



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ
ANABİLİM DALI



**BURSA'DA SATIŞA SUNULAN DANA VE PİLİÇ ETLERİNDE
FARKLI GRUP ANABOLİZAN VE ANTİMİKROBİYAL
KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI**

Ayşe Sena KILIÇ

(Yüksek Lisans Tezi)

BURSA-2017

Ayşe Sena KILIÇ

FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ

2017



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ
ANABİLİM DALI



**BURSA'DA SATIŞA SUNULAN DANA VE PİLİÇ ETLERİNDE
FARKLI GRUP ANABOLİZAN VE ANTİMİKROBİYAL
KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI**

Ayşe Sena KILIÇ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DANIŞMAN:

Prof. Dr. Hasan Hüseyin ORUÇ

BURSA-2017

**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum

“Bursa’da satışa sunulan dana ve piliç etlerinde farklı grup anabolizan ve antimikrobiyal kalıntılarının araştırılması” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.



Ayşe Sena KILIÇ
15.09.2017



KABUL ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Ayşe Sena KILIÇ tarafından hazırlanan "Bursa'da satışa sunulan dana ve piliç etlerinde farklı grup anabolizan ve antimikrobiyal kalıntılarının araştırılması" konulu Yüksek Lisans tezi 15/09/2017 günü, 11:00-12:30 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

<u>Adı-Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı. Prof. Dr. Hasan Hüseyin ORUÇ	
Üye Prof. Dr. Songül SONAL	
Üye Prof. Dr. Kadir SERVİ	
Üye	
Üye	

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı toplantısında alınan numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Gülşah ÇEÇENER
Enstitü Müdürü

III

TEZ KONTROL BEYAN FORMU

11.08.2017

Adı Soyadı: Ayşe Sena KILIÇ

Anabilim Dalı: Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Tez Konusu: Bursa'da Satışa Sunulan Dana ve Piliç Etlerinde Farklı Grup Anabolizan ve Antimikrobiyal Kalıntılarının Araştırılması

ÖZELLİKLER	UYGUNDUR	UYGUN DEĞİLDİR	AÇIKLAMA
Tezin Boyutları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

DANIŞMAN ONAYI

Prof. Dr. Hasan Hüseyin ORUÇ

İmza:



İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYANI	II
KABUL ONAY	III
TEZ KONTROL BEYAN FORMU	IV
İÇİNDEKİLER	V
TÜRKÇE ÖZET	VII
ABSTRACT	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Veteriner Hekimliğinde Kullanılan Antibiyotik ve Anabolik Etkili Maddelerin Tanımı	7
2.2. Antibiyotik ve Gelişmeyi Hızlandırıcı Ajanların Gıda Değeri Olan Hayvanlarda Amaç Dışı Kullanımı	9
2.3. Kalıntı Nedir ve İlaç Kalıntılarının İstenmeyen Etkileri	11
2.3.1. Kalıntı Nedir?	11
2.3.2. İlaç Kalıntılarının İstenmeyen Etkileri	14
2.3.2.1. Aşırı Duyarlılık ve Alerjik Reaksiyonlar	14
2.3.2.2. Gıda Endüstrisinde Starter Kültürlerin İnhibisyonu	15
2.3.2.3. Karsinojenik Etki	15
2.3.2.4. Dirençli Suş Oluşumu	16
2.3.2.5. Gastrointestinal Mikrofloranın Değişmesi	18
2.3.2.6. Seksüel Gelişim ve Endokrin Sistem Üzerine Olumsuz Etkileri	18
2.3.2.7. Diğer Olumsuz Etkiler	18
2.4. Analizi Yapılan Antibiyotik ve Anabolik Madde Gruplarının Sınıflandırılması	20
2.4.1. Antibiyotik Gruplarının Sınıflandırılması	20
2.4.1.1. Sefalosporinler	20
2.4.1.2. Kinolonlar (Florokinolonlar)	21
2.4.1.3. Aminoglikozidler	22
2.4.1.4. Makrolidler	22
2.4.1.5. Tetrasiklinler	23
2.4.1.6. Fenikoller	24
2.4.2. Gelişmeyi Hızlandırıcı Ajan Olarak Kullanılan Anabolik Madde Grupları	25
2.4.2.1. Doğal (Endojen) Hormonlar	25
2.4.2.2. Sentetik Anabolik Etkili Hormon ve Benzeri Maddeler	26
2.4.2.2.1. Sentetik Steroidler	26
2.4.2.2.1.1. Boldenon	26
2.4.2.2.1.2. Nandrolon	26
2.4.2.2.1.3. Stanozolol	26
2.4.2.2.1.4. Trenbolon	27
2.4.2.2.2. Non-Steroidal Maddeler	27
2.4.2.2.2.1. Beta Agonistler	27
2.4.2.2.2.1.1. Raktopamin	28
2.4.2.2.2.2. Glukokortikoidler	29

2.4.2.2.2.3. Stilbenler	29
2.4.2.2.2.4. Zeranol	30
2.5. Kalıntı Kontrolü İçin Alınan Önlemler, Yasal Mevzuatlar	30
2.6. Antimikrobiyal ve Anabolik Madde Analizlerinde Kullanılan Yöntemler	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM	38
3.1. Gereç	38
3.1.1. Numunelerin Toplanması	38
3.1.2. Analizlerde Kullanılan Kitler ile Kimyasal ve Çözeltiler	38
3.1.2.1.GPMMS Analiz Prosedürü İçin Kullanılan Kimyasallar/Çözeltiler ve Hazırlanması	38
3.1.2.2.Antimikrobiyal Array Analiz Prosedürü İçin Kullanılan Kimyasallar/Çözeltileri ve Hazırlanması	40
3.1.3. GPMMS ve AM-II Analizlerinde Kullanılan Alet ve Ekipmanlar	41
3.2. Yöntem	41
3.2.1. Numunenin Hazırlanması	41
3.2.2. AM II Analizi Ekstraksiyon Yöntemi	42
3.2.3. GPMMS Analizi Ekstraksiyon Yöntemi	43
3.2.3.1. Kolon Öncesi Ekstraksiyon Prosedürü	43
3.2.3.2. Kolon Prosedürü	45
3.2.3.2. Kolon Sonrası Prosedür	47
3.2.4. GPMMS ve AM II Analiz Protokolü	47
3.2.5. GPMMS ve AM II Görüntüleme İşlemi	49
3.2.6. Görüntüleme İşleminin Prensipleri ve Sonuçların İşlenmesi	50
4. BULGULAR	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	56
6. KAYNAKLAR	64
7. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	71
8. EKLER	74
9. TEŞEKKÜR	75
10. ÖZGEÇMİŞ	76

TÜRKÇE ÖZET

BURSA'DA SATIŞA SUNULAN DANA VE PİLİÇ ETLERİNDE FARKLI GRUP ANABOLİZAN VE ANTİMİKROBİYAL KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI

1940'lı yıllarda dietilstilbestrol (DES)'un etlik piliç üretiminde daha sonra kasaplık hayvanlarda kullanımıyla başlayan büyümeyi hızlandırıcı maddeler, yemlere düşük dozlarda koruyucu ve verim arttırıcı amaçlarla katılan ve tedavi amacıyla kullanılan antibiyotikler, gıda değeri olan hayvanların yenilebilir dokularında birikip insan sağlığı için ciddi sorunlara yol açabilmektedirler. Bu nedenlerden dolayı bu maddelerin kullanımı kısıtlanmış veya yasaklanmıştır.

Bu çalışma, Türkiye'de özellikle son yıllarda görsel ve yazılı basında kanatlı ve besi sığırı yetiştiriciliğinde verim arttırmak amacıyla antibiyotik ve hormon kullanıldığına dair iddiaların artması üzerine planlanmıştır.

Bu amaçla, Bursa merkezde satışa sunulan (market ve kasaplarda) toplam 45 et numunesi (36 adet dana eti ve 9 adet piliç eti) farklı anabolizan ve antimikrobiyal kalıntıları Biochip array-based immunassay tekniği (BABIT) ile analiz edildi. 9 farklı anabolizan ve 6 farklı antimikrobiyal kalıntısının dana ve piliç etlerindeki miktarları tespit edildi.

Analiz sonuçları neticesinde 45 numunenin hiçbirinde anabolik madde kalıntısına rastlanmazken 6 farklı antimikrobiyal kalıntısına rastlanmıştır. Ancak tespit edilen kalıntı miktarlarının Türk Gıda Kodeksi (TGK) yönetmeliğinde belirtilen Maksimum Kalıntı Limitleri (MKL)'ni aşmadığı belirlendi.

Sonuç olarak Bursa'da satışa sunulan piliç ve dana etlerinde, antibiyotik, hormon ve benzeri anabolik madde kalıntılarının düşük olduğu ve tüketici sağlığı açısından ciddi bir risk oluşturmayacağı kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Kalıntı, dana ve piliç eti, anabolizan, antimikrobiyal, biochip array-based immunassay

ABSTRACT

RESEARCH OF DIFFERENT GROUP GROWTH PROMOTER AND ANTIMICROBIAL RESIDUES BEEF AND BROILER MEAT SERVED TO SELLING IN BURSA

In 1940's, diethylstilbestrol (DES) which were firstly used in poultry production and then butchery animals for the purpose of accelerating growth, as well as antibiotics, were added in pellet feed at low dose for treatment purpose to prevent diseases and increase productivity. The use of substances had lead to serious problems on human health because of the presence of its residues accumulated in edible animal tissues. Thus, limitations or restrictions have been imposed on the use of these substances.

This research was planned due to increasing claims in visual and written media in recent years, particularly in Turkey, relating the usage of antibiotics and hormones in poultry and cattle feeding farm in order to increase productivity.

For this purpose, a total of 45 meat samples (36 beef and 9 broiler meat) were collected from markets and butchers in Bursa Province and have been analyzed by using Biochip Array-based Immunoassay Technique (BABIT). In this study, 9 different group of anabolics and 6 different group of antibiotics residues were determined in beef and broiler meat samples.

As result of the analysis; although 6 different group of antibiotic residues in all meat samples have been detected, none of the 9 group of anabolic residues have been found. However, the amount of antibiotic residues did not exceed the Maximum Residue Limits (MRL) determined by the Turkish Food Codex (TFC).

As conclusion, the amount of hormone such as growth promoters' substance and antibiotic residues in beef and broiler meat which were served for sale in Bursa are low and according to our findings, it doesn't create any kind of serious risk in terms of consumers' health.

Key words: Residue, beef and broiler meat, growth promoter, antimicrobial, biochip array-based immunoassay

1. GİRİŞ

Modern tarım uygulamalarında veteriner ilaçları yaygın olarak kullanılmaktadır. Veteriner ilaçları gıda değeri olan hayvanlarda hastalığın tedavisi, önlenmesi, yemden yararlanmanın artırılması ve büyümeyi teşvik edici olarak kullanılmaktadır. Kullanılan bu ilaçlar hayvanların tükettiği yemlere veya içme sularına katılarak uygulanabilen çok sayıda farklı bileşik türünü içerir (Kadım ve ark., 2008; Reig ve Toldra, 2008; Stolker ve ark., 2007). Bu ifade edilen amaçları karşılayacak olan ilaçlar canlılarda olumlu ve olumsuz şekilde iki yönlü etki oluştururlar. Olumlu etkiler olarak hastalıkların iyileşmesi, hafiflemesi, hastalıklara karşı koruyucu ve önleyici etkilerin oluşması ya da gelişmenin hızlandırılması, verimin artırılması, gıda güvenliğinin iyileştirilmesi olarak sıralanabilir. Diğer yandan kullanılan ilaçlar doku ve organlarda hasar, bağışıklık sisteminin baskılanması veya uyarılması, dirençli suşların oluşumu ve gıdalarda kalıntı riski oluşturabilir (Yarsan, 2013). Kalıntılar, kasaplık hayvanlar kesildikten sonra işlenmiş hayvanın yenilebilir dokularında bulunan veya süt ve yumurta gibi diğer yenilebilir ürünlere geçen ilacın ve / veya metabolitlerinin miktarıdır (Desphande, 2002).

Hayvansal kökenli gıdalardaki ilaç kalıntıları; insan sağlığı, ülke ekonomisi ve uluslararası boyutu yönüyle önemlidir. Doku ve organlardaki tolerans düzeyinin yani besinlerde bulunmasına izin verilen ilaç veya kimyasal madde miktarının üzerindeki tüm kalıntılar tüketiciler için toksikolojik yönden önem taşırlar ve tehlikeli kabul edilirler (Kaya ve Ünsal, 2002).

Ülkelere göre az çok farklılık göstermekle beraber tüm dünyada hayvancılık sektöründe kullanılan her çeşitten ilaç ve yem katkı maddesinin ortalama %30'unu antibakteriyel ilaçların oluşturduğu ve bunların da en az %40'ının koruyucu ve verim artırıcı amaçla kullanıldığı düşünülmektedir (Erdoğan ve ark., 2009).

Hızla artan dünya nüfusunun yeterli ve dengeli bir şekilde beslenebilmesi için gerekli hayvansal besin maddelerinin ucuz ve bolca üretilebilmesi bütün ülkelerin gündeminde olan önemli konulardan biridir. Ülkemizde dahil olmak üzere birçok ülkede hayvansal protein açığı vardır ve gün geçtikçe hızlı nüfus artışına bağlı olarak bu açık büyümektedir. Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Teşkilatı (The Organisation for Economic Co-operation and Development : OECD) Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization: FAO); verilerine göre nüfus artışına paralel olarak kişi başına düşen sığır ve dana eti 2005 yılında Türkiye’de 3,375 kilogram (kg) iken 2015 yılına gelindiğinde bu miktar 8,279 kg’a yükselmiştir. Aynı şekilde kanatlı etinde 2005 yılında kişi başına düşen miktar 11,75 kg iken 2015 yılı verilerinde bu miktar 16,51 kg’a yükselmiştir. Bu durum hayvansal protein açığının kapatılması hayvansal üretimin hızlı bir şekilde artırılmasına yönelik önlemlerin alınmasını zorunlu kılmaktadır. Hayvansal protein açığının kapatılması amacına yönelik olarak, daha bol ve kaliteli ürün elde etmek amacıyla özellikle 1950’li yıllardan itibaren hayvancılığın endüstriyel nitelik kazanması ve daha fazla ürün elde etmek amacıyla ilaçların kullanımı kaçınılmaz hale gelmiştir. Bu amaçla kullanılan ilaçların başlıcaları antibiyotikler, antiparaziter ilaçlar ve hormonlardır (Erdoğan ve ark., 2009; OECD-FAO Agricultural Outlook, 2016; Tuncer, 2007; Yıldırım, 1997).

Hayvanlarda antibiyotiklerin verim artırıcı etkiye sahip olduğunun belirlenmesinin ardından gelişmeyi hızlandırıcı yem katkıları olarak kullanılmaya başlanmıştır (Bozkurt ve Leblebicioğlu, 2015). Bu maddelerin yasal olmayan kullanımları sonucu yemden yararlanma kabiliyetinde artış ve daha az yağlı et elde edilmesi gibi önemli yararlar sağlıyorsa da arzu edilmeyen sonuçları da beraberinde getirmektedir (Çetinkaya ve Elal Muş, 2010). Hayvanlarda ilaç kullanımı söz konusu olduğu sürece, bunlardan sağlanan gıdalarda ilaç kalıntılarının bulunması ve değişik düzeylerde tüketiciye geçmesi kaçınılmaz bir olgudur. Gıda güvenliği kapsamında değerlendirildiğinde, halk sağlığı açısından çeşitli riskler ortaya çıkabilmektedir (Can ve Çelik, 2008). Gıdalarda antibiyotik kalıntılarının yarattığı temel sorunların başında, alerjik reaksiyonların ve antibiyotiğe dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkması gelmektedir (Şireli ve ark., 2015). Bu şekilde ilaç kalıntısı içeren gıdaları tüketen insanlarda hafif bir allerjiden başlayarak, çeşitli doku ve organlarda hasara ve

anafilaktik şoktan ölüme kadar değişen şiddette etkilere yol açar. Özellikle yoğurt peynir ve sucuk imalatı olmak üzere besin endüstrisinde üretim hatalarının ortaya çıkmasına, tüketicilerin sindirim sistemindeki bakteri florasının değişmesine yol açabilecekleri kabul edilir (Can ve Çelik 2008; Gökçen ve Atalay, 2012).

Hormon ve benzeri maddeler özellikle, daha fazla ürün elde etmek amacıyla hayvanlarda canlı ağırlık artışı meydana getirmesi nedeniyle yaygın olarak kullanılabilir. Anabolizan maddeler arasında hormon ve benzeri etki gösteren maddeler önemli bir yer tutmaktadır (Tuncer, 2007; Yıldırım, 1997). Anabolik ajanlar sığır, koyun ve diğer evcil hayvanlarda büyümeyi arttıran ve canlı ağırlık artışına neden olan maddelerdir (Oruç ve ark., 2007). Anabolik hormonların kullanımı, hayvancılıkta verim artışını, yetiştiricilikte ürün maliyetlerinin azalmasına ve kar marjının artışını beraberinde getirir (Türk ve Liman, 2004). Sığırlarda anabolik etkiye sahip hormonların kullanımı sonucu, bunları tüketen insanlarda organizma çok yönlü olarak etkilenmektedir (Mor ve ark., 2011). İnsanlarda meme ve rahim kanserleri gibi birçok hastalık ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca bu maddelerin endokrin sistemi bozucu yan etkileri de bilinmektedir (Shao ve ark., 2005). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi etteki hormon kalıntılarının, bazı hormon bağımlı kanser türleriyle kırmızı et tüketimi arasındaki ilişki epidemiyolojik olarak kanıtlanmıştır (Reig ve Toldra, 2008). Tüketici sağlığı açısından birçok olumsuz etkiye sahip olan anabolizan amaçlı kullanılan maddeler otoritelerce yasaklanmış ya da kullanımına sınırlama getirilmiştir (Sever ve ark., 2012). Avrupa Birliği (AB), Türkiye ve Çin'de besi hayvanlarında anabolik etkili hormon kullanımı ve bu ilaçların kullanıldığı hayvanların etlerinin tüketimi yasaklanmakla birlikte Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Kanada, Avustralya, Yeni Zelanda, Güney Amerika, Meksika, Japonya ve Şili gibi ülkelerde kullanımlarına yasal olarak izin verilmektedir (Oruç ve ark., 2007; Şireli ve ark., 2015).

Gelişmeyi hızlandırıcı olarak kullanımı yasaklı ilaçlardan biri olan β -2 adrenerjik agonist ilaçlar bronş ve uterus kası gevşetici özelliği nedeniyle sağaltım amacıyla kullanılan bileşiktir. Ancak hayvansal üretimde β -2 agonistler normal dozun 5-10 katı verildiğinde kas gelişimini hızlandırıp dolayısıyla vücut

ağırlığını arttırmaları, aynı zamanda yağ oranını azaltmaları kısaca yağsız et elde etme etkisi olmaktadır. β -2 agonist ilaçlar içerisinde oral olarak da aktif olması açısından bu yönde en çok araştırılan bileşik klenbuteroldür. Normal olarak sağaltımda kullanılan bu ilaçların, amaç dışı anabolizan olarak kasaplık hayvanlarda kullanılması tüketiciler için potansiyel bir kalıntı riski oluşturmaktadır (Akkaya ve ark., 2004; Yıldırım,1997). Klenbuterol kalıntılarını içeren koyun ve sığır etinin tüketilmesiyle oluşan zehirlenmelerde 50 kişide gözlenen taşikardi, mide bulantısı, baş ağrısı, baş dönmesi olarak tanımlanan semptomların ortaya çıkmasına neden olmuştur (Reig ve Toldra, 2008).

Anabolik amaçla kullanılan diğer bir kimyasal olan glukokortikoidler genellikle insan ve veteriner hekimliğinde, çoğu zaman antimikrobiyal ilaçlar veya β -agonistler ile kullanılan ilaçlardır (Brabandera ve ark., 2009). Antiinflamatuvar özellikleri nedeniyle, birçok kortikosteroidin kimyasal sentezi yapıp veteriner ve beşeri hekimlikte uygulanmıştır. Bu terapötik kullanımlarının yanı sıra, bazı zooteknik araştırmalar bu bileşiklerin kilo alımını arttırdığı ve yem dönüşüm oranını artırma özellikleri olduğunu göstermiş ve β -agonistler veya anabolik steroidler gibi diğer moleküllerle kombine edildiğinde sinerjik bir etkiye sahip olduklarını göstermiştir. Bu nedenle glukokortikoidler sığırlarda büyüme hızlandırıcı olarak yasadışı olarak kullanılır. Büyüme hızlandırıcı olarak kullanımları Avrupa'da yasaklanmış ve bazı kortikosteroidlerin kalıntı limitleri belirlenmiştir (Antignac ve ark., 2001).

Yenilebilir ürünlerde oluşan farmasötik kalıntıların ve bu ürünlerin tüketimiyle ilişkili potansiyel sağlık tehlikelerinin ortaya çıkma riski, kamu sağlık güvenliği konusu haline gelmiştir. Kalıntılar, ana bileşiği, onun metabolitlerini veya konjugatlarını içerebilir ve tüketiciler üzerinde doğrudan toksik etkilere sahip olabilir. FAO, Kodeks Alimentarius Komisyonu, Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization: WHO) ve AB tarafından hayvansal orjinli gıda maddelerinde çeşitli farmasötik maddeler için Maksimum Kalıntı Limit'leri (MKL) belirlenmiştir (Azzouz ve ark., 2011).

Hayvansal kökenli gıdalardaki iz miktarlarda dahi bulunan kalıntı maddelerin birçoğu önemli toksik etkilere sahip olabilir. Bu maddeler kontrol altında olmalıdır. Tüketiciler üzerinde sağlık açısından risk teşkil eden bu maddeler genotoksik, immunotoksik, karsinojen veya endokrin sistemleri etkileyebilir. Bu nedenle bu kalıntıların varlığı hayvansal orjinli gıdalarda izlenmelidir (Toldra ve Reig, 2006). Kalıntı analizi için uygun yöntem seçmek, birçok durumda eldeki sorunun yanı sıra nihai hedefe bağlı olacaktır. Numunenin yasadışı bir büyüme ilerletici içerdiğinden şüphelendiğinde method seçiciliği ana kriter olacaktır. Bu durumda maddenin kimliğini teyit etmeyi sağlayan eksiksiz veya tamamlayıcı bilgi sağlayan doğrulayıcı bir yöntem seçimi önemlidir (Stolker ve Brinkman, 2005).

Gıda ve dokularda kalıntıları tespit etmek için tarama yöntemleri olarak biyoassay teknikleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemler genellikle bir antibiyotik sınıfının üyelerini ayırt etmez ancak tespit edilen total kalıntıların nicel olarak bir tahminini sağlar (Stolker ve Brinkman, 2005). Hayvansal kökenli matrislerin başlangıç taraması, Radioimmunoassay (RAI) ve Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) gibi immünolojik teknikler kullanılarak gerçekleştirilir. Bir diğer alternatif, yüzey plazmon rezonansına dayanan biyosensör sistemleridir. Bu sistemle yüksek verim ve farklı matrislerde çoklu analit taraması mümkündür. Bununla birlikte, cihaz maliyetleri yüksek ve mevcut biyosensör kitleri oldukça sınırlı kalmaktadır. Elektrokimyasal ve optik immunosensörler, kalıntı analizi için biochip array teknolojisi uygulamaları halen değerlendirme aşamasındadır (Brabander ve ark., 2009). Hedef kalıntı sensör biochip yüzeyine kovalent olarak bağlanır. Bu teknoloji farklı veteriner ilaç kalıntılarını analiz etmek için kullanılır. Diğer biyosensörler tanıma molekülü ve analit arasındaki etkileşimin gerçek zamanlı olarak izlenmesini sağlayan biochip dizilerinin kullanımı üzerine kuruludur. Tanıma sinyali ölçülebilir bir sinyale dönüştürülür. Sinyal yoğunluğu cihazdaki mevcut yazılım tarafından yorumlanır ve buna göre sonuçlar elde edilir. (Toldra ve Reig, 2006). Bununla birlikte, basitlik ve düşük maliyetlerinden dolayı immunoassay tarama yöntemleri kullanılmaya devam edilmektedir. AB kriterlerine göre örneklerde saptanan kalıntıların tolerans düzeyini aşan konsantrasyonlarda antibiyotik içerdiği beyan edilmeden önce Liquid chromatography coupled to tandem

mass spectrometry (LC-MS) veya Gas chromatography- mass spectrometry (GC-MS) gibi yeterince seçici ve duyarlı enstrümantal yöntemlerle teyit edilmesi gerekmektedir (Stolker ve Brinkman, 2005).

Son yıllarda, görsel ve yazılı medyada kanatlı ve besi sığırı yetiştiriciliğinde antibiyotik ve hormonların yaygın bir şekilde kullanıldığı ve bunların kontrolünün yapılmadığı yönündeki beyanlar artmıştır. Bu durum kırmızı ve beyaz et tüketicilerinde endişeye neden olmaktadır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı veteriner hekimliğinde kullanılan farklı grup antimikrobiyal ve anabolizanların Bursa'daki market ve kasaplardan toplanan dana ve etlik piliç etlerinde analizini yapmak ve elde edilen sonuçların tüketici sağlığı açısından oluşturabileceği risklerin değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Veteriner Hekimliğinde Kullanılan Antibiyotik ve Anabolik Etkili Maddelerin Tanımı

Veteriner ilaç terimi, terapötik, profilaktik, diagnostik ve fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesi için veya et-süt üreten hayvanlar, kümes hayvanları, balıklar veya arılar gibi herhangi bir gıda üreten hayvan grubunda hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan ve gıda üreten hayvanlara uygulanan veya enjekte edilen herhangi bir madde olarak tanımlanır (Deshpande, 2002).

Türkiye’de 2006 verilerine göre, veteriner hekimliğinde ana ilaç grupları bakımından toplam tüketimin %77’sini, bakteriyel (%33) ve paraziter hastalıklarla mücadelede kullanılan ilaçlar (%28) ile hayvansal verimin arttırılmasını destekleyici ürünler (%16) oluşturmaktadır. Üretilen antibiyotiklerin %70’den fazlası ise tarım ve hayvancılık sektöründe kullanılmaktadır (Bozkurt ve Leblecioğlu, 2015). 2004 yılında AB’ne üye ülkelerde ise; 4,6 ton hormon, 194 ton antiparaziter, 221 ton metabolizma düzenleyici ve 5.393 ton antibiyotik ile toplamda 6.051 tonluk veteriner ilaç aktif maddesi kullanılmıştır. ABD’de yılda ortalama 2,1-2,5 milyon kg antimikrobiyal ilaç kullanımının %45’inden fazlası hayvansal besin takviyeleri için kullanılmaktadır. Bu ilaçların 100 milyondan fazla kg’ı şu anda hayvancılık üretimi için dünya çapında kullanılmaktadır. ABD’de pazarlanan veya yetiştirilen kanatlı hayvanların %80’i, domuzlarda %75’i, besi sığırların %60’ı ve süt buzağlarının %75’inin hayatı boyunca bir süre antimikrobiyal ilaç verildiği tahmin edilmektedir (Deshpande, 2002; Yıbar ve Soyutemiz, 2013).

Antimikrobiyal ilaç grubu bilinen en geniş ilaç grubudur. Antimikrobiyal ilaçlar, canlı mikroorganizmalar (bazı mantar ve bakteriler) tarafından veya sentetik olarak üretilen, organizmalar için toksik olmayan, ancak düşük konsantrasyonlarda, bir veya daha fazla mikroorganizma gelişimini inhibe edebilen ürünler olarak

tanımlanabilir (Deshpande, 2002). Antibiyotikler (veya antibakteriyeller), veteriner ilaçlarının ana grupları arasında ilk sıralarda yer alır, tedavinin yanında profilaksi ve verim artırıcı olarak kullanılabilir (Şener, 2006). Antibiyotikler doğal, yarı sentetik veya sentetik orijinli, bakteri, mantar ve aktinomisetler gibi canlı mikroorganizmalar tarafından meydana getirilen veya sentezle hazırlanan, düşük yoğunlukta bile bakterilerin gelişmesini etkileyen ya da onları öldüren maddelerdir (Akkan ve Karaca, 2003; Cha'fer-Perica's ve ark., 2010).

Son yıllarda veteriner ilaçları olarak birçok antibiyotik ailesinin bulunduğu ve hayvancılık üretiminde bulaşıcı hastalıkların tedavisinde beta-laktamlar, tetrasiklinler, aminoglikozidler, makrolidler, sülfanamidler, florokinolonlar ve polimiksinler gibi antibiyotik sınıfları yaygın bir şekilde kullanılır (Cha'fer-Perica's ve ark., 2010; Deshpande, 2002).

Veteriner hekimliğindeki diğer bir ilaç grubu olan hormonların başlıca kullanım alanı hormonlara bağımlı üreme bozuklukları ile erkek ve dişi üreme sistemi hastalıklarıdır; seksüel siklus, östrus senkronizasyonu, anabolik ve zooteknik amaçla da kullanımları yaygındır (Şener, 2006).

Anabolizmayı yani vücuttaki sentez faaliyetlerini arttıran maddelere anabolik etkili veya anabolizan maddeler adı verilir. Anabolizan maddeler arasında hormon ve hormon benzeri etki gösteren maddeler önemli yer tutmaktadır (Tuncer, 2007). Hormon; organizmadaki homeostazis, üreme, gelişme ve davranış fonksiyonlarını etkileyen, doğal ve sentetik yapıda olabilen, bir hücre veya hücre grubunca üretilip kan dolaşımından doku ve organlara iletilen ve yaşamsal fonksiyon üstlenen bileşiklerdir (Şireli ve ark., 2015; Tuncer, 2007). Besi hayvanlarında kullanılan anabolik ajanlar kimyasal yapılarına göre doğal (endojen), anabolik (sentetik) ve yapay steroidler ve yapay (sentetik non-steroid) östrojenler olarak üç ana grupta toplanabilir. Doğal endojen hormonlar androjenler (testosteron gibi), östrojenler (östrodiol ve türevleri, fitoöstrojenler/genestein gibi, mikoöstrojenler/zeranol gibi) ve progesteronlardır (progesteron gibi) (Oruç ve ark., 2007). Anabolizan maddeler,

verimi arttırmak, gelişmeyi hızlandırmak ve yem dönüşüm oranını arttırmak amacıyla kullanılır.

Büyümeyi hızlandırıcı ajanlar bahsedilen etkileri farklı şekillerde gösterirler. Örneğin büyümeyi hızlandırmak, yağ oranı düşürmek, kas oranını arttırmak amacıyla besi hayvanlarında beta agonistler (klenbuterol) normal dozların üzerinde verildiğinde istenilen yağ oranı düşük ve kas oranı arttırılmış bir besi hayvanı meydana gelmiş olur. Fakat yine büyümeyi hızlandırmak, verimi arttırmak, yem dönüşüm oranını arttırmak amacıyla vücutta anabolik sentez faaliyetlerini arttırarak vücutta azot tutulmasını sağlayan hormon ve hormonlara benzer etkiler gösteren maddeler steroidler (androjenler, gestrajenler, östrojenler), stilbenler ve zeranol de besi hayvanlarında gelişmeyi uyaran büyümeyi hızlandırıcı madde grubundadır.

2.2. Antibiyotik ve Gelişmeyi Hızlandırıcı Ajanların Gıda Değeri Olan Hayvanlarda Amaç Dışı Kullanımı

Veteriner hekimliğinde kullanılan ilaçlar; hayvan sağlığı ve yetiştiriciliğinde farklı amaçlarla uygulama alanı bulurlar. Bunlar; hastalıkların tedavisi ve önlenmesi, davranışların değiştirilmesi, gelişmenin hızlandırılması, verimin arttırılması ve gıda kalitesinin iyileştirilmesidir (Yarsan, 2013). Araştırmacılar hayvancılıkta ürün kalitesinin yükseltilmesi ve verimlerin arttırılması için öncelikle genetik ve çevresel faktörlerden mümkün olduğu ölçüde yararlanmaya çalışmışlar; fakat yapılan bu uygulamalar zaman alıcı ve takibi zor olduğundan farklı uygulamalara yönelmiştir (Türk ve Liman, 2004).

2050'ye kadar dünya nüfusunun 9 milyara yükselmesi tahmin edilmektedir. Hızlı nüfus artışından dolayı dünyadaki gıda kaynaklarının kullanımının artması ihtiyaçların ekonomik şekilde karşılanmasını gerektirmektedir (Parr ve ark., 2016; Yıkılmaz ve Filazi, 2009). Veteriner ilaçları, hayvansal kökenli gıdaların üretiminde hem kaliteli hem de ekonomik şekilde artan küresel et tüketim talebini karşılamak, maksimum büyüme potansiyeli elde etmek, hayvan yem verimliliğini ve kas artışı arttırmak için yemlere, içme sularına veya değişik yollarla uygulanabilen yem katkı

maddeleri ve büyüme hızlandırıcılar olarak kullanılmaktadır (Parr ve ark., 2016; Reig ve Toldra, 2008; Türk ve Liman, 2004). Bazı hormonlar ve antibiyotikler de dahil olmak üzere büyümeyi hızlandırıcılar gıda üreten hayvanlarda gelişmeyi hızlandırıcı ve büyümeyi artırıcı olarak yasal veya yasal olmayan şekilde kullanılır (Jeong S-H ve ark., 2010). Bu maddelerin amaç dışında hayvansal üretimde kullanımı ABD’de 1930’lu yılların başında inek hipofiz bezi ekstreminin deneysel olarak hayvanlara verilmesinin ardından hayvanlarda süt veriminde artışa neden olmasının görülmesiyle başlamıştır (Şireli ve ark., 2015). Evcil hayvanlarda canlı ağırlık artışı sağlamak ve yemden yararlanma oranını arttırmak amacıyla, ilk defa 1947 yılında ABD’de kanatlı yetiştiriciliğinde dietilstilbestrol (DES) ile başlayan anabolizan maddelerin kullanımı, ekonomik yararları nedeniyle yaygınlık kazanmıştır (Oruç ve ark., 2007). Antibiyotiğin ise ilk defa 1940’lı yılların sonuna doğru uygulamaya giren ve daha sonra tüm hayvancılık işletme kollarında kullanımları vazgeçilmez hale gelen bu maddeler sayesinde 1,4 kg ağırlığına ulaşmak için 15 haftadan uzun bir süre beslenen ve yaklaşık 7 kg yem yedirilen etlik piliçler kullanılan veteriner ilaç uygulamalarıyla 6-7 haftada 3-4 kg yemle 1,8-2 kg’a çıkabilmektedir ve bu uygulama ilk olarak tetrasiklin fermentasyonunun yan ürünleri ile beslenen tavukların bu yan ürünlerle beslenmeyene kıyasla daha hızlı büyüdüklerinin görülmesiyle keşfedilmiştir (Jeong S-H ve ark., 2010; Yarsan, 2013).

Antibiyotikler ve diğer ilaçlar gıda değeri değeri olan hayvanlara terapötik, profilaktik veya subterapatik dozlarda uygulanmaktadır. Terapatik dozlar hastalıkları tedavi etmek, profilaktik dozlar bakteri ve protozoanın neden olduğu enfeksiyonları önlemek için kullanılırken subterapatik uygulamalar ise genellikle büyüme hızlandırıcı ve verimliliği arttırmak amacıyla kullanılır. Veteriner ilaçlarının büyüme ve yem verimini iyileştirmesine neden olan etki mekanizmaları iyi anlaşılmamış olsa da hayvanlar üzerindeki muhtemel etkileri farklı yollarla uyguladığı düşünülmektedir (Deshpande, 2002; Jeong S-H ve ark., 2010). Antibiyotikler birçok mikroorganizmanın gelişimini inhibe eder; bu süreç esansiyel vitaminler ve amino asit sentezinde önemli rol oynayan yararlı bağırsak mikroflorasının artmasına neden olur. Ayrıca sürekli olarak yemlerle birlikte verilen antibiyotikler bağırsak duvar yapısını değiştirerek daha ince ve daha duyarlı hale getirir. Bu nedenle, besinlerin

emilim ve kullanım verimliliği büyük ölçüde arttırılmış olur. Bu özellikleriyle antimikrobiyal ilaçlar, esensiyel besinler için hayvan konağıyla rekabet eden floradaki mikroorganizmaları baskılayarak hareket ederler. Bu durumla birlikte besin maddesinin kullanılabilirliğini ve/veya gastrointestinal sistemden emilimini arttırırlar. Diğer bir etki olarak subterapötik dozlarda katılan antimikrobiyal ilaçların, hafif fakat tanımlanamayan enfeksiyonlardan sorumlu mikroorganizmaları baskılar ve büyümeyi yavaşlatan toksinlerin mikrobiyal gelişimini de engeller. Besi sığırcılığında antibiyotiklerin, pazarlama ağırlığında bir artış ile karaciğer apselerinin görülme sıklığını %50'den %18'e düşürdüğü belirtilmiştir (Deshpande, 2002).

Genel olarak anabolik etkiye sahip olan kimyasal ve veteriner ilaçlarından birçoğu besi hayvanlarında vücutta sodyum, potasyum, kükürt, fosfor ve klorun tutulmasını sağladığı gibi aynı zamanda azot tutulmasını da sağlayarak protein sentezini arttırdığı ve böylece kas kitlesinde artışa ve yağ depolarının azalmasına neden olarak gelişimin ve yemden yararlanmanın attırılmasına neden olmaktadır (Çetinkaya ve Elal Muş, 2010; Sever ve ark., 2012; Toldra ve Reig, 2006; Yıkılmaz ve Filazi, 2009). Bu etkileriyle anabolik maddeler hayvanlarda canlı ağırlık kazancını %10-25, yemden yararlanmayı %5-10 arasında arttırmaktadır. Hormon kullanımı sayesinde, 36 kg ağırlığındaki bir buzağı yaklaşık 14 ay gibi kısa bir sürede 520 kg lık kesim büyüklüğüne ulaşabilmektedir (Sever ve ark., 2012). Birçok deneysel çalışma hem doğal hem de sentetik hormonların vücut ağırlığını ve protein birikimini arttırdığını ve karkaslardaki yağ içeriğini azalttığını göstermiştir (Kadım ve ark., 2008; Sawaya ve ark., 1998; Sever ve ark.,2012).

2.3. Kalıntı Nedir ve İlaç Kalıntılarının İstenmeyen Etkileri

2.3.1. Kalıntı Nedir?

Kalıntı; hayvanlarda hastalıkların sağaltımı, önlenmesi ve kontrolü ile gelişmenin hızlandırılması amacıyla 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, parçalama ürünleri, serbest veya bağlı haldeki madde miktarıdır (Kaya ve Ünsal, 2002).

Veteriner ilaçları hayvansal kökenli gıdalardaki kimyasal tehlikelerin bir türüdür. Bu maddelerin birçoğunun gıdalarda kalmaları durumunda insan sağlığı üzerindeki etkileri açısından değerlendirilir. Gıda üreten hayvanlarda kullanılan veteriner ilaçlarının onaylanması, etkinlik, hedef hayvan güvenliği, insan sağlığı ve çevresel etkilerin sistematik olarak değerlendirilmesinden sonra yapılabilir. Veteriner ilaçların risk değerlendirmeleri, toksikolojik ve mikrobiyolojik etkilerini değerlendirmek ve bileşiklerin aşması gereken kabul edilebilir tüketim seviyelerini tanımlamaktan oluşur. Toksikolojik olarak değerlendirme aşamasında, gıdalarda bulunan veteriner ilaçları ve metabolitleri ile ilişkili insan sağlığına herhangi bir olumsuz etkiye neden olmayacak düzeyler ve doz-tepki ilişkilerine göre değerlendirmeler yapılır. Gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz (No Observed Advers Effect Level: NOAEL), Günlük alınmasına izin verilen miktar (Acceptable Daily Intake: ADI), güven sınırları, belirsizlik faktörleri ve toksikolojik kaygı için tolerans düzeyi, tehlike karakterizasyon adımı belirlenir. NOAEL, ilaç ve bazı kimyasal maddeler ile besinlerde kalıntı halinde bulunan bir ilaç veya kimyasal maddenin, deney hayvanları veya tüketicilerin sağlığı üzerinde hiçbir olumsuz etkisi olmaksızın, yaşam boyunca alınabilir miktarını ifade eder. NOAEL değerinin farklı hayvan türlerinde, yem veya besinlerde kalıntı halinde bulunan maddelerle yapılan toksikolojik denemelerinden elde edilen etkisiz miktarın insanlara uyarlamasıyla elde edilen güven faktörüne bölünmesiyle ADI değeri hesaplanır (Jeong S-H ve ark., 2010; Kaya ve Ünsal, 2002; Yarsan, 2013).

Karsinojenik etkisi veya etki tehlikesi bulunan maddelerin dışında kalan bileşiklerin besinlerde bulunmasına izin verilen düzey olan tolerans düzeyi, maddenin kendisine en duyarlı hayvan türündeki NOAEL değeri ve güven faktörü dikkate alınarak hesaplanır. Risk yönetimi için, gıda alımı yoluyla belli miktarda veterinerlik ilacı tüketerek insan sağlığı ile ilgili riskleri belirten ADI değil MKL'dir (Jeong S-H ve ark., 2010; Yarsan, 2013). Gıda ve Tarım Örgütü Kodeks Alimentarius Komisyonu, Dünya Sağlık Örgütü ve Avrupa Topluluğu gibi

kurumlarca insan tüketimine sunulacak hayvansal orijinli gıdalarda bulunmasına izin verilen çeşitli farmasötik maddelerin en yüksek kalıntı miktarını ifade eden maksimum kalıntı limitleri (tolerans limitleri) belirlenmiştir (Azzouz ve ark., 2011; Yarsan, 2013) .

Gıda değeri olan doku ve organlarda, istenmeyen veya zehirleyici etkileri bakımından önem taşıyan ilaç veya kimyasal madde kalıntılarının, tüketici için güvenli bir düzey veya yoğunluğa inene kadar ilaç uygulanan hayvanların kesilmemesi gereken süreye kesim öncesi bekletme süresi veya kalıntı arınma süresi denir. Belirtilen süre içerisinde yenilebilir hayvan doku ya da organlarındaki ilaç veya kimyasal madde veya metabolit kalıntılarının tüketici sağlığı bakımından tehlike oluşturmayacak miktara veya düzeye indiği kabul edilir. Kesim öncesi bekletme süresi sağlıklı-hedef hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalarla belirlenir, bu süre kullanılan ilaç çeşidi, ilaç formülasyonu ve şekli, uygulama yolu, ilacın vücuttaki hareketi, hayvan türü gibi çeşitli faktörlere göre farklılık gösterir. İlaçla ilgili herhangi bir kayıt yoksa kanatlı ve memeliler için kesim öncesi bekletme süresi 28 gün olarak belirlenir (Kaya ve Ünsal, 2002). İlaçların hayvansal gıdalarda kalıntı oluşturmaya neden olabilecek birçok faktör sayılabilir; doz aşımı ve aşırı miktarda ilaç kullanımı, ilaç çeşidi, onaylanmamış-ruhsatsız ilaç kullanılması, prospektüsüne veya hekim talimatlarına uyulmaması (etiket dışı ilaç kullanımı), hatalı ilaç, müstahzar, uygulama yolu veya formülasyon seçilmesi ve kullanılması, beşeri hekimlikte kullanılan ruhsatlı ilaçların hayvanlarda kullanılması ve hayvan yetiştiriciliğinde değişik amaçlarla veteriner ilaçları uygulanan hayvanların belli bir süre geçmeden veya bekletilmeden yani ilaç kalıntı arınma süresine dikkat edilmeden kasaplık olarak kesilmesi ya da böyle hayvanlardan elde edilen gıdaların tüketilmesi olarak sıralanabilir (Gökçen ve Atalay, 2012; Kaya ve Ünsal, 2002, Şireli ve ark., 2015). ABD’de Besin ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration: FDA) tarafından etlerde kalıntılarının boyutu ve sebeplerine yönelik yapılan incelemelerin değerlendirilmesi sonucunda; olayların %76’sının kesim öncesi bekletme süresine uyulmaması, %12’sinin yem fabrikalarında beyana esas yemlerdeki karıştırma ve ambalajlama hataları, %6’sının farklı yemlerin konulduğu depoların iyi

temizlenmemesi, %6'sının da ilaçların hatalı kullanılmasından ileri geldiği ortaya konulmuştur (Erdoğan ve ark., 2009).

Sağlıklı ve güvenli hayvansal gıda üretimi ve tüketimi için üretim; işletme, depolama, taşıma, satış, diğer işlem ve uygulamalar sırasında hammadde ve ürünlerin herhangi bir kalıntı ve kontaminasyona maruz kalmaması gerekir. Aksi durumda kontamine olmuş veya kalıntı riski bulunan hayvansal ürünler insan sağlığı açısından ciddi tehlikeler oluşturabilmektedir. Son yıllarda veteriner hekimliğinde ilaç kullanımının farklı amaçlarla kullanımı halk sağlığı ve hayvansal kökenli gıdalardaki ilaç kalıntılarının varlığı endişesi hızla artmıştır (Deshpande, 2002; Şireli ve ark., 2015).

2.3.2. İlaç Kalıntılarının İstenmeyen Etkileri

Gıdalardaki ilaç kalıntıları insan ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara, hafif bir alerjiden başlayarak, çeşitli doku ve organlarda hasara, zehirlenmelere ve hatta fazla kalıntı içerdiğinde anafilaktik şoktan ölüme kadar değişen şiddette etkilere neden olmaktadır. İlaç kalıntıları insan gıda zincirinde olumsuz etkileri farklı şekilde ortaya çıkabilir. İlaç kalıntılarının başlıca istenmeyen etkileri aşağıda detaylandırılmıştır (Akkaya ve ark., 2004; Deshpande, 2002; Gökçen ve Atalay, 2012).

2.3.2.1. Aşırı Duyarlılık ve Alerjik Reaksiyonlar

Kalıntılarla ilgili en önemli endişelerden biri duyarlı kişilerde meydana gelebilecek aşırı duyarlılık ve alerjilerdir. Hipersensitiv reaksiyonlar muhtemelen ilaç alerjisinin en yaygın nedenidir. Gıdalardaki antibiyotik kalıntılara maruz kalmanın bir sonucu olarak immunopatolojik reaksiyon gösteren pek çok belgelenmiş insan vakası vardır. Penisilin hem veteriner hem de insan klinik tıbbında alerjik özellikler açısından antibiyotik listesinin en üstünde yer almaktadır. Bir kişi penisiline duyarlı hale geldiğinde oral olarak alınan çok az miktarda penisilin alerjik reaksiyonlara neden olabilir. Ani hipersensitif reaksiyonlar, süt veya et gibi hayvansal kaynaklı gıdalarda tüketimiyle antibiyotik kalıntılarında olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak

sefalosporinlerin diyare ve nefrotoksisiteye neden olduğu bildirilmiştir. Sülfanamidler cilt ve mukoza membranları dahil olmak üzere ürtiker, fotosensitive, dermatit gibi ile duyarlılık reaksiyonlarına neden olmaktadır. Bazen sülfanamid tedavisini takiben serum hastalığına ateş, eklem ağrısı, konjuktivit, bronkospazm ve ürtikar yangıları eşlik edebilir. Tetrasiklinler, deri döküntüleri ve fototoksik dermatit bu ilaçlarla en yaygın görünen idiyosinkrazik reaksiyonlardır. Aminoglikozidlerin (gentamisin, tobramisin, amikacin, netilmicin, kanamisin, streptomisin ve neomisin) en ciddi toksik etkileri dengenin sağlanmasından sorumlu olan iç kulaktaki vestibüler merkez üzerindeki ototoksisite ve nefrotoksisitedir. Tüm toksikolojik yanıtlar gibi, bireylerin antimikrobiyal kalıntılara karşı alerjik yanıtı doza bağlıdır. Alerjik bir cevap oluşması için gerekli doz her zaman maruz kalan bireyin hassasiyet derecesine bağlıdır (Desphande, 2002).

2.3.2.2. Gıda Endüstrisinde Starter Kültürlerin İnhibisyonu

Antibiyotiklerin vücudu terk etme yollarından biri de süttür. Bu şekilde antibiyotik kalıntısı içeren sütlerin peynir ve yoğurt gibi fermente süt ürünlerinin imalatında kullanılan starter bakteri kültürlerinin aktivitelerini azaltarak kaliteli ürün oluşumunu engeller. Ayrıca antibiyotik uygulanmış hayvanların etleri sucuk ve benzeri ürünlerin hazırlanmasına uygun değildir; zira etlerde bulunan ilaç kalıntıları sucuğun doğal renginin oluşmasını sağlayan enzimin etkinliğini engeller (Desphande, 2002; Kaya ve Ünsal, 2002).

2.3.2.3. Karsinojenik Etki

Hayvansal gıdalarda çeşitli amaçlarla kullanılan anabolik yapıllı maddelerin karsinojenik ve toksik olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Şireli ve ark., 2015).

Nonsteroid yapıda olan hayvancılık ve klinik alanda yaygın olarak kullanım sahası bulan DES, abortusu engellemek için ilaç formunda pek çok gebe kadın tarafından kullanılmış ve son yıllarda yapılan bir araştırma gebelik süresince DES

verilen kadınlarda meme kanseri oranının normal popülasyona göre artabildiği tespit edilmiştir (Göze ve ark., 2002).

Tek başına veya diğer hormonlarla kombinasyon halinde çeşitli amaçlar için kullanılan 17 β -östrodiol in vivo olarak DNA ve DNA tek sarmalının kırılmasına; oksidatif hasar vererek genotoksik potansiyele sahiptir. Farelerde ve ratlarda kanserojenlik üzerine yapılan uzun süreli araştırmalarda meme ve hipofiz bezlerinde, uterus, serviks, vajina ve testisler ile lenfoid organlar ve kemikte tümör insidansında artış görülmüştür. Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (International Agency for Research on Cancer: IARC), 17 β -östrodiol'ın kanserojenik etkileri nedeniyle Grup I'de sınıflandırılmıştır. Bu sentetik hormonun karsinojenitesi, hormonal reseptörlere olan etkileşiminin bir sonucudur çünkü bu tümörler büyük oranda yüksek düzeyde hormon reseptörüne bağlı dokularda görülür. Genel olarak östrodiol, genotoksik bir kanserojen olarak değerlendirilir (Jeong S-H ve ark., 2010).

2.3.2.4. Dirençli Suş Oluşumu

1950'lerden sonra hayvanlarda gelişmenin hızlandırılması amacıyla yem katkı maddesi olarak antibiyotiklerin yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmasıyla duyarlı bakterilerde dirençli suşların ortaya çıkması kaçınılmaz olmuştur. Bakterilerin öldürücü dozların altındaki konsantrasyonlarda antibiyotiğe maruziyetinin devam etmesi dirençli suşların seleksiyonuna, çoğalmasına ve yayılmasına neden olur. Bakteriyel direncin gelişmesinde ikinci faktör ise genetik ve regülatuar değişiklikler ki bakteriler arasında transfer olabilir (Akkan ve Karaca, 2003; Bozkurt ve Leblebicioğlu, 2015).

Hayvanlarda gelişmeyi hızlandırmak amacıyla uzun süreli ve düşük dozlarda antibiyotik kullanımına bağlı olarak özellikle enterik patojenlerin insanlarda kullanılan antibiyotiklere karşı çapraz direnç geliştirdiği belirlenmiştir. Patojenik mikroorganizmaların antimikrobiyal maddelere direnci ve insanlara aktarılması çağdaş ilaç tedavisinin en önemli konularından biridir. İnsan gıdası zincirindeki ilaç

kalıntıları prevalansı bu nedenle dikkat çeken bir konudur (Bozkurt ve Leblebicioğlu, 2015; Desphande, 2002).

Veterinerlikte hayvanlarda performans artırıcı olarak kullanılan antibiyotikler sadece patojen suşlarda değil flora elemanı *Escherichia coli* ve enterokoklarda da direnç seleksiyonuna neden olur. Smith ve Crabb, 1957 yılının başlarında hayvan yemlerinde tetrasiklinin kullanılmasının domuz ve kümes hayvanlarındaki tetrasiklin dirençli *E. coli* sayısını arttırdığını gösterdi. Daha sonra Watanabane (1963) tarafından yapılan araştırmada, direncin aktarılabılır olduğu ortaya kondu (Desphande, 2002).

Avoparsin, basitrasin, karbadoks, olakindoks, tilozin ve virjinyamisin de dirence neden oldukları kanıtlanmıştır. Avoparsinin büyümeyi artırıcı olarak kanatlı yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılmasıyla, enterokoklarda vankomisine karşı çapraz direnç geliştiği ve bu direncin de *Staphylococcus aureus*'a aktarıldığı bildirilmiştir. Enterokoklardaki eritromisin, kinopristin ve dalfopristin gibi antibiyotiklere direnç tilozin ve virjinyamisin gibi antibiyotikli yem katkı maddelerinin kullanımına bağlı geliştiği kanıtlanmıştır. Hayvansal besinlerin tüketimi ile insanlara bulaşan dirençli bakteriler sıklıkla *Salmonella*, *Campylobacter* ve *Yersinia* gibi Gram negatif bakterilerdir. Özellikle *Salmonella*'lardaki direnç dağılımı hem insanlarda hem hayvanlarda kapsamlı araştırmalarla incelenmiştir. Hastalık Kontrol Merkezleri, insan enfeksiyonlarından izole edilen *Salmonella* spp.'nın %25'inin antibiyotiklere dirençli olduğunu ve insan salmonellozunun antibiyotik tedavisinde bu nedenle sıkıntılar görülebildiği bildirilmektedir (Bozkurt ve Leblebicioğlu, 2015; Desphande, 2002).

Hayvanlarda antibiyotik kullanımının yaygınlaşması ile başlangıçta neredeyse tüm antibiyotiklere duyarlı *Salmonella* izolatlarında son yıllarda direnç problemi ortaya çıkmıştır. Veteriner hekimliğinde hastalığın tedavisi ve önlenmesi için yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerden olan kinolon grubuna, insanların hayvansal kökenli kontamine gıdalarla maruz kalması sonucu beşeri hekimlikte etkinliği azalmıştır (Bozkurt ve Leblebicioğlu, 2015; Er ve ark., 2013).

2.3.2.5. Gastrointestinal Mikrofloranın Değişmesi

Antimikrobiyal kalıntılarıyla iz miktarlarda dahi kontamine olan hayvansal kökenli gıdaların tüketilmesiyle insan fizyolojisinin bir parçası olan bağırsak mikroflorası üzerine değişik etkileri olabilir. Bağırsak mikroflorası, gastrointestinal kanalın patojen mikroorganizmalara karşı bariyer görevi üstlenmektedir ve gıdaların sindiriminde önemli bir role sahiptir. Dolayısıyla gıdalarla eser miktarlarda alınan antimikrobiyal maddeler bağırsak florası üzerinde potansiyel bir risk oluşturabilmektedir (Reig ve Toldra, 2008).

2.3.2.6. Seksüel Gelişim ve Endokrin Sistem Üzerine Olumsuz Etkileri

Anabolizan maddeleri ihtiva eden gıdaların uzun süreli alınmasının hormonal sistemi de olumsuz yönde etkilediği belirtilmektedir. Hayvansal gıdalarla alınan birçok anabolizan madde kalıntısı kadınlarda; menstruel siklusta bozukluklara, erkekleşmeye neden olabilen androjenik etkilere, erkeklerde ise libido azalmasına ve pseudofeminizasyona uzun süre maruz kalınmasında ise gonadlarda gelişmeme spermatogenezisin inhibisyonu ve iktidarsızlığa sebep olmaktadır. Aynı zamanda alınan anabolizan madde kalıntıları kronik koşullarda hormonal sistemi de olumsuz yönde etkilemektedir. İlk sentetik östrojen olan DES'in gebelik süresince kullanılmaları sonucu ise, dünyaya gelen erkek ve kız çocuklarında immun sistem düzensizlikleri, psiko-seksüel etkiler ve üreme anormallikleri görüldüğü bildirilmiştir (Çetinkaya ve Elal Muş, 2010; Sever ve ark., 2012; Türk ve Liman, 2004).

2.3.2.7. Diğer Olumsuz Etkiler

Avrupa Topluluğu ülkeleri ve Amerika'da kas kitlesini arttırıcı amaçla β -2 agonist ilaçların kullanımının yasak olmasına rağmen, sığırlarda bu bileşiklerin yasal olmayan kullanımıyla kontamine karaciğer tüketimi sonucunda insanlarda birkaç intoksikasyon olayı bildirilmiştir. Klenbuterole bağlı bu tür intoksikasyonu en çok İspanya'da (484 vaka), Fransa'da (22 vaka) ve İtalya'da (16 vaka) görülmektedir. İspanya Epidemiyoloji Enstitüsü tarafından yapılan bir çalışmada; kas

titremeleri ve taşikardi şikayetiyle hastaneye gelen insanların idrarlarında 2-4 ppb ve bu insanların tükettiği sığır karaciğerinde 160-190 ppb arasında klenbuterol tespit edilmiştir (Yıldırım, 1997).

Hormonların, gıda değeri olan hayvanlarda kullanımından sonra bir kısmı vücutlarından boşaltım yoluyla uzaklaştırılarak su döngüsüne katılır, geri kalan kısmı ise hayvan vücudunda kalır. Bu bileşiklerin kontrolü iyi bir şekilde sağlanmadığı takdirde suya, besinlere ve besin ağına aktarılacağı anlamına gelir. Hem doğal hem de sentetik kimyasallara düşük seviyelerde sürekli maruz kalınmasının insanlar için potansiyel bir risk oluşturabileceğini gösteren çok sayıda kanıt ortaya konmuştur (Shao ve ark., 2005). Ayrıca steroid hormonlar organizmayı çok yönlü olarak etkileyebilen ve birçok fonksiyonlara sahip olan maddelerdir. Özellikle endokrin sistem, nervöz sistem, deri ve kemikler dahil tüm organları bir şekilde etkilemektedir. Özellikle testosteron ve bunların sentetik analogları illegal bir şekilde kullanıldığında erkeklerde prostatik hastalıklar, koroner kalp hastalıkları, peptik ülserler dahil birçok tümoral gelişmeye sebep olabilmektedir (Akkaya ve ark., 2004).

2007'de Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority: EFSA) tarafından gerçekleştirilen en son inceleme 17 β -östrodiolün kanserojen olduğunu; hayvancılıkta kullanılan diğer hormonların hepsinin endokrin, gelişim, immünolojik, nörobiyolojik, immunotoksik, genotoksik olabileceğini belirtti ve özellikle hassas risk grupları için kanserojen etkisi olduğunu altını çizdi (Passantino, 2012).

Zeranol ve trenbolonun ise vücut içinde çok yönlü olumsuz etkileri olduğu birçok araştırma ile belirlenmiştir. İn vitro testlerde zeranol ve trenbolonun genetik zararlar oluşturduğu gösterilmiştir (Şireli ve ark., 2015; Yılmaz ve ark., 2007).

En güçlü anabolik steroidlerden biri olan 19-nandrolone (Nortestosteron) ve etteki metabolitleri kardiyomiyopati, koroner arter hastalığı, testiküler küçülme, sperm morfolojisinde değişiklikler ve jinekomasti (erkeklerde memenin anormal ölçüde büyümesi) gibi istenmeyen etkilere neden olur (Uzunov ve ark., 2013).

2.4. Analizi Yapılan Antibiyotik ve Anabolik Madde Gruplarının Sınıflandırılması

2.4.1. Antibiyotik Gruplarının Sınıflandırılması

2.4.1.1. Sefalosporinler

Cephalosporium acremonium kültürlerinden 1948 yılında elde edilmiştir. Sefalosporinlerin bir bölümü oral, büyük bir kısmında parenteral yolla kullanıma uygundur. Sefalosporinler antibakteriyel spektrumları hakkında önem taşıyan, kronolojik çerçevede 1-4. kuşak olarak sınıflandırılırlar. Birinci kuşaktan dördüncü kuşağa geçildikçe, etki spektrumunu Gram pozitiften Gram negatife doğru kayar. Yeni nesil sefalosporinlerin etki spektrumları *Pseudomonas* türlerini de içeren ölçüde geniş spektrumdadır. Bu grupta bulunan üyelerden bazıları; sefaleksim, sefazolin, sefasetril, sefamandol, sefuroksim, sefaperazon, seftiofur, moksalaktam ve sefkuinomdur. Sığırdan mastit, metrit, ayak enfeksiyonları ile pnömonide ve hayvanlarda operasyon öncesi proflaktik amaçlı kullanılırlar. Parenteral yolla uygulanan sefalosporinlerden bazıları duyarlı mikroorganizmlardan kaynaklanan kuru dönem mastitis olaylarının sağaltımında doğrudan meme içi uygulanırlar. Ayrıca seftiofur, domuz, ruminantlar ve atlarda solunum yolu hastalıklarının tedavisinde ve sığırlarda ayaklardaki yara ve metritis enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Seftiofur, kuluçkadan yeni çıkmış 1 günlük civcivlerde ve hindilerde erken ölümle sonuçlanan enfeksiyonlar için çeşitli ülkelerde de onaylanmıştır (Hornish ve Kotarski, 2002; Kaya, 2002; Şener, 2006; Yarsan, 2013; Yazar, 2002).

Genelde metabolize edilmeksizin glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyon yoluyla vücuttan atılırlar. Sefalosporinler günümüzde hem insanlar hem de hayvanlar için önemli antibakteriyel ajanlardır ancak gıda üreten hayvanlarda kullanılabilen sefalosporinler, insanlara kıyasla sınırlı olarak kullanılmaktadır (Hornish ve Kotarski, 2002; Kaya, 2002; Prescott, 2000; Şener, 2006; Yarsan, 2013; Yazar, 2002).

2.4.1.2. Kinolonlar (Florokinolonlar)

İlk sentezlenen bileşik nalidiksik asittir. Bunlar 4-kinolonlar veya bazı önemli türevleri yapılarında flor içerdiği için florokinolonlar olarak çoğu kez isimlendirilirler. Grubun üyeleri; enrofloksasin, siprofloksasin, norfloksasin, danofloksasin, sinoksasin, nalidiksik asit ve enoksasindir. Günümüzde veteriner tıbbında kullanım için pazarlanan florokinolonlar, oral yoldan iyi absorbe edilir, geniş bir dağılım hacmine sahiptir, vücudun neredeyse her doku ve hücresine nüfuz eder. Bunlar özellikle Gram negatif Enterobacteriaceae'lar olmak üzere Gram pozitiflere de etkilidir. Eski tip kinolonların (nalidiksik asit, oksolinik asit) dışında etki spektrumları geniştir. Gram negatif bakterilere son derece etkilidirler; Gram pozitif bakterilerin çoğuna ve Mycoplasma türlerinin neden olduğu enfeksiyonlara (mastitis, metritis, konjoktivit, pnömoni, otitis media) etkileri oldukça iyidir. Hayvanlarda idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde çok etkilidirler. Cilt ve birçok yumuşak doku enfeksiyonunun tedavisinde ayrıca septisemi ve pnömoni gibi ciddi enfeksiyonlarda kullanılabilirler (Kaya, 2002; Şener, 2006; Walker, 2000; Yarsan, 2013; Yazar, 2002).

ABD'de enrofloksasin ve danofloksasin yalnızca besi sığırlarında pnömoni tedavisi ve kontrolü (enrofloksasin) için onaylanmıştır. Kanada'da her iki ilaç da onaylanmıştır, ancak etiket dışı kullanımına dair yasal bir sınırlama getirilmemiştir. Diğer ülkelerde, enrofloksasin, danofloksasin ve marbofloksasin laktasyon dönemindeki sığırlarda, solunum yolu, kolibasiloz ve mastit gibi çeşitli hastalıkların tedavisi için onaylıdır. Ayrıca tavuklarda kullanım için iki florokinolon (enrofloksasin ve sarafloksasin) geliştirilmiş ve suya katılması olarak onaylanmıştır. ABD'de hem enrofloksasin hem de sarafloksasin onayları, florokinolonlara dirençli *Campylobacter*'in insanlarda besin kaynaklı hastalıklara neden olduğu endişeleri nedeniyle geri çekilmiştir. Kanada'da hindi yumurtalarında salmonelloz tedavisi için kullanılan çözelti formu piyasadan çekilmiştir. Ayrıca enrofloksasin ve sarafloksasin kümes hayvanlarında kullanımı hiç onaylanmamıştır. Ancak diğer ülkelerde veteriner florokinolonlarının birçoğu kümes hayvanlarında

onaylanmış ve kullanılmaktadır (Kaya, 2002; Şener, 2006; Walker, 2000; Yarsan, 2013; Yazar, 2002).

2.4.1.3. Aminoglikozidler

Streptomyces ve Mikromonospora türündeki mantarlar tarafından üretilir, oral ya da parenteral yolla kullanılırlar. Amikasin, gentamisin, kanamisin, neomisin, streptomisin, dihidrostreptomisin, spektinomisin, paramomisin, viomisin, apromisin, sissomisin, lividomisin ve netilmisin bu grup içinde yer alır. Dar spektrumludurlar, aerobik Gram negatif bakterilerin ve *Staphylococcus* spp.'nin yol açtığı enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bakterisidal antibiyotiklerdir. Aminoglikozid antibiyotiklerin kullanımına bağlı olarak önemli istenmeyen etkiler şekillenir; ototoksik, nefrotoksik, nörotoksik ve teratojenik etkilerdir. Aminoglikozidlerin toksisitesi nedeniyle kullanımları ciddi enfeksiyonların tedavisiyle büyük ölçüde sınırlandırılmıştır. Toksisitesi fazla olanlar (neomisin) Enterobacteriaceae'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde oral veya topikal kullanımla sınırlıdır. Daha az toksik olanlar ise genellikle Gram negatif aerobların yol açtığı ağır sepsisin tedavisinde parenteral yolla ve metisiline dirençli stafilokoksik enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Bunlardan amikasin, gentamisine dirençli organizmaların yol açtığı enfeksiyonların tedavisi için kullanılır. Büyük oranda böbreklerden atıldıkları için üriner, sindirim ve solunum sistemi enfeksiyonlarında, septisemilerde ve göz-kulak enfeksiyonlarında kullanılırlar. Böbrek dokularında aminoglikozid kalıntıları uzun süre saptanabildiği için, gıda hayvanlarında etiket dışı kullanımına dikkat edilmelidir (Prescott, 2000; Yarsan, 2013; Yazar, 2002).

2.4.1.4. Makrolidler

Streptomyces türlerinden izole edilen ve başlıca temsilcileri eritromisin olan bu gruptaki ilaçlar bakterilerde protein sentezini durdurarak bakteriyostatik etki gösterirler. Eritromisin, tikoizin, tilmikosin, tulatromisin, spiramisin, gamitromisin, tilvalosin, oleandomisin, triasetiloleandomisin, josamisin, kitamisin, roksitromisin, azitromisin ve klaritromisin makrolid grubu antibiyotiklerdendir. Bu ilaç grubunun

Campylobacter, Chlamydia, Legionella ve Mycobacterium türleri de dahil olmak üzere önemli insan patojenlerine karşı etkinliği artmış antibakteriyel aktivite, geliştirilmiş farmakokinetik parametreler ve advers reaksiyonların azaldığı yarı sentetik üyelerin gelişmesine neden olmuştur (Prescott, 2000; Yazar, 2002).

Bu grup ilaçlar solunum sisteminde çok yüksek yoğunluklara ulaştıklarından özellikle solunum sistemi enfeksiyonlarında kullanılır. Grup olarak özellikle oral olarak verildiğinde ruminantlarda gastrointestinal flora üzerinde ciddi bozukluklara yol açabilir. Sindirim kanalından çabuk emilirler, plazma proteinlerine farklı düzeylerde bağlanırlar (Prescott, 2000; Yazar, 2002).

2.4.1.5. Tetrasiklinler

Bu ilaçların ilk üyesi klorotetrasiklin 1948'de *Streptococcus aureofaciens* ve bundan bir yıl sonra da oksitetrasiklin *S. rimosus* kültürlerinden izole edilmiştir. 1961'den sonra semi-sentetik türevleri hazırlanmıştır. Tüm yollarla uygulanabilir (oral, deri, parenteral, meme-içi, uterus-içi gibi) ayrıca 'long acting' (LA) preparasyonları da mevcuttur. Protein sentezini durdurarak bakteriyostatik etki gösteren bu antibiyotik grubunda tetrasiklin, oksitetrasiklin, klortetrasiklin, doksisisiklin, minosiklin, rolitetrasiklin ve demetilklortetrasiklin bulunur. Veteriner hekimliğinde en fazla kullanılan antibiyotik sınıfıdır (Kaya, 2002; Prescott, 2000; Şener, 2006; Yarsan, 2013; Yazar, 2002).

Geniş spektrumlu ilaçlardır; Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere, Chlamydia, Spirochaeta, Actinomyces, Mycoplasma ve Rickettsia türlerine etkilidirler. Tetrasiklinler, sahada veteriner hekimlerce sıklıkla *E.coli*, *Enterobacter* spp., *Salmonella* spp., *Brucella* spp, *Pasteurella* spp. ve Mycoplasma türlerinin neden olduğu bronşit, pnömoni, ayak enfeksiyonları, enterit, deri ve ürogenital sistem enfeksiyonlarında kullanılır. Öncelikli olarak *Brucella* enfeksiyonları, sürü abortu ve sekonder enfeksiyonların önlenmesinde tercih edilir. İlaçlar, sığır pnömonilerinin tedavisinin haricinde beslenme alanlarında profilaksi amacıyla yararlıdır. Rasyonda profilaktik ilaç uygulaması, pnömoniyi azaltmak, büyüme ve

yem dönüşüm verimliliğini artırmak için sıklıkla kullanılmakla birlikte, maliyet-fayda oranı bu yaklaşımı haklı kılmayabilir (Kaya, 2002; Prescott, 2000; Şener, 2006; Yarsan, 2013; Yazar, 2002).

Lipofil karakterli olmaları biyolojik engelleri kolaylıkla aşmalarına ve hücre içine penetre olmalarına olanak sağlar. Özellikle uzun etkili müstahzarları son derece irkilticidirler. Kasaplık hayvanlarda kas hasarı ve kalıntılara yol açmaları sebepleriyle, bir yere 10 ml'den fazla uygulamaktan kaçınılmalıdır (Kaya, 2002; Prescott, 2000; Şener, 2006; Yarsan, 2013; Yazar, 2002).

Spektrumları geniş olmasına rağmen tetrasiklinlerin etkilerine karşı birçok dirençli bakteri suşları ortaya çıkmış olmakla beraber, ülkemizde veteriner hekimlikte, özellikle oksitetrasiklin olmak üzere halen en çok kullanılan antibiyotikler arasındadır; bunda etki spektrumunun geniş olması önemli rol oynar (Kaya, 2002; Prescott, 2000; Şener, 2006; Yarsan, 2013; Yazar, 2002).

2.4.1.6. Fenikoller (Amfenikoller)

Kloramfenikol *Streptomyces venezuelae* kültürlerinden ve sentez yoluyla elde edilir. Kolay ulaşılabilir ve ucuz olması sebebiyle 1950'li yıllardan bu yana sağılan ve besi değeri olan hayvanların tedavisinde kullanılmıştır. Kloramfenikol aerobik ve anaerobik mikroorganizmalara, bakteriler açısından yaşamsal önem taşıyan proteinlerin sentezlenmesini engellemesi esasına dayanarak etki gösterir. Ayrıca kloramfenikolün insanlarda yeterli miktarda kan hücresi üretiminde eksiklik oluşması sonucunda gelişen aplastik anemi (kemik iliği yetmezliği) potansiyeli, dünyanın çeşitli yerlerinde gıda hayvanlarında kloramfenikol kullanımının yasaklanmasına neden olmuştur. ABD, Kanada, Avusturalya ve AB ülkeleri gibi birçok ülkede yasaklanmıştır. Ülkemizde ise Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın 19 Nisan 1993 tarihli 419 sayılı genelgesi ile gıda değeri olan hayvanlarda kullanımı yasaklanmıştır (Ceyhan, 2017; Prescott, 2000; Şener, 2006).

Tiamfenikol, kloramfenikolün bir analogudur. Tiamfenikol solunum yolu hastalıklarının tedavisinde kullanılır. Ancak tiamfenikol aynı zamanda hemotolojik toksisite gösterir bu nedenle Çin, AB, ABD ve diğer bazı ülkeler, gıda değeri olan hayvanlarda klamamfenikol kullanımını kesinlikle yasaklamış ve tiamfenikolün kullanımını maksimum kalıntı limitleri ile düzenlemiştir (Chen ve ark., 2009).

Florfenikol, kloramfenikolün bir türevidir ve *Pasteurella haemolytica*, *P. multocida* veya *Haemophilus somnus* enfeksiyonuyla ilişkili solunum yolu hastalığına sahip laktasyon döneminde olmayan sığırların tedavisi için onaylanmıştır. Bununla birlikte florfenikol, *Streptococcus dysgalactiae*, *S. uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., ve *Pasteurella* spp. gibi çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı da aktiftir (Angelos ve ark., 2000).

2.4.2. Gelişmeyi Hızlandırıcı Ajan Olarak Kullanılan Anabolik Madde Grupları

2.4.2.1. Doğal (Endojen) Hormonlar

Fizyolojik faaliyetleri koordine etmek için insan ve hayvan vücudunda üretilen kimyasallara endojen veya doğal hormonlar denir. Uzun bir süre boyunca farklı bir dokudaki bazı işlemleri yavaş yavaş uyarmak veya inhibe etmek için bir tür dokudan üretilen ve serbest bırakılan haberci gibi davranırlar. Hormonlar, büyüme, üreme, cinsel ve sosyal davranışları içeren memelilerin gelişimlerinin farklı evrelerinde önemli rol oynamaktadır (Passantino, 2012).

Hormon benzeri maddelerin doğal olarak elde edilmeleri son derece güçtür. Örneğin 1 g tiroid hormonu tiroksin 700 koyundan, yine böbrek üstü kortisosinin hormonu cortin 2500 sığırdan ve 1 g östrojende 15-20 milyon domuzdan elde edilmektedir. Dolayısıyla bu kadar güç elde edilirken doğrudan hayvanlara verilmesi masraflı olması nedeniyle sentetik olarak elde edilen benzeri maddeler aynı amaçlarla kullanılır (Tuncer, 2007).

2.4.2.2. Sentetik Anabolik Etkili Hormon ve Benzeri Maddeler

Bu grupta doğal hormonların sentetik ve yarı-sentetik türevleri ile esterleri bulunur ve bu grup maddeler başta vücutta azot tutulmasını sağlayarak protein sentezini arttırdığı için anabolik maddeler olarak anılır. Anabolik etkilerinin yanı sıra hastalık ve ameliyatları takiben iyileşme dönemlerinin kısaltılması, kas distrofinin iyileştirilmesine yardımcı olması, kemik erimesinin önlenmesi ve ortopedik durumların sağaltımı, özellikle aplastik nitelikler başta olmak üzere anemilerin sağaltımı, karaciğer ve böbrek hastalıklarıyla tümöral durumların sağaltımına yardımcı olmak için kullanılır (Kaya ve Pirinçi, 2002).

2.4.2.2.1. Sentetik Steroidler

2.4.2.2.1.1. Boldenon

Testosteron türevi sentetik anabolik ajandır. Endojen testosteronun bütün etkilerini gösterir. Diğer steroidlere benzer şekilde, anabolik etkileri yanında, eritropoietin sentezini teşvik eder. İlaç ağırlık kazancını arttırmak ve genel durumu iyileştirmek için kullanılır (Kaya ve Pirinçi, 2002; Şener, 2006).

2.4.2.2.1.2. Nandrolon

Enjaktabl anabolik steroiddir. Nandrolon, anabolik ve antikatabolik etkili testosteron türevidir. İlaç veteriner hekimlikte başlıca anabolik, iştah açıcı ve anemilerin sağaltımında kullanılır. Hormon tüm hayvan türlerine intramusküler yolla verilebilir (Kaya ve Pirinçi, 2002; Şener, 2006).

2.4.2.2.1.3. Stanozolol

Sentetik anabolik steroiddir. Hayvanlarda iştah arttırmak, güç ve kilo kazandırmak amacıyla kullanılır. Nandrolon gibi anemi durumlarında da endikedir. Süspansiyon şeklinde oral ya da parenteral yolla kullanılır (Şener, 2006).

2.4.2.2.1.4. Trenbolon

Androjenik-anabolik özellikle 19-nortestosteron türevi olan bu madde trenbolon asetat (TBA) şeklinde kullanılır. Trenbolonun çoklu hormonal aktivite gösterdiği ve bu nedenle diğer hormonlardan daha etkili olduğu bildirilmektedir. Çoklu anabolik etkisini androjen ve glukokortikoid reseptörlere bağlanarak gerçekleştirmektedir. TBA, testosteronunkinden daha fazla anabolik potansiyeli olan sentetik bir steroiddir. Hormon dışı sığır ve koyunlarda oldukça güçlü bir anaboliktir; östrojenle birlikte kullanıldığında, iğdiş danalarda oldukça etkilidir (Kaya ve Pirinçi, 2002; Passantino, 2012; Şireli ve ark., 2015).

Hayvan başına 40-300 mg olarak uygulanan TBA hızla aktif serbest formu olan 17 β -trenbolon'a hidrolize olmaktadır. Sığırlarda safra, karaciğer, kaslar ve salgılarında bulunan temel metabolit 17 β -epimer'dir. Karaciğerde büyük ölçüde metabolize edildiği ve safrayla da atıldığı için kas dokusunda çok az miktarda bulunur (Kaya ve Pirinçi, 2002; Passantino, 2012; Şireli ve ark., 2015).

2.4.2.2.2. Non-Steroidall Maddeler

2.4.2.2.2.1. Beta Agonistler

Veteriner hekimliğinde solunum bozukluklarda kullanılan beta agonistlerin, her ne kadar büyüme hormonu gibi etkimeseler de, bu grupta bulunan klenbuterol, salbutamol ve simaterol gibi maddeler yağ dokuda dağılan β -2 adrenerjik reseptörlere olan etkileri sebebiyle azot retesiyonuna bağlı olarak anabolizan etki oluşturdıkları 1980'li yıllardan beri bilinmektedir (Şener, 2006).

β adrenerjik agonistler, endojen katekolaminlerden adrenalin ve noradrenalinin analoglarıdır. Besi hayvan türlerine uygulandığında, büyüme ve besleme üzerinde olumlu etkileri olur. Klenbuterol ve simaterol gibi β -2 adrenerjik reseptör agonistleri en fazla büyüme etkisine sahiptir. Gelişmeyi hızlandırıcı olarak kullanımı yasaklı ilaçlardan biri olan β adrenerjik agonist ilaçlar bronş ve uterus kası

gevşetici özelliği nedeniyle sağaltım amacıyla kullanılan bileşiktir. Ancak hayvansal üretimde β -2 agonistler normal dozun 5-10 katı verildiğinde kas gelişimini hızlandırıp dolayısıyla vücut ağırlığını arttırmaları, aynı zamanda yağ oranını azaltmaları kısaca yağsız et elde etme etkisi bulunmaktadır. β -2 agonist ilaçlar içerisinde oral olarak da aktif olması açısından bu yönde en çok araştırılan bileşik klenbuteroldür. Normal olarak sağaltımda kullanılan bu ilaçların, amaç dışı anabolizan olarak kasaplık hayvanlarda kullanılması tüketiciler için potansiyel bir kalıntı riski oluşturmaktadır (Akkaya ve ark., 2004; Parr ve ark., 2016; Yıldırım, 1997).

Beta agonistler genellikle kilo alımı, yem dönüşüm oranı üzerinde pozitif etkilere sahiptirler ve yağ doku birikiminde azalma sağlarken kas büyümesini arttıran güçlü ajanlar gibi davranır. Bu ajanlar büyüme hormonu ile karşılaştırıldığında önemli bir avantajı yem içine uygulanabilmeleridir. Beta agonistin etkisi, yağ birikimini azaltarak yağsız et oranını arttırmaktır (Parr ve ark., 2016).

Beta agonistler, kas hipertrofisi üzerinde güçlü etkilere sahiptirler. Çiftlik hayvan türleri arasında farklı etkiler göstermektedir; ruminantlarda özellikle yaşlı hayvanlarda daha güçlü etkiye sahiptirler. Hayvancılıkta beta agonistlerin üzerine yapılan çalışmalar, bu ajanların protein sentezini arttırmaksızın protein yıkımını azaltmada güçlü bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Şener, 2006; Parr ve ark., 2016).

2.4.2.2.1.1. Raktopamin

Domuzlarda gelişmeyi hızlandırıcı, yemden yararlanmayı arttırıcı ve yem katkısı olarak ruhsatlandırılan ilk β agonist raktopamin 1999'da kullanılmaya başlamıştır. Bununla birlikte hem β -1 hem de β -2 adrenerjik reseptörlere bağlanan raktopaminin diğer β -2 adrenerjik agonistler gibi büyümeyi teşvik edici etkileri vardır. Ayrıca raktopamin ile tedavi edilen domuzlarda yapılan çalışmalarda protein sentezinin uyarılmasında etkili olduğu belirtilmiştir (Kaya ve Pirinçi, 2002; Parr ve ark., 2016).

2.4.2.2.2.2. Glukokortikoidler

Antiinflamatuvar ilaçların bir grubu olan glukokortikoidler, adrenal korteksten salgılanan doğal hormonlar ve bunların sentetik türevlerini içerir. Glukokortikoidlerin sentetik türevleri, doğal hormon olan kortizolün bazı farmakolojik özellikleri artırılmış; hormonal ve mineralokortikoid etkileri azaltılmış olan moleküllerdir. Antiinflamatuvar özellikleri nedeniyle, birçok kortikosteroidin kimyasal sentezi yapıp veteriner ve beşeri hekimlikte uygulanmıştır. Farmakolojik olarak başta antiinflamatuvar etki olmak üzere birçok etki gösterirler; immunosupresör etki, antialerjik etkinin yanı sıra glukoz, lipit ve protein metabolizması üzerine etkileri mevcuttur. Bu terapötik kullanımlarının yanı sıra, bazı zooteknik araştırmalar bu bileşiklerin kilo alımını arttırdığı ve yem dönüşüm oranını azaltma özellikleri olduğunu göstermiş ve β -agonistler veya anabolik steroidler gibi diğer moleküllerle kombine edildiğinde sinerjik bir etkiye sahip oldukları gösterilmiştir. Bu nedenle kortikosteroidler sığırlarda büyümeyi hızlandırmak amacıyla yasadışı olarak kullanılabilir (Antignac ve ark., 2001; Şener, 2006).

2.4.2.2.2.3. Stilbenler

Bu grubun başlıca üyeleri non-steroid yapıda östrojen etkiye sahip DES ve heksoestroidlerdir. Genotoksik olmaları ve hayvanların vücudunda büyük ölçüde biyotransformasyona uğratılmamaları ve vücudu değişmemiş halde genellikle dışkıyla terk etmeleri sebebiyle, birçok ülke DES'in bu etkilerinden dolayı kanatlılarda ve sığırlarda anabolizan olarak kullanımını sınırlandırmış ve kalıntı düzeylerini kontrol altına almıştır. Hayvanların yenilebilir dokularındaki kalıntılar insanlarda kansere neden olabileceğinden, ABD Gıda ve İlaç İdaresi ve AB'nde hayvanlarda kullanımı yasaklanmıştır (Desphande, 2002; Göze ve ark., 2002; Kaya ve Pirinçci, 2002).

2.4.2.2.2.4. Zeranol

Zeranol, doğal olarak oluşan bir mikotoksin olan zearalenondan meydana gelen, steroid olmayan östrojenik etkili bir rezosilik asit laktonudur. Zeranol, *Fusarium roseum* ve *Fusarium graminearum* kültürlerinin bir ürünü olan zearalenondan çok kademeli bir fermentasyon sonucu elde edilmektedir. Zeranol, erkek hayvanlarda canlı ağırlık artışını sağlamak ve yemden yararlanma oranını arttırmak amacıyla kullanılmaktadır. Ancak, dişi hayvanlarda yumurtalıklarda korpus luteumun oluşmasına ve uterus hipertrofisi ile karakterize yalancı gebeliklere neden olduğu için; gebe hayvanlarda ise uterus, plasental membran ve fetusun gelişmesini yavaşlattığı için kullanılmamaktadır (Mor ve ark., 2011; Oruç ve ark., 2007).

Piyasada tüketime sunulan zeranol peletleri, 12 ve 36 mg'lık peletler halinde bulunur ve uygulamayı takiben 90-100 gün boyunca etkilerini gösterirler. Zeranolonun, DES ile benzer etkiye sahip olmasına rağmen, uterotopik etkisinin DES'ten 2500 kez daha az olduğu bildirilmektedir (Aksoy ve Dağoğlu, 1998).

2.5. Kalıntı Kontrolü İçin Alınan Önlemler, Yasal Mevzuatlar

Hormonlar ve bazı veteriner ilaçlar gibi büyüme arttırıcı ajanlar, çeşitli mekanizmalarla büyümeyi teşvik etmek için uygulanır. Besin üretiminde kullanılan hayvansal gıdalarında bulunabilecek ilaç kalıntılarıyla, hem gıda güvenliği hem de tüketici sağlığı açısından endişe ve korku yaratan bir duruma yol açar. Veteriner ilaç kalıntıları içeren hayvansal gıdalar, sürekli tüketici konumundaki insanlarda akut ve kronik toksisite, teratojenik, mutajenik ve karsinojenik etki riskiyle bakteriyolojik ve alerjik sakıncalar yaratır (Stolker ve Brinkman, 2005; Şanlı, 2002).

Gıda üreten hayvanlarda hormonal büyüme promoterlerinin kullanılması AB ve diğer ülkelerde tartışma konusu olmuştur. 1981 yılına kadar Avrupa Komitesi'nin besi hayvanlarında büyüme hormonu kullanımında dair evrensel bir politikası yoktu. 1980 yılında İtalya'da DES kalıntısı içerdiği tespit edilen bebek mamaları ile beslenen çocuklarda görülen menstrual bozukluklar tüketicilerin tepkisine neden

olmuş ve ulusal hükümetler halk sağlığını korumak amacıyla ülke düzeyinde kontrol programlarını uygulamaya sokmuşlardır. Avrupa Konseyi, hormonlarla ilgili ilk olan 81/602/EC sayılı direktifi Temmuz 1981’de kabul etmiştir. Bu direktifte hayvanlar üzerinde tirostatik etkiye sahip maddelerin veya östrojenik, androjenik veya gestajenik etkilere sahip maddelerin piyasaya sürülmesi, çiftlik hayvanlarında kullanılması, bu maddelerin kullanıldığı hayvanların kasaplık olarak kesilmesi, bu tür hayvanların işlenmesi ve bu etten hazırlanan et ürünlerinin piyasaya sürülmesini yasaklamaktadır. Direktif yasaklamaya ilişkin iki istisna getirmektedir: terapötik ve zootehnik amaçlı kullanıldığında ve bir veteriner hekim tarafından veya veteriner hekim sorumluluğunda uygulandığı zaman östrojenik, androjenik veya gestajenik etkilere sahip olan maddeler için bir istisna sağlamaktadır. Mart 1988 tarihinde 88/146/EC konsey direktifinde 81/602/EC sayılı direktifte getirilen yasak, herhangi bir amaç için trenbolon asetat ve zeranolün çiftlik hayvanlarını yetiştirmede, besi için ise 17 β -östrodiol, testosteron ve progesteron kullanımını yasaklaması şeklinde genişletmiştir (Akkaya ve ark., 2004; Parr ve ark., 2016).

Hayvan yetiştiriciliğinde hormon kullanımıyla ilgili AB ülkeleri ile ABD arasında bir görüş ayrılığı mevcuttur. AB tüm hormonların kullanımını yasaklamışken, FDA ve Birleşik Devletler Tarım Bakanlığı (United States Department of Agriculture: USDA) kilo alımı ve beslenme verimliliğini arttırmak amacıyla çeşitli kombinasyonlarda steroid hormonları ve hormon benzeri maddelerin kalıntılarının izin verilen seviyede olduklarında zararlı bir etki göstermeyeceklerini idda etmekte ve kullanımına müsaade etmektedir. ABD, Kanada, Avustralya, Yeni Zelanda ve bazı Güney Amerika, Asya ve Afrika ülkelerinde doğal hormonlar; testosteron, östrodiol ve progesteron ve yarı sentetik; trenbolon, zeranol, ve melengestrol asetat (MGA) büyümeyi desteklemek için kullanılır (Ek 1). AB hormon yasağı hali hazırda AB ve ABD, Kanada başta olmak üzere üçüncü ülkeler arasında hormon uygulaması yapılmış hayvan ihracatında anlaşmazlığa neden olmaktadır (Passantino, 2012; Şireli ve ark., 2015).

Ülkemizde ise 2003 yılında yayımlanan “Gıda Değeri Olan Hayvanlara Uygulanması Yasaklanan ve Belli Şartlara Bağlanan Hormon ve Benzeri Maddeler

Hakkında Tebliğ” AB’ine uygun olarak hazırlanmıştır. Bu kapsamda stilbenler, stilben türevleri, tuzları ve esterleri, antitiroidal etkili maddeler, anabolizan amaçlı kullanılan steroidler, zeranol da dahil olmak üzere rezorsilik asit laktonlar ve β -agonist etkili maddeleri içeren hayvansal kökenli gıdaların insan tüketimine sunulması yasaklanmıştır. Yine bu tebliğde stilbenler, stilben türevleri, tuzları ve esterlerinin imali, ithali, piyasaya ve kullanıma arz edilmeleri, bulundurulmaları ve tüm hayvan türlerine uygulanmaları yasaklanmıştır; östrojenik, androjenik, gestajenik etkili maddelerin veteriner hekim tarafından gıda değeri olan hayvanlara sadece tedavi ve zooteknikal amaçla uygulanabilmesi, bu maddelerin uygulandığı hayvanların ancak ilaç kalıntı arınma süreleriyle ilgili sınırlamalara uyulduktan sonra kesime sevk edilebileceği belirtilmiştir (Çetinkaya ve Elal Muş, 2010).

Hayvanlarda büyümeyi arttırmak amacıyla kullanılan antibiyotik kalıntılarının temel sorunlarının başında dirençli mikroorganizmaların çıkması gelmektedir. Antibiyotiklerin uygun kullanılmamasına bağlı gelişen dirence ilişkin önlemlerin alınması amacıyla ulusal eylem planlarının ve mevzuatın ülke koşullarına göre sürekli olarak güncellenmesi, standardize edilmiş izleme sistemlerinin oluşturulması, sonuçların veteriner/beşeri hekimleri yönlendirecek şekilde paylaşılması, akılcı antibiyotik kullanımı konularında eğitimin artırılması gerekmektedir. AB’de zoonozlara ilişkin bilgilerin toplanmasını amaçlayan 92/117/EC sayılı direktif, antibiyotik direncini de kapsayacak şekilde 2003/99/EC direktifi ile genişletilmiştir. 11 Mart 2015 tarihinde antibiyotik direncine karşı eylem raporunda; kanatlı da dahil olmak üzere veteriner hekimlikte antibiyotik kullanımının izlenmesi, akılcı ilaç kullanımına yönelik hekimlerin eğitimi, antibiyotik direncine ilişkin Avrupa İlaç İdaresi (European Medicines Agency: EMA)’nın önerdiği bilimsel kaynaklar, araştırmalar, risk değerlendirme kaynakları ve projelere yönelik bilgiler sunulmuştur. ABD’de Ulusal Antimikrobiyal Direnç İzleme Sistemi’nin (The National Antimicrobial Resistance Monitoring System: NARMS) üç bölümü bulunmaktadır. Bunlardan insanlarla ilgili olan kısmı 1996, hayvanlarla ilgili kısmı 1997 ve hayvansal gıdalarla alakalı olan kısmı 2002 yılında etkinleşmiştir (Filazi ve ark., 2015; Şireli ve ark., 2015).

17.12.2011 tarihli 28145 sayılı Resmi Gazetede yayınlanan ‘‘Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler ile Bunların Kalıntılarının İzlenmesine için Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik’’ esaslarına göre ülkesel kalıntı izleme planı uygulanmaktadır. Hayvan türü ve çeşidine göre aranacak maddeler ve incelenecek örnek sayısı 96/23/EC sayılı AB direktifi ile uyumlu hazırlanarak, Bakanlık tarafından Ankara ve İzmir Kontrol Laboratuvarları ile Etlik, Bornova ve Pendik Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüleri kalıntı izlemede yetkili kılınmıştır.

Ülkemizde ise 23.12.2011 tarihinde 28151 sayılı resmi gazetede yayınlanan ‘‘Zoonozlar ve Zootik Etkiler, İlgili Antimikrobiyal Direnç ve Gıda Kaynaklı Salgıların İzlenmesi’’ yönetmeliğinde antimikrobiyel direncin izlenmesi bölümünde; kanatlı hayvanlar ile bu türlerden elde edilen hayvansal ürünleri temsil edebilecek sayıda izolatta *Salmonella* spp, *Campylobacter jejuni* ve *C. coli* ile ilgili bilginin toplanmasının sağlanması hususu belirtilmektedir. Ayrıca ülkemizde 2013 yılında çıkan yönetmeliğe göre koksidiyosatlar ve histomonostatlar dışında antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanılması yasaklanmıştır. 27 Mart 2014 tarih ve 28954 sayılı Resmi Gazete’de ‘‘Salmonella ve Belirlenmiş Diğer Gıda Kaynaklı Zoonotik Etkenlerin Kontrol Altına Alınması Hakkında Yönetmelik’’ te antimikrobiyel direncin izlenmesi için toplanacak izolat sayısı, test edilecek antimikrobiyeller ve uygulama metodları ile izleme için gerekli kurallar hakkında detaylı bilgi sunulmaktadır. Türkiye’de MKL, AB Mevzuatı ile uyumlu olarak TKG kapsamında 04.05.2012 tarihli ve 28282 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanan ‘‘Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği’’ kaldırılarak 07.03.2017 tarih ve 30000 sayılı Resmi Gazetede’ki yayımlanan yönetmelik ile yeniden düzenlenmiştir (Bozkurt ve Leblebicioğlu, 2015; Filazi ve ark., 2015).

2.6. Antimikrobiyal ve Anabolik Madde Analizlerinde Kullanılan Yöntemler

Yenilebilir hayvansal ürünlerdeki veteriner ilaç kalıntıları değişikliğe uğramamış olan ana bileşiği ve onun metabolitlerini ve/veya konjugatlarını içeren kimyasal tehlikenin bir türüdür ve buna bağlı insanlar üzerindeki zararlı sağlık

etkileri, düzenleyici kurumlar ve tüketiciler için büyük bir endişe kaynağıdır. Bu nedenle gıda güvenliğini sağlamak için bu kalıntıların hızlı, seçici ve hassas şekilde tespiti için güvenilir tarama yöntemleri gereklidir. (Azzouz ve ark., 2011; Cha'fer-Perica's ve ark., 2010; Jeong S-H ve ark., 2010; Reig ve Toldra, 2008).

Farklı gıda numunelerinde başta antibiyotikler olmak üzere hemen hemen tüm veteriner ilaçlarının MKL'leri $\mu\text{g/kg}$ (ppb) aralığında oluşturulmuştur. Bu nedenle hassas ve hızlı yöntemler gıda güvenlik kontrol laboratuvarlarında kritik öneme sahiptir. En uygun analitik yöntemlerin seçilmesi ve kapsamlı validasyon çalışmaları, güvenilir veteriner ilaç kalıntı kontrolünü uygulamak için vazgeçilmez bir gerekliliktir. Yanlış negatif örnek, tüketicinin korunmasını tehlikeye atmakta ve yanlış pozitif sonuçlar, mali kayıp ve itibar kaybı da dahil olmak üzere, gıda üreticisine ciddi sonuçlar doğurabilmektedir (Cha'fer-Perica's ve ark., 2010; Desphande, 2002; Zeleny ve ark., 2006).

Numune analizlerinde karşılaşılan başlıca sorunlardan biri özellikle kompleks matrislerdeki ekstraksiyon prosedürleridir. Referans yöntemlerinde kullanılan çoğu ekstraksiyon prosedürleri zaman alıcı, maliyetli, birçok numune için fazla miktarda çözücü gerektiren yöntemlerdir. İlaçların çok düşük konsantrasyonlarda karmaşık matrislerdeki analizi, analizi yapan kişi için zorlayıcı sorunlar oluşturabilir. Diğer önemli sorunlar numune sayısının fazlalığı ve numunelerin çoğunun negatif ve ilaç içermemesidir. Bu gibi faktörler, MKL'nin tespiti için yeterince hassas olunmasındaki gerekli sebeplerdir ve yanlış pozitif sonuçlar veya sıfır yanlış negatif sonuç düşük insidansı üreten yüksek verimli tarama yöntemleri talebini zorunlu hale getirmiştir. Gıdaların doğası gereği bozulabilir olduğu göz önünde bulundurulduğunda bu yöntemlerin cevabı sağlamada hızlı olması gerekir (Cha'fer-Perica's ve ark., 2010; Desphande, 2002).

Genel olarak kalıntıların izlenmesi için analitik yöntemler iki grupta sınıflandırılabilir bunlar yüksek verimli bir tarama ve tarama sonrası tanımlayıcı yöntemlerdir. Tarama yöntemlerinin ideal özellikleri sahte pozitif oranı düşük,

yüksek verimlilik, kullanım kolaylığı, kısa analiz süresi, iyi seçicilik ve düşük maliyetlidir (Cha'fer-Perica's ve ark., 2010; Coşkun ve ark., 2012).

Antibiyotik kalıntılarının izlenmesinde en yaygın kullanılan yöntem mikrobiyolojik yöntemlerdir. Kullanılan bu yöntemler gerçekleşen spesifik reaksiyonlara göre mikrobiyolojik ve immunassaylar olarak ayrılırlar. Mikrobiyolojik testler, duyarlı bir organizma ile numune içerisindeki ilaç kalıntısı arasındaki spesifik bir reaksiyona dayanan kalitatif ve semikantitatif yöntemlerdir. Bu testlerin başlıca avantajları geliştirmek kolay, ucuz ve ticari olarak çok sayıda preparat mevcuttur ancak özgüllüğü eksiktir. Herhangi bir antibiyotik olmasa bile inhibisyon oluşabilir diğer bir olumsuzluğu ise kullanılan antikor, bakteri veya reseptörün bir veya çok az bir antibiyotik grubunu algılayabilmesidir. Ayrıca mikrobiyolojik testlerin en önemli dezavantajlarından bir diğeri de uzun inkübasyon sürelerinin olmasıdır. Mikrobiyolojik inhibisyon testlerine özgü uzun inkübasyon sürelerinden dolayı antimikrobiyal maddelerin varlığı üzerine hayvansal kökenli gıda maddelerinin taranması için farklı metodlar geliştirilmiştir (Brabandera ve ark., 2009; Cha'fer-Perica's ve ark., 2010; Coşkun ve ark., 2012).

Hayvansal gıdalarda kullanılan diğer bir veteriner ilaç kalıntısı olan anabolik maddelerin izlenmesi AB'de sadece sınırlı sayıda pozitiflik ortaya koysa da bu durum yasadışı olarak halen kullanılmakta olduğunu göstermektedir. Yasal veya illegal olarak hormonların ve ksenobiyotik ilaçların kullanımını tespit etmek ve uygun olmayan terapötik dozların önüne geçmek için kontrol programları yeni sentezlenen analoglarını kolayca tespit edilebilmesi için farklı analiz metodları kullanılmaktadır. Doku örneklerinde anabolik maddelerin ve metabolitlerinin varlığını ortaya koymak için bu bileşiklerin eser miktarlarını dahi saptayabilmek için analitik teknikler gereklidir. Gıdalarda bulunan hormon kalıntılarının hızlı tespiti için yararlanılan immünolojik testler bulunmaktadır. Bu testler antijen-antikor arasındaki spesifik etkileşime dayalı ELISA ve immünolojik kompleksteki radyoaktif aktiviteyi ölçmeye dayalı RAI yöntemleridir. İmmunassayler yüksek özgünlükleri, basitliği ve maliyet etkinliği ile karakterize olan semi-kantitatif yöntemlerdir. Bu gibi özellikleri nedeniyle rutin olarak yapılan analizler için kullanışlıdır. Yine etteki veteriner ilaç

kalıntılarını ölçmek için alternatif bir yaklaşım olarak farklı tiplerde biyosensörler geliştirilmiştir. Tanınan molekülle hedef arasındaki etkileşimin oluşumuna ve tipine bağlı olarak çeşitlilik gösteren biyosensörler FDA tarafından, normal biyolojik prosesler, patojenik prosesler veya farmakolojik yanıtların bir indikatörü olarak ölçülen ve değerlendirilen, karakteristik bir parametre olarak tanımlanmıştır (Blasco ve ark., 2007; Çetinkaya ve Elal Muş, 2010; Sawaya ve ark., 1998; Stolker ve Brinkman, 2005). Tarama testi olarak uygulanan alternatif immünokimyasal tabanlı bir yöntem de Biochip Array Teknolojisidir. Bu teknikte ilaç kalıntılarının saptanması için geleneksel tek bir analitin saptanması için kullanılan testlerden farklı olarak tek bir numunede birden fazla ilaç sınıfının eşzamanlı olarak tespit edilmesini sağlar. Bu tekniğin prensibinde ana unsur olan biochip yüzeyinde ayrı test bölgeleri bulunduran ve aynı anda kimyasal ışık veren immüno-reaksiyonların gerçekleştiği 3x3'lük 9 reaksiyon kuyucuğu bulunduran bir düzenektir (Şekil 20). Farklı birden çok ilaç grubunun eş zamanlı olarak taranmasını sağlar. İmmunoassaylerin kinetiği biochip sistemiyle birlikte sağlanan özel bir inkübatör olan thermoshakerda kontrol edilir. İmmüno-reaksiyonların tamamlanmasının ardından her biochipin yüzeyindeki farklı test bölgelerinde üretilen kemilüminesansın (kimyasal bileşim oksidasyonu yoluyla ışık oluşturan) saptanması için sinyal reaktifi eklenir. Numune, reaktifler ve yıkama basamaklarının ilavesi manuel olarak yapılırken, test sonuçlarının algılanması ve işlenmesi biochip analizörü olan Evidence Investigator tarafından -50°C'de otomatik olarak gerçekleştirilir. biochip yüzeyindeki her ayrı test bölgesinden gelen ışık sinyali aynı anda algılanır ve görüntü istasyonuna kaydedilir. Oluşan ışık sinyali kamera tarafından kaydedilir, sinyal yoğunluğu cihazdaki mevcut yazılım tarafından yorumlanır ve buna göre sonuçlar elde edilir. Bu ELISA ilkelerine dayanan BABIT çok çeşitli matrisler üzerinde çalışacak şekilde tasarlanan tarama testleri içinde alternatif bir yöntemidir (Li ve ark., 2017; Food Diagnostics, 2016)

Tarama metodlarında analizi yapılan numunede MKL'lerin aşılması, numune sonuçlarının pozitif bulunması durumunda, yasal işlem yapılabilmesi için söz konusu analitte hangi ilacın ne kadarının var olduğunu belirleyen ve açıkça tanımlayan doğrulayıcı yöntemler kullanılarak yeniden analiz yapılmalıdır. Doğrulayıcı

yöntemler çoğunlukta analitin konsantrasyonlarının miktarını belirlemek için kombine edilmiş kromatografik yöntemlerdir (Cha'fer-Perica's ve ark., 2010; Coşkun ve ark., 2012; Desphande, 2002). Yasaklı maddelerin taranması için çoklu kalıntılı metodları gereklidir. Akreditasyon giderek önem kazanmaya başladığından, kullanılan yöntemlerin ve elde edilen sonuçların doğrulanması vazgeçilmez bir unsur haline gelmiştir. İnsan gıda güvenliği ve hayvansal ürünlerde uluslararası uyumlaştırılmasının sağlayan uluslararası standartların oluşturulmasından bu yana, veteriner tıbbi ürünlerinin kalıntılarının analizinde rutin olarak GC-MS ve LC-MS güncel sistemlerin analiz metodları kullanılmaktadır. 96/23/EC direktifinde belirtilen kılavuza göre GC-MS veya LC-MS gibi gelişmiş analitik yöntemlerin kullanımı belirtilmektedir (Brabandera ve ark, 2009; Coşkun ve ark., 2012; Daeseleire ve ark., 1998; Toldra ve Reig, 2008).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Numunelerin Toplanması

2016 yılı Kasım ve Aralık ayları arasında Bursa'daki çeşitli süpermarket ve kasaplardan çoğunlukla müşteri olarak, tüketiciye sunulan dana ve broiler ırkı etlik piliçlerden 45 adet (36'sı dana eti ve 9'u broiler ırkı etlik piliç) et numunesi 100-200 g ağırlıkları arasında satın alınarak toplandı. Bu numuneler soğuk zincir kırılmadan analizi yapılacak olan Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirildi. Analizi yapılana kadar toplanan numuneler -18 °C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.1.2. Analizlerde Kullanılan Kitler ile Kimyasal ve Çözeltiler

Büyüme hızlandırıcı ajanların analizinde Growth Promoter Multiple Matrix Screen (GPMMS) EV 3726 test kiti ve antimikrobiyalların analizinde ise Antimicrobial Array-II (AM-II) EV 3524 test kiti kullanıldı.

3.1.2.1. GPMMS Analiz Prosedürü İçin Kullanılan Kimyasallar/Çözeltiler ve Hazırlanması

- Alüminyum oksit (Al_2O_3) (Aldrich, ABD)
- Glacial asetik asit (Merck, Almanya)
- Double deionize su (DDS) (Purelab, ABD)
- Column Wash Buffer (CWB) (Randox, GPMMS EV 3726, Birleşik Krallık).
20x konsantrasyonda kit içerisinde bulunan wash buffer, numune analizinde kullanılması gereken miktar kadar 1:19 oranında (1 birim konsantre CWB/19 birim DDS, v/v) oranında, dilüe edilerek hazırlandı.

- Columun Storage Buffer (CSB) (Randox, GPMMS EV 3726, Birleşik Krallık).
5x konsantrasyonunda kit içerisinde bulunan ve dilüe edilmesi gereken CSB numune analizinde kullanılması gereken miktar kadar 1:4 oranında (1 birim konsantre CSB/4 birim DDS, v/v) dilüe edilerek hazırlandı.
- Growth Promoter Assay Dilüent (Randox, GPMMS EV 3726, Birleşik Krallık).
Kullanıma hazır olarak test kitinin içerisinde mevcuttur.
- Working Strength Conjugate (WSC) (Randox, GPMMS EV 3726, Birleşik Krallık).
Kit içerisinde mevcut bulunan konsantre konjugat, konjugat dilüent ile iki aşamalı dilüsyon yapılarak WSC hazırlandı. İlk önce bir biochip üzerinde bulunan 9 carrier (aynı anda kimyasal ışık veren immüno-reaksiyonların gerçekleştiği plaka olan biochip üzerindeki 3X3'lük, numune ve reaktif eklendiğinde reaksiyon veren 9 kuyucuk) için gerekli olan miktar, 1 ml olduğu hesaplandı. Daha sonra kit içerisindeki konsantre konjugat 1/100 oranında konjugat dilüent ile dilüe edildi. Hazırlanan dilüe konjugattan alınarak 1/16 oranında konsantre konjugat ile tekrar dilüe edildi.
- Wash Buffer (WB) (Randox, GPMMS EV 3726, Birleşik Krallık).
Wash buffer kullanılmadan önce dilüsyon faktörü 31.25 dikkate alınarak 32 ml konsantre wash buffer üzerine 968 ml DDS ilave edilerek hazırlandı. Analiz boyunca +2 ila +8 °C'ler arasında 30 gün boyunca muhafaza edildi.
- Working Signal Reagent (WSR) (Randox, GPMMS EV 3726, Birleşik Krallık).
Test kiti içerisinde mevcut olan Luminal-EV841 ve Peroxide komponentleri 1:1 oranında 1 carrier için gerekli olan miktar hesaplanarak 3 ml (1,5 ml Luminal-EV805+ 1,5 ml Peroxide) olarak hazırlandı.
- Metanol/1 M NaOH (99/1, v/v) (Merck, Almanya).
1 M olarak hazırlanan NaOH 99 ml metanol içerisine ilave edilerek hazırlandı.
- Etanol/DDS (10/90, v/v) (Merck, Almanya).

Analiz sırasında gerekecek miktar hesaplandı ve 10 birim etanol üzerine 90 birim DDS ilave edildi.

- Etanol/DDS (70/30, v/v).

Analizde gerekli olan miktar hesaplandı ve 70 birim etanol üzerine 30 birim DDS ilave edilerek çözelti hazırlandı.

3.1.2.2. Antimikrobiyal Array Analiz Prosedürü İçin Kullanılan Kimyasallar/Çözeltileri ve Hazırlanması

- Assay Dilüent (Randox, AM II EV 3524, Birleşik Krallık).
Test kiti içerisinde kullanıma hazır olarak bulunmaktadır.
- Working Strength Wash Buffer (WSWB) (Randox, AM II EV 3524, Birleşik Krallık).
Dilüsyon faktörü olan 31.25 dikkate alınarak 32 ml konsantre üzerine 1 L ye tamamlanacak şekilde 868 ml DDS ilave edilerek wash buffer hazırlandı.
- Working Strength Conjugate (WSC) (Randox, AM II EV 3524, Birleşik Krallık).
Kit içerisinde mevcut olan AM II DIL CONJ (AM II Dilüent Conjugat) ve AM II CONJ kullanılarak hazırlandı. AM II DIL CONJ tan 1 ml alındı ve AM II CONJ'ın içerisine ilave edildi. 20-25 °C'de sistemin kendi karıştırıcısı olan thermoshakerda 15 dk karıştırıldı. Daha sonra 1 carrier için gerekli olan miktar hesaplandı ve ihtiyaç duyulan 1 ml WSC için 100 µl AM II CONJ+900 µl AM II DIL CONJ ile hazırlandı.
- Working Signal Reagent (WSR) (Randox, AM II EV 3524, Birleşik Krallık).
Kit içerisinde WSR hazırlamak için bulunan Luminal-EV805 ve Peroxide 1:1 oranında dilüe edilerek 1 carrier için gerekli 3 ml (1,5 ml Luminal-EV805+ 1,5 ml Peroxide) hazırlandı.

3.1.3. GPMMS ve AM-II Analizlerinde Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

Derin Dondurucu (Arçelik, Türkiye)

Vorteks (Boeco Vortex, Almanya)

Hassas Terazî (Acculab, ABD)

Rotary evaporatör (Thermo Savant, ABD)

pH metre (Inolab, Almanya)

Ultra turrax (Janke&Kunkel İka-werke, Almanya)

Karıştırıcı (Nüve, SL 350, Almanya)

Vakum manifold (Ashcroft, ABD)

Double deoinize su cihazı (Purelab, Birleşik Krallık)

Santrifüj (Sigma, Almanya)

Thermoshaker (Randox, Birleşik Krallık)

Evidence Investigator otomatik okuyucu sistem (Randox, Birleşik Krallık)

İmmunoaffinite kolonları (Growth Promoter GP1821, Randox, Birleşik Krallık)

3.2. Yöntem

3.2.1. Numunenin Hazırlanması

Analiz edilecek olan 100-200 g ağırlığındaki dana ve piliç eti numuneleri küçük parçalara ayırdı (Şekil 1, 2, 3, 4). Daha sonra 200 ml lik beherlerin içerisine konularak ultra-turrax yardımı ile homojenize edildi (Şekil 5). Her homojenizasyon işleminden sonra ultra- turraxın kesici ve doğrayıcı parçaları çıkartılıp önce su daha sonra double deoinize su ile olası bir bulaşmayı engellemek için temizlendi.



Şekil 1. Piliç etinin küçük parçalara ayrılması. **Şekil 2.** Küçük parçalara ayırma.



Şekil 3. Dana etinin parçalanması.



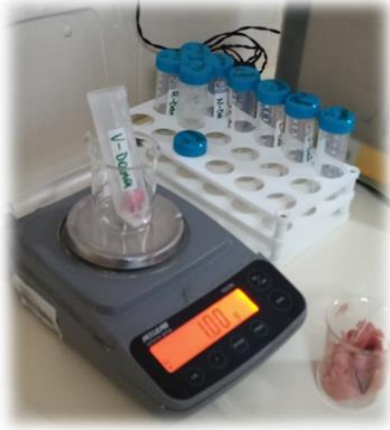
Şekil 4. Dana etinin küçük parçalara ayrılması.



Şekil 5. Küçük parçalara ayrılan etlerin ultra-turraxtan geçirilmesi.

3.2.2. AM II Analizi Ekstraksiyon Yöntemi

Homojenize edilmiş olan dana ve piliç eti numunelerinin 1 g'ı hassas terazide tartılarak (Şekil 6), 50 ml'lik santrifüj tüplerine koyuldu ve üzerine 9 ml WSWB eklendi. İlave edildikten sonra numune vorteks ile 30 sn karıştırıldı (Şekil 7). Karıştırma işleminden sonra şekil 8'de görüldüğü gibi oda sıcaklığında, 4000 rpm 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra numunelerin üstte kalan süpernatant kısmından 200 µl sıvı toplandı ve 2 ml lik ependorf tüplerine konuldu. Daha sonra ependorf tüplerinin üzerine 200 µl WSWB eklendi ve biochip uygulamasına hazır hale getirildi (Şekil 9).



Şekil 6. Homojenize dokulardan 1 g tartılması.



Şekil 7. WSWB eklendikten sonra karıştırma.



Şekil 8. Tüplerin santrifüjü.



Şekil 9. Süpernatantın ayrılması.

3.2.3. GPMMS Analizi Ekstraksiyon Yöntemi

3.2.3.1. Kolon Öncesi Ekstraksiyon Prosedürü

Homojenize edilen 1 g dana ve piliç eti numuneleri şekil 10'da görüldüğü gibi hassas terazide tartım yapılarak 1 g nötral Al_2O_3 ilave edildi. Elde edilen karışımın üzerine 5 ml Metanol/1 M NaOH çözeltisi eklendi. Ardından 2 dk vorteks ile 15 dk karıştırıcıda karıştırıldı (Şekil 11, 12). Karıştırma işlemlerinden sonra $25^{\circ}C$ 'de 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi (Şekil 13). Daha sonra her bir tüpte üst

kisimlerinde bulunan süpernatantlar, üzerilerine kodlaması yapılmış olan temiz 50 ml lik tüplere alındı. Üst kısımlarından süpernatantları alındıktan sonra geriye kalan doku birikintisi üzerine tekrar 5 ml Metanol/1 M NaOH çözeltisi ilave edildi ve tekrar aynı işlem basamaklarından geçirildi, 2 dk vortekste ve 15 dk karıştırıcıda karıştırıldı. Ardından 25 °C’de 3000 rpm’de 15 dk santrifüj işlemi tekrar edildi. Santrifüj işleminden sonra üstte kalan süpernatant kısmı daha önceki diğer işlem basamaklarında elde edilip temiz tüpe ayrılmış olan süpernatantın üzerine ilave edildi. Aynı tüpte birleştirilen süpernatantlar -20 °C’de en az yarım saat (aynı işlem süreyi kısaltmak adına -80 °C’de yapılabilir) bekletilerek donduruldu. Dondurulma işleminden sonra dondurucudan alınan süpernatantlar 25 °C’de 3000 rpm’de 15 dk santrifüj edildi. Santrifüjden sonra üst kısımda bulunan süpernatanttan 2 ml başka bir temiz tüpe alınarak üzerine 18 ml CWB ilave edildi ve 5 dk karıştırıcıda karıştırıldı. Karıştırma işleminden sonra numune Growth Promoter (Randox, GP1821) immunoafinite kolonları için hazır hale getirildi.



Şekil 10. Homojenize dokulardan 1 g tartılması.



Şekil 11. Karışımın vortekslenmesi.



Şekil 12. Karıştırıcıda karıştırma işlemi. Şekil 13. Karıştırmadan sonraki santrifüj.

3.2.3.2. Kolon Prosedürü

Bu aşamada, analiz yapılana kadar +4 °C'de muhafaza edilen Growth Promoter (Randox, GP1821) immunoafinite kolonları kullanıldı (Şekil 14, 15). Kolondan geçirilecek olan çözeltiler ve benzeri maddelerin kolondan akıtılmasına yardımcı olmak amacıyla şekil 16'da görüldüğü gibi vakum manifoldu cihazı kullanıldı. Öncelikle kolonların muhafazasında kullanılan CSB kolonlardan geçirildi. Daha sonra CWB kolondan akıtılarak ile kolon şartlandı. Bu işlemin ardından pH'ı glacial asetik asit ile pH metrede 4'e ayarlanan etanol, akış hızı dakikada 2 ml den az olmak koşuluyla kolondan geçirildi. pH'ı 4 olan etanolün kolondan geçirilmesinin ardından 5 ml DDS yine akış hızı dakikada 2 ml den az olmak koşuluyla kolondan geçirildi. Daha sonra Kolon Öncesi Doku Ekstraksiyon Prosedürü'nde hazır hale getirilen 20 ml numune yerçekimi etkisiyle kolondan geçirildi. Numunenin kolondan geçirilmesinin ardından 4 ml CWB ile kolon yıkandı. Son olarak 4 ml CWB ile yapılmış olan kolon yıkama işlemi tekrar edildi. Bu işlemlerin ardından akış hızı dakikada 2 ml den az olmak koşuluyla 5 ml DDS ile kolon yıkandı. Kirlilikleri uzaklaştırmak için 15 ml Etanol/DDS (10/90, v/v) ile kolon yıkama işlemi tekrarlandı. En son yapılan aşamadan sonra belli bir akış hızıyla kolondan geçirilip bir yerde toplanan sıvı kirlilikler uzaklaştırılıp her bir kolonun altına numune ile eş olarak kodlanmış temiz cam tüpler yerleştirildi. Temiz tüpler kolonların altına yerleştirildikten sonra kolona tutunmuş olan büyüme ilerletici madde rezidüleri pH'ı 4 olan 4 ml etanolün kolondan geçirilmesiyle elüe edildi. Elde edilen elüentler temiz

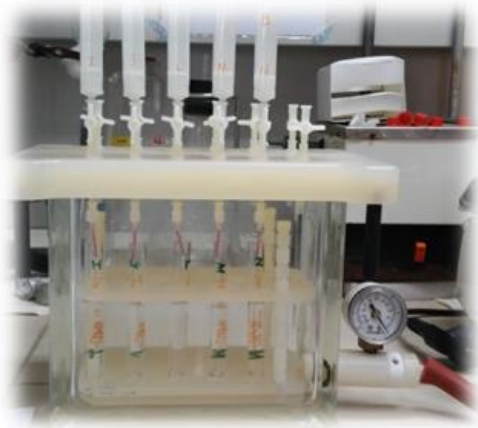
cam tüplere alındı. Kolonda kalan kirlilikleri uzaklaştırmak için 15 ml Etanol/DDS (70/30, v/v) akış hızı dakikada 2 ml den az olarak kolondan geçirildi. Aynı kolonla birden fazla numune çalışılmayacaksa kolon 20 ml CSB ile yıkandı ve sonrasında kolonun muhafazası için içerisinde CSB ile +2 ila +8 °C'ler arasında saklandı. Eğer aynı kolon kullanılarak numune analizine devam edilecek ise kolon prosedüründeki basamaklar tekrar edildi.



Şekil 14. GPMMS analizinde kullanılan immunoaffinite kolonlar.



Şekil 15. İmmunoaffinite kolonlar.



Şekil 16. Vakum manifold cihazında ayırma işlemi.

3.2.3.2. Kolon Sonrası Prosedür

Temiz cam tüplere toplanan yaklaşık 4 ml etanollü elüentler şekil 17’de görülen evaporatör sistemi kullanılarak 60 °C’de (-100 °C’de yapılan uçurma işlemi aynı görevi görmektedir) hava akımı altında uçurma işlemine tabii tutuldu. Belli bir süre sonra elüentlerin tamamen uçtuklarından emin olunduktan sonra kuru elüentlerin üzerine GPMMS kitinin içerisinde kullanıma hazır olarak bulunan 0,5 ml Growth Promoter Assay Dilüent ilave edilerek çözdürüldü. Her tüp iki dakika vorteks yardımıyla karıştırılıp, içerisindeki kuru elüent iyice çözdürüldü ve bu aşamadan sonra numuneler biochip için hazır hale getirilmiş oldu.

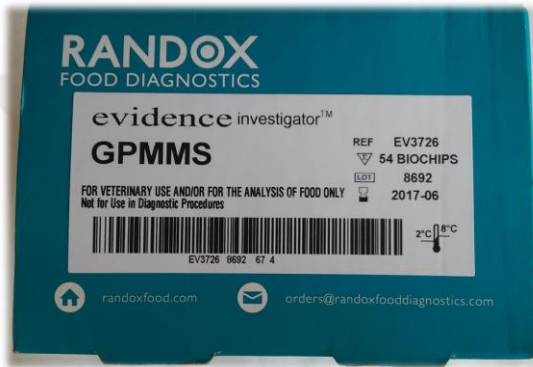


Şekil 17. Evaporatör sistemi ve uçurma işlemi.

3.2.4. GPMMS ve AM II Analiz Protokolü

Analizde GPMMS EV 3726 ve AM II EV 3524 test kitleri kullanıldı (Şekil 18, 19, 20, 21). Her bir test kitinin içerisinde mevcut olan 9 kuyucuğa sahip carrierler analizde kullanıldı (Şekil 22). Belirtilmiş olan analiz protokolü dikkate alınarak analiz yapıldı. İlk olarak carrierin her bir kuyucuğuna yine test kitlerinde kullanıma hazır olarak bulunan assay dilüentlerden (GPMMS DIL ASY ve AM II DIL ASY) otomatik pipet yardımıyla 100 µl aktarıldı. Daha sonra assay dilüent bulunan kuyucukların üzerine ekstraksiyon ile biochip için hazır hale gelen numunelerden 100 µl otomatik pipet yardımıyla alınarak kuyucukların yüzeyine temas ettirilmeden kuyucuklara aktarıldı (Şekil 23). Bu işlemlerin ardından carrier 25 °C’de 370 rpm’de 30 dk thermoshakerda inkübasyona bırakıldı (Şekil 24). Thermoshakerdan alınan carrierdeki kuyucuklara 100 µl Working Strenght Conjugate kuyucuklara eklendi.

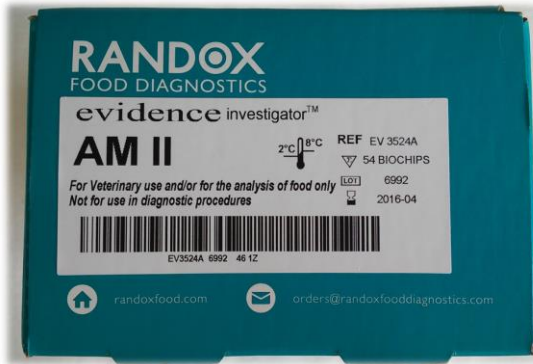
Bu işlemin ardından carrier tekrar thermoshakerda 25 °C’de 370 rpm’de 60 dk inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra carrier üzerindeki sıvılar uzaklaştırılarak kuyucuk tabanına tutunmuş olan reaktifleri ayırmak için yaklaşık 350 µl dilüe wash buffer ile iki kısa ve dört uzun süreli olmak üzere yıkama işlemi gerçekleştirildi. İlk yıkama 10-15 sn tablanın kenarlarına vurularak ardından carrierdeki sıvı uzaklaştırılarak iki kez yıkandı. İki kısa yıkama işleminin ardından ikişer dakika bekleme süresine dikkat edilerek dört yıkama işlemi daha yapıldı.



Şekil 18. Kullanılan GPMMS EV3726 test kiti.



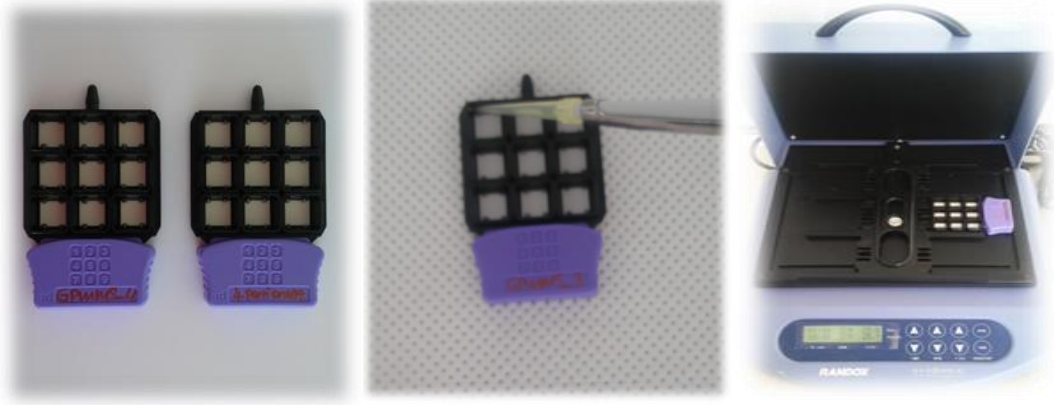
Şekil 19. Kullanılan test kiti.



Şekil 20. Analizde kullanılan AM II EV 3524 test kiti.



Şekil 21. Kullanılan test kiti.



Şekil 22. Kit içerisindeki carrierler. Şekil 23. Kuyucuğa numune aktarılması. Şekil 24. Thermoshaker

3.2.5. GPMMS ve AM II Görüntüleme İşlemi

Analiz protokündeki son yıkama işleminin ardından carrier üzerindeki sıvılar uzaklaştırıldıktan sonra her bir kuyucuğa daha önceden kit içerisinde bulunan komponentler dilüe edilerek hazırlanan WSR eklendi. Görüntüleme solüsyonunun eklenmesinden tam iki dakika sonra Evidence Investigator cihazının içine yerleştirilip okuma otomatik olarak yapıldı (Şekil 25). Sonuçlar hesaplanırken GPMMS analizi için dilüsyon faktörü 2,5 alınırken AM II analizi için dilüsyon faktörü 20 olarak uygulandı.



Şekil 25. Otomatik okuma yapan Evidence Investigator cihazı.

3.2.6. Görüntüleme İşleminin Prensipi ve Sonuçların İşlenmesi

ELISA ilkelerine dayanan BABIT geleneksel tarama testlerinden farklı olarak tek bir numunede birden çok ilaç grubunu eş zamanlı olarak tespit edilmesini sağlayan bir multi analit analiz tekniğidir.

Biochip carrier yüzeyinde bulunan antibodyler ile analit arasındaki etkileşim sonucu oluşan sinyal Charge-coupled device (CCD) kamera ile biochip görüntüsü yakalanıp oluşan sinyal işlenerek sonuçlar bilgisayar ekranında okunur.

Bu teknikte AM-II analizinde 6 farklı ana grup antimikrobiyal tespitinde /ölçümünde bulunulsa da sonuçlar grup üyesi olan antimikrobiyaller cinsinden elde edilmektedir. Örneğin; fenikol grubunda bulunan tiamfenikol ve florfenikolün analizi yapılsa da sonuçlar tiamfenikol cinsinden sistem tarafından verilmektedir. Diğer ana gruplardan sefalosporin grubunda üyesi olan seftiofur, aminoglikozid grubunda streptomisin ve son olarak makrolid grubunun üyesi olan taylozine göre sonuçlar elde edilmektedir.

4. BULGULAR

Bursa’da satıŖa sunulan dana ve broiler etlerinde antimikrobiyal (kinolonlar, sefalosporinler, fenikoller, aminoglikozidler, makrolidler, tetrasiklinler) ve büyüme hızlandırıcı ajanların (β -agonistler, boldenon, kortikosteroidler, nandrolon, raktopamin, stanozol, stilben, trenbolon, zeranol) kalıntı varlığını tespit etmek için farklı market ve kasaplardan toplanan numuneler BABIT tekniğiyle analiz edildi. 45 et numunesinin antimikrobiyal analiz sonucu Tablo 1, 2 ve 3’te verilmiŖtir.

Tablo 1. Marketlerden temin edilen dana etlerinin antimikrobiyal analiz sonuçları.

Antimikrobiyal Market (M)	QNL $\mu\text{g/kg}$ (ppb)	CEFT $\mu\text{g/kg}$ (ppb)	TAF $\mu\text{g/kg}$ (ppb)	STR $\mu\text{g/kg}$ (ppb)	TYL $\mu\text{g/kg}$ (ppb)	TCN $\mu\text{g/kg}$ (ppb)
M1	-	-	-	-	-	-
M2	-	-	-	-	-	-
M3	-	-	-	-	-	-
M4	-	-	-	-	-	-
M5	-	-	-	-	-	-
M6	-	-	-	-	-	-
M7	-	-	-	-	-	-
M8	-	-	-	-	-	-
M9	-	-	-	-	-	-
M10	-	64,8	-	-	-	-
M11	78,56	-	-	-	-	-
M12	-	-	>92	-	-	-
M13	-	-	-	-	-	>57,60
M14	-	-	-	-	72,57	-
M15	-	-	-	251,73	-	-
M16	-	-	-	-	-	-
M17	-	-	-	-	-	-
M18	-	66,01	-	-	-	-

QNL: Kinolonlar, **CEFT:** Seftiofur, **TAF:** Tiamfenikol, **STR:** Streptomisin, **TYL:** Taylozin, **TCN:** Tetrasiklin, (-): Negatif.

Antimikrobiyal kalıntı analizinde Tablo 1 ve 2’de görüldüğü gibi farklı market ve kasaplardan temin edilen toplam 36 dana eti numunesinin 10 tanesinde sonuç pozitif, 26 tanesinde ise negatif sonuç elde edildi. Pozitif olan 10 numune 6 farklı antimikrobiyal açılarından pozitif olarak gözlenmiştir.

Tablo 2. Kasaplardan temin edilen dana etlerinin antimikrobiyal sonuçları.

Antimikrobiyal Kasap (K)	QNL µg/kg (ppb)	CEFT µg/kg (ppb)	TAF µg/kg (ppb)	STR µg/kg (ppb)	TYL µg/kg (ppb)	TCN µg/kg (ppb)
K1	-	-	-	-	-	-
K2	-	-	-	-	-	-
K3	-	-	-	-	-	52,21
K4	-	-	-	-	-	-
K5	-	-	-	-	-	-
K6	-	-	-	-	-	-
K7	-	-	-	-	-	-
K8	-	-	-	-	-	-
K9	-	-	-	-	-	-
K10	-	-	-	-	-	-
K11	-	-	-	-	-	-
K12	-	-	-	-	-	-
K13	-	-	-	-	-	-
K14	-	-	-	-	-	-
K15	-	-	-	-	-	-
K16	-	65,79	-	-	-	-
K17	-	65,07	-	-	-	-
K18	-	-	-	-	-	-

QNL: Kinolonlar, **CEFT:** Seftiofur, **TAF:** Tiamfenikol, **STR:** Streptomisin, **TYL:** Taylozin, **TCN:** Tetrasiklin, **(-):** Negatif.

Tablo 3’de görüldüğü gibi 9 broiler numunesinde 6 farklı antimikrobiyal grubundan sadece tetrasiklin grubu 2 numunede tespit edildi.

Tablo 3. Marketlerden temin edilen farklı markalı broiler etlerinin AM-II sonuçları.

Antimikrobiyal Broiler eti (B)	QNL µg/kg (ppb)	CEFT µg/kg (ppb)	TAF µg/kg (ppb)	STR µg/kg (ppb)	TYL µg/kg (ppb)	TCN µg/kg (ppb)
B1	-	-	-	-	-	-
B2	-	-	-	-	-	-
B3	-	-	-	-	-	49,84
B4	-	-	-	-	-	-
B5	-	-	-	-	-	-
B6	-	-	-	-	-	50,92
B7	-	-	-	-	-	-
B8	-	-	-	-	-	-
B9	-	-	-	-	-	-

QNL: Kinolonlar, **CEFT:** Seftiofur, **TAF:** Tiamfenikol, **STR:** Streptomisin, **TYL:** Taylozin, **TCN:** Tetrasiklin, **(-):** Negatif.

45 et numunesinin büyüme hızlandırıcı ajanların varlığının tespiti için BABIT tekniğiyle GPMMS analizi yapıldı. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilen Tablo 4 ve 5’de sunulmuştur. Tüm dana ve broiler eti numunelerinde 9 farklı büyüme hızlandırıcı grup/etken madde tespit edilmemiştir.

Tablo 4. Market ve kasaplardan temin edilen dana etlerinin büyüme hızlandırıcı ajan sonuçları.

Büyüme artırıcı Market(M)Kasap(K)	BD	ZN	RP	CS	NT	SB	TB	SZ	BA
M1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M14	-	-	-	-	-	-	-	-	-

M15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M18	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K10	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K11	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K14	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K18	-	-	-	-	-	-	-	-	-

BD: Boldenon, **ZN:** Zeranol, **RP:** Raktopamin, **CS:** Kortikosteroid, **NT:** Nandrolone, **SB:** Stilben, **TB:** Trenbolon, **SZ:** Stanozol, **BA:** Beta agonistler, **(-):** Negatif.

Tablo 5. Marketlerden temin edilen farklı markalı broiler etlerinin büyüme hızlandırıcı ajan sonuçları.

Büyüme arttırıcı Broiler eti (B)	BD	ZN	RP	CS	NT	SB	TB	SZ	BA
B1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B9	-	-	-	-	-	-	-	-	-

BD: Boldenon, **ZN:** Zeranol, **RP:** Raktopamin, **CS:** Kortikosteroid, **NT:** Nandrolone, **SB:** Stilben, **TB:** Trenbolon, **SZ:** Stanozol, **BA:** Beta agonistler (-): Negatif.

Tablo 6. Tüm numunelerdeki pozitif örneklerin µg/kg (ppb) cinsinden miktarları.

Numune Antimikrobiyal	Pozitif Numune sayısı	Market(M)	Kasap (K)	Dana	Broiler
QNL µg/kg (ppb)	1	1	-	78,56 (M)	-
CEFT µg/kg (ppb)	4	2	2	64,80 (M) 66,01 (M) 65,79 (K) 65,07 (K)	-
TAF µg/kg (ppb)	1	1	-	>92 (M)	-
STR µg/kg (ppb)	1	1	-	251,73 (M)	-
TYL µg/kg (ppb)	1	1	-	72,57 (M)	-
TCN µg/kg (ppb)	4	3	1	>57,6 (M) 52,21 (K)	49,84 (M) 50,92 (M)

QNL: Kinolonlar, **CEFT:** Seftiofur, **TAF:** Tiamfenikol, **STR:** Streptomisin, **TYL:** Taylozin, **TCN:** Tetrasiklin (-): Negatif, **M:** Market, **K:** Kasap.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

1940'lı yılların başında antibiyotikler kullanıma başlandıktan sonra insanlardaki bakteri enfeksiyonlarının kontrolünden meydana gelen dramatik gelişim ve yaygınlığın ardından, bu ilaçlar 1950'lerde veteriner hekimlik alanına da sunuldu. Antibiyotikler hayvanlarda tedavi, koruyucu ve büyüme arttırıcı olarak kullanılır. Hayvanlarda da tıbbi olarak beşeri hekimlikte kullanılanlarla aynı antibiyotik sınıfları kullanılır. Çok sayıdaki hayvanın ve sanayileşmiş gıda hayvanlarının üretimi nedeniyle birçok ülkede gıda üretiminde kullanılan antibiyotik miktarı, insanlarda tıbbi olarak kullanılan miktarları aşmış durumdadır. Birçok ülkede antibiyotikler üreticiler tarafından büyümeyi arttırmak için subterapötik dozlarda gıda değeri olan hayvanların yemlerine ilave edilmekteydi. Ancak antibiyotik direnç genlerinin hayvanlardan insanlara geçebileceğine dair kanıtlar bulunmasından sonra direnç mekanizması incelenmiş, tanımlanmış ve bunların gıda zincirine geçişi ortaya konmuştur. WHO'da gıda hayvanlarında antimikrobiyal maddelerin etkileri üzerine bir rapor yayınlamış ve epidemiyolojik olarak ikisi arasında bir bağ olduğunu bildirmiştir (Dibner ve Richards, 2005; WHO, 2011).

Veteriner antibiyotiklerin yanı sıra büyümeyi teşvik edici etkilere sahip olan diğer maddelerin besi değeri olan çiftlik hayvanlarında kullanımını ekonomik bir fayda sağlayabilir. Anabolik veya anabolik etkili steroidler kilo artışı ve karkas kalitesini arttırır, β -agonistler ise kasaplık hayvanların çoğunda kilo artışına ve kas doku miktarının artışına neden olur ve yağ doku miktarını azaltır. Ayrıca diğer büyüme arttırıcı amaçla kullanılan kortikosteroidler muhtemel su tutma nedeniyle ekstra kilo alımına neden olurlar. Bununla birlikte, et ve diğer hayvan kaynaklı gıdalardaki kalıntıları, tüketiciler için zararlı etkilere neden olabilir. Oluşan bu etkiler büyüme hızlandırıcı olarak kullanılan maddenin (β -agonist, kortikosteroid, anabolik steroid, non-steroid anabolik etkili maddeler) türüne ve içeriğindeki içeriğe bağlı olarak değişir (Brabander ve ark., 2007; Reig ve Toldra, 2009).

Anabolik amaçla kullanılan gerek antibiyotikler gerekse hormon ve benzer etkili maddelerin et, süt, yumurta ve benzeri ürünlerdeki kalıntıları tüketiciler üzerinde ciddi sağlık sorunları oluşturabilmektedir. Bu etkilerin önüne geçilebilmesi için kullanımları Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, AB’de ve WHO tarafından yasalarca düzenlenmiş veya kısıtlama getirilmiştir. Bu kapsamda bu çalışmada besi sığırı ve kanatlı etlerindeki antimikrobiyal ve büyüme arttırıcı madde kalıntıları ve tüketiciler için olan risklerin Bursa ili açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi aşağıda yapılmıştır.

Bursa merkezdeki büyük süpermarket ve bazı kasaplardan toplanan 36’sı dana eti, 9’u broiler eti olan numunelerin BABIT ile analizleri sonucunda numunelerde anabolik etkili büyüme hızlandırıcı ajanlardan hiçbirine rastlanmamıştır (Tablo 4 ve 5). Bu sonuçlar, Bursa’da tüketime sunulan kırmızı ve kanatlı etlerinin büyüme hızlandırıcı hormon ve diğer kimyasal maddelerin kullanılmadığını göstermesi veya bu etlerin bu maddeler bakımından sağlıklı olduğunu kanıtlaması ve tüketicilerin sağlığının korunması bakımından önemlidir.

Aynı numunelerdeki antimikrobiyal etkili maddelerin analizinde, aynı teknik ve AM-II kiti kullanılmıştır. Bu teknikte kullanılan AM-II kitinde, kinolon, fenikol, makrolit ve tetrasiklinler grup olarak, seftiofur ve streptomisin etkin madde olarak analiz edilebilmektedir. Antimikrobiyal maddelerin analizleri sonucunda 36 kırmızı et numunesinden 10’unda pozitif sonuç elde edildi. Analizi yapılan antimikrobiyal gruplardan; kinolonlarda sadece 1 adet numunede (78,56 µg/kg), seftiofur 4 adet numunede (64,80-66,01 µg/kg arasında), fenikol grubunda 1 adet numunede (>92 µg/kg), streptomisinde 1 adet numunede (251,73 µg/kg), makrolit grubundan yine 1 adet numunede (72,57 µg/kg) ve tetrasiklin grubunda 2 adet numunede pozitif sonuç (>57,6 ve 52,21 µg/kg düzeylerinde) alınmıştır. Genellikle elde edilen sonuçlar (iki kırmızı et numunesi hariç), Tablo 7’de görüldüğü gibi TGK’de belirtilen MKL’lerini aşmamıştır. Pozitif olarak yorumlayabileceğimiz M12 kodlu dana eti numunesinde fenikol grubundan tiamfenikol ve florfenikol ölçümü yapılmış sonuçlar cihaz tarafından tiamfenikol cinsinden elde edilmiştir. Bu sonuç dilüsyon faktörüyle birlikte cihazın ölçüm aralığı olan 0-5 µg/kg üstünde kalmış ve sonuç >92 µg/kg

olarak verilmiştir. Bu durum numunede var olan fenikol grubu ve özellikle tiamfenikol için riskli bir durum ortaya çıkarmaktadır. Çünkü Tablo 7’de de görüldüğü gibi yasalarda belirtilen MKL’leri tiamfenikol için 50 µg/kg, florfenikol için ise 200 µg/kg’dır. Bu durumda tiamfenikol miktarının maksimum kalıntı limitlerini geçmektedir ve tüketiciler açısından dikkate alınması gereken bir durumdur. Aynı durum tetrasiklin grubu açısından, M13 kodu dana eti için de geçerlidir. Ancak, bu analiz tekniği bir tarama testi olduğundan bu tür şüpheli sonuçların doğrulanması; doğrulama için enstrümental tekniklerden HPLC veya LC-MS gibi nicel olarak daha hassas analiz yöntemlerinin kullanılması ve sonuçların kesinleştirilmesi gerekir. Ancak elimizdeki olanak yetersizliği nedeniyle bu doğrulama yapılamamıştır.

Marketlerden farklı markalardan temin edilen broiler etlerinde yapılan antimikrobiyal analizinde ise sadece tetrasiklin grubunda 2 numune 49,84 µg/kg ve 50,92 µg/kg düzeylerinde pozitif sonuç edildi. Fakat tayin edilen bu miktarlar TGK’de kanatlı etlerinde tetrasiklin için belirtilen 100 µg/kg MKL’lerini aşmadığı için tüketiciler için herhangi bir sorun teşkil etmemektedir. Bu çalışma sonuçlarına göre, Bursa piyasasında büyük süpermarket ve kasaplarda satışa sunulan ve tarafımızdan analizi yapılan numunelerin genel olarak Bursa’daki tüketicilerin sağlığı açısından bir risk oluşturmayacağı görülmektedir. Ancak fenikol ve tetrasiklin grubundaki iki numune (sırasıyla >92 µg/kg ve >57,6 µg/kg) sonuçları için sistem tam sayısal bir rakam vermemiş ve belirli ölçüm değerlerinin (fenikol ve tetrasiklin için sırasıyla; 0-100,0 ppb, 0-50,0 ppb) üzerinde sonuçlar elde edilmiştir. Bu numunelerdeki fenikol ve tetrasiklin miktarları MKL’lerini geçme olasılığı bulunduğu için tüketici sağlığı açısından bir risk oluşturma potansiyelleri olabileceği kanısına varılmıştır.

Tablo 7. Analizi yapılan antibiyotiklerin Türk Gıda Kodeksi'ne göre belirtilen maksimum kalıntı limitleri.

Antimikrobiyal		Hayvan Türü	
		Sığır (kas) µg/kg (ppb)	Kanatlı (kas) µg/kg (ppb)
Kinolon		100 µg/kg	100 µg/kg
Seftiofur		1000 µg/kg	-
Streptomisin		Tüm geviş getiren 500 µg/kg	-
Taylosin		Tüm gıda değeri olan hayvanlarda 100 µg/kg	
Tetrasiklin	Oksitetrasiklin	Tüm gıda değeri olan hayvanlarda 100 µg/kg	
	Tetrasiklin	Tüm gıda değeri olan hayvanlarda 100 µg/kg	
	Klortetrasiklin	Tüm gıda değeri olan hayvanlarda 100 µg/kg	
Fenikol	Tiamfenikol	Tüm gıda değeri olan hayvanlarda 50 µg/kg	
	Florfenikol	200 µg/kg	100 µg/kg
	Kloramfenikol	MKL oluşturulamaz	

Türkiye'de yapılan büyüme hızlandırıcı ajanların diğer araştırmacılar tarafından yapılan analizlerin sonuçlarını inceleyecek olursak; Akkaya ve ark. (2004), Türkiye'de yetiştirilen etlik piliçlerde GC-MS sistemiyle büyüme hızlandırıcı maddelerin analizini yapmış; bazı numunelerde DES'i 1500 ng/kg, zeranolü 2500 ng/kg, östrodiolü 1500 ng/kg ve klenbuterolü 2500 ng/kg olarak tespit etmiştir. Mor ve ark. (2011), sığırların doku örneklerinde ELISA ile zeranol ve trenbolon kalıntılarının varlığı sırasıyla 102-433 ng/kg ve 91-197 ng/kg olarak bulmuştur. Oruç ve ark. (2007) sığır etlerinde ELISA ile yaptıkları zeranol, DES, klenbuterol, 17 β-östrodiol ve testosteron kalıntıları çalışmalarında 81 sığır eti örneğinden ikisinde zeranol 456,7 ng/kg ve 1501,3 ng/kg, 80 sığır eti örneğinin 11'inde DES 51,2-161 ng/kg arasında tespit etmiştir. 29 örneğin üçünde 117,4-452,9 ng/kg miktarları arasında testosteron bulunurken numunelerin hiçbirinde klenbuterol ve 17 β-östrodiol kalıntısına rastlanmamıştır.

Türkiye’de büyüme hızlandırıcı maddelerin kalıntılarıyla ilgili çalışmalara bakıldığında genel olarak düşük miktarlarda tespit edilmiştir. Bunların Türkiye’de yasak olmasına rağmen belirtilen çalışmaların yapıldığı tarihlerde kullanıma ihtimalleri daha yüksektir. Özellikle analiz sonuçları 500-1000 ng/kg ve üzeri olanların pozitif olma ihtimali çok yüksek olmakla birlikte daha düşük değerler analiz yöntemlerinden kaynaklanan yanlış değerlendirmelerle pozitif sonuç elde edilme ihtimali vardır. Özellikle ELISA ile yapılan analizlerde bu durumla sıklıkla karşılaşılabilir (Sawaya ve ark., 1998). Büyüme hızlandırıcı bu maddelerden bir kısmı doğal olarak vücutta bulunan hormon yapısında maddeler olduğu için normal düzeyleri de daha düşük pozitif sonuç vermesine neden olmuş olabilir. Bu tez çalışması sonuçlarının negatif olarak tespit edilmesi tüketici sağlığı açısından bir risk oluşturmayacağını ortaya koymaktadır. Bu çalışmadaki negatif tespitlerin en önemli nedenleri kamuoyundaki duyarlılık ve büyük marketlerin böyle bir riske girmek istememeleri ve tüketicilerin bilinçlenmesi, basılı ve görsel medyanın da bu haberlere ilgi duyması ve Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’nın yaptığı kontrol çalışmaları olabilir. Akkaya ve ark. (2004) elde ettiği sonuçlar dışında elde ettiğimiz sonuçlar diğer araştırmacıların sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Bunun en önemli nedeni Türkiye’de 2003 yılında yayınlanan “Gıda Değeri Olan Hayvanlara Uygulanması Yasaklanan ve Belli Şartlara Bağlı Hormon ve Benzeri Maddeler Hakkında Tebliğ” ile anabolik amaçla bu maddelerin kullanımı yasaklanması olabilir. Bu maddelerin kullanımlarına sadece tedavi amacıyla izin verilmektedir.

Yurtdışında yapılan benzer çalışmalarda, örneğin Makedonya’da sığırlarında yapılan 19 Nortestosteron analizinde de insan sağlığını tehdit edecek sonuçlar bulunmamıştır (Uzunov ve ark., 2013). Klenbuterolü yüksek miktarda içeren karaciğer (Brambilla ve ark., 1997; Martinez-Navarro, 1990; Pulce ve ark., 1991; Salleras ve ark., 1995) ve et tüketimi sonrası (Barbosa ve ark., 2005) insanlarda zehirlenmeler görülebilmektedir. Meksika’da sığırlarında yapılan çalışmada (Estrada-Montoya ve ark., 2008) ise klenbuterol düzeylerinin insan sağlığını tehdit etmeyecek düzeylerde olduğu bildirilmiştir. Umman’da tavuk etlerinde yapılan çalışmada (Kadım ve ark., 2008) 17 β -östrodiol ve testosteron

sonuçlarının halk sağlığını tehdit edebilecek düzeylerde olduğu ancak trenbolon seviyelerinin bir risk oluşturmayacağı bildirilmektedir.

Yurtdışındaki etlerde elde edilen anabolizan etken madde kalıntılarının insan sağlığını tehdit edebilecek düzeylere ulaşabileceği görülmektedir. Bu tez çalışması sonuçlarının yurtdışındaki sonuçlara göre pozitiflik içermediği ve Bursa’da tüketime sunulan kırmızı ve beyaz etlerin çok daha güvenli olduğu görülmektedir.

Türkiye’de, antimikrobiyal etkili madde kalıntılarıyla ilgili çalışmalara baktığımızda; Oruç ve ark. (2007), sığır etlerinde streptomisin ve sulfametazin kalıntılarını ELISA ile tespit etmeleri sonucu 63 sığır etinden dördünde 25,2-31,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ortalama olarak $28,37\pm 1,30$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak tespit edilmiştir. 60 numunenin birinde 12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ olarak sülfametazin tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar Tablo 1 ve 2’de sunulan sonuçlarda olduğu gibi MKL’nin altında bulunmuştur. Er ve ark. (2013), Ankara’da besi sığır ve tavuk etlerinde yaptıkları çalışmada, kinolon grubu antibakteriyel düzeylerinin yasal limitleri aşmadığını bildirmektedir. Çetinkaya ve ark. (2012), Bursa’da tavuk etlerinde antibiyotiklerden tetrasiklin grubu kalıntı araştırmasında bulunan sonuçların halk sağlığı için bir risk oluşturmayacağını bildirmektedir. Erdoğdu ve ark. (2009), tüketime sunulan sığır ve koyun etlerinde tetrasiklin türevi antibiyotiklerin kalıntılarını tarama için Charm II tekniği ve miktar tayini için HPLC-UV sistemini kullanarak 11 sığır eti rneğinde, TKG’nde belirtilen MKL’leri üzerinde ortalama $906,6$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($275-2540$ $\mu\text{g}/\text{kg}$), 1 sığır eti örneğinde de MKL altında ($32,4$ $\mu\text{g}/\text{kg}$) oksitetrasiklin bulmuştur. Bu tez çalışmasının sonuçları, fenikol ve tetrasiklin grubu kalıntı içeren iki kırmızı et sonucu dışında, Türkiye’de daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarıyla paralellik göstermektedir ve MKL’nin altında kalmaktadır. Ancak iki kırmızı et numunesinde tespit edilen fenikol ve tetrasiklin grubu kalıntı miktarları, Erdoğdu ve ark. (2009)’nın bazı koyun etlerinde MKL’nin üzerinde tespit ettikleri miktarlar gibi bu limiti geçme ihtimali ve dolayısıyla tüketiciler sağlığı için risk oluşturma potansiyeli bulunmaktadır.

Gıda değeri olan hayvanlarda düşük dozlarda kullanılan antibiyotikler yenilebilir dokularında kalıntıya neden olabileceğinden bu maddeler için yasal

arınma süresi oluşturulmuştur. Bu süreden önce kesime gönderilen hayvanların yenilebilir dokularında biriken antibiyotik kalıntıları insan sağlığını olumsuz etkilemektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar neticesinde analiz edilen numunelerin iki numune haricinde hiçbiri Türk Gıda Kodeksi MKL'lerini aşmamaktadır. İki ayrı dana etinde fenikol ve tetrasiklin grubu antibiyotik kalıntılarının MKL'ni aşma potansiyeli ve tüketici sağlığı açısından da bir risk oluşturma potansiyeli bulunmaktadır.

Yurtdışında antimikrobiyal kalıntılarıyla ilgili yapılan benzer çalışmalarda Umman'da tavuk etlerinde yapılan bir çalışmada (Kadım ve ark., 2008), tetrasiklin, streptomisin, sülfametazin ve kloramfenikol düzeylerinin halk sağlığını tehdit edecek düzeylerde olmadığı bildirilmiştir. Bangladeş'te tavuk etlerinde ve diğer dokularında florokinolon grubu ve amoksisilin kalıntılarının araştırıldığı bir çalışmada (Sattar ve ark., 2014), etlerde tespit edilen miktarların halk sağlığı için bir risk oluşturmadığı görülmektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar da genellikle tüketici sağlığı için bir risk oluşturma potansiyeline sahip değildir ve bu nedenle sonuçlar arasında belirli bir oranda benzerlik bulunmaktadır.

Kanatlı eti başta olmak üzere diğer et gruplarında hormon kullanıldığı iddiasının asılsız olduğu Filazi ve ark. (2015) da belirttiği gibi kanatlı sektöründe, günümüzde tüm dünyada kanatlı sağlığı, besleme, ıslah, yetiştiricilik ve ürünlerin üretimi için farklı disiplinlerin entegre olmasıyla birlikte kısa sürede etlik piliçler uygun canlı ağırlığına ulaşmaya başlamıştır. Elbette bu gelişimde antibiyotiklerin payı vardır. Ancak tüm bu gelişmeler antibiyotik ve hormon kullanımına bağlamak doğru değildir.

Sonuç olarak, Şireli ve ark. (2015) da belirttiği gibi yazılı ve görsel medyada yer alan, bilimsel gerçekleri ve sonuçları yeterince içermeyen açıklamalar, yanlış yönlendirilen tüketiciler, ortaya çıkan yanlış algılar temel hayvansal protein kaynaklarından biri olan etlerin tüketiciler gözünde sağlığa zararlıymış gibi yansıtılmasına ve yersiz şüphe uyanmasına neden olmaktadır. Bu nedenle de sağlıklı ve güvenilir hayvansal gıda üretimi için, üretimin her aşamasında gıdaların kalıntı

yönünden kontrol edilmesi gerekmektedir. Bu kontrollerin özellikle Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı bünyesinde belirli periyotlarla, objektif bir şekilde yapılmaya devam etmesi ve sonuçların şeffaf bir şekilde tüketicilerle paylaşılması sağlanmalıdır.



6. KAYNAKLAR

Akkan HA, Karaca M (2003) Veteriner iç hastalıklarında antibiyotiklerin kullanımı. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 14 (2): 72-77.

Akkaya R, Akıllı A, Gürel Y ve ark (2004) Türkiye’de yetiştirilen etlik piliçlerin et ve diğer organlarının anabolik hormonlar, beta-agonistler ve pestisidler ile kirlenme durumunun incelenmesi. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi 15: 1-2.

Aksoy A, Dağoğlu G (1998) Zeranol ve nandrolon’un (19-nortestosteron hekzafenilpropiyonat) Akkaraman ırkı erkek kuzularda, canlı ağırlık artışı, FSH, LH, total testosteron ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 9 (1-2): 17-28.

Angelos JA, Dueger EL, George LW (2000) Efficacy of florfenicol for treatment of naturally occurring infectious bovine keratoconjunctivitis. Journal of the American Veterinary Medical Association 216 (1): 62-64.

Antignac JP, Bizec LB, Monteau F et al (2001) Multi-residue extraction–purification procedure for corticosteroids in biological samples for efficient control of their misuse in livestock production. Journal of Chromatography B 757: 11–19.

Azzouza A, Souhailb B, Ballesterosa E (2011) Determination of residual pharmaceuticals in edible animal tissues by continuous solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. Talanta 84: 820–828.

Barbosa J, Cruz C, Martinis J et al (2005) Food poisoning by clenbuterol in Portugal. Food Additives and Contaminants 22: 563-566.

Blasco C, Poucke Van C, PeteghemVan C (2007) Analysis of meat samples for anabolic steroids residues by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A 1154: 230-239.

Bozkurt İ, Leblebicioğlu H (2015) Hayvanlarda oluşan antibiyotik direncinin insan sağlığı üzerine etkileri. Türkiye Klinikleri Journal Veterinary Science Pharmacol Toxicol-Special Topics 1(2): 76-82.

Brabandera HFD, Noppea H, Verheydena K et al (2009) Residue analysis: Future trends from a historical perspective. Journal of Chromatography A, 1216: 7964–7976.

Brambilla G, Loizzo A, Fontana L et al (1997) Food poisoning following consumption of clenbuterol-treated veal in Italy. The Journal of the American Medical Association 278:635.

Can HY, Çelik TH (2008) Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı ve kalıntı riski. Veteriner Hekim Derneği Dergisi 79(4): 35-40.

Ceyhan T (2017) Fenikol Bileşiklerinin Süt Ürünlerinden Baskılanmış Polimerler ile Katı Faz Ekstraksiyonu Optimizasyonu ve LC-MS/GC-MS Analizi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi.

Cha´fer-Perica´s C, Maquieira A, Puchades R (2010) Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples. Trends in Analytical Chemistry, 29: 9, 1038-1049.

Chen H, Chen H, Ying J et al (2009) Dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography as an efficient and sensitive technique for simultaneous determination of chloramphenicol and thiamphenicol in honey. Analytica Chimica Acta, 632: 80-85.

Coşkun Y, Erdoğan AT, Özdemir G ve ark (2012) Tavuk etinde antibiyotik kalıntılarının sıvı kromatografi sıralı kütle spektrometresi ile çoklu kalıntı tarama analizi için metot geliştirilmesi. Bornova Veteriner Bilimleri Dergisi 34 (48):17-30.

Council Directive (1981) concerning the prohibition of certain substances having a hormonal action and of any substances having a thyrostatic action, 81/602/EEC of 31 July 1981.

Council Directive (1988) prohibiting the use in livestock farming of certain substances having a hormonal action, 88/146/EEC of 7 March 1988.

Council Directive (1996) 96/23/EC of 29 April 1996 on measures to monitor certain substances and residues thereof in live animals and animal products and repealing Directives 85/358/EEC and 86/469/EEC and Decisions 89/187/EEC and 91/664/EEC.

Council Directive (1996) concerning the prohibition on the use in stockfarming of certain substances having a hormonal or thyrostatic action and of β -agonists, and repealing Directives 81/602/EEC, 88/146/EEC and 88/299/EEC, 96/22/EC of 29 April 1996.

Council Directive (2003) Directive 2003/99/EC of the European Parliament and of the Council of 17 November 2003 on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents, amending Council Decision 90/424/EEC and repealing Council Directive 92/117/EEC.

Çetinkaya F, Elal Muş T (2010) Hayvansal gıdalarda hormon kalıntıları, tüketici sağlığına yönelik riskler ve ilgili yasal düzenlemeler. Uludag University Journal Faculty Veterinary Medicine 29(2): 77-82.

Çetinkaya F, Yıbar A, Soyutemiz GE ve ark (2012) Determination of tetracycline residues in chicken meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Additives and Contaminants: Part B* 1(5): 45–49.

Daeseleire E, Vandeputte R, Van Peteghem C (1998) Validation of multi-residue methods for the detection of anabolic steroids by GC-MS in muscle tissues and urine samples from cattle. *Analyst* 123: 2595–2598.

Deshpande SS (2002) *Handbook of Food Toxicology*. Marcel Dekker Inc., New York, pp: 865-877.

Er B, Onurdağ Kaynak F, Demirhan B ve ark (2013) Screening of quinolone antibiotic residues in chicken meat and beef sold in the markets of Ankara, Turkey. *Poultry Science* 92: 2212-2215.

Erdoğdu AT, Koçyiğit Y, Özdemir G ve ark (2009) Tüketime sunulan sığır ve koyun etlerinde tetrasiklin türevi antibiyotiklerin kalıntılarının belirlenmesi. *Bornova Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Dergisi* 31 (45): 29-33.

Estrada-Montoya MC, González-Córdova AF, Torrescano G et al (2008) Screening and Confirmatory Determination of Clenbuterol Residues in Bovine Meat Marketed in The Northwest of Mexico. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 6(2): 130-136.

Filazi A, Yurdakök Dikmen B, Kuzukıran Ö (2015) Kanatlılarda antibiyotik direnci. *Türkiye Klinikleri Journal Food Hygiene and Technology-Special Topics* 1(2): 42-51.

Food Diagnostics by Randox (2016) Biochip array technology: an effective and reliable multi-analytical tool. *International Meat Topics* 7(4): 11.

Gökçen A, Atalay M (2012) Ette ve sütte parazitler ilaç kalıntısı. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1 (2): 117-124.

Göze İ, Göze F, Yıldız E (2002) Dietilstilbestrol uygulanan sıçanların karaciğerlerinde bazı enzim aktiviteleri ile histopatolojik değişimlerin incelenmesi. *Erciyes Üniversitesi Tıp Dergisi* 24 (1): 4-9.

Hornish RE, Kotarski SF (2002) Cephalosporins in veterinary medicine- ceftiofur use in food animals. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2(7): 717-731.

Jeong S-H, Kang D, Lim M-W et al (2010) Risk Assessment of Growth Hormones and Antimicrobial Residues in Meat Toxicology Residues 26:4: 301-313.

Kadım IT, Mahgoub O, Al-Marzooqi W et al (2008) Enzyme-linked immunosorbent assay for screening antibiotic and hormone residues in broiler chicken meat in the Sultanate of Oman. *Journal of Muscle Foods* 21: 243-254.

Kaya S (2002) Kemoterapötikler. Editör: Kaya S, Pirinçci İ, Bilgili A, Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji, 3. baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, s: 267-423.

Kaya S ve Pirinçci İ (2002) Gelişmeyi Hızlandırıcı Maddeler. Editör: Kaya S, Pirinçci İ, Bilgili A, Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji, 3. baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, s: 241-253.

Kaya S ve Ünsal A, (2002) Besinlerde İlaç Kalıntıları. Editör: Kaya S, Pirinçci İ, Bilgili A, Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji, 3. baskı, Medisan Yayınevi, Ankara, s: 737-780.

Martinez-Navarro JF (1990) Food poisoning related to the consumption of illibit β -agonists in liver. The Lancet 336: 1311.

Mor F, Şahindokuyucu F, Kav K ve ark (2011) Sığırların doku örneklerinde zeranol ve trenbolon kalıntılarının belirlenmesi. Eurasian Journal of Veterinary Sciences 27(4): 235-239.

OECD-FAO Agricultural Outlook (Edition 2016),
<https://data.oecd.org/agroutput/meat-consumption.htm>, (07.04.2017).

Oruç HH, Cengiz M, Bağdaş D ve ark (2007) Sığır etlerinde streptomisin ve sulfametazin (sulfadimidin) kalıntıları. Uludag University Journal Faculty Veterinary Medicine 26 (1-2): 17-20.

Oruç HH, Cengiz M, Bağdaş D ve ark (2007) Sığır etlerinde zeranol, dietilstilbestrol, klenbuterol, 17 β -östradiol ve testosteron kalıntıları. Uludag University Journal Faculty Veterinary Medicine 26 (1-2): 11-15.

Parr T, Mareko MH, Ryan KJ et al (2016) The impact of growth promoters on muscle growth and the potential consequences for meat quality. Meat Science 120:93-99.

Passantino A (2012) Steroid hormones in food producing animals: Regulatory situation in Europe. Editor: Perez-Marin CC, A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine, Intech, Rijeko, pp: 33-50.

Prescott JF (2000) Aminoglycosides and Aminocyclitols. Editor: Prescott JF, Baggot JD, Walker RD, Antimicrobial Therapy, 3rd edition, Iowa State University Press, Ames, pp: 191-228.

Prescott JF (2000) Beta-lactam Antibiotics: Cephalosporins and Cephamycins. Editor: Prescott JF, Baggot JD, Walker RD, Antimicrobial Therapy. 3rd edition, Iowa State University Press, Ames, pp: 134-159.

Prescott JF (2000) Lincosamides, Makrolides and Pleuromutilins. Editor: Prescott JF, Baggot JD, Walker RD, Antimicrobial Therapy. 3rd edition, Iowa State University Press, Ames, pp: 229-262.

Prescott JF (2000) Tetracyclines. Editor: Prescott JF, Baggot JD, Walker RD, Antimicrobial Therapy. 3rd edition, Iowa State University Press, Ames, pp: 275-289.

Pulce C, Lamaison D, Keck G et al (1991) Collective human food poisonings by clenbuterol residues in veal liver. *Veterinary and Human Toxicology* 33: 480-481.

Reig M, Toldra F (2008) Veterinary drug residues in meat: concerns and rapid methods for detection. *Meat Science* 78: 60-67.

Reig M, Toldra F (2009) Veterinary Drugs and Growth Promoters Residues in Meat and Processed Meats. Editor: TOLDRA F, Safety of Meat and Processed Meat (Food Microbiology and Food Safety). Springer Science Business Media, New York, pp: 365-390.

Salleras L, Dominguez A, Mata E (1995) Epidemiologic of an outbreak of clenbuterol poisoning in Catalonia, Spain. *Public Health Reports* 110: 338-342.

Sattar S, Hassan MM, Azizul Islam SKM et al (2014) Antibiotic residues in broiler and layer meat in Chittagong district of Bangladesh. *Veterinary World* 7(9):738-743.

Sawaya WN, Lone KP, Husain A et al (1998) Screening for estrogenic steroids in sheep and chicken by application of enzyme-linked immunosorbent assay and comparison with analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry* 63 (4): 563-569.

Sever E, Okumuş B, İnce S (2012) Erzurum yöresinde satışı sunulan kırmızı etlerde 17 β -östradiol, dietilstilbestrol ve zeranol kalıntılarının araştırılması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 18 (2): 267-272.

Shao B, Zhao R, Meng J et al (2005) Simultaneous determination of residual hormonal chemicals in meat, kidney, liver tissues and milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 548: 41-50.

Stolker AAM, Brinkman UAT (2005), Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents in food-producing animals. *Journal of Chromatography A*, 1067: 15-53.

Stolker AAM, Zuidema T, Neilen MWF (2007) Residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents. *Trends in Analytical Chemistry* 26: 967-979.

Şanlı Y (2002) Veteriner Klinik Toksikoloji. 2. Baskı, Güngör Matbaacılık, İstanbul, s: 768-785.

Şener S (2006) Veteriner Farmakoloji, Antibakteriyel Kemoterapi (antibiyoterapi). 2. Baskı, İstanbul Üniversitesi Basın ve Yayınevi, İstanbul, s: 1-65.

Şener S (2006) Veteriner Farmakoloji, Endokrin Sistem Farmakolojisi (Hormonoterapi). 2. Baskı, İstanbul Üniversitesi Basın ve Yayınevi, İstanbul, s: 373-393.

Şireli UT, Filazi A, Onaran B ve ark (2015) Etlerdeki kalıntı endişeleri. Türkiye Klinikleri Journal Food Hygiene and Technology-Special Topics 1(2): 7-16.

Toldra F, Reig M (2006) Methods for rapid detection of chemical and veterinary drug residues in animal foods. Trends in Food Science and Technology 17: 482-489.

Tuncer Hİ (2007) Karma yemlerde kullanımı yasaklanan hormon, antibiyotik, antitoksidiyal ve ilaçlar. Lalahan Hayvan Araştırma Enstitüsü Dergisi 47 (1): 29-37.

Türk E, Liman BC (2004) Kayseri’de sığır idrarlarında ve yemlerinde zeranolun elisa ve ince tabaka kromatografi ile kantitatif analizi. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 13(1): 21-25.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (2003) Gıda Değeri Olan Hayvanlara Uygulanması Yasaklanan ve Belli Şartlara Bağlı Hormon ve Benzeri Maddeler Hakkında Tebliğ. Resmi Gazete, 25143 Tebliğ No: 2003/18.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (2011) Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler ile Bunların Kalıntılarının İzlenmesi için Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik, Resmi Gazete, 17.12.2011, 28145.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (2011) Zoonozlar ve Zoonotik Etkenler, İlgili Antimikrobiyal Direnç ve Gıda Kaynaklı Salgınların İzlenmesi Yönetmeliği, Resmi Gazete, 23.11.2011, 28151.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (2013) Hayvan Beslemede Kullanılan Yem Katkı Maddeleri Hakkında Yönetmelik, Resmi Gazete, 18.07.2013, 28711.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (2014) Salmonella ve Belirlenmiş Diğer Gıda Kaynaklı Zoonotik Etkenlerin Kontrol Altına Alınması Hakkında Yönetmelik, Resmi Gazete, 24.03.2014, 28954.

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği (2017) Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği. Resmi Gazete, 17.03.2017, 30000.

Uzunov R, Musliu Hajrulai Z, Stojkovic Dimitrievska E et al (2013) Use of ELISA for preliminary screening of 19 nortestosterone anabolic steroid in cattle meat in Republic of Macedonia. Kafkas Veteriner Fakültesi Dergisi 19 (1): 173-177.

Walker RD (2000) Fluoroquinolones. Editor: Prescott JF, Baggot JD, Walker RD, Antimicrobial Therapy. 3rd edition, Iowa State University Press, Ames Iowa, pp: 315-338.

World Health Organization (2011) Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe, http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0005/136454/e94889.pdf, (03.08.2017).

Yarsan E (2013) Hayvansal gıdalarda veteriner ilaç kalıntıları. Uluslararası 2. Helal ve Sağlık Gıda Kongresi, Konya, s: 1-8.

Yarsan E (2013) Kemoterapi. Editör: Yarsan E, Veteriner Hekimlikte Antibiyotikler (Pratik bilgiler rehberi), 1. baskı, Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara, s: 3-14.

Yarsan E (2013) Veteriner İlaç Kalıntıları. Editör: Yarsan E, Veteriner Hekimlikte Antibiyotikler (Pratik bilgiler rehberi), 1. baskı, Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara, s: 15-18.

Yazar E (2012) Kemoterapötikler. Editör: Yazar E, Veteriner İlaç, Olgun-Çelik Matbaası, Konya, s:21-46.

Yıbar A, Soyutemiz E (2003) Gıda değeri olan hayvanlarda antibiyotik kullanımı ve muhtemel kalıntı riski. Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 8 (1): 97-104.

Yıkılmaz Y, Filazi A (2009) Anabolizan maddelerin hayvan refahı üzerine etkileri. Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi 3-4: 59-65.

Yıldırım M (1997) Veteriner hekimlikte β -agonistler. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 23(2): 225-229.

Yılmaz İ, Sayın EO, Özdemir Y (2007) Hayvansal üretimde hormon kullanımı ve tüketici sağlığı üzerine etkileri. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi 3: 51-61.

Zeleny R, Ulberth F, Gowik P et al (2006) Developing new reference materials for effective veterinary drug-residue testing in food-producing animals. Trends in Analytical Chemistry, 25 (9): 927-936.

7. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A

Al ₂ O ₃ :	Alüminyum oksit
AB:	Avrupa Birliği
ABD:	Amerika Birleşik Devletleri
ADI:	Günlük alınmasına izin verilen miktar (Acceptable Daily Intake)
AM-II:	Antimicrobial Array II

B

BABIT:	Biochip array-based immunassay tekniği
--------	--

C

CSB:	Column Storage Buffer
CWB:	Column Wash Buffer

D

DDS:	Double Deionize Su
DES:	Dietilstilbestrol
DIL ASY:	Assay Dilüent
DIL CONJ:	Dilüent Conjugat
dk:	Dakika

E

EC:	Avrupa Birliği (European Community)
EFSA:	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (The European Food Safety Authority)
ELISA:	Enzyme-linked immunosorbent assays
EMA:	Avrupa İlaç İdaresi (The European Medicines Agency)

F

FAO:	Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organisation)
FDA:	Besin ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration)

G

g:	Gram
GC-MS:	Gas chromatography mass spectrometry

GPMMS: Growth Promoter Multiple Matrix Screen

H

HPLC-DAD: High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detector

I

IARC: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (International Agency for Research on Cancer)

K

kg: Kilogram

L

LA: Long action

LC-MS: Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry

M

M: Molar

mg: Miligram

MGA: Melengestrol asetat

MKL: Maksimum Kalıntı Limiti

µg: Mikrogram

µl: Mikrolitre

ml: Mililitre

MRL: Maximum Residue Limit

N

NARMS: Ulusal Antimikrobiyal Direnç İzleme Sistemi (The National Antimicrobial Resistance Monitoring System)

NOAEL: Gözlenebilen hiçbir yan etki göstermeyen doz (No Observed Advers Effect Level)

O

OECD: Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü (Organisation for Economic Operation and Development)

ppb: Milyonda bir (parts per billion)

R

RAI: Radioimmunoassay

rpm: Rounds per minute

S

sn: Saniye

°C: Santigrat derece

T

TBA: Trenbolon asetat

TFC: Turkish Food Codex

TGK: Türk Gıda Kodeksi

U

USDA: Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (United States Department of Agriculture)

W

WB: Wash Buffer

WHO: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

WSC: Working Strength Conjugate

WSR: Working Signal Reagent

WSWB: Working Strength Wash Buffer

8. EKLER

EK1

Tablo Ek1. Kullanımı bazı ülkelerde (ABD, Kanada vb) yasal olan büyüme hızlandırıcı ajanların FAO/WHO Kodeks Alimentarius'ta belirtilen MKL.

Büyüme hızlandırıcı	Hayvan Türü	Sığır (kas) µg/kg (ppb)
Stilbenler		Kullanımı yasaklı
Glukokortikoid (Deksamethazone)		1,0 µg/kg (2009)
Trenbolone Asetat		2,0 µg/kg (1995)
Zeranol		2,0 µg/kg (1995)
β agonistler (Klenbuterol)		0,2 µg/kg (2003) (sadece zootekni amacıyla)
17-β östrodiol		Büyüme hızlandırıcı olarak kullanımı gerekli görüldüğü için kullanımında herhangi bir kısıtlama bulunmamaktadır
Raktopamin hidroklorat		10 µg/kg (2012)
Melengestrol Asetat		1,0 µg/kg (2009)

9. TEŞEKKÜR

Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda yapmış olduğum yüksek lisans eğitimim boyunca bana yol gösteren, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, benden desteğini eksik etmeyen ve tez çalışmamı tamamlamış olmamda büyük emeği olan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hasan Hüseyin ORUÇ başta olmak üzere Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Murat CENGİZ' e ve Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Songül SONAL' a teşekkürü bir borç bilir ve şükranlarımı sunarım.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca laboratuvar çalışmalarımda kıymetli vaktini ayırıp bana yardımcı olan, her türlü manevi destekte bulunup yol göstericilik yapan Anabilim Dalı doktora öğrencisi olan Meltem ÇAYCI'ya, çalışmalarımda desteği olan ve manevi olarak desteğini hiç esirgemeyen dönem arkadaşım yüksek lisans öğrencisi Ramadhani NYANDWI' ye, laborantımız Tuğba TAŞOVA' ya ve aynı odayı paylaştığım doktora öğrencisi Gülçe HEPBOSTANCI' ya teşekkür ederim.

Herkesten önce eğitim hayatım boyunca her zaman arkamda olan benden hiçbir yardımı esirgemeyen, beni bugünlere getiren, maddi ve manevi olarak her zaman yanımda olan, bana moral ve motivasyon sağlayarak eğitimimi tamamlamamı sağlayan annem Kevser KILIÇ, babam Erdoğan KILIÇ ve her zaman destekçim olan kardeşim Beyza KILIÇ'a, ayrıca her zor anımda yanımda olan, bana destek verip zorlukların üstesinden gelmeme yardımcı olan yol arkadaşım Muhammed Fatih KÖSEOĞLU'na sonsuz minnetimi ve teşekkürlerimi sunarım.

10. ÖZGEÇMİŞ

Temmuz 1992 yılında Bursa’da doğan Ayşe Sena KILIÇ, ilk ve orta öğrenimini Kükürtlü Ticaret ve Sanayi Odası İlköğretim Okulu’nda, lise öğrenimini ise Emir Sultan Lisesi’nde tamamlamıştır. Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nden 2014 yılında mezun olarak üniversite eğitimini tamamlamış daha sonra eğitimine bir yıl ara vererek 2015 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başlamıştır.

