

## **İNTERTEST YÖNTEMİ İLE SÜTTEKİ ANTİBİYOTİKLERİN VE DİĞER İNHİBİTÖR MADDELERİN SAPTANMASI ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

Uzm. Vet. Hek. Nedret AYDIN

Uzm. Vet. Hek. Meliha CANBAZOĞLU

Uzm. Biolog Hatice AYHAN

### **GİRİŞ**

Antimikrobiyal kemoterapötik maddeler, özellikle, antibiyotikler günümüzde birçok alanlarda kullanılmakla birlikte, en yaygın olarak insan ve hayvanlarda sağaltım, hayvanlarda gelişimi ve verimi artırmak amacıyla yem ve katkı maddesi olarak da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin bu şekilde kullanımı hayvansal ürünlerle ve özellikle de toplumun beslenmesinde önemli bir yeri olan vazgeçilmez temel gıda maddelerinden birini teşkil eden süt gibi hayvansal ürünlerle intikal eden antibiyotik rezidüleri halk sağlığı açısından sakıncalar doğurmaktadır.

Bilindiği gibi sütte antibiyotik bulunması, özellikle laktik asit bakterilerinin kullanıldığı yoğurt gibi fermente ürünlerde sorun yaratmaktadır. Diğer taraftan hayvansal orijinli bakterilerin, kullanılan antibiyotiğe bağlı olarak dirençlilik kazanması da bahis konusu olup, bu durumda insan sağlığı açısından sakıncalar oluşturmaktadır (8, 16, 21, 23).

Sütte antibiyotik ve diğer inhibitör maddelerin saptanması amacıyla çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemlerden bazıları 24 saat kadar uzun bir sürede gerçekleştirildiği için büyük bir pratik yarar sağlamazlar. Bu nedenle kısa sürede sonuç alınabilen testler üzerinde durulmaya başlanmıştır. Sütteki canlı mikroorganizmaların ısı ile öldürüldüğü sütlere *S.thermophilus* inoküle edildikten sonra indikatör boya varlığında bakterinin aktivitesine bağlı olarak meyd-

na gelen renk değişimi esasına dayanan intertest yöntemi bildirilmektedir (2).

İnsan ve hayvanların beslenmeleri açısından önem taşıyan çeşitli hayvansal ürünlerdeki antibiyotik rezidülerinin ve diğer inhibitör maddelerin saptanmasında yaygın olarak başvurulan testlerden sütlerdeki inhibitör maddelerin tanısında da yararlanılmaktadır (11, 18, 20). Bu amaçla uygulanan farklı mikrobiyolojik yöntemlerde pek çok farklı standart suşlar da kullanılmaktadır.

Wright ve Huold (23) tarafından süt örneklerinde penisilinlerin saptanmasında *Sarcina lutea*, streptomisin için *B.subtilis*, basitrasin için *M.flavus* ve tetrasiklin için *B.cereus* var. *Mycoides*'in kullanıldığı silindir plate tekniği kullanılırken, Arret ve ark. (3) antibiyotiklerin teşhisinde mikrobiyolojik testlerin önem taşıdığına değinmiştir. Bu amaçla, farklı mikrobiyolojik testlerden yararlanılarak standart suşlarla birçok antibiyotiğin saptanabileceğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar yeni uygulamaya konan antibiyotiklerle birlikte farklı standart suşların da kullanımına gerek duyulduğuna değinmişlerdir.

Packard ve ark. (15), çiğ süt örneklerinde penisilin kalıntılarının ortaya konmasında disk ve Delvotest P yöntemlerinden yararlanmışlar, inceledikleri 288 süt örneğinin sadece 1 tanesini (% 0.34) disk yöntemi, 7 (% 2,4) tanesini Delvotest P yöntemiyle pozitif bulurlarken, bu 7 süt örneğinden sadece 2 tanesini silindir plate tekniğiyle pozitif saptadıklarını ortaya koymuşlardır. Delvotest P metodu ile 0.002 IU penisilin teşhis edilebildiğini, Delvotest P metodunun diğer iki metoda göre daha hızlı, daha basit olması nedeniyle de rutin bir test olarak kullanılabilceğini savunmuşlardır.

Yaygın (26) ise, süt ve süt örneklerinden inhibitörlerin belirlenmesinde farklı test suşlarını farklı yöntemlerde başarıyla kullandığını ortaya koymuştur. «Fransa'da uygulanan yöntem» olarak tanımlanan teknikte, ısı ile muamele edilen brom kresol purpu ilave edilen süt örneğine test suşu olarak *Strep.thermophilus* kültürü inokule edilerek inkube edilir. Testte rengin değişmeden kalması antibiyotik varlığı yönünden pozitif olarak değerlendirilir. Disk yönteminde ise test suşu olarak *B.stearothermophilus* var. *Calidolactis* kullanılmış ve sütlere daldırılmış 9-13 mm. çaplarındaki kâğıt diskler test mikroorganizması ekilmiş tripton agar plakları üzerine aralıklı olarak konarak inkubasyonu takiben kâğıt diskler çevresindeki inhibisyon zonları incelenmiştir.

Uğur (22), gıdalarda inhibitör maddelerin tesbitinde iki ayrı mikrobiyolojik metot kullanılabileceğini bildirmiştir. Bunlardan biri, sıvı besi yerlerinde uygulanan, 2, 3, 5, - triphenyltetrosolium chlorid (TTC) indikatörü ile inhibitör maddelerin sıvı besi yerinde test kültürünün engellenmesi esasına dayanır. Diğeri ise katı besi yerinde olup, donmuş blok disk, delikli agar, silindir ve yerleştirme metodu olarak tanımlanmıştır. Test suşu olarak *B.cereus*, *B.subtilis* ve *S.aureus* gibi veteriner hekimlikte kullanılan bütün antibiyotiklere, eşit derecelerde duyarlılık gösteren suşların seçiminin önemine de değinmiştir. Aynı araştırmacı bu yöntemler içinde pratiğe en uygun olanının ise zaman ve personel gereksiniminin az oluşu, ekonomik yönünün uygunluğu, çok yüksek ısı derecelerine duyarlılığı, çok geniş bir saptama spektrumuna sahip olması ve sonuçların kontrol edilebilme imkânını vermesi nedeniyle «katı besi yerinde yerleştirme» metodu olduğunu da bildirmiştir.

$\beta$ -laktam antibiyotiklerin *B.stearothermophilus* ile kalitatif olarak disk yöntemine göre saptanabileceğini, süt ve süt örneklerinde  $\beta$ -laktam antibiyotiklerin renk indeksi ile gösterilebileceğini de bildirirken (10), bazı araştırmacılar çeşitli antibiyotiklerin ortaya konmasında yararlanılan testleri karşılaştırmalı kullanılarak en duyarlı olanını seçmeyi amaçlamışlardır. Geleta ve ark. (5), penicilin G ve cephapirinin sütteki kalıntılarının teşhisinde ARB *B.stearothermophilus*' un test suyu olarak kullanıldığı yöntemlerin (Disk plate, Delvotest-P ve (DF-AOAC) International Dairy Federation - Association of Official Analytical chemists) daha duyarlı olduklarını; Haopoja ve Korkeala (7), *B.stearothermophilus* var. *Calidolactis*'in kullanıldığı Thermocult metodunu en uygun yöntem olarak bildirmişlerdir. Yadavalli ve ark. (25), agar üzerinde delikler açılarak uygulanan difüzyon testinde, Haopoja ve Korkeals (7)'nin standart suşunun %2 antibiyotikli medium No: 5'de hazırlanan spor süspansiyonunu kullanarak 2  $\mu$ g/ml streptomisinini saptanabildiği, basit, uygun ve hızlı bir olduğunu savunmuşlardır.

Singer ve Katz (19), *M.luteus* suşunu kullandığı outlined yöntemi ile sığır sütlerinin % 79.3'ünde kloramfenikol'un varlığını gösteren inhibisyon zonu gözleyerek sütlerdeki ölçülen en düşük limit'in 0.025  $\mu$ g/ml olarak; Ruig ve Hoojerink (17), HPLC üzerinde ayırmaya dayanan elektrokimyasal yöntem ile 5-50  $\mu$ g/ml kloramfenikol varlığının % 64 oranında ortaya konabildiğine ve HPLC-UV metodundan daha duyarlı ve spesifik olduğunu da ortaya koymuşlardır.

Seymour ve ark. (18) da B.stearothermophilus suşunu disk test, Delvotest P ve Penzyme testlerinde kullanmışlardır. Son yıllarda bu konunun önem kazanması nedeniyle yurdumuzdaki araştırmacılar tarafından da aynı amaçlarla benzer standart suş ve yöntemler kullanılarak deneysel çalışmalarda bulunmuşlardır. Acet ve arkadaşları (1) hayvansal dokulardan antibiyotik rezidülerinin tayininde agar difüzyon tekniğini kullanmışlardır. Toplam 124 doku numunesini incelemişler, dokulardan tespit edilen antibiyotik rezidülerinin oksitetrasiklin için 0.32 - 2.56 µg/gr, tetrasiklin için ise 0.080 - 0.240 µg/gr. arasında olduğunu bildirmişlerdir. Test suşu olarak kullandıkları B.cereus'un duyarlılık sınırının oksitetrasiklin ve tetrasiklin için sırasıyla 0.040 µg ve 0.01 µg düzeylerinde olduğunu belirtmişlerdir.

Şanlı ve ark. (20), sağaltım amacıyla kullanılan oksitetrasiklin ve çinko basitrasinin hayvanların kan ve iç organlarından alınan örneklerinde Arret ve ark. (3)'ün bildirdiği yöntemle 0.01 - 9.7 ppm arasında oksitetrasiklin ve 0.02 - 4.0 ppm değerinde de çinko basitrasinin rezidüsü saptadıklarını ortaya koymuşlardır .

Bu çalışmada, Ankara ve çevresinde süt sığırcılığının yapıldığı kamu ve özel sektöre ait işletmelerde sağılarak tüketime arz edilen toplu süt örnekleri ile pastörize halde tüketilen sütlerde kısa zamanda antibiyotik ve diğer inhibitör maddelerin saptanmasında inertest yönteminin geliştirilmesi ve bu yöntemin difüzyon yöntemiyle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

**Süt Örnekleri :** Ankara ve çevresinde süt sığırcılığı yapılan kamu ve özel sektöre ait işletmelerdeki sağmal sığırlardan sağımdan sonra tüketime sunulacak 204 toplu süt örneği ile Ankara piyasasında satışa arz edilen çeşitli kurum ve işyerlerinden sağlanan pastörize 103 adet süt örneği olmak üzere toplam 307 süt örneğinden denemelerde yararlanıldı.

**İntertest Materyali :** Toplanan süt örneklerinin test edilmesinde gerekli olan İntertest-1 ve İntertest-10 setleri İntervet firmasının temsilcisi olan Pabay Kimyevi Maddeler Pazarlama ve Dağıtım A.Ş.'den sağlandı. Bu materyalin esasını standardize edilmiş Streptococcus thermophilus kültürü teşkil etmektedir.

**Difuzyon Yönteminde Kullanılan Besiyerleri :** Test suşu olarak kullanılan *B.stearothermophilus* var. *calidolactis* suşunu aktive etmek ve saklamak amacıyla sırasıyla glukoz-maya ekstraktı ve et-maya ekstraktı besiyerleri, test ortamı olarak tripton agar besiyeri kullanıldı. Bu besiyerlerinin formülü aşağıda belirtildi.

**Glukoz-maya ekstraktı buyyonu**

Maya ekstraktı .....	1 gr.
Trypton .....	2 gr.
Glukoz .....	0.005 gr.
Distile su .....	1000 ml.
pH : 7 ± 0.2	

**Et-Maya ekstraktı besiyeri**

Et ekstraktı .....	1 gr
Maya ekstraktı .....	2 gr
Glukoz .....	1 gr
Agar .....	15 gr
Distile su .....	1000 gr
pH : 7.0 ± 0.2	

**Difuzyon Testinde Kullanılan Standart Suş :** Bu amaçla kullanılan *B.stearothermophilus* var. *calidoilactis* C.593 suşu liyofilize olarak Laboratoire de Bactteriologie Laitiere, 78350 Jouy-en Josas, Paris'ten sağlandı.

**Kâğıt Disklerin Hazırlanışı :** Watman No: 2 filtre kâğıdından 3 mm. çapında daireler halinde kesildi ve otoklavda steril edilerek agar difuzyon testinde kullanıldı.

**İntertest Yöntemi :**

**A) Süt örneğinin hazırlanması :** Alınan normal görünümdeki süt örnekleri en geç bir saat içinde işlendi. Süt içerisinde bulunabilen doğal inhibitörleri tahrip etmek ve testle maskelenebilecek penisilinaz enzimi üreten mikroorganizmaların üremesini kontrol etmek için süt örnekleri ısı ile muamele edildi. Bu amaçla;

a) Süt örneğinden ağzı kapaklı deney tüplerine 5 ml. konuldu.

b) Kapak gevşetilip kontrol tüpündeki termometre gözlenerek süt kaynama noktasına ulaşınca kadar kaynayan suda tutuldu.

c) Süt kaynama noktasına ulaşır ulaşmaz, tüpler alınarak akan soğuk suda soğutulup, kapakları sıkıştırıldı.

d) Böylece süt örnekleri testte kullanıma hazır hale getirildi. Bu şekildeki süt örneklerinin bir kısmı hemen teste alındı veya 24 saat içinde işlenmek üzere + 4 C° de buzdolabında saklandı (2, 9).

**B) Testin uygulanışı :** İntertest yönteminde İntertest-1 ve İntertest-10 setleri ayrı ayrı uygulandı. İntertest-10'un uygulanışında (2, 9);

a) Isı ile muamele edilmiş süt örneğinden steril bir pipet ile steril ağız kapaklı test tüpüne 2 ml. kondu.

b) İntertest setindeki flakona 0,5 ml. steril distile su konularak içindeki, liyofilize materyal sulandırıldı.

c) İyice erimeyi sağlamak amacıyla ters-düz edilerek homojen karışım sağlandı.

d) Bu karışımdan daha önce hazırlanan her bir süt örneği üzerine 0,1 ml. ilave edildi ve çalkalanarak karıştırıldı.

e) Tüpler 45 C° lik su banyosuna konularak 4 saat inkübe edildi.

**İntertest-1'in uygulanışında :**

a) Isıtılmış 2 ml süt örneği direkt olarak intertest-1 setindeki flakona aktarıldı.

b) Tüp ters-düz edilerek iyi bir karışım sağlandı.

c) Tüpler 45 C° lik su banyosunda 4 saat inkübe edildi.

**C) Sonuçların Değerlendirilmesi :** Su banyosundaki 4 saatlik inkübasyondan sonra süt örneklerinde meydana gelen renk indeksine göre işlenen sütlerde antibiyotik veya diğer inhibitör maddelerin durumu değerlendirildi. Tüplerde mavi ve pıhtı oluşmaması pozitif, sarı renk oluşumu ve pıhtılaşmanın görülmesi negatif, yeşil sarı rengin oluşumu, fakat pıhtı oluşmaması şüpheli olarak kaydedildi. Test prosedürüne göre mavi rengin görülmesi halinde 0.01 IU penisilin-G' ye eşdeğer miktardan daha fazla inhibitör madde bulunduğu kabul edildi (2, 9).

**Difüzyon testi için Duyarlı Test Suşunun (B.stearothermophilus var. calidolactis) Kültürünün Hazırlanışı :** Liyofilize haldeki veya katı besiyerindeki stok bakterileri aktif hale getirmek için suş glukoz-maya ekstraktlı buyyonuna ekildi ve 56 C° de 1-18 saat inkube edildi. Bakterileri tam olarak aktive edebilmek amacıyla bu buyyona yapılan ekimler 3 kez tekrarlandı. Aktif hale getirilen bakteriler et-maya ekstraktı ile yatık olarak hazırlanan besi yerinde üretildikten sonra buzdolabında aylarca saklanabilir (26).

#### **Difüzyon Yöntemi**

**A) Test Ortamının Hazırlanması :** Trypton agar besiyeri otoklavda steril edildikten sonra 55 C° ye kadar soğutuldu. Glukoz-maya ekstraktında aktif hale getirilmiş bakterilerin taze sıvı kültürlerinden % 20 oranında besi yerine ilave edilerek iyice karıştırıldı. Kültür içeren besi yeri 55 C° ye kadar ısıtılmış 15 cm çapındaki petri kutularına 9 ml olarak dağıtıldı. Petri kutuları, yüzeyi düz bir yerde tutularak besiyerinin soğuması sağlandı. Hazırlanan besiyerleri aynı gün kullanıldı veya hemen soğutulularak 5 C° de 24 saat kadar bekletildi (26).

**B) Testin Uygulanışı :** Test edilecek süt örneği iyice karıştırıldı. Daha önce hazırlanan steril kâğıt disk süte daldırılıp fazlası giderildikten sonra petrilere kültür içeren besiyeri üzerine 2 cm aralıklarla yerleştirildi. Petri kutuları ters çevrilerek 5 ± 1 C° de 4 saat inkübe edildi. Testlerde penisilinli süte daldırılmış kâğıt diskler kontrol olarak kullanıldı (26).

**C) Sonuçların Değerlendirilmesi :** İnkubasyonu takiben kâğıt disklerin çevresindeki inhibisyon alanının çapı ölçüldü ve kontrol disk çevresinde oluşan inhibisyon alanının çapı (yaklaşık 12 mm) ile karşılaştırıldı. İnhibisyon zonu kontrolle eşit ve bundan fazla ise pozitif olarak değerlendirildi. Bu şekilde 0.01 IU/ml penisilin konsantrasyonuna eşit veya daha yüksek oranda antibiyotik içeren sütler belirlendi (26).

#### **BULGULAR**

**İntertest Sonuçları :** Materyal ve metot bölümünde belirtilen 204 adet toplu süt ve 103 adet pastörize süt olmak üzere toplam 307 süt örneği test edildi. Elde edilen bulgulara göre toplu süt örneklerinin

90, (% 44) pozitif, 101, (% 49,5) negatif, 3 adedi ise (% 1,5) şüpheli, pastörize süt örneklerinden 30'u (%29) pozitif, 57'si (%53) negatif ve 16'sı (% 15,5) şüpheli olarak saptandı. Sonuçlar Tablo-1 ve 2 de gösterildi.

**Difüzyon Yöntemi Sonuçları :** Bu yöntemde de toplam 307 süt örneği işlenmiş olup, teste sokulan 204 toplu süt örneğinden 32'si (% 15,7) pozitif, 163'ü (% 80) negatif ve 9'u (% 4,4) şüpheli, 103 pastörize süt örneğinden de 15'i (% 14,5) pozitif, 80'i (% 77,7) negatif ve 8'i (% 7,8) de şüpheli olarak değerlendirildi. Sonuçlar Tablo-1 ve 2'de gösterildi.

**TABLO-1 : İnterest ve Difüzyon Yöntemleri ile işlenen süt örneklerinden alınan sonuçlar (Toplu süt örnekleri)**

Toplam Süt örneği Sayısı	T E S T L E R					
	İnterest			Difüzyon		
	Pozitif	Şüpheli	Negatif	Pozitif	Şüpheli	Negatif
204	90	13	101	32	9	163
	% 44	% 1,5	% 49,5	% 15,7	% 4,4	% 80

**TABLO-2 : İnterest ve Difüzyon Yöntemleri ile işlenen süt örneklerinden alınan sonuçlar (Pastörize süt örnekleri.)**

Toplam Süt örneği Sayısı	T E S T L E R					
	İnterest			Difüzyon		
	Pozitif	Şüpheli	Negatif	Pozitif	Şüpheli	Negatif
103	30	16	57	15	8	80
	% 29	% 15,5	% 53	% 14,5	% 7,8	% 77,7



İntertest ve difüzyon yöntemleriyle yapılan testlerden elde edilen bulguların genel değerlendirmesinde, toplu süt örneklerinden iki testin karşılaştırılması yapıldığında intertestin difüzyon testine oranla daha duyarlı olduğu açıkça görülmektedir. Pastörize süt örneklerinden yapılan uygulamalarda da intertest yönteminin difüzyon yöntemine oranla daha iyi sonuçlar verdiği saptanmıştır.

## T A R T I Ş M A

Antibiyotikler günümüzde yaygın olarak hayvanların sağaltım ve gelişimi, verimi artırmak amacıyla yem ve gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Toplumun beslenmesinde özel bir yeri olan süte de anbitiyotikler ve diğer inhibitör maddeler geçebilmektedir. Sütte antibiyotik bulunması özellikle laktik asit bakterilerin kullanıldığı yoğurt gibi fermente ürünlerde sorun yarattığı gibi tüketici toplumlarda da halk sağlığı yönünden sakıncalar doğurmaktadır (8, 16, 21, 24).

Sütte antibiyotik ve diğer inhibitör maddelerin saptanması amacıyla çeşitli yöntemlere başvurulmuştur. Bu yöntemler içinde en yaygın olarak denenen agar difüzyon yöntemi olmuştur. Ancak bu yöntemin uygulanışında çeşitli alternatifler denenmek suretiyle aranacak antibiyotik ve diğer inhibitör maddelerin özelliğine göre farklı değerlendirmeler yapılmıştır. Testte esas, duyarlı test suşlarının seçimi olmuştur. Bu amaçla *B.subtilis* (11, 13), *B.stearothermophilus* (16, 22), *Sarcina lutea* (14), *B.sereus* (3, 4, 13) vs. suşları kullanılmıştır.

Bu çalışmada, difüzyon testinde standart suş olarak *B.Stearothermophilus* var. *calidolactis* C.593 suşu kullanılmıştır ve olumlu sonuçlar alınmıştır. Bu suşun kullanılmasındaki amaç 57 C°'de üreme özelliğine sahip olması ve bu suşun kullanıldığı agar difüzyon testinin 4 saat gibi kısa bir sürede sonuç vermesi avantaj olarak gösterilebilir.

Sütlerdeki antibiyotik ve diğer inhibitör maddelerin saptanmasında daha pratik, ekonomik, daha duyarlı ve daha kısa zamanda sonuç veren testler üzerinde de çalışmalar yapılmıştır (2, 9).

Bu çalışmada, *Str.thermophilus*'un duyarlı suş olarak bulunduğu intertest yöntemi sütlerdeki antibiyotik ve diğer inhibitör maddelerin saptanmasında kullanılmıştır. Elde edilen verilerin değeren-

dirilmesi yapıldığında intertest yönetiminin kısa zamanda sonuç vermesi, antibiyotik ve diğer inhibitör maddelerin varlığının saptanması açısından süt ve süt ürünlerinin üretiminde pratik bir yöntem olarak görülmektedir. Aynı zamanda uygulanabilme kolaylığı nedeniyle küçük kapasiteli laboratuvarlarda ve fabrika girişinde vs. uygulanabilirliği kanısına da varılmıştır.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Antimikrobiyal kemoterapotik maddelerin, özellikle antibiyotiklerin günümüzde birçok alanlarda bilinçsizce kullanıldığı bilinmektedir. Antibiyotiklerin bu şekilde kullanımı hayvansal ürünlere ve özellikle de toplumun beslenmesinde önemli bir yeri olan ve temel gıda maddelerinden birini teşkil eden sürede geçmektedir. Bu nedenle çok yönlü sakıncalar doğuran problemin çözümünde sütteki antibiyotik ve diğer inhibitör maddelerin saptanması, büyük bir önem taşımaktadır.

Bu çalışmada, intertest ve difüzyon yöntemlerinin karşılaştırılması yapıldığında intertestin daha kısa zamanda sonuç veren pratik bir yöntem olduğu ve uygulama kolaylığı nedeniyle tercih edilebileceği kanısına varılmıştır. Ancak bu testin pozitif oluşunun bir antibiyotikten veya inhibitör bir madde ile mi meydana geldiği ayrılamadığından bu teste ek olarak difüzyon yönteminin de uygulanması önerilebilir.

## Ö Z E T

Süt örneklerinden antibiyotik ve diğer inhibitör maddelerin intertest ve agar difüzyon testleriyle saptanması amacıyla 204 toplu süt örneği ile Ankara piyasasında satışa arz edilen pastörize 103 adet süt örneği olmak üzere toplam 307 süt örneği denenmiştir. Test suşu olarak agar difüzyon testinde *B.stearothermophilus* var. *colidolactis*, intertest kitinde ise *Str.thermophilus* suşları kullanılmıştır. İncelenen toplu süt ve pastörize süt örneklerinde intertest yöntemiyle sırasıyla, %44, %29 pozitif; % 1,5, % 15,5 şüpheli; % 49,5, % 53 negatif sonuçlar bulunurken, agar difüzyon yönteminde sırasıyla, % 15,7, % 14,5 pozitif, % 4,4, % 7,8 şüpheli, % 80, % 77,7 negatif sonuçlar belirlenmiştir. Denemelerde intertest yöntemi ile süt örneklerinde antibiyotik ve diğer inhibitör maddelerin saptanmasında daha basit, duyarlı ve spesifik bir yöntem olduğuna karar verilmiştir.

## S U M M A R Y

A total of 307 milk samples composed of 204 bulk milk and 103 pasteurized milk samples were tested for the presence of antibiotics and other inhibitors by intertest and agar diffusion methods. While *B.stearothermophilus* var.*calidolactis* was used as a sensitive strain in agar diffusion test, *Strep.thermophilus* was used in intertest kit. By intertest method, the antibiotics and other inhibitor residues have been found in bulk milk and pasteurized have been found in bulk milk and pasteurized milk samples as 44 %, 29 % positive; 1,5 %, 15,5 % suspicious and 49,5 %, 53 % negative, respectively. By agar diffusion test they also have been found in bulk milk and pasteurised milk samples as 15,7 %, 14,5 % positive; 4,4 %, 7,8 % suspicious and 80 %, 77,7 % negative, respectively. Experiments revealed that intertest method has been elucidated to be simpler, more sensitive and more specific in the detection of residues of antibiotics and other inhibitors in milk.

## K A Y N A K L A R

- 1 — ACET, A; ATEŞ, M. ve ERGANİŞ, O. (1987) : Hayvansal dokularda antibiyotik kalıntılarının agar difüzyon tekniği ile tayini. Selçuk Üni. Vet. Fak. Derg. 3, 197-205.
- 2 — Anon: FAO food and nutrition paper. Manuals of food quality control. 3. commodities 1979; Antibiotics in milk, 32-39.
- 3 — ARRET, B., JOHNSON, D.P. and KIRSHBAUN, A. (1971): Outline of details for microbiological assays of antibiotics: Second revision no. 5. Pharmaceutical Sci. 60, 1689-1694.
- 4 — BOOTH, N.H., Mc DONALD, L.E. (1982) : «Veterinary pharmacology and therapeutics» 5. ed. The lowe state University Press, Awes, Iowa.
- 5 — GELATA, J.N., BRYANT, H.H., HEAVHER, J.E., COLAIBNNE, J.J., CARTER, G.G. and Norcross, M.A. (1984) : Comparison of microbiological methods, for defecting penicillin and penicillin-like antibiotic residues in milk. J. of food production. 47: 604-610.
- 6 — HOALAND, M.A., MANSPEAKER, J.E. and MORELAND, T.W. (1984) : Antibiotic residues in milk after intrauterine infusion Vet. Med., 382-386.
- 7 — HAPOGA, A. and KORKEALA, H. (1984) : Antimicrobial residues in milk Comparison of different agar diffusion methods. Acta Vet. 25, 250-259.
- 8 — HANSEN, J. (1964) : Fortstatle forsö, verdrönde aduendeligheden of acen-tonnitriekstrakter fil prövning of antibioter rester dyriske vaew Nord. Vet. Med. 16, 551-571.
- 9 — Intervet International B.V.-Boxmeer-Holland.

- 10 — JAOAC Official Methods of Analysis, 1984.
- 11 — JOHNSTON, R.W., REAMER, R.H., HAURIS, E.W., FUGATE, H.G. and SUCHWAB, B. (1981) : A new screening method for the detection of antibiotic residues in meat and poultry tissues. *J.Food protection*; 44. 828-831.
- 12 — KATZ, J.M. and KATZ, S.E. (1984) : Rapid assay for tetracycline in premixes and mixed feeds. *J.A.O.A.C.*, 67: 576-579.
- 13 — KORKEALA, H., SORVETTULA, O., MUKI-PETOYS, O. and HIVN. J. (1982) : Comparison of different agar diffusion methods for the detection of antimicrobial residues in stanghter animals. *Acta Vet. Scand*, 23: 407-415.
- 14 — OUDERKIRK, L.A. (1976) : Evaluation of two microbiological methods for detecting residual antibiotics in milk. *J.A.O.A.C.*, 59: 1122-1124.
- 15 — PACKARD, V.S., TATINI, S. and GINN, R.E. (1976) : An evaluation of methods for detecting and comparative incidence of penicillin residues in different types of raw milk suppliss.
- 16 — PICHNARCIK, J., WENZEL, S.U., GISSKE, W. (1969) : Beitragzur methodik des hemmstoffnachweises in Organen and muskulatur von schlachttieven *Arch. Lebensmittelhyg.* 20, 272-279.
- 17 — RUIG, W.G. DE; KOOIJERINK, H. (1985) : Determination of chloramp henicol in milk by HPLC with electrochemical detection. *Metherlan is Milk and Dairy J.* 39, 155-163.
- 18 — SEYMOW, E.H., JONES, G.M.MC GILLIARD, M.L. (1988) : Comparisons of on-farm Screening Tests for detection of antibiotic residues *J. Dairy Sci.* 71, 539-544.
- 19 — SINGER, C.J., KATZ, S.E. (1985) : Microbiological assay for chloramphe nicol residues. *J. of Assac of Officiel Analytical Chemists* 68, 1037-1041.
- 20 — SANLI, Y., AYDIN, N., İZGÜR, M., AKMAN, A ve BAYDAR, 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 duyarlı mikroorganizmalarla araştırılması. *Doğa, TÜBİTAK Vet. Hay. D.* 11, 72-85.
- 21 — UĞUR, M. (1975) : Das werhalten antibiotisch wirksamer rüčkstande im fleisch nach hitze-und getrierbehandlung mit undersuchungen uber die brauchbarkeit verschedener tests tamme im agar diffussions test. *Inaug. Diss. FU Berlin.*
- 22 — UĞUR, M. (1978) : Hayvansal beslemede antibiyotikleri nkullanılmasından doğan zararlar dikkate alınarak uygulanan mikrobiyolojik inhibitör maddelerinin saptanma metodları. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.* 4, 87-97.
- 23 — WRIGHT, W.W. and HAROLD, L.C. (1960) : Antibiotic residues in milk. *J.A. V.M.A.* 137. 525-533.
- 24 — WELCH, H. (1957) : Problem of antibiotics in food as the food and drug administration sees them. *Am. J. Publ. Health* 47, 701-705.
- 25 — YA DAVALLI, R.K., SINGH, R.S., ANARD, S.K. (1985) : Diffusion test for the detection of streptomycin residues in milk *J. of Dairy Res.* 52. 595-597.
- 26 — YAYGIN, H. (1977) : Süt ve süt mamüllerinden antibiyotikler. *E.Ü. Ziraat Fak. Yay. No:* 321.