

MEZBAHADAN SAĞLANAN SIĞIR ET, KARACIĞER VE BÖBREK
ÖRNEKLERİNDE ANTİBİYOTİK KALINTILARI

Sezai Kaya¹
B. Cem Liman³

Hidayet Yavuz¹

Ferda Akar²
Ayhan Filazi⁴

Antibiotic residues in meat, liver and kidney samples obtained from slaughtered cattles.

Summary: *The purpose of this study was to determine antibiotic residues in the meat, liver and kidney samples obtained from beef cattle slaughtered in Ankara slaughter house of Meat and Fish Foundation.*

Therefore, during a period of February to June 1991, totally two hundred and fifty five liver, kidney and meat samples represented eighty-five slaughtered beef cattle were obtained. A thin layer chromatographic|bio-autographic method was used to determine penicillines (penicillin G, ampicillin and amoxycillin), aminoglycosides (streptomycin, dihydrostreptomycin, gentamicin, kanamycin and neomycin), tetracyclines (chlortetracycline, oxytetracycline and tetracycline), macrolides (erythromycin and tylosin) and chloramphenicol residues in the samples.

Of the analyzed eighty-five beef cattles, eighteen were found to contain a variety levels of penicillin G, ampicillin, oxytetracycline, dihydrostreptomycin, tylosin and chloramphenicol residues. Seven of analyzed liver and kidney samples were calculated to contain penicillin G residue on average, respectively, 0.59 ppm (0.12-0.84 ppm) and 0.61 ppm (0.31-1.2 ppm) and three of them ampicillin on average, respectively, 0.37 ppm (0.22-0.66 ppm) and 0.65 ppm (0.46-0.93 ppm). All meat samples had no penicillin residues. Of the analyzed beef cattles, one was found to contain penicillin G in liver and kidney, which was contained dihydrostreptomycin at the level of 2.43 ppm and 4.0

1. Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

1. Doç. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

2. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Ankara.

3. Dr., K.Ü. Kars Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kars.

4. Araş. Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

ppm, respectively; in addition, at the same animal muscle was also found to contain dihydrostreptomycin at the level of 3.5 ppm. Of the analyzed animals, six were found to contain oxytetracycline at the average level of 3.47 ppm (0.22–10.5 ppm), 1.59 ppm (0.11–5.5 ppm) and 1.56 ppm (0.05–6.0 ppm) in liver, kidney and muscle samples, respectively. In addition, of the analyzed animals, one was found to contain chloramphenicol at the level of 0.46 ppm, 0.31 ppm and 0.15 ppm in liver, kidney and muscle sample, respectively, and the other one was found tylosin at the level of 0.4 and 0.2 ppm in liver and muscle sample, respectively. By calculating according to number and variety of the samples, it was determined to be contained antibiotics 21 % of the analyzed liver and kidney samples, and 9 % of the analyzed muscle samples.

It is concluded from the result that antibiotics have widely been used in slaughter animals and have been slaughtered such animals regardless withdrawal times and foodstuffs containing antibiotics (especially with offal such as liver and kidney) may give rise to a lot unwanted effects on human consuming kind of these food and will have also been affected as negative the economy of the country.

Özet: Bu çalışmada, E.B.K. Ankara Et Kombinasında kesilen sığırlardan alınan et, karaciğer ve böbrek örneklerinde antibiyotik kalıntılarının aranması amaçlanmıştır.

Bu sebeple, Şubat-Haziran 1991 tarihleri arasında aralıklarla mezbahaya gidilerek 85 hayvandan toplam 255 et, karaciğer ve böbrek örneği alınmıştır. Bunlarda ince tabaka kromatografik/biyotografik yöntemle penisilin (penisilin G, ampisilin, amoksisilin), aminoglikozid (streptomisin, dihidrostreptomisin, gentamisin, kanamisin, neomisin), tetrasiklin (klortetrasiklin, tetrasiklin, oksitetrasiklin), makrolid (eritromisin, tilozin) grubu ile kloramfenikol yönünden kalıntı analizi gerçekleştirildi.

Analiz edilen 85 sığırın 18'inde (% 21'inde) çeşitli düzeylerde penisilin G, ampisilin, oksitetrasiklin, dihidrostreptomisin, tilozin ve kloramfenikol kalıntısı bulunduğu belirlendi. Analiz edilen hayvanların 7'sinden alınan karaciğer ve böbrek örneklerinde sırasıyla ortalama 0.59 ppm (0.12–0.84 ppm) ve 0.61 ppm (0.31–1.12 ppm) penisilin G; 3'ünden alınan karaciğer ve böbrek örneklerinde sırasıyla ortalama 0.37 ppm (0.22–0.66 ppm) ve 0.65 ppm (0.46–0.93 ppm) ampisilin kalıntısı bulunduğu anlaşıldı. Bunlardaki kas eti örneklerinde penisilin grubu antibiyotik varlığı ortaya konmadı. Analizi yapılan sığırların birisinden alınan karaciğer ve böbrek örneğinde penisilin G yanında sırasıyla 2.43 ppm ve 4.0 ppm düzeyinde dihidrostreptomisin bulunduğu anlaşıldı; ayrıca, bu hayvanın kasında da 3.5 ppm dihidrost-

reptomisin varlığı ortaya konuldu. Analiz edilen hayvanların 6'sından alınan karaciğer, böbrek ve kas örneklerinde sırasıyla ortalama 3.48 ppm (0.22-10.5 ppm), 1.59 ppm (0.11-5.5 ppm) ve 1.56 ppm (0.05-6.0 ppm) düzeyinde oksitetrasiklin kalıntısı bulunduğu tesbit edildi. Ayrıca analiz edilen hayvanların birisindeki karaciğer, böbrek ve kas örneğinde sırasıyla 0.46 ppm, 0.31 ppm ve 0.15 ppm düzeyinde kloramfenikol ve birisinden alınan karaciğer ve böbrek örneğinde sırasıyla 0.4 ve 0.2 ppm miktarda tilozin kalıntısı bulunduğu belirlendi. Örnek sayısı ve çeşidine göre yapılan hesaplamada, analiz edilen karaciğer ve böbreklerin % 21'inin ve kasların % 9'unun antibiyotiklerle kirlendiği anlaşıldı.

Çalışmadan elde edilen bulguların kasaplık hayvanlarda antibiyotik kullanımının son derece yaygın olduğunu, bu durumun ilaç uygulanan hayvanların kesim öncesi bekletme süresine uyulmaksızın kasaplık olarak kesildiklerini, ülkemiz insanlarının ilaç kalıntısı ihtiva eden besin maddeleri vasıtasıyla (bilhassa karaciğer, böbrek gibi sakatatlarla) bir çok tehlikeyle yüz yüze olduklarını ve bunun ülke ekonomisini de olumsuz yönde etkileyebileceğini gösterdiği sonucuna varıldı.

Giriş

Hayvanlarda hastalıkların sağıtımı ve önlenmesi ile yemden yararlanmanın artırılması veya gelişmenin hızlandırılması amacıyla ilaç kullanımı günümüzde vazgeçilmez bir uygulama haline gelmiştir. Bu amaçlarla yararlanılan bir dizi ilaç arasında antibiyotikler önemli bir yer tutar. Hasta hayvanlarda sağıtıcı ve hasta olmayan normal hayvanlarda koruyucu dozlarda genellikle kısa süreyle (en çok 2 hafta) kullanılan antibiyotikler, hastalıkların önlenmesi ya da hastalıkların ortaya çıkma tehlikesinin azaltılması, gelişmenin hızlandırılması, yemden yararlanma ile verimin artırılması amacıyla hayvanlara bazen tüm yaşam boyu uygulanırlar (10, 31). Özellikle son şekilde kullanılmaları ile geçmişte hayvanlarda önemli telifata ve ekonomik kayba yol açmış olan birçok hastalık daha ortaya çıkmadan engellenmektedir. Ama, 1950'li yıllardan itibaren, bilhassa gelişmenin hızlandırılması amacıyla yem katkı maddesi halinde antibiyotiklerin yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmasıyla, yukarıda sayılan yararlı etkileri yanında, başlıcasını duyarlı bakterilerde dirençli suçların ortaya çıkmasıyla kendisini gösteren birçok problem ortaya çıkmıştır. Nitekim, bu maddelerin uygulamaya girmelerini izleyen yıllar içinde sağıtıcı amaçla kullanılan ilaçların çoğu, özellikle koruyucu ve gelişmeyi hızlandırıcı olarak da kullanılmaları sonucu, insan ve hayvanlar-

da hastalık yapıcı bakteri türleri arasında ortaya çıkan dirençli suçlardan dolayı (7, 11, 15, 27, 28) kullanım ömrünü tamamlamak zorunda kalmıştır. Böylece, birçok hastalığın mevcut ilaçlarla sağitımı veya engellenmesinde istenen başarının sağlanamaması yanında bu durum dirençli bakterilere karşı etkili olabilecek ilaçların araştırılması-geliştirilmesi gereğini de doğurmuştur; dolayısıyla, ilaç sanayiinde araştırma-geliştirme faaliyetleri önemli bir harcama kalemi haline gelmiştir.

Ülkemizde, veteriner hekimlikte, 1991 yılı sonu itibariyle ruhsatlandırılıp üretimi yapılan 350'den fazla ilacın 100'den fazlasını antibiyotik ve benzer etkili ilaç müstahzarları oluşturmaktadır. Aynı ayrı veya bir kaçını birlikte içeren ve 46 etkin madde halinde çeşitli galenik şekillerde hazırlanmış müstahzarları halinde, arılar da dahil, evcil hayvanlarda çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (3,21,32). Bunlar içinde bilhassa aminoglikozid, penisilin, tetrasiklin ve makrolid grubundaki bazı ilaçlar ile kloramfenikol sığırlarda geniş uygulama alanı bulmuştur.

Bu sebeple, çalışmada E.B.K. Ankara Kombinasında kesilen sığırlardan elde edilen et, karaciğer ve böbrek örneklerinde aminoglikozid, tetrasiklin, penisilin ve makrolid grubu antibiyotikler ile kloramfenikol kalıntılarının araştırılması, sonuçların mevcut bilimsel ve yasal sınırlamalar ışığında değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Analiz Örnekleri: Çalışmada kullanılan materyal E.B.K. Ankara Kombinasında kesilen sığırlardan alındı. Bu amaçla, Şubat-Haziran 1991 ayları arasında, belli aralıklarla kombinaya gidilerek her örnek bir sürü veya grup hayvanı temsil edecek şekilde 85 sığırdan 100-250 g arasında et, karaciğer ve böbrek örneği alındı. Böylece, toplam 255 örnekte penisilin grubundan penisilin G, ampisilin ve amoksisilin; makrolidlerden eritromisin ve tilozin; aminoglikozidlerden streptomisin, dihidrostreptomisin, neomisin, kanamisin ve gentamisin; tetrasiklinlerden klortetrasiklin, oksitetrasiklin ve tetrasiklin ve kloramfenikol yönünden kalıntı analizi yapıldı. Naylon torbalara konularak, soğuk zincirde, laboratuvara getirilen örnekler analiz edilene kadar derin dondurucu da (-18°C) saklandı ve tüm örnekler 1-2 gün içinde Neidert ve ark. tarafından önerilen yöntemle göre (20) aşağıdaki gibi analiz edildi.

Standardlar

- Kloramfenikol (Sigma Cat. No: C-0378).
- Eritromisin (Sigma Cat. No: E-6378).
- Tilozin (Sigma Cat. No: T-6271).
- Tetrasiklin (Sigma Cat. No: T-3383).
- Oksitetrasiklin (Sigma Cat. No: 0-5875).
- Klortetrasiklin (Sigma Cat. No: 2-4881).
- Dihidrostreptomisin (Sigma Cat. No: D-7253).
- Streptomisin (Sigma Cat. No: S-6501).
- Neomisin (Sigma Cat No: N-1876).
- Kanamisin (Sigma Cat. No: K-4000).
- Gentamisin (Sigma Cat. No: G-5013).
- Penisilin G (Eczacıbaşı- Teknik standard).
- Ampisilin (Sigma Cat. No: A-9518).
- Amoksisilin (Sigma Cat. No: A-8523).

Standard çözeltiler

— Antibiyotik stok çözeltileri: 100 mg antibiyotik standardı 100 ml çözücü içinde çözdürüldü. Aminoglikozid grubu antibiyotikler suda diğerleri ise metanol içerisinde çözdürüldü. Elde edilen 1 mg/ml'lik stok çözeltiler 0-4°C derecede muhafaza edildi ve haftada bir yeniden hazırlandı.

— Antibiyotik uygulama çözeltileri: Stok antibiyotik çözeltileri 1:10 oranında seyreltilerek hazırlandı ve günlük olarak kullanıldı.

Kimyasal maddeler

- Sodyum klorür (Merck, Art. 64400).
- Aseton (Merck, Art. 13).
- Kloroform (Merck, Art. 2431).
- Metanol (Merck, Art. 80015).
- Gliserin (Renel kimya D. 1255-1266).
- Asetik asit (Merck, Art. 56).

- Hidroklorik asit (Merck, Art. 314).
- n-butanol (Merck, Art. 24124).
- n-propanol (Merck, Art. 996).

Developman sistemleri

- Tetrasiklinler için developman sistemi: Aseton-kloroform-n-propanol-impregnasyon sıvısı (16 + 20 + 27 + 16).
- Aminoglikozidler için developman sistemi. n-butanol-metanol-asetik asit-su (15 + 30 + 9 + 36).
- Penisilinler ve makrolidler için developman sistemi: Klo-roform-metanol-aseton-gliserin (49 + 30 + 20 + 1).

Diğerleri

- Özel besi yeri (Standard Plate Count Agar, Oxoid Cod. cm-463).
- Deney mikroorganizması (Bacillus subtilis ATCC 6633, Sigma Cat. No: B-4006).
- Önceden kaplanmış İTK plakaları (Silicagel G₆₀, Merck, Art. 5626, Selüloz plaka, Merck, Art. 5703).
- İmpregnasyon sıvısı: 0.1 N fitalat buffer (pH 3.75) + gli-serin (19 + 1).

Araç ve gereçler

- Duyarlı terazi (Sartorius, 1106).
- Santrifüj (Wirowka WE-2).
- Rotavaporatör (Buchi, K-116).
- İnkübatör (Dedoğlu).
- Biyoplakalar: Ön kaplamalı plakalara uydurulacak şekilde.
- Otoklav (Medecförte).
- Developman tankı, dereceli tüpler, ölçü silindirleri, azğı traşlı balonlar, değişik hacimli mikropipetler, ayırma hiunleri ve pipetler.

Antibiyotik kalıntılarının ekstraksiyonu: Yarı donmuş dokudan 10 g alınarak küpçükler halinde parçalandı. Üzerine 10 ml metanol ilave edildi ve 30 saniye süreyle mikserde karıştırıldı. Santrifüj tüpünün

kenarları 3 kez 2 ml metanol ile yakındıktan sonra mekanik karıştırıcıda 30 dk. süreyle çalkalandı. 700 devirle 10 dk. santrüfuj edildikten sonra metanol fazı diğer santrüfuj tüpüne aktarıldı. Kalan tortu 2 kez 10 ml metanol ile yıkandıktan sonra santrüfuj edildi. Metanol fazı balon jöjelere aktarılarak üzerine 200 mg NaCl ilave edildi ve rotavaporde (50°C) 3-4 ml kalıncaya kadar uçuruldu. Metanol fazı ayırma hunisine aktarıldıktan sonra üzerine 2 kez 25 ml miktarında kloroform konularak çalkalandı. Kloroform fazı başka bir kaba aktarıldı. Üstte kalan metanol fazı ekstrakt I'yi temsil eder ve beta-laktam grubu antibiyotikleri içerir. Kloroform fazı rotavaporde tamamen uçurulduktan sonra 0.5 ml metanol ile kalıntı çözdürüldü. Bu ekstrakt II'yi temsil eder ve makrolid grubu antibiyotikleri içerir. Doku kalıntısı 10 ml metanol + HCl (98-2) ile iki kez karıştırıldıktan sonra 700 devirde 10 dk. süreyle santrüfuj edildi. Daha sonra rotavaporde uçurulduktan sonra 0.5 ml metanolde çözdürüldü. Bu ekstrakt III'ü temsil eder ve aminoglikozid ve tetrasiklin grubu antibiyotikleri içerir.

İnce-tabaka kromatografisi (İTK)

A- Tetrasiklin grubu antibiyotiklerin İTK'si: Selüloz plaka 10 eşit kanala bölündükten sonra kanallara tetrasiklin grubu antibiyotik uygulama standartlarından 10'ar mikrolitre uygulandı. Diğer kanallara ekstrakt III'ten 40 mikrolitre tatbik edildi. Plaka developman tankına konuldu ve 15 cm'ye kadar yükselmesi beklendi. Developman işleminden sonra plaka kuru hava akımında 2.5 saat süreyle kurutuldu.

B- Aminoglikozid grubu antibiyotiklerin İTK'si: Silicagel G₆₀ plakası 10 eşit kanala bölündükten sonra ilk kanallara aminoglikozid grubu antibiyotik uygulama standartlarından 10'ar mikrolitre uygulandı. Diğer kanallara da ekstrakt III'den 40 mikrolitre uygulandı. Plaka developman tankına konulduktan sonra 15 cm'ye kadar yükselmesi sağlandı. Developman işleminden sonra önce oda ısısında 0.5 saat daha sonra 80°C'lik etüvde 5 saat süreyle tutulmak suretiyle plaka kurutuldu.

C- Beta-laktam ve makrolid grubu antibiyotiklerin İTK'si: Silicagel G₆₀ plakası 10 eşit kanala bölündükten sonra ilk kanallara her iki gruba ait antibiyotik uygulama standartlarından 10'ar mikrolitre uygulandı. Diğer kanallara ekstrakt I ve ekstrakt II'den 40 mikrolitre uygulandı. Plaka developman tankına konulduktan sonra

15 cm'ye kadar yükselmesi sağlandı. Developman işleminden sonra plaka oda ısısında 2 saat süreyle tutulmak suretiyle kurutuldu.

Biy.-otografi işlemi: Biyoplakaların hazırlanması için 23.5 g özel besi yeri bir balona konulduktan sonra üzerine 1 lt distile su ilave edildi ve 100°C'lik su banyosuna konularak eriyinceye kadar tutuldu. Su banyosundan alınarak soğutulan sıvı besi yeri 100 ml'lik balonlara aktarıldı ve 120°C'de 15 dk. süreyle sterilize edildi. 50°C'ye kadar soğutulan her 100 ml sıvı agara 400 mikrolitre *Bacillus subtilis* spor solusyonu ilave edildi ve 15 saniye süreyle çalkalandı. Agar içeriği sterilize edilmiş biyoplaka yüzeyine homojen bir katman oluşturacak şekilde dökülerek katılaşması için yeterince beklendi. Biyoplaka üzerine İTK safhasında hazırlanmış plakalar kapatılarak 15 dk. süreyle tutuldu. İnce tabaka plakası kaldırılarak atıldıktan sonra biyoplaka 37 C'lik etüvde bir gece tutuldu ve ertesi gün oluşan zonlar antibiyotik kalıntıları yönünden değerlendirildi.

Standard eğrinin hazırlanması: İTK plakasına her bir antibiyotik uygulama standardından 0.025, 0.05, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2 mikrogram miktarında uygulanarak yukarıdaki işlemler tekrarlandı. Biyoplaka yüzeyinde oluşan zonların çapları ölçüldü ve sonuçlar milimetrik kağıda aktarılarak standard eğrisi hazırlandı.

Hesaplama: Pozitif sonuç veren numunelerin oluşturduğu zonların çapları ölçüldü ve standard eğrisinde hangi mikgara eşdeğer olduğu belirlendi. Kullanılan numunenin miktarı (10 g), son sulandırma oranı (0.5 ml) ve İTK plakasına uygulanan miktar (40 mikrolitre) göz önüne alınarak, hesaplama yapıldı ve sonuçlar ppm olarak değerlendirildi.

Bulgular

Analiz materyalini oluşturan 85 sığırın 18'inde (% 21) çeşitli düzeylerde değişik tipten 6 antibiyotiğe ait kalıntı bulunduğu belirlendi (Tablo 1).

Bir sığıra ait örneklerde aynı zamanda hem penisilin G hem de dihidrostreptomisin kalıntısı bulunduğu anlaşıldı ve kas örneklerinin hiç birisinde de penisilin grubu antibiyotik kalıntısı bulunmadığı belirlendi. İki hayvandan alınan örneklerdeki oksitetrasiklin düzeylerinin özellikle yüksek olduğu görüldü; örneğin bunların birisinden alınan karaciğer, böbrek ve kas örneğinde sırasıyla 7.0, 1.5 ve 2.0 ppm; diğerinde yine sırasıyla 10.5, 5.5 ve 6.0 ppm düzeylerinde kalıntı bulunduğu hesaplanmıştır.

Tablo 1. Belirlenen antibiyotik çeşitleri, düzeyleri ve ortalama değerleri (ppm).

Antibiyotik grubu ve antibiyotik çeşidi	Kalıntı bulunan hayvan sayısı	ppm		
		Karaciğer	Böbrek	Kas
Penisilinler .Penisilin G .Ampisilin	7 3	0.12-0.84(0.59) 0.22-0.66(0.37)	0.31-1.12(0.61) 0.46-0.93(0.65)	— —
Tetrasiklinler .Oksitetrasiklin	6	0.22-10.5(3.47)	0.11-5.5(1.59)	0.05-6(1.56)
Aminoglikozidler .Dihidrostreptomisin	1	2.43	4.0	3.5
Makrolidler .Tilozin	1	0.4	0.2	—
Kloramfenikol	1	0.46	0.31	0.15

Antibiyotik kalıntı tipi dikkate alınmaksızın örnek sayısı ve çeşidine göre yapılan değerlendirmede, analiz edilen karaciğer ve böbreklerin % 21'inin, kasların ise % 9'unun antibiyotiklerle kirli olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan, penisilin yönünden kalıntı çeşidi ve analiz örneği dikkate alınmaksızın yapılan hesaplamada ortalama 0.56 ppm ampisilin + penisilin G kalıntısı bulunduğu anlaşıldı.

Tartışma ve Sonuç

Son 40-45 yıldır hayvanlarda çeşitli antibiyotiklerin yaygın biçimde kullanılmasıyla birçok hastalığın sağtımı ve önlenmesi ile yayılma tehlikesinin azaltılması yanında, hayvanlarda yemden yararlanmanın iyileştirilmesi, gelişmenin hızlandırılması ve verimin artırılmasında çok önemli başarılar sağlanmıştır. Ama, iki tarafı keskin bir bıçak gibi olan antibiyotiklerin bu denli yaygın şekilde kullanılması bazı problemleri de beraberinde getirmiştir. Veteriner hekimlikte çeşitli amaçlarla antibiyotik kullanımının yol açtığı problemlerden özellikle ikisi dikkat çekmektedir; bunlardan birisi hayvansal kaynaklı besin maddelerinde ilaç kalıntıları ve güvenliği, diğeri hayvanlarda kullanılmaları sonucu duyarlı bakteri türleri arasında kendilerine karşı dirençli suşların ortaya çıkmasıdır (6,7,8,14,15,23,27,28,30). Antibiyotiklerin yeme düşük düzeyde katılarak sürekli kullanılması veya uzun etkili müstahzarların (Dimisin LA, Primamycin/LA, Clamoxyl LA gibi) parenteral yolla, bilhassa kas içi olarak, bir doku deposu oluşturacak biçimde yüksek dozlarda uygulanması kendilerine karşı

dirençli bakteri suçlarının ortaya çıkmasını hazırlayan ve kolaylaştıran en önemli faktörler arasındadır. Nitekim, bu şekildeki uygulamalar neticesi bazı hastalıkların sağıtımı veya önlenmesinde mevcut ilaçların yetersiz kaldıkları veya istenen ölçüde başarılı olamadıkları anlaşılmıştır (5,17,18,29). Bu tür olumsuzluklar neticesi, 1970'li yılların sonuna doğru penisilin ve tetrasiklinlerin yem katkısı halinde kullanılması yasaklanmıştır (10). Bugün ülkemizde de yemlere antibiyotik olarak sadece avoparsin, basitrasin (çinko basitrasin halinde), flavofosfolipol (flavomisin), monensin, spiramisin ve virginamisin gibi bazı kendilerine has özellikleri bulunan maddelerin katılmasına izin verilmektedir (2).

Hayvanlara formül belgelerinde belirtilenden fazla miktarda ilaç uygulanması, yem ve suya katarak aynı zamanda ilaç verilmesi, ilaç uygulamasının durdurulmasını takiben varsa her madde için belirlenmiş olan kısıtlılık olarak kesim öncesi yasal bekletme süresine uyulmaksızın hayvanların kesilmesi, yeme katılarak verileceği zaman karıştırma hatalarının yapılması, ambar, depo veya yem fabrikalarında ilaçlı yem artıklarının kalması, hayvanların mevcut fizyolojik durumlarına göre (sağılan veya kuruda olduğu gibi) ilaç müstahzarlarının seçilmemesi (4,12,13,16,19,23,25,33) hayvansal kaynaklı besin maddelerindeki ilaç kalıntılarının en önemli sebepleri arasındadır.

Etlar de dahil, hayvansal kaynaklı besin maddelerindeki penisilin türevi antibiyotik kalıntılarının yol açabileceği en önemli sakıncalardan birisi tüketicilerde hafif bir deri tepkimesinden başlayarak anafilaktik şoktan ölüme kadar gidebilen ilaç allerjisidir. Penisilin tipi ilaç kalıntısı ihtiva eden besinlerin yenilmesinden sonra allerjik etki olasılığı, bu sebeple, hiç bir zaman gözardı edilmemelidir; zira, toplumdaki kişilerin yaklaşık % 10'unun penisiline duyarlılık gösterdikleri bilinmektedir (31). Duyarlı kişilerde 5 güven faktörü ile birlikte 1 mikrogram veya daha az miktardaki penisilinın allerjik tepkimelere yol açabileceği dikkate alınır, penisilinlerle buluşık besinlerin taşıdıkları önem kolayca değerlendirilebilir. Bundan dolayı, insanların günde 100-200 g et veya 100-500 ml süt tüketecekleri ve 1 ünite ya da 0.6 mikrogram penisilinın de allerjik tepkimelere yol açabileceği göz önüne alınarak, ette 0.01-0.005 ünite/g (veya 0.006-0.003 mikrogram/g yani ppm) miktardaki penisilin kalıntısı tolerans düzeyi olarak belirlenmiştir. Yine, hayvansal kaynaklı besin maddelerinde bulunmasına izin verilen ampisilin düzeyi de 0.005 ppm'le sınırlandırılmıştır (4,21,31). Yukarıda verilen kalıntı miktarları dik-

kate alındığında, karaciğer ve böbrek örneklerinde ölçülen penisilin G ve ampisilin kalıntısı miktarlarının gerek bireysel gerekse ortalama değer bakımlarından tolerans düzeylerinin önemli ölçüde üzerinde olduğu görülecektir. Bu durum penisilin kalıntıları bakımından etlerden kaynaklanan önemli bir halk sağlığı probleminin bulunduğunu ve hayvanlarda kasaplık olarak kesim öncesi bekletme süresine uyulmadığını göstermektedir (1,13). Penisilin kalıntısı ihtiva eden besin maddelerinin yenilmesini takiben tüketicilerde karşılaşılan, allerjik etkiler de dahil, istenmeyen etkilere ilişkin son derece az yaygın vardır. Bunlardan birisinde (21) mezbahada kesilmeden 3 gün önce penisilin injekte edilen bir domuzun ilaç uygulanmış kısmından hazırlanan ette 0.18 ppm düzeyinde penisilin kalıntısı bulunduğu ve toplam 18-60 mikrogram miktarda kalıntı ihtiva edecek şekilde et yiyen bir kasapta allerjik özellikte istenmeyen etkiler kaydedilmiştir. Çalışmada elde edilen penisilin kalıntısı sıklığının (hayvan sayısına göre % 11.7, örnek sayısına göre % 7.8) son derece yüksek olduğu anlaşılmıştır. Zira, Amerika gibi toplumsal bilincin yüksek olduğu gelişmiş ülkelerde bu oran % 0.5'lerin altındadır (11). Penisilin grubundakiler de dahil, analiz materyalini oluşturan örneklerde antibiyotik kalıntıları sıklığı ve düzeyinin bu kadar yüksek çıkmasının en önemli sebebi hiç şüphesiz ilaç kullanılan hayvanların kesim öncesi yasal bekletme süresine uyulmaksızın kesilmeleridir. Bilindiği gibi, ilaç uygulanan hayvanların vücudundaki ilaç veya metabolit kalıntılarının tüketici için herhangi bir tehlike doğurmayacak düzeye (tolerans düzeyi) inmesine kadar kasaplık olarak kesilmemesi için geçmesi gereken süre kesim öncesi yasal bekletme süresi diye bilinir; ilacın fiziko-kimyasal özelliğinin bir neticesi olarak vücuttaki farmakokinetiğine (bilhassa biyolojik veya atılma yarı ömrü) bağımlılık gösteren bu süreye uyulması etlerdeki ilaç kalıntılarının engellenmesi bakımından son derece önemlidir. Uygulama yoluna, dozuna ve formülasyon şekline göre bazı penisilin çeşitlerinin sığırlarda kesim öncesi yasal bekletme süreleri şöyledir: parenteral yolla prokain penisilin G 10 gün, benzetin penisilin G 30 gün, ampisilin 15 gün, amoksisilin 20 gün, prokain penisilin G + dihidrostreptomisin 30 gün; ağızdan ampisilin 15 gün, amoksisilin 20 gün ve prokain penisilin G + dihidrostreptomisin 30 gün (1,13,31). ABD'de yapılan bir çalışma (4) hayvansal kaynaklı besin maddelerindeki antibiyotik ve diğer kimyasal madde kalıntılarının en önemli sebebinin hayvanların kesim öncesi yasal bekletme süresine uyulmaksızın kasaplık olarak kesilmeleri olduğunu ortaya koymuştur.

Seyrek de olsa insanlarda tetrasiklinlere karşı allerji görülür. Hayvansal yemlere 5-20 ppm yoğunlukta katılarak uygulanan tetrasiklinler yenilebilir dokularda ilaç kalıntılarına yol açmazken, 5-80 ppm düzeyinde katılarak verildiğinde kemiklerde ölçülebilir düzeyde kalıntıya yol açarlar. Bu şekilde uygulandığında sindirim kanalından emilen tetrasiklinler diş ve kemiklere sıkıca bağlanırlar; tetrasiklinlerin kalsiyuma bağlanması diş ve kemiklerin gelişmesinde gerilemeyle sonuçlanabilir; tetrasiklinlerin kullanılmasıyla dişlerdeki hasar gebeliğin 4'üncü ayı ile 7-8'inci yaşlar arasında bilhassa dikkat çeker. Besin maddelerinde bulunacak 1 ppm düzeyindeki tetrasiklin kalıntıları insanlarda istemeyen etkilere yol açmayabilirse de, 5-7 ppm'i zehirleyici olabilmektedir. Yine, yemlere 5-20 ppm düzeyinde katılarak uygulanan tetrasiklinler bilhassa Enterobacteriaceae'da direnç gelişmesine sebep olabilmektedir (4).

Mezbahada kesilen sığırlardan alınan doku ve organ örneklerinde belirlenen tetrasiklin kalıntısı düzeyi ve rastlantı sıklığının değerlendirilebilmesi için sonuçların benzeri çalışmalarla elde edilenlerle karşılaştırılmasında yarar vardır. ABD'de yapılan bir izleme çalışmasında (11) analiz edilen 529 örneğin % 5.3'ünde çeşitli düzeylerde tetrasiklin, klortetrasiklin, oksitetrasiklin, streptomisin, neomisin ve eritromisin kalıntısı bulunduğu anlaşılmıştır. Petzer ve ark. (26) uzun etkili bir oksitetrasiklin müstahzarının boyun ve kalçadan kas içi yolla uygulanmasını takiben injeksiyon yerinde sırasıyla 5 ve 7 hafta süreyle tolerans düzeyi üzerinde ilaç kalıntısı bulunduğunu, ilaç üretici firma tarafından önerilen 28 günlük kesim öncesi yasal bekleme süresinin yetersiz kaldığını, durumun et hijyeni ve toplum sağlığı bakımından önemli sağlık sakıncaları doğurabileceği sonucuna varmışlardır. Belirtilen kaynak verileri ile karşılaştırıldığında, yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlar kalıntıların hem düzeyi hem de sıklığı bakımından son derece yüksek olduğu görülecektir. Tetrasiklinler sağtım güvenliği büyük ilaçlardır; ama, yine de özellikle yüksek dozlarda kullanılırken bilhassa sindirim sistemi, karaciğer, kemik iliği, kemik ve dişlere yönelik istenmeyen etkileriyle karşılaşılabilir (31). Tetrasiklin kalıntısı ihtiva eden besin maddelerinin tüketilmesiyle bunlara benzer istenmeyen etkilerle karşılaşıldığına dair herhangi bir bilgi yoksa da, besinlerde tolerans düzeyinin üzerindeki ilaç kalıntıları, bilindiği gibi, toksikolojik yönden potensiyel tehlike taşırlar.

Hayvansal dokulardaki tetrasiklin türevi ilaç kalıntılarının tüketici yönünden herhangi bir sakınca taşımayacak düzeye inmesi için

hayvanların kasaplık olarak kesilmeleri amacıyla bekletilmeleri gereken süre bileşik, formülasyon ve uygulama yoluna göre 5-22 gün arasında değişir. Şöyleki, kesim öncesi bekletme süreci parenteral yolla kullanılan durumunda tetrasiklinler için genel olarak 15 gün, ama oksitetrasiklin için 22 gündür. Ağızdan uygulama halinde, oksitetrasiklin için 7 gün, klortetrasiklin için 10 gün ve tetrasiklin için de 5-12 gün arasındadır. Öngörülen bu süreler içinde etteki oksitetrasiklin ve klortetrasiklin kalıntılarının 0.1 ppm'e, tetrasiklin kalıntılarının da 0.25 ppm'e ineceği kabul edilir (1,13).

Bilhassa penisilin G potasyum, penisilin G prokain ve penisilin G klemizol ile birlikte hazırlanan müstahzarları şeklinde streptomisin ve dihidrostreptomisin ülkemizde veteriner hekimlikte geniş şekilde kullanılmaktadır. Aminoglikozid türevi bu ilaçlar bilhassa uygulama yeri ile böbreklerde uzun süreli ilaç kalıntısına yol açarlar; sığırlarda ağızdan veya parenteral uygulanma durumunda kesim öncesi bekletme süresi 30 gün olarak tesbit edilmiştir ve hayvansal doku ve organlarda streptomisin ve dihidrostreptomisin kalıntılarının bulunmasına kesinlikle izin verilmemektedir (1,13). Zira, aminoglikozidlerin böbrekler, işitme ve denge organı ile nöromusküler kavşak üzerinde önemli istenmeyen etkileri vardır; keza, streptomisinin penisiline benzer şekilde allerjik etkisi de mevcuttur. Analiz edilen 85 hayvanın sadece birisinde ama yüksek düzeyde dihidrostreptomisin kalıntısı çıkmıştır; bu durum yenilebilir doku ve organlarda dihidrostreptomisin için belirlenmiş sıfır toleransa göre değerlendirildiğinde, halk sağlığı bakımından önem taşımaktadır.

Analiz edilen 85 sığırın birisine ait karaciğer ve böbreğinde genellikle tolerans düzeyine yakın kabul edilebilir seviyede (21, 31) tilozin kalıntısı bulunduğu belirlenmiştir. Bu durum, ağızdan uygulandığında 8 günlük, parenteral yolla verildiğinde 21 günlük kesim öncesi bekletme süresine uyulduğunu göstermesi bakımından önem taşımaktadır.

Kloramfenikol kemik iliğine olan istemeyen etkisi dışında genellikle güvenli bir ilaçtır. Kemik iliğine olan etkisi birisi aşırı duyarlılık diğeri de mitokondrial protein sentezini engellemesi neticesi iki şekilde ortaya çıkar. İlacın en önemli istenmeyen etkisi belki de bunlardan ilkidir; aşırı duyarlılık şeklinde görülen bu tepkime ilacın dozu ve maruz kalma süresine bağlılık göstermez. Olay dolaşımdaki tüm kan hücrelerinin azalması şeklinde ve öldürücü olabilecek şekilde seyreder. Bu olayın sıklığı, genellikle çok düşüktür (1/30000) ve yu-

kanda açıklandığı gibi ,doza bağımlı değilse de, özellikle önceden ilaca bir veya birkaç kez ve uzun süre (1 aydan fazla) maruz kalanlarda daha sık olarak ortaya çıktığı anlaşılmıştır. İşte bu sebeple, besin için yetiştirilen hayvanlarda kloramfenikol kullanılması yasaklanmış olup, hayvansal kaynaklı besin maddelerinde kalıntılarının bulunmasına izin verilmemektedir (3,41). Ama, kloramfenikol kalıntısı ihtiva eden besinlerin tüketilmesini takiben istenmeyen etkilerle karşılaşıldığına dair bugüne kadar elde herhangi bilgi de yoktur. İlaç molekülünde bulunan para-nitro grup aplastik anemiye yol açan en önemli belirleyici faktör gibi görünmekle beraber, idrar ya da ette bu grubun serbest olduğu metabolitleri de bulunmamaktadır (21). Ülkemizde büyük ve küçük baş hayvanlar ile kanatlılarda kullanım için pazarlanmış yedi kloramfenikol müstahzarı bulunmaktadır; bunların prospektüslerinin incelenmesinde de besin için yetiştirilen hayvanlarda kullanılmasına ilişkin herhangi bir uyarı veya sınırlama bulunmadığı görülmüştür. Bu sebeple, söz konusu ilaca ilişkin prospektüslerin bu uyarılara göre yeniden hazırlanması gereği doğmaktadır.

Besin maddelerinde ilaç kalıntılarına ilişkin olarak belirlenen tolerans düzeyleri çiğ doku veya organlardaki miktarları gösterir. Dolayısıyla, ette dahil, hayvansal besinlerdeki antibiyotik kalıntılarının pişirme, kavurma, kızartma veya soğukta saklama sırasında parçalanarak ya da etkisiz metabolitlere çevrilerek zararsız hale gelmeleri söz konusu olabilmektedir. Genellikle aminoglikozidler, makrolidler ve tetrasiklinler dokularda dayanıklıdırlar ve kesilmiş hayvan etlerinde uzun süre kabırlar (21). Derin dondurucuda (-20°C) uzun bir süre (yaklaşık 5 ay) saklanan etlerde oksitetrasiklin kaybının son derece düşük kaldığı bilinmektedir (22,23). Buna karşılık, kloramfenikol kesimi izleyen saatler içinde hızla parçalanırken, depolama şartlarında ($+1^{\circ}\text{C}$ 'de) penisilin G ve amoksisilin kalıntılarının yarıya inmesi için yaklaşık 45 saate gerek olmaktadır (9,22). Bu durum kısa süreli depolanma sırasında penisilin kalıntılarında önemli azalma olmakla beraber, yine de etlerde önemli miktarlarda kalıntılarının kaldığını göstermesi bakımından önem taşımaktadır. Kızartma-kavurma işlemleri penisilin kalıntısında yaklaşık % 60, kloramfenikol kalıntısında % 30 ve oksitetrasiklin kalıntısında ise önemsiz bir azalma yapabilmektedir (24). Dolayısıyla, soğutma işleminde olduğu gibi, bazı ısı muameleleri de oksitetrasiklin kalıntılarının parçalanmasında pek etkili olamamaktadır.

Çalışmada elde edilen sonuçların seğerlendirilmesi neticesinde ülkemizde üretimi yapılan 14 etkin maddeyi içeren penisilin, tetra-

siklin, aminoglikozid ve makrolid türevi ile kloramfenikol kalıntıları bakımından analiz edilen 85 hayvana ait 255 et, karaciğer ve böbrek örneklerindeki antibiyotik kalıntısı rastlantı sıklığı ve düzeyinin son derece yüksek olduğu; bu durumun kasaplık hayvanlarda antibiyotik kullanımının oldukça yaygın olduğunu, böyle hayvanların kesim öncesi bekletme süresine uyulmaksızın mezbahada kesildiklerini, tüketicilerin ilaç kalıntıları ihtiva eden besinler vasıtasıyla birçok tehlikeye yüz yüze olduklarını, olayın ülke ekonomisini de olumsuz yönde etkileyebileceğini, konunun ükle genelini temsil edecek biçimde, tüm kemoterapötikleri de kapsayacak şekilde, daha kapsamlı çalışmalarla incelenmesi gerektiğini ve buradan çıkacak sonuçlara göre genel değerlendirmeler ve yaptırımların uygulanmaya konulmasını zorunlu kıldığı sonucuna varıldı.

Kaynaklar

1. **Anon.** (1984). *Veterinary professional topics. Guide to veterinary antibiotics.* Swine professional topics. 10: 1-9.
2. **Anon.** *Tarım ve Orman Bakanlığının 13.5.1990 gün, 20517 sayılı Resmî Gazetede yayımlanan tebliği.*
3. **Anon.** (1991). *A.Ü. Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalındaki veteriner ilaç müstahzarları kayıtları.*
4. **Booth, N.H.** (1988). *Drug and chemical residues in the edible tissues of animals.* In: *Veteriner Pharmacology and Therapeutics* (**Booth, N.H. and McDonald, L.E.** Eds.). 6 th ed. Iowa State Univ. Press, Ames, pp. 1149-1206.
5. **Bowen, J.M.** (1979). *Antibiotic resistance.* Clinical Pharmacology note. 31, 1, 10.
6. **Bryan, L.E.** (1988). *General mechanism of resistance to antibiotics.* J. Antimicrobial Chemotherapy, 22 suppl. A, 1-15.
7. **Dawson, K.A., Bruce, E.L., Stahly, T.S. and Cromwell, G.L.** (1983). *Multiple antibiotic resistance in fecal, cecal and colonic coliforms from pigs fed therapeutic and subtherapeutic concentrations of chlortetracycline.* J. Anim. Sci., 57: 1225-1234.
8. **Dawson, K.A., Langlois, B.E., Stahly, T.S. and Cromwell, G.L.** (1984). *Some characteristics and antibiotic resistance of anaerobic bacteria from the ceca and colons of pigs fed chlortetracycline-containing and unmedicated diets.* Appl. Environ. Microbiol., 47: 210-212.
9. **Epstein, R.L., Randecker, V., Corrao, P., Keeton, J.T. and Cross, H.R.** (1988). *Influence of heat and cure preservatives on residues on sulfamethazine, chloramphenicol, and cyromazine in muscle tissue.* J. Agric. Food Chem., 36: 1009-1012.
10. **Hays, V.W.** (1986). *Benefit and risks of antibiotics use in agriculture.* In: *Agricultural uses of antibiotics* (**Moats, W.A.** Ed.). ACS Symposium series 320. American Chemical Society, Washington DC. pp. 74-86.
11. **Jukes, T.H.** (1986). *Effects of low levels of antibiotics in livestock feeds.* In: *Agricultural uses of antibiotics* (**Moats, W.A. ed.**). ACS Symposium series 320. American Chemical Society, Washington DC. pp. 112-120.

12. **Kaya, S.** (1984). *Hayvansal üretimde gelişmeyi hızlandırıcı maddeler ve sakıncaları*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 31: 410-423.
13. **Kaya, S. ve Şahal, M.** (1989). *Besinlerimizdeki ilaç kalıntıları, bunlara ilişkin tolerans düzeyleri, ilaç verilmiş hayvanlarda uyulması gereken kesim öncesi bekleme veya sütün kullanılmasına süreleri*. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 36: 390-403.
14. **Langlois, B.E., Cromwell, G.L., Stahly, T.S., Dawson, K.A. and Virgil, W.H.** (1983). *Antibiotic resistance of fecal coliforms after long-term withdrawal of therapeutic and subtherapeutic antibiotic use in a swine herd*. Appl. Environ. Microbiol., 46: 1433-1434.
15. **Langlois, B.E., Dawson, K.A., Stahly, T.S. and Cromwell, G.L.** (1984). *Antibiotic resistance of fecal coliforms from swine fed subtherapeutic and therapeutic levels of chlortetracycline*. J. Anim. Sci., 58: 666-647.
16. **Livingstone, R.C.** (1986). *Antibiotic residues in food: regulatory aspects*. In: *Agricultural uses of antibiotics* (Moats, W.A. Ed.), ACS Symposium series 320. American Chemical Society, Washington DC. pp. 129-135.
17. **Mills, K.W. and Kelly, B.L.** (1986). *Antibiotic susceptibilities of swine salmonella isolants from 1979 to 1983*. Am. j. Vet. Res., 47: 2349-2350.
18. **Molitoris, E., Krichevesky, M.L., Fagerberg, D.J. and Quarles, C.L.** (1986). *Effect of dietary chlortetracycline on the antimicrobial resistance of broiler fecal streptococaceae*. J. Appl. Bacteriol., 60: 185-193.
19. **Mussman, H.C.** (1975). *Drug and chemical residues in domestic animals*. Fed. Proc., 34: 197-201.
20. **Neidert, E., Saschenbrecker, P.W. and Tittiger, F.** (1987). *Thin layer chromatographic/bioautographic method for identification of antibiotic residues in animal tissues*. J. Assoc. off Anal. Chem., 70: 197-200.
21. **Nouws, J.F.M.** (1981). *Tolerances and detection of antimicrobial residues in slaughtered animals*. Archiv für Lebensmittelhygiene. 32: 97-140.
22. **Nouws, J.F.M. and Ziv, G.** (1976). *The effect of storage at 4°C on antibiotic residues in kidney and meat tissues of dairy cows*. Tijdschr. Diergeesk., 101: 1145-1153.
23. **Nouws, J.F.M. and Ziv, G.** (1978). *Preslaughter withdrawal times for drugs in vdairy cows*. J. Vet. Pharmacol. Therap., 1: 47-56.
24. **O'Brien, J.J., Campbell, M. and Conaghan, T.** (1980). *Antibiotic residues in meat: Cooking and cold storage effects*. Vet. Rec., 106: 365.
25. **Penumarthi, L.** (1975). *Sulfa drug residues in uncooked edible tissues of cattle, calves, swine and poultry*. Feedstuffs, 47: 19-20, 26.
26. **Petzer, I.M., Staelen, J.J. Van and Giesecke, W.H.** (1984). *Tissue reaction and residues in slaughter cattle after administration of long-acting oxytetracycline formulation*. J. South Afr. Vet. Ass., 55: 105-111.
26. **Shahani, K.M. and Whalen, P.J.** (1976). *Significance of antibiotics in foods and feeds*. In: *Agricultural uses of antibiotics* (Moats, W.A., ed.). ACS Symposium series 320. American Chemical Society, Washington DC. pp. 88-97.

28. **Sogaard, H.** (1976). *The insidence of antibiotic resistance among coliform bacteria isolated from food.* Acta Vet. Scand., 17: 271-278.
29. **Şanlı, Y.** (1934). *Besinlerimizdeki antibiyotik artıkları.* Bilim ve Teknik. Cilt 17, sayı 195, 29-31.
30. **Şanlı, Y., Aydın, N., İzgür, M., Akman, A. ve Baydan, E.** (1987). *Sağıtıcı bazı antibiyotiklerin hayvan yetiştiriciliğinde verim artırıcı ve koruyucu amaçlarla kullanılması sonucu bakterilerde gelişen direnç kazanma olgusunun in vivo ve in vitro olarak dıyarlı mikroorganizmalarla araştırılması.* Türk Mikrobiol. Cem. Derg., 17: 151-171.
31. **Şanlı, Y. ve Kaya, S.** (1991). *Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağıtım Seçenekleri.* Feryal Matbaası, Ankara.
32. **Tınaz, H.S.** (1992). *Türkiye'de veteriner ilaçları üretimi ve yasal denetimi.* Seminer Notları. A.Ü. Vet. Fak. Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.
33. **Yndestad, M. and Underdal, B.** (1977): *Residues of sulfadimidin/sulfanilamid and sulfamethoxypridazine in sheep tissue.* Acta Vet. Scand., 18: 15-22.