

KAYSERİ'DE SIĞIR İDRARLARINDA VE YEMLERDE ZERANOL'UN ELISA VE İNCE TABAKA KROMOTOGRAFİ İLE KANTİTATİF ANALİZİ

Abstract the Quantative Analysis of the Zeranol in Cattle Urine and Feed in Kayseri by the ELISA and Thin Layer Chromotography

Erdinç TÜRK¹, Bilal Cem LİMAN²

Özet : Bu çalışmayla, Kayseri yöresinde; yetiştirilen besi sığırlarının idrarlarında ve kullanılan sığır yemlerinde zeranol kalıntısının olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla resmi ve özel mezbahalara gidilerek 45 adet sığırdan idrar örneği alınmış ve ticari ELISA (Enzim İmmun Assay) kitinde yer alan yöntemine göre zeranol kalıntıları araştırılmıştır. Çalışma sonucunda pozitif bulgu veren sığır idrarlarının %6.66'sinde 250-300ppt, %8,88'inde 300-400ppt, %2.22'sinde 400-500ppt arasında zeranol kalıntısı tespit edilmiştir. Pozitif bulgu veren örnekler ise toplam numunelerin % 17.77'sini oluşturmaktadır. Değerlendirilen 45 örneğin %82.23'ünü kapsayan 37 örnekte ise zeranol kalıntısına rastlanmamıştır. İnce tabaka kromatografi yöntemine göre analiz edilen 80 adet sığır yemi örneği zeranol yönünden negatif bulunmuştur.

Çalışmada elde edilen bulgular, eti tüketilen besi sığırlarında zeranol kullanıldığını, bu durumun zeranol uygulanan sığırların etleri kesim sonrasında bekletilme sürelerine uyulmaksızın tüketime sunulduklarında, ülkemiz insanlarının zeranol kalıntısı bulunduran gıda maddelerini tüketmeleri nedeniyle bir çok risk ile karşı karşıya oldukları ve bu durumun halk sağlığı açısından üzerinde durulması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler : Zeranol, enzim immün assay, idrar, yem

Summary : This study, aims to define whether there is zeranol remnants or not in feed and urines of steers in Kayseri. For this study, 45 samples of cow urine taken from official and zeranol remnants have been researched according to the method in the commercial ELISA kit. After the study, zeranol remnants have been found between 250-300 ppt in the 6.66%, 300-400 ppt in the 8.88%, 400-500 ppt in the 2.22% of the positive resulted cow urines with positive results. All of the samples with positive results represents the 17.77% of the total samples. Zeranol remnant has not been found in the 37 samples including in the 82.23% of total 45 samples been studied in the analysis.

Key words : Zeranol, enzim immün assay, urine, feed

Artan dünya nüfusunun dengeli ve yeterli beslenmesi için gerekli hayvansal kökenli besin maddelerinin, yeterince üretilmesi, son yıllarda bütün dünya

ülkelerinin gündeminde yer alan en önemli konulardan biridir. Hayvancılıkta ürün kalitesinin yükseltilmesi ve verimlerin artırılması için araştırmacılar öncelikle genetik ve çevresel faktörlerden mümkün olduğu ölçüde yararlanmaya çalışmışlardır (1).

¹ Bilim Uz. Erc. Ün. Sağlık Bil. Ens, Vet. Far-Tok. AD, Kayseri

² Prof. Dr. Erc. Ün. Vet Fak, Vet. Farmakoloji-Tok. AD, Kayseri

***Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 01.11.14 nolu proje ile desteklenmiştir.**

Hem kaliteli hem de ekonomik şekilde hayvansal kökenli gıdaların üretilmesi için değişik kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Hormon ve benzeri maddeler hayvanlarda et üretimini artırmak için dünyanın birçok ülkesinde yasak olmasına rağmen kullanılır hale gelmiştir (1,2). Anabolik hormonların kullanımı, hayvancılıkta verim artışı, yetiştiricilikte ürün maliyetlerinin azalmasını ve kar marjının artışı beraberinde getirir (1-3). Alan koşullarında yapılan yaygın nitelikli gözlemlerden ortaya çıkan gerçekler dikkate alındığında anabolizan hormonlar hatalı bir şekilde kullanılmaktadır (1,4). Gelişmeyi hızlandırmak ve verimi artırmak amacıyla kullanılan anabolizan hormonların çoğu, kasaplık hayvanlarda kesim öncesi yasal bekletme süresine uymama, fazla ve uzun süre verme ve yanlış uygulama sonucu hayvan etleri ile süt ve yumurtalarında kalıntı bırakırlar (2, 4).

Anabolizan özellikteki bileşiklerin bazılarının uygulanması nedeniyle besi sığırlarının etlerinde oluşacak kalıntının, uygun bekleme koşullarına uyulduğunda veya anabolizan madde uygun koşullarda uygulandığında zararlı etkisinin az olduğu bildirilmektedir (1, 4). Bu gıdalarla alınan bir çok anabolizan madde kalıntısı anafilaktik şoka kadar gidebilen değişik derecede alerjik reaksiyonlara, hamilelerde; düşüklere, fõtusta gelişim bozukluklarına, karaciğer kemik iliği ve böbrek üzerinde olumsuz etkilere, kadınlarda; menstruel siklusta bozukluklara, erkeklerde ise libido azalmasına, gonadlarda gelişmeme ve pseudofeminizasyona sebep olmaktadır (3-6). Aynı zamanda alınan anabolizan madde artıkları kronik koşullarda hormonal sistemi de olumsuz yönde etkilemektedir (4, 5).

Bu çalışmada, Kayseri Bölgesinde yetiştirilen erkek besi hayvanlarının zeranola parenteral veya hayvan yemleri ile oral maruziyet durumları araştırılmıştır. Sonuçların tolerans limitleri sınırlarında olup olmadığının saptanması amaçlanmıştır. Parenteral yoldan zeranola maruziyet durumunu araştırmak için besi sığırlarından idrar alınarak ELISA yöntemi ile analiz edildi. Oral yoldan zeranola maruz kalmayı araştırmak için besi sığır çiftliklerinden alınan yemler İTK yöntemi ile analiz edildi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Kayseri ilindeki özel ve resmi mezbahalarda kesilen erkek sığırlarından toplanan idrarlar ile besi sığır çiftliklerinden alınan yemlerle gerçekleştirildi. Bu amaçla, 01.04.2001 ve 01.07.2001 tarihleri arasında belirli aralıklarla 45 sığırdan alınan idrar ile 01.10.2001-0.12.2001 tarihleri arasında 40 adet yem örneği ve 01.01.1002-01.04.2002 tarihleri arasında 40 adet yem örneği olmak üzere toplam 80 adet yem örneği toplandı. Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji laboratuvarına getirilen idrar ve yem örnekleri analiz edilene kadar (+4°C)’de saklandı. İdrarlar ekstraksiyon işlemleri yapılarak, RidascreeN ELISA yöntemine göre, yemler ince tabaka kromatografi yöntemine göre analiz edildi (7, 8).

BULGULAR

Kayseri’deki özel ve resmi mezbahalardan 01.04.2001-01.07-2001 tarihleri arasında topladığımız 45 adet idrar örneği Enzim İmmun Assay yöntemi ile analiz edildi. Pozitif çıkan sonuçların ortalama absorbans, dilüsyon ve hesaplanan konsantrasyonu Tablo I’de verilmiştir. Örneklerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde frekans tablosu oluşturulmuştur. Pozitif bulgu veren örneklerin frekans tablosunda 250 –300 ppt, 300-400 ppt, 400-500 ppt ve 250-500 ppt aralığına denk gelen değerlerin konsantrasyonları sırasıyla 251,699±2,43, 343,133±26,66, ve 316,204±59,63 ppt olduğu görülmüştür. bunların karşılaşma oranları ise 250-300 ppt için % 6,66, 300-400 ppt için % 8,88, 400-500 ppt için %2,22 olmuştur. Pozitif bulgu veren numuneler, toplam örneklerin % 17,77’sini oluşturmaktadır. Bu oran konsantrasyon yönünden değerlendirildiğinde ise 316,204±59,63’dür. Değerlendiren toplam 45 örneğin % 82,23’nü oluşturan 37 örnekte ise zeranol kalıntısına rastlanılmamıştır.

Kayseri ilindeki besi çiftliklerinde, 01.010.2001 ve 01.04.2002 tarihleri arasında belli aralıklarla alınan 80 adet yem örneğinde ince tabaka kromatografisi ile zeranol araştırıldı. Yemlerde ince tabaka kromatografisi metoduna göre zeranol tespit edilmedi .

Tablo I. Numunelerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde frekans tablosu

	Ortalama (ppt)	Standart sapma	Numune sayısı	Rastlanma oranları (%)
250-300 ppt	251.699	2.43	3	6.66
300-400 ppt	343.133	2.66	4	8.88
400-500 ppt	402.000	0.26	1	2.22
Toplam	316.204	1.78	8	17.77

TARTIŞMA

Son 40 yılda, baz hormonların verilmesi ile besi hayvanlarında yemden yararlanma oranının artırılması, gelişmenin hızlandırılması ve et veriminin yükseltilmesinde önemli başarılar elde edilmiştir (1, 10) Ancak bu hormonların yaygın bir şekilde kullanılması bazı problemleri de beraberinde getirmiştir. Besi sığıru yetiştiriciliğinde hormon kullanımının yol açtığı en önemli sorun kalıntı problemidir (11, 12).

Yasa dışı kullanımının olup olmadığını tespit etmek için zeranolan uygulandığı bölgeden ve bu bölgenin yakınındaki yenilebilir dokulardan örnek alınması önemlidir. Ayrıca, hayvana ne şekilde uygulanmış olduğu da kalıntı riski yönünden önemlidir, çünkü kristal süspansiyonlar veya yağlı emülsiyonlar haftalar sonra parçalanmakta ve uygulama bölgesinde yüksek dozda kalıntı bırakabilmektedir (2, 13).

Hayvanların çoğunda zeranolanın etkisi östrojenin büyük dozunun etkilerinden ayrılmayabilir. Hyperöstrojenizm olarak adlandırılan sendromun sonuçları anormal reproduktif davranışlar olarak ortaya çıkar, uzun süren östrus, anöstrus, infertilite, artan meme büyüklüğü yada meme gelişmesi, anormal laktasyonu içerir. Ölü doğumlar, mastitis, vulvovaginitis, rektal yada vaginal prolapslar, zeranolanın alınımı ile ilgili sekonder komplikasyonlar olarak düşünülebilir (6, 14). Zeranolan genç boğalarda testosteron sekresyonunu değiştirmektedir. Zeranolanın tetosteron sekresyonu ve testis sekresyonları üzerindeki inhibitör etkisi bir yaşına girmeden etkili olmaktadır. Zeranolanın implante edildiği yaş, dozundan daha önemlidir. Bir

yaşından büyük boğalarda yüksek dozda kullanıldığında bile testisler üzerine herhangi bir etkisi görülmemektedir (15).

70 kg ağırlığındaki bir kişinin, zeranolan uygulanmış hayvanın yenilebilir dokularında bulunan toplam 1.75 µg/kg zeranolan veya 70 µg/kg. taleranolan zearalenonu tolere edebileceği açıklanmıştır (3).

Zeranolan kalıntılarının, tüketici yönünden herhangi sakınca taşımayacak düzeye inmesi ve zeranolan kalıntısı içeren gıdaların insan tüketimine sunulmaması için gereken süre; uygulama yolu, uygulama miktarı, vücuttan atılma hızı ve formülasyonuna göre değişir. En düşük konsantrasyonlar kas ve yağ dokusunda; daha yüksek konsantrasyonlar karaciğer ve böbrekte; en yüksek konsantrasyonlar ise safra, idrar ve dışkıda bulunur (16, 17).

Erkeklerde zeranolan kalıntılı gıdaların uzun süre kullanılması gonadlarda gelişmeme spermatogenezinin inhibisyonu ve iktidarsızlığa sebep olabilir (18-20). Sağlım dozlarında sürekli verildiklerinde karaciğer hipertrofisi, hemolitik etki, hormonal salgı mekanizmasının bozulması gibi patolojik bozukluklar oluşur. Kadınlarda erkekleşmeye neden olabilen androjenik etkinlik, menstrual siklusa bozukluklar ve ovaryum kistleri görülebilir (18).

FAO'nun 1987 yılında aldığı karara göre hayvanların yenilebilir dokularında kabul edilebilir zeranolan miktarı 2 ppb, karaciğerde 10 ppb olarak açıklanmıştır. Bu çalışmadaki sonuçlar bildirilen kabul edilebilir sonuçlardan çok daha düşüktür. Kalıntıların bu düzeye inmesi için zeranolan implantasyonunu takiben kuzularda 40 gün,

sığırlarda 65 gün bekleme süresine gerek olduğu belirlenmiştir (21).

Bu sonuçlara göre, Kayseri’de erkek besi sığırlarında parenteral yoldan zeranolun kullanıldığı sonucuna varılmıştır, ancak halk sağlığı açısından risk oluşturacak düzeylerde değildir. Zeranolun etkili konsantrasyon sağlaması için vücutta sürekli belli bir konsantrasyonda olması gerekir. Zeranol oral yoldan hızla emilir kısa süre sonra pik konsantrasyona ulaşır ve takiben vücuttan uzaklaştırılır. Yemleme sürekli olmayacağı için zeranol devamlı etkili bir konsantrasyonda olmaz. Oral yolla uygulanan zeranol rumende kısa süre içinde parçalanır. Bu nedenle oral preparatlar tercih edilmez. Pelet tarzındaki uygulamalar uzun süre etkili konsantrasyon sağlamıyacağından, zeranol kullanımında pelet tarzında kulak altı implantlar tercih edilmektedir. Bu nedenle yemlerdeki analizlerde zeranola rastlanılmamıştır.

Zeranol kalıntıları yönünden analiz edilen 45 adet idrar örneğinden sekizinde hormon kalıntısına rastlanması; nadiren de olsa sığırların zeranol uygulamasını takiben bekleme süresine uyulmadan kesime sunulduğunu göstermiş ve zeranol kalıntılı etlerin halk sağlığını olumsuz yönde etkileyebileceği kanısına varılmıştır. Konunun ülke genelini temsil edecek şekilde daha kapsamlı şekilde incelenmesinin ve buradan çıkacak sonuçlara göre genel değerlendirmelerin yapılmasının ve gerekli yaptırımların uygulamaya konulmasının gerektiği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Şanlı Y. Gelişmeyi hızlandırıcı maddeler. *Veteriner Klinik Farmakoloji İlaçla Sağaltım İlkeleri. Medisan. Ankara 1999, ss 711-718.*
2. Alaçam E. Hormonların Klinik kullanımları. *Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. Medisan. Ankara 1997, ss 31-44.*
3. Gülbahar MY. Zeranol İmlante Edilen Kuzuların Bazı İç Salgı Bezleri İle Genital Organlarındaki Patolojik Bozukluklar Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara 1996.
4. Liman B. Anabolik ilaçlar. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi 1990, 53-61.*
5. Linday DG. Zeranol-A nature identical' oestrogen ? *Food Cheem Toxic 1990, 23(8): 767-774.*
6. Sundlof S, Strickland C. Zearalenone and zeranol : Potential residu problems in livestock. *Vet Hum Tox 1986, (28): 242-247.*
7. Anon. Ridascreen. Zeranol. *Enzyme immunoassay for the Quantative Analysis of Zeranol, Darmstat 1995.*
8. Starh HM. Mycotoxin analizleri. In: *Analtical Methods in Toxicolgy. Brisbane, New York 1991, pp 96-98.*
9. Özdamar K. SPSS Windows program isatistiki analizler. *SPSS ile Biyoistatistik. Kaan, İstanbul 2000, ss 88-95.*

10. Field AR, Snowder DG, Maiorano G, McCormick JR, Riley LM. Growth and slaughter characteristics of ram and wether lambs implanted with zeranol. *J Anim Sci* 1993, 71: 631-635.
11. Rico AG. Metabolism of endogenous and exogenous anabolic agents in cattle. *J Anim Sci* 1983, 57(1):1820-1827
12. Jansen M, Van den berg H, Stephany M. A chemiluminescent for zeranol and its metabolites. *J Vet Pharmacol Therap* 1986, 9: 101-108.
13. Aksoy A. Zeranol ve Nandrolon'un (19-Nortestosreon Hekzafenipropiyonat) Akkaraman Irkı Erkek Kuzularda, Canlı Ağırlık Artışı, FSH, LH, Total Testosteron ve Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, Yüzüncüyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van 1996.
14. Zeranolun kimyasal özellikleri, metabolizması ve toksisitesi. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi* 7(5); 223-240
15. Saraç B. Dietilstilbestrol ve Zeranol Kalıntılarının Gaz Kromatografi Yöntemiyle, Deneyel Olarak Tavşanlar ile Mezbahalarda Kesilen Hayvanların Doku ve Organlarında Araştırılması, Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul 1997.
16. Fara G, Del Corva M, Bernuzzi S, Bigatello A, Scaglioni SA, et al. Epidemic of breast enlargement in an Italian school. *The Lancet* 1979, 11: 295-297.
17. Heitzman RJ. The absorption, distribution and excretion of anabolic agents. *J Animal Science* 1983, 57 (1): 76-85
18. Kaya S. Hayvansal üretimde gelişmeyi hızlandırıcı maddeler ve sakıncaları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1984, 31(3) : 410-423.
19. Bigatello A, Pietro C, Scaglioni S, Chumello G, Breast enlargement at an Italian school. *The Lancet* 1978, 551-552.
20. Cordle MK. USDA regulation of residues in meat poultryproducts. *J Anim Sci* 1988, 66: 413-433.
21. FAO/WHO : Food additives. Thirty Second Meeting, 15-23 June Roma, 1987.