



Derleme / Review

**Hayvansal Gıdalarda Antibiyotik Kalıntıları**  
**Antibiotic Residues in Food of Animal Origin**

Arzu YAVUZ<sup>1\*</sup>, İsmail AZAR<sup>2</sup>, Ali ÖZCAN<sup>3</sup>, Vesile ÇETİN<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Gıda Yük. Müh., Gıda Ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0002-2526-4761

<sup>2</sup> Ziraat Yük. Müh., Gıda Ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0003-4424-208X

<sup>3</sup> Vet.Hek., Gıda Ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0002-1338-7852

<sup>4</sup> Dr. Ziraat Yük. Müh., Gıda Ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa, TÜRKİYE-ORCID ID:0000-0002-6962-8440

\*:Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author, arzu.yavuzylmaz@tarimorman.gov.tr

Geliş Tarihi :30.04.2020

Kabul Tarihi :05.08.2020

**Öz**

**Amaç:** Hayvansal proteinlerin dengeli ve yeterli beslenmedeki rolü son derece önemlidir. Hayvancılıkta antibiyotiklerin yasal olmayan şekilde kontrolsüz kullanılmaları güvenli hayvansal gıda üretimi için önemli bir risk oluşturmaktadır. Avrupa Birliği ülkelerinde, Türkiye’de ve diğer birçok ülkede hayvancılıkta antibiyotiklerin kullanımına kısıtlamalar getirilmiş, kullanımı belli şartlara bağlanmıştır. Kontrolsüz koşullarda kullanıldığında antibiyotikler, hayvanların dokularında ve organlarında birikim yapmakta ve hayvansal gıdalarda kalıntılara yol açabilmektedir. Antibiyotik kalıntılarını içeren gıdaların tüketilmesi başta antibiyotik direnci olmak üzere halk sağlığı açısından pek çok risk oluşturmaktadır. Bu riskler hayvansal gıdaların antibiyotik kalıntıları yönünden izlenmesinin önemini ortaya çıkarmaktadır. Hayvansal gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının tespiti için pek çok yöntem kullanılabilir olsa da bunlardan en güvenilir olanı kromatografik ayırım ile spektrometrik tespit kombinasyonundan oluşan yöntemlerdir. Bu çalışmanın amacı hayvansal gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının zararları, analiz yöntemleri, ilgili mevzuat ve yayınlanan güncel metotlar hakkında bilgileri derlemektir.

**Sonuç:** Halk sağlığının korunması açısından hayvansal gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının izlenmesi zorunludur. Kalıntıların tespitine yönelik hızlı, ekonomik, pratik, kolay ve güvenilir çoklu kalıntı analiz yöntemlerinin geliştirilmesi, kalıntı izleme çalışmalarının etkinliğini arttıracaktır.

**Anahtar kelimeler:** Antibiyotik, Hayvansal Gıda, Kalıntı, Mevzuat

**Abstract**

**Objective:** The role of animal proteins in balanced and adequate nutrition is extremely important. Illegal and uncontrolled use of antibiotics in animal husbandry poses a significant risk for safe of food of animal origin. In European Union countries, Turkey and many other countries, has brought restrictions on the use of antibiotics in livestock, their use is restricted to certain conditions. When not used under controlled conditions, these drugs accumulate in the organs of animals and can cause to residues in food of animal origin. Consumption of foods containing antibiotic residues poses many risks for public health, especially antibiotic resistance. These risks reveal the importance of monitoring food of animal origin in terms of antibiotic residues. Although many methods can be used to detect antibiotic residues in food of animal origin, the safest of them are methods based on the combination of chromatographic separation and spectrometric detection. The aim of this study is to review information about the risks posed by antibiotic residues in food of animal origin, analysis methods, related legislation and current methods published.

**Results:** In order to protect public health, monitoring of antibiotic residues in food of animal origin is mandatory. The development of rapid, economic, practical, easy and reliable multi residue analysis methods for the detection of residues will increase the effectiveness of residue monitoring studies.

**Key words:** Antibiotic, Food of Animal Origin, Residue, Legislation

## 1.Giriş

Artan dünya nüfusuna bağlı olarak yeterli ve dengeli beslenme insanoğlunun en önemli sorunlarından biri haline gelmiştir. Hayvansal gıdalar besin değerleri bakımından vazgeçilemez ve diğer gıdalar ile kıyaslanamaz bir konumdadır. Günlük protein alımının en az 1/3'ünün (%33) hayvansal kaynaklı olması gerektiği bilinmektedir (Özcan ve Baysal 2016). Artan dünya nüfusunun dengeli beslenebilmesi ve yeterince hayvansal proteine ulaşabilmesi için hayvansal üretimin artırılması gerekmektedir (Aynagöz 1993). Üretilen ürünlerin kaliteli ve güvenli olarak tüketiciye sunulması ise son derece önemli ve gereklidir. Hayvancılıkta antibiyotiklerin gelişmeyi teşvik etmek amacıyla verim artırıcı olarak kullanılmaları; insan sağlığı üzerinde risk oluşturması nedeniyle Avrupa Birliği ülkelerinde ve Türkiye'de 2006 yılından itibaren yasaklanmıştır (Anonim 2005, Anonim 2006). Ancak entansif hayvancılık uygulamalarında hayvan refahına yeterli özenin gösterilmemesi hayvan hastalıklarının sıkça görülmesine neden olmaktadır (Duru ve Şahin 2004). Bu durum hayvan hastalıklarının tedavisinde antibiyotiklerin kullanımını gerektirmektedir. Antibiyotiklerin kullanımına yönelik alternatif yöntemler araştırılmakta, farklı uygulamalar ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır ancak bu alternatif yöntemlerin etkileri ve güvenliği hususunda çok daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Adıyaman ve Ayhan 2010, İpçak ve ark. 2017, Taçbaş ve Baydan 2018, Tuncer 2007).

1928'de Alexander Fleming'in penisilini keşfinden bu yana, yüzlerce değişik antibiyotik piyasaya çıkmış ve insanlardaki kullanımın yanı sıra hayvanlarda da hastalıkların tedavisi için, büyüme geliştiricileri olarak ve yem verimliliğini arttırmak için kullanılmışlardır (Addison 1984). Büyümeyi arttırmak için antimikrobiyallerin hayvan yemine katılması çok uzun yıllardır yaygın bir uygulamadır ve dünya çapında toplam antimikrobiyal kullanımının yarısından fazlasının bu amaç için olduğu tahmin edilmektedir (Wegener ve ark. 1999). Gıda üretiminde kullanılan hayvanların yaklaşık %80'ine, yaşamlarının belli bir kısmında veya birçok zamanında ilaç uygulanmaktadır (Lee ve ark. 2001).

Hayvancılıkta antibiyotik kullanımı, insanlar için kullanım miktarlarını fazlasıyla aşmaktadır. Bazı bölgelerde antibiyotik kullanımı ile ilgili veriler düzgün bir şekilde kayıt altına alınmış olmasa da, 2013 yılında küresel olarak hayvanlar için antibiyotik tüketiminin 131.000 ton civarında olduğu tahmin edilmektedir (Boeckel ve ark. 2017). Göreceli olarak, hayvancılıkta ve insanlarda antibiyotik kullanımı benzer ve kg başına ortalama yaklaşık olarak aynı olsa da toplam hayvan biyokütlesinin insan biyokütlesinden fazla olmasından dolayı, insanlarda

toplam antibiyotik kullanımının 2013 yılında hayvancılıktaki kullanıma göre çok daha düşük olduğu (yaklaşık 40.000 ton), toplam tüketimin %20-30'unu oluşturduğu tahmin edilmektedir (Ritchie 2017).

Antibiyotikler hayvanların kas, karaciğer, böbrek gibi organlarında birikim yapmakta ve süt, yumurta ve bal gibi hayvansal ürünlere de geçebilmektedir (Cordle 1988, Parks 1989, Furusawa 2001, Gustavson ve ark. 2002, Bertini ve ark. 2003, O' Keeffe ve ark. 2004, Tittlemier ve ark. 2007, Lee ve ark. 2007, Pavlov ve ark. 2008, Hammel ve ark. 2008, Chico ve ark. 2008, Chung ve ark. 2009, Ergin Kaya ve Filazi 2010). Antibiyotik kullanımının bilinçsizce yapılması, suya veya yeme ilave edilerek kontrolsüz bir şekilde kullanılmaları, tedavi ve koruyucu amaçlarla antibiyotik verilmesini takiben yasal bekleme sürelerine uyulmadan hayvanların kesime alınması gibi uygulama hataları hayvansal kaynaklı gıdalarda antibiyotik kalıntılarının neden olmakta ve buna bağlı olarak halk sağlığı açısından önemli sakıncalara yol açabilmektedir.

## 2. Antibiyotik Kalıntılarının Zararları

Tüketilen gıdalar yoluyla alınan düşük dozda antibiyotik kalıntıları bakterilerde direnç oluşumuna yol açmaktadır (Butaye ve ark. 2001). Bakterilerde oluşan bu direnç ile insanlarda kullanılan ilaçların etkisi azalmakta, bu durum ise enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde önemli problemlere yol açmaktadır. Antimikrobiyal direnç insan ve hayvan sağlığı için bir tehdit oluşturmaktadır ve ciddiye alınması gereken bir durumdur (Aarestrup 2005). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), insanlarda ve hayvanlarda antibiyotiklerin yanlış kullanımının antibiyotik direncini arttırdığını belirtmiş ve antibiyotik direncini küresel sağlık, gıda güvenliği ve kalkınmaya yönelik en büyük tehditlerden biri olarak tanımlamıştır (Anonim 2018a). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) antimikrobiyal dirençli enfeksiyonlardan her yıl 700.000 insanın öldüğünü ve antimikrobiyal kullanımının 2030'a kadar iki katından fazla oranda artmasının beklendiğini açıklamıştır (Anonim 2017a).

Gıdalardaki antibiyotik kalıntılarının tüketiminin insan sağlığı üzerindeki diğer bir olumsuz etkisi ise insan fizyolojisinin temel bir bileşenini oluşturan ve gastrointestinal sistemin patojenik bakteriler tarafından kolonize edilmesine karşı bir bariyer görevi gören doğal bağırsak mikroflorası üzerindeki potansiyel zararlı etkileridir (Vollard ve Clasener 1994, Cerniglia ve Kotarski 1999).

Gıda endüstrisi açısından bakıldığında da antibiyotik kalıntıları teknolojik ve ekonomik açıdan kayıplara neden olabilmektedir. Örneğin; sütte bulunabilecek antibiyotik kalıntıları yoğurt, peynir gibi fermente süt ürünlerinde kullanılan starter bakterilerin çalışmalarını yavaşlatıcı ve hatta durdurucu etki

yaratmakta ve istenen düzeyde asit oluşumunun gerçekleşmemesi sonucu bu ürünlerin tat ve yapısal özellikleri olumsuz yönde etkilenmektedir (Metin 1999, Ardıç ve Durmaz 2006).

Toksik etki açısından baktığımızda, gıdalarda bulunabilecek antibiyotik kalıntısı konsantrasyonu genellikle herhangi bir toksik etkiye yol açmayacak kadar düşüktür. Antibiyotiklerin direkt toksisitesi oldukça sınırlıdır ve kloramfenikol dışında başka bir antibiyotikle direkt zehirlenmeye rastlanılmamıştır (Filazi 2012). Gıdalarla alınan antibiyotiklerin alerjik reaksiyonlara neden olması ise çok nadir görülen bir durumdur (Dayan 1993).

Antibiyotik kalıntıları, DNA ve RNA gibi hücresel elementlerle etkileşerek potansiyel karsinojenik, mutajenik ve teratojenik etkilere de neden olabilmektedir (El-Makawy ve ark. 2006, Beyene 2016).

Çevreye yayılan antibiyotik kalıntıları ise ekosistemdeki ve biyolojik arıtma sistemlerindeki organizmalara zarar vererek ekolojik dengeyi bozmaktadır (Saygı ve ark. 2012).

Bu nedenlerle halk sağlığının veteriner ilaç kalıntılarının olası zararlı etkilerine karşı korunması çok önemli bir sorundur (Pavlov ve ark. 2008).

### 3. Mevzuat

Avrupa Birliği (AB)'nde yetiştiricilikte uygulanan ilaçların ve hayvansal ürünlerde antibiyotik kalıntılarının kontrolüne dair olarak Council Directive 96/23/EC yönetmeliği mevcuttur (Anonim 1996). Antibiyotiklerin Maksimum Kalıntı Limitleri (MRL), yani insanların zararlı düzeylerde kalıntılara maruz kalmalarını engellemek için insanda herhangi bir sağlık problemine neden olmayan ilaç ve metabolitlerinin miktarları ise 37/2010/EC sayılı Komisyon Tüzüğü (Commission Regulation (EU) No 37/2010) ile belirlenmiştir (Anonim 2010).

Ülkemizde ise bu limitler AB ile uyumlu olarak "Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği" ile belirlenmiştir (Anonim 2017b). Ayrıca koksidiyostatların ve histomonostatların hayvansal gıdalarda bulunabilecek maksimum miktarları 124/2009/EC nolu komisyon tüzüğüne paralel olarak "Türk Gıda Kodeksi Hedef Dışı Yemlere Taşınması Önlenebilir Koksidiyostatların ve Histomonostatların Hayvansal Gıdalardaki Maksimum Miktarları Hakkında Yönetmelik" ile belirlenmiştir (Anonim 2009 ve Anonim 2015). Bu yönetmeliklerde kalıntı limiti belirlenmemiş olan yasaklı maddeler için ise AB Referans Laboratuvarları (EURLs) tavsiye limitlerini yani MRPL (Minimum Required Performance Limit: Minimum Gerekli Performans Limiti) değerlerini CRL (Community Reference Laboratories) Guidance Paper-2007 ile belirlemiştir (Anonim 2007).

Bu düzenlemelerde antibiyotiklerin analiz edilecek doku ya da gıdadaki belirleyici kalıntıları (Marker Residues) da belirtilmektedir. Belirleyici kalıntı; ürünlerdeki veteriner ilaç kalıntısı hakkında bilgi veren ve organizmada farmakodinamiği bilinen, toplam kalıntıya paralel olarak azalan farmakolojik aktif madde ve/veya bu maddelerin metabolitlerini belirtir (Anonim 2017b). İlgili analitlerin analizinin yapılabilmesi için metot ve validasyon çalışmalarının mutlaka bu belirleyici kalıntı veya kalıntıların dikkate alınarak gerçekleştirilmesi gerekmektedir.

AB ülkelerinde hayvansal ürünlerde gerçekleştirilen kalıntı analizleri (veteriner ilaçları, pestisit, mineral vb.) 2002/657/EC Komisyon Kararı gerekliliklerine uygun olarak yapılmaktadır (Anonim 2002). Bu düzenlemede bir yöntemin tarama veya doğrulama metodu olarak uygulanabilmesi için sağlaması gereken performans kriterleri, prosedürler ve gereklilikler ayrıntılı bir şekilde yer almaktadır. Bu ortak standartlar sayesinde resmi olarak kalıntı izleme kontrolünde görevli laboratuvarların analitik sonuçlarının kalite güvencesinin sağlanması hedeflenmektedir.

Türkiye genelinde hayvansal ürünlerde veteriner ilaç kalıntı analizi yapan laboratuvarlarda ELISA ve Charm II kısıtlı bazı analitler için tarama metodu olarak kullanılsa da, tarama ve doğrulayıcı yöntem olarak kütle spektrometrik yöntemler yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kütle spektrometrik yöntemler kullanan laboratuvarların, validasyon çalışmalarındaki farklılıkların ortadan kaldırılması ve validasyon parametrelerinde ve hesaplamalarında birlikteliğin sağlanması amacıyla AB'nin 2002/657/EC Komisyon Kararı'nın asgari gerekliliklerini açıklayan "Hayvansal Ürünlerde Kütle Spektrometrik Yöntemler İle Veteriner İlaç Kalıntılarının Analizleri İçin Metot Validasyonu Rehberi" Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından yayınlanmıştır (Anonim 2018b).

Bu rehbere göre; antibiyotik kalıntılarının belirlenmesi için yapılacak analizlerin metot validasyon çalışmalarına başlamadan önce ilgili mevzuatın analiz yapılacağı matriksler, analitler ve belirleyici kalıntılar yönünden detaylı bir şekilde incelenmesi ve buna göre bir analitin MRL veya MRPL değeri belirlenmiş ise 2002/657 EC direktifindeki esaslar göz önüne alınarak validasyon çalışmalarının gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Bir analit için herhangi bir limit belirlenmemiş ise çalışmayı yapacak laboratuvarın performans limiti (ILPL), MRPL değeri gibi kabul edilerek çalışmalar gerçekleştirilmelidir.

### 4. Antibiyotik Kalıntıların Tespiti için Yöntemler

Mikrobiyolojik yöntemler antibiyotik kalıntılarının tespitinde kullanılan en eski yöntemler olmakla birlikte 2002/657/EC gerekliliklerine çok uygun değildir (Pikkemaat 2009). Ancak yine de AB üyesi

bazı devletlerde mikrobiyolojik testler (inhibitör testleri) kullanan spesifik kontrol programlarının bulunduğu ve bazı durumlarda, numune sonucunu olumsuz değerlendirmek için fiziko-kimyasal bir yöntemle hiçbir onay yapılmadan yani ilgili madde kesin bir şekilde tanımlanmadan mikrobiyolojik testlerdeki pozitif bir sonucun yeterli olduğu durumların olduğu bilinmektedir (Anonim 2019).

Antikor ve antijen arasındaki spesifik reaksiyon sonucuna dayanan immünojenik yöntemler, hızlı ve kolay sonuç alınabilme özelliğine sahip biyosensörler antibiyotik kalıntılarının tespitinde kullanılabilen tarama yöntemlerindedir. Farklı özelliklerde biyosensörlerin geliştirilmesiyle ilgili çalışmalar yapılmakta ve gelecekte hayvansal gıdalarda bunların antibiyotik tarama analizlerinde yaygın olarak kullanılacağı belirtilmektedir (Gaudin 2017). Ancak hayvansal gıdalarda antibiyotik varlığının tanımlanması ve doğrulanmasında en verimli ve

güvenilir yöntemler kromatografik ayırım ve spektroskopik dedeksiyonun kombinasyonuna dayanan yöntemlerdir. Bu yöntemlerin yüksek ekipman maliyeti ve tecrübeli personele ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları olsa da bu yöntemler çok sayıda analitin tek bir metot ile analizine imkan sunmaktadır. Gıdalardaki çok düşük konsantrasyonlardaki kalıntıların analizindeki çoğu gelişme, sıvı kromatografisi - kütle spektrometrisinin (LC-MS) uygulanmasından kaynaklanmaktadır. Mümkün olduğunca çok sayıda bileşiği içerebilen daha hızlı ve daha verimli bir analiz elde etmek için çoğunlukla basit numune hazırlama prosedürleri bu teknikle birleştirilmiştir (Masiá ve ark. 2016). Yüksek seçicilik ve hassasiyet özelliğine sahip LC-MS/MS, günümüzde veteriner ilaç kalıntılarının tespiti ve miktarının belirlenmesinde kullanılan en yaygın tekniktir (Moretti ve ark. 2017, Dasenaki ve Thomaidis 2015).

**Çizelge 1.** 2002/657/EC gerekliliklerine göre valide edilen doğrulama metotları

Matriks	Grup	Ekstraksiyon	CC $\alpha$ * ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) (Yasaklı Maddeler için)	Cihaz	Kaynak
Tavuk Kası	5 gruptan (tetrasiklinler, kinolonlar, penisilinler, sülfonamidler ve makrolidler) 39 analit	0.1M EDTA Metanol (MeOH):H <sub>2</sub> O (70:30,v/v)	4.3-9.9	LC-MS/MS	(Chico ve ark. 2008).
Yumurta	7 gruptan (sülfonamidler, diaminopiridin türevleri, kinolonlar, tetrasiklinler, makrolidler, penisilinler ve linkosamidler) 41 analit	0.1M EDTA Asetonitril (ACN): Süksinik Asit (1:1, v/v)	0.5-3.8	UHPLC-MS/MS	(Jiménez V. ve ark. 2011)
Sığır, tavuk ve domuz kası	10 farklı gruptan (amfenikoller, beta-laktamlar, diaminopirimidin, linkozamidler, makrolidler, plöromutilinler, kinolonlar, rifamisinler, sülfonamidler ve tetrasiklinler) 62 analit	0.1M EDTA ACN:H <sub>2</sub> O (80:20,v/v)	1-33	UHPLC-MS/MS	(Moretti ve ark. 2016)
Bal	3 farklı gruptan (sülfonamidler, nitroimidazol ve kinolonlar) 27 analit	Asit Hidrolizi (HCL) Yağ alma (Hekzan)+ SPE	0.45-1.7	LC-MS/MS	(Galarini ve ark. 2015)
Bal	5 farklı gruptan (sülfonamidler, makrolidler, tetrasiklinler linkozamidler ve aminoglikozitler) 21 analit	H <sub>2</sub> O Asitlenmiş MeOH (HCl, 2 mol l-1) Na <sub>4</sub> EDTA PSA	6-9	LC-MS/MS	(El Hawari ve ark. 2016)

\* Karar Limiti: a hata olasılığı ile bir numunenin uygun olmadığı değerlendirilebileceği sınır ve üstü

\*Decision limit: the limit at and above which it can be concluded with an error probability of a that a sample is non-compliant.

Kromatografik teknikler kullanılarak sulfanamidler, tetrasiklinler, makrolidler, kinolonlar, penisilinler vb. gibi bir antibiyotik grubunu tespit etmeye yönelik çok sayıda çoklu kalıntı metodu geliştirilmiştir. Ancak günümüzdeki son çalışmalar farklı gruplardan çok sayıda antibiyotiğin tek bir metotla tespit edildiği çoklu kalıntı metotlarının oluşturulması şeklindedir. Burada amaç mümkün olduğunca pratik ve ekonomik ekstraksiyon ve analitik ayırma yöntemleriyle çok sayıda ilaç kalıntısını aynı anda tespit edebilmektir. Ancak bu metotların resmi kalıntıların kontrolünde kullanılabilmesi için performans ve validasyon şartlarının 2002/657/EC gerekliliklerini sağlıyor olması gerekmektedir.

Çizelge 1’de sıvı kromatografi ve kütle spektrometrisi tekniği kullanılarak, hayvansal gıdalarda çoklu grup (multi-class) ve çoklu kalıntı (multi-residue) antibiyotik analizi olarak optimize edilen ve 2002/657/EC gerekliliklerine göre valide edilen doğrulama metotları yer almaktadır.

Sıvı kromatografi ve kütle spektrometrisi tekniği kullanılarak hayvansal gıdalarda çoklu grup ve çoklu kalıntı antibiyotik analizi olarak optimize edilmiş tarama metotları da kullanılabilir. Tarama metotlarının validasyonunda daha az sayıda çalışma ile 2002/657/EC gereklilikleri sağlanabilmektedir. Ancak tarama metodunda uygun olmayan şüpheli bir sonuç olması durumunda, bu sonuç doğrulayıcı bir yöntemle teyit edilmelidir (Anonim 2002).

Freitas ve ark. (2014) tarafından sığır kasında 7 farklı antibiyotik grubundan (Sülfonamidler, trimetoprim, tetrasiklinler, makrolidler, kinolonlar, penisilinler ve kloramfenikol) 41 tane analitin UHPLC-MS/MS ile tespitine ve miktarlandırılmasına olanak veren tarama metodu geliştirmek için üç farklı organik çözücü (ACN, MeOH ve etil asetat) ile on iki farklı ekstraksiyon prosedürü denenmiş ve yapılan denemeler sonucu 0,1 M EDTA içeren ACN ile ekstrakte etme ve hekzan ile yağ alma aşamalarını içeren prosedür ile en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Geliştirilen metodun validasyon çalışmaları 2002/657/EC gerekliliklerine uygun olarak yapılmıştır.

Peters ve ark. (2009) et, balık ve yumurta olmak üzere üç matrisinde farklı gruplardan yaklaşık 100 veteriner ilacı için HPLC-TOF-MS ile ACN/su (6:4,v/v) ekstraksiyonu ve SPE ile temizleme aşamalarını içeren bir tarama metodu geliştirmiş, yapılan validasyon sonuçları yöntemin çalışılan bileşiklerin ette %90'ından fazlasında, balıkta %80'inden fazlasında ve yumurtada %70'inden fazlasında 2002/657/EC'de belirlenmiş olan tarama metotları için gerekli performans kriterlerini karşıladığını görmüşlerdir.

Dubreil ve ark. (2017) tarafından ette ve su ürünlerinde farklı gruplardan 75 antibiyotik için ekstraksiyonda ACN kullanılarak hızlı, basit bir metot LC-MS/MS'de geliştirmiş ve 2002/657/EC'nin tarama metotları için gereklilerine uygun olarak yapılan validasyon sonucu 73 antibiyotik için gerekli performans değerleri sağlanmıştır.

Jank ve ark. (2017) tarafından LC-MS/MS ve LC-QTOF-MS kullanılarak süt ve ette farklı gruplara ait 46 antibiyotiğin analizi için metot oluşturulmuştur. Yapılan çalışmada örnekler %0,1 formik asit içeren ACN ile ekstrakte edilmiş, temizleme işlemi için C<sub>18</sub> ve -18°C'de dondurma işlemine tabi tutulmuştur. Her iki cihazda da oluşturulan metodun tarama metodu olarak validasyon çalışması gerçekleştirilmiş ve 2002/657/EC gerekliliklerine uygun sonuçlar elde edilmiştir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalara bakıldığında çok daha fazla sayıda bileşeni analiz edebilmeye yönelik olarak antibiyotik kalıntılarının yanında, hormonların, pestisit kalıntılarının, mikotoksinlerin ya da farmasötik maddelerin birlikte tespit edilebildiği metot geliştirmeye yönelik çalışmaların da yapıldığı görülmektedir (Jadhav ve ark. 2019, Xie ve ark. 2015, Nebot ve ark. 2012, Gómez-Pérez ve ark. 2012, Dasenaki ve Thomaidis 2015).

## 5. Sonuç

Hayvansal gıdalar yeterli ve dengeli beslenme söz konusu olduğunda vazgeçilemez konumdadır. Ancak antibiyotikler kontrolsüz koşullarda kullanıldıklarında hayvansal gıdalarda kalıntılara neden olmakta ve halk sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle gıda güvenliği açısından hayvansal gıdalarda antibiyotik kalıntılarının izlemenin zorunlu olduğu açıktır. Bu izleme Türkiye’de “Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler ile Bunların Kalıntılarının İzlenmesi İçin Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik” şartları doğrultusunda Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından yıllık olarak hazırlanan “Ulusal Kalıntı İzleme Planları” ile gerçekleştirilmektedir (Anonim 2011).

Hayvansal ürünlerde antibiyotik kalıntısı tespitine yönelik hızlı, ekonomik, pratik, kolay ve güvenilir çoklu kalıntı analiz yöntemlerinin geliştirilmesi, daha kısa zamanda ve daha az maliyetle çok daha fazla sayıda numunenin analiz edilebilmesine olanak sağlayacaktır. Ayrıca alınacak her bir örnekte çok daha fazla sayıda antibiyotik kalıntısı analiz edilebilecektir. Bu durumun kalıntı izleme çalışmalarının genişletilmesine ve etkinliğinin artırılmasına imkan sağlayacağı düşünülmektedir.

## 6. Kaynaklar

Aarestrup F.M., 2005. Veterinary Drug Usage and Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology 96, 271–281

Addison, J.B., 1984. Antibiotics in Sediments and Run-off Waters from Feedlots. Residue Rev. 92, 1–24.

Adıyaman, E. ve Ayhan, V., 2010. Etlik Piliçlerin Beslenmesinde Aromatik Bitkilerin Kullanımı. Hayvansal Üretim, 51(1)

Anonim, 1996. Council Directive 96/23/EC

Anonim, 2002. Commission Decision 2002/657/EC.

Anonim, 2005. Ban on Antibiotics as Growth Promoters in Animal Feed Enters into Effect. [https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/IP\\_05\\_1687](https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/IP_05_1687) Erişim Tarihi:25.05.2020

Anonim, 2006. Yem Katkıları ve Premikslerin Üretimi, İthalatı, İhracatı, Satışı ve Kullanımı Hakkında Tebliğde Değişiklik Yapılmasına Dair Tebliğ (Tebliğ No: 2006/1) (RG:21.01.2006 Sayı:2656

Anonim, 2007. CRL Guidance Paper-2007Crls View On State Of The Art Analytical Methods For National Residue Control Plans. 7/12/2017

Anonim, 2009. Commission Regulation (EC) No 124/2009

Anonim, 2010. Commission Regulation (EU) No 37/2010

Anonim, 2011. Canlı Hayvanlar ve Hayvansal Ürünlerde Belirli Maddeler ile Bunların Kalıntılarının İzlenmesi için Alınacak Önlemlere Dair Yönetmelik” (RG: 17.12.2011, No.28145)

Anonim, 2015. Türk Gıda Kodeksi Hedef Dışı Yemlere Taşınması Önlenemeyen Koksidiyostatların ve Histomonostatların Hayvansal Gıdalardaki Maksimum Miktarları Hakkında Yönetmelik 8/2/2015 tarih ve 29261 sayılı.

Anonim, 2017a. Antimicrobial Resistance–What You Need to Know <http://www.fao.org/zhc/detail-events/en/c/451065/>. Erişim Tarihi: 02.04.2020.

Anonim, 2017b. Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği. 7/3/2017 tarih ve 30000 sayılı

Anonim, 2018a. Antibiotic Resistance <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> (Erişim Tarihi 05.04.2020)

Anonim, 2018b. Hayvansal Ürünlerde Kütle Spektrometrik Yöntemler ile Veteriner İlaç Kalıntılarının Analizleri için Metot Validasyonu Rehberi

Anonim, 2019. Technical Report for 2018 on the Results from the Monitoring of Veterinary Medicinal Product Residues and other Substances in Live Animals and Animal Products. European Food Safety Authority (EFSA) [https://ec.europa.eu/food/safety/chemical\\_safety/vet\\_med\\_residues\\_en](https://ec.europa.eu/food/safety/chemical_safety/vet_med_residues_en) (Erişim Tarihi: 10.05.2020)

Ardıç, M. ve Durmaz H., 2006. Peynirde Starter Kültür Gelişimini Etkileyen Faktörler. Atatürk Univ Vet Bil Derg 2006;1(3-4):69-73.

Aynagöz, Z., 1993. Hormon ve Benzeri Maddelerin Hayvan Beslemede Kullanılması, Doktora Semineri. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Bertini, S., Fierrero, S. and Berny, P., 2003. A New Improved High Performance thin Layer Chromatography (HPTLC) Method for Detection of Ionophore Antibiotics in Feed and Animal Tissues. J. Liq. Chrom. Relat. Tech., 26, 147- 156

Beyene, T., 2016. Veterinary Drug Residues in Food-Animal Products: its Risk Factors and potential Effects on Public Health. J Vet Sci Technol 7(1):1–7

Butaye, P., Devriese, L.A. and Haesebrouck, F., 2001. Differences in Antibiotic Resistance Patterns of Enterococcus Faecalis and Enterococcus Faecium Strains Isolated from Farm and pet Animals. Antimicrobial Agents and Chemotherapy,

Cerniglia, C.E. and Kotarski, S., 1999. Evaluation of Veterinary Drug Residues in Food for their Potential to Affect Human Intestinal Microflora. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 29, 238–261.

Chico, J., Rúbies, A., Centrich, F., Companyó, R., Prat, M.D, and Granados M., 2008. High-Throughput Multiclass Method for Antibiotic Residue Analysis by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Journal of Chromatography A, 1213 189–199.

Chung, H.H., Lee J.B., Chung, Y.H. and Lee K.G., 2009. Analysis of Sulfonamide and Quinolone Antibiotic Residues in Korean Milk Using Microbial Assays and High Performance Liquid Chromatography. Food Chem., 113, 297-301.

Cordle, M.K., 1988. USDA Regulation of Residues in Meat and Poultry Products. J. Anim. Sci., 66, 413-433

Dasenaki, M.E. and Thomaidis, N.S., 2015. Multi-Residue Determination of 115 Veterinary Drugs and Pharmaceutical Residues in Milk Powder, Butter, Fish Tissue and Eggs Using Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. Analytica Chimica Acta 880 103–121.

Dayan, A.D., 1993. Allergy to Antimicrobial Residues in food: Assessment of the Risk to Man. Veterinary Microbiology Volume 35, Issues 3–4, Pages 213-226.

- Dubreil, E., Gautier, S., Fourmond, M.P., Bessiral, M., Gaugain, M., Verdon, E. and Pessel, D., 2017. Validation Approach for a Fast and Simple Targeted Screening Method for 75 Antibiotics in Meat and Aquaculture Products using LC-MS/MS. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34(4), 453-468
- Duru, M. ve Şahin, A., 2004. Türkiye'de Sağlıklı ve Güvenli Hayvansal Üretim Gerekliği. *Hayvansal Üretim* 45(1): 36-41.
- El Hawari K., Mokh S., Doumyati S., Al Iskandarani M. and Verdon E., 2016. Development and Validation of a Multiclass Method for the Determination of Antibiotic Residues in honey Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* 34(4).
- El-Makawy, A., Radwan, H.A., Ghaly, I.S. and El-Raouf, A.A., 2006. Genotoxic, Teratological and Biochemical Effects of anthelmintic Drug Oxfendazole Maximum Residue Limit (MRL) in Male and Female Mice. *ReprodNutrDev* 46: 139-156
- Ergin Kaya, S. ve Filazi, A., 2010. Determination of Antibiotic Residues in Milk Samples. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 16:31-35.
- Filazi, A., 2012. Hayvansal Gıdalardaki Antibiyotik Kalıntıları ve Risklerinin Değerlendirilmesi
- Freitas, A., Barbosa, J. and Ramos, F., 2014. Multi-Residue and Multi-Class Method for the Determination of Antibiotics in Bovine Muscle by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Meat Science* Volume 98, Issue 1, September 2014, Pages 58-64.
- Furusawa, N., 2001. Transference of Dietary Veterinary Drugs into Eggs. *Vet Res Commun* 25:651-62
- Galarini, R., Saluti, G., Giusepponi, D., Rossi, R. and Moretti, S., 2015. Multiclass Determination of 27 Antibiotics in Honey. *Food Control* Volume 48, Pages 12-24
- Gaudin, V., 2017. Advances in Biosensor Development for the Screening of Antibiotic Residues in Food Products of Animal Origin – A Comprehensive Review. *Biosensors and Bioelectronics* 90, 363–377
- Gómez-Pérez, M.L., Plaza-Bolanos, P., Romero-González, R., Martínez-Vidal, J.L. and Garrido-Frencha, A., 2012. Comprehensive Qualitative and Quantitative Determination of Pesticides and Veterinary Drugs in Honey Using Liquid Chromatography–Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1248 130–138
- Gustavson, E., Bjurling, P., Deglean, J. and Strensjo, A., 2002. Analysis of Lactam Antibiotics Using a Microbial Receptor Protein Based Biosensor Assay. *Food Agr. Immunol.*, 14, 121-131
- Hammel, Y.A., Mohamed, R., Gremaud, E., LeBreton, M.H. and Guy, P.A., 2008. Multi-Screening Approach to Monitor and Quantify 42 Antibiotic Residues in Honey by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* Volume 1177, Issue 1, 4 January 2008, Pages 58-76
- İpçak, H.H., Özüretmen, S., Özelçam, H. ve Ünlü, H.B., 2017. Hayvan Beslemede Antibiyotiklere Alternatif Olarak Organik Asit, Esansiyel Yağ ve Bakteriyosinlerin Kullanımı. *Hayvansal Üretim*, 58(1), 57-65
- Jadhav, M.R., Pudale, A., Raut, P., Utture, S., Shabeer, T.P.A. and Banerjee, K., 2019. A Unified Approach For High-Throughput Quantitative Analysis of the Residues of Multi-Class Veterinary Drugs and Pesticides in Bovine Milk Using LC-MS/MS and GC–MS/MS. *Food Chemistry* Volume 272, 30 January 2019, Pages 292-305.
- Jank, L., Martins, M.T., Arsand, J.B., Motta, T.M.C., Feijó, T.C., dos Santos Castilhos, T. and Pizzolato, T.M., 2017. Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Multiclass Method for 46 Antibiotics Residues in Milk and Meat: Development and Validation. *Food Analytical Methods*, 10(7), 2152-2164.
- Jiménez, V., Rubies, A., Centrich, F., Companyó, R. And Guiteras J., 2011. Development and Validation of a Multiclass Method for the Analysis of Antibiotic Residues in Eggs by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr A*. 2011 Mar 18;1218(11):1443-51
- Lee, H.J., Lee, M.H. and Ruy, P.D., 2001. Public Health Risks: Chemical and Antibiotic Residues. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 14, 402-413, 2001.
- Lee, J.B., Chung, H.H., Chung, Y.H. and Lee, K.G., 2007. Development of an Analytical Protocol for Detecting Antibiotic Residues in Various Foods. *Food Chem.*, 105, 1726-1731.
- Masiá, A., Suarez-Varela, M.M., Llopis-Gonzalez, A., and Picó, Y., 2016. Determination of Pesticides and Veterinary Drug Residues in Food by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: A Review. *Analytica Chimica Acta*, 936, 40-61.
- Metin, M., 1999. Süt Teknolojisi, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları no:33. Bornova, İzmir.
- Moretti, S., Dusi, G., Giusepponi, D., Pellicciotti, S., Rossi, R., Saluti, G., Cruciani, G. and Galarini, R., 2016. Screening and Confirmatory Method for Multiclass Determination of 62 Antibiotics in Meat *Journal of Chromatography A*, 1429, 175–188
- Moretti, S., Saluti, G. and Galarini, R., 2017. Residue Determination in Honey. In: *Honey Analysis*, De Toledo V.A. (eds.), IntechOpen p. 325-365.

- Nebot, C., Iglesias, A., Regal, P., Miranda, J., Cepeda, A. and Fente, C., 2012. Development of a Multi-Class Method for the Identification and Quantification of Residues of Antibiotics, Coccidiostats and Corticosteroids in Milk by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry, *Int. Dairy J.* 22, 78–85
- O'Keefe, M., Conneely, A., Cooper, K.M., Kennedy, D.G., Kovacsics, L., Fodor, A., Mulder, P.P.J., Van Rhijn, J.A. and Trigueros, G., 2004. Nitrofurant Antibiotic Residues in Pork: The FoodBRAND retail Survey. *Analytica Chimica Acta* Volume 520, Issues 1–2, Pages 125-131
- Özcan, T. ve Baysal S., 2016. Vegeteryan Beslenme ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt 30, Sayı 2, 101-116
- Parks, O.W., 1989. Liquid Chromatographic Electrochemical Detection Screening Procedure for Six Nitro-Containing Drugs in Chicken Tissues at Low ppm Level. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 63, 4-7.
- Pavlov, A., Lashev, L., Vachin, I. and Rusev, V., 2008. Residues of Antimicrobial Drugs in Chicken Meat and Offals. *Trakia J. Sci.*, 6, 23-25.
- Peters, R.J.B., Bolck, Y.J.C., Rutgers, P., Stolker, A.A.M. and Nielen, M.W.F., 2009. Multi-residue Screening of Veterinary Drugs in Egg, Fish and Meat Using High-Resolution Liquid Chromatography Accurate Mass Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216(46), 8206-8216.
- Pikkemaat, M.G., 2009. Microbial Screening Methods for Detection of Antibiotic Residues in Slaughter Animals. *Anal Bioanal Chem* 395:893–905 DOI 10.1007/s00216-009-2841-6
- Ritchie H., 2017. <https://ourworldindata.org/antibiotic-resistance-from-livestock> How Do We Reduce Antibiotic Resistance from Livestock? (Erişim Tarihi 05.04.2020)
- Saygı, Ş., Battal, D. ve Şahin N.Ö., 2012. Çevre ve İnsan Sağlığı Yönünden İlaç Atıklarının Önemi, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16, 82-90.
- Taçbaş, E. ve Baydan, E., 2018. Organik Hayvan Yetiştiriciliğinde Hastalıkların Sağaltımında Kullanılabilecek Maddeler. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 58 (2) 117-122
- Tittlemier, S.A., Riet, J.V.D., Burns, G., Potter, R., Murphy, C., Rourke, W., Pearce, H. and Dufresne, G., 2007. Analysis of Veterinary Drug Residues in Fish and Shrimp Composites Collected During the Canadian Total Diet Study, 1993-2004. *Food Addit. Cont.*, 24, 14-20.
- Tuncer, H.İ., 2007. Karma Yemlerde Kullanımı Yasaklanan Hormon, Antibiyotik, Antikoksidiyal ve İlaçlar. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 47 (1) 29-37.
- Van Boeckel, T.P., Glennon, E.E., Chen, D., Gilbert, M., Robinson, T. P., Grenfell, B.T., Levin S.A., Bonhoeffer, S. and Laxminarayan, R., 2017. Reducing Antimicrobial Use in Food Animals. *Science*, 357(6358), 1350-1352
- Vollard, E.J., and Clasener, H.A.L., 1994. Colonization Resistance. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 38, 409–414.
- Wegener, H.C., Aarestrup F.M., Lars Bogø Jensen, L.B., Hammerum, A.M. and Bager, F., 1999. Use of Antimicrobial Growth Promoters in Food Animals and Enterococcus faecium Resistance to Therapeutic Antimicrobial Drugs in Europe *Emerg Infect Dis.* May-Jun;5(3):329-35
- Xie, J., Peng, T., Zhu, A., He, J., Chang, Q., Hu, X., Chen, H., Fan, C., Jiang, W., Chen, M., Li, J., Ding, S. and Jiang, H., 2015. Multi-Residue Analysis of Veterinary Drugs, Pesticides and Mycotoxins in Dairy Products by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry using Low-Temperature Cleanup and Solid Phase Extraction. *Journal of Chromatography B* Volume 1002, Pages 19-29.