

SÜT ÖRNEKLERİNDE KLORAMFENİKOL KALINTILARI

Yusuf Şanlı¹
Hidayet Yavuz²

Sezai Kaya²
Ferda Akar⁴

Nedret Aydın³
Abdullah Doğan⁵

Chloramphenicol residues in milk samples.

Summary: *In this study, chloramphenicol residue analyses were carried out in a total of 89 milk samples consisting of 75 raw and 14 pasteurized milks obtained from 7 commercial firms and 9 separate dairying units. Residue analyses were performed by the bioautography methode based upon the combination of thin-layer chromatography and microbiologic disc diffusion technic. According to the results of individual residue analyses, it was found that six milk samples were contaminated with chloramphenicol residues between the levels of 0.8-1.6 ppm derisimleri arasında kloramfenikol kalıntılarıyla kirlenmiş olduğu ppm. It was calculated that the mean chloramphenicol residue levels was 1.15 ppm in the contaminated samples and the incidence of contamination was 6.9 % in all of the samples.*

With data obtained from this study, it has been observed that the incidence and the level of contamination in the milk samples were at important dimensions only for one kind of antibiotic; from point of view the consumer health, it was needed to be taken scientific and legal precaution.

Özet: *Bu çalışmada, 7 adet ticari firma ve 9 ayrı sütçülük biriminden sağlanan 75'i çiğ ve 14'de pastörize edilmiş toplam 89 adet süt örneği kloramfenikol kalıntıları yönünden analiz edilmiştir. Kalıntı analizleri*

1 Prof. Dr., Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

2. Doç. Dr., Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

3 Uzman Veteriner Hekim. Hayvan Hastalıkları Araştırma Enstitüsü. Etlik, Ankara.

4 Dr., Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

5 Dr., Atatürk Üniversitesi Kars Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kars.

ince-tabaka kromatografisi ve mikrobiyolojik disk diffüzyon tekniklerinin birleştirilmesi esasına dayanan biyotografi yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bireysel analizler sonucunda 6 adet süt örneğinin 0.8-1.6 ppm derişimleri arasında kloramfenikol kalıntılarıyla kirlenmiş olduğu saptanmıştır. Analiz örneklerinde kirlenme sıklığı % 6.9 ve ortalama kloramfenikol kalıntı düzeyi de 1.15 ppm olarak hesaplanmıştır.

Analitik bulguların bilimsel veriler ışığında değerlendirilmesi sonucunda yalnızca kloramfenikol kalıntularından kaynaklanan kirlenme sıklığı ve düzeyi önemli boyutlarda bulunmuştur. Tüketiciler yönünden sürekli sağlık riski yaratabilecek bu sakıncalı durumun önlenmesi için hızla bilimsel ve yasal önlemlerin alınması gerekli görülmüştür.

Giriş

Günümüzde antibakteriyel ilaçlar evcil hayvanlarda karşılaşılan enfeksiyöz hastalıkların iyileştirici ve koruyucu sağıtım için olduğu kadar hayvansal verimliliğin artırılması yönünden de büyük olanaklar sağlamaktadır. Yoğun araştırmalar sonucunda daha yeni üyelerin izolasyonu veya sentezi ile giderek zenginleşen bu gruptan ilaçlar artık insan ve hayvan sağlığının en önemli güvencesi, bol verimli ve kârlı hayvancılığın başlıca garantisi olarak değerlendirilmektedir (6,28). Çünkü, böyle ilaçların sağladığı olanaklarla bir yandan bakteriyel ve viral kökenli hastalık riski en aza indirilip, oluşan enfeksiyonlar etkin bir şekilde sağıtılabilirken, diğer yandan da hızla gelişen veya verim aşamasında olan hayvanların genel sağlık durumları en uygun koşullarda korunmak suretiyle hayvansal üretim ve verimlilik en üst düzeye çıkartılabilmektedir (30).

Bugün için ilgili bilimsel çevrelerce benimsenen yaygın bir görüşe (6,24,28,30) göre, hayvansal verimliliğin çok yönlü olarak artırılabilmesi ve hayvan hastalıklarının bir sorun olmaktan çıkartılabilmesi için hayvan yetiştiriciliğinde antibakteriyel ilaç kullanımı vazgeçilmez bir seçenek konumuna gelmiştir. Bununla beraber, biyolojik yönden son derece etkin olan böyle ilaç çeşitlerinin bilgisizce ve kontrolsüz bir şekilde kullanılmaları halinde toplum sağlığını yakından ilgilendiren ve hatta giderek evrensel boyutlara bürünen çok yönlü sakıncalar yaratabileceği hususu bütün dünyada yoğun bir biçimde tartışılmaktadır (28). Çünkü, veteriner pratikte ve hayvan yetiştiriciliğinde kullanılan aynı çeşitten ilaçlar, bir yandan kaçınılmaz şekilde et, süt ve yumurta gibi hayvansal ürünlere yansiyarak değişik boyutlarda besin kirlenmesine sebep olurken, diğer yandan da insan ve hayvan eko-

sistemlerinde çoğul dirençli bakteri suçlarının ortaya çıkmasına ve yaygınlaşmasına yol açmaktadır (5,8,9,15,16,23).

Sakıncalı boyutlarda besin kirlenmelerine yol açması bakımından bakteriyel hastalıkların iyileştirici ve koruyucu sağıtımı amacıyla antibakteriyel ilaç kullanımı ayrı bir önem taşır (24). Çünkü belirtilen seçenekler için genellikle geniş antibakteriyel spektrumlu ve güçlü etkinliğe sahip olan ilaç çeşitleri seçilerek, kolayca emilen ve hızla bütün hayvan vücuduna dağılan ya da sağıtım süresince depo oluşturabilen bir farmasötik şekil altında ve yüksekçe dozlarda uygulanır. Dolayısıyla böyle bir uygulama sonucunda sağıtım devam ettiği sürece aynı hayvanlardan elde edilen süt ve yumurta gibi ürünler ile yasal bekletme süresine uyulmaksızın kesilen hayvanların etleri kaçınılmaz şekilde yüksek düzeylerde antibakteriyel ilaç artıklarıyla kirlenir (4,16,22,31). Belirtilen nedenlerle bilinçsizce ve kontrolsüz bir şekilde sağıtıcı amaçlarla kullanılan antibakteriyel ilaçlar sürekli olarak hayvansal besinlerde kirlenme riski yaratır (30).

Antibakteriyel ilaç artıklarıyla kirlenmiş besin tüketiminden kaynaklanan en önemli sakıncalardan biri, hiç kuşkusuz patojen bakteri türlerinde çoğul dirençli suşların ortaya çıkmasıdır. Dirençli suşlar, doğrudan bilinçsizce antibakteriyel ilaçlarla sağıtılan hayvan türlerinde ortaya çıkabileceği gibi, kirlenmiş hayvansal besinleri sürekli tüketen insanlarda da gelişebilir (5,6,11).

Keza bulaşıcı veya ekstrakromozomik tipte gelişen dirençlik olguları aynı türden bakteriler arasında olduğu kadar, farklı türlerden patojen bakterilere de geçerek, farklı ekosistemlerde hızla yayılma eğilimi gösterir. Öte yandan dirençlik materyalleri tren vagonlarına benzer şekilde aktarıldığından, aynı patojen bakteri çok sayıda antibakteriyel ilaca karşı da dirençli hale gelebilir (16,28,32).

Hayvansal besinlere yansıyan etkin antibiyotik artıkları ile toksik metabolitlerinin akut ve kronik toksik etkileri bugün için bütün yönleriyle açıklığa kavuşturulamamıştır. Bununla beraber penisilinler ve sefalosporinler gibi beta-laktam antibiyotiklerin kirlilik düzeyinde alınmaları halinde bile tüketici insanlarda eozinofili, antibiyotik ateşi ve anafilaktik şok'a kadar gidebilen değişik derecelerde allerjik reaksiyonlara neden olabileceği belirlenmiştir (6). Kirlilik halinde alınan streptomisin ve kanamisin gibi aminoglikozid antibiyotikler sindirim kanalından güçlükle emilebildiklerinden, keza aynı yoldan kolayca emilebilen makrolid grubu antibiyotiklerde düşük toksisiteli oldukla-

rından ciddi bir kalıntı sorunu yaratmazlar (24). Buna karşın, çok düşük düzeylerde bile sindirim kanalından kolayca emilebilen tetrasiklinler giderek artan yoğunluklarda kemikler, dişler ve sinir sisteminde birikebilirler. Böyle artıkların özellikle fütusta ve çocuklarda kemik büyümesini depresyona uğratacağı ve yetişkinlerde de intrakranyal hipertansiyona koşturarak çok yönlü sinirsel bozukluklara ve immuno-toksisteye yol açabileceği anlaşılmıştır (2,4,6,30).

Bütün antibakteriyel ilaç çeşitleri içerisinde kloramfenikol insanlarda ihmal edilemeyecek boyutlarda çok yönlü istenmeyen yan veya ters etkilere yol açması bakımından ayrı bir öneme sahiptir. Nitekim normal sağıtım dozlarında olduğu kadar, nisbeten uzun süreli ve 2 mg / gün'lük ağız dozlarının bile kemik iliği depresyonuna bağlı olarak aplastik anemi, hipoplastik anemi ve granulositopeni ile kendini gösteren ciddi hemopatik etkilere yol açar (22). Aynı olumsuz etkileri kapsamında kemik iliği aplazisi sonucunda gelişen pansitopeni olguları % 50-70 oranlarında ölümle sonuçlanır. Kaldı ki, daha uzun süre yaşayan böyle bireylerde de sıklıkla akut lösemi olguları gelişir. Öte yandan, nisbeten yüksekçe dozlarda kloramfenikol ile sağıtılan 30 günlükten küçük çocuklarda genellikle sindirim sistemi bozuklukları, kusma, düzensiz solunum, hipotermi ve cildin gri renk almasıyla kendini gösteren gray sendromu gelişir (1,4,27).

Kloramfenikol verilen insanlarda ve benzeri hayvan modellerinde doza bağımsız olarak gelişen çok yönlü olumsuz etkileri dikkate alınarak et, süt ve yumurta gibi hayvansal ürünlere yansıyan kloramfenikol artıklarının da aynı derecede sağlık sakıncaları yaratabileceği kabul edilmektedir (6,14,16,17,26,28). Çünkü kloramfenikol, ayrıcalıklı farmakokinetik özellikleriyle besin değeri olan hayvanların sindirim kanalından ve parenteral yollardan kolayca emilerek geniş ölçekte bütün vücuda dağılır. İntramammar yoldan uygulandığında da hemen hemen aynı derişimlerde bütün meme dokusu ve süt içeriğine geçer (13,21,31). Nitekim besin değeri olan hayvanlarda sağıtım amacıyla ilaç uygulaması yapıldığı sürece tüketilebilen dokulardaki kloramfenikol derişimi 2.67-7.03 ppm arasına yükselirken ilaç uygulaması durdurulduktan 72 saat sonra da böyle dokularda 0.162-1.43 ppm derişimlerinde kloramfenikol kalıntısına rastlanabilmektedir (7). Sağmal hayvanlara sistemik olarak uygulanan kloramfenikol kan derişimlerinin % 50'sinden daha yüksek oranlarda (2-6 ppm) süte geçebildiği gibi, akut mastitis olgularında parenteral veya meme içi yollardan ilaç uygulandığında süte geçen kloramfenikol kirliliği katlamalı olarak

artabilmektedir (20,21,29). Aynı şekilde yumurta tavuklarına yem veya su içerisinde sağıtım dozlarında verilen kloramfenikolün 4.günden itibaren 8000 ppm'e ulaşan boyutlarda yumurtaya geçerek, ancak 15. günde 3 ppm'e kadar azalabildiği saptanmıştır (8).

Değişik amaçlarla besin değeri olan hayvanlara verilen kloramfenikolün kolayca et, süt ve yumurta gibi hayvansal ürünlerin kirlenmesine yol açabileceği ve bu durumda özellikle çocuklar olmak üzere, bütün tüketici halk kitlelerine yönelik ciddi boyutlarda toksisite riski yaratabileceği gerçeği anlaşıldıktan sonra, pek çok ülkede aynı ilacın belirtilen alanda kullanılma durumu ve koşulları geniş ölçekte tartışılmaktadır (6,7,8,24,30). Bu kapsamda olmak üzere, A.B.D.'inde kloramfenikolün besin değeri olan hayvanlarda kullanımını tümüyle yasaklanırken (1,4), Avrupa Ekonomik Topluluğu başta olmak üzere, diğer çok sayıdaki gelişmiş ülke ve Dünya Sağlık Örgütüncü aynı antibiyotigin yalnızca yetkili veteriner hekimlerce uygulanmasını sağlayan ve hayvansal besinlerdeki artıkları için sızır tolerans limitini öngören yasal kısıtlamalar getirilmiştir (8,12,19,21,22,23,32).

Gözlem niteliğinde de alınan bu çalışma kapsamında, başlıca üretim merkezlerinden sağlanan süt örneklerinde etkin kloramfenikol artıklarının varlığı araştırılarak, sağlanan bulgulara göre ülkemizde aynı antibiyotigin süt hayvancılığında bilinçli bir şekilde kullanılıp kullanılmadığı, kirlenme olgularının sıklığı ve boyutları ile böyle ürünlerin halk sağlığı yönünden yaratabileceği sağlık sakıncalarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Analiz örnekleri: Çalışmada materyal olarak 75 adedi çiğ süttten ve 14'de pastörize ürünlerden oluşan toplam 89 adet süt örneği kullanıldı. 21.1.1990 ile 16.5.1990 tarihleri arasında sağlanan analiz örneklerinden 64 adedi sürekli süt ve süt ürünleri üretim ve pazarlamasını yapan 7 ayrı firmaya (A.O.Ç., Birtat, Güven, Mis süt, Pınar süt, T.Süt Enddüstüri Kurumu ve Üçyıldız), 6'sı Balya ve Çiçekdağı Tarım İşletmelerine ve 19 adedi de aile işletmesi niteliğindeki sütçülük birimlerine aittir. Olanak ölçüsünde taze veya en yeni üretim çeşitlerinden seçilmeğe özen gösterilen süt örnekleri analize alınana değin soğutucuda tutuldu.

Ayıraç ve çözücüler

— Kloramfenikol (Sigma, Cat. No: C-0378).

— Kloramfenikol stok çözeltisi: 100 mg antibiyotik standardı tartılarak 100 ml metanolde çözdürülmek suretiyle 1 mg / ml derişimde hazırlandı. Haftada bir kez yenilenen bu çözelti 0-4 C arasındaki soğutucuda tutuldu.

— Kloramfenikol çalışma çözeltisi: Aynı maddeye ait stok çözeltinin metanol ile 1:10 oranında hazırlanan bu çözelti, günlük olarak yenilendi.

— Beta-glukuronidaz enzimi (Sigma, Cat. No: G-0876).

— Özel besi yeri (Standart Plate Count Agar, Oxoid Cod. cm-463)

— Bacillus subtilis 6633 (Sigma, Cat. No: B-4006).

— Ön kaplamalı İTK plakaları (Silicagel G₆₀, Merck, Art. 5626).

— Developman solvent sistemi: Metanol + kloroform + aseton + gliserin'den oluşan çözücülerin 30 + 49 + 20 + 1 oranlarına göre karıştırılmasıyla hazırlandı.

— 0.2 M fosfat tampon çözeltisi: 2 g. dibazik potasyum fosfat ve 8 g. monobazik potasyum fosfat bir miktar damıtık suda çözdürüldükten sonra, hacmi 1000 ml'ye tamamlandı.

— Aseton (Merck, Art. 13).

— Kloroform (Merck, Art. 2431).

— Metanol (Merck, Art. 6008).

— Asetonitril (Merck, Art. 800015).

— Gliserin (Renel Kimya, D. 1255-1266).

Gereçler ve aygıtlar

— Duyarlı terazi (Sartorius, 1106).

— Santrifüj (Wirowka WE-2).

— Rotavaporatör (Buchi, K-116).

— İnkübatör (Dedeoğlu).

— Kurutma makinası (Etap).

— Biyoplakalar: Ön kaplamalı plakalara uydurulacak şekilde 24.5 x 24.5 cm boyutlarında camdan hazırlanmış özel plakalar.

— Developman tankı, dereceli tüpler, ölçü silindiri, ağız traşlı balonlar ve değişik hacimli mikropipetler.

Kloramfenikol kalıntılarının ekstraksiyonu: Süt örneklerinde bulunan kloramfenikol kalıntılarının ekstraksiyonu Allen (1) tarafından önerilen yöntemle göre yapıldı. Böylece; 5 ml süt örneği 5 ml 0.2 M tampon çözeltisi ile karıştırılıp, üzerine 1 ml % 0.1'lik beta-glukuronidaz katıldıktan sonra, inkübatörde bir gece bekletildi. Karışım içeriğindeki kloramfenikol kalıntıları 2 kez kloroform + etilasetat (2 + 1) karışımı ile ekstrakte edildi. Kalıntı ekstraktları süzgeç kağıdından süzülerek, su hamamında uçuruldu. Elde edilen kuru kalıntı 0.5 ml metanolde çözdürülerek ince-tabaka plakasına uygulandı.

Kalıntıların nitel tanısı ve nicel ölçümü: Örnek ekstraktlarında bulunan kloramfenikol kalıntılarının nitel tanısı ve nicel ölçümü Neidert ve Arkadaşlarınca (18) geliştirilen yöntem uyarınca gerçekleştirildi. Böylece ekstrakt içeriğindeki kloramfenikol kalıntıları geleneksel ince-tabaka kromatografisi ile ayrıldıktan sonra, mikrobiyolojik disk diffüzyon tekniği esasına dayanan biyootografi işlemi ile nitel tanı ve nicel ölçüm aşamaları tamamlandı.

İnce-tabaka kromatografisi: Ön kaplamalı ince-tabaka plakaları 2 cm aralıklı kolonlara bölündükten sonra, kolonlardan birine 10 mikrolitre kloramfenikol kalıntı ekstraktı ve diğerlerine de sırasıyla 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1.0, 2.0 ve 5.0 mikrogram miktarlarında kloramfenikol standart çalışma çözeltisi uygulandı. Böylece hazırlanan plakalar developman tankına yerleştirilerek solvent sınırı 10 cm yükselinceğe değin beklendi. Böylece developman işlemi tamamlanan plaka tanktan çıkartılıp, 30 dk oda ısısında kurutulduktan sonra biyootografi işleminde kullanıldı.

Biyootografi işlemi: Disk diffüzyon tekniğine uygun biyoplakaların hazırlanması için 23.5 g özel besi yeri uygun bir balona konularak 1 lt. distile su içerisinde ve su banyosunda tutularak tümüyle çözünmesi sağlandı. Su banyosundan alınarak soğutulan sıvı besi yeri 100 ml'lik balonlara bölünerek ağızları uygun şekilde kapatıldıktan sonra 120 C derece ve 1 atmosfer basınç altında 15 dk süreyle sterilize edildi. 45-50 C arasına değin soğutulan her 100 ml sıvı agara 400 mikrolitre *Bacillus subtilis* spor süspansiyonu eklendi. Agar içeriği sterilize edilmiş biyoplaka yüzeyine homojen bir katman oluşturacak şekilde dökülerek katılmasında için yeterince bekletildi. Önceden örnek ekstraktı ve antibiyotik standartları uygulanarak hazırlanan ince-tabaka plakası biyoplakanın besi yeri yüzeyine kapatılarak 20 dk

bekletildi. Böylece ince-tabaka adsorban katmanında lekeler halinde bulunan antibiyotik kalıntılarının besi yerine yayılması sağlandı. İnce-tabaka plakası kaldırılarak atıldıktan sonra biyoplaka 37 C derecelik etüvde 18 saat süreyle tutuldu. İnkübasyon işleminden sonra biyoplakalarda oluşan inkübasyon alanları antibiyotik kalıntıları yönünden değerlendirildi.

Biyoplakada şekillenen inhibisyon alanlarının Rf değerleri 0.85 olarak ölçüldü. Antibiyotik standardının oluşturduğu inhibisyon alanının değerlendirilmesinde aynı Rf değerini veren örnek ekstraktlarına ait minimum inhibisyon alanları (8 mm) antibiyotik kalıntılarının varlığı bakımından pozitif olarak değerlendirildi. Aynı inhibisyon alanının mm cinsinden ölçülen çap uzunluğu, farklı derişimlerdeki standart antibiyotik varlığıyla biyoplakada oluşan inhibisyon alanları esas alınmak suretiyle hazırlanan kalibrasyon eğrisine uygulanarak analiz örneğindeki kloramfenikol kalıntısı mikrogram cinsinden hesaplandı.

Bulgular

Bu çalışma kapsamında 75'i çiğ süt durumunda ve 14 adedi de pastörize edilmiş olan toplam 89 adet süt örneği analiz materyali olarak kullanıldı. Analiz örneklerinin üretici firma veya üretim birimleri ile, kloramfenikol kalıntı analiz sonuçları Tablo 1'de topluca verilmiştir. Bireysel analiz sonuçlarının değişik yönlerden değerlendirilmesi sonucunda, süt örneklerinin ortalama 4.5 aylık süreçte ve 31 ayrı şehir veya yerleşim biriminden sağlandığı ortaya çıkmıştır. Ancak analiz örneklerinden 64 adedinin başlıca 7 ayrı firma tarafından toplanarak işlenmesine karşın, geri kalan 25'nin 9 ayrı sütçülük birimine ait olduğu anlaşılmıştır.

Süt örneği ekstraktlarının uygulanmasıyla hazırlanan biyoplakalarda oluşan inhibisyon alanlarının değerlendirilmesinde aynı plakalarda kontrol ve nicel ölçüm amacıyla kullanılan kloramfenikol standardının minimum inhibitör derişimi esas alınmıştır. Böylece ancak 0.3 mikrogram miktarındaki kloramfenikol standardının biyoplakada değerlendirilebilir boyutlarda inhibisyon alanı oluşturabildiği saptanmıştır. Belirtilen minimum inhibitör derişimde oluşan inhibisyon alanlarının Rf değeri 0.85 olan boyutta ortalama çap uzunluğu 8 mm olarak saptandığından aynı boyutta veya daha geniş inhibisyon alanı oluşturan süt örneği ekstraktları değerlendirmeye alınmıştır. Bununla beraber bireysel analizler aşamasında 7 adet süt örneği ekstraktına ait

biyoplakalardada aynı Rf değerinde beliren 5 ve 6 mm çaplarında inhibisyon alanları gözlenmiştir. Fakat belirtilen bulgular antibiyotik standardına ilişkin ortalama inhibisyon alanı çapından önemli derecede ayırım gösterdiğinden dikkate alınmamıştır.

Yukarıda belirtilen ilkeler esas alınmak suretiyle bireysel analiz bulgularının değerlendirilmesi sonucunda analizi gerçekleştirilen 89 adet süt örneğinin 6'sında kloramfenikol kalıntıları varlığına rastlanmıştır. Toplam analiz örneği sayısı esas alındığında kloramfenikol kalıntıları ile kirlenmiş örnek sıklığının % 6.9'a ulaştığı belirlenmiştir. Çıakları bakımından 3'ü Ankara, 2'si Eskişehir ve 1'de Samsun yöresinde üretilen süt örneklerinin sürekli süt ve süt ürünleri üreticisi ve pazarlayıcısı konumundaki 5 büyük ticari firmaya ait olduğu anlaşılmıştır.

Elde edilen analiz sonuçlarına göre, süt örneklerinde saptanan kloramfenikol kalıntı değerlerinin 0.8-1.6 ppm düzeyleri arasında değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca kirlenmiş süt örneği sayısı esas alınmak suretiyle yapılan değerlendirme sonucunda da kirlenmiş örneklerde bulunan ortalama kloramfenikol kalıntı düzeyi 1.5 ppm olarak hesaplanmıştır.

Tablo 1. Üretim yerlerine göre süt örneklerindeki kloramfenikol düzeyi ve sıklığı.

Örneklemeye yeri	bulunan örnek Örnek sayısı	Kloramfenikol sayısı	Saptanan kloramfenikol (düzeyi (ppm))
Üretici ve pazarlayıcı firma	64	6	0.80-1.62
Aile işletmesi	19	0	-
Tarım işletmesi	6	0	-
Toplam	89	6	0.80-1.62

Tartışma ve Sonuç

Çeşitli hayvansal ürünlerde bulunan antibakteriyel ilaç artıklarının insan ve çevre sağlığı yönünden yarattığı çok yönlü sakıncalar açıklığa kavuşturulduktan sonra, hayvansal dokularda ve biyolojik sıvılarda etkin ilaç artıklarının analizi giderek büyük önem kazanmıştır (8). Çünkü bu tür analizlerle sağlanan veriler, hayvansal çıkaklı besinlerin insanlar tarafından tüketilip tüketilemeyeceğine yönelik denetim uygulamalarına temel oluşturur. Ancak böylece hayvansal

besinlerin söz konusu artıklarla kirlenme durumu etkili bir biçimde denetlenebilir. Öte yandan, aynı çeşitten ürünlerin ilaç artıklarından arındırılabilmesi için uygulanması öngörülen “yasal bekletme süresi”, “ilaçla sağıtımın durdurulması” ve besinlerde bulunmasına müsaade edilen artıklara ilişkin “tolerans limitleri”nin saptanması amacıyla yapılan çalışmalarda böyle analizlerle sağlanan verilere dayanır (1,12,24,28,32).

Et, süt ve yumurta gibi hayvansal ürünlerde antibakteriyel ilaç kalıntılarının ortaya çıkartılması ve denetlenmesi amaçlarıyla kullanılacak nitel ve nicel analiz yöntemlerinin olanak ölçüsünde yalancı-pozitif veya negatif bulgulara yol açmayacak derecede seçkin nitelikli, her zaman aynı sonuçları sağlayabilecek şekilde tekrarlanabilir, ve nihayet her bir antibakteriyel ilaç kalıntısı için saptanan yasal tolerans limiti düzeyindeki ilaç varlığını ortaya çıkartabilecek derecede de duyarlı olması öngörülür (24). Özellikle süt örneklerinde kloramfenikol kalıntılarının analizi söz konusu olduğunda, gaz kromatografisi, ince tabaka kromatografisi ve yüksek basınçlı likit kromatografisi gibi fiziko-kimyasal yöntemlerle ancak 10 ppb veya biraz daha düşük düzeylerdeki kalıntı varlığı ortaya çıkartılabilmesine karşın, daha pahalı aygıt donanımını ve zaman tüketimini gerektirmektedir (1,2,19,25). Radioimmunoassay ve ELİSA testi esasına dayanan enzim-linked immunosorbant yöntemleri de seçkin nitelikli ve nisbet yüksek duyarlılık özelliklerine sahip olmakla beraber, bugün için daha çok tarama amaçlarıyla kullanılmaktadır (3,24). Oysa etkin kolramfenikol kalıntılarında aşırı derecede duyarlı hale getirilmiş mutant bakteri suşları kullanımı esasına dayanan biyootografi yöntemi ile hem tarama niteliğinde denetim etkinliği gerçekleştirilirken, hem de 0.3 ppb'ye kadar düşük düzeylerdeki etkin kloramfenikol kalıntılarının varlığı ortaya çıkartılabilmektedir (8,18,24,27).

Antibakteriyel ilaç artıklarıyla kirlenme olasılığı bakımından süt ve süt ürünleri özel bir konuma sahiptir. Şöyle ki; sistemik enfeksiyonlar veya mastitis olgularının koruyucu ve iyileştirici sağıtımında parenteral ve meme içi yollardan ilaç verilen sağmal hayvanlardan elde edilen sütler ilaç atımı devam ettiği sürece kirlenebildiği gibi, kuru dönemde kronik veya subklinik mastitislerinin sağıtımı için meme içi yoldan ilaç uygulanmış hayvanların sütleri de doğumu izleyen ilk günlerde yüksekçe düzeylerde ilaç kalıntısı içerir. Öte yandan, bir süt hayvancılığı biriminde veya ticari süt işletmeciliğinde kirlenmiş sütlerle birlikte aynı kap veya depoda biriktirilen bütün sütler topluca kirle-

nebilir. Belirtilen nedenlerle ilaç uygulanmış besi hayvanlarının ancak yasal bekletme süresinden önce kesilmeleri halinde, etlerin ilaç kalıntılarıyla kirlenmesi söz konusu olduğu halde, aynı durumdaki sağlam hayvanlardan bekletme süresince sağılan veya çok sayıda süt hayvanı ya da işletmeden elde edilerek karıştırılan sütlerin kirlenme riski, diğer hayvansal besin çeşitlerinden oldukça yüksektir (9,23). Nitekim, 1985 yılında İngiltere ve İskoçya'da 8339 süt örneği üzerinde gerçekleştirilen tarama niteliğindeki bir araştırma ile belirtilen yılın ilk dokuz ayında 7.500.000 litreden fazla sütün antibakteriyel ilaç artıklarıyla kirlenmesi sonucunda imha edildiği saptanmıştır (12).

Yukarıda kısaca açıklanan gerçekler karşısında ülkemizde üretilen ve geniş ölçekte tüketime sunulan süt çeşitlerinin kloramfenikol artıklarıyla kirlenme durumunun ortaya çıkartılması amacıyla 89 adet örnek üzerinde gerçekleştirilen kalıntı analizleri sonucunda aynı örneklerin % 6.9 oranında kirlenmiş olduğu belirlenmiştir. Sığırlarda karşılaşılan sistemik enfeksiyonların sağıtımında kullanılacak kloramfenikol içeren sadece 3 adet yerli spesiyalitenin bulunduğu göz önünde tutulursa, bir tek antibiyotik çeşidinden ileri gelen kirlenme sıklığının son derece yüksek olduğu kolayca değerlendirilebilir. Nitekim süt sığırlarında aynı amaçlarla kullanılabilen ortalama 18 çeşit antibakteriyel ilaç etken maddesi esasına göre hazırlanmış çok sayıda spesiyalitenin varlığı ve yaygın bir biçimde tüketilme durumu karşısında ülkemizde üretilen süt ve süt ürünlerinin antibakteriyel ilaç kalıntılarıyla kirlenme sıklığının ürpertici boyutlara ulaşması hemen hemen kaçınılmaz görülmektedir.

Çeşitli ülkelerde süt ve süt ürünlerinin antibakteriyel ilaç kalıntılarıyla bulaşma sıklığı aynı ülkede yetiştiricilerin konuya ilişkin eğitim düzeyleri, yasal düzenlemeler ve denetim etkinliklerine göre önemli derecede değişebileceği anlaşılmıştır (2,6,9). Nitekim Dünya Sağlık Örgütü ile Dünya Gıda ve Tarım Örgütü Uzmanlar Komisyonunca süt hijyenine yönelik olarak hazırlanan teknik rapor (23) sonuçlarına göre; Amerika Birleşik Devletleri, Avustralya, İngiltere ve İskoçya gibi gelişmiş ülkelerde 1969 yılına değin üretilen süt ve süt ürünlerinin antibakteriyel ilaç artıklarıyla kirlenme sıklığı % 7-30 oranları arasında değişebilirken, belirtilen tarihten itibaren gerekli önlemlerin alınmasından sonra üretilen aynı ürünlerin kirlenme sıklığı A.B.D.'inde % 0.5, Avustralya'da % 2.1, İngiltere'de % 1.5 ve İskoçya'da da % 3.4'e düşmüştür. Aynı rapor kapsamında (23) hayvan yetiştiricilerinin bilinçlendirilmesi ve hijyenik koşulların düzeltilmesi ve

denetim etkinlikleri yönünden yetersiz kalan az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde süt ve süt ürünlerinde karşılaşılan kirlenme sıklığının daha yüksek oranlara ulaşabileceği kaydedilmektedir.

Buraya değin kısaca açıklanan bilimsel veriler ve görüşlere koştur bir şekilde ülkemizde tüketime sunulan sütlerde hijyenik durumun düzeltilmesine yönelik olarak bilimsel, eğitsel ve denetim etkinliklerinin yetersizliği karşısında, analiz materyali olarak seçilen süt örneklerinin % 69 oranına ulaşan boyutlarda kloramfenikol kalıntılarıyla kirlenmiş olması, bugünkü koşulların kaçınılmaz bir sonucu olarak değerlendirilmektedir. Belirtilen sakıncalı durumun ülkemizde süt sığırcılığında kullanılması öngörülen antibakteriyel ilaç çeşitlerinin yasal olarak sınırlandırılmaması, sağıtım amacıyla ilaç uygulanmış hayvanlarda antibakteriyel ilaç kalıntılarında arınmasına değin geçebilecek yasal bekletme süresinin uygulanmaması ve tüketime sunulan süt çeşitlerinde antibakteriyel ilaç kalıntılarında yönelik etkin bir denetimin bulunmamasından kaynaklandığı sanılmaktadır.

Sağıtım dozlarında kas içi yoldan sağmal ineklere enjekte edilen kloramfenikol, kan plazması ilaç derişimlerinin % 50'sinden daha yüksek oranlarda (0.5-5 ppm arasında) süte geçmekte ve uygulaması durdurulduktan sonra da 72 saat süreyle sütle atılmaktadır. Akut mastitis olgularında gerek sistemik olarak ve gerekse meme içi yoldan yapılan ilaç uygulamalarında süte geçen ilaç derişimi katlamalı olarak artabilmektedir (7,8,10,13,29). Nitekim, Guillot ve Ark. ca (10) kloramfenikolün süt sığırlarındaki dağılım kinetiğini belirlemeğe yönelik olarak gerçekleştirilmiş benzeri bir çalışmada kas içi yoldan normal sağıtım dozlarında ve 12 saatlik aralıklarla 6 kez kloramfenikol enjekte edilen sığırlardan sağıtım süresince elde edilen süt örneklerinde 2-3 ppm derişimlerinde etkin ilaç kalıntısı saptanmıştır.

Sağmal sığırlara parenteral yollardan verilen kloramfenikolün süte yansıma kinetiğine ilişkin yukarıda özetlenen bilimsel veriler esas alındığında analiz materyali süt örneklerinde 0.8-1.6 ppm derişimleri arasında saptanan etkin ilaç kalıntıları varlığının sağıtıcı dozlarda ilaç verilmiş hayvanlardan elde edilen sütlerde bulunabilen normal değerleri karşıladığı ortaya çıkmıştır.

Analiz materyali süt örneklerinde % 6.9 oranında ve 0.8-1.6 ppm derişimlerinde kloramfenikol kalıntılarında rastlanmış olması, ülkemizde insan sağlığı yönünden sürekli ve yaygın biçimde çok yönlü toksisite riski yaratabilecek boyutlarda süt üretiminin varlığını sergilemektedir. Çünkü ülkemizde geçerli olan Gıda Maddeleri Tüzüğü'nün

21'inci maddesi C bendinde "antibiyotik kalıntıları içeren veya son 6 gün içerisinde aynı gruptan ilaçlarla sağıtılan hayvanlardan elde edilen çiğ sütlerin insan besini olarak kullanılmayacağı" öngörülmektedir.

Ülkemizde geçerli yasal uygulamaya koşut olarak, kloramfenikol ile sağıtılan insanlarda veya benzeri koşullarda oluşturulan hayvan modellerinde doza bağımsız bir şekilde gelişen kemik iliği depresyonu, aplastik anemi ve granulositopeni gibi kan diskrazilerine yol açma riski dikkate alınarak pek çok ülkede aynı ilacın besin değeri olan hayvanlarda kullanılma durumu ve koşulları geniş ölçekte kısıtlanmıştır (7,24,30). Bu kapsamda olmak üzere, A.B.D.'inde aynı antibiyotik besin değeri olan hayvanlarda kullanımı tümüyle yasaklanırken (1,4), Avrupa Ekonomik Topluluğu ile diğer pekçok gelişmiş ülke ve Dünya Sağlık Örgütüncü de süt ve süt ürünlerinde kloramfenikol artıkları için sıfır tolerans limitini öngören kısıtlamalar getirilmiştir (3,12,22,25,32).

Sürekli olarak kloramfenikol artıklarıyla kirlenmiş süt tüketimi, yol açabileceği çok yönlü toksisite riskinin ötesinde duyarlı patojen bakteri türlerinde dirençli suşların ortaya çıkmasına ve giderek insan ve hayvan ekosistemlerinde yayılmasına yol açabilecektir (5,14,22). Ayrıca böyle sütler küçük çocukların beslenmesi yönünden de çok önemli bir sakınca oluşturabilir. Çünkü süt küçük çocukların beslenmesinde ana sütte en yakın çok değerli bir besin maddesi konumundadır. Dolayısıyla sürekli olarak kullanılan kirlenmiş sütler, bebeklerde ergin insanlarla karşılaştırılmayacak derecede toksisite riski yaratabilir. Dolayısıyla küçük çocuklarda ilaç metabolizmasına karışan enzimler ile kan sentezi etkinlikleri henüz yeterince gelişmemiş olduğundan, kloramfenikolün çok yönlü toksik etkilerine karşı oldukça duyarlıdırlar (1,6,9,22,23).

Sonuç olarak, bu çalışma ile sağlanan bulguların çok yönlü değerlendirilmesiyle özellikle besin değeri olan hayvanlarda karşılaşılan enfeksiyöz hastalıkların koruyucu ve iyileştirici sağıtımında antibakteriyel ilaçların bilinçsizce kullanıldığı, bu durumun kaçınılmaz bir sonucu olarak geniş ölçekte tüketilen süt ve süt ürünlerinin antibakteriyel ilaç artıklarıyla yaygın boyutlarda ve sürekli olarak kirletildiği anlaşılmıştır. Tüketici halk kitleleri yönünden sürekli olarak sağlık riski yaratabilecek bu durumun önlenmesi için süt hayvancılığında kullanılacak antibakteriyel ilaç çeşitlerinin sınırlandırılarak kullanımlarının yasal ilkelere bağlanması, tüketime sunulan süt ve süt ürün-

lerinde düzenli ve etkin bir şekilde antibakteriyel ilaç kalıntılarının denetlenmesine yönelik çağdaş, yasal ve bilimsel uygulamaların zorunluluğuna inanmaktayız

Kaynaklar

1. Allen, E.H. (1985). *Review of chromatographic methods for chloramphenicol residues in milk, eggs and tissue from food producing animals*. J.A.O.A.C., 68 (5): 990-999.
2. Allison, J.R.D. (1985). *Antibiotic residues in milk*. British Veterinary Journal. 141 (1): 1-16.
3. Arnold, D. and Somoggi, A. (1985). *Trace analysis of chloramphenicol residues in eggs, milk and meat: comparison of gas chromatography and radioimmunoassay*. J.A.O.A.C., 68 (5): 984-989.
4. Bowen, J.M. (1986). *Chloramphenicol analogs*. Clinical Pharmacology Note. 38 (2): 10-11.
5. Corbion, B. et Gledel, J. (1981). *Antibioresistance de 13.000 souches des salmonella d'origine "non humaine" (1978 a' 1980)* Rec. Med. Vet., 157 (11): 797-808.
6. Eeckhoutte, M. (1978). *Antibiotiques et alimentation humaine*. Revue Med., 129 (5): 717-740.
7. Epstein, R.L., Ashworth, R.B. and Simpson, R.M. (1986). *Chloramphenicol concentrations in calf muscle tissue*. Am. J. Vet. Res., 47 (9): 2075-2077.
8. **Food and Agriculture Organization of The United Nations** (1988). *Residues of some veterinary drugs in animals and foods*. FAO Food and Nutrition Paper No: 41 pp. 1-6.
9. Fuhrmann, T. (1991). *Overview of residue concerns of the dairy industry*. J.A.V.M.A., 198 (5): 836-838.
10. Guillot, P., Sanders, P. and Mouro, D. (1989). *Chloramphenicol and oxytetracycline residues in milk and tissues from cows and bullocks treated with an injectable formulation*. Food Additives and Contaminants. 6 (4): 467-473.
11. Hapke, H.J., Abel, J., Ghosh, H., Tachampa, S. and Youssef, S. (1977). *Actions of chloramphenicol on enzyme systems involved in drug degradation*. Zbl. Vet. Med. A., 24: 701-708.
12. Harding, J.M.B. (1986). *Testing for antibiotic residues in milk*. Vet. Rec., 119: 565-569.
13. Knifton, A. (1982). *Pharmacokinetics of antibacterials in calves*. Vet. Rec., 111: 49-52.
14. Lacey, R.W. (1984). *Does the use of chloramphenicol in animals jeopardise the treatment of human infections*. Vet. Rec., 114: 6-8.
15. Linton, A.H. (1977). *Antibiotic resistance: The present situation reviewed*. Vet. Rec., 100: 354-360.
16. Livingston, R.C. (1985). *Antibiotic residues in animal-derived food*. J.A.O.A.C., 568 (5): 966-967.

17. **Milhaud, G.** (1985). *Les residus de chloramphenicol et leur toxicite*. Ann. Recn. Vet., 16 (2): 133-148.
18. **Neidert, E., Saschenbrecker, P.W. and Tittiger, F.** (1987). *Thin layer chromatographic / bioautographic method for identification of antibiotic residues in animal tissues*. J.A.O.A.C., 70 (2): 197-200.
19. **Nelson, J.R., Copeland, K.F.T., Forster, R.J., Campbell, D.J. and Black, W.D.** (1983). *Sensitive gas-liquid chromatographic method for chloramphenicol in animal tissues using electron-capture detection*. Journal of Chromatogr., 276: 438-444.
20. **Nouws, J.F.M. and Ziv, G.** (1978). *A study of chloramphenicol distribution and residues in dairy cows*. Tijdschr. Diergeneesk. 103 (14): 725-735.
21. **Nouws, J.F.M. and Ziv, G.** (1979). *Serum chloramphenicol levels and the intramuscular bioavailability of several chloramphenicol formulation in ruminants*. The Vet. Quarterly. 1: 47-58.
22. **Nouws, J.F.M.** (1981). *Tolerances and detection of antimicrobial residues in slaughtered animals*. Archiv Für Lebensmittelhygiene. 32 (4): 103-110.
23. **Organisation Mondiale de la Sante** (1970). *Comite mixte FAO / OMS d' experts de l' hygiene lu lait. Troisieme rapport. Serie de Rapports Techniques No: 453, Geneve*.
24. **Rico, A.G.** (1986). *Drug residues in animal*. Academic Press. Inc. Harcourt Brace Jovanovich, Publishers, pp. 1-233.
25. **Schwartz, D.P. and Medonough, F.E.** (1984). *Practical screening procedure for chloramphenicol in milk at low parts per billion level*. J.A.O.A.C., 67 (3): 563-565.
26. **Singer, C.J.** (1985). *The biological significance of chloramphenicol residues in the environment*. Dissertation Abstracts International, B. 45 (7): 205-210.
27. **Singer, C.J. and Katz, S.E.** (1985). *Microbiological assay for chloramphenicol residues*. J.A.O.A.C., 68 (5): 1037-1041.
28. **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 dirençlilik olgusunun in vivo ve in vitro olarak duyarlı mikroorganizmalarla araştırılması*. Doğa, TU Vet. ve Hay. Derg., 72-85.
29. **Şanlı, Y.** (1988). *Veteriner Farmakoloji (Kemoterapötik İlaçlar)*. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları. No: 412. Anlara Üniversitesi Basımevi.
30. **Şanlı, Y.** (1989). *Hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımından kaynaklanan sağlık sakıncaları*. Vet. Hek. Derg. Der., 59 (1-2): 37-42.
31. **Şanlı, Y. ve Kaya, S.** (1991). *Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağlık Seçenekleri*. Feriyal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd. Şti., pp. 553-624.
32. **World Health Organization** (1969). *Technical Report Series*. No. 430 Geneva.