

4. BULGULAR

Çalışmada Burdur il merkezindeki mezbahalardan toplanan 100'er gramlık 100 adet dişi sığır etinin 88 tanesinde florfenikol ve 87 tanesinde sülfonamid kalıntı varlığı ELISA yöntemi ile araştırılmıştır. Etlerden alınan örneklerde florfenikol ve sülfonamid antijenlerinin varlığı ile ilgili ELISA testi sonuçları Tablo 4.1'de verilmiştir. Ayrıca ilgili antibiyotiklerin antijenlerinin et örneklerindeki bulunma durumunu gösteren mikroplaka sonuç fotoğrafları Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Bu çalışmada 87 adet sığır kas dokusu örneklerinin 3 (%3.5)'ünde 44.40 µg/kg, 34.50 µg/kg, 27.13 µg/kg (ortalama 35.31 µg/kg) seviyelerinde sülfonamid tespit edildi.

Bu çalışmada 88 adet sığır kas dokusu örneklerinin 3 (%3.4)'ünde 1.35 µg/kg ile 1.40 µg/kg, 0.97 µg/kg (ortalama 13.01 µg/kg) seviyeleri arasında florfenikol tespit edildi.

Bu araştırma saptanan florfenikol ve sülfonamid kalıntı seviyelerinin MKL'nin altında olduğu için tüketici sağlığı açısından bir risk oluşturmadığı kanısına varıldı.



a



b

Şekil 4.1. (a) Florfenikol ve (b) Sülfonamid antijenlerinin et örneklerindeki bulunma durumunu gösteren mikropilaka sonuç fotoğrafları.

Tablo 4.1. ELISA mikropłaka okuyucuda florfenikol ve Sulfonamid test kitlerinde et örnekleri için okunan optik yoğunluk değerleri*.

	FLORFENİKOL (absorbans)		SULFONAMİD (absorbans)
ZERO STANDART	1.994	BLANK	0.074
ZERO STANDART	1.754	ZERO STANDART	0.411
STANDART 2	1.340	ZERO STANDART	0.419
STANDART 3	1.016	STANDART 2	0.416
STANDART 4	0.591	STANDART 3	0.393
STANDART 5	0.392	STANDART 4	0.354
STANDART 6	0.210	STANDART 5	0.298
STANDART 7	0.072	STANDART 6	0.257
ÖRNEK 1	2.402	STANDART 7	0.233
ÖRNEK 2	2.107	ÖRNEK 1	0.494
ÖRNEK 3	2.505	ÖRNEK 2	0.532
ÖRNEK 4	2.104	ÖRNEK 3	0.478
ÖRNEK 5	2.596	ÖRNEK 4	0.518
ÖRNEK 6	2.521	ÖRNEK 5	0.441
ÖRNEK 7	2.546	ÖRNEK 6	0.444
ÖRNEK 8	0.188*	ÖRNEK 7	0.489
ÖRNEK 9	2.620	ÖRNEK 8	0.449
ÖRNEK 10	2.389	ÖRNEK 9	0.464
ÖRNEK 11	2.505	ÖRNEK 10	0.503
ÖRNEK 12	2.298	ÖRNEK 11	0.444
ÖRNEK 13	2.652	ÖRNEK 12	0.478
ÖRNEK 14	2.461	ÖRNEK 13	0.475

Tablo 4.1. ELISA mikrolaka okuyucuda florfenikol ve Sülfonamid test kitlerinde et örnekleri için okunan optik yoğunluk değerleri*.

	FLORFENİKOL (absorbans)		SULFONAMİD (absorbans)
ÖRNEK 15	2.753	ÖRNEK 14	0.442
ÖRNEK 16	1.052	ÖRNEK 15	0.463
ÖRNEK 17	2.911	ÖRNEK 16	0.472
ÖRNEK 18	2.782	ÖRNEK 17	0.470
ÖRNEK 19	2.917	ÖRNEK 18	0.505
ÖRNEK 20	2.532	ÖRNEK 19	0.324*
ÖRNEK 21	2.530	ÖRNEK 20	0.403
ÖRNEK 22	2.725	ÖRNEK 21	0.466
ÖRNEK 23	2.789	ÖRNEK 22	0.411
ÖRNEK 24	1.855	ÖRNEK 23	0.392
ÖRNEK 25	2.798	ÖRNEK 24	0.410
ÖRNEK 26	2.681	ÖRNEK 25	0.455
ÖRNEK 27	2.937	ÖRNEK 26	0.486
ÖRNEK 28	2.645	ÖRNEK 27	0.475
ÖRNEK 29	2.525	ÖRNEK 28	0.450
ÖRNEK 34	2.390	ÖRNEK 29	0.462
ÖRNEK 31	0.148*	ÖRNEK 30	0.339*
ÖRNEK 32	0.525*	ÖRNEK 31	0.419
ÖRNEK 33	2.712	ÖRNEK 32	0.422
ÖRNEK 36	2.669	ÖRNEK 33	0.416
ÖRNEK 35	2.811	ÖRNEK 34	0.413
ÖRNEK 37	2.626	ÖRNEK 35	0.412
ÖRNEK 38	2.745	ÖRNEK 36	0.449
ÖRNEK 46	2.285	ÖRNEK 37	0.431

Tablo 4.1. ELISA mikrolaka okuyucuda florfenikol ve Sülfonamid test kitlerinde et örnekleri için okunan optik yoğunluk değerleri*.

	FLORFENİKOL (absorbans)		SULFONAMİD (absorbans)
ÖRNEK 50	2.958	ÖRNEK 55	0.736
ÖRNEK 51	2.465	ÖRNEK 38	0.722
ÖRNEK 53	2.723	ÖRNEK 39	0.416
ÖRNEK 54	2.782	ÖRNEK 40	0.400
ÖRNEK 56	2.790	ÖRNEK 41	0.437
ÖRNEK 58	2.547	ÖRNEK 42	0.460
ÖRNEK 59	2.712	ÖRNEK 43	0.467
ÖRNEK 60	2.584	ÖRNEK 44	0.441
ÖRNEK 72	2.535	ÖRNEK 45	0.428
ÖRNEK 78	2.765	ÖRNEK 46	0.422
ÖRNEK 64	2.845	ÖRNEK 47	0.439
ÖRNEK 74	2.778	ÖRNEK 48	0.505
ÖRNEK 76	2.572	ÖRNEK 49	0.465
ÖRNEK 75	2.394	ÖRNEK 51	0.509
ÖRNEK 79	2.501	ÖRNEK 52	0.425
ÖRNEK 77	2.647	ÖRNEK 53	0.491
ÖRNEK 71	2.656	ÖRNEK 54	0.464
ÖRNEK 40	2.426	ÖRNEK 56	0.481
ÖRNEK 43	2.791	ÖRNEK 57	0.465
ÖRNEK 48	2.587	ÖRNEK 58	0.509
ÖRNEK 84	2.619	ÖRNEK 59	0.508
ÖRNEK 49	2.337	ÖRNEK 60	0.541
ÖRNEK 45	2.538	ÖRNEK 50	0.468
ÖRNEK 57	2.566	ÖRNEK 61	0.388*

Tablo 4.1. ELISA mikropłaka okuyucuda florfenikol ve Sulfonamid test kitlerinde et örnekleri için okunan optik yoğunluk değerleri*.

	FLORFENİKOL (absorbans)		SULFONAMİD (absorbans)
ÖRNEK 42	2.609	ÖRNEK 62	0.427
ÖRNEK 47	2.554	ÖRNEK 64	0.405
ÖRNEK 86	1.785	ÖRNEK 65	0.482
ÖRNEK 52	2.733	ÖRNEK 66	0.508
ÖRNEK 65	2.785	ÖRNEK 67	0.543
ÖRNEK 62	2.523	ÖRNEK 68	0.580
ÖRNEK 66	2.527	ÖRNEK 69	0.514
ÖRNEK 67	2.529	ÖRNEK 70	0.503
ÖRNEK 68	2.681	ÖRNEK 71	0.482
ÖRNEK 70	2.605	ÖRNEK 72	0.503
ÖRNEK 69	2.935	ÖRNEK 73	0.537
ÖRNEK 63	2.648	ÖRNEK 74	0.502
ÖRNEK 81	2.687	ÖRNEK 75	0.498
ÖRNEK 61	2.379	ÖRNEK 76	0.514
ÖRNEK 73	2.555	ÖRNEK 77	0.479
ÖRNEK 82	1.595	ÖRNEK 78	0.487
ÖRNEK 83	2.644	ÖRNEK 79	0.506
ÖRNEK 55	2.552	ÖRNEK 80	0.478
ÖRNEK 44	2.777	ÖRNEK 82	0.551
ÖRNEK 41	2.839	ÖRNEK 83	0.475
ÖRNEK 39	2.845	ÖRNEK 84	0.469
ÖRNEK 87	2.339	ÖRNEK 63	0.495
ÖRNEK 88	2.719	ÖRNEK 87	0.494
ÖRNEK 85	2.714	ÖRNEK 86	0.511

Tablo 4.1. ELISA mikrolaka okuyucuda florfenikol ve Sülfonamid test kitlerinde et örnekleri için okunan optik yoğunluk değerleri*.

	FLORFENİKOL (absorbans)		SULFONAMİD (absorbans)
ÖRNEK 30	2.411	ÖRNEK 85	0.457
ÖRNEK 80	2.297	ÖRNEK 81	0.510

*: pozitif sonuç

Sonuç olarak sığır kas dokusu örneklerinden; 88 tanesinin 3(%3.5)'ünde florfenikol ve 87 tanesinin 3(%3.4)'ünde sülfonamid tespit edildi. İncelenen diğer 85 florfenikol numunesi ve 84 sülfonamid numunesinde kalıntıya rastlanmadı.

5. TARTIŞMA

Yetiştiricilikte hastalıkların sağaltımı ve canlı ağırlık artışını sağlamak gibi çeşitli nedenlerle kullanılan antibiyotikler sağlık açısından tehlike arz etmektedir (44).

Bu çalışma ile Burdur ili merkezindeki mezbahalardan toplanan sığır eti numunelerinde veteriner hekimliğinde sıklıkla kullanılan sülfonamidler ile florfenikol kalıntı düzeylerinin öncelikle insan sağlığı açısından risk oluşturup oluşturmayacağını ELISA yöntemiyle belirlemek amaçlanmıştır. Diğer taraftan gerek sülfonamidler gerekse florfenikol antibiyotik kalıntılarına dair yapılan diğer çalışmaların oldukça az olması nedeniyle literatürel anlamda bir katkı sağlanması da amaçlanmıştır.

Bu çalışmada 88 adet sığır kas dokusu örneklerinin 3 (%3.4)'ünde 1.35 µg/kg ile 1.40 µg/kg, 0.97 µg/kg seviyeleri arasında florfenikol tespit edildi. Gökmen ve ark. (29) 2014 yılında yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanarak, Elazığ'daki beş farklı alabalık işletmesinden 25 adet hasat öncesi ve 25 adet hasat dönemine ait toplam 50 adet alabalık deri, kas, karaciğer dokusunda yaptıkları çalışmalarında, hasat öncesi dönemdeki alabalıkların deri dokusunun %44'ünde, kas dokusunun %32'sinde ve karaciğer dokusunun %16'sında, hasat dönemindeki alabalıkların ise deri dokusunun %40'ında, kas dokusunun %36'sında ve karaciğer dokusunun %32'sinde florfenikol saptamışlardır.

Bu çalışmada 87 adet sığır kas dokusu örneklerinin 3 (%3.5)'ünde 44.40 µg/kg, 34.50 µg/kg, 27.13 µg/kg seviyelerinde sülfonamid tespit edildi. Oruç ve ark. (46) 2007'de ELISA ile yaptıkları bir çalışmada 2005 ve 2006 yılları arasında toplanan 60 adet sığır etinin 4'ünde 25.2 µg/kg ile 31.4 µg/kg seviyeleri arasında Streptomisin, 60 numunenin birinde 12 µg/kg düzeyinde sülfametazin kalıntısı tespit etmişlerdir. Bu araştırmada saptanan sülfametazin ve streptomisin kalıntılarının tüketici sağlığı bakımından bir risk oluşturamayacağı sonucuna varmışlardır. Bu çalışmada etlerde bulunan sülfonamid değerlerinin yüzdesi (%3.5) Oruç ve ark. (46) 2007 yılında buldukları değerlerinin yüzdesinden (Streptomisin %6, sülfametazin %1.5) azdır.

Er ve ark. (19) 2013’de yaptığı bir çalışmada ELISA yöntemiyle 104 sığır eti örneğinde çalışmış, 60’ında ortalama 6.64 ± 1.11 µg/kg değerlerde kinolon bulunmuştur. 54 ithal sığır etinin 33’ünde ortalama 6.74 µg/kg, yerli 50 sığır etinin 27’sinde ortalama 6.50 µg/kg kinolon bulunmuştur. Araştırmacılar çalışma sonucunda ithal ve yerli sığır ırkları arasında kinolon grubu antibiyotik kalıntısı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunduğunu sonucuna varmışlardır.

Nur (66) tarafından 2000 yılında yapılan bir araştırmada 50 adet sığırın çeşitli hayvansal dokularından (kas, karaciğer, böbrek ve dalak) oksitetrasiklin (OTC), kloramfenikol (CAP) ve çinko basitrasin (ZnB) kalıntısı disk difüzyon ve üçlü plak yöntemi kullanılarak bakılmış, böbrek dokularında OTC ve CAP kalıntıları saptanmış diğer dokularda hiçbir kalıntı saptanmamış, ZnB kalıntısına ise dokulardan hiçbirinde rastlanmamışlardır. Araştırmacılar aynı çalışmayı 50 adet tavukta da yapmış olup OTC, CAP ve ZnB kalıntıları saptamamışlardır.

Ramatla ve ark. (51) 2017 yılında yaptığı çalışmada sığır, tavuk ve domuz etleri ile karaciğer ve böbrekleri olmak üzere etlerde üç farklı yöntem (ELISA, TLC ve HPLC) kullanarak antibiyotik kalıntısını araştırmışlardır. Toplam 150 adet ette ELISA, TLC ve HPLC yöntemiyle yaptıkları çalışmada %18, %92.5 ve %88.8 oranında sülfonilamid kalıntısı belirlemişlerdir. Sulphanilamide kalıntı konsantrasyonları ELISA ve HPLC yöntemleriyle sırasıyla 19.8-92.8 µg/kg ve 20.7-82.1 µg/kg düzeylerinde tespit edilmiş olup araştırmacılar çalışmada 15 adet sığır kasının 1’inde (%6.6), 17 adet karaciğerin 5’inde (%29.4) ve 18 adet böbreğin 5’inde (%27) sulphanilamide belirlenirken; 25 adet tavuk kasının 3’ünde (%12) ve 25 adet tavuk karaciğerinin 7’sinde (%28) sulphanilamide kalıntısı; 16 adet domuz etinde belirlenmezken, 11 adet domuz karaciğerin 4’inde (%36.4) ve 23 adet domuz böbreğin 2’sinde (%8.2) sulphanilamide kalıntısı saptamışlardır.

Gıdalara uygulanan ısıtma işlemleri, fermantasyon, soğuk hava deposunda muhafaza ve diğer gıda işleme yöntemleri gıdanın antibiyotik kalıntı yüzdesini etkilemektedir (57).

Yumurta ve sütlerde yapılan çalışmalarda sülfonamidlerin bozulma yüzdeleri sıfırdan %99’a kadar değişmekte olduğu belirlenmiştir (57).

Etler üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda ısı işlemlerin sülfanomid düzeylerinin belli oranlarda azalttığı tespit edilmiştir (24, 45, 32, 3, 18, 5, 61).

Amfenikoller; kloramfenikol, florfenikol ve tiamfenikolleri içeren geniş spektrumlu bir antibiyotik sınıfıdır (57). Franje ve ark. (23) 2010 yılında yaptıkları çalışmada tarafından Amfenikollerin ısı kararlılığı ve ısıtmadan sonraki yapısal bozulma ve antimikrobiyal aktivite arasındaki ilişki araştırılmıştır. Araştırmacılar Florfenikol (FF), Tiamfenikol (TAP) ve Kloramfenikol (CAP) su, tuzlu su, soya sosu ve tavuk etinde 100°C'de 2 saate kadar ısıtmış ve Amfenikollerin matrisler içindeki ısı kararlılığı, su $\geq$ tuzlu su > soya fasulyesi sosu > et olarak sıralamıştır. Isının Soya fasulyesi sosunda amfenikollerin bozunmanın hızlandığını ve ette korunmadığını göstermektedir. Etlerde yapılan çalışmalarda Amfenikollerin bozulma yüzdeleri %0-100 arasında olduğu belirlenmiştir (23, 45, 57).

Aynı şekilde etler üzerinde yapılan diğer çalışmalarda da antibiyotik kalıntılarının azaldığı fakat tamamen ortadan kaldırılamadığı belirlenmiştir. Bulgaristan'da tobramisin tavuk etlerindeki kalıntıları üzerine soğukta muhafazanın etkisini incelemek amacıyla yapılan çalışmanın sonucunda, etlik piliç dokularındaki (but, göğüs eti ve karaciğer) tobramisin kalıntılarının -18°C'de 60 gün bekletilmesi ile önemli oranda azaldığı gözlenmiştir (49). Domuz etinde çeşitli antibiyotik kalıntıları üzerine ısı işlemlerinin etkisi incelendiğinde, penisilin, amoksisilin, ampisilin, kloksasilin, oksitetrasiklin, doksisisiklin, kolistin, dihidrostreptomisin 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 saptanmıştır (5, 61).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma sonucunda Burdur il merkezindeki mezbahalardan toplanan 88 adet sığır etinde florfenikol kalıntı varlığının belirlenmesi açısından incelenmiş ve 3 adet sığır etinde florfenikol antibiyotik kalıntısı tespit edilmiştir. Çalışmada incelenen diğer 85 sığır eti örneklerinde florfenikol kalıntısına rastlanmamıştır.

Yine aynı şekilde Burdur il merkezindeki mezbahalardan toplanan 87 adet sığır etinde sülfonamid kalıntı varlığının belirlenmesi açısından incelenmiş ve 3 adet sığır etinde sülfonamid antibiyotik kalıntısı tespit edilmiştir. Çalışmada incelenen diğer 84 sülfonamid sığır eti örneklerinde sülfonamid kalıntısına rastlanmamıştır.

Nitelikli gıdaya ulaşım, günümüzün en temel sorunlarından biridir. Bu sorunu çözmek adına çeşitli tedbirler alınmış, ulusal stratejiler geliştirilmiş fakat bu çözüm yolları da çeşitli sorunları birlikte getirmiştir. Gıda kaynaklı hastalıklar birçok ülkede hızla artmaktadır. (11).

Alfredsson ve Ohlsson (36) 1998 yılında yaptığı çalışmada sığır ve domuz kas örneklerine beş farklı sülfonamid enjekte etmiş ve 3 ay boyunca dondurulmuş olarak muhafaza etmişlerdir. Oda sıcaklığında 24 saat ve -20°C'de 1 hafta süresince ilaç seviyelerinin değişmediği, ancak 1 ay dondurulmuş muhafazadan sonra sığır ve domuz kasında seviyeleri önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Üç ay sonra ortalama azalma sığırlarda %35, domuz kasında ise %55 azalma olmuştur.

Pişirme süresi ve sıcaklığı etteki antibiyotik kalıntılarını etkileyen iki ana faktördür; pişirme prosedürlerinde, yeterli ısıtma sıcaklığı ve süresi birkaç antibakteriyel ilaç kalıntısını azaltabilir, ancak genel olarak tüketicilere ek bir güvenlik sağlamamaktadır (31).

Hayvan sahipleri tarafından yapılan, bilinçsizce antibiyotik kullanımının önüne geçmek için Bakanlık mevzuatlarının genişletilmesi gerekmektedir. Gerek Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı personeli gerekse Üniversite ile işbirliği yapılarak köylerde ve şehirlerde yetiştirici eğitimleri verilerek bilinçlendirmeler yapılabilir. Aynı zamanda Sağlık Bakanlığı tarafından yürürlüğe giren, reçetesiz antibiyotik satışının yasaklanması örnek alınarak veteriner hekimlikte de kalıntı problemlerinin önüne geçilebilir. Aynı zamanda bakanlık mevzuatında kesime

gönderilen hayvanlar için “İnsan tüketimi için kesime gönderilen sığır cinsi hayvanlar için gıda zinciri bilgisi” olmaksızın kesimhaneye hayvanların kabulü mümkün olmakla birlikte, 24 saat içerisinde bu belgenin hayvan sahibi tarafından işletmeye temin edilmemesi durumunda, karkas ve sakatatlar total imha edilir (52).

Mezbahaya kesim için sevk edilen dişi hayvanların, serbest veteriner hekimler tarafından düzenlenen pasaportlarının arka kısmına “Herhangi bir ilaç tedavisi yapılmamıştır, kesime uygundur” ibaresi yazılması zorunlu olup mezbaha veteriner hekimleri tarafından bu kontrollerin sıkı tutulması konunun hassasiyeti nedeniyle önem arz etmektedir.



KAYNAKLAR

1. **Aalipour F, Mirlohi M, Jalali, M** (2014): Determination of antibiotic consumption index for animal originated foods produced in animal husbandry in Iran, 2010. *J Environ Health Sci and Eng.*, **12(1)**, 42.
2. **Acaröz U, Arslan-Acaröz D, Gürler Z** (2016): Gıdalarda Antibiyotik Kalıntılarının Saptanması için Enzim İmmunoassay Geliştirilmesi. *Kocatepe Vet J.*, **9(2)**, 122-126.
3. **Alfredsson G, Ohlsson A** (1998): Stability of sulphonamide drugs in meat during storage. *Food Addit. Contamin.* **15**, 302-306.
4. **Ana Tačić, Vesna Nikolić, Ljubiša Nikolić, Ivan Savić** (2017): Antimicrobial Sulfonamide Drugs. *Advanced Technologies.* **6(1)**, 58-71.
5. **Anon** (2006): Erişim: (http://www.euroresi-due.nl/ER_IV/Contributions_A-H/Egmond_van_430-437.pdf, 02.01.2006).
6. **Anthony E van den Bogaard, Ellen E Stobberingh** (2000). Epidemiology of resistance to antibiotics: Links between animals and humans. *Int J Antimicrob Agents.*, **14(4)**, 327-335.
7. **Avcı B** Veteriner İlaç Kalıntılarının Önemi ve Veteriner İlaç Kalıntıları Test Metodları, Erişim: (<https://docplayer.bis.tr/12070452-veteriner-ilac-kalintilarinin-onemi-ve-veteriner-ilac-kalintilari-test-metotlari-beyza-avci-tubitak-atal-8-9-ekim-2008-izmir.html>) Erişim tarihi: 11.11.2015.
8. **Avcı T** (2010): Sığırlara Parenteral Yolla Uygulanan Bazı Makrolid Grubu Antibiyotiklerin Sütteki Seviyelerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye.
9. **Aydoğan H** (2016): Burdur İlindeki Süt İşletmeleri Çalışanlarında Astrovirus, Norovirus Ve Rotavirus Varlığının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Burdur, Türkiye.
10. **Başustaoglu A** (2004): Hayvan yemlerinde büyütme faktörü olarak kullanılan antibiyotiklerin direnç gelişimindeki rolü. *Hastane Enfeksiyonları Dergisi* **8(4)**, 286-291.
11. **Bekar A** (2013): Tüketicilerin Gıda Güvenliğine Yönelik Tutumları *YYÜ TAR BİL DERG.*, **23(2)**, 90-101.

12. **Bektemuroğlu B, Şireli M** (2011): Kobaylarda kloramfenikol ve florfenikol'ün elektrokardiyogram üzerine etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.*, **58**, 155-160.
13. **Butaye P, Devriese LA, Haesebrouck F** (2003): Antimicrobial growth promoters used in animal feed: Effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria. *American Society for Microbiology* **16 (2)**, 175-188.
14. **Can Y, Çelik HT** (2008): Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı ve kalıntı riski. *Vet. Hekim Der. Derg.* **79(4)**, 35-40.
15. **Ceyhan T** (2017): Fenikol Bileşiklerinin Süt Ürünlerinden Polimerler İle Katı Faz Ekstraksiyonu Optimizasyonu Ve Lc-MS/Gc-MS Analizi, Yüksek Lisans Tezi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, Türkiye.
16. **Demir H, Kahraman R, Özcan M, Kaygısız Hoştürk F, Ekiz B** (2002): Kıvırcık kuzuların rasyonuna katılan Zinc Basitracin'in besi performansına, bazı karkas özelliklerine ve kuzu maliyetine etkisi. *İstanbul Üniversitesi Vet. Fak. Derg.*, **28(1)**, 185-198.
17. **Elaldı N** (2015): Ufuktaki Yeni Antibiyotikler. *Flora.*, **20(1)**, 1-9.
18. **Elbagory AM, Edris AM, Muhammad KM** (2017): Studies on Residues of Antibiotics and Growth Enhancer-Hormone in Imported and Locally Produced Beef. *Nutr Food Technol.*, **3(2)**, 1-5.
19. **Er B, Onurdağ FK, Demirhan B, Özgacar SÖ, Öktem AB, Abbasoğlu U** (2013): Screening of Quinolone antibiotic residues in chicken meat and beef sold in the markets of Ankara, Turkey. *Poultry Science.*, **92**, 2212–2215.
20. **Erol İ** (2007): Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi Pozitif Matbaacılık 1. Baskı Ankara s: 299
21. **Erol İ** (2007): Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi Pozitif Matbaacılık 1. Baskı Ankara s: 301-302
22. **Eyquem F** (2016) Roundup Ready® Soyanın ELISA ile Nicel Saptanması. Erişim:(<http://gmocrl.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/manuals/Manual%20TR/bolum12.pdf>).
23. **Franje CA, Chang S K, Shyu C L, Davis J L, Lee Y W, Lee RJ, Chou C C** (2010): Differential heat stability of amphenicols characterized by structural degradation, mass spectrometry and antimicrobial activity. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **53**, 869-877.

24. **Furusawa N, Hanabusa R** (2002): Cooking effects on sülfonamide residues in chicken thigh muscle. *Food Res. Int.*, **35**, 37–42.
25. **Galarini R, Diana F, Moretti S, Puppini B, Saluti G, Persic L** (2014): Development and validation of a new qualitative ELISA screening for multiresidue detection of sülfonamides in food and feed. *Elsevier.*, **35**, 300-310.
26. **Erdoğan AT, Coşkun Y, İspirli Güven S** (2011): Tüketime sunulan ballarda sülfonamid türevi antibiyotiklerin kalıntılarının belirlenmesi. *Bornova Vet. Bil. Derg.*, **33** (47), 37-44.
27. **Günşen U: Veteriner İlaç Kalıntılarının İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri.**
Erişim:(<http://www.sincer.com.tr/etkinlik%5CEtkiler-U%5B1%5D.G.pdf>)
Erişim tarihi: 19.11.2015.
28. **Gökçen A, Atalay M** (2012): Ette ve Sütte Paraziter İlaç Kalıntısı. *Harran Üniv Vet Fak Derg.*, **1**(2), 117-124.
29. **Gökmen S, Dağoğlu G, Gül Baykalır B** (2014): Alabalıkların Yenilebilir Doku Örneklerinde Florfenikol Kalıntılarının Araştırılması. *F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.*, **28**(1), 05 – 08.
30. **Göncü S, Boğa M, Kılıç Ü, Görgüllü M, Doran F** (2010): Effects of Feeding Regime Without Roughage on Performances and Rumen Development of Calves During Preweaning Period. *Tarım Bilimler Dergisi – Journal of Agricultural Sciences.*, **16**, 123-128.
31. **Heshmati A** (2015): Impact of Cooking Procedures on Antibacterial Drug Residues in Foods: A Review. *J Food Qual Hazards Control.*, **2**, 33-37.
32. **Javadi A, Mirzaie H, Khatibi SA** (2011): Effect of roasting, boiling and microwaving cooking method on sulfadiazine + trimethoprim residues in edible tissues of broiler by microbial inhibition method. *African Journal of Microbiology Research.* **5**(1), 16-19.
33. **J. Wang, J.D. MacNeil, J.F. Kay** (2012): Chemical Analysis of Antibiotic Residues in Food. Wiley Press, United States of America, 30 pp.
34. **Karaçal F** (2004): Ankara Piyasasında Satılan Sütlerde Bazı Antibiyotik Kalıntıları. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.

35. **Karadeniz Ş** (2015): Bazı sülfonamid türevlerinin sentezi ve karakterizasyonu. Doktora Tezi. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Balıkesir, Türkiye.
36. **Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A** (1997): *Veteriner Uygulamalı Farmakoloji* Cilt: 2, 1. Baskı, Medisan Yayınevi, ,Ankara, s: 790.
37. **Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A** (2000): *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji*, 2. baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, Türkiye, s: 714.
38. **Kaya S, Pirinççi İ, Bilgili A** (2002): *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji*, 2. baskı, Medisan Yayınevi, Türkiye, Ankara, s: 681.
39. **Kaya S, Pirinççi İ, Ünsal A, Karaer Z, Tarş B, Bilgili A, Akar F** (2007): *Veteriner Farmakoloji*, 4. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, s: 325.
40. **Kayaalp O** (1984): *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Ulucan Matbaası, Ankara, Türkiye, s: 995.
41. **Lambert T** (2012): Antibiotics that affect the ribosome. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **31**(1), 57-60.
42. **Lawal JR, Jajere SM, Geidam Y A, Bello AM, Wakil Y, Mustapha M** (2015): Antibiotic residues in edible poultry tissues and products in nigeria: a potential public health hazard. *International Journal of Animal and Veterinary Advance.*, **7**(3), 55-66.
43. **Laxminarayan R, Duse A, Wattal C, Zaidi AK, Wertheim HF, Sumpradit N, Vlieghe E, Hara GL, Gould IM, Goossens H, Greko C, So A, Bigdeli M, Tomson G, Woodhouse W, Ombaka E, Peralta AQ, Qamar FN, Mir F, Kariuki S, Bhutta ZA, Coates A, Bergstrom R** (2013): Antibiotic resistance-the need for global solutions. *The Lancet Infect Dis.* **13**(12), 1057-1098.
44. **Mor F, Şahindokuyucu F, Kav K, Köker A** (2011): Sığırlarda Doku Örneklerinde Zeranol Ve Trenbolon Kalıntılarının Belirlenmesi. *Eurasian J Sci.*, **24**, 235-239.
45. **O'brien JJ, Campbell N, Conaghan T** (1981): Effect of cooking and cold storage on biologically active antibiotic residues in meat. *J. Hygiene.*, **87**, 511-523.
46. **Oruç HH, Cengiz M, Bağdaş D, Uzunoğlu İ** (2007): Sığır etlerinde streptomisin ve sulfametazin (sulfadimidin) kalıntıları. *Uludağ Üniv.J.Fac.Vet.Med.*, **26** (1-2), 17-20.

47. **Özalp E AD** (2002): *Farmakoloji*, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye.
48. **Özcan A, Karaca MY, Bayraktar Y** (2011): Güney Marmara bölgesinde satışa sunulan hayvan yemlerindeki antibiyotik ve antidioksidiostat düzeylerinin LC-MS/MS yöntemi ile belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Gıda Yem Bilimi-Teknoloji*
49. **Pavlov A, Lashev L, Rusev V** (2005): Studies on the residue levels of tobramycin in stored poultry products. *Trakia J Sci.*, **3**, 20-22.
50. **Pericás CC, Maquieira A, Puchades R** (2010): Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples. *Trends in Analytical Chemistry.*, **29(9)**.
51. **Ramatla T, Ngoma L, Adetunji M, Mwanza M** (2017): Evaluation of Antibiotic Residues in Raw Meat Using Different Analytical Methods. *Antibiotics.*, **6(4)**, 34.
52. **Resmi Gazete** (2011): Hayvansal Gıdaların Resmi Kontrollerine İlişkin Özel Kuralları Belirleyen Yönetmelik.
53. **Resmi Gazete** (2012): Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması Ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği.
54. **Saghaei S** (2014): Farklı Saklama Şartlarında Muhafaza Edilen Oksitetrasiklin, Enrofloksasin, Sülfonamid–Trimetoprim Ve Levamizol İçeren Veteriner Müstahzarlarının Orijinal Ve Açılmış Şekillerindeki Etkin Madde Düzeyi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, Türkiye.
55. **Şener S, Yıldırım M** (2002): Hayvanlarda Antibiyotik Kullanımı Ve İnsan Sağlığıyla İlgili Sonuçları, *ANKEM Dergisi.*, **16(4)**, 416-422.
56. **Tekgöl Y** (2012): Aydın ilinde satışa sunulan broiler etlerinde bazı antibiyotik kalıntılarının varlığının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye.
57. **Tian L, Khalil S, Bayen S** (2017): Effect of thermal treatments on the degradation of antibiotic residues in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.*, **57(17)**, 3760-3770.
58. **Tijssen P** (1985): Practice and theory of enzymeimmunoassays. *Elsevier, Amsterdam, Holland.*

59. **Tuncer İH** (2007): Karma yemlerde kullanımı yasaklanan hormon, antibiyotik, antitoksidiyal ve ilaçlar. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.*, **47(1)**, 29-37.
60. **Weneger H** (2003): Antibiotics in animal feed and their role in resistance development. *Current Opinion in Microbiology.*, **6 (5)**, : 439-445.
61. **Van Egmond HJ, Nouws JFM, Schilt R, Van Lankveld-Driessen WDM, Streut-jens-Van Neer EPM, Simons FGH** (2000): Stability of antibiotics in meat during a si-mulated high temperature destruction process. *Euro Residue IV.*, **29**, 430–437.
62. **Van Weemen BK, Schuurs A** (1975): The influence of heterologous combinations of antiserum and enzyme-labeled estrogen on characteristics of estrogen enzymeimmunoassays. *Immunochemistry.*, **12**, 667-670.
63. **Yarsan E** (2013): Hayvansal gıdalarda veteriner ilaç kalıntıları. International 2. Halal and Healty Food Congress Konya, Türkiye.
64. **Yarsan E, Tayyar M** (2014): *Veteriner Halk Sağlığı*, 1. Baskı, Dora Yayınevi, Bursa s: 135-136.
65. **Yıbar A, Soyutemiz E** (2013): Gıda değeri olan hayvanlarda antibiyotik kullanımı ve muhtemel kalıntı riski. *Atatürk Üniversitesi Vet.Bil.Der.*, **8(1)**, 97-104.
66. **Yüksek N** (2000): Etlerde antibiyotik kalıntılarının aranması üzerinde çalışmalar. *J.Fac:Vet.Me.*, **20**, 85-90.
67. **Ziggers D** (2002): Growth promoting antibiotics finished in the EU. *Feed Tec.*, **6(3)**, 8-9.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Aslı AYCEL ÖRER
Doğum Yeri ve Yılı : SİVAS/1983
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
Telefon No : 0 505 788 77 55
E-Posta : asliorer.1@gmail.com
İletişim Adresi : Öğretmenler Mah. Su
Cad. No:15 Burhaniye /
BALIKESİR



Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl) :

Ön Lisans : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Meslek Yüksek Okulu,
2003

Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Yüksek Okulu, 2011

Yüksek Lisans : Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2018

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim) :

Muş İl Sağlık Müdürlüğü 112 ASHİ(2005-2006)

Sivas İl Sağlık Müdürlüğü 112 ASHİ (2006-2007)

Afyon İl Sağlık Müdürlüğü 112 ASHİ (2007-2011)

Burdur İl Sağlık Müdürlüğü 112 ASHİ (2011-2013)

İzmir İl Sağlık Müdürlüğü 112 ASHİ (2013- 2016)

Ankara İl Sağlık Müdürlüğü (2016- Halen devam ediyor.)