

TAVUK ETİ VE KARACİĞERLERİNDE BAZI ANTİBİYOTİK KALINTILARININ ARAŞTIRILMASI

Ferda Akar²

Investigation on various antibiotic residues in chicken meat and liver

Summary: *The purpose of this study was to determine erythromycin, chloramphenicol, monensin and tylosin residues in chicken meat and liver samples obtained from markets in Ankara.*

Therefore, 175 chicken meat and 175 chicken liver, totally 350 samples, were analyzed with the using thin layer chromatography/bioautographic method. According to the results of analysis, it was found that 5.7% of chicken meat and 3.4% of chicken livers contained three antibiotics residues in different samples and levels. Monensin was not determined in any samples.

It is concluded from the results that antibiotic residues have been found in poultry product and it may be a health risk for people who consume such antibiotic containing chicken meat and liver.

Özet: *Bu çalışma, Ankara piasasında satılan tavuk eti ve karaciğerlerinde eritromisin, kloramfenikol, monensin ve tilosin kalıntılarının saptanması amacıyla yapıldı.*

Bunun için, 175 adet tavuk eti ve 175 adet tavuk karaciğeri olmak üzere toplam 350 adet örneğin ince tabaka kromatografi/biyotografik yöntemle analizleri gerçekleştirildi. Analiz sonuçlarına göre, tavuk etlerinin %5.7'sinin ve tavuk karaciğerlerinin %3.4'ünün yukarıdaki antibiyotiklerden üçünü, farklı örneklerde ve düzeylerde içerdiği saptandı. Analiz edilen örneklerin hiçbirisinde monensin kalıntısı saptanamamıştır.

Sonuçlara göre, kanatlı hayvan ürünlerinde antibiyotik kalıntılarının bulunduğu ve böyle antibiyotik kalıntısı içeren tavuk eti ve karaciğerlerini tüketen insanlarda sağlık sorunlarına neden olabileceği anlaşıldı.

Giriş

Antibiyotikler, veteriner hekimlikte, hastalıkların sağıtımı, hastalıklardan koruma ve verimi artırmak amaçlarıyla yaygın olarak kullanılmaktadır (13, 14,

1. Doktora tezinden özetlenmiştir. (TÜBİTAK projesi- VHGA-792)

2. Doç. Dr. AMÜ. Vet. Fak. Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

Tablo 1: Kloramfenikol, eritromisin, monensin ve tilosinin kanatlı hayvanlardaki dozu, yasal bekleme süreleri, tolerans limitleri, ve kalıntı analiz yöntemleri

Antibiyotikler	kanatlı dozu	Yasal bekleme süresi	Tolorans limitleri (ppm)	Kalıntı analiz yöntemleri	Yöntemlerin Duyarlılığı	Referanslar
Eritromisin	Yem: 22 ppm Su: 1:10.000	1-2	0.125	İTK İTK/Biyootografi Mikrobiyolojik Yön.	0.25 ppm 0.3 ppm 0.4-3.1 g/ml	Moats (1985) Neidert (1988) Korsrud (1987)
Kloramfenikol	Yem: 200 mg/kg Su: 200 mg/kg	2	0	G.K L.K İ.T.K. İ.T.K/Biyootografi Mikrobiyolojik Yön.	1-50 ppb 2-10 ppb 10-100 ppm 0.08 ppm 3.1-23 g/ml	Allen (1985) Allen (1985) Allen (1985) Neidert (1988) Korsrud (1987)
Menonsin	Yem:90-120 mg/kg	3-5	0.05	İ.T.K/Biyootografi Mikrobiyolojik Yön	0.04 ppm 25-3200 g/ml	Neidert (1988) Korsrud (1987)
Tilosin	Yem:10-1000 mg/kg Su: 50 g/ml	5	0.2	G.K. L.K. İ.T.K. İ.T.K/Biyootografi Mikrobiyolojik Yön.	0.5 ppb 0.1 ppb 0.1 ppm 0.2 ppm 0.1 ppm	Takasaki (1986) Moats (1985) Moats (1985) Neidert (1985) Korsrud (1987)

İ.T.K. : İnce Tabaka Kromatografi

G.K. : Gaz Kromatografi

L.K. : Likid Kromatografi

16, 18). Livingston (8) ve Kaya (9) FAO (Dünya Gıda ve Tarım Örgütü) raporlarına dayanarak hazırladıkları yayınlarda hayvanların %80'nin yaşamlarının belli dönemlerinde veya tamamında içme suları ve yemleri ile bu tür ilaçları aldıklarını bildirmektedirler.

Antibiyotiklerin bilinçsiz bir biçimde kullanılması sonucunda dirençli bakteri popülasyonları artmakta (3, 6, 10, 11, 14, 15) başta karaciğer, böbrek olmak üzere çeşitli organ ve dokularda birikmektedir (4). Diğer taraftan süt ve yumurta gibi hayvansal ürünlere geçebilmektedir (4, 5, 19). Böyle ürünleri tüketen insanlarda, üründeki antibiyotik çeşit veya miktarına bağlı olarak hafif allerjiden başlayarak anafilaktik şoka kadar gidebilen olumsuzlara yol açtığı gözlemlenmiştir (7, 8, 20).

Üretimde bilinçsizce antibiyotik kullanımının yol açtığı bu zararların önlenmesi için WHO (Dünya Sağlık Teşkilatı) ve FAO gibi örgütler öncülüğünde çalışmalar yapılarak çeşitli denetim yöntemleri geliştirilmektedir (16, 17).

Dünyanın bir çok ülkesi hayvansal ürünlerdeki antibiyotik kalıntı düzeylerinin ve etkilerinin neler olduğunun belirlenmesi için izleme programları hazırlanmış ve uygulamaya koymuşlardır (2, 4, 17).

Bu nedenle ülkemiz kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan kloramfenikol, eritromisin, monensin ve tilosin adlı antibiyotiklerin Ankara piyasasında satılan tavuk eti ve karaciğerlerinde bulunup bulunmadığı varsa düzeylerinin ne olduğunun saptanması amacıyla yapılmıştır. Çalışmada özellikle izleme yöntemlerinden birisi olan ince tabaka kromatografi/biyootografi tekniği denenmiştir.

Materyal ve Metot

Analiz Materyal: Tavuk eti ve karaciğeri Ankara piyasasında faaliyet gösteren firmalardan ve marketlerden temin edilmiştir. Çalışmada 175 adet tavuk eti ve 175 adet tavuk karaciğeri olmak üzere toplam 350 numune üzerinde analizler gerçekleştirilmiştir.

Kimyasal Materyal: Kloramfenikol (Sigma, No. C-0378), eritromisin (Sigma, No. E-6376), monensin (Sigma, No. M-5273), tilosin (Sigma, No. T-6271), aseton (Merck, Art. 13), gliserin (Renel Kimya, D. 1255-1260), kloroform (Merck, Art. 6008) sodyum klorür (Merck, Art. 6643), standart plate count agar (Oxoid, Cot. CM. 463) Bacillus subtilis ATCC 6633 (Sigma, B-4006).

Araç ve Gereçler: İTK aygıtı ve ekleri (Desega), İTK plakaları, Silikagel G (20x20 Merck), Biyoplakalar (24.5x24.5 cm), İTK development tankı (22.5x22.5x10 cm), hassas terazi (Sartorius), santrifuj (Wirowka WE-2), Rotavapor (Buchi, R-110), etüv (Dedeoğlu), muhtelif cam malzemeler.

Metot

Genel Ekstraksiyon

Çalışmada Neidert ve ark. (12) tarafından bildirilen İTK/biyootografi tekniği kullanılmıştır.

Yarı donmuş dokudan 10 gr. alınır, üzerine 10 ml. metanol konup 1 dk. mikserde homojenize edilir. Sonra 3000 devirde santrifuj edilir. Metanol fazı ağız tıraşlı balona aktarılıp 50 °C'de ki rotavaporda 3-4 ml. kalıncaya kadar uçurulur. Kalan metanol fazı 250 ml'lik ayırma hunisine aktarılır ve üzerine 200 mg sodyum klorür ile 25 ml kloroform ilave edilip 5 dk çalkalanır. Fazlar 5dk dindendirildikten sonra kloroform fazı ağız tıraşlı balona aktarılır ve işlem kloroformla bir kez daha yinelenir. Birleştirilen kloroform fazı 50 °C'de 3-4 ml kalıncaya kadar uçurulur. Dereceli tüpe aktırılır ve tamamen kuruyana kadar azot akımı altında tutulur. Sonra 0.5 ml metanolde çözdürülür.

İnce Tabaka Kromatografi

Orjinal Silikajel G plakalar 1 cm aralıkla bölümlenir ve ilk 4 kanala kloramfenikol, eritromisin, monensin, tilosinin çalışma standart solusyonlarından (0.1 µg/ml metanolde çözdürülmüş) 10 µl uygulanır. Diğer kanallara genel ekstraksiyonla elde edilen numune ekstraktı uygulanır. Ayırıştırma tankına plaka konur ve 10 cm'ye kadar yükselmesi beklenir. Daha sonra plaka tanktan çıkarılır, oda ısısında 1 saat süre ile kurutulur. Devalopma sistemi olarak metanol+kloroform+aseton+gliserin (30+49+20+1) kullanılır.

Biyootografi

Standart plate count agar'dan 23.5 gr tartılır. 1 lt distile su ilave edilip 100 °C'deki su banyosunda tamamen eriyene kadar tutulur. Erimiş olan agar 100 ml balonlara bölünür ve 120 °C'de, 1 atmosfer basınçta 30 dk sterilize edilir. Daha sonra 50 °C'ye kadar soğutulmuş 100 ml agara 400 µl Bacillus subtilis spor solusyonundan ilave edilir. 120 °C'de ve 1 atmosfer basınç altında 1 saat süreyle sterilize edilmiş biyoplakalara 100 ml agar ilave edilir ve katılaşması beklenir. Biyoplaka üzerine, önceden hazırlanmış olan İTK plakası kapatılır, 20 dk beklenir. Bu sürenin sonunda İTK plakası kaldırılıp atılır. Biyoplaka 37 °C'de 1 gece etüvde bekletilir. Ertesi gün biyoplaka yüzeyinde oluşan zonlar karşılaştırılır.

Bulgular

Ankara piyasasında satılan tavuk eti ve karaciğerlerinde kloramfenikol, eritromisin, monensin ve tilosin yönünden İTK/biyootografik yöntemle yapılan kalıntı analizleri sonucunda elde edilen veriler Tablo 2'de verilmiştir. Tablo 2'de de görüldüğü gibi, analizi gerçekleştirilen 175 adet tavuk eti numunesinin 4 adedinde kloramfenikol (0.2-0.6 ppm arasında) 4 adedinde eritromisin (0.1-0.25 ppm arasında) ve 2 adedinde tilosin (0.2-0.3 ppm) kalıntısına rastlanmıştır. Yine

aynı şekilde analizi gerçekleştirilen 175 adet tavuk karaciğerinin 1 adedinde kloramfenikol (0.3 ppm), 2 adedinde eritromisin (0.12-0.35 ppm), 3 adedinde ise tilosin (0.35-0.5 ppm arasında) bulunmuştur. Tavuk eti ve karaciğerinde monensin varlığı saptanamamıştır. Toplam olarak 350 adet numunenin analizi gerçekleştirilmiş ve 16 adet numune bu sözü edilen 3 antibiyotikten birisi bulunmuştur.

Tablo 2: Pozitif sonuç veren numunelerdeki antibiyotik kalıntı düzeyleri.

Numune çeşidi	Antibiyotikler	Analiz edilen numune sayısı	Pozitif numune sayısı	Bireysel sonuçlar (ppm)
Tavuk eti	Kloramfenikol	175	4	0.6, 0.2, 0.25, 0.2
	Eritromisin		4	0.25, 0.2, 0.1, 0.1
	Monensin		-	-
	Tilosin		2	0.3, 0.2
Tavuk karaciğeri	Kloramfenikol	175	1	0.3
	Eritromisin		2	0.12, 0.35
	Monensin		-	-
	Tilosin		3	0.5, 0.4, 0.35

Tartışma ve Sonuç

Tablo 3'de antibiyotik kalıntısı bulunan numunelerin tolerans limitlerine göre karşılaştırılması yapılmıştır. Tablo 3'e bakıldığı zaman, tavuk etlerinde kloramfenikol yönünden pozitif sonuç veren numunelerin tamamı tolerans limitlerinin üzerinde bulunmuştur. 175 adet tavuk eti numunesinin %2.3'de eritromisin kalıntısı bulunmuş ve %1.14'ü tolerans limitlerini aşmıştır. Aynı sayıdaki numunenin %1.14'ünde tilosin kalıntısı saptanmış ve %0.57'si tolerans limitlerinin üstünde bulunmuştur. Analizi yapılan 175 adet tavuk karaciğerinin %0.57'sinde kloramfenikol bulunmuş ve tolerans limitini aştığı gözlenmiştir. Numunelerin %1.14'ünde eritromisin tespit edilmiş ve %0.57'si tolerans limitlerini aşmıştır. Numunelerin %1.77'sinde tilosin saptanmış ve tamamı tolerans limitlerini aşmıştır.

Tablo 4'e bakıldığı zaman dönemlere ilişkin analiz sonuçları görülmektedir. Buna göre Temmuz-Ağustos-Eylül aylarında daha fazla antibiyotik içeren numune göze çarpmaktadır.

Tablo 3: Analizlerde bulunan pozitif sonuçların tolerans limitlerine göre karşılaştırılması.

Antibiyotikler	Analiz yapılan numune adedi	Tavuk Etinde Tolerans Limitleri						Tolerans Limitleri	Tavuk Karaciğeri Tolerans Limitleri					
		Pozitif numune adedi	%	Üstünde numune adedi	%	Altında numune adedi	%		Pozitif numune adedi	%	Üstünde numune adedi	%	Altında numune adedi	%
Eritromisin	175	4	2.3	4	2.3	-	-	0	1	0.57	1	0.57	-	-
Kloramfenikol	175	4	2.3	2	1.14	2	1.14	0.225	2	1.14	1	0.57	1	0.57
Menonsin	175	-	-	-	-	-	-	0.05	-	-	-	-	-	-
Tilosin	175	2	1.14	1	0.57	1	0.57	0.2	3	1.7	3	1.7	-	-

Tablo 4: Yıl içinde değişik dönemler üzerinden analiz sonuçları.

Dönemler	Numune adedi	TAVUK ETİ								Numune adedi	TAVUK KARACİĞERİ							
		Kloramfenikol Eritromisin Monensin Tilosin				Kloramfenikol Eritromisin Monensin Tilosin					Kloramfenikol Eritromisin Monensin Tilosin				Kloramfenikol Eritromisin Monensin Tilosin			
		Müsbet numune	%	Müsbet numune	%	Müsbet numune	%	Müsbet numune	%		Müsbet numune	%	Müsbet numune	%	Müsbet numune	%	Müsbet numune	%
Ocak Şubat Mart	30	-	-	-	-	-	-	-	-	30	-	-	-	-	-	-	-	-
Nisan Mayıs Haziran	65	3	4.6	1	1.5	-	-	1	1.5	65	-	-	1	1.25	-	-	1	1.25
Temmuz Ağustos Eylül	80	3	3.75	1	1.25	-	-	1	1.25	80	1	1.25	1	1.25	-	-	1	1.25

Tavuk eti ve karaciğerinde bu 4 antibiyotikten 3'ünün (monensin hariç) bulunması ve genellikle tolerans limitlerini aşması bilinçsizce antibiyotik kullanıldığı şüphesini ortaya koymaktadır.

Antibiyotik kalıntısı içeren hayvansal ürünleri tüketen insanlarda hafif alerjiden başlayıp şoka kadar gidebilen değişik etkilere sahip olduğu dirençli bakteri suşlarının artmasına neden olduğu (6, 10, 11) herkeze bilinen bir gerçektir. Tüm dünyada bu konu ciddiyetle ele alınıp sağlıklı ve kolay kontrol mekanizmaları (16, 17) geliştirilirken, ülkemizde bu konuda herhangi bir yaptırımın olmaması, kontrol mekanizmalarının yetersizliği ve üreticilerin bilinçsiz olması hayvansal ürünlerde antibiyotik kalıntılarının toplum sağlığı açısından bir risk oluşturduğu rahatlıkla söylenebilir. Bu amaçla yapılmış olan çalışmada bu antibiyotik kalıntılarının izlenmesinde kullanılan yöntemlerden ince tabaka kromatografi/biyootografi tekniği özellikle denenmiş ve kanatlı ürünlerinde bu kalıntıların bulunup bulunmadığı yönünden bir fikir edinilmeye çalışılmıştır.

KAYNAKLAR

1. **Allen, E.H.** (1985): *Review of chromatographic methods for chloramphenicol residues in milk and tissues from food producing animals.* J. Assoc. Anal. Chem., 68:990-999.
2. **Arret, B., Johnson, D.P. and Kirshbaum, A.** (1974): *Outline of details for microbiological assays of antibiotics.* Second revision. J. Pharmaceut. Sci., 60:1690-1694.
3. **Bowen, J.M.** (1984): *Antibiotic resistance.* G.V.M.A. 36:11.
4. **Cordle, M.K.** (1988): *USDA regulation of residues in meat and poultry product.* J. Anim. Sci., 66:413-433.
5. **Forth, W., Henschler, D. und Rummel, W.** (1987): *Algemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.* 5. Auflage, Mannheim, 633-637.
6. **Houwelling, C.D. and Gainer, S.H.** (1978): *Public health concern relative to the use at the subtherapeutic levels of antibiotics in animal feeds.* J. Anim. Sci., 46:1414-1420.
7. **Huber, W.G.** (1986): *Alergenicity of antibacterial drug residues.* In Rico, A.G. *Drug residues in animals.* Academic pres inc. London, pp:33-49.
8. **Kaya, S. ve Şahal, M.** (1989): *Besinlerimizdeki ilaç kalıntıları, bunlara ilişkin tolerans düzeyleri, ilaç verilmiş hayvanlarda uyulması gereken kesim öncesi veya sütün kullanılma süreleri.* A.Ü. Vet. Fak. Derg., 36:325-340.
9. **Livingston, R.C.** (1985): *Antibiotic residues in animal derived food.* J. Assoc. Anal. Chem., 98:966-967.
10. **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.
11. **Moats W.A.** (1985): *Chromatographic methods for determination of macrolide antibiotic residues in tissues and milk of food-producing animals.* J. Assoc. Anal. Chem., 68:980-983.

12. **Neidert, E., Saschenbrecker, P.W. and Tittiger, F.** (1988): *Thin layer chromatographic/bioautographic method for identification of antibiotic residues in animal tissues.* J. Assoc. Anal. Chem., 70:197-200.
13. **Ragheb, H.S.** (1989): Antibiotic and products in feeds. J. Assoc. Anal. Chem. 72:105-107.
14. **Solomons, A.I.** (1978): *Antibiotics in animal feed-human and animal safety issues.* J. Anim. Sci., 46:1360-1442.
15. **Sone, M.** (1982): *Effects of various antibiotis on the control of bacteria in hoar semen.* Vet. Rec., 111:11-14.
16. **Şanlı, Y., Aydın, N., İzgür, M., Ayten, A. ve Baydan, E.** (1987): *Sağıtıcı bazı antibiyotiklerin hayvan yetiştiriciliğinde verim arttırıcı ve koruyucu amaçlarla kullanılması sonucu bakterilerde gelişen direnç kazanma olgusunun in vivo ve in vitro olarak duyarlı mikroorganizmalarla araştırılması.* T.Ü. Vet. ve Hay. D.C., 11: 72-85.
17. **Takatsuki, K., Ushizawa, I. and Shoji, T.** (1987): *Gas chromatographic-mass spectrophotometric determination of macrolide antibiotics in beef and park using. Single ion monitoring.* J. Chromatogr., 391:207-217.
18. **Visek, W.S.** (1978): The mode of growth promotion by antibiotic. J. Anim. Sci., 46:1447-1469.
19. **Yeary, R.A.** (1966): *Public health significance of chemical residues in foods.* JAVMA., 149: 145-150.
20. **Yoshimura, H., Itoh, O. and Yomezawa, S.** (1981): *Microbiological and thin layer chromatographic identification of benzyl penicillin and ampicillin in animal body.* Jpn. J. Vet. Sci., 43:833-840.