



EGE ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TAVUK YUMURTASINDA
KİNOLON GRUBU ANTİBİYOTİK
KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI**

Mehmet Ali AYDIN

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Ferah SAYIM ÖZKAN

Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 401.04.00

Sunuş Tarihi : 24.03.2015

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**TAVUK YUMURTASINDA
KİNOLON GRUBU ANTİBİYOTİK
KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI**

Mehmet Ali AYDIN

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Ferah SAYIM ÖZKAN

Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 401.04.00

Sunuş Tarihi : 24.03.2015

Bornova-İZMİR

2015

Mehmet Ali AYDIN tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “Tavuk Yumurtasında Kinolon Grubu Antibiyotik Kalıntılarının Araştırılması” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş vetarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	:	
Raportör Üye	:	
Üye	:	

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Tavuk Yumurtasında Kinolon Grubu Antibiyotik Kalıntılarının Araştırılması” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışının olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.... / / 2015

İmzası

Mehmet Ali AYDIN

ÖZET**TAVUK YUMURTASINDA KİNOLON GRUBU ANTİBİYOTİK
KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI**

AYDIN, Mehmet Ali

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ferah SAYIM ÖZKAN

Mart 2015, 69 sayfa

Bu tezin amacı kinolon grubu bazı antibiyotiklerin (marbofloksasin, siprofloksasin, danofloksasin, enrofloksasin, sarafloksasin, difloksasin, oksolinik asit, nalidiksik asit ve flumequin) tavuk yumurtasında bulunmasına izin verilmeyen kalıntılarının araştırılmasıdır. Bu amaçla toplam 102 parti (20 parti markette satılan çiftlik yumurtası, 30 parti pazarda satılan çiftlik yumurtası, 32 parti köy yumurtası adıyla satılan yumurta ve 20 parti organik yumurta) tavuk yumurtası çalışılmıştır. Her bir partiden rastgele seçilen altışar adet yumurta karıştırılarak sıvı kromatografi sıralı kütle spektrofotometri (LC-MS/MS) yöntemiyle (Verdon, 2005) analiz edilmiştir.

Analizler sonucunda çalışılan her yumurta grubunun bir partisinde enrofloksasin ve siprofloksasin kalıntısı tesbit edilmiştir. Başka bir deyişle, kinolon kalıntısı açısından analiz edilen 102 parti yumurta numunesinin dördü (%3,9) pozitif çıkmıştır. Mevzuat gereği yumurtacı tavuklarda kullanılmaması gereken bu antibiyotiklerin illegal olarak kullanıldığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Antibiyotik, kalıntı, kinolon, LC-MS/MS, tavuk yumurtası.

ABSTRACT**INVESTIGATION OF QUINOLONE ANTIBIOTIC RESIDUES IN
CHICKEN EGGS**

AYDIN, Mehmet Ali

MSc in Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ferah SAYIM ÖZKAN

March 2015, 69 pages

The objective of this thesis was to evaluate the presence of some quinolone antibiotics (marbofloxacin, ciprofloxacin, enrofloxacin, danofloxacin, sarafloxacin, difloxacin, oxolinic acid, nalidixic acid, flumequine) residues which are not allowed in chicken eggs. For this purpose, a total of 102 eggs batch, (20 batch farm eggs sold in markets, 30 batch farm eggs sold in bazaar, 32 batch peasant eggs and 20 batch organic eggs) were examined. Six eggs were chosen randomly from each of batches, mixed and analyzed by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method (Verdon, 2005),

As a result of the analyses, enrofloxacin and ciprofloxacin residues were identified in one batch of each group. In other words, of the 102 eggs batch analyzed for residues of quinolone, four samples (3,9%) were positive. It is concluded that these antibiotics, which are not allowed to use in laying hens according to administrative legislation, have been used illegally.

Keywords: Antibiotic, chicken egg, LC-MS/MS, quinolones, residues.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince hiçbir konuda ilgi ve yardımını eksik etmeyen değerli hocam Doç. Dr. Ferah SAYIM ÖZKAN'A teşekkürlerimi bir borç bilirim. Kinolon kalıntısı analizlerinin yapılmasında laboratuvar imkanlarından faydalanmamıza izin veren Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü'ne ve Toksikoloji Bölümü'ne, teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xviii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Antibiyotikler	3
2.2 Yasal Düzenlemeler	3
2.3 Yumurtacı Kanatlı Hayvanlarda Antibiyotik Kullanımı	5
2.4 Organik Üretimde Antibiyotik Kullanımı	5
2.5 Kinolonlar	6
2.5.1 Kimyasal yapı	6
2.5.2 Kinolonların etki mekanizması	7
2.5.3 Kinolonların ilaç kalıntı arınma süreleri	8
2.6 Çalışmada Analizi Yapılan Antibiyotikler Hakkında Bilgiler	15

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.6.1 Marbofloksasin.....	15
2.6.2 Siprofloksasin.....	15
2.6.3 Norfloxacin	16
2.6.4 Danofloksasin.....	16
2.6.5 Enrofloxacin.....	17
2.6.6 Sarafloksasin	19
2.6.7 Difloxacin.....	19
2.6.8 Oksonilik asit	20
2.6.9 Nalidiksik asit	20
2.6.10 Flumequin	21
3. MATERYAL VE METOD	23
3.1 Numunelerin Temini	23
3.2 Tavuk Yumurtasında Kinolon Grubu Antibiyotiklerin LC-MS/MS ile Kantitatif Tesbiti.....	23
3.3 Cihaz ve Ekipmanlar.....	23
3.3.1 Tartım ve ekstraksiyon.....	23
3.3.2 Likit kromatografi tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS).....	24

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.3.1 Tartım ve ekstraksiyon	23
3.3.2 Likit kromatografi tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS)	24
3.4 Kimyasallar Standartlar	24
3.5 Solüsyonlar	25
3.6 Ekstraksiyon	25
3.6.1 Test numunesinin ekstraksiyonu	25
3.6.2 Blank yumurta örneğinin ekstraksiyonu	26
3.6.3 Spike yumurta örneğinin ekstraksiyonu	26
3.7 Cihaz Koşulları	26
3.8 Sonuçların Hesaplanması.....	29
3.8.1 Kalibrasyon eğrisinin oluşturulması	29
3.8.2 Numune sonuçlarının hesaplanması	29
4. BULGULAR.....	30
5. TARTIŞMA.....	37
6. ÖNERİLER.....	42
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Kinolonların temel yapısı	7
2.2 Kinolonların etki mekanizması	8
4.1 Marbofloksasin kalibrasyon eğrisi	30
4.2 Siprofloksasin kalibrasyon eğrisi	30
4.3 Danofloksasin kalibrasyon eğrisi	31
4.4 Enrofloksasin kalibrasyon eğrisi	31
4.5 Sarofloksasin kalibrasyon eğrisi	31
4.6 Diflofloksasin kalibrasyon eğrisi	32
4.7 Oksonilik Asit kalibrasyon eğrisi	32
4.8 Nalidiksik Asit kalibrasyon eğrisi	32
4.9 Flumekuın kalibrasyon eğrisi	33
4.10 Şekil 4.10: 10 µg/kg spike kromatogramı	34
4.11 Blank numune kromatogramı	35
4.12 Market 17 kodlu pozitif numunenin kromatogramı	35
4.13 Organik 5 kodlu pozitif numunenin kromatogramı	35
4.14 Köy 32 kodlu pozitif numunenin kromatogramı	36
4.15 Pazar 12 kodlu pozitif numunenin kromatogramı	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Kanatlılarda enrofloksasin kalıntı limitleri	4
2.2 Yumurtacı kanatlı hayvanlarda kullanılan ilaç etkin maddeleri ve ilaç kalıntı arınma süreleri (İKAS) Listesi	5
2.3 Kinolon grubu antibiyotiklerin atılım süreleri	11
2.4 Danofloksasinin akut toksisite çalışmaları	17
2.5 Enrofloksasinin akut toksisite çalışmaları	18
2.6 Oksolinik asidin LD 50 değerleri	21
2.7 Flumekuin akut toksisite sonuçları	22
3.1 Pompa oranlama programı.....	27
3.2 MS Segmentleri	28
3.3 Metot validasyon sonuçları.....	29
4.1 LC-MS/MS ile yapılan kalıntı analizi sonuçları.....	33
5.1 2010 yılı Avrupa Birliği kalıntı izleme programı sonuçları	39
5.2 2011 yılı Avrupa Birliği kalıntı izleme sonuçları	39

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AB	Avrupa Birliği.
ABD	Amerika Birleşik Devletleri.
ADI	Acceptable daily intake.
AKS	Azami kalıntı seviyesi, maksimum kalıntı limiti.
ASTED-LSC	Automated sequential trace enrichment dialysis liquid chromatography.
CA	Canlı ağırlık.
HPLC	High performance liquid chromatography.
HPLC/MS	High performance liquid chromatography mass spectrometry.
İKAS	İlaç kalıntı arınma süresi.
LC/MS	liquid chromatography-mass spectrometry.
LC-MS/MS	liquid chromatography tandem mass spectrometry.
LD ₅₀	Letal doz 50.
LOD	Limit of Detection (Teşhis Limiti).
LOQ	Limit of Quantification (Tesbit Limiti).
LSC	Liquid scintillation counter (used to quantify radio-labelled drug).
MRM	Multiple reaction mode.
NOAEL	No Observed Advers Effect Level.
PLE,LC-FLD	Pressurized liquid extraction and liquid chromatography with fluorescence detection.
ppm	Parts per million.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

ppb	Parts per billion.
TCA	Triklor asetik asit.

1. GİRİŞ

Günümüzde artan dünya nüfusu uzantısında, gıda ihtiyacı da artış göstermiştir. Fakat buna paralel olarak üretim için uygun alanlar artmamış, aksine tarım alanlarındaki kentleşme ve sanayileşme nedeniyle azalmıştır. İnsanlar bunun çözümünü birim alandan daha fazla ürün elde etmekte bulmuşlardır. Bunun için geleneksel üretim tekniklerinden vazgeçip entansif üretime yönelmişlerdir. Fakat, entansif üretimde de popülasyonun yoğunluğu ve ortam koşullarından dolayı hayvanlarda hastalık oluşumu artış göstermiştir. Bu hastalıklarla mücadele etmek ve daha fazla ürün elde etmek için de ilaç kullanımını artırmak gerekmiştir. Başlangıçta ilaçların hep yararları dikkate alınmış, zararları pek önemsenmemiştir. Ancak bu konulardaki araştırmalar arttıkça bu ilaçların pek de masum olmadıkları, ürünlerde belirli limitlerin üzerinde bulunduklarında insan sağlığına ve ekosisteme zarar verdikleri tesbit edilmiştir.

Tüketicilerde bilinçlilik düzeyinin artmasıyla, insanlar daha güvenli gördükleri, organik ve kırsal kesimde geleneksel yöntemlerle üretilen gıdalara yönelmişlerdir. Ancak bu gıdaların piyasa değeri daha yüksek olduğundan bazı fırsatçıların, halka entansif olarak üretilen ürünlerin organik olduğunu iddia ederek, daha pahalıya satmaları son zamanlarda sık yaşanan olaylardandır.

İnsanlar sağlıklı gelişim ve yaşam için yeterli ve dengeli bir diyeteye ihtiyaç duymaktadırlar. Proteinler bu diyetin olmazsa olmazlarındandır. Yumurta biyolojik değeri yüksek proteine, dengeli yağ asidi kompozisyonuna, zengin vitamin, mineral ve fosfolipid içeriğine sahiptir (Çelebi ve Karaca, 2006). “Yüksek biyolojik değerli” besinsel proteinler iyi sindirilebilirlik ile yüksek esansiyel aminoasit içeriğini bir araya getirenlerdir, örneğin; kazein, yumurta, et, balık proteinleri ve soya izolatları. Yumurta proteini biyolojik değer bakımından diğer gıda maddeleriyle karşılaştırıldığı zaman %95’lik sindirilebilirlik değeri ile ilk sırayı almakta bunu %85 ile süt, %76 ile balık ve %74 ile sığır eti takip etmektedir (Çelebi ve Karaca, 2006; Çopur vd., 2004). Ortalama 60 gr ağırlığında olan bir yumurtada 6 gr protein bulunmaktadır. Yumurta proteinin esansiyel aminoasitlerince zengin olmasından dolayı biyolojik değeri 100 olarak kabul edilmekte ve diğer gıda maddelerinin kalitesinin saptanmasında standart olarak kullanılmaktadır. Yüksek biyolojik değere sahip olan yumurta proteini ana sütüyle birlikte “örnek protein” kaynağı olarak gösterilmektedir (Çelebi ve Karaca, 2006; Hasipek ve Aktaş,1997). Yumurta, önemli bir miktarı yumurta akında olmak üzere insan tarafından sentezlenemeyen ve mutlaka yiyeceklerle alınması gereken

esansiyel aminoasitlerin tamamını, esansiyel olmayanların ise çok önemli bir kısmını uygun oran ve miktarlarda içermektedir. Yumurta özellikle bitkisel kaynaklı gıdalarda sınırlı düzeyde bulunan lösin, izolösin, metiyonin ve lisin gibi esansiyel aminoasitler bakımından oldukça zengindir (Çelebi ve Karaca, 2006).

Tüm bu özelliklerinden dolayı insanların diyetinde bulunması istenen yumurtanın sağlıklı bir şekilde tüketiciye ulaştırılması son derece önemlidir. Sağlıklı bir yumurtanın en önemli özelliklerinden biri de içeriğinde, yasaklanmış yabancı kimyasal madde kalıntılarının bulunmamasıdır. Antibiyotik kalıntıları, yumurtada rastlanabilen en önemli kimyasal kalıntılardandır. Tavuklarda kullanılan antibiyotikler, yumurtaya geçmekte ve bunu tüketenlerde istenmeyen etkiler göstermektedir. Gıda olarak tüketilen hayvansal dokularda veteriner ilaç kalıntılarının birikiminin insan sağlığı üzerindeki ortak etkileri; direk toksik etki, alerjik reaksiyonlar ve bakteriyel direnç gelişimidir. (Goetting et al., 2011; Botsoglou and Fletouris, 2001; Donoghue, 2003; Companyo et al., 2009). Kanatlı hayvanlarda yaygın olarak kullanılan antibakteriyel ilaçlardan, kinolonların da nörotoksik, kondrotoksik, retina toksik olduğu, tendonlara zarar verdiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Woodward, 2009; Christ, 1990; Davidson, 2001). Florokinolon ve tetrasiklin grubu antibiyotiklerin kanatlılarda yaygın bir şekilde kullanılması sonucu, bu antibiyotiklere karşı termofilik *Campylobacter spp.*'nin artan oranda direnç kazandığı gözlenmiştir (Can ve Çelik 2008; Sackey et al., 2001). Dünya sağlık örgütü verilerine göre Avrupa birliği ülkelerinde yılda 25000 kişi hastanelerde antibiyotik dirençli bakterilerin oluşturduğu enfeksiyonlar sebebiyle hayatını kaybetmektedir (WHO, 2011).

Bu çalışmada markette satılan çiftlik yumurtası, pazarda satılan çiftlik yumurtası, organik yumurta ve köy yumurtası adıyla satılan 4 grup yumurtada kinolon grubu antibiyotik kalıntısının izlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma sonunda halk pazarlarında, marketlerde ve internetten satılan ürünler kıyaslanacak ve ayrıca tüketicilerin hep şüpheyle baktıkları organik yumurta olarak satılan yumurtaların gerçekte organik olup olmadığı sorusuna da cevap aranacaktır. Dolayısıyla, bu çalışmayla güvenli gıda araştırmalarına katkı sağlamak, tüketicilerde yumurtalardaki muhtemel antibiyotik kalıntısı hakkında farkındalık yaratmak ve insan sağlığını direkt etkileyen bu duruma yetkililerin dikkatini çekip gerekli tedbirlerin alınmasını sağlamak hedeflenmiştir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Antibiyotikler

Hayvansal üretimde kullanılan ilaçların önemli bölümünü antibiyotikler oluşturmaktadır. Antibiyotikler antimikrobiyal aktiviteye sahip, doğal yolla oluşan ya da sentetik veya yarı sentetik bileşikler olup, insan ve veteriner tıbbında hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde, gıda olarak yararlanılan hayvanlarda ise gelişmeyi artırıcı olarak kullanılmaktadır (Phillips et al., 2004). Antibiyotiklerin beslenme verimini artırmak için kullanılması Amerika Birleşik Devletlerinde serbest olmasına rağmen Avrupa Birliği ülkelerinde 2006 yılından itibaren yasaklanmıştır (Goetting et al., 2011; Donoghue, 2003; Castanon, 2007; Companyo et al., 2009).

Antibiyotikler genel olarak beş temel mekanizma üzerinden etki göstermektedirler. Buna göre antibiyotikler; 1) Hücre duvarı biyosentez enzimleri ve substratlarını inhibe ederek (örn; beta-laktam grubu antibiyotikler, vankomisin), 2) Hücre membran yapılarını bozarak (örn; polimiksinler), 3) Bakteriyel protein sentezini engelleyerek (örn; makrolidler, tetrasiklinler, aminoglikozidler), 4) Bakteriyel nükleik asit replikasyonu ve onarımının gerçekleşmesini engelleyerek (örn; florokinolonlar) ve 5) Bakteriyel metabolizmaları bozarak (örn; trimetoprim-sülfametoksazol) enfeksiyonların tedavisini sağlarlar (Çelik ve Bütet, 2007).

Veteriner tıbbında antibiyotik kullanımı yem katkı maddesi olarak oksitetrasiklin ve klortetrasiklin kullanımıyla 1950'li yıllarda başlamıştır (Di Corcia and Nazari, 2002). Antibiyotikler halen hastalıkların tedavisi, beslenme veriminin artırılması ve hastalıklardan koruyucu olarak kümes hayvanları endüstrisinde ve veterinerliğinde kullanılmaktadır. Antibiyotik kullanımı verimli kümes hayvanı yetiştiriciliğini kolaylaştırmış, buna bağlı olarak da tüketicinin makul fiyatlara et ve yumurtaya ulaşmasını sağlamıştır. Ayrıca antibiyotik kullanımıyla hayvan refahı artmış ve hastalık oluşumu azalmıştır. Antibiyotiklerin tüm bu yararlarına rağmen ne yazık ki tüketiciler tavuk ürünlerinin bu ilaçları tehlike oluşturabilecek düzeyde içerdiği fikrine sahiptirler (Donoghue, 2003).

2.2 Yasal Düzenlemeler

Gıda değeri olan hayvanlarda kullanılacak her ilaç etkin maddesi için yapılan toksikolojik testler Avrupa Birliğinde, Avrupa İlaç Değerlendirme Ajansı

(=EMA) tarafından değerlendirilmektedir. Değerlendirme sonuçları, “Hayvansal Kökenli Gıda Maddelerindeki Veteriner İlaçlarının Azami Kalıntı Seviyelerinin Tesbit Edilmesi İçin Topluluk İşlemlerini Ortaya Koyan 26 Haziran 1990 tarih ve 90/2377 sayılı Konsey Yönergesi” olarak AB Resmi Gazetesi’nde yayınlanmıştır ve bu yönergeye zaman içinde ilaveler yapılmaktadır. Söz konusu mevzuat veteriner ilaçlarını 4 ayrı listede değerlendirmektedir:

- I. Liste Azami Kalıntı Seviyesi-AKS (Maksimum Kalıntı Limiti-MKL, Maximum Residue Limits-MRL) Tesbit Edilen Veteriner İlaçları
- II. Liste AKS Tesbit Edilmesine Gerek Olmayan Zararsız Veteriner İlaçları
- III. Liste AKS Kesinlik Kazanmamış Olan Veteriner İlaçları
- IV. Liste Gıda Değeri Olan Hayvanlara Uygulanması Yasaklanan Veteriner İlaçları ((Anonim 2007).

I., II., ve III. Liste’de yayınlanan ilaçlar ancak o ilacın kullanılmasına izin verildiği hayvanlar ve hayvansal kökenli gıdanın elde edildiği verim dönemleri (etçi sığır, sütçü sığır, etçi tavuk, yumurtacı tavuk gibi) dikkate alınarak kullanılabilir. Aşağıdaki örmekte (şekil 2.1) olduğu gibi; tavuk eti için AKS değeri verilmiş, fakat tavuk yumurtası için bir AKS değeri verilmemişse; o ilaç etçi tavuklarda uygulanabilir fakat yumurta elde edilen tavuklara uygulanamaz.

Çizelge 2.1: Kanatlılarda enrofloksasin kalıntı limitleri. (Anonim 2011a)

Farmakolojik Aktif Madde	Belirleyici Kalıntı	Hayvan Türü	Maksimum Kalıntı Limiti-MKL	Hedef Doku	Diğer Koşullar
Enrofloksasin	Enrofloksasin ve siprofloksasin toplamı	Kanatlı hayvanlar	100 µg/kg	Kas	Yumurtası insan tüketimine sunulan hayvanlarda kullanılmaz.
			100 µg/kg	Deri ve Yağ	
			200 µg/kg	Karaciğer	
			300 µg/kg	Böbrek	
			300 µg/kg	Böbrek	

Hayvancılıkta kullanılan kinolon grubu antibiyotiklerden danofloksasin, difloksasin, enrofloksasin, flumequin, marbofloksasin, sarafloksasin I Liste, oksolinik asit, III. Listede ta yer almaktadır.

IV. Listede ise insan sağlığına olan zararlarından dolayı gıda değeri olan hayvanlara kesinlikle uygulanamayacak ilaçları bildirir. Bu grupta kloramfenikol ve nitrofuran grubu antibiyotikler yer alır.

2.3 Yumurtacı Kanatlı Hayvanlarda Antibiyotik Kullanımı

Etçi tavuklarda kullanılan bazı antibiyotiklerin yumurtacı tavuklarda kullanılmasına izin verilmemektedirler. Yumurtacı tavuklarda kullanılan ve belirli limitlerde yumurtada bulunmasına izin verilen bazı antibiyotikler eritromisin, tilosin, klortetrasiklin, oksitetrasiklin, tetrasiklin, tiamulin, linkomisin, neomisin/framisetin, kolistin (polimiksin E), piperazindir (Çizelge 2.2). Bu çalışmada analizi yapılan antibiyotikler, yani kinolon grubu antibiyotikler, yumurtacı tavuklarda kullanımına izin verilmeyen antibiyotiklerdendir.

Çizelge 2.2: Yumurtacı kanatlı hayvanlarda kullanılan ilaç etkin maddeleri ve ilaç kalıntı arınma süreleri (İKAS) Listesi. (Anonim, 2014)

Etken Madde	Bileşik	Kullanım Yolu	Hayvan Türü	Et için İKAS(gün)	Yumurta için İKAS(gün)	Maksimum Kalıntı Limiti
Eritromisin		enjeksiyon	tavuk	7	10	150 µg/kg
Eritromisin	tiyosiyanat	oral	tavuk	21	6	150 µg/kg
Tilosin	tartrat	oral	tavuk	2	5	200 µg/kg
Klortetrasiklin		oral	kanatlı	14	14	200 µg/kg
Oksitetrasiklin		oral	kanatlı	14	14	200 µg/kg
Tetrasiklin		oral	kanatlı	7	?	200 µg/kg
Tiamulin		oral	tavuk	3	?	1000 µg/kg
Linkomisin		enjeksiyon	tavuk	21	?	50 µg/kg
Linkomisin		oral	tavuk	2	2	50 µg/kg
Neomisin/framisetin		oral	tavuk	1	1	500 µg/kg
Kolistin (polimiksin E)		enj.	tavuk	21	?	300 µg/kg
Kolistin (polimiksin E)		oral	tavuk	7	0	300 µg/kg
Piperazin		oral	tavuk	7	?	2000 µg/kg

2.4 Organik Üretimde Antibiyotik Kullanımı

Toplumda, organik üretimde hiçbir kimyasal ilacın kullanılamayacağı yönünde bir algı bulunmaktadır. Ancak bu algı yanlıştır. Çünkü organik üretimde belirli kurallar dahilinde çeşitli ilaçlar, yetkilendirilmiş kurumun izniyle ve gerekli kayıtlar tutularak kullanılabilir.

Organik üretimde antibiyotik kullanımı entansif üretime göre daha sıkı kurallara bağlanmıştır. Entansif üretimde hastalıklardan korunmak için antibiyotik kullanılmasına izin verilmesine rağmen, organik üretimde izin verilmemektedir. Organik üretimde üretken yaşam süresi bir yıldan fazla olan hayvanlara yılda üç

defa, üretken yaşam süresi bir yıldan daha az olanlar için yaşamları boyunca bir kez antibiyotik kullanımına izin verilmektedir. Bu limitler aşıldığında hayvanların tekrar geçiş sürecine alınması gerekmektedir. Bu geçiş süreci et üretimine yönelik kanatlılarda, üç günlük yaştan büyük olmamak kaydıyla on hafta, yumurta üretimine yönelik kanatlılarda ise altı haftadır. Geçiş sürecindeki hayvanlardan elde edilen ürünler organik ürün olarak satılamaz. Geçiş süreci ürünü, "Organik tarım geçiş süreci ürünüdür" etiketiyle pazarlanır. Geçiş sürecinde bulunan hayvanlardan elde edilen ürünlerin reklam ve etiketlerinde organik tarımı çağrıştıran ifadeler kullanılamaz (Anonim, 2010a).

2.5 Kinolonlar

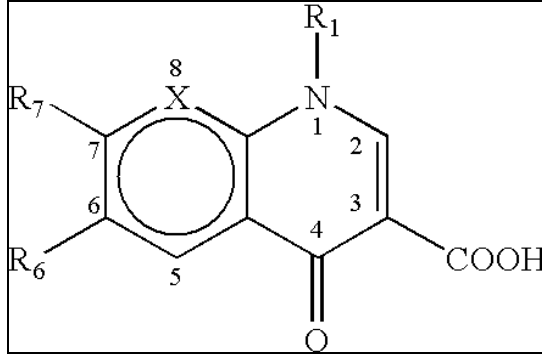
Kinolonlar yaygın şekilde kullanılan antibakteriyel ilaçlardır (İbrahim, 2006). Kinolonlar canlı hayvan ve su ürünleri yetiştiriciliğinde bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu sentetik antimikrobiyallerdir. Ülkemizdeki antibakteriyeller ve kombinasyonları sınıfındaki 895 adet ilaçtan 74 adedinin başka bir deyişle % 8,26'sının birinci etken maddesi kinolon grubu bir antibiyotik olan enrofloksasindir.

Kinolonlar tavuklarda, kolibasiloz (*Escherichia coli* enfeksiyonları), pasteurellozis (Tavuk kolerası), salmonellozis, mikoplazmozis, sinüzitis, solunum yolu enfeksiyonları, yumuşak doku enfeksiyonları ve yumuşak doku zedelenmelerinin tedavisinde kullanılırlar.

2.5.1 Kimyasal yapı

Kinolonlar klinik kullanıma 1962 yılında nalidiksik asit formunda girmişlerdir. Nalidiksik asit malarya tedavisinde kullanılan klorokinin sentezi ve saflaştırılması sırasında keşfedilmiş, çoğu *Enterobacteriaceae* üyesine bakterisit etkili bir antibiyotiktir. İdrarda yüksek konsantrasyona ulaşması nedeniyle sadece üriner sistem enfeksiyonlarında kullanılmaya başlanmıştır (Nazik ve Öngen, 2010; Robicsek et al., 2006; Ruiz, 2003). Tamamen sentetik antibiyotikler olan kinolonların temel yapısı, 1. pozisyonundaki nitrojen, 3. pozisyonundaki karboksil grubu ve 4. pozisyonundaki karbona çift bağla bağlanmış oksijenin bulunduğu ikili halkadan oluşmaktadır (Şekil 2.1). 1970'lerde kinolon molekülünün C-6 pozisyonuna bir flor atomunun eklenmesiyle aktivitesi artırılarak ilk florokinolon olan norfloksasin elde edilmiş ve bu bileşik klinik kullanıma ancak 1986 yılında girmiştir. Daha sonraları kinolonların yapısına piperazinil, metil piperazinil,

dimetil piperazinil, pirolidinil, metoksi grubu gibi çeşitli eklemeler yapılarak yeni florokinolonlar türetilmiş ve etki spektrumu genişletilmiştir (Nazık ve Öngen, 2010; Hooper and Strahilevitz, 2010; Robicsek et al., 2006; Ruiz, 2003).



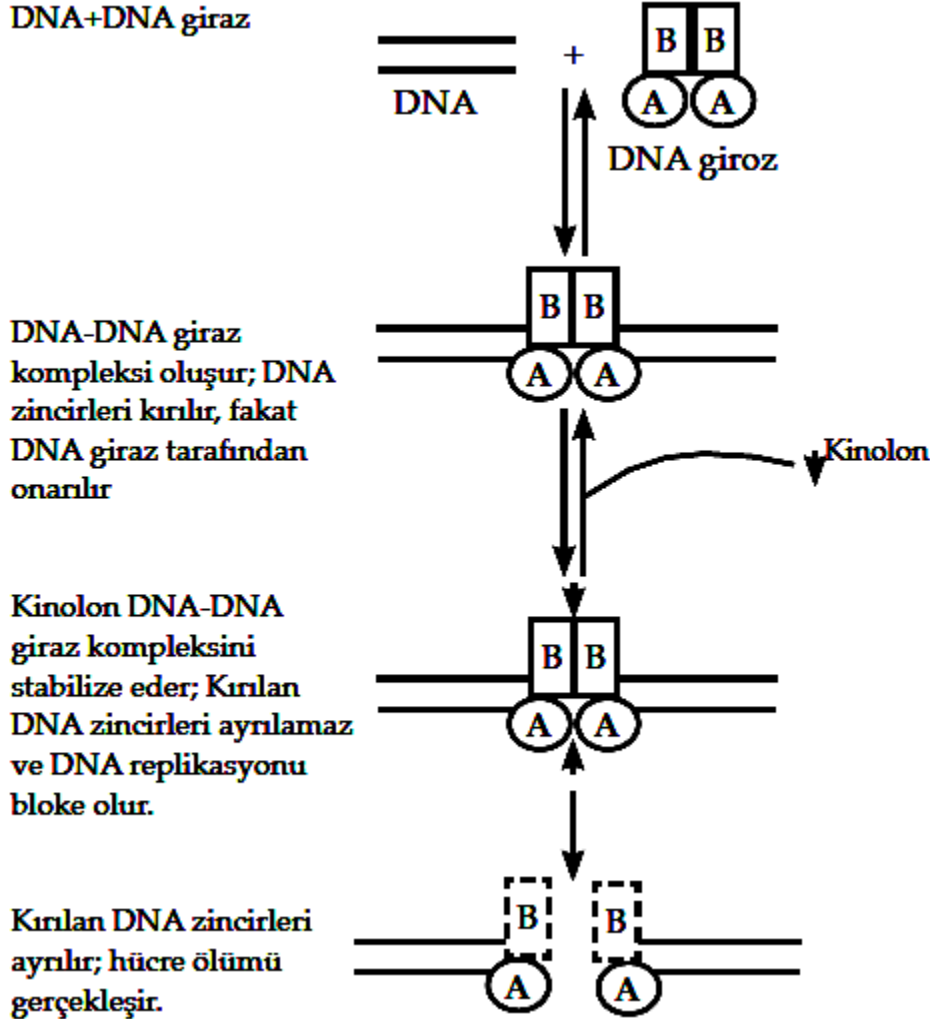
Şekil 2.1: Kinolonların temel yapısı

Kinolonlar asidik ve amfoterik olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Asidik kinolonlara karboksilik asit, flumequin, okzolinik asit, nalidiksik asit, cinoxacin, promidik asit, pipedimik asit gibi bileşikler örnek verilebilir. Amfoterik kinolonlar C-6 pozisyonunda flor ve C-7 pozisyonunda piperazinyl içerirler. Bu gruba marbofloksasin, siprofloksasin, norfloksasin, lomefloksasin, danofloksasin, enrofloksasin, sarafloksasin, difloksasin, ofloksasin, enoksasin, orbifloksasin gibi bileşikler örnek verilebilir (Chang et al., 2010).

2.5.2 Kinolonların etki mekanizması

Kinolonlar, bakteriyel DNA giraz (topoizomeraz II) ve topoizomeraz IV enzim aktivitesini inhibe ederek etkilerini gösterirler. DNA giraz DNA replikasyonu, rekombinasyonu ve onarımında görev alır. Topoizomeraz IV ise replikasyon sırasında oluşan yavru DNA iplikçiklerinin birbirinden ayrılarak yavru hücrelere geçmesine yardım eder. DNA giraz enzimi *gyrA* geni tarafından kodlanan iki A alt birimi ile *gyrB* geni tarafından kodlanan iki B alt biriminden oluşmaktadır. Topoizomeraz IV ise *parC* geni tarafından kodlanan iki parC alt birimi, *parE* geni tarafından kodlanan iki parE alt biriminden oluşmaktadır. Tip 2 topoizomerazlardan olan bu iki enzim kinolon grubu antibiyotiklerin hedefini oluşturmaktadır. Topoizomeraz-DNA kompleksine bağlanan kinolonlar DNA sentezini hızla inhibe ederler. Kinolonların bakterisidal etkilerinin ortaya çıkmasında DNA sentezinin inhibisyonu temel olmakla birlikte, farklı mekanizmaların da hücre ölümünde rol oynadığı sanılmaktadır. Ayrıca çok yüksek antibiyotik konsantrasyonlarında RNA ve protein sentezinin inhibisyonu

ile bakteriyostatik etki gösterdikleri belirlenmiştir. Kinolon grubu antibiyotiklerin Gram negatif bakterilerde öncelikli hedefinin DNA giraz, Gram pozitiflerde ise topoizomera IV olduğu bilinmektedir (Nazik ve Öngen, 2010; Hooper and Strahilevitz., 2010; Rice and Bonomo, 2007; Ruiz, 2003) .



Şekil 2.2: Kinolonların Etki Mekanizması (Nazik ve Öngen, 2010)

2.5.3. Kinolonların ilaç kalıntı arınma süreleri

Florokinolonlar, yumurtalık tavuklara kas içi veya oral yolla uygulandığında, bu antibiyotiğin kalıntıları yaklaşık 24 saat sonra yumurtada görülmeye başlar ve tedavinin kesilmesinden birkaç gün sonra bile yumurta sarısı ve albüminde kalmaya devam eder (Goetting et al., 2011; Maxwell et al., 1999; Lolo et al., 2005; Herranz et al., 2007). Lolo ve arkadaşları 2005 yılında yayınladıkları çalışmalarında 12 mg/tavuk dozunda beş gün süreyle tavuklara enrofloksasin uyguladıklarını bildirmişlerdir. Tedavinin kesilmesinden sonra

HPLC/MS ile bu ilacın uygulandığı tavukların yumurtalarında kalıntı analizi yapmışlardır. Ancak 16 gün sonra, yumurtanın beyazı ve sarısında enrofloksasin tesbit edilemeyecek seviyeye inmiştir. Donoghue ve Schneider 2003 yılında tavuklara 11 mg/kg canlı ağırlık dozunda üç gün boyunca oral yolla enrofloksasin uygulamışlardır. Tedavinin sonrasında yumurtalarda Bioassay ve LC-MS ile enrofloksasin kalıntısı araştırmışlardır. Bütün yumurtada sekiz günden daha fazla süreyle enrofloksasin kalıntısının bulunduğunu tesbit etmişlerdir. Ahmed ve arkadaşları 1998 yılında yaptıkları çalışmada, tavuklara 10 mg/kg canlı ağırlık dozunda üç gün boyunca enrofloksasin uygulamış ve yumurtada mikrobiyal inhibisyon testi ile kalıntı analizi yapmışlardır. Yumurta sarısında beş gün, albümin kısmında ise 3 gün boyunca enrofloksasin kalıntısı bulunduğunu tesbit etmişlerdir.

Shaikh ve Chu 2000 yılında tavuklara 10,5 mg/tavuk dozunda beş gün boyunca oral yolla Sarafloksasin uygulamışlardır. Tedavi sonunda yumurtalarda LSC (sıvı sintilasyon sayıcı) ile sarafloksasin kalıntısı araştırılmıştır ve yumurta sarısında dokuz gün, yumurta akında ise altı gün boyunca sarafloksasin kalıntısı tesbit edilmiştir.

Başka bir çalışmada tavuklara 10 ve 20 mg/kg canlı ağırlık dozlarında beş gün süreyle oral yolla siprofloksasin uygulanmış, uygulamanın sonlandırılmasından sonra 10 ve 20 mg/kg doz uygulanan tavukların yumurtalarında HPLC ile yapılan analizler sonucunda, sırasıyla dokuz ve on gün süreyle siprofloksasin kalıntısı tesbit edilmiştir (Xie et al., 2005).

Yang ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptıkları çalışmada 50 mg/l konsantrasyonda danofloksasin içeren suyun 12 gün boyunca tavuklara verilmesinin ardından, HPLC ile yapılan kalıntı analizlerinde yumurta sarısında 12, yumurta akında ise beş gün boyunca danofloksasin kalıntısına rastlanmıştır.

Riberzani ve arkadaşlarının 1993 yılında yaptıkları bir çalışmada 200 mg/l konsantrasyonda flumekuın içeren suyun beş gün boyunca tavuklara verilmesinin ardından, HPLC ile yapılan kalıntı analizlerinde yumurta sarısında 12, yumurta akında on gün boyunca flumekuın kalıntısına rastlanmıştır.

Roudaut'un 1998 yılında yaptıkları bir çalışmada 500 mg/l konsantrasyonda oksolinik asit içeren suyun beş gün boyunca tavuklara verilmesinin ardından, HPLC ile yapılan kalıntı analizlerinde yumurta sarısında yedi, yumurta akında on,

bütün yumurtada ise dokuz gün boyunca flumekuin kalıntısına rastlanmıştır. Yukarıda belirtilen çalışmalar çizelge 2.3' te gösterilmiştir.

Çizelge 2.3: Kinolon grubu antibiyotiklerin yumurta ilaç kalıntı arınma süreleri. (Goetting et al., 2011), (S: Yumurtanın sarısı, B: Yumurtanın beyazı, TY: Tüm yumurta, CA:Canlı ağırlık)

Florokinolonlar	Onay durumu (yumurtası için beslenen tavuklarda)*	Tolerans / maksimum kalıntı limiti *	Analitik metod	Tayin limiti (LOD)	Ölçüm limiti (LOQ)	Veriliş yolu	Doz	Tavuğun yaşı (Ay)	Tedavi süresi (gün)	Tedavinin sonlandırılması ile yumurtada antibiyotik kalıntısının tesbit edilemediği gün sayısı	kaynak
Enrofloksasin	AB: Onaylanmamış ABD: Yasaklanmış	yok	Bioassay	-	-	Su	5 mg/kg CA (hindi)	8,5	5	S:>7 B:7 TY:7	(Delaporte et al., 1994)
							10 mg/kg CA (hindi)	9	5	S:>13 B:11 TY:13	
			HPLC/MS*	2 µg/kg	-		12 mg/kg CA (tavuk)	-	5	S:>16 B:16	(Lolo et al., 2005)
			Bioassay	-	-		50 mg/L	7,5	7	S: 4	(McReynolds et al., 2000)
							50 mg/L	7,5	9	S:>7	
			ASTED- LC*	0,6	1 µg/kg	Oral	11 mg/tavuk	-	7	S:>7 TY: 14§	(Schneider and Donoghue., 2000)
			Bioassay & LC/MS*	-	1,5 µg/kg	Oral (hap)	11 mg/tavuk	-	3	TY: >8	(Donoghue and Schneider, 2003)
			HPLC	-	0,019 mg /kg	oral	5 mg/kg CA	-	5	S:7 B:10 TY:10	(Gorla et al., 1997)

Çizelge 2.3 devamı

Florokinolonlar	Onay durumu (yumurtası için beslenen tavuklarda)*	Tolerans / maksimum kalıntı limiti *	Analitik metod	Tayin limiti (LOD)	Ölçüm limiti (LOQ)	Veriliş yolu	Doz	Tavuğun yaşı (Ay)	Tedavi süresi (gün)	Tedavinin sonlandırılması ile yumurtada antibiyotik kalıntısının tesbit edilemediği gün sayısı	kaynak
Enrofloksasin	AB: Onaylanmamış ABD: Yasaklanmış	yok	Bioassay	0,096 mg/kg	-	oral	10 mg/kg CA	7,5	3	S:5 B:3	(Ahmed et al., 1998)
			HPLC	S:0,1 B:0,2 µg/kg	S:0,4 B:0,07 µg/kg		10 mg/kg CA	-	4	B:>10 TY:>10§	(Huang et al., 2006)
			PLE, LC- FLD*	41 µg/kg	-		10 mg/kg CA	-	4	Ty: >9	(Herranz et al., 2007)
			LC/MS	0,2 µg/kg	0,4µg/kg		50 mg/kg CA	-	3	TY: >16	(Bogialli et al., 2009b)
			HPLC/MS	2 µg/kg	-	IM*	15 mg/tavuk	-	5	S:18 B:17	(Lolo et al., 2005)
Sarafloksasin	AB: Onaylanmamış ABD: Yasaklanmış	yok	ASTED- LC	2 lg/kg	3 lg/kg	Oral (kapsül)	5 mg/tavuk	9	5	TY:>5	(Schneider and Donoghue, 2000)
			LSC*	-	-	oral	10,5mg/tavuk	-	5	S:9 B: 5	(Shaikh and Chu, 2000)
			LSC	10 lg/ kg	-		10,5mg/tavuk	-	5	S:9 B:6	(Chu et al., 2000)

Çizelge 2.3 devamı

Florokinolonlar	Onay durumu (yumurtası için beslenen tavuklarda)*	Tolerans / maksimum kalıntı limiti *	Analitik metod	Tayin limiti (LOD)	Ölçüm limiti (LOQ)	Veriliş yolu	Doz	Tavuğun yaşı (Ay)	Tedavi süresi (gün)	Tedavinin sonlandırılması ile yumurtada antibiyotik kalıntısının tesbit edilemediği gün sayısı	kaynak
Sarafloksasin	AB: Onaylanmamış ABD: Yasaklanmış	yok	HPLC	0.2 lg/kg	1 lg/kg	IM	25 mg/tavuk	Yumurtlamanın 50. haftası	3	TY:>5	(Maxwell et al., 1999)
Siprofloksasin	AB: Onaylanmamış ABD: Yasaklanmış	yok	HPLC	-	0,156 µg/kg	oral	5 mg/kg CA	-	5	S:6 B:0 TY:6	(Gorla et al., 1997)
			HPLC	0.01 mg /kg	-		10 mg/kg CA	-	5	TY:9	(Xie et al., 2005)
						10 mg/kg CA	-	5	TY:10		
Danofloksasin	AB: Onaylanmamış ABD: Yasaklanmış	yok	HPLC	-	5µG/KG	SU	50 mg/L	7	12	S:12 B:5	(Yang et al., 2006)
Flumequin	AB: Onaylanmamış ABD: Yasaklanmış	yok	Bioassay	0.05 mg /kg	-	oral	10 mg/kg CA	-	1	S:6 B:3	(Samaha et al., 1991)
							5		S:5 B:2		
			Bioassay	Bioassay 0.04 mg/kg	-		12 mg/kg	7,5	3	S:6 B:4	(Ahmed et al., 1998)

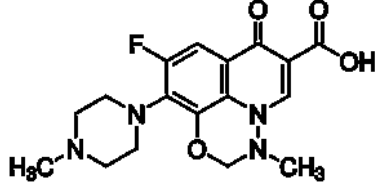
Çizelge 2.3 devamı

Florokinolonlar	Onay durumu (yumurtası için beslenen tavuklarda)*	Tolerans / maksimum kalıntı limiti *	Analitik metod	Tayin limiti (LOD)	Ölçüm limiti (LOQ)	Veriliş yolu	Doz	Tavuğun yaşı (Ay)	Tedavi süresi (gün)	Tedavinin sonlandırılması ile yumurtada antibiyotik kalıntısının tesbit edilemediği gün sayısı	kaynak
Flumequin	AB: Onaylanmamış	yok	HPLC	5 mg/ kg	-	Su	200 mg/L (40 mg /tavuk)	-	5	S:12 B:10	(Riberzani et al., 1993)
	ABD: Yasaklanmış		Bioassay	0.05 mg /kg	-	IM	12 mg/kg CA	-	1	S:6 B:2	(Samaha et al., 1991)
									5	S:5 B:2	
Norfloksasin	AB: Onaylanmamış ABD: Yasaklanmış	yok	HPLC	2.5 mg/ kg	-	Su	175 mg/L	-	5	S:>6 B:>6	(Rolinski et al., 1997)
Oksolinik Asit	AB: Onaylanmamış	yok	HPLC	-	5 lg/kg	Su	0.5 g/L (12 mg/kg CA)	-	5	S:7 B:10 TY:9	(Roudaut, 1998)
	ABD: Yasaklanmış					Yem	300 mg/kg yem (13 mg/kg CA)_	-	5	S:8 B:9 TY:9	

2.6. Çalışmada Analizi Yapılan Kinolon Grubu Antibiyotikler

2.6.1. Marbofloksasin

Kimyasal Formülü:



Kimyasal adı: 9-Fluoro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-2,3-dihydro-7H-[1,3,4]oxadiazino[6,5,4-ij]quinoline-6-carboxylic acid

Fiziko-kimyasal özellikleri:

Molekül Formülü: C₁₇H₁₉FN₄O₄

Moleküler ağırlığı: 362,36

CAS Numarası: 115550-35-1

Şekli: Açık sarı toz

Erime Derecesi: 269 °C

Kaynama derecesi: 570,5 °C

Formülasyon tipleri: Tablet çözelti, çözelti tozu

LD₅₀: Farelerde oral LD₅₀ 1781 mg/kg

Sıçanlarda oral LD₅₀ 3772 mg/kg

Dişi farelerde deri altı LD₅₀ 972 mg/kg

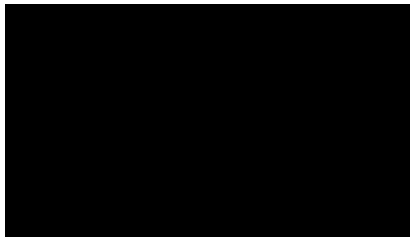
Erkek sıçanlarda deri altı LD₅₀ 2094 mg/kg

ADI: 4,5 µg/kg

NOAEL: 4 mg/kg/gün

2.6.2. Siprofloksasin

Kimyasal Formülü:



Kimyasal adı: 1-Cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-1,4-dihydro-3-quinolinecarboxylic acid

Fiziko-kimyasal özellikleri:

Molekül Formülü: C₁₇H₁₈FN₃O₃

Moleküler ağırlığı: 331,34

CAS Numarası: 85721-33-1

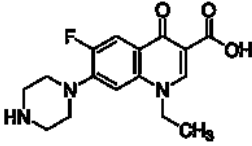
Sekli: Açık sarı toz

Kaynama derecesi: 581,7 °C

Formülasyon tipleri: Çözelti tozu

2.6.3. Norfloksasin

Kimyasal Formülü:



Kimyasal adı: 1-Ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinolinecarboxylic acid

Fiziko-kimyasal özellikleri:

Molekül Formülü: C₁₆H₁₈FN₃O₃

Moleküler ağırlığı: 319,33

CAS Numarası: 70458-96-7

Sekli: Beyaz kristal toz

Erime Derecesi: 221 °C

Kaynama derecesi: 555,8 °C

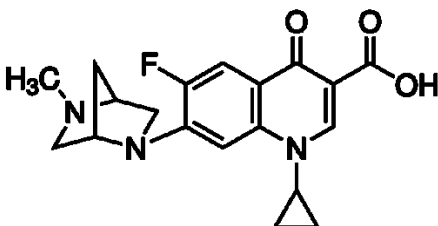
LD₅₀:

Fare (Oral) LD₅₀ 137 mg/kg

Hamster (Oral) LD₅₀ 763 mg/kg

2.6.4. Danofloksasin

Kimyasal Formülü:



Kimyasal adı: 1(1S)-1-Cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-7-(5-methyl-2,5-diazabicyclo[2.2.1]hept-2-yl)-4-oxo-3-quinoline carboxylic acid methanesulphonate

Fiziko-kimyasal özellikleri:

Molekül Formülü: C₁₉H₂₀FN₃O₃

Moleküler ağırlığı: 357,39

CAS Numarası: 112398-08-0

Sekli: Soluk beyaz toz

Kaynama derecesi: 569,3 °C

Formülasyon tipleri: Çözelti, çözelti tozu

ADI: 0-20 µg/kg

NOAEL: 2,4 mg/kg/gün

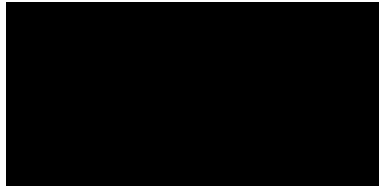
LD₅₀: Danofloksasinin LD₅₀ değerleri Çizelge 2.4’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.4: Danofloksasinin akut toksisite çalışmaları (WHO, 1997).

Tür	Uygulama yolu	Çözücü	Cinsiyet	LD ₅₀ mg/kg vücut ağırlığı	Kaynak
Sıçan (Sprague Dawley)	Oral	Distile su	Erkek, Dişi	>2000	Stadnicki et al. (1988a)
Fare (ICR)	Oral	Distile su	Erkek, Dişi	>2000	Stadnicki et al. (1988a)
Sıçan (Sprague Dawley)	İntravenöz	Steril su	Erkek	100-150	Stadnicki et al. (1988a)
Tavşan (Beyaz Yeni Zelenda tavşanı)	Deri		Erkek, Dişi	>299	Stadnicki et al. (1988b)

2.6.5. Enrofloksasin

Kimyasal Formülü:



Kimyasal adı: 1-Cyclopropyl-7-(4-ethyl-1-piperazinyl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-3-quinolinecarboxylic acid

Fiziko-kimyasal özellikleri:

Molekül Formülü: C₁₉H₂₂FN₃O₃

Moleküler ağırlığı: 359,39

CAS Numarası: 93106-60-6

Sekli: Soluk sarı renkli kristaller

Erime Derecesi: 225 °C

Kaynama derecesi: 560,4 °C

Formülasyon tipleri: Çözelti, çözelti tozu

ADI: 0-2 µg/kg

NOAEL: 1,2 mg/kg/gün

LD₅₀: LD₅₀ değerleri Çizelge 2.5’de gösterilmiştir.

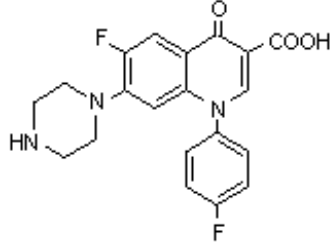
Çizelge 2.5: Enrofloksasinin akut toksisite çalışmaları (WHO,1995)

Tür	Cinsiyet	Uygulanış yolu	LD ₅₀ (mg/kg canlı ağırlık)	Kaynak
Fare	Erkek	Oral	>5000	Schmidt, 1985
	Dişi		4336	
	Erkek	İntravenöz	225	Schmidt, 1985
	Dişi		220	
Sıçan	Erkek	Deri	>2000	Schmidt, 1985
	Dişi			
Tavşan	Erkek	Oral	500-800	Schmidt, 1985
	Dişi			
	Erkek	Deri	>2000	Eigenberg,1987
	Dişi			
Köpek	Erkek	Oral	n/a ¹	Schmidt, 1985
	Dişi			

Enrofloksasin antimikrobiyal etkiye sahip bir karboksilik asit türevi kinolondur. Gram negatif bakterilere en etkilidir. Sığır domuz ve tavukların, solunum, sindirim ve üriner sistem enfeksiyonlarında endikedir (WHO, 1997).

2.6.6. Sarafloksasin

Kimyasal Formülü:



Kimyasal adı: 6-Fluoro-1-(4-fluorophenyl)-1,4-dihydro-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-3-quinolinecarboxylic

Fiziko-kimyasal özellikleri:

Molekül Formülü: C₂₀H₁₇F₂N₃O₃

Moleküler ağırlığı: 385,35

CAS Numarası: 91296-87-6

Şekli: Kirli beyaz toz

Erime Derecesi: > 300 °C

Kaynama derecesi: 621,3 °C

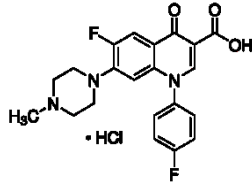
Formülasyon tipleri: Çözelti tozu

ADI: 0-0,3 µg/kg

NOAEL: 5 mg/kg/gün

2.6.7. Difloksasin

Kimyasal Formülü:



Kimyasal adı: 6-Fluoro-1-(4-fluorophenyl)-1,4-dihydro-7-(4-methylpiperazino)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic

Fiziko-kimyasal özellikleri:

Molekül formülü: C₂₁H₁₉F₂N₃O₃ · HCl

Moleküler ağırlığı: 399,4

CAS Numarası: 91296-86-5

Şekli: Beyaz veya açık sarı toz

Erime derecesi: >245 °C

Kaynama derecesi: 595,5 °C

Formülasyon tipleri: Çözelti

ADI: 0-10 µg/kg vücut ağırlığı /gün

NOAEL: 1 mg/kg vücut ağırlığı/gün

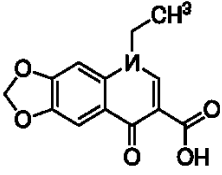
LD₅₀:

Sıçanlarda oral LD₅₀ 1380 mg/kg

Tavşanlarda Dermal LD₅₀ <2000 mg/kg

2.6.8. Oksonilik asit

Kimyasal Formülü:



Kimyasal adı: 5,8-Dihydro-5-ethyl-8-oxo-1,3-dioxolo[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid

Fiziko-kimyasal özellikleri:

Molekül formülü: C₁₃H₁₁NO₅

Moleküler ağırlığı: 261,2

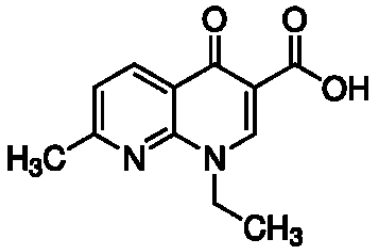
CAS numarası: 14698-29-4

Şekli: Toz

Kaynama derecesi: 473,2 °C

2.6.9 Nalidiksik asit

Kimyasal Formülü:



Kimyasal adı: 1,4-Dihydro-1-ethyl-7-methyl-1,8-naphthyridin-4-one-3-carboxylic acid

Fiziko-kimyasal özellikleri:

Molekül formülü: C₁₂H₁₂N₂O₃

Moleküler ağırlığı: 232,24

CAS Numarası: 389-08-2

Şekli: Bej renkli toz

Erime Derecesi: 229 °C

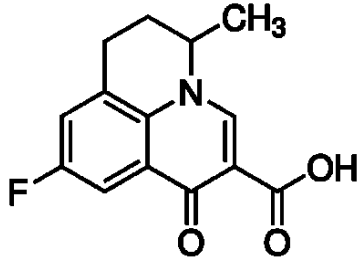
LD₅₀: LD₅₀ değerleri Çizelge 2.6'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.6: Oksolinik asidin LD₅₀ değerleri.

Tür	Veriliş yolu	LD ₅₀ (mg/kg)
Fare	Oral	572
	İntravenöz	180
Sıçan	oral	2040
	intraperitonel	319

2.6.10. Flumequin

Kimyasal formülü:



Kimyasal adı: 9-Fluoro-6,7-dihydro-5-methyl-1-oxo-1H,5H-benzo[ij]-quinolizine-2-carboxylic acid

Fiziko-kimyasal özellikleri:

Molekül formülü: C₁₄H₁₂FNO₃

Moleküler ağırlığı: 261,25 g/mol

CAS Numarası: 42835-25-6

Şekli: Beyaz küçük kristallerden oluşan toz

Erime derecesi: 253-255°C

Kaynama derecesi: 439,7 °C

Formülasyon tipleri: Çözelti tozu

ADI: 0-0,03 mg/kg

NOAEL: 25 mg/kg

LD₅₀: LD₅₀ değerleri Çizelge 2.7'da gösterilmiştir.

Çizelge 2.7: Flumekuin akut toksisite sonuçları (Riker Research Laboratories (1972 B)).

Tür	Cinsiyet	Veriliş yolu	LD ₅₀ (mg/kg vücut ağırlığı)
Fare	Dişi	Oral	2480 (2000-3075)
	Dişi	Oral (aç)	1630 (1190-2233)
	Dişi	intravenöz	97 (90-104)
	Dişi	intravenöz	90 (86-93)
	Dişi	intravenöz	822 (718-944)
Sıçan	Erkek	Oral (aç)	2210 (1864-2625)
	Dişi	Oral (aç)	2450 (1992-3014)
	Dişi	Oral (aç)	1340 (971-1849)
	Dişi	Oral (aç)	1375 (1170-1620)
	Dişi	Oral (aç)	1753 (1520-2025)
Tavşan	Erkek	Oral	> 2000
Köpek	Erkek, Dişi	intravenöz	> 120

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada; halk pazarlarında, marketlerde ve internetten satılan tavuk yumurtalarında kinolon grubu antibiyotik kalıntıları (marbofloksasin, siprofloksasin, danafloksasin, enrofloksasin, sarafloksasin, difloksasin, oksolinik asit, nalidiksik asit, ve flumekuini) Verdon et al., 2005’de belirtildiği gibi LC-MS/MS ile kantitatif olarak tesbit edilmiştir.

3.1 Numunelerin Temini

Bu çalışmada 20 parti markette satılan çiftlik yumurtası, 30 parti pazarda satılan çiftlik yumurtası, 32 parti köy yumurtası adıyla satılan yumurta ve 20 parti organik yumurta olmak üzere toplam 102 parti yumurta kinolon kalıntısı yönünden analiz edilmiştir. Her parti numune için rastgele seçilen 6 adet yumurta birlikte homojenize edilmiştir. Bu homojenat kalıntı analizinde 1 numune olarak kullanılmıştır. Pazarda satılan çiftlik yumurtaları İzmir ili Bornova İlçesi’nde kurulan halk pazarlarından, marketlerde satılan çiftlik yumurtaları Bornova’da bulunan market ve şarküterilerden, köy yumurtası olarak satılan yumurtalar Bornova Pazarı ve şarküterilerden, organik yumurtalar ise marketler, Karşıyaka’da kurulan Organik Pazar ve organik ürün satan internet sitelerinden temin edildi.

3.2 Tavuk yumurtasında Kinolon Grubu Antibiyotiklerin LC-MS/MS ile Kantitatif Tesbiti

Bu metot 3 (üç) basamaktan oluşmaktadır:
Numunelerin homojenizasyonu.
% 5 Triklor asetik asit ile ekstraksiyonu.
C18 kolon ile LC-MS/MS sisteminde tesbit.

3.3 Cihaz ve Ekipmanlar

3.3.1 Tartım ve ekstraksiyon

Standartlar ve kimyasal maddelerin tartımı için ± 0.0001 hassasiyete sahip terazi (Sartorius, Almanya), numunelerin tartımı için ± 0.001 hassasiyete sahip terazi (Sartorius, Almanya) kullanılmıştır. Ekstraksiyon esnasında soğutmalı santrifüj (Avanti J-20 XP, Beckman Coulter, ABD), çoklu vorteks (Multireax,

Heidolph, Almanya), vorteks (Scientifica, Almanya), dispenser (İsolab, Almanya), 0.45 µm rejenere selülöz filtre (Sartorius, Almanya), 50 ml hacimli PP santrifüj tüpleri (Jet Biofil, Japonya) kullanılmıştır.

3.3.2 Sıvı kromatografi sıralı kütle spektrometrisi (LC-MS/MS)

Enstrümental analiz için LC-MS/MS triple quadropole sistem (Model 6460, Agilent, ABD), kromatografik kolon olarak Zorbax SB-C18 (4.6x100 mm, 3,5 µm partikül büyüklüğü, Agilent, ABD) kullanıldı.

3.4. Kimyasallar Standartlar

Formik Asit, Merck, 2635, % 98-100

Asetonitril, (Sigma Aldrich) Kimyasal özelliği: Analitik saflıkta % 99,9'luk

Okzalik asit Dihidrat (Merck), Kimyasal özelliği: % 99'luk

Triklor asetik asit (TCA): (Sigma).

Enrofloksasin Standardı, (Riedel De Haen, 33699), Kimyasal özelliği: Analitik saflıkta % 99,6'lık

Siprofloksasin Standardı, (Fluka, 33434), Kimyasal özelliği: Analitik saflıkta % 99,6'lık

Danofloksasin Standardı, (Fluka, 33700), Kimyasal özelliği: Analitik saflıkta % 99,8'luk

Sarafloksasin Standardı, (Fluka, 33497), Kimyasal özelliği: Analitik saflıkta % 97,3'lık

Marbofloksasin Standardı, (Fluka, 34039), Kimyasal özelliği: Analitik saflıkta % 98,9'lık

Difloksasin Standardı, (Fluka, 33984), Kimyasal özelliği: Analitik saflıkta % 98,4'lık

Flumequin Standardı, (Fluka, 45735), Kimyasal özelliği: Analitik saflıkta % 99,4'lük

Norfloksasin Standardı, (Fluka, 33899), Kimyasal özelliği: Analitik saflıkta % 99,8'luk

Oksonilik asit Standardı, (Sigma, O 0877), Kimyasal özelliği: Analitik saflıkta % 99'luk

Nalidiksik asit Standardı, (Bio chemika, 70126), Kimyasal özelliği: Analitik saflıkta % 95'lik

3.5. Solüsyonlar

Mobil Faz A' nın Hazırlanması: 0,126 g Okzalik Asit bir miktar suda çözüldü (yaklaşık 500 ml). İçine 2 ml Formik Asit eklendi ve hacmi 1 l'ye tamamlandı. 15 dakika Ultrasonik banyoda bekletildi.

Mobil Faz B' nin Hazırlanması: 900 ml analitik saflıkta saf Asetonitril içine 1 ml Formik asit konuldu. 1 l Hacme tamamlandı. % 5 lik TCA: 50 gr TCA 1 litre saf suda çözüldü.

Alkali Metanol: 1 N sodyum hidroksit solüsyonu hazırlandı. Bu solüsyondan 10 ml ile alınıp 240 ml metanol ile karıştırıldı.

Standartların hazırlanması:

Ana Stok Standartlarının Hazırlanması (0,5 mg/ml – 500 ppm)

20 ml hacimli balona 10 ± 0,01 mg etken madde olacak şekilde antibiyotik standardı tartıldı, balon çizgisine kadar alkali metanol ile tamamlandı. -20 °C' de ve karanlıkta saklandı.

İnternal Standart Çalışma Solüsyonu (10 ppm)

Norfloksasin ana stok standardından 10 ml'lik balon jojeye 100 µl konuldu, % 25 asetonitril ile hacmi 10 ml'ye tamamlandı.

Kinolon Miks Ara Stok Standart Solüsyonu (4 ppm)

İnternal standart dışındaki tüm 500 ppm stok standart solüsyonlarından 80 µl 10 ml lik balon jojeye konuldu. % 25 asetonitril ile 10 ml ye tamamlandı.

Kinolon Miks Çalışma Standart Solüsyonu (200 ppb)

4 ppm'lik kinolon miks ara stok standart solüsyonundan 500 µl 10 ml'lik balon jojeye konuldu. % 25 asetonitril ile 10 ml ye tamamlandı.

3.6 Ekstraksiyon

3.6.1. Test Numunesinin Ekstraksiyonu

1. Her partiden 6'şar tane yumurta blender kullanılarak homojenize edildi.

2. 50 ml'lik polipropilen santrifüj tüpüne yumurta örneğinden $2 \pm 0,05$ g alındı.
3. 10 ppm'lik internal standarttan (Norfloksasin) 100 μ l yükleme yapıldı ve birkaç saniye vortexlendi.
4. 15 dakika karanlık ortamda bekletildi.
5. 8 ml % 5 TCA eklendi.
6. 10 dakika vortexlendi.
7. 5 dakika 4°C de 14000 rpm'de santrifüj edildi.
8. Üst fazdaki sıvıdan bir enjektörle 2 ml çekilerek 0,45 μm RC filtreden süzülerek viallere alındı.
9. 20 μ l LC-MS/MS sistemine enjekte edildi.

3.6.2. Blank yumurta örneğinin ekstraksiyonu

Blank: Negatif olduğu bilinen yumurta numunesidir.

1. 50 ml'lik polipropilen santrifüj tüpüne blank yumurta numunesinden $2 \pm 0,05$ g alındı.
2. Ekstraksiyon işlemleri numuneye uygulandığı şekli ile aynen tekrarlandı.

3.6.3. Spike yumurta örneğinin ekstraksiyonu

Spike: Negatif olduğu bilinen yumurta numunesinin üzerine analiz edilen bileşiklerin analitik standartlarının ilave edilmesiyle elde edilen numunedir. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında kullanıldı.

Blank numuneden 4 ayrı 50 ml'lik polipropilen santrifüj tüpüne $2 \pm 0,05$ g alındı. Kontrol yumurta örneği içeren bu tüplere sırası ile 5, 10, 20 ve 40 ppb'lik yüklemeler yapıldı. Bunun için 200 ppb'lik kinolon miks çalışma standardından sırası ile 50, 100, 200 ve 400'er mikro litre yükleme yapıldı. Bir kaç saniye vortexlendi. 15 dakika karanlıkta bekletildi. Ekstraksiyon işlemleri numuneye uygulandığı şekli ile aynen tekrarlandı.

3.7. Cihaz Koşulları

Pompa Koşulları: Toplam akış: 0,8 ml/dakika, Mobil B Konsantrasyonu % 15, Basınç maksimum: 400 bar

Kolon Fırını Koşulları: Fırın Sıcaklığı: 35°C

Oto Örnekleyici Koşulları: Örnekleyici Sıcaklığı: 10 °C, Enjeksiyon Hacmi: 20 µl

Pompa Oranlama Programı: (Başlangıç Mobil Faz A=%85; Mobil Faz B:%15)

Pompa oranlama programı Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1: Pompa oranlama programı

Basamak	Akış Hızı (ml)	Zaman (dakika)	Mobil Faz A, (%) (%0,2 Formik asit içeren 0,1mM okzalik asit içeren su)	Mobil Faz B, (%) (% 0,1 Formik asit içeren Asetonitril)
1	0,8	0.00	85,0	15,0
2	0,8	5.00	70,0	30,0
3	0,8	8.00	10.0	90.0
4	0,8	10	10,0	90.0
5	0,8	10.2	15.00	85.0

Dedektör (MS/MS) Koşulları:

Gaz Sıcaklığı: 350 °C

Gaz Akış Hızı: 10 l/dakika

Nebulizer Basıncı. 45 psi

Sheat Gaz Sıcaklığı: 400 °C

Sheat Gaz Akış Hızı: 12 litre/dakika

Capillar voltaj: 4000 volt

MS method parametreleri çizelge 3.2 de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2: MS Segmentleri

Time segmentleri	Zaman (dakika)	Tarama Modu	İyonizasyon Modu	Valf pozisyonu	Delta EMV (volt)	Data kayıt	
1	0	MRM	ESI +	Atık	0		
2	2,5	MRM	ESI +	MS	300	Kaydet	
3	6,5	MRM	ESI +	MS	100	Kaydet	
4	9,5	MRM	ESI +	Atık	0		
Time Segment 2							
Bileşik	Ana İyon	MS1 Rezulüsyon	Product İyon	MS2 Rezulüsyon	Dwell Time	Fragmet Voltaj (volt)	Collision Enerji (volt)
Difloksasin	400	Wide	356	Wide	30	70	15
		Wide	299	Wide	30	70	35
Sarafloksasin	386	Wide	342	Wide	30	80	10
		Wide	299	Wide	30	80	25
Marbofloksasin	363	Wide	320	Wide	30	70	10
		Wide	72	Wide	30	70	20
Norfloksasin	320	Wide	276	Wide	30	60	10
Enrofloksasin	360	Wide	316	Wide	30	70	15
		Wide	245	Wide	30	70	25
Danofloksasin	358	Wide	314	Wide	30	60	15
		Wide	96	Wide	30	60	20
Siprofloksasin	332	Wide	314	Wide	30	60	15
		Wide	288	Wide	30	60	15
Time Segment 3							
Bileşik	Ana İyon	MS1 Rezulüsyon	Product İyon	MS2 Rezulüsyon	Dwell Time	Fragmet Voltaj (volt)	Collision Enerji (volt)
Flumekuine	262	Wide	244	Wide	30	80	15
		Wide	202	Wide	30	80	30
Oksolinik asit	262	Wide	244	Wide	30	80	10
		Wide	216	Wide	30	80	25
Nalidiksik asit	233	Wide	215	Wide	30	80	10
		Wide	187	Wide	30	80	20

3.8 Sonuçların Hesaplanması

3.8.1 Kalibrasyon eğrisinin oluşturulması

Yumurta örneklerindeki kinolon türevi antibiyotiklerin miktarlarının hesaplanabilmesi için 0 dahil 5, 10, 20, 40 µg/kg konsantrasyonunda 5 noktalı kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Belirtilen konsantrasyonları oluşturmak için blank numuneye sırasıyla 50, 100, 200, 400 µl 200 ppb kinolon miks standart çalışma solüsyonu ilave edildi. Hazırlanan yüklü numunelerin her birinden 20 µl LC-MS/MS sistemine enjekte edildi.

Yüklü numunelerden hesaplanan değerler, sistem tarafından koordineli olarak µg / kg olacak şekilde kaydedilmektedir. Kalibrasyon eğrisi, spike numunelerden elde edilen sonuçlar kullanılarak çizildi. Kalibrasyon eğrisinin lineer olduğu görüldü.

3.8.2 Numune sonuçlarının hesaplanması

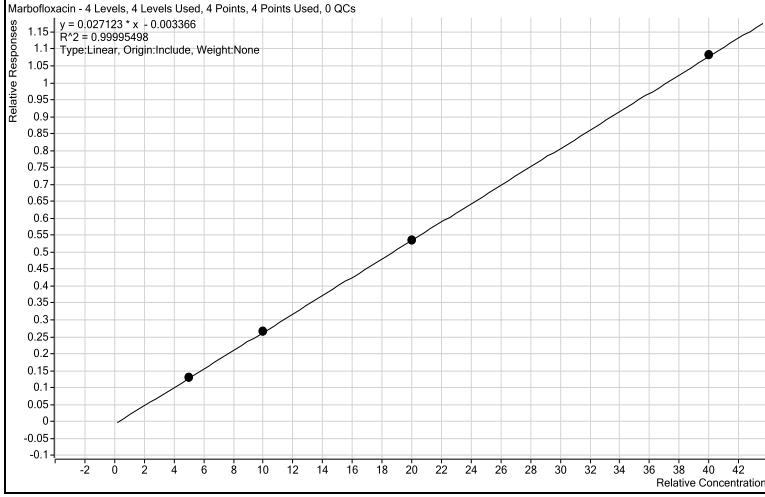
Her bir örneğe ait kinolon türevi antibiyotik kalıntısı µg/kg olarak kalibrasyon eğrisinden hesaplanmaktadır. Miktersal analiz programıyla (QQQ Quantitative analysis) yumurta örneklerine ait kromatogramların pik alan değerleri ile kalibrasyon eğrisini oluşturmak için daha önceden LC-MS/MS cihazına verilen yüklü numunelere ait kromatogramların pik alan değerleri karşılaştırılarak, ppb düzeyinde sonuçlar hesaplandı. Metot validasyonu sonucu hesaplanan ölçümleme limiti ve geri alım değerleri Çizelge 3.3'te gösterildi.

Çizelge 3.3: Metot validasyon sonuçları.

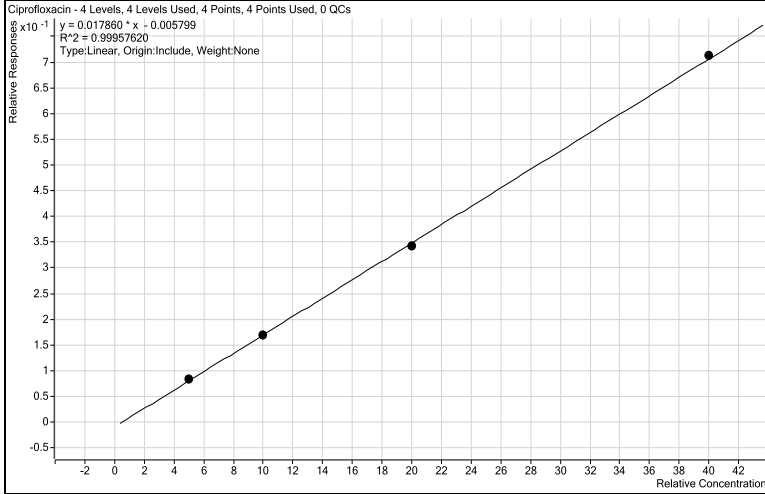
Bileşik	Ölçümleme limiti (µg/kg)	Geri Alım (%)
Marbofloksasin	3,6	101,7
Siprofloksasin	2,6	97,5
Danofloksasin	3,1	97,9
Enrofloksasin	4,5	101,4
Sarafloksasin	8,4	88,5
Difloksasin	8,6	93,3
Oksonilik asit	8,2	96,1
Nalidiksik asit	5,7	97,0
Flumekuini	5,9	95,3

4. BULGULAR

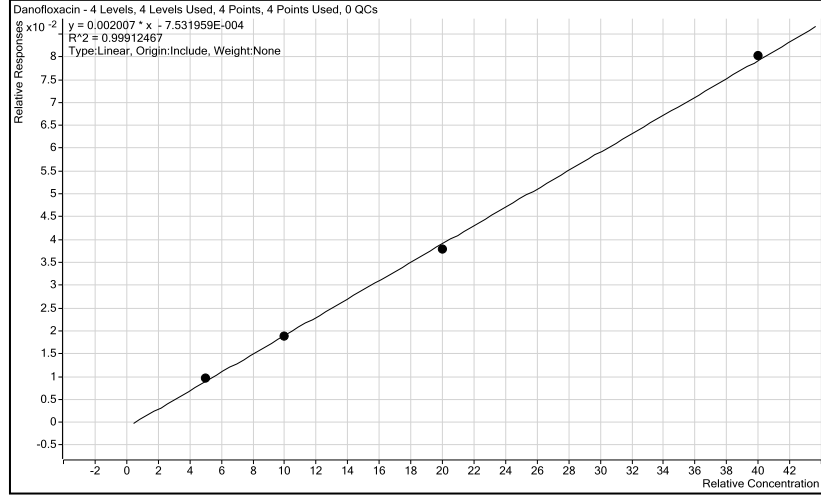
Marbofloxacin,, siprofloksasin, danofloksasin, enrofloksasin, sarafloksasin, difloksasin, oksolinik asit, nalidiksik asit, ve flumequin kalibrasyon eğrilerinin lineer olduğu görülmüştür ve her bir antibiyotiğe ait kalibrasyon eğrisi ayrı ayrı Şekil 4.1,2,3,4,5,6,7,8 ve 9’da gösterilmiştir.



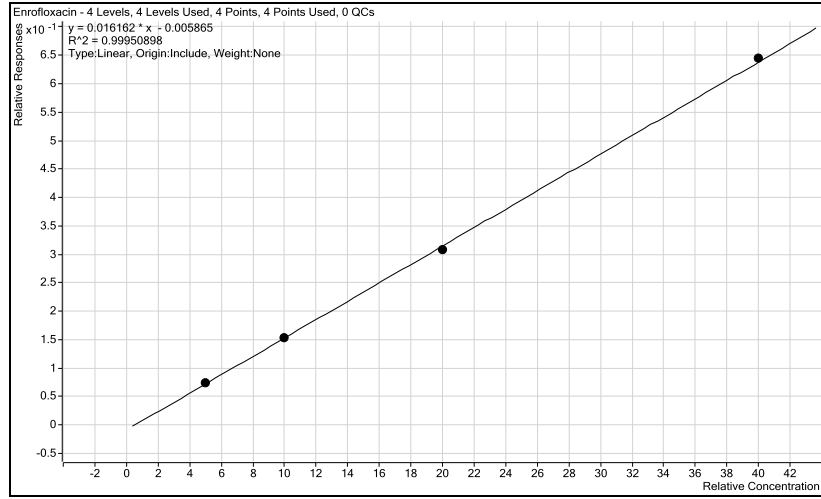
Şekil 4.1 :Marbofloxacin kalibrasyon eğrisi.



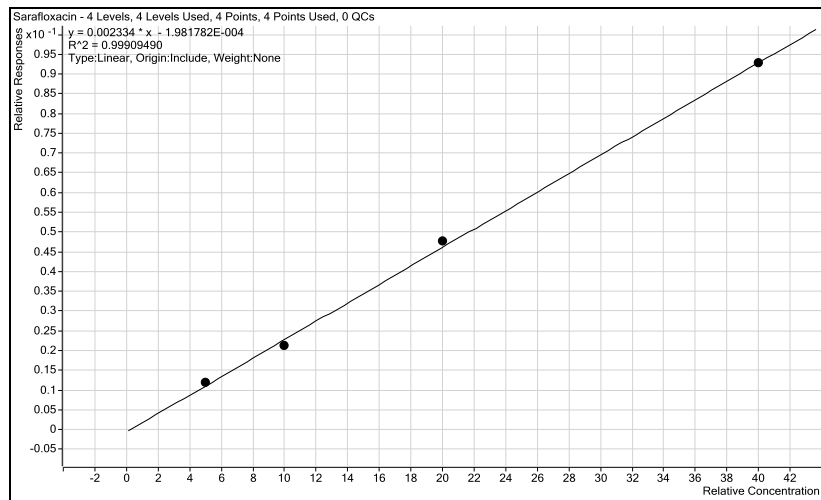
Şekil 4.2 : Siprofloksasin kalibrasyon eğrisi



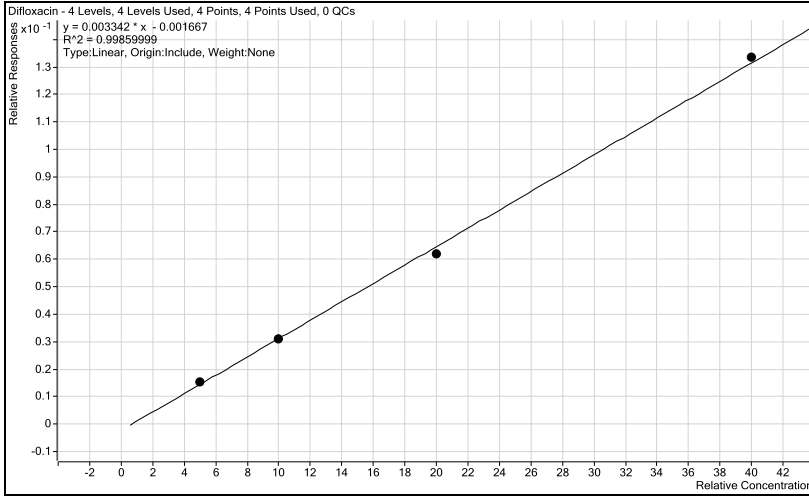
Şekil 4.3: Danofloksasin kalibrasyon eğrisi



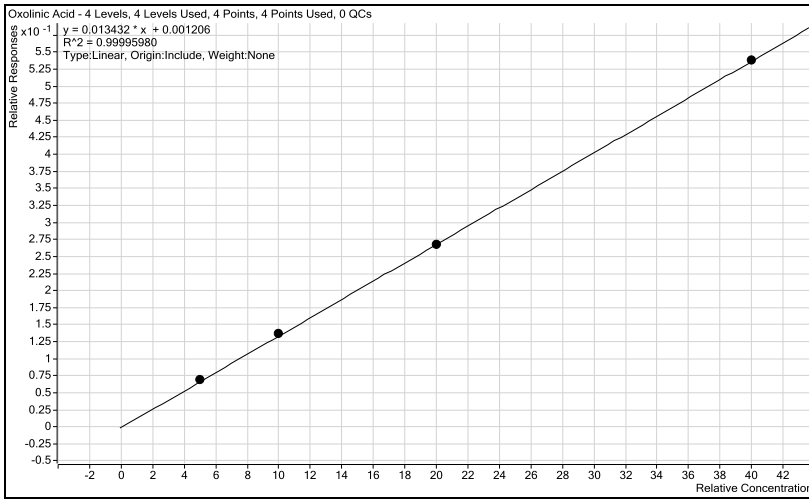
Şekil 4.4: Enrofloksasin kalibrasyon eğrisi



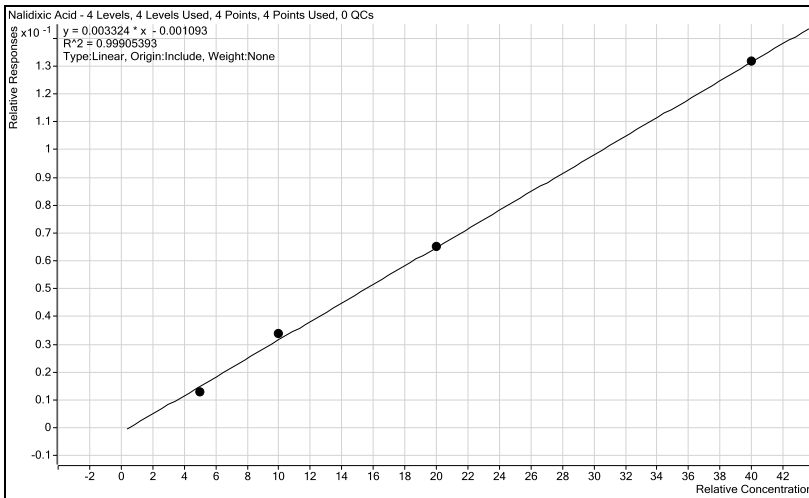
Şekil 4.5 : Sarofloksasin kalibrasyon eğrisi



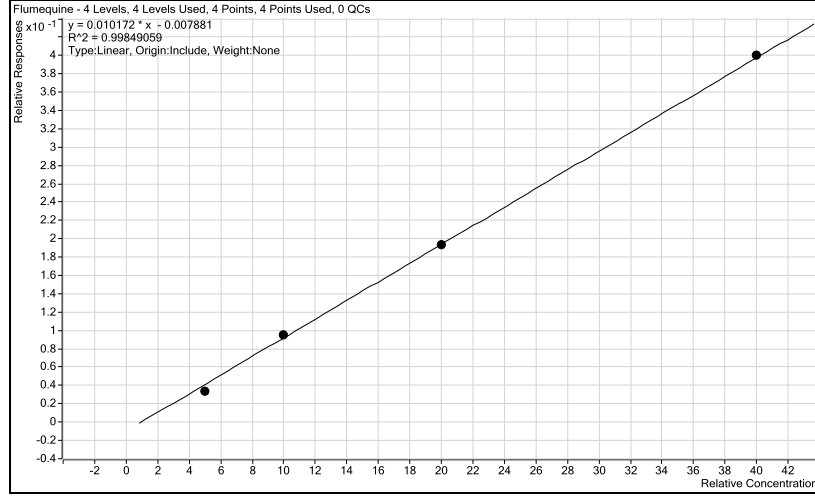
Şekil 4.6 : Diflofloksasin kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.7 : Oksonilik asit kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.8: Nalidiksik asit kalibrasyon eğrisi



Şekil : 4.9 Flumequin kalibrasyon eğrisi

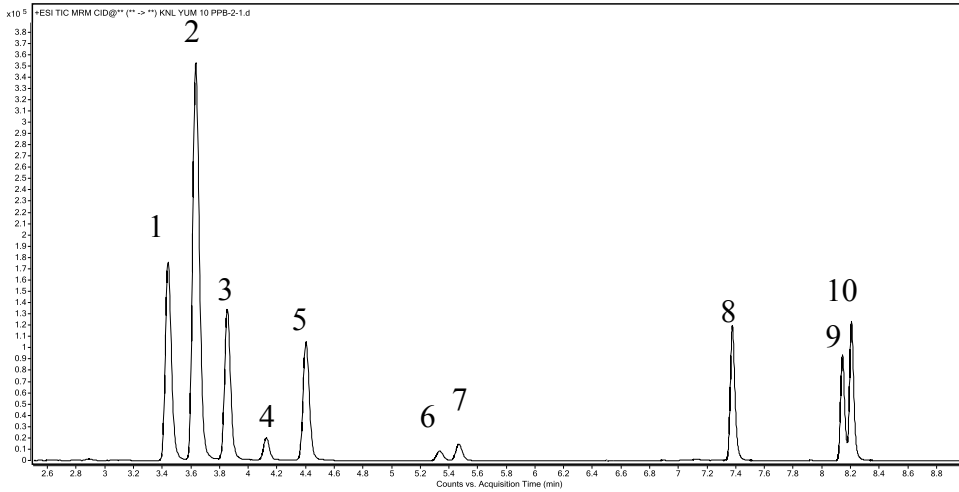
Çalışmadaki toplam 102 parti yumurtada, her bir partiden rastgele seçilen altı yumurta bir numune olarak değerlendirilmiştir. LC-MS/MS ile yapılan kantitatif analizlere göre, sadece dört partide, yani çalışılan tüm partilerin %3.9’unda kinolon grubu antibiyotik kalıntısı belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1: LC-MS/MS ile yapılan kalıntı analizi sonuçları

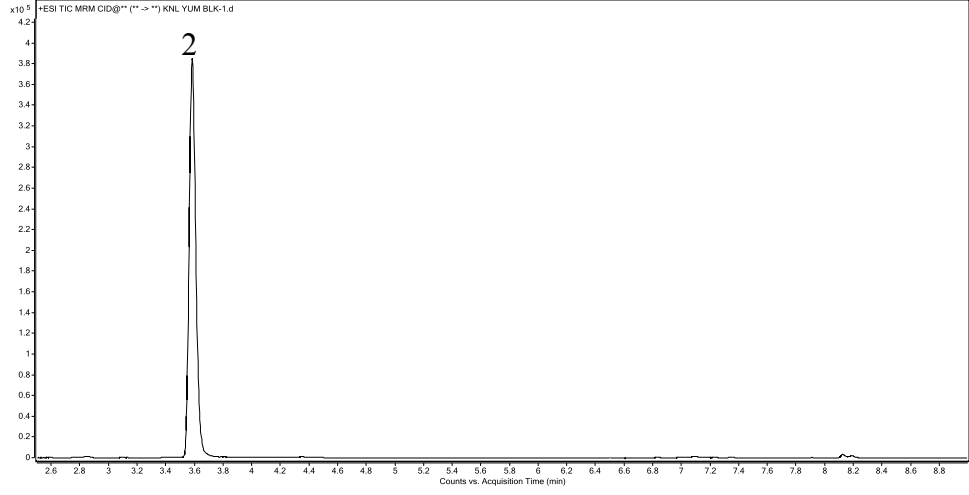
GRUPLAR	Çalışılan parti sayısı (A)	Antibiyotik tesbit edilen parti sayısı (B)	Pozitif Numune Oranı (B/A X100)	Tesbit edilen bileşikler ve miktarı (µg/kg)
Markette satılan çiftlik yumurtası	20	1	5	Enrofloksasin:141 Siprofloksasin:15
Pazarda satılan çiftlik yumurtası	30	1	3,3	Enrofloksasin:121 Siprofloksasin:15
Köy yumurtası adıyla satılan yumurta	32	1	3,1	Enrofloksasin: 1757 Siprofloksasin: 172
Organik yumurta	20	1	5	Enrofloksasin:429 Siprofloksasin:47
Toplam	102	4	3,9	

Markette satılan çiftlik yumurtası grubunda, altı yumurtanın karışımından oluşan bir adet numunede 141 µg/kg enrofloksasin, 15 µg/kg siprofloksasin tesbit edildi. Pazarda satılan çiftlik yumurtası grubunda da aynı şekilde hazırlanan bir adet numunede 121 µg/kg enrofloksasin, 15 µg/kg siprofloksasin tesbit edildi. Köy yumurtası adıyla satılan yumurta grubundaki bir adet numunede 1757 µg/kg enrofloksasin, 172 µg/kg siprofloksasin saptandı. Organik yumurta grubunda ise yine bir adet numunede 429 µg/kg enrofloksasin, 47 µg/kg siprofloksasin bulunduğu belirlendi. Çalışılan parti sayısına göre antibiyotik kalıntısı pozitif olan parti sayısı oranlaması yüzdesel değer olarak hesaplandığında; markette satılan çiftlik yumurtaları ile organik yumurtalarda, antibiyotik kalıntısı pozitif çıkan parti oranı %5, pazarda satılan çiftlik yumurtalarında %3,3, köy yumurtalarında ise %3,1 olmaktadır (Çizelge 4.1). Buna göre çalışılan tüm gruplarda antibiyotik kalıntısına rastlanmakla beraber gruplar arasında yüzdesel değer anlamında belirgin bir fark yoktur.

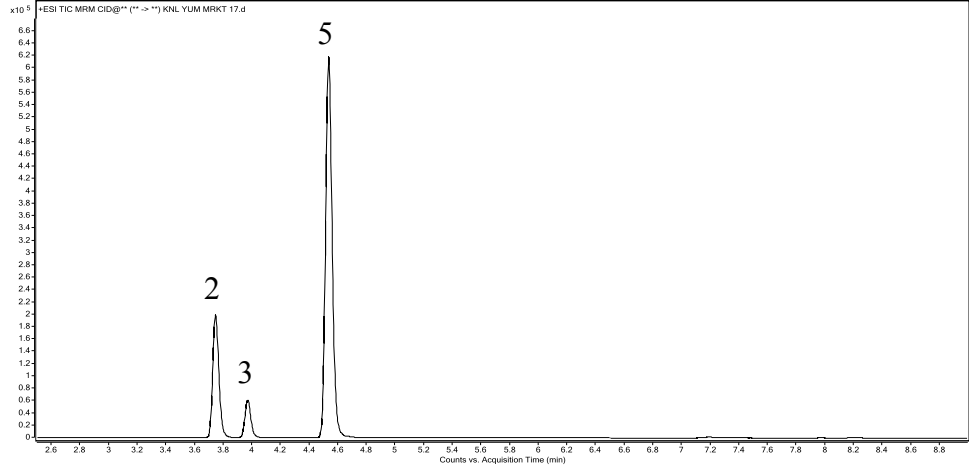
Blank, Spike ve Pozitif numunelerin kromatogramları Şekil 4.10-14'de verilmektedir.



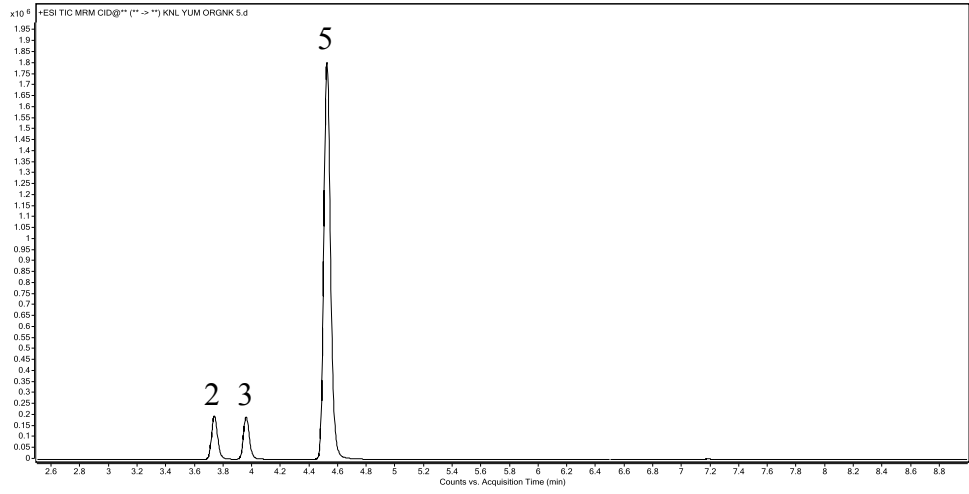
Şekil 4.10: 10 µg/kg spike kromatogramı (1: Marbofloksasin, 2: Norfloksasin, 3: Siprofloksasin, 4: Danofloksasin, 5:Enrofloksasin, 6: Sarafloksasin, 7: Difloksasin, 8: Oksonilik asit, 9: Nalidiksik asit 10: Flumequin)



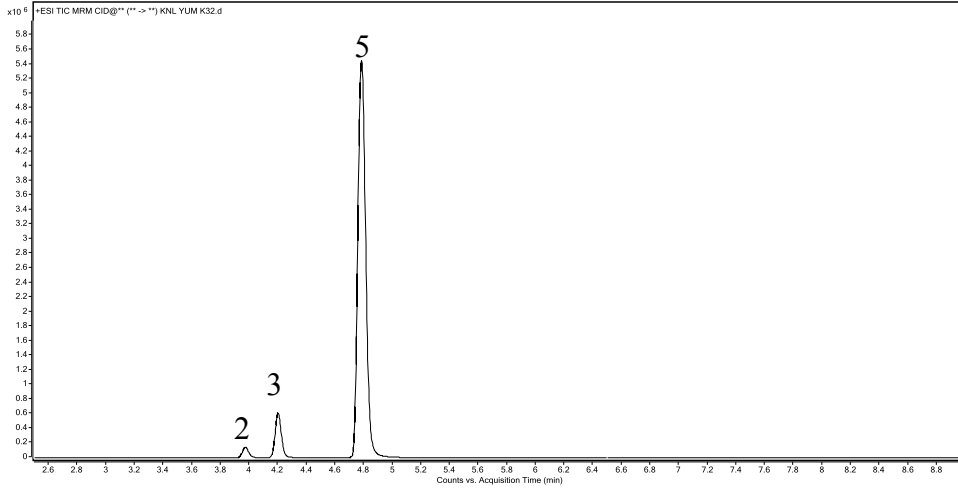
Şekil 4.11: Blank numune kromatogramı (2: Norfloksasin)



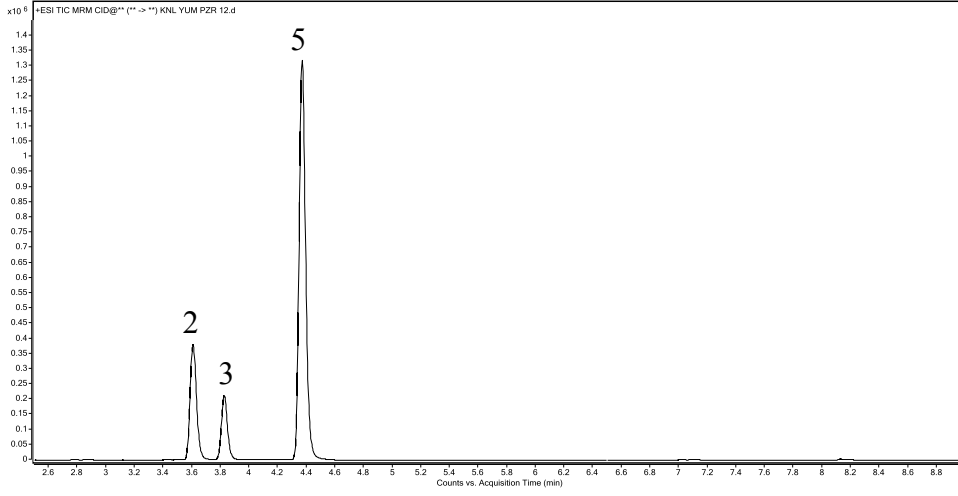
Şekil 4.12: Market 17 kodlu pozitif numunenin kromatogramı (2: Norfloksasin, 3: Siprofloksasin, 5:Enrofloksasin)



Şekil 4.13: Organik 5 kodlu pozitif numunenin kromatogramı (2: Norfloksasin, 3: Siprofloksasin, 5:Enrofloksasin)



Şekil 4.14: Köy 32 kodlu pozitif numunenin kromatogramı (2: Norfloksasin, 3: Siprofloksasin, 5:Enrofloksasin)



Şekil 4.15: Pazar 12 kodlu pozitif numunenin kromatogramı (2: Norfloksasin, 3: Siprofloksasin, 5:Enrofloksasin)

5. TARTIŞMA

Yumurta anne sütüyle birlikte en değerli protein kaynağıdır. Bu sebeple kahvaltı başta olmak üzere pek çok öğünde tüketilen ve pek çok gıdanın bileşimine giren yumurtanın sağlıklı bir şekilde elde edilmesi önem arz etmektedir. Hayvansal gıdalardaki antibiyotik kalıntıları, son zamanlarda üzerinde sıklıkla durulan konulardandır. Antibiyotik kalıntıları, gıda sanayinde kusurlu ürün oluşumuna, alerjiye, barsak florasının bozulmasına, direkt toksik etkilere ve dirençli bakterilerin oluşmasına neden olmaktadır. Ancak yine de, günümüz koşullarında hayvansal üretimde antibiyotiklerden vazgeçemeyeceğimiz de açıktır. Öyleyse bu ilaçların yasal mevzuat çerçevesinde kullanılmasının sağlanması gerekmektedir. Kinolonların kanatlı eti, kırmızı et, balık ve sütte belirli limitlerde bulunmasına izin verilmesine rağmen yumurtada bulunmasına izin verilmemektedir. Ülkemizde pek çok hayvansal gıdada olduğu gibi yumurtada da antibiyotik kalıntıları AB ile uyumlu olan ulusal kalıntı izleme planı dahilinde izlenmektedir. Bu çalışma daha yerel olması ve 4 farklı grup yumurtanın çalışılmasıyla bu plandan farklılık göstermektedir. Ayrıca numunelerin halka ulaştığı son nokta olan market, pazar ya da internetten satış yapılan sitelerden temin edilmiş olması da önemlidir.

Sudan'ın Khartoum eyaletinde, 2007-2008 yıllarında 335 kümeden alınan numunelerin mikrobiyal inhibisyon testleri sonucunda 203 kümeden elde edilen yumurtalarda antibiyotik kalıntısı tesbit edilmiştir (Sirdar et al., 2012). Suudi Arabistan'ın güney eyaletlerinde HPLC ile yapılan tetrasiklin grubu antibiyotiklerin taranması çalışmasında, yumurtaların % 60'ında antibiyotik kalıntısı bulunmuştur. % 14,4'ünde azami kalıntı seviyesinin üstünde kalıntı bulunmuştur (Al-Ghamdi et al., 2000). Nonga ve arkadaşları 2009 yılında Tanzania'nın Morogoro Belediyesi'nde ticari yumurtalarda antimikrobiyal kalıntı konusunda yaptıkları çalışmada Delvotest kiti ile 70 yumurtanın analizi sonucunda yumurtaların tamamının antibiyotik kalıntısı yönünden pozitif olduğunu göstermiştir. Nijerya'da disk difüzyon mikrobiyal inhibisyon testiyle yapılan bir çalışmada 200 yumurta analiz edilmiş, % 1 oranında antimikrobiyal kalıntısı tesbit edilmiştir (Kabir et al., 2004). Güney Afrika'nın Gauteng şehrinde yumurtalarda mikrobiyal inhibisyon testi kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda yumurtaların % 9,1 inde antimikrobiyal madde kalıntısı bulunmuştur (Jambalang 2011). Trinidad'da çiftliklerden elde edilen yumurtaların % 6,5'inin, marketlerden elde edilen yumurtaların % 16,1'inin, süpermarketlerden elde edilenlerin ise % 15'inin antibiyotik kalıntısı içerdiği Charm II cihazı ile

yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Adesiyun et al., 2005). Nijerya’da 900 yumurtanın mikrobiyal inhibisyon testiyle incelenmesi sonucunda 32 yumurtanın pozitif sonuç verdiği bildirilmiştir. Pozitif 32 yumurtadan da 10 tanesinin tetrasiklin yönünden pozitif olduğu sonucuna varılmıştır (Idowu et al., 2010).

Gana’nın Accra ve Kumasi isimli iki büyük şehrinde yapılan çalışmada 220 yumurta örneği incelenmiş, bunlardan 15 tanesinin (% 6,8) pozitif olduğu bildirilmiştir (Donkor et al., 2010). Bu çalışmalar bizim çalışmamızla karşılaştırılmaz. Çünkü bu çalışmalar tarama testleri ile yapılmıştır. Tarama testlerinden elde edilen sonuçlar kesin değildir ve hangi antibiyotik bileşiğinin bulunduğu konusunda bir fikir vermez.

Kore Cumhuriyeti’nin altı büyük şehrinde toplanan 120 yumurta numunesinin HPLC ile siprofloksasin, danofloksasin, enrofloksasin ve norfloksasin yönünden analizi sonucunda 3 adet numunede enrofloksasin tesbit edilmiştir (Cho et al., 2007). Her ne kadar 4 adet bileşik ve HPLC’de çalışılmış ise de, daha önceki yapılan çalışmalar arasında bizim çalışmamıza en yakın çalışma bu çalışmadır. Çalışılan numunelerin % 2,5’inde Enrofloksasin bulunmuş, bu da bizim sonuçlarımıza çok yakındır.

2010 yılı Avrupa Birliği kalıntı izleme programı sonuçlarına göre; Litvanya’da analiz edilen 40 yumurta numunesinin 3’ünde, Polonya’da 194 yumurta numunesinin 1’inde, Slovenya’da 57 yumurta numunesinin 1’inde enrofloksasin tesbit edilmiştir. Bu analizler sonucu toplam 11 yumurtanın B1 grubu denilen antibiyotik bileşiklerini içerdiği tesbit edilmiştir (Çizelge 5.1). Bu 11 numunenin beş tanesinin enrofloksasin içerdiği bildirilmiştir (Anonin, 2010b).

Avrupa Birliği ülkelerinde 2011 yılında yapılan kalıntı izleme çalışmalarına göre Letonya’da 140 numunenin analizi sonucunda 1 numunenin, Polonya’da da 198 numuneden 1 numunenin Enrofloksasin kalıntısı içerdiği tesbit edilmiştir. Belçika’da 65 numuneden 2’sinde bir diğer kinolon grubu antibiyotik olan flumequin kalıntısı tesbit edilmiştir. (Çizelge 5.2). 2011 yılında Toplam 5 adet antibiyotik kalıntısı içeren numunenin dört tanesini kinolon grubu antibiyotikler oluşturmaktadır. Geriye kalan bir numunede de tetrasiklin grubu üyesi bir antibiyotik olan doksisisiklin kalıntısı bulunmuştur (Anonim, 2011b).

Avrupa Birliği kalıntı izleme programı sonuçlarına göre; 2010 ve 2011 yılı toplamında toplam 16 yumurta numunesinde antibiyotik kalıntısı bulunmuştur. Bunlardan 9 tanesinde kinolon kalıntıları (7 Enrofloksasin, 2 flumequin)

bulunmuştur. Bu rakamlar kinolonların yumurtacı tavuklarda ne kadar sık kullanıldığını göstermektedir. Kinolonlar içerisinde de en çok kullanılan bileşiğin enrofloksasin olduğu açıkça görülmektedir. Mevcut çalışmada dört numunede enrofloksasin tesbit edilmiştir. Bu sonuç Avrupa Birliği sonuçları ile uyumludur. Fakat bu çalışmada flumekuini tesbit edilmemiştir.

Çizelge 5.1: 2010 yılı Avrupa Birliği kalıntı izleme programı sonuçları (Anonim, 2010b)

Kategori	Kalıntı grubu	Maddeler	Ülke	Analiz edilen numune sayısı	Analizler sonucu insan tüketimine uygun olmayan numune sonuçları	
					N	%
Yumurta	B1	Enrofloksasin	Litvanya	40	3	7,5
Yumurta	B1	Enrofloksasin	Polonya	194	1	0,52
Yumurta	B1	Enrofloksasin	Slovenya	57	1	1,8
Yumurta	B1	Doksisiklin	İtalya	46	1	2,2
Yumurta	B1	Doksisiklin	Polonya	194	1	0,52
Yumurta	B1	Doksisiklin	Portekiz	142	2	1,4
Yumurta	B1	Sülfadiazin	İspanya	109	1	0,92
Yumurta	B1	Sülfadimetoksin	Fransa	204	1	0,49

Çizelge 5.2: 2011 yılı Avrupa Birliği Kalıntı İzleme Sonuçları (Anonim, 2011b).

Kategori	Kalıntı grubu	Maddeler	Ülke	Analiz edilen numune sayısı	Analizler sonucu insan tüketimine uygun olmayan numune sonuçları	
					N	%
Yumurta	B1	Doksisiklin	Polonya	198	1	0,5
Yumurta	B1	Enrofloksasin	Letonya	140	1	0,7
Yumurta	B1	Enrofloksasin	Polonya	198	1	0,5
Yumurta	B1	Flumekuini	Belçika	65	2	3,1

Litvanya’da 2010 yılında 40 numunenin 3’ünde (% 7,5) enrofloksasin kalıntısı bulunmuştur. Bizim çalışmamızda 102 numunenin 4 tanesinde (% 3,9) enrofloksasin tesbit edilmiştir. Bu durumda Litvanya’da tesbit edilen antibiyotik kalıntılı yumurta oranı bizim çalışmamızda tesbit edilen orandan daha yüksektir. Fakat diğer ülkelerde tesbit edilen kalıntılı yumurta oranı bizim çalışmamızla tesbit edilen kalıntılı yumurta oranından daha azdır. Sunulan çalışmada, örneklenen partiler arasında markette satılan çiftlik yumurtaları ile organik

yumurtalarda %5, pazarda satılan çiftlik yumurtalarında %3,3, köy yumurtalarında ise %3,1 oranında bulunan enrofloksasin ve siprofloksasin kalıntısının, gruplara göre çok farklı olmadığı anlaşılmaktadır. Ancak, köy yumurtası adıyla satılan yumurtada enrofloksasin ve siprofloksasin kalıntısının bulunması şaşırtıcıdır.

Bu ilginç durum iki şekilde gerçekleşmiş olabilir: Birincisi, bu yumurtalar gerçekten köy yumurtası değildir, daha fazla para kazanmak amacıyla entansif olarak üretilmiş ve köy yumurtası diye satılmıştır. İkinci olarak da, köylüler eksik ve/veya yanlış bilgilerle tavuklarına, yumurtacı tavuklarda kullanılmasına izin verilmeyen ilacı uygulamış olabilirler.

20 organik yumurta numunesinden bir tanesinde enrofloksasin ve siprofloksasin kalıntısına rastlanılmıştır. Tüketicilerde organik üretimde hiçbir şekilde kimyasal ilacın kullanılmayacağı algısı vardır. Ancak doğal tedavi yöntemlerinin başarılı olmadığı durumlarda, hayvanların acı çekmesinin önlenmesi için, yetkili kurumun izniyle ve gerekli kayıtlar tutularak antibiyotik kullanılabilir. Ancak yaşam süresi 1 yıldan fazla olan hayvanlar için 3 defayı geçemez. Geçerse hayvanlar geçiş sürecine alınır. Bu sürede elde edilen ürünler organik ürün olarak satılamaz (Anonim, 2010a). Bu çalışmada çalışılan organik yumurtada hem yumurtacı tavuklar için ruhsatlandırılmamış ilaç kullanılmış, hem de ilaç kalıntı arınma süresi beklenilmemiştir.

Kalıntı içeren yumurtaların tamamında enrofloksasin ve siprofloksasin bileşiklerine ait kalıntılara rastlanmıştır. Bu 2 bileşiğin aynı numunelerde bulunmasının nedeni siprofloksasinin enrofloksasinin metaboliti olmasındandır. Bu yumurtaların elde edildiği tavuklara enrofloksasin antibiyotiği uygulanmış, enrofloksasin ise tavuk vücudunda siprofloksasin ve başka metabolitlere dönüşmüştür.

Yumurtalarda enrofloksasin kalıntılarının bulunması, enrofloksasinin yumurtalardan atılım süresinin uzun olmasından kaynaklanabilir. Yumurtacı tavuklarda kullanılmasına izin verilen maddeler için gerekli bekleme süreleri o ilacın prospektüsünde yer alır. Ancak enrofloksasinin yumurtacı tavuklarda kullanılmasına izin verilmediğinden atılım süresinin ne kadar olduğu belirtilmemekte ve ilacın yumurtacı tavuklarda kullanılmaması konusunda uyarılar bulunmaktadır. Ancak bir ilacın diğer ilaçlardan daha iyi tedavi edici özelliğinin bulunması ve hayvanların yaşamının bu ilacın kullanılmasına bağlı olduğu durumlarda ruhsatlandırılmamış olan ilaç kullanılabilir (yasaklı

maddeler hariç). Ancak bu durumda ilacın atılım süresinin iyi hesaplanması gerekmektedir. Benzer şekilde yumurta üreticileri enrofloksasini hastalıklara karşı etkili olması sebebiyle kullanmakta ve ilaç kalıntılarının tamamen atılmasını beklemeden elde edilen ürünleri piyasaya sürmektedir. Yapılan çalışmalarda yumurtanın enrofloksasinden arınma süresinin 4 ila 18 gün arasında değiştiği görülmektedir.

Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı hayvansal gıdalardaki kalıntılar ile mücadele etmektedir. Ülkemizde bu konuda ilerlemeler olmuş, bazı AB ülkelerinden daha iyi duruma gelinmiştir. Üreticilerin bilinçlendirilmesi ve denetimlerin artırılmasıyla kalıntı sorununun gelecek yıllarda çözüleceği düşünülmektedir.

6. ÖNERİLER

Üreticiler, ilaç kalıntıları konusunda bilinçlendirilmelidir. Üreticiler, kullandıkları ilaçların hayvansal ürünlere geçtiği, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın bu ürünlerden numune alıp laboratuvarlara gönderdiği, bu ilaçların laboratuvarlarca tesbit edilebildiği ve kalıntı bulunan ürünleri üretenlere cezalar verildiği konularında bilinçlendirilmelidirler.

Üreticiler ruhsatlı ilaçları ruhsat verildiği hayvan türü ve yetiştirilme amacına uygun olarak kullanılmalıdır. Çünkü ruhsatsız ilaçların, ilaç kalıntı arınma sürelerini bilmek güçtür. Ayrıca gelişen analiz teknikleri sayesinde çok küçük miktardaki kalıntılar tesbit edilebilmekte, ruhsatsız ilaçlar için maksimum kalıntı limiti olmadığından, çok düşük miktardaki kalıntılar dahi ceza sebebi olmaktadır. Bunun için en iyi çözüm yumurtacı tavuklar için ruhsatlandırılmış antibiyotikleri kullanmaktır.

İlaç uygulanan hayvanlardan ürün elde etmek için ilaç kalıntı atılım sürelerinin bitmesi beklenmelidir.

Günümüzde internet alışverişleri yaygınlaştığından, gıda ürünleri satan internet siteleri daha sıkı denetlenmelidir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adesiyun A., Offiah, N., Lashley, V., Seepersadsingh, N., Rodrigo, S. and Georges, K.,** 2005, Prevalence of antimicrobial residues in table eggs in Trinidad, *Journal of Food Protection* 68, 1501–1505. PMID:16013396
- Ahmed, A.A., El-Leboudy, A.A., Nazem, A.M. and Amer, A.A.,**1998, Residues of quinolone group of antibiotics in table eggs. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 39, 258–267p.
- Al-Ghamdi, M., Al-Mustafa, Z., El-morsy, F., Al-Faky, A., Haider, I. and Essa, H.,** 2000, ‘Residues of tetracycline compounds in poultry products in the eastern province of Saudi Arabia’, *Public Health* 114, 300–304.
- Anonim,** 2007, 2007-18 sayılı Ruhsatsız ilaç kullanımı ve yasaklanmış maddeler adlı genelge. Yayınlanma tarihi:23.02.2007
- Anonim,** 2010a, Organik tarımın esasları ve uygulanmasına ilişkin yönetmelik *Resmî Gazete Sayı: 27676, Tarih: 18 Ağustos 2010*
- Anononim,** 2010b, Commission staff working document on the implementation of national residue monitoring plans in the member states in 2010, European Commission
- Anonim,** 2011a, Türk gıda kodeksi hayvansal gıdalarda bulunabilecek veteriner ilaçlarına ait farmakolojik aktif maddelerin sınıflandırılması ve maksimum kalıntı limitlerinin belirlenmesi hakkında tebliğ (Tebliğ No: 2011/20) Sayı : 27919 (Mükerrer) Tarih: 29 Nisan 2011 Cuma
- Anononim,** 2011b, commission staff working document on the implementation of national residue monitoring plans in the member states in 2011, European Commission
- Anonim ,** 2014, yumurtacı kanatlı hayvanlarda kullanılan ilaç etkin maddeleri ve ilaç kalıntı arınma süreleri listesi, Kıbrıs Türk Hekimler Birliği, (www.ktvhb.net/ktvhb_v1tr/ds/assets/files/veteriner-ilac-kalinti.xls) Erişim tarihi:12.06.2014
- Botsoglou, N.A. and Fletouris, D.J.,** 2001, Drug Residues in Food. *Marcel Dekker, Inc., New York, NY.*
- Can H. Y. ve Çelik T. H.,** 2008, Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı ve kalıntı riski *Vet Hekim Der Derg*, 79(4): 35-40s,

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Castanon, J.I.R.**, 2007, History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science*, 86, 2466–2471p.
- Chang, C., Wang, W. and Tsai, C.**, 2010 Simultaneous determination of 18 quinolone residues in marine and livestock products by liquid chromatography/ tandem mass spectrometry, *Journal of Food and Drug Analysis*, 18, 2, 2010, 87-97p
- Cho H.J., El-Aty A. M. A., Goudah A., Sung G. M., Yi H., Seo D.C., Kim J.S., Shim J.H., Jeong J. Y., Soon-Ho Lee S.H. and Shin H.C.**, 2007, Monitoring of fluoroquinolone residual levels in chicken eggs by microbiological assay and confirmation by liquid chromatography, *Biomed. Chromatogr.* 22: 92–99p
- Christ, W.** 1990, Central nervous system toxicity of quinolones: human and animal findings. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 26, 219–225p.
- Companyo, R., Granados, M., Guiteras, J. and Prat, M.D.**, 2009, Antibiotics in food: legislation and validation of analytical methodologies, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395, 877–891p.
- Çelebi, Ş. ve Karaca, H.**, 2006, Yumurtanın besin değeri, kolesterol içeriği ve yumurtayı n-3 yağ asitleri bakımından zenginleştirmeye yönelik çalışmalar, *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 37 (2), 257-265s,
- Çelik, Y. P. ve Büğet, B.**, 2007, Geçmişten günümüze antibiyotikler: genel bir bakış, <http://www.ankemdernegi.org.tr/?dp=sizdengelenler&yaziid=66> (Erişim Tarihi:13.11.2012)
- Çopur, G., Duru, M. ve Şahin, A.**, 2004, Düşük kolesterolü yumurta üretimi yönündeyapılan çalışmalar. 4. *Ulusal Zootekni Bilim Kongresi*, 01-03 Eylül 2004, Isparta.
- Davidson, M.**, 2001, Information on adverse drug reactions in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219, 1676p.
- Di Corcia, A. and Nazari, M.**, 2002. Liquid chromatographic-mass spectrometric methods for analyzing antibiotic and antibacterial agents in animal food products. *Journal of Chromatography A*, 974: 53-89p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Donkor, E., S, Newman, M. J., Tay, S. C. K., Dayie, N. T. K. D., Bannerman, E. and Taiwo, M. O.,** 2010, Investigation into the risk of exposure to antibiotic residues contaminating meat and egg in Ghana, *Food Control* 22 (2011) 869-873p
- Donoghue, D.J.,** 2003, Antibiotic residues in poultry tissues and eggs: human health concerns?, *Poultry Science*, 82, 618–621p.
- Donoghue, D.J. and Schneider, M.J.,** 2003, Comparison between a bioassay and liquid chromatography-fluorescence-mass spectrometry for the determination of incurred enrofloxacin in whole eggs. *Journal of AOAC International*, 86, 669–674p.
- Goetting V., Lee A. and Tell L. A.,** 2011, Pharmacokinetics of veterinary drugs in laying hens and residues in eggs: a review of the literature, *J. vet. Pharmacol. Therap.* doi: 10.1111/j.1365-2885.2011.01287.x
- Hasipek, S. ve Aktaş, N.,** 1997. Türkiye’deki tavuk ürünlerinin insan beslenmesindeki önemi. *Uluslararası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı*, 14-17 Mayıs 1997-İstanbul.
- Herranz, S., Moreno, Bondi, M.C. and Marazuela, M.D.,** 2007, Development of a new sample pretreatment procedure based on pressurized liquid extraction for the determination of fluoroquinolone residues in table eggs. *Journal of Chromatography A*, 1140, 63–70p.
- Hooper, D.C. and Strahilevitz, J.,** 2010, Quinolones, “Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): Mandell, Douglas, and Bennett’s Principles and Practices of Infectious Diseases, 7 ed. 487-510p,
- Ibrahim I. G.,** 2006, Enrofloksasinin etlik civciv ve piliçlerde eklemlere yönelik etkilerinin histopatolojik ve biyokimyasal parametreler ile değerlendirilmesi *Doktora tezi*, Ankara Üniversitesi.
- Idowu, F., Junaid, K., Paul, Ab., Gabriel O, and Paul, Ak.,** 2010, Antimicrobial screening of commercial eggs and determination of tetracycline residues using two microbial methods. *International Journal of Poultry Science* 9 (10): 959-962p
- Jambalang, A.,** 2011, The development and validation of a bacteriological screening test for antimicrobial residues in eggs, MSc Dissertation, Dept. of Tropical Diseases, University of Pretoria.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kabir, J., Umoh, V.J., Audu-Okoh, E., Umoh, J. U. and Kwaga, J. K. P.,** 2004, Veterinary drug use in poultry farms and determination of antimicrobial drug residues in commercial eggs and slaughtered chicken in Kaduna State, Nigeria, *Food Control* 15, 99–105p.
- Lolo, M., Pedreira, S., Fente, C., Vazquez, B.I., Franco, C.M. and Cepeda, A.,** 2005, Study of enrofloxacin depletion in the eggs of laying hens using diphasic dialysis extraction / purification and determinative HPLC-MS analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2849–2852p.
- Maxwell, R.J., Cohen, E. and Donoghue, D.J.,** 1999, Determination of sarafloxacin residues in fortified and incurred eggs using on-line microdialysis and HPLC programmable fluorescence detection, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1563–1567p.
- Nazik, H. ve Öngen, B.,** 2010. Türkiye’de plazmit aracılı kinolon direnci. *ANKEM Derg* 2010;24(1):46-54s
- Nonga, H.E., Simon, C., Karimuribo, E. D. and Mdegela, R.H.,** 2009, ‘Assessment of antimicrobial usage and residues in commercial chicken eggs from small holder poultry keepers in Morogoro Municipality, Tanzania’, *Zoonoses and Public health* 57, 339–344p.
- Phillips, I., Casewell, M., Cox, T., De Groot, B., Friis, C., Jones, R., Nightingale, C., Preston, R. and Waddell, J.,** 2004. does the use of the antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *Journal of the Antimicrobial Chemotherapy*, 53: 28-52p.
- Roudaut, B.,**1998, Elimination of oxolinic acid in eggs after oral treatment of laying hens. *British Poultry Science*, 39, 47–52p.
- Riberzani, A., Fedrizzi, G. and Espositi, S.,**1993. Presence of flumequine in eggs: experimental results of a simulated field trial. In EuroResidue II. Eds Haagsma, N., Ruiter, A. & Czedik-Eysenberg, P.B., pp. 576–580p. Veldhoven, the Netherlands.
- Rice, L.B. and Bonomo, R.A.,** 2007, Mechanisms of resistance to antibacterial agents, “Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds): *Manual of Clinical Microbiology*, 9 ed. 1114-45s, ASM Press, Washington .

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Riker Research Laboratories**, 1972b, Range-finding studies of R-802 (flumequine) in mice, rats, guinea-pigs, and dogs.
- Ruiz, J.**, 2003, Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection, *J Antimicrob Chemother* 51(5):1109-17p.
- Robicsek, A., Jacoby, G.A., and Hooper. D.C.**, 2006, The world-wide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance, *Lancet Infect Dis* 6(10):629-40p.
- Sackey, B. A., Mensah, P., Collison, E., Sakyi and Dawson, E.**, 2001, Campylobacter, Salmonella, Shigella and *Escherichia coli* in live and dressed poultry from metropolitan, Accra. *Int. J. Food Microbiol.*, 71, 21-28p.
- Shaikh, B. and Chu, P.S.**,2000, Distribution and depletion of 14C-residue of some selected poultry drugs in egg albumen and yolk. In Euroresidue IV. Eds van Ginkel, L.A. & Ruiter, A., pp. 1018–1023p. Veldhoven, the Netherlands.
- Sirdar, M. M., , Picard, J., Bisschop, S., Jambalang, A. R. and Gummow, B.**, 2012, A survey of antimicrobial residues in table eggs in Khartoum State, Sudan, 2007–2008 *Journal of Veterinary Research* 79(1), 360- 9 p
- Xie, K., Zhang, J., Gong, D., Wang, Z., Chen, G. and Sun, S.**,2005, Elimination rule on residues of ciprofloxacin in eggs of laying hens. *Journal of Yangzhou University, Agricultural and Life Sciences Edition*, 26, 23–26p.
- Verdon, E., Couedor, P., Roudaut, B. and Sandérs, P.**, 2005, Multiresidue method for simultaneous determination of ten quinolone antibacterial residues inmultimatrix/multispecies animal tissues by liquid chromatography with fluorescence detection: single laboratory validation study, *Journal Of AOAC International* 88, 4, 1179-92p
- Woodward K.N.**, 2009 *Veterinary Pharmacovigilance Adverse Reactions to Veterinary Medicinal Products* page:727-729p
- WHO**, 1995, The forty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)
- WHO**, 1997, The forty-eighth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- WHO**, 2011, World Health Day 2011 – Antibiotic resistance: No action today, no cure tomorrow <http://www.euro.who.int/en/who-we-are/whd/past-themes-of-world-health-day/world-health-day-2011-antibiotic-resistance-no-action-today,-no-cure-tomorrow> Erişim tarihi:02.10.2012
- Yang, G.X., Dong, A.G., Zeng, Z.L., Huang, X.H. and Chen, Z.L.**, 2006, Study of danofloxacin depletion in eggs of laying hens after oral administration. International Journal of Antimicrobial Agents, 28, 128–131p.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Manisa’ da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Manisa’da tamamladıktan sonra lise öğrenimine Ankara’da Ankara Laborant Meslek Lisesi’nde devam etti. Yüksek öğrenimini 2001-2003 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tıbbi Laboratuvar Bölümü ve 2004-2008 yılları arasında Celal Bayar Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde tamamladı. 2003 yılından itibaren Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’na bağlı Bornova Veteriner Kontrol Enstitüsünde çalışmakta olup yabancı dili İngilizcedir.