



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**ANKARA, KIRIKKALE VE ÇANKIRI İLLERİNDEN TOPLANAN ÇİĞ
KEÇİ SÜTLERİNDE BAZI ANTİBİYOTİKLERİN VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Allafouza TIDJANI MAHAMAT

**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Doç.Dr. Levent ALTINTAŞ

ANKARA

2021

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANKARA, KIRIKKALE VE ÇANKIRI İLLERİNDEN TOPLANAN ÇİĞ
KEÇİ SÜTLERİNDE BAZI ANTİBİYOTİKLERİN VARLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

Allafouza TIDJANI MAHAMAT

**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Doç.Dr. Levent ALTINTAŞ

ANKARA

2021

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “**Ankara, Kırıkkale ve Çankırı İllerinden Toplanan Çiğ Keçi Sütlerinde Bazı Antibiyotiklerin Varlığının Araştırılması**” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Allafouza TIDJANI MAHAMAT

Tarih: 30 Eylül 2021

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında
Allafouza TİDJANİ MAHAMAT tarafından hazırlanan
“**Ankara, Kırıkkale ve Çankırı İllerinden Toplanan Çiğ Keçi Sütlerinde Bazı
Antibiyotiklerin Varlığının Araştırılması**” adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 30.09.2021

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.



İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Keçi Sütü	2
1.1.1. Keçi Sütün Özellikleri	3
1.1.2. Keçi Sütün Kimyasal Bileşimi	3
1.1.3. Keçi Sütünün İnsan Beslenmesinde Önemi	4
1.2. Antibiyotikler	5
1.2.1. Gıdalarda Antibiyotik Kalıntısı	6
1.2.2. İlaç Kalıntılarının Başlıca Sebepleri	6
1.2.3. Gıdalarda Antibiyotik Kalıntısına Bağlı Gelişebilen Olumsuzluklar	8
1.2.3.1. Allerjik Reaksiyonlar	8
1.2.3.2. Bakterilerde Dirençli Suşların Ortaya Çıkması	8
1.2.3.3. Sindirim Kanalı Bakteri Topluluğunun Değişmesi	8
1.2.3.4. Farmakolojik Etki	9
1.2.3.5. Özel Zehirli Zararlı Etkiler (Karsinojen Etki)	9
1.2.3.6. Gıda Endüstrisi Üzerindeki Etkiler	9
1.2.4. Kalıntı ile İlgili Bazı Terimler	10
1.2.4.1. Kabul Edilebilir Günlük Alım (KGA) Miktarı	10
1.2.4.2. Maksimum Kalıntı Limiti	10
1.2.5. Sütte Antibiyotik Kalıntısı Belirlemede Kullanılan Analiz Yöntemleri	11
1.3. Metot Validasyonu ve İlgili Validasyon Parametreleri	13
1.3.1. Özgünlük ve Seçicilik	14
1.3.2. Doğruluk	14
1.3.3. Bağlı Hata	15
1.3.4. Kesinlik	16
1.3.5. Tayin Sınırı (Limit of Dedection, LOD) ve Ölçüm Sınırı (Limit of Quantification, LOQ)	16
1.3.6. Doğrusallık	17
1.3.7. Çalışma Aralığı	17
1.4. Çalışmanın Amacı ve Önemi	17
2. GEREÇ ve YÖNTEM	19
2.1. Kimyasal Malzemeler	19
2.2. Laboratuvar Araçları	19
2.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi Aparatları	19
2.4. Örneklerin Toplanması	20

2.5. Süt Örneklerin Analizi	20
2.6. Mobil Faz	20
2.7. Standartların Hazırlanması	23
2.8. Yöntemin Validasyonu	23
2.8.1. Doğruluk	23
2.8.2. Doğrusallık ve Çalışma Aralığı	23
2.8.3. Seçicilik ve Kesinlik	24
2.8.4. Tayin Sınırı ve Ölçüm Sınırı	24
3. BULGULAR	25
3.1. Doğruluk	25
3.2. Doğrusallık ve Çalışma Aralığı	25
3.3. Seçicilik ve Kesinlik	29
3.4. Tayin Sınırı ve Ölçüm Sınırı	32
3.5. Keçi sütünde Antibiyotik Varlığının Belirlenmesi	32
4. TARTIŞMA	36
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	41
ÖZET	44
SUMMARY	45
KAYNAKLAR	46
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ÖNSÖZ

Süt, yeterli ve dengeli beslenmenin temel bileşenleri olan protein, yağ, laktoz, vitaminler ve mineralleri içeren en önemli besin kaynağıdır. Son yıllarda keçi sütü ve ürünlerine gösterilen ilgi, insan sağlığına olan yararlı yönlerinin gösterilmesiyle birlikte daha da artmıştır. Bu durum, keçi sütü üretiminin artmasına ve Dünya toplam süt üretiminin de %2,2'sini oluşturmaya yol açmıştır. Hayvanlarda çeşitli amaçlar için kullanılan ilaçlar, hatalı ve bilinçsiz kullanılmaları sebebiyle hayvansal ürünlerde kalıntı bırakarak gerek insan sağlığını olumsuz yönde etkilemekte gerekse ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Bu çalışma ile; Ankara, Çankırı ve Kırıkkale'de satışa sunulan çiğ keçi sütü örneklerinde, hayvanlarda en sık kullanılan beş antibiyotik grubunu temsilen birer etken maddenin (enrofloksasin, sülfametoksazol tilozin, penisilin G, oksitetrasiklin), sütlerdeki kalıntı düzeylerinin HPLC yöntemi ile belirlenmesi hedeflenmiştir.

Tez çalışmamda bilimsel yardım ve katkılarını esirgemeyen başta danışman hocam Sayın Doç.Dr. Levent ALTINTAŞ olmak üzere; Tez İzleme Komitesinde yer alan Sayın Prof.Dr. Ender YARSAN ve Prof.Dr. Adnan ŞEHU'ya, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri, Öğretim Elemanları ve çalışanlarına, laboratuvar çalışmaları aşamasında destek olan Sayın Doç.Dr. Hüsamettin EKİCİ ve Dr. Yaşar ALUÇ'a teşekkür ederim.

Beni bu yaşa kadar getiren aileme ve tez çalışmalarım süresince desteğini esirgemeyen değerli eşim Khadidja Alhadji AJI'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora eğitimim boyunca maddi ve manevi olarak destek veren Çad Hayvancılık Bakanlığı Hayvancılık Araştırma ve Geliştirme Enstitüsü'ne, Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı'na ve Çad Büyükelçisi Sayın Me Adoum Dangai Nokour GUET'e teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

μg	mikrogram
DAD	Diode Array Detector
dk	dakika
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Gıda ve İlaç Dairesi
g	gram
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi
ICH	International Conference on Harmonization
KGA	Kabul Edilebilir Günlük Alım
LOD	Tayin Sınırı
LOQ	Ölçüm Sınırı
MKL	Maksimum Kalıntı Limiti
nm	nanometre
pH	Hidrojen iyonlaşmasının aktivitesi
ppb	Per part billion (milyarda bir)
ppm	Per part million (milyonda bir)
TGK	Türk Gıda Kodeksi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Numune toplanan iller ve numunelerin numaralandırılması	21
Şekil 3.1. Enrofloksasin kalibrasyon eğrisi	26
Şekil 3.2. Sülfametoksazol kalibrasyon eğrisi	27
Şekil 3.3. Tilosin kalibrasyon eğrisi	27
Şekil 3.4. Penisilin G kalibrasyon eğrisi	28
Şekil 3.5. Oksitetrasiklin HCL kalibrasyon eğrisi	28
Şekil 3.6. Antibiyotik standartlarının kromatogramı	29
Şekil 3.7. Boş örnek kromatogram	30
Şekil 3.8. Ankara 1. dönem süt numunesi kromatogram örneği (S.06.KI.020 numaralı numune)	33
Şekil 3.9. Ankara 2. dönem süt numunesi kromatogram örneği (S.06.KI.095 numaralı numune)	33
Şekil 3.10. Kırıkkale 1. dönem süt numunesi kromatogram örneği (S.71.KI.075 numaralı numune)	34
Şekil 3.11. Kırıkkale 2. dönem süt numunesi kromatogram örneği (S.71.KI.107 numaralı numune)	34
Şekil 3.12. Çankırı 1. dönem süt numunesi kromatogram örneği (S.18.KI.60 numaralı numune)	35
Şekil 3.13. Çankırı 2. dönem süt numunesi kromatogram örneği (S.18.KI.130 numaralı numune)	35

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Anne sütü, inek sütü ve keçi sütünün bileşimi	3
Çizelge 1.2. Antibiyotiklerin keçi sütündeki MKL değerleri	10
Çizelge 2.1. Gradyan koşulları	22
Çizelge 2.2. HPLC parametreleri	22
Çizelge 3.1. Geri kazanım değerleri	25
Çizelge 3.2. Korelasyon katsayıları	26
Çizelge 3.3. Yöntemin tekrarlanabilirliği, birinci gün	30
Çizelge 3.4. Yöntemin tekrarlanabilirliği, ikinci gün	31
Çizelge 3.5. Yöntemin tekrarlanabilirliği, üçüncü gün	31
Çizelge 3.6. LOD ve LOQ değerleri	32

1. GİRİŞ

Süt, memeli canlıların gebeliği takiben meme bezlerinde sıvı halde oluşturmuş oldukları biyolojik bir maddedir. Bünyesinde neredeyse tüm besin maddelerini barındırır. Aslında bu sıvının asıl salgılanma veya üretilme amacı, yeni doğmuş olan yavrunun, hem immünolojik açıdan dış dünyaya adaptasyonunu sağlamak hem de yavrunun temel besin ihtiyaçlarını karşılamaktır. Hayvan sütleri içerisinde keçi sütü, insanlar için, anne sütüne en yakın süt olmasıyla sebebiyle ayrı bir öneme sahiptir. Yine bununla birlikte inek sütüne göre; çok daha az alerjik etkiye ve trans yağ oranına sahip olması ile sindirilebilirliğinin daha yüksek olması önemini daha da artırır. Trans yağ asidi oranının inek sütüne göre düşük olması, aynı zamanda kalp hastalığına yol açma riski de düşürür. Bu sebeple; son yıllarda keçi sütü ve ürünlerine gösterilen ilgi, insan sağlığına olan yararlı yönlerinin gösterilmesiyle birlikte daha da artmıştır. Bu durum, keçi sütü üretiminin Dünyada 1991 ve 2011 yılları arasında yaklaşık %70 oranında artmasına ve Dünya toplam süt üretiminin de %2,2'sini oluşturmasına yol açmıştır. Türkiye İstatistik Kurumu 2019 verilerine göre; keçi sütünün, toplam süt üretiminde %2,5'lik bir oranı oluşturduğu bildirilmiştir. Durum teknolojik açıdan değerlendirildiğinde; keçi sütlerinden sterilize ve pastörize içme sütü, yoğurt, peynir, dondurma ve sütlü tatlıların üretebildiği ve yine keçi sütünün atopik hastalarının kullanabileceği el ve banyo sabunları, el ve yüz nemlendiricileri gibi kozmetik ürünlerin imalatında da yer aldığı bildirilmiştir (Akan ve Kınık, 2015; Altun ve Sarıcı, 2017; Anitaş ve ark., 2018; TÜİK, 2020; Yaralı ve ark., 2013; Yılmaz ve ark., 2018).

Hayvanlarda hastalıkların tedavisi, engellenmesi ve hastalıklardan korunma, gelişiminin hızlandırılması, paraziter hastalıkların kontrol altına alınması ve beslenmenin desteklenmesi gibi amaçlarla ilaç, hormon, vitamin ve mineral maddeler kullanılır. İlaç kullanıldığı sürece; özellikle gıda değeri olan hayvanlarda, hayvansal ürünlerde kalıntı sorununun olabileceği de bir gerçektir. Hayvanlarda kullanılan bu maddeler içerisinde de en yüksek oranı antibiyotikler oluşturur (Kaya ve Ünsal, 2013; Şen, 2013). Avrupa Birliği mevzuatı kapsamında kalıntı; farmakolojik etkiye

sahip ürünler ve onların metabolitleri ile insan sağlığı için muhtemel zararları olan ve hayvansal ürünlere geçebilen maddeler olarak tanımlanır (Serratosa ve ark., 2006).

Gıdalardaki ilaç kalıntısı sorununa ilk bilinçli yaklaşımın, 1900'lü yıllarda "trematol" adlı bitki kaynaklı bir maddenin yeni buzağılayan ineklerde kullanılmasını takiben, bu maddeyi içeren sütü tüketen insanlarda zehirlenmelerin görülmesiyle başladığı kabul edilse de; gerçek anlamda kalıntı kavramı, 1950'li yıllarda penisilin mastitisin tedavisinde kullanımı ile önem kazanmıştır. Penisilin kullanımının yaygınlaşması ve buna bağlı olarak süt tüketen kişilerde ortaya çıkan alerjik olayların artması ve yine süt ürünlerindeki penisilin kaynaklı ekonomik kayıpların ortaya çıkması ile birlikte, ilaç kalıntılarının önemi daha da anlaşılır hale gelmiştir. Yine bununla birlikte; kaynatma, pişirme, kavurma, dondurma ve haşlama gibi çeşitli ısı uygulamalarının, gıdalardaki kalıntı seviyelerinde çok etkin bir azalmaya neden olmadığı veya tam olarak çözüm oluşturmadığı da çeşitli araştırmalarla ortaya konmuştur (Çakır, 2008; Diserens ve ark., 1995; Kaya ve ark., 1998; Samanidou ve Nisyriou, 2008; Şen, 2013).

1.1. Keçi Sütü

Özellikle alerjik reaksiyonlara karşı duyarlı olan insanlarda, inek sütüne alternatif olarak keçi sütü tüketilir. Aynı zamanda keçi sütü; günlük alınması gereken kalsiyum, fosfor gibi mineraller ve esansiyel proteinler açısından da zengin bir içeriğe sahiptir. Bu sebeple de özellikle gelişmekte olan ülkelerde ve yine inek sütü tüketme imkânı düşük olan toplumlarda önemli bir rol üstlenir. Biyolojik aktif özellikleri bakımından keçi sütü; insan ve inek sütüyle karşılaştırıldığında, kendine özgü bir özelliğe sahiptir. Bu özgünlük, keçi sütünün belirgin alkali özelliği sayesinde yüksek tamponlama kapasitesine sahip olması, yağ moleküllerinin küçük çaplı olması sebebiyle yüksek sindirilebilirliği, besleyici değeri ve farmakolojik etkisi ile ilgilidir. Bu sebeple de keçi sütü ve ürünlerinin tüketimi her geçen gün daha da artmaktadır (Park ve Haenlein, 2006; Telli ve Doğruer, 2014; Yaralı ve ark., 2013).

1.1.1. Keçi Sütün Özellikleri

Süt, yeterli ve dengeli beslenmenin temel bileşenleri olan protein, yağ, laktoz, vitaminler ve mineralleri içeren en önemli besin kaynağıdır ve vücudun, dişlerin ve kemiklerin gelişmesini destekleyen önemli besinlerden birisidir (Önal, 2005; Özcan ve ark., 1998).

Keçi sütleri kazeinli sütler grubunda yer alır. Bileşimine bakıldığında kuru maddesinin ortalama olarak % 12,5 civarında olduğu ve bu toplam kuru maddenin de ortalama olarak % 4 yağ, % 3,3 protein, % 4,1 laktoz ve % 0,8 kül içerdiği bildirilmiştir (Raynal ve ark., 2008).

1.1.2. Keçi Sütün Kimyasal Bileşimi

Keçi sütünün bileşimi, yetiştirildiği ülkeye ve ırka göre farklılık gösterir. Bileşimi yönüyle inek ve anne sütü ile karşılaştırması Çizelge 1.1'de verilmiştir (Altun ve Sarıcı, 2017; Jenness, 1980; Koşum, 2010).

Çizelge 1.1. Anne sütü, inek sütü ve keçi sütünün bileşimi.

İçerik	Anne sütü	Keçi sütü	İnek sütü
Kuru Madde	12,4	12,48	12,69
Protein (g)	1,22	3,34	3,42
Yağ (g)	3,6	3,8	3,7
Albumin + Globulin	0,70	0,43	0,60
Laktoz	6,72	4,08	4,78
Kazein	0,40	2,47	2,63
Mineral Madde	0,31	0,79	0,73
Kalsiyum (mg)	32	134	119
Fosfor (mg)	14	111	93
Klor	0,06	0,154	0,105
Demir (g)	0,03	0,04	0,05
Magnezyum (mg)	3	14	13

Potasyum (mg)	51	204	152
Vitamin A (IU/g yağda)	245	185	126
Vitamin D (IU/g yağda)	0,27	0,07	0,07
Vitamin B ₁ (mg/100 ml)	17	68	48
Vitamin B ₆	0,01	0,05	0,04
Kalori (mg)	70	69	61

Keçi sütü aslında yağ, laktoz ve protein açısından inek sütüne benzer ve her ikisi de anne sütüne göre daha az laktoz içerir. Protein yönünden ise keçi sütü ve inek sütü, anne sütüne göre daha zengindir. Keçi sütünün özgül ağırlığı 1,0264 ile 1,0425 arasında değişir ve yüzey gerilimi de inek sütüne benzerdir. Peynir üretiminde kullanılan peynir mayasına karşı keçi sütü, inek sütüne oranla yaklaşık iki kat daha duyarlıdır; yani, peynir yapımında kullanılan maya miktarı keçi sütünde inek sütünde kullanılanın yarısı kadardır (Altun ve Sarıcı, 2017).

1.1.3. Keçi Sütünün İnsan Beslenmesinde Önemi

Keçi sütü, içerdiği yağ ve proteinlerin homojen bir yapı göstermesi ve bileşimindeki yağ küreciklerinin küçük olması sebepleriyle inek sütüne göre daha kolay sindirilebilir. Yine keçi sütünün mide asidi gibi kuvvetli bir aside maruz kalması halinde oluşacak olan pıhtı, çok yumuşaktır ve homojen bir yapı gösterir ve bulunduğu asitli ortamda da hızlı çözünür. Bu olumlu özelliği sebebiyle de özellikle sindirim güçlüğü çeken hastalar, mide rahatsızlığı bulunanlar ile bebeklerde daha fazla tercih edilir. Bebek mamalarının yapımında da bu özelliğinden yararlanılır (Yaralı ve ark., 2013).

Keçi sütü, içerdiği fosfat yönüyle de önem taşır. Bu bağlamda, et ve balık yeme alışkanlığı olmayan bireylerde ortaya çıkabilecek olan fosfat yetmezliğine karşı da alternatif bir ürün olarak değerlendirilebilir. Keçiler duyarlılık bakımından tüberküloza karşı, ineklere nazaran oldukça dayanıklıdır. Bu sebeple de inek sütüne göre tüberküloz etkenlerini ihtiva etme yönüyle çok daha güvenlidir. Anne sütüne benzerliği sebebiyle bebek mamalarının yapımında da sıklıkla tercih edilir. Olumsuz

olarak değerlendirilebilecek yönleri ise; demir ve mangan yönünden yetersiz olması ile başta B₁₂ vitamini olmak üzere bazı vitaminler yönüyle de fakir olmasıdır. Bu sebeple uzun süre tüketildiği hallerde, kişide kansızlık görülebilir (Yaralı ve ark., 2013).

1.2. Antibiyotikler

Antibiyotikler, bakterilerin büyümesini engelleyen veya onları yok edebilen sentetik veya doğal antibakteriyel moleküller olarak tanımlanır (Kaya, 2014).

Antibiyotikler bakteriler üzerine olan etkileri yönüyle bakterisidler ve bakteriyostatikler diye ikiye ayrılırlar. Bu sınıflandırma çerçevesinde; bakterisid etkili olanlar içerisinde penisilinler, aminoglikozidler, sefalosporinler, florokinolonlar, vankomisin ve basitrasin yer alırken, bakteriyostatik etkili olanlar içerisinde ise makrolidler, tetrasiklinler, sülfonamidler, linkozamidler, fenikoller, yer alır (Karaçal, 2004; Kaya, 2014; Kayaalp, 1998).

Antibiyotikler etki spektrumuna göre ise dar, geniş ve genişçe etki spektrumlu olmak üzere üçe ayrılırlar. Bu sınıflandırma içerisinde veteriner hekimlikte genellikle geniş etki spektrumlu antibiyotikler daha çok tercih edilir ve bu sebeple de yan etkiler yönüyle dikkat edilmesi gerektiği hususu akılda tutulmalıdır (Kaya, 2014).

Antibiyotikler etki şekillerine göre ise;

- Hücre duvarı sentezini engelleyenler (penisilin, basitrasin ve sefalosporin),
- Hücre zarı geçirgenliğini değiştirenler (polimiksin, nistatin, kolistin),
- Nükleik asit sentezini önleyenler (kinolon, aktinomisin, rifamisin,)
- Ara metabolizmayı bozanlar (sülfonamid, trimetoprim, izoniazid) ve
- Protein sentezini engelleyenler (makrolid, tetrasiklin, fenikol, aminoglikozid, linkozamid) diye sınıflandırılırlar (Kaya, 2014).

Diğer hayvan türlerinde olduğu gibi çiftlik hayvanlarında da antibiyotikler yaygın kullanılır. Gıda değeri taşıyan hayvanlarda bu grup ilaçlardan özellikle beş ana grup (aminoglikozidler, beta-laktamlar, makrolidler, sulfonamidler ve tetrasiklinler) altındakiler daha sık tercih edilir (Avcı, 2010).

1.2.1. Gıdalarda Antibiyotik Kalıntısı

Hayvanlarda hastalıkların tedavisi, önlenmesi, kontrol edilmesi, gelişmeyi hızlandırmak için doğrudan veya su ya da yeme katılarak kullanılan ilaç ve kimyasal maddelere bağlı olarak; hayvanların doku ya da organlarında, kullanılan bu maddeler ve metabolitleri bağlı veya serbest halde bulunarak, kalıntı sorununun gelişimine yol açarlar. Gıda maddelerindeki ilaç kalıntıları; tüketici sağlığını ve refahını etkilemesi, ülke ekonomisini ilgilendirmesi ve Uluslararası bir boyutunun da olması yönüyle oldukça önem arz eden bir durumdur. İlaç kullanıldığı sürece, hayvansal kaynaklı gıdalarda ilaç kalıntıları bulunacaktır; önemli olan kalıntıların sıklığını ve düzeyini kontrol altında tutmaktır. Gıdalarda bulunmasına izin verilen miktarın üzerindeki kalıntılar ancak toksikolojik yönden tüketiciler için potansiyel bir tehlike oluştururlar. Bu noktada kullanılan bu maddelerin gıdalarda bulunmalarına izin verilen tolerans değerleri önem kazanır. Belirtilen sınır değerinin altında kalan kalıntı miktarları toksikolojik açıdan önem taşımaz (Altıntaş, 2015; Avcı, 2010; Kaya, 2014).

1.2.2. İlaç Kalıntılarının Başlıca Sebepleri

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde 1970'li yıllarda Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından yapılan bir araştırma sonucuna göre kalıntı olaylarının başlıca nedenleri arasında:

- % 76'sında kesim öncesi bekletme süresi ile süt ve yumurtanın tüketilmeme süresine uyulmaması,

- % 12'sinde yem fabrikalarındaki uygulama hataları,
- % 6'sında yem depolarının iyi temizlenmemesi,
- % 6'sında da hatalı ilaç kullanımı (aşırı doz veya amaç dışı kullanım) yer alır.

Kalıntının ortaya çıktığı olaylar değerlendirildiğinde; olayların % 10-15'inde Veteriner Hekimlerin, % 85-90'ında ise hayvan yetiştiricilerinin sorumlu olduğu bildirilmiştir. Ayrıca tedavisi devam eden hayvanların satılması, kuru dönemin kısa sürmesi veya erken buzağılama gibi durumların da kalıntıya neden olduğu da belirtilmiştir (Avcı, 2010).

FDA'ya göre sütte antibiyotik kalıntısı bulunmasının en büyük nedeni, mastitisin kontrolünde antibiyotiklerin uygun olmayan bir şekilde kullanılmasıdır. Bu durumun tedavisinde ise en çok kullanılan ilaçlar; başta beta-laktam antibiyotikler olmak üzere, sülfonamidler, tetrasiklinler, makrolidler ve aminoglikozidlerdir.

Sütte antibiyotik kalıntısı bulunmasının başlıca nedenleri (Kafalı, 2008);

1. İzin verilen ilaçların gereğinden yüksek dozda kullanılması,
2. Tedavi edilen hayvanların kaydedilmemesi veya işaretlenmemesi,
3. Prospektüste bildiren ilaç kalıntı arınma süresine uyulmaması,
4. Herhangi bir nedenle ilaç klirensinin uzaması,
5. Sağım ekipmanlarının antibiyotiklerle kontaminasyonu,
6. Antibiyotiklerin birlikte kullanıldığı durumlar,
7. Antibiyotik bulaşmış sütün, sağım hatası nedeniyle toplama tankına aktarılması,
8. Prospektüsteki talimatlara göre antibiyotiklerin kullanılmaması,
9. Sadece ilaçla tedavi edilen meme loblarında bulunan sütlerde ilaç arınma süresine uyulması, diğer loblardaki sütlerde bu hususun göz ardı edilmesidir.

1.2.3. Gıdalarda Antibiyotik Kalıntısına Bağlı Gelişebilen Olumsuzluklar

1.2.3.1. Allerjik Reaksiyonlar

Gıdalarda kalıntı yoluyla alınan pek çok ilaç veya kimyasal madde, bağışıklık sistemi üzerinde genellikle uyarıcı etkiye yol açarak, allerjik tepkimelerin tetiklenmesine sebep olurlar. Örn, çok küçük miktarlarda dahi alınsalar penisilinler, ölüme kadar gidebilecek ciddi allerjik tepkimelere neden olabilir. Yine benzer şekilde kloramfenikol, kemik iliğinde baskı ile sonuçlanan allerjik tepkimelere yol açar ve bu sebeple de günümüzde gıda değeri olan hayvanlarda kullanımı yasaklanmıştır (Aycan, 2016; Kaya ve Ünsal, 2013; Şenyuva ve Gilbert, 2015; Yarsan, 2014).

1.2.3.2. Bakterilerde Dirençli Suşların Ortaya Çıkması

Et, süt gibi hayvansal kökenli gıdalarda antibiyotiklerin kalıntı halinde bulunmasına bağlı olarak, bakterilerde bu maddelere karşı bir direncin gelişebileceği kabul edilir. Yine bununla birlikte, bu tür antibiyotik kalıntısı içeren gıdaları tüketen insanlarda da gıdaya bağlı zehirlenme olgularının daha sık ve şiddetli olarak ortaya çıktığı ve bunun da yine dirençli bakteri suşlarının gelişmesine bağlı olarak geliştiğine inanılır (Aycan, 2016; Kaya ve Ünsal, 2013; Yarsan, 2014).

1.2.3.3. Sindirim Kanalı Bakteri Topluluğunun Değişmesi

Her canlının sindirim kanalı kendine özgü bir floraya sahiptir ve gıdalarda kalıntı ile alınan antibiyotiklerin, bu flora arasındaki ekolojik dengeyi bozduğu kabul edilir (Aycan, 2016; Yarsan, 2014).

1.2.3.4. Farmakolojik Etki

Gıda değeri olan hayvanlarda farmakolojik yönden etkin maddelerin uygulanması sonrası, bu maddelerin vücuttan uzaklaştırılmaları ve tüketicinin yönüyle gıdalarda risksiz miktara inebilmeleri için belirli bir süre geçmesi gerekir. İşte kesim öncesi bekletme süresi olarak da ifade edilen bu süre dolmadan hayvanların kesilmesi ve bu hayvanlardan elde edilen gıdaların da tüketicisine bağlı olarak, kalıntı halinde alınan bu farmakolojik yönden etkin maddeler, son tüketicilerde istenmeyen etkilere yol açabilir. Bu duruma ilişkin 1990 yılında Fransa’da klenbuterol kullanılan ve kesim öncesi bekletme süresine dikkat edilmeden kesilen hayvanlardan elde edilen gıdaların tüketicisine bağlı olarak gelişen 22 zehirlenme vakası en önemli rneği oluşturur (Aycan, 2016; Pulce ve ark., 1991).

1.2.3.5. Özel Zehirli Zararlı Etkiler (Karsinojen Etki)

Bu bakımdan önem taşıyan maddeler arasında aristoloşiya türleri; bazı ağrı kesiciler, sülfonamidler ve pestisidler; imidazol bileşikler; kloramfenikol; kolşisin ve nitrofurantoinler yer alır (Aycan, 2016; Kaya ve nsal, 2013; Yarsan, 2014).

1.2.3.6. Gıda Endüstrisi zerindeki Etkiler

Gıda endüstrisi yönüyle gerek etlerde ve gerekse sütte bulunabilecek olan antibiyotik kalıntısı teknolojik olarak kaliteli ürün oluşmasına engel oluşturur ve böylelikle de ciddi ekonomik kayıplara yol açar (Aycan, 2016; Yarsan, 2014).

1.2.4. Kalıntı ile İlgili Bazı Terimler

1.2.4.1. Kabul Edilebilir Günlük Alım (KGA) Miktarı

Bu terim, tüketicilerin sağlığına herhangi bir olumsuz etkisi olmaksızın, kalıntı halinde yaşam boyunca günlük olarak alınabilecek olan gıda veya kimyasal madde miktarını tanımlar. Başka bir deyişle, herhangi bir ilaç veya kimyasal maddenin kalıntı bakımından KGA değeri; tüketiciyi tehlikeye atmadan, günlük olarak gıda ile alınabilir en yüksek miktardır (Kaya, 2014).

1.2.4.2. Maksimum Kalıntı Limiti

Gıdalardaki ilaç kalıntılarının kontrolünün olduğu tüm ülkelerde, yasal düzenlemeler ve buna ilişkin uygulanacak yaptırımlar, belirlenen maksimum kalıntı limiti (MKL) değerlerine göre işler. Bu değer; ilaç veya kimyasal maddelerin, insanlar ve hayvanlar tarafından tüketilen gıdalarda bulunmasına izin verilen en yüksek değerini ifade eder. Ülkemizde; 07.03.2017 tarih ve 30000 sayılı Resmî Gazete’de yayınlanan “Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Kaynaklı Gıdalarda Veteriner İlaçları Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliği” ile; antibiyotiklerin hayvansal kaynaklı gıdalardaki MKL (Çizelge 1.2) değerleri belirlenmiştir (Kaya, 2014; TGK, 2017).

Çizelge 1.2. Antibiyotiklerin keçi sütündeki MKL değerleri (TGK, 2017).

Antibiyotik	MKL Değeri (ppb)
Amoksisilin	4
Ampisilin	4
Benzilpenisilin	4
Danofloksasin	30
Dihidrostreptomisin	200
Dikloksasilin	30
Enrofloksasin (enrofloksasin ve siprofloksasin toplamı)	100
Eritromisin	40
Flumekuin	50
Gentamisin	100

Kanamisin	150
Kloksasilin	30
Klortetrasiklin	100
Kolistin	50
Linkomisin	150
Nafsillin	30
Neomisin	1500
Oksasilin	30
Oksitetrasiklin	100
Penetamat	4
Sefazolin	50
Seftiofur	100
Spektinomisin	200
Streptomisin	200
Sülfonamidler	100
Tetrasiklin	100
Tiamfenikol	50
Tilmikosin	50
Tilozin	50
Trimetopim	50

1.2.5. Sütte Antibiyotik Kalıntısı Belirlemede Kullanılan Analiz Yöntemleri

Bilimsel çalışmaların değerlendirilmesinde, toksikolojik bulguların doğru yorumlanmasında ve rutin çalışmalarda analitik verilerin güvenilir olması bir gerekliliktir. Çünkü bilimsel çalışmalarda güvenilir sonuçların elde edilmesi, yanlış yorumlama yapılmasına ve böylelikle de hatalı sonuçların ortaya çıkmasına yol açar. Bu hataların tespit edilmemesi durumunda da, bilim camiasında belirli bir alanda yapılan araştırmalardaki genel bilgilerde farklılıkların oluşmasına ve bilgi kirliliğine sebep olur. Klinikteki rutin çalışmalarda elde edilecek yanlış sonuçlar, hastanın yanlış tedavisine yol açabilecekken; adli vakalarda yanlış sonuçların kullanılması da; mahkemede itiraz edilmediği takdirde, haksız hukuki sonuçlara yol açacaktır. Tüm bu hususlar dikkate alındığında, yüksek kaliteli ve güvenilir analitik verilerin önemi küçümsenemez niteliktedir (Şen, 2013).

Yem ve gıdalarda bulunan antibiyotiklerin varlığını kontrol etmek için çok sayıda yöntem geliştirilmiştir. Dört ana başlıkta toplanan bu yöntemlerin güvenilirliği, analiz sürelerinin kısalığı ve maliyetleri birbirlerine göre farklılıklar içerir (Akman, 2005; Şen, 2013);

1. Bakteriyel üremeyi engelleyen mikrobiyolojik yaklaşımlar
2. Biyosensörler
3. İmmunokimyasal teknikler
4. Kromatografik yöntemler

Sütte antibiyotikleri belirlemek için kullanılan mikrobiyolojik yöntemler, mikroorganizmaların üremesinin engellenmesi esasına dayanır. Numunede antibiyotik olmadığına organizma üreyerek ya agar ortamını bulandırır ya da asit oluşumu nedeniyle renk değiştirerek gözle belirlenebilir bir hale gelir. Bir antibiyotik veya başka bir inhibitörün varlığında mikroorganizmanın üremesi gerçekleşmez ve inhibisyon alanı veya renk değişimi oluşmaz. Biyosensörler ve immunokimyasal teknikler, daha çok beta-laktam antibiyotiklerin belirlenmesi için alternatif yöntemler olarak reseptör proteinlerin kullanılması temeline dayanır. Beta-laktamlara özel reseptör proteinleri veya penisilin bağlayan proteinler, beta-laktamları belirlemek için geliştirilen bazı yöntemlerde başarıyla kullanılmışlardır. Ayrıca, mikrobiyolojik yöntemlerden daha hızlı sonuç verdikleri de belirtilmiştir. Kromatografik analizler gibi fizikokimyasal yöntemler de analitlerin kimyasal yapısı ve moleküler özelliklerinin farklı olması nedeniyle ayrılması ve moleküle özgü bir şekilde verdikleri sinyallerin özel bir dedektörle ölçülmesi esasına dayanır. Moleküler yapıları birbirine benzeyen bileşikler arasında da ayırımı sağlayabilirler ve birden çok analitin birlikte belirlenmesine izin verirler (Boultif, 2015; Kafalı, 2008; Şen, 2013).

Kromatografik yöntemler, mobil ve sabit fazlar arasında kütle transferini içeren ayırma teknikleri olarak tanımlanır. Sıvı kromatografisi, 1900'lü yılların başında keşfedilmesine rağmen, 1960'lara kadar ancak kalıntı analiz yöntemlerinin geliştirilmesi için yoğun bir kullanım alanı bulmuştur. Yüksek basınçlı sıvı

kromatografi (HPLC), sıvı fazdaki çözünür kimyasalın bileşenlerine hızlı ve kolay bir şekilde ayrılabilirdiği çok hassas bir yöntemdir (Şen, 2013).

Süt örneklerinden muhtemel bir antibiyotik kalıntısını belirlemede, karşılaşılabilecek 4 ana sorun bulunur. Bunlar:

1. Hem ilaç ana maddesi hem de vücutta oluşan metabolitleri, büyük bileşiklerdir. Vücuda alınan antibiyotikler, burada uğradıkları biyotransformasyon ile çeşitli metabolitlere dönüşür. Bazen bu metabolitler, ana üründen daha zehirli etkiye sahip olabilir ve hayvansal gıdalarda da uzun süre kalabilir.

2. Her antibiyotik, farklı bir kimyasal özelliğe sahiptir.

3. Sütte çok düşük yoğunluklarda, genellikle de ppb düzeyinde görülürler.

4. Süt, matriks olarak kompleks bir yapıya sahiptir. İçerik yönünden proteince zengin olması, bu yapılara bazı antibiyotiklerin kolaylıkla bağlanabilmelerine olanak sağlar (Avcı, 2010; Samanidou ve Nisyrion, 2008).

1.3. Metot Validasyonu ve İlgili Validasyon Parametreleri

Validasyon, analiz yönteminin ilgili performans kriterlerine uygunluk durumunun belirlenmesi için, yöntem parametrelerinin incelendiği bir geçerlilik çalışmasıdır (Yılmaz, 2021).

Geri kazanım ve doğruluk; özgünlük ve seçicilik; doğrusallık ve ölçüm aralığı; duyarlılık (gözlenebilirlik sınırı ve ölçülebilirlik sınırı); kesinlik metot validasyonunun belirlenmesinde performans ölçütleri olarak kabul edilir (Botsoglou ve Fletouris, 2000; Şenyuva ve Gilbert, 2006).

Bir yöntemle yapılan ölçümün sonuçları birçok faktöre bağlıdır. Validasyon sırasında elde edilen sonuç sayı ile ifade edilmeli, bu sonucun elde edilmesinde olası hata kaynakları ve bu hataların sonuca etkisi belirtilmelidir. Sağlıklı bir analitik

sonuç elde etmek için yöntemin farklı numunelerle en az üç kez tekrarlanması gerekir. Bir veya iki analizle elde edilen sonucun gerçeği ne kadar yansıttığını tahmin etmek imkânsız değilse de oldukça zordur (Akdağ, 2004; Akdağ, 2006; Akdağ, 2021; Demir, 2009; Şenyuva ve Gilbert, 2006).

1.3.1. Özgünlük ve Seçicilik

Özgünlük, bulunması muhtemel diğer bileşenlerin (parçalanma ürünleri, ortam bileşenleri vb.) varlığında, istenen analiti açıkça gözlemlene yeteneğidir. Belirlenecek maddelerin analiz sonuçları ortamda bulunan diğer maddelerden etkilenmemelidir.

Seçicilik, birden fazla analite karşı duyarlı metotlarda kullanılır. Bir analitik metot, girişim yapan başkaca bileşenlerin varlığı ve bilinen yan ürünlerin bulunduğu durumlarda da istenilen analiti ayırt edebilme yeteneğine sahip olmalıdır (Akdağ, 2021; ICH, 2005).

1.3.2. Doğruluk

Analitik bir çalışmanın doğruluğu, bilinen gerçek değer veya bilinen referans değer ile bulunan değer arasındaki yakınlığı ifade eder. Yani yöntemin doğruluğu yöntem tarafından toplanan test sonuçlarına ve gerçek değere dayanır. Kesinliğin gerçek değeri çeşitli yollarla elde edilebilir. İlk yol; yöntemin sonuçlarını, yerleşik yöntemlerden birinin sonuçları ile karşılaştırmaktır. İkinci yolda ise; doğruluk, bilinen derişimlere sahip bir numunenin analiz edilmesiyle ispatlanır (Ertaş ve Kayalı, 2005; ICH, 2005; Şen, 2013; Yılmaz, 2021).

1.3.3. Bağıl Hata

Laboratuvarlarda analitik kimyagerler tarafından elde edilen sonuçların doğruluğu belirli yöntemlerle tahmin edilebilir. Analistin elde ettiği sonuç sayılarla ifade edilmeli, bu sonucun elde edilmesinde olası hata kaynakları ve bu hataların sonuca etkisi belirtilmelidir. Ölçümler sonucunda elde edilen sayısal değerler, ancak ölçüm hatalarıyla birlikte verildiği takdirde anlamlıdır. Hata (bias) gerçek değer ile ölçülen değer arasındaki farktır. Deneysel prosedürlerde doğruluğu ve kesinliği etkileyen iki tür analitik hata vardır; bunlar sistematik ve rastgele hatalardır (Altınışık, 2005; Demir, 2009; Güngör, 2008; Ozansoy, 2011; Şen, 2013).

Sistematik hata (bias); laboratuvar analizinin hiçbir aşamasında farkında olmadan düzenli olarak yapılan hatadır. Daha sonraki analiz adımlarında bu hata katlanarak ortaya çıkar. Tüm sonuçların çok yüksek veya tam tersi çok düşük olmasına yol açar. Çalışan veya ekipmandan kaynaklanır. Sabit hata ve oransal hata olmak üzere iki tiptir. Analiz sonucunun doğruluğunu etkilerler. Bu hatalara kullanılan ölçüm aletleri, kişisel yetersizlikler, deneyde izlenen yöntem ve dış etkenler neden olur. Bu tür hatalar her zaman sonucu bir şekilde etkiler. Sistematik hatalar, test yöntemi değiştirilerek, daha hassas ölçü aletleri kullanılarak veya deney sonucunda gerekli düzeltmeler yapılarak ortadan kaldırılabilir. Sistematik hatadan faydalanarak da uygulama yakınlığının yüzdesi hesaplanır (Altınışık, 2005; Kafalı, 2008; Ozansoy, 2011; Şen, 2013; Yılmaz, 2021).

Rastgele hatalar ise; düzeltilemeyen ve kontrol edilemeyen birçok değişkene bağlı olan hatalardır. Çalışan ve ekipman kaynaklı hatalardır. İyi bir çalışma tekniği ile minimize edilebilir; ancak tamamen ortadan kaldırılamazlar. Analizin kesinliğine etki ederler ve standart sapmanın büyük olmasına yol açarlar. Örneklem grubu 30'un üzerinde ($n > 30$) ise, hataların birbirlerini götüreceği ve sonuçlar üzerine pek yansımayaacağı kabul edilir (Altınışık, 2005; Yılmaz, 2021).

1.3.4. Kesinlik

Yöntemin kesinliği, herhangi bir değerin tekrarlanabilirliği veya bireysel testlerin sonuçlarının yakınlık derecesini ifade eder. Aynı şartlar altında birden fazla örnekten elde edilen ölçümlerin arasındaki yakınlıktır. Kesinliği 4 ana faktör (zaman, kalibrasyon, çalışan ve ekipman) etkiler. Kesinlik; tekrarlanabilirlik, orta kesinlik ve yeniden üretilebilirlik şeklinde üç düzeyde değerlendirilir (Ertaş ve Kayalı, 2005; ICH, 2005; Şen, 2016; Yılmaz, 2021).

Tekrarlanabilirlik, aynı kişi tarafından kısa bir süre içinde, aynı koşullar altında, belirli sabit bir numune yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen bir dizi operasyon doğruluğu olarak tanımlanır. Tekrarlanabilirlik, bir laboratuvarında bir cihaz ve bir analit kullanılarak kısa sürede sağlanır. Ara kesinlik; ICH tarafından ölçü sürecindeki uzun vadeli değişiklik olarak tanımlanır. Farklı günlerde, farklı analizciler veya aynı tipte farklı cihazlar kullanılarak ölçülebilen değerlerdir. Tekrar üretilebilirlik ise; laboratuvarlar arasındaki farklılığı gösteren bir değerdir ve laboratuvarlar arasındaki kesinlik olarak ifade edilir (Akdağ, 2021; Altınsoy, 2010; Ertaş ve Kayalı, 2005; ICH, 2005; Şen, 2013; Yılmaz, 2021).

1.3.5. Tayin Sınırı (Limit of Dedection, LOD) ve Ölçüm Sınırı (Limit of Quantification, LOQ)

Bir analitik prosedürün tayin sınırı, örnekteki analitin tespit edilebilen en düşük miktarıdır ve gerçek matriks örnek kullanılarak, hesaplanmalıdır. LOD, tespit edilebilen, ama hesaplamada kullanılmayan en düşük derişimdir. Bir analitik prosedürün ölçüm sınırı, örnekteki analitin nicel olarak tespit edilebildiği en düşük miktarıdır. Yöntemde belirtilen çalışma koşulları altında, kabul edilebilir doğruluk ve kesinlik değerlerinde belirlenen en küçük derişimdir (Akdağ, 2021; Shabir, 2003; Şen, 2013; Yılmaz, 2021).

1.3.6. Doğrusallık

Bir analitik prosedürün doğrusallığı, test sonuçlarının, örnekteki analitin derişimi ile doğru orantılı olmasıdır. Çizilen grafikte noktalar düz bir çizgi üzerinde uzanmalıdır. Korelasyon katsayısı, eğim ve kesişim doğrusallığı veren parametrelerdir. Bir dizi standart kullanarak yapılan ölçüm sonuçlarıyla çizilen ölçümleme eğrisi aynı zamanda doğrusallığın sınırlarını belirlemek için kullanılır. Yöntemin sınırlamaları; yöntemin doğruluğu, kesinliği ve doğrusallığı kullanılarak belirlenen en düşük ve en yüksek değerler arasındaki süreçtir (Altınışık, 2005; Altınsoy, 2010; Demir, 2009; Şen, 2013; Yılmaz, 2021).

1.3.7. Çalışma Aralığı

Bir analitik prosedürün aralığı, numunedeki analitin en alt ve en üst derişim arasındaki aralığı ifade eder. Analitik prosedür uygun doğrusallık, doğruluk ve kesinlik seviyesine sahip olmalıdır (Şen, 2013).

1.4. Çalışmanın Amacı ve Önemi

Hayvanlarda çeşitli amaçlar için kullanılan ilaçlar; hatalı ve bilinçsiz kullanılmaları sebebiyle, hayvansal ürünlerde kalıntı bırakarak gerek insan sağlığını olumsuz yönde etkilemekte, gerekse ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Türkiye’de Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından kurulan “Ulusal Kalıntı İzleme Programı” ile hayvansal gıdalarda, antibakteriyel ilaçlar da dahil olmak üzere, ilaç ve kimyasal maddeler taranmaktadır. Bu program kapsamında süt ürünlerinde ağırlık daha ziyade inek sütüne verilmektedir. Program kapsamında diğer hayvan sütleri ise tek ana başlık altında değerlendirilir ve analiz edilen numune sayısı da yetersizdir. Türkiye’de özellikle son yıllarda keçi sütü ve ürünlerine olan ilginin artması ve bu alandaki ürünlerin daha da yaygınlaşması sebebiyle, keçi sütü ve ürünlerinin tüketimi de artmıştır. Gerek keçi sütünün anne sütüne en yakın süt olması gerekse faydalarına

(daha az alerjen olması, sindirilebilirliğinin daha yüksek olması gibi) yönelik yapılan makalelerin sayısının artması, bu ilgi artışına kaynak oluşturmuştur. Kalıntı yönüyle değerlendirildiğinde ve özellikle antibiyotik kalıntılarının önemi de göz önüne alındığında; günümüzde tüketime sunulan keçi sütlerinde antibiyotik kalıntısı yönüyle bir saha taraması ve tarama sonuçlarına göre olası risk değerlendirilmesinin yapılması halk sağlığına yönelik önemli katkı sağlayacaktır. Hem bu alandaki bilgilerin güncellenmesi hem de keçi sütlerinde antibiyotik kalıntı varlığının değerlendirilmesine yönelik eksikliğin giderilmesi ile mevcut literatüre katkı sağlanması yönüyle çalışma özgün bir değer taşımaktadır.

Çalışmada, Ankara, Kırıkkale ve Çankırı illerinden toplanan çiğ keçi sütlerinde bazı antibiyotiklerin varlığının belirlenmesi ve halk sağlığına yönelik bir risk durumunun olup olmadığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla da özellikle besin değeri taşıyan hayvanlarda en sık kullanılan beş ana grup antibiyotik içerisinde birer örnek seçilmiştir.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Kimyasal Malzemeler

- Metanol (Merck)
- Amonyum dihidrogen fosfat (Merck)
- Asetonitril (Merck)
- Sodyum klorür (Merck)
- Standartlar (Sigma) - (Enrofloksasin; Sülfametoksazol; Tilosin tartarat; Benzil penisilin prokain; Oksitetrasiklin HCL)
- Ultra saf su

2.2. Laboratuvar Araçları

- Mikropipet
- Plastik santrifüj tüpü (15 ml)
- Vida kapaklı cam şişe (1,5 ml)
- Naylon filtre (0,45 µm)
- Plastik Pastör pipeti,
- Enjektör
- PH metre (HANNA Instruments HI 2211)
- Santrifüj (NF 815),
- Ultrasonik banyo (Probetec)
- Vorteks (Heidolph),
- Hassas terazi (ATX 224, Shimadzu)

2.3. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi Aparatları

- DAD dedektör (SPD-M20A, Shimadzu),
- Auto sampler (SIL-20AC HT, Shimadzu),

- HPLC cihazı (LC-20AD, Shimadzu)
- Kolon (HPLC Column, INTERSIL ODS4, 5µm 4,6×250 mm)
- Degasser (DGU-20A5).

2.4. Örneklerin Toplanması

Çalışmada; Ankara, Çankırı ve Kırıkkale illerinde keçi yetiştiriciliği yapan üreticilere ait keçi çiğ süt toplama tanklarından (veya toplama kaplarından) 2019 yılı içerisinde 2 defa (keçilerin kuzulama zamanına göre; Mart ve Eylül ayları tercih edilmiştir) numuneler alındı. Bu bağlamda olacak şekilde, her ilden 5 farklı işletmeden ve her işletmeden de 5 farklı numune, Ulusal Kalıntı İzleme Planına uygun olarak (UKİP, 2018); 500 ml miktarında çiğ keçi sütü sızdırmaz, tek kullanımlık cam kaplara alındı (Şekil 2.1.). Alınan numuneler etiketlenerek, üreticiye ve numuneye ilişkin gerekli bilgiler kayıt altına alındı. Numuneler soğuk zincir altında laboratuvara getirildi ve analizleri yapılncaya kadar -20°C'de muhafaza edildi.

2.5. Süt Örneklerin Analizi

15'lik santrifüj tüpüne 2 ml süt konarak üzerine proteinlerin denatürasyonunu sağlamak amacıyla 5ml asetonyril eklenerek 1 dakika vortekste karıştırıldı. Daha sonra 0,25 g NaCl eklenerek 1 dakika vortekste karıştırıldı. Ultrasonik banyoda 5 dakika homojenizasyon sonrası 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj (3000 rpm) edildi. Ardından 0,45 µm'lik naylon filtreden geçirilerek 50 µl'si sisteme uygulandı (Helio ve ark., 2007; Yu ve ark., 2011).

2.6. Mobil Faz

Antibiyotik kantitatif tayinleri HPLC-DAD dedektörde gerçekleştirildi (Helio ve ark., 2007).

Analiz için hazırlanan standartlar ve numuneler cihaza 50 µL miktarda enjekte edildi. Yöntemde hareketli faz olarak seçilen metanol, asetonitril ve amonyum dihidrojen fosfat çözeltileri Çizelge 2.1.'de gösterilen programa göre cihaza tanımlandı.

Çizelge 2.1. Gradyan koşulları.

Zaman (dk)	Mobil faz A (%)	Mobil faz B (%)
0,01	70	30
3	65	35
5	45	55
6,5	45	55
9	0	100
10	0	100
11	65	35
12,5	65	35
14	70	30

HPLC parametreleri Çizelge 2.2.'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. HPLC parametreleri.

Kolon	Intersil ODS4 (250 x 4,60 mm, 5µ)
Kolon sıcaklığı	40°C
Mobil faz	Mobil Faz A: Metan: asetonitril: su (1:3:1) Mobil Faz B: NH ₄ PO ₄ 20mM pH: 2
Akış hızı	0,8 ml/dak
Dalga boyu	280 nm
Dedektör	DAD
Enjeksiyon hacmi	50 µl
Analiz süresi	16 dk

2.7. Standartların Hazırlanması

Standartların stok çözeltileri, ayrı olarak 10 mg standart maddenin 10 ml bidistile su içerisinde çözdürülmesiyle hazırlandı. Stok çözeltilerinden, 20; 40; 80; 100; 200; 400; 800; 1000 µg/L çalışma çözeltileri hazırlandı.

2.8. Yöntemin Validasyonu

Doğruluk, doğrusallık ve çalışma aralığı, seçicilik ve kesinlik, tayin sınırı ve ölçüm sınırı yöntemin validasyonunun belirlenmesinde tercih edilen performans ölçütleri olarak kabul edildi (Avcı, 2010; Botsoglou ve Fletouris, 2000, Şenyuva ve Gilbert, 2006).

2.8.1. Doğruluk

Çalışmada doğruluk yüzde geri kazanım hesaplanarak gösterildi (Çizelge 3.1.). Geri kazanımın hesaplanmasına yönelik kullanılan formül aşağıda belirtilmiştir.

Bulunan derişim

$$\% \text{ Geri Kazanım} = \frac{\text{Bulunan derişim}}{\text{Gerçek derişim}} \times 100$$

Gerçek derişim

2.8.2. Doğrusallık ve Çalışma Aralığı

Standartların 20; 40; 80; 100; 200; 400; 800; 1000 µg/L konsantrasyonlarda hazırlanarak cihaza uygulandı ve kalibrasyon eğrisi çizildi (Çizelge 3.2, Şekil .3.1. – Şekil 3.5.).

2.8.3. Seçicilik ve Kesinlik

Elde edilen kromatogramlar incelenmiş boş örnekte antibiyotik standartları ile yakın alıkonma süresinde pik olmadığı gözlemlenmiştir (Şekil 3.7.).

Çalışmanın kesinliği, tekrarlanabilirlik hesaplaması ile kanıtlanmıştır. Yöntemin tekrarlanabilirlik çalışması için 3 farklı konsantrasyonu çalışma yapılmıştır.

Çalışma 3 farklı günde tekrarlanmış % Relatif standart sapma (RSD) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Çizelge 3.3. – Çizelge 3.5.).

$$\% \text{ RSD} = \frac{\text{Ortalama Standart Sapma}}{\text{Ortalama Değer}} \times 100$$

2.8.4. Tayin Sınırı ve Ölçüm Sınırı

LOD ve LOQ değerlerinin hesaplanmasına ilişkin formüller aşağıda belirtilmiştir (Çizelge 3.6.).

$$\text{LOD} = \frac{3,3 \times \text{Standart Sapma}}{\text{Eğim(S/N)}}$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \text{Standart Sapma}}{\text{Eğim(S/N)}}$$

3. BULGULAR

3.1. Doğruluk

Geri kazanım değerleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Geri kazanım değerleri.

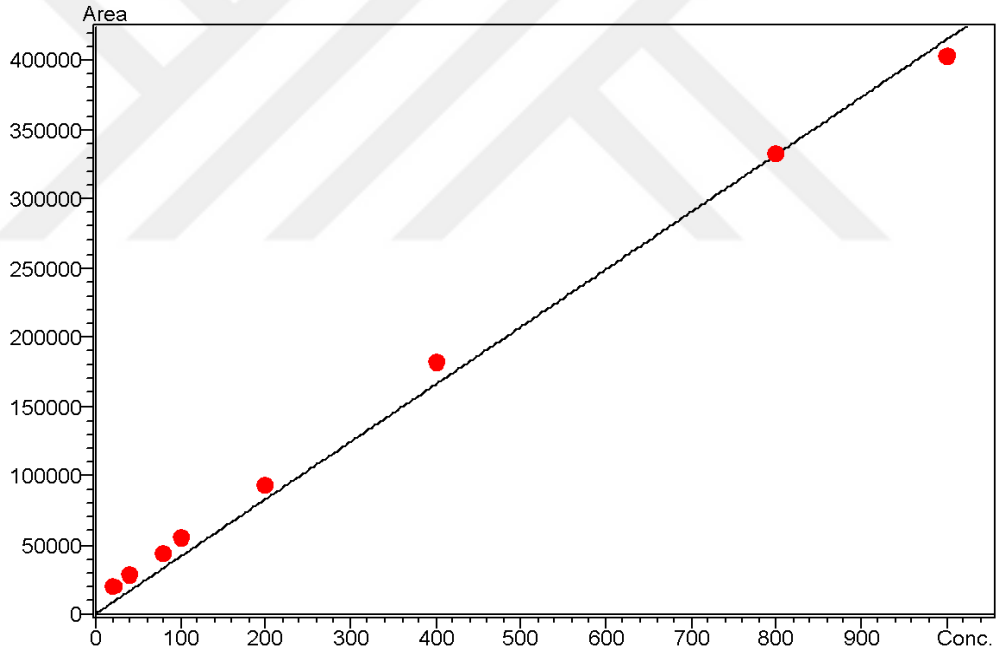
Etken Madde	Doz ($\mu\text{g/L}$)	Geri kazanım (%)	Ortalama (%)
Enrofloksasin	40	92,17	96,98
	80	100,49	
	100	98,28	
Sulfameksazol	40	88,63	94,08
	80	91,74	
	100	102,45	
Tilosin	40	92,92	106,95
	80	91,4	
	100	104,63	
Penisilin G	40	107,57	102,71
	80	96,61	
	100	103,96	
Oksitetrasiklin	40	118,5	105,24
	80	99,35	
	100	97,74	

3.2. Doğrusallık ve Çalışma Aralığı

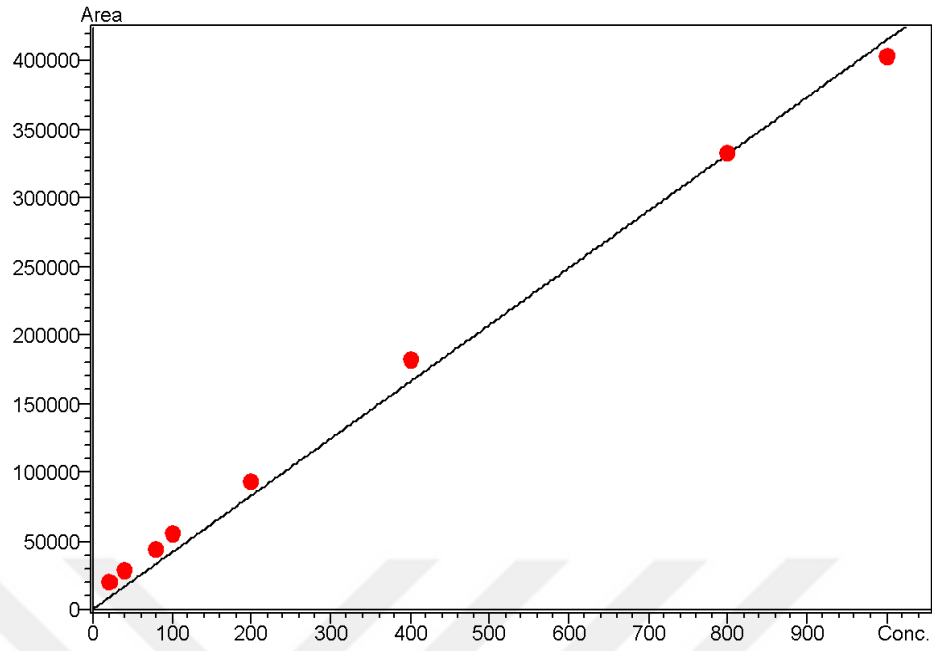
Kalibrasyon eğrisi için 20-1000 $\mu\text{g/L}$ derişim aralığında doğrusal bulundu. korelasyon katsayıları ve doğru denklemi Çizelge 3.2'de gösterilmiştir. Kalibrasyon eğrileri Şekil 3.1- 3.5'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Korelasyon katsayıları.

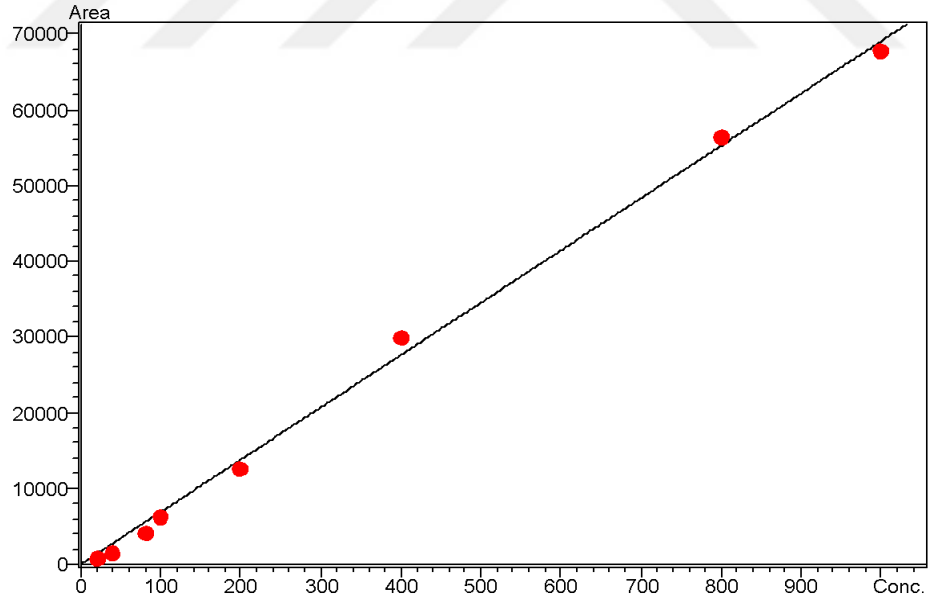
Standartlar	R ²	Doğru denklemi
Enrofloksasin	0,998	Y=306912x+11790,2
Sulfameksazol	0,999	Y=523358x+18609,3
Tilosin	0,999	Y=73973x-930,373
Penisilin G	0,998	Y=100681x+24013,3
Oksitetrasiklin	0,998	Y = 121810x-4075,2



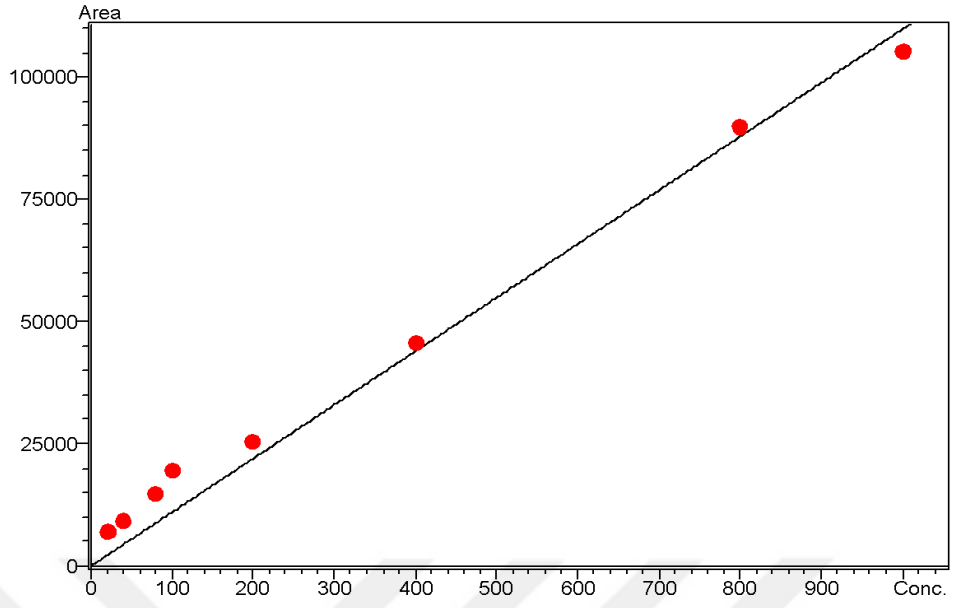
Şekil 3.1. Enrofloksasin kalibrasyon eğrisi.



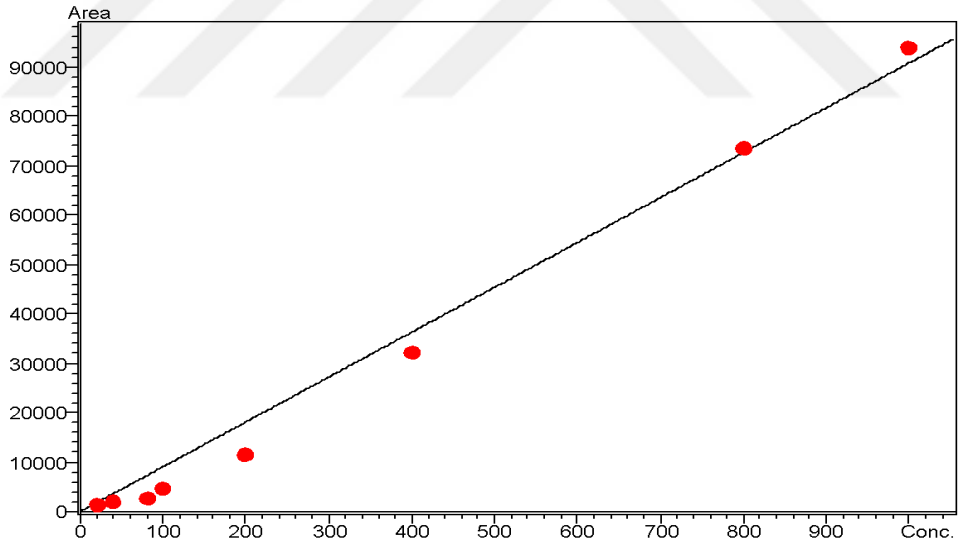
Şekil 3.2. Sülfametoksazol kalibrasyon eğrisi.



Şekil 3.3. Tilorin kalibrasyon eğrisi.



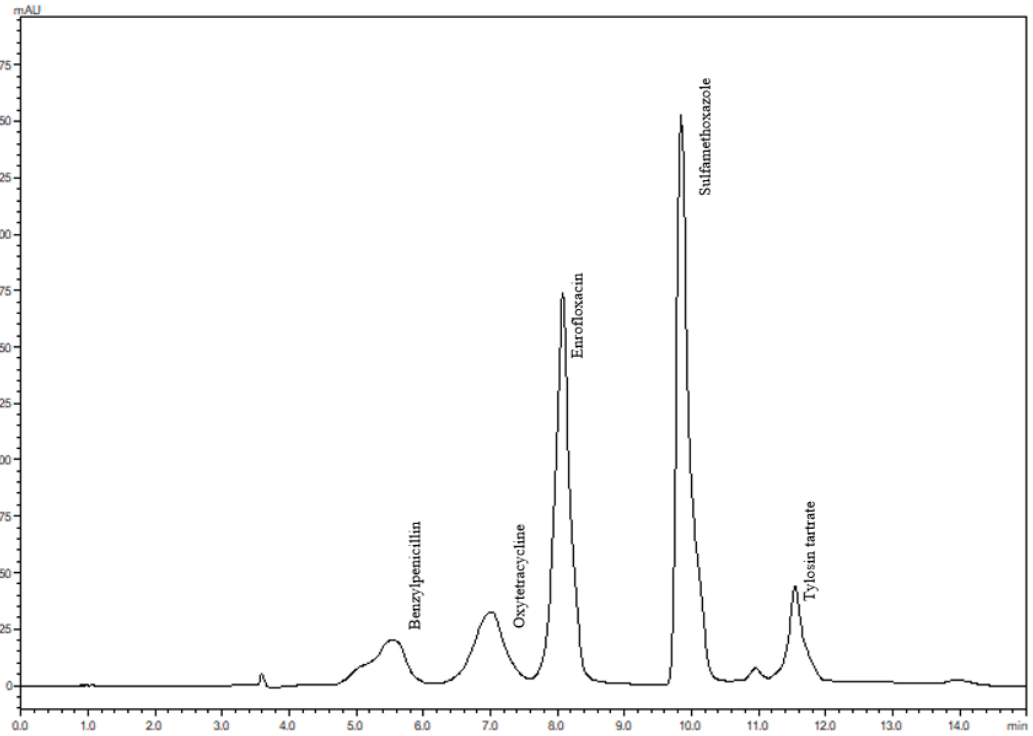
Şekil 3.4. Penisilin G kalibrasyon eğrisi.



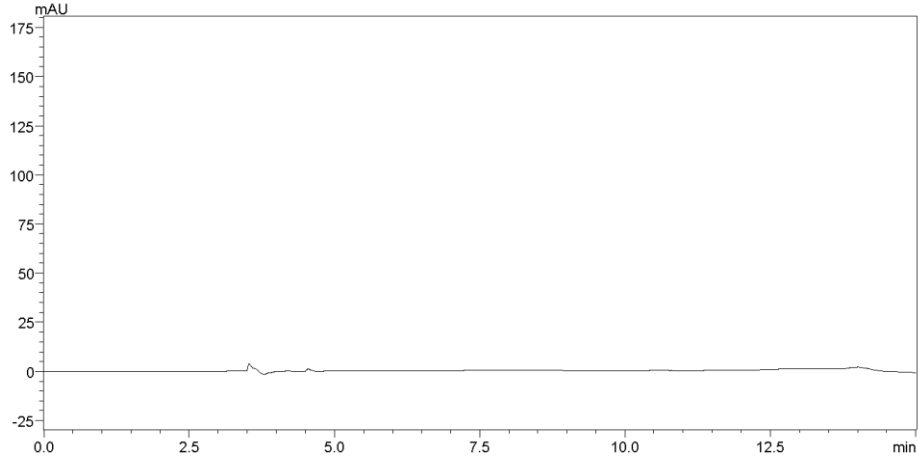
Şekil 3.5. Oksitetrasiklin HCL kalibrasyon eğrisi.

3.3. Seçicilik ve Kesinlik

Yöntemin seçiciliğini, boş örnekler ve standart ile yüklü örneklere ait kromatogramlar gösterir. Antibiyotik standartlarının alıkonma zamanları enrofloksasin için (7,9 dk), sülfametoksazol için (9,7 dk), tilosin için (11,5 dk), penisilin G için (5,4 dk) ve oksitetrasiklin HCL için (7,3 dk) olarak tespit edilmiş olup; aynı alıkonma zamanında herhangi bir bileşiğe ait pike belirlenmediği görülmüştür. Her bir etken madde, geri kalan diğer etken maddeler için birer internal standart olarak değerlendirilmiştir. Bu sebeple farklı bir etken madde kullanımına gerek duyulmamıştır.



Şekil 3.6. Antibiyotik standartlarının kromatogramı.



Şekil 3.7. Boş örnek kromatogram.

Yöntemin tekrarlanabilirlik çalışma sonuçları, % geri kazanım ve % RSD değerleri Çizelge 3.3, 3.4 ve 3.5'te göstermiştir.

Çizelge 3.3. Yöntemin tekrarlanabilirliği, birinci gün.

1. gün / Etken Madde	Doz (µg/L)	Tekrar sayısı	Ortalama değer	% Geri Kazanım	Standart Sapma	% RSD	% Bağlı Hata
Enrofloksasin	40	3	36,52	91,3	0,29	0,79	8,7
	80	3	79,64	99,55	0,65	0,81	0,06
	100	3	97,95	97,95	0,27	0,27	2,05
Sulfameksazol	40	3	35,35	88,37	0,26	0,73	11,63
	80	3	73,39	91,73	0,002	0,002	8,26
	100	3	102,43	102,43	0,03	0,02	-2,43
Tilosin	40	3	37,5	93,75	0,62	1,65	6,25
	80	3	71,83	89,78	1,11	1,54	10,21
	100	3	105,77	105,77	1,18	1,11	-5,77
Penisilin G	40	3	43,66	109,15	0,54	1,23	-9,15
	80	3	76,9	96,12	2,01	2,61	3,87
	100	3	104,64	104,64	1,54	1,47	-4,64
Oksitetrasiklin	40	3	45,75	114,37	2,43	5,31	-14,37
	80	3	81,30	101,62	2,04	2,5	-1,62
	100	3	98,38	98,38	1,10	1,11	1,62

Çizelge 3.4. Yöntemin tekrarlanabilirliği, ikinci gün.

2. gün / Etken Madde	Doz (µg/L)	Tekrar sayısı	Ortalama değer	% Geri Kazanım	Standart sapma	% RSD	% Bağlı Hata
Enrofloksasin	40	3	35,93	89,82	0,67	1,86	10,17
	80	3	75	93,75	1,22	1,62	6,25
	100	3	97,74	97,74	0,55	0,56	2,26
Sulfameksazol	40	3	34,92	87,3	0,42	1,2	12,7
	80	3	72,15	90,18	0,04	0,05	9,81
	100	3	102,43	102,43	0,04	0,03	-2,43
Tilosin	40	3	39	97,5	2,97	7,61	2,5
	80	3	78,77	98,46	3,27	4,15	1,53
	100	3	105,03	105,03	2,36	2,24	-5,03
Penisilin G	40	3	43,23	108,07	1,22	2,82	-8,07
	80	3	74,33	92,91	1,30	1,74	7,08
	100	3	106,09	106,09	2	1,88	-6,09
Oksitetrasiklin	40	3	43,99	109,97	2,62	5,95	-9,97
	80	3	77,92	97,4	1,62	2,07	2,6
	100	3	99,84	99,84	2,71	2,71	0,16

Çizelge 3.5. Yöntemin tekrarlanabilirliği, üçüncü gün.

3. gün / Etken Madde	Doz (µg/L)	Tekrar sayısı	Ortalama değer	Geri Kazanım	Standart sapma	% RSD	Bağlı Hata
Enrofloksasin	40	3	38,29	95,72	1,46	3,81	4,27
	80	3	76,04	95,05	0,73	0,96	4,95
	100	3	102,25	102,25	2,75	2,68	-2,25
Sulfameksazol	40	3	35,05	87,65	0,24	0,68	12,37
	80	3	72,15	90,18	0,04	0,33	9,81
	100	3	102,74	102,74	0,30	0,29	-2,74
Tilosin	40	3	37,45	93,62	0,29	0,77	6,37
	80	3	77,84	97,3	3,21	4,12	2,7
	100	3	104,92	104,92	0,61	0,58	-4,92
Penisilin G	40	3	41,24	103,1	1,16	2,81	-3,1
	80	3	82,89	103,6	1,92	2,31	-3,6
	100	3	111,35	111,35	1,56	1,4	-11,35
Oksitetrasiklin	40	3	42,95	107,37	1,26	2,93	-7,37
	80	3	76,70	95,87	1,21	1,57	4,12
	100	3	96,03	96,03	0,32	0,33	3,97

3.4. Tayin Sınırı ve Ölçüm Sınırı

LOD ve LOQ sonuçları Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.6. LOD ve LOQ değerleri.

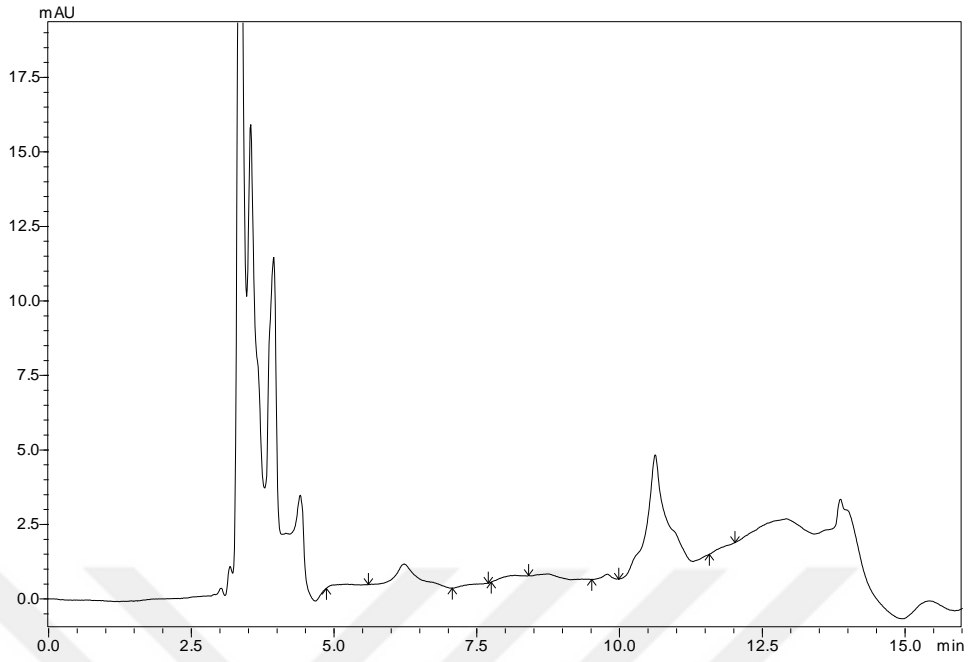
Antibiyotik	LOD Değeri (µg/L)	LOQ Değeri (µg/L)
Enrofloksasin	1,47	4,47
Sulfameksazol	0,8	2,44
Tylosin	7,51	22,78
Penisilin G	2,69	8,16
Oksitritrasiklin	8,89	26,96

3.5. Keçi sütünde Antibiyotik Varlığının Belirlenmesi

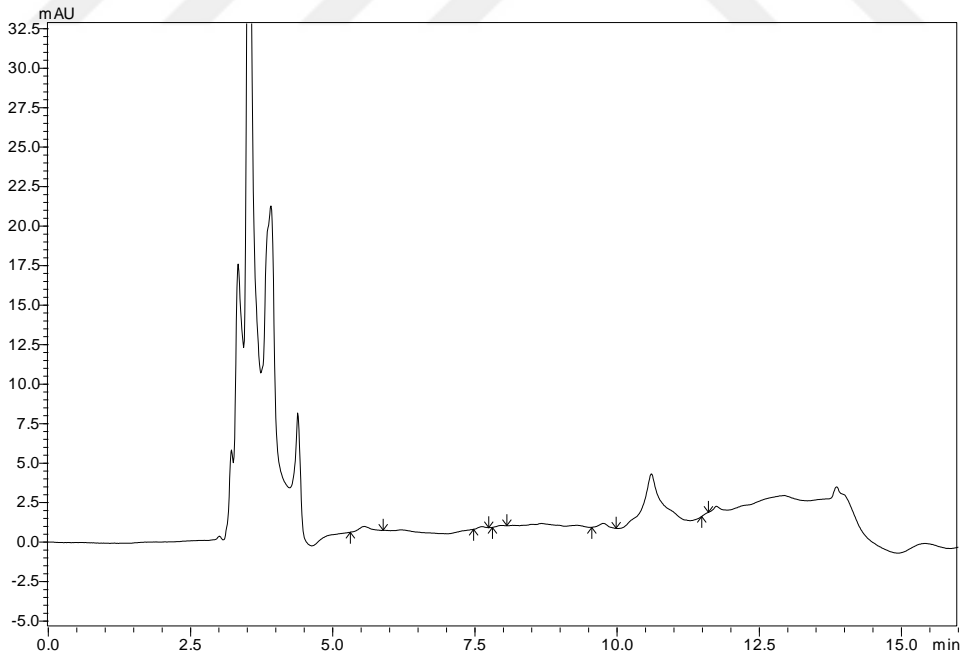
Yöntemin validasyon parametreleri yapıldıktan sonra, Ankara, Çankırı ve Kırıkkale illerinden toplanan 150 adet keçi sütü örneğinin analizine geçilmiştir.

Yapılan analiz sonuçlarına göre, örneklerde analizi gerçekleştirilen etken maddeler yönüyle saptanabilir herhangi bir antibiyotik varlığı belirlenmemiştir.

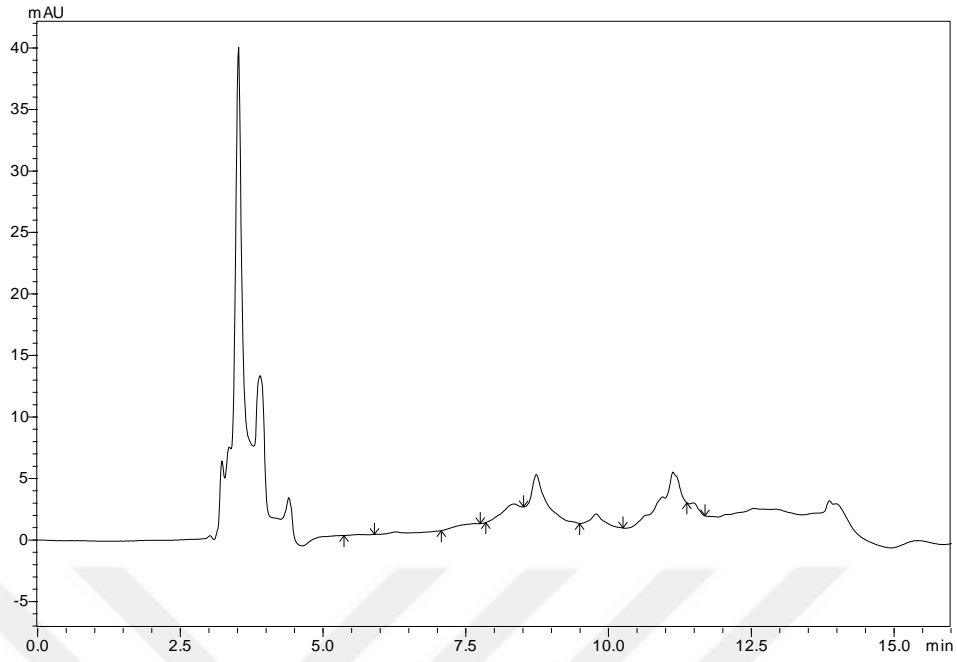
Analizi yapılan numuneleri temsilen her il ve her dönem için birer kromatogram görüntüsü Şekil 3.8 – Şekil 3.13'de verilmiştir.



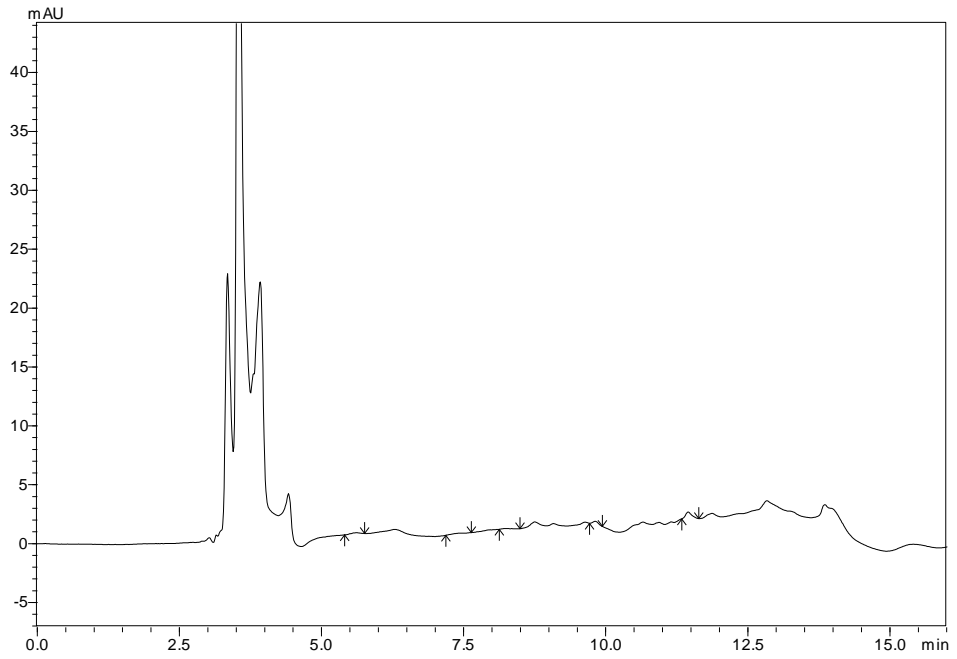
Şekil 3.8. Ankara 1. dönem süt numunesi kromatogram örneği (S.06.KI.020 numaralı numune).



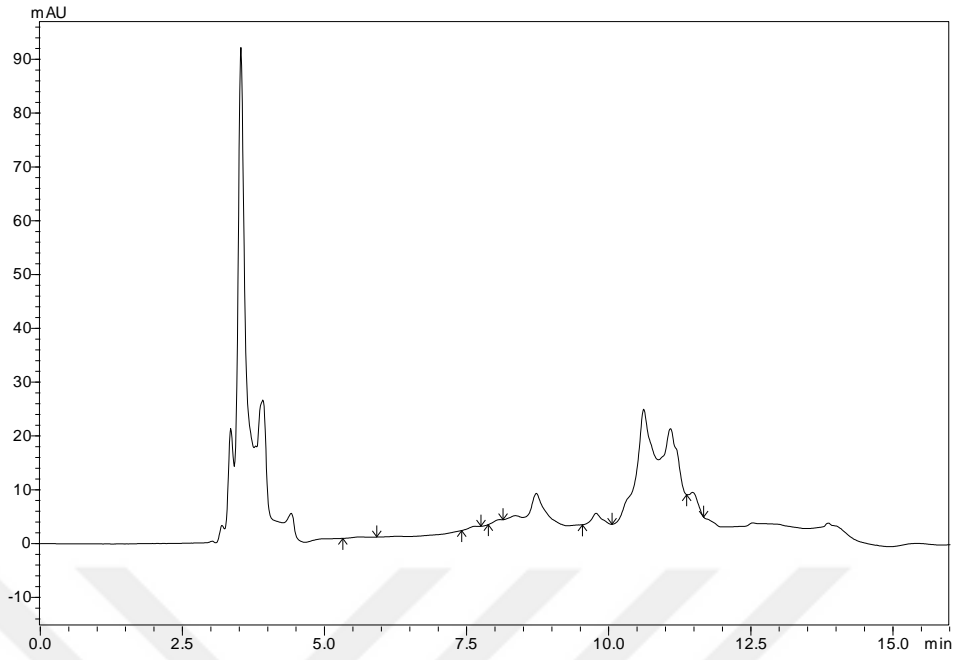
Şekil 3.9. Ankara 2. dönem süt numunesi kromatogram örneği (S.06.KI.095 numaralı numune).



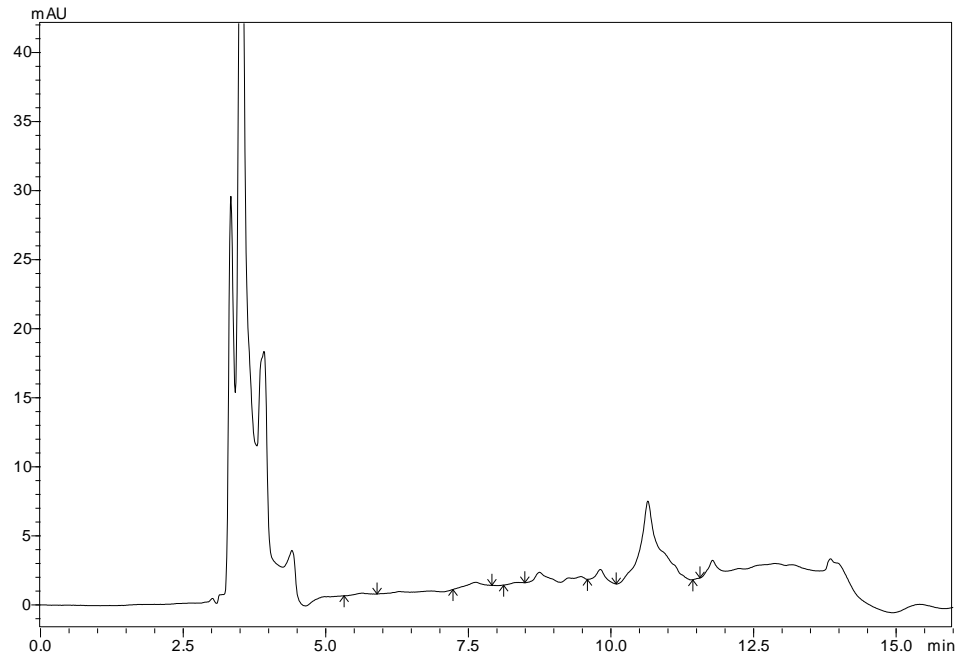
Şekil 3.10. Kırıkkale 1. dönem süt numunesi kromatogram örneği (S.71.KI.075 numaralı numune).



Şekil 3.11. Kırıkkale 2. dönem süt numunesi kromatogram örneği (S.71.KI.107 numaralı numune).



Şekil 3.12. Çankırı 1. dönem süt numunesi kromatogram örneği (S.18.KI.60 numaralı numune).



Şekil 3.13. Çankırı 2. dönem süt numunesi kromatogram örneği (S.18.KI.130 numaralı numune).

4. TARTIŞMA

Hayvanlarda çeşitli amaçlar için kullanılan ilaçlar, hatalı ve bilinçsiz kullanılmaları sebebiyle hayvansal ürünlerde kalıntı bırakarak gerek insan sağlığını olumsuz yönde etkilemekte gerekse ekonomik kayıplara neden olabilmektedir. Türkiye’de Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından oluşturulan “Ulusal Kalıntı İzleme Programı” ile hayvansal gıdalarda, antibakteriyel ilaçlar da dahil olmak üzere, ilaç ve kimyasal maddeler taranmaktadır.

Karmaşık yapılı matrikslerde (Örneğin süt gibi) ilaç analizlerinin gerçekleştirilmesindeki en önemli basamaklardan biri ekstraksiyon diye de ifade edilebilen özütleme işlemidir. Bu bağlamda sıvı-sıvı özütleme işlemi, aslında birçok analitik yöntemde öngörülen çok yönlü bir örnek hazırlama tekniğidir. Bu tekniğin kullanımı yaygın olmakla birlikte; çok aşamalı ve sıkıcı olması, oldukça zaman alması gibi dezavantajlara da sahiptir. Yine bu işlemde oldukça fazla miktarda zehirli ve pahalı kimyasalların kullanılması ve sonuçta çevre kirliliğine de yol açabilme potansiyelinin olduğu belirtilmiştir (Pena-Pereira ve ark., 2009; Psillakis ve Kalogerakis, 2003; Şen, 2013). Gerçekleştirilen bu çalışmada ise gerek kullanılan kimyasal maddelerin az sayıda olması ve gerekse bu kimyasalların diğer yöntemlere göre daha az miktarda kullanılması, çalışmanın bir avantajı olarak değerlendirilebilir.

Bu çalışmada keçi sütlerinde antibiyotik kalıntılarının varlığı araştırıldı ve halk sağlığı açısından önemi değerlendirildi. Ayrıca çalışmada uygulanan metoda ilişkin veriler ve analiz sonuçları benzer yöntem ve sonuçlarla karşılaştırıldı.

Yapılan çalışmada, Ankara, Kırıkkale ve Çankırı illerinden toplanan çiğ keçi sütlerinde, enrofloksasin, sülfametoksazol, tilosin, penisilin G ve oksitetrasiklin’in kalıntı varlığı HPLC metodu ile araştırıldı. Yapılan analizler neticesinde, toplam 150 süt numunesi içerisinde tespit edilebilir miktarda bir antibiyotik kalıntısı belirlenemedi. Keçilerin hastalıklara karşı, sütünden yararlanan diğer hayvanlara göre daha dirençli olduğu ve bu sebeple de yine keçilerde antibiyotik kullanımının, diğer hayvanlara göre daha düşük seviyede olduğu düşünüldüğünde, elde edilen bu sonuca ulaşıldığı öngörülmektedir.

Sütte antibiyotiklerin saptanmasına yönelik çeşitli yöntemler kullanılır. Bu yöntemler arasında intertest yöntemi, ince tabaka kromatografisi, bazı test kitlerinin kullanılması, agar difüzyon metodu, ELISA ve HPLC gibi yöntemler daha sık tercih edilir. Bu yöntemlerin kullanıldığı çalışmalarda genellikle; önce intertest, test kitleri gibi ön tanı yöntemleri ile antibiyotik taraması yapılır ve pozitif görülen numunelerin agar disk difüzyon, HPLC gibi yöntemlerle teyidi gerçekleştirilir. Dokuzlu ve Tayar (2001), Bursa ve çevresinden toplanan 150 çiğ süt numunesi üzerinde, önce intertest yöntemi ve ardından disk difüzyon yöntemini kullanarak yaptıkları bir çalışmada, 27 süt örneğinde penisilin, 11 örnekte tetrasiklin ve 2 örnekte de kloramfenikol kalıntısı tespit etmişlerdir. HPLC yöntemi kullanılarak yapılan bu çalışma ile Dokuzlu ve Tayar (2001)'in çalışması arasındaki sonuçların farklılığı, hem numune toplanan bölgelerin ve numunelerin toplanma zamanlarının farklı olması hem de kullanılan metodların farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca analizlerin gerçekleştirildiği dönemler de göz önünde bulundurulduğunda, aradaki zaman farkına bağlı olarak, yetiştiricilere yönelik kalıntı konusunda bir duyarlılığın gelişmiş olabileceği de düşünülmektedir.

Oruç ve Sonal (2005), tarafından Bursa'da 25 çiğ süt numunesinde HPLC yöntemi ile oksitetrasiklin, penisilin G ve sülfadimidin kalıntısı aranmış ve örneklerde herhangi bir antibiyotik kalıntısına rastlanmadığı bildirilmiştir. Bu çalışma ile yapılan çalışma sonuçları benzerlik göstermektedir.

Geçer (2006), tarafından Ankara piyasasında satılan çeşitli firmalara ait üretim tarihleri ve seri numaraları farklı 100 UHT ve 100 pastörize süt olmak üzere toplam 200 numunede oksitetrasiklin, tetrasiklin, klortetrasiklin ve penisilin kalıntıları kalitatif olarak Charm Rosa System test kitleriyle ölçülmüş ve pastörize süt örneklerinin % 26'sında, UHT süt örneklerinin de % 10'unda olacak şekilde, toplamda 36 süt numunesinde antibiyotik varlığının tespit edildiği bildirilmiştir. Antibiyotik varlığı tespit edilen 36 örnekten, HPLC analizi sonrasında klortetrasiklin dışında tespit edilen numunelerin MKL değerlerini aştığı belirtilmiştir. Bu çalışma ile yapılan çalışma sonuçları arasındaki farklılığın, analizlerin gerçekleştirildiği dönemlerin farklı olmasından ve yine aradaki zaman farkına bağlı olarak, yetiştiricilere yönelik kalıntı konusunda bir duyarlılığın gelişmiş olabileceğinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Ardıç ve Durmaz (2006), tarafından Şanlıurfa bölgesinde 300 süt örneği üzerinde beta-laktam antibiyotikler yönüyle agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak yapılan kalitatif bir çalışmada; örneklerden 64'ünde beta-laktam varlığının belirlendiği belirtilmiştir. Bu çalışma ile yapılan çalışma sonuçları arasındaki farklılığın, hem numune toplanan bölgelerin ve numunelerin toplanma zamanlarının farklı olması hem de kullanılan metodların farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Chung ve ark. (2009), Kore'de topladıkları 269 adet inek ve keçi sütü numunesinde bazı sülfonamid ve kinolon grubuna ait ilaç kalıntılarının varlığı belirlenmek amacıyla yaptıkları bir çalışmada, mikrobiyolojik testler ile ön incelemede 21 numuneyi şüpheli olarak belirlemiş ve HPLC metodu ile de bu numunelerden 4'ünde kalıntı (3'ü sülfonamid, 1'i kinolon grubu) tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışma ile yapılan çalışma sonuçları arasındaki farklılığın, numune toplanan ülkelerin ve numunelerin toplanma zamanlarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Benzer şekilde ön tarama amacıyla ince tabaka kromatografi yönteminin kullanıldığı ve ardından yine agar disk difüzyon yönteminin kullanıldığı, Karaçal ve Kaya (2010), tarafından yapılan diğer bir çalışmada da; Ankara piyasasında satılan 120'si çiğ süt ve 120'si pastörize süt olmak üzere toplam 240 örnek üzerinde ampisilin, amoksisilin, danofloksasin, eritromisin, florfenikol ve kloksasilin kalıntısı araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, 1 adet pastörize süt örneğinde 300 µg/L miktarında ampisilin kalıntısının bulunduğu bildirilmiştir. Toplam 240 numune üzerinde yapılan analizlerde 1 numunede antibiyotik bulunması yönüyle değerlendirildiğinde; bu çalışma ile yapılan çalışma sonuçlarının benzerlik gösterdiği ve bu durumun analiz yapılan bölgelerin benzer ve birbirine yakın bölgeler olmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Ergin Kaya ve Filazi (2010), tarafından Ankara'da satılan 240 adet çiğ süt ve pastörize süt örneğinde penisilin G, oksitetrasiklin, gentamisin, streptomisin ve neomisin açısından İTK/Biyootografi yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada; 1 adet pastörize süt örneğinde 150,4 µg/L miktarında oksitetrasiklin, yine 1 adet pastörize süt örneğinde 33,5 µg/L miktarında penisilin G ve 1 adet çiğ süt örneğinde

de 7688,4 µg/L miktarında neomisin tespit edildiği bildirilmiştir. Toplam 240 numune üzerinde yapılan analizlerde sadece 3 numunede antibiyotik kalıntısı bulunması yönüyle değerlendirildiğinde; bu çalışma sonuçları ile yapılan çalışmanın sonuçlarının benzerlik gösterdiği ve bu durumun analiz yapılan bölgelerin benzer ve birbirine yakın bölgeler olmasına bağlı olabileceği kanaatine varılmıştır.

Nina ve ark. (2011), tarafından Hırvatistan'da 3 yıl boyunca toplam 1259 çiğ süt numunesinde ön taramada mikrobiyal testlerin ve immunoassay yönteminin kullanıldığı bir çalışmada, içerisinde kloramfenikolün de bulunduğu bazı antibiyotiklerin varlığı araştırılmış ve 37 numunede antibiyotik kalıntısı tespit edildiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada pozitif bulunan örneklerin HPLC yöntemiyle yapılan doğrulamasında ise sadece 3 örneğin izin verilen değerlerin üzerinde (12 µg/kg penisilin, 19 µg/kg amoksisilin ve 1671 µg/kg tetrasiklin) olduğu sonucunu belirtmişlerdir. Bu çalışma sonuçları ile yapılan çalışma sonuçları HPLC yönteminden elde edilen sonuçlar düşünüldüğünde benzer olarak değerlendirilebilir. Bu noktada yöntemin duyarlılığı ve güvenilirliğinin, diğer yöntemlere göre daha kaliteli olduğunun teyidi bakımından önemli olduğu düşünülmektedir.

Navratilova ve ark. (2011), tarafından Çekya'nın Güney Moravya ve Vysočina Bölgelerinden alınan 150 adet çiğ inek sütü örneği üzerinde HPLC yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada; örneklerin %87,3'ünde florokinolon kalıntısı tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile yapılan çalışma arasındaki farkın; analiz yapılan örneklerin farklı ülkelerden ve farklı zamanlarda toplanmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Seğmenoğlu (2014), tarafından yapılan bir çalışmada; 289 adet çiğ inek sütünde makrolid antibiyotikler yönüyle Charm II yöntemi kullanılarak kalıntı analizleri gerçekleştirilmiş ve analiz edilen numunelerde aranılan makrolidlerin varlığına rastlanılmadığı bildirilmiştir. Bu çalışma ile yapılan çalışmanın benzerlik gösterdiği ve bu durumun analiz tarihlerinin yakın olmasına bağlı olduğu ve yetiştiriciler üzerinde kalıntıya bağlı olarak belirli bir bilincin oluşmuş olabileceğine bağlı geliştiği düşünülmektedir.

Boultif (2015), tarafından Cezayir'de 120 süt örneği üzerinde ELISA ve HPLC yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada, numunelerde oksitetrasiklin ve

penisilin G varlığı araştırılmış ve çalışma sonucunda 22 adet süt numunesinde oksitetrasiklin kalıntısına rastlandığı bildirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile yapılan çalışma arasındaki farkın; analiz yapılan örneklerin farklı ülkelerden ve farklı zamanlarda toplanmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Aycan (2016), tarafından Afyonkarahisar bölgesinden toplanan 80 süt örneği üzerinde beta-laktam antibiyotik kalıntısı yönüyle ELISA yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada; 42 numunede kalıntı tespit edilmiş, bu numunelerden de 7'sinin izin verilen değerlerin üzerinde bulunduğunu bildirmiştir. Bu çalışma ile yapılan çalışma sonuçları arasındaki farklılığın, hem numune toplanan bölgelerin ve numunelerin toplanma zamanlarının farklı olması hem de kullanılan metodların farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Günümüzde gıda değeri olan hayvanlarda kullanımı yasaklanmış olan kloramfenikol üzerinde, geçmiş dönemler içerisinde yapılmış olan farklı çalışmalar da mevcuttur. Şanlı ve ark. (1991), tarafından 89 süt örneği üzerinde yapılan bir çalışmada, İTK/Biyootografik yöntemle yapılan analizler neticesinde 6 numunede (0,8 ile 1,6 ppm arasında değişen miktarlarda) kloramfenikol kalıntısının tespit edildiği bildirilmiştir. Demet ve ark. (1992), tarafından yapılan bir çalışmada HPLC yöntemi kullanılmış ve toplam 61 adet süt örneğinden 28'inde kloramfenikol kalıntısı bulunduğu bildirilmiştir. Önal ve ark. (1993), tarafından yapılan diğer bir çalışmada da Ankara ve çevresinden toplanan 444 adet çiğ ve pastörize süt numunesinde intertest ve üçlü plak testi kullanılmış ve intertest ile yapılan analizler neticesinde 78 numunede kloramfenikol kalıntısı tespit edildiği bildirilmiştir. Yine aynı çalışmada üçlü plak yöntemi ile yapılan analizler neticesinde ise 24 numunede kloramfenikol kalıntısının tespit edilebildiği belirtilmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, öncelikle çiğ keçi sütünde enrofloksasin, sülfametoksazol, tilosin, penisilin G ve oksitritrasiklin için test yönteminin uyarlanması ve validasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada validasyonu sağlanan yöntemin, örneklerin analizine yönelik olarak hızlı, kolay, pratik ve güvenilir olması, kullanılan kimyasal maddelerin minimum miktarda tutulması, böylelikle de hem kısa zamanda hem de daha düşük maliyetle, fazla sayıda örneğin analiz edilmesine imkân sağlaması, seçilen yöntemin avantajları olarak değerlendirilmiştir. Yine tek bir özütleme işlemini takiben yine tek bir uygulama ile beş farklı etken maddenin analiz edilebilmesi de yöntemin kullanılabilirliğini ön plana çıkarmaktadır. Bu yönüyle değerlendirildiğinde, özellikle kalıntı izleme çalışmalarına yönelik analizlerin hızlı bir şekilde gerçekleştirilebilmesi ve böylelikle de yaygınlaştırılmasına olanak sağlaması açısından da faydalı olacağı düşünülmektedir.

Hayvansal kaynaklı gıdalarda oluşabilecek ilaç kalıntısının nedenleri irdelendiğinde, genellikle ilaçların kullanımı sonrası kesim öncesi bekletme süresine uyulmaması ön plana çıkar. Özellikle bu noktada ilaç kullanan yetiştiricilerin bilgilendirilmesi oldukça önemlidir. Yine hayvansal ürünlerde ilaç kalıntılarının korunmak için; veteriner hekimler, hayvan yetiştiricileri, veteriner ilaçları üreten ve satışı yapılan noktalar, kamu kurum ve kuruluşları ile elbette tüketicilere yönelik bilinçlendirme etkinlikleri de önemlidir. Yine bu noktada gerek akılcı ilaç kullanımı ve gerekse koruyucu hekimlik ilkelerine riayet edilmesi ve özellikle reçeteli ilaç kullanımına uyulması bir gerekliliktir.

Veteriner hekim tedavi amacıyla kullanmış olduğu ilacın, besinlere geçen kalıntıları aracılığıyla insan sağlığına yönelik oluşturabileceği sakıncaları bilmesi gerekir. Yine bu noktada ayrıca hayvan sahibi veya yetiştiriciyi de konuya ilişkin olarak eğitmesi ve gerekli uyarıları yapması da önemlidir. Ayrıca hekim olarak, ilaç uyguladığı hayvanların besin üretiminde kullanılıp-kullanılmama durumunu konuyla ilgili kanun, yönetmelik, tüzük gibi düzenlemelere uygunluğu yönüyle de sürekli olarak izlemekle de yükümlüdür.

Hayvan yetiştiricileri ve besin maddesi üreticileri ve/veya hazırlayıcıları; ticaret ahlakı ve toplumsal değerler yönünden insan sağlığı üzerinde tehlikeli olmayacak, güvenli besin maddelerini üretmek zorunda olduklarının bilincinde olmalıdırlar. Kesim öncesi bekletme süresine uyulmamasının, kalıntıya yol açan en önemli sebep olduğu ve bu hususa özellikle dikkat etmeleri gerektiğini unutmamalıdırlar.

Gıda değeri olan hayvanlarda kullanılan ilaçları üreten veya hazırlayan ilaç firmaları; uygulama kılavuzlarında bu ilaçların, yararlı etkileri yanında, bilinçsizce kullanılmaları durumunda yol açabileceği sakıncalara da mutlaka değinmelidirler. Yine bu noktada firmalar, ilaçların dağıtım ve satış kanallarına riayet etmeli; tanıtım broşürleri ve toplantılarında meslek ahlakı ilkelerine dikkat etmelidirler.

Kalıntı ile ilgili sorumluluk sahibi olan kamu kurum veya kuruluşları ise, tüketiciler için halk sağlığı ve gıda güvenliğinin tam güvencesi olmalıdırlar. İlgili kurum veya kurumlar; ilaçların etkinliği ve güvenli kullanımı yanında, gıda güvenliği bakımından gerekli olan kalıntı izleme programları da dahil, kalıntıya yol açabilecek tüm uygulamalar ve uygulama hatalarının tespit edilmesi ve giderilmesi, konuyla doğrudan veya dolaylı olarak ilgili kişi/kurumların bilgilendirilmesi yönüyle politikalarını belirlemeli ve süratle uygulamaya koymalıdırlar.

Çalışma sonucunda elde edilen veriler ışığında; analizi yapılan bölgelerden alınan keçi sütlerinde belirtilen antibiyotikler yönüyle herhangi bir kalıntının tespit edilememiş olması; halk sağlığı yönüyle sevindirici bir gelişme olarak değerlendirilebilir. Bu sonuca ulaşılmasında; özellikle ulusal düzeyde yapılan kalıntı izleme programlarının ve yetiştiricilere yönelik kalıntının önemini vurgulandığı etkinliklerin, antibiyotik farkındalık haftası ve tek sağlık yaklaşımı altında uygulanan çalışma ve programların etkili olduğu kanısına varılmıştır. İlerleyen süreçlerde de bu tür etkinlik ve faaliyetlerin devam etmesi gerektiği ve kalıntı sorununun güncelliğini her daim koruyan, uluslar arası boyutu da bulunan bir konu olduğunun asla göz ardı edilmemesi gerekir. Her ne kadar ulusal kalıntı izleme programı çerçevesinde bu tür analizler gerçekleştirilse de; özellikle keçi sütü, manda sütü gibi daha az üretilen ancak önemi gün geçtikçe arttan, inek sütünden farklı süt numuneleri üzerinde yapılan analizlerin de sayısı mutlaka arttırılmalı veya bu yönde

yapılan çalışmalar desteklenmelidir. Yapılan bu çalışma ile de kayda değer bir oranda keçi sütü numunesi üzerinde çalışılmış ve çalışma sonucunda halk sağlığı yönüyle aranılan antibiyotikler açısından herhangi bir risk faktörü ile karşılaşılmamıştır.



ÖZET

Ankara, Kırıkkale ve Çankırı İllerinden Toplanan Çiğ Keçi Sütlerinde Bazı Antibiyotiklerin Varlığının Araştırılması

Gıda değeri olan hayvanlarda kullanılan antibiyotikler, halk sağlığı açısından gıdalarda kalıntı sorununa yol açabilir. Bu durum da insan sağlığı açısından önemli sorunlarına neden olabilir. Gıda değeri yönüyle önem taşıyan ürünlerden biri olan çiğ süt, eser miktarda da olsa antibiyotik içermesi muhtemel gıdalardan birisidir.

Bu çalışmada Ankara, Çankırı ve Kırıkkale’de satışı sunulan çiğ keçi sütü örneklerinde; hayvanlarda en sık kullanılan beş antibiyotik grubu içerisinde birer etken madde seçilmiş (enrofloksasin, sülfametoksazol, tilosin, penisilin G, oksitritrasiklin) ve bu maddelerin sütteki kalıntı seviyelerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Bu amaçla; bir yıl içerisinde ve iki farklı dönemde olacak şekilde, keçi sütü yetiştiricilerine ait işletmelerden 150 adet çiğ keçi sütü toplanmış ve HPLC yöntemi ile belirtilen antibiyotikler yönüyle analizleri gerçekleştirilmiştir.

Enrofloksasin, sülfametoksazol, tilosin, penisilin G ve oksitetrasiklin için alıkonulma zamanları sırasıyla 7,9; 9,7; 11,5; 5,4; 7,3 dk. olarak; LOD değerleri ise sırayla 1,47; 0,8; 7,51; 2,69; 8,89 µg/L ve LOQ değerleri ise sırasıyla 4,47; 2,44; 22,78; 8,16; 26,96 µg/L olarak bulunmuştur. Yapılan analizler sonucunda da keçi sütü numunelerinde herhangi bir antibiyotik kalıntısı tespit edilememiştir.

Keçilerin diğer süt veren hayvanlara göre hastalıklara direncinin daha yüksek olması, dolayısıyla da bu hayvanlarda antibiyotik kullanımının daha düşük olmasının bu sonuca ulaşılmasına sebep olduğu öngörülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Ankara, antibiyotik kalıntısı, Çankırı, HPLC, keçi sütü, Kırıkkale.

SUMMARY

Investigation of The Presence of Some Antibiotics in Raw Goat Milk Collected from Ankara, Kirikkale and Cankiri Provinces

Antibiotics used on animals with food value may cause residual problems in food in terms of public health. This situation can cause serious problems in terms of human health. Raw milk, which is one of the products that are important in terms of food value, is one of the foods that are likely to contain antibiotics, even in trace amounts.

In this study, raw goat's milk samples offered for sale in Ankara, Çankırı and Kırıkkale; One active ingredient was selected from the five most commonly used antibiotic groups in animals (enrofloxacin, sulfametoxazole, tilosin, penicillin G, oxytetracycline) and it was aimed to determine the residue levels of these substances in milk.

For this purpose; Within one year and in two different periods, 150 raw goat milks were collected from the enterprises belonging to goat milk breeders and analyzed in terms of antibiotics specified by HPLC method.

The retention times for enrofloxacin, sulfamethoxazole, tylosin, penicillin G and oxytetracycline were 7.9; 9.7; 11.5; 5.4; 7.3 min. aspect; LOD values are 1.47, respectively; 0.8; 7.51; 2.69; 8.89 $\mu\text{g/L}$ and LOQ values of 4.47, respectively; 2.44; 22.78; 8.16; It was found to be 26.96 $\mu\text{g/L}$, as a result of the analysis, no antibiotic residues were detected in the goat milk samples.

It is predicted that goats have a higher level of disease resistance than other milch animals, therefore, it is foreseen that the lower use of antibiotics in these animals leads to this result.

Keywords: Ankara, antibiotic residue, Cankiri, goat's milk, HPLC, Kirikkale.

KAYNAKLAR

- AKAN E, KINIK Ö (2015). Keçi sütü kalitesinde yeni gelişmelere bir bakış. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, **15**: 34-45.
- AKDAĞ İ (2004). Metot validasyonu, ölçüm belirsizliği ve önemi. TÜBİTAK Ulusal Metroloji Enstitüsü.
- AKDAĞ İ (2006). Metot validasyonu - ölçüm belirsizliği seminerleri ve eğitim Notları. İzmir.
- AKDAĞ İ (2021). Metot validasyonu ve önemi (5N+1K). Erişim Adresi: <https://docplayer.biz.tr/206281744-Metot-validasyonu-ve-onemi-5n-1k.html>. Erişim Tarihi: 20.06.2021.
- AKMAN A (2005). Polar formda monodispers partiküllerin sentezi ve destek materyali olarak kullanımı (Yüksek Lisans Tezi). Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı.
- ALTINIŞIK M (2005). Analitik ölçüm yöntemlerinin laboratuara kurulması ile ilgili hesaplamalar. Erişim Adresi: <https://www.mustafaaltinisik.org.uk/45-uzm-08.pdf>. Erişim Tarihi: 20.06.2021.
- ALTINSOY S (2010). Kinapril HCL ve hidroklorotiyazid'i birlikte içeren kombine farmasötik preparatlardan bu maddelerin aynı anda analizi için yeni kromatografik yöntem geliştirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ALTINTAŞ L (2015). Akılcı ilaç kullanımı. *Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni*, **11**: 5-6.
- ALTUN D, SARICI S (2017). Keçi sütü: bebek beslenmesinde ilk tercih mi olmalı? *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, **60**: 22-33.

- ANİTAŞ Ö, BİNGÖL S, MEVLİYAĞULLARI E (2018). Türkiye keçi sütü üretimi ve keçi sütünün özellikleri. Erişim Adresi: <https://www.ruminantbesleme.com/wp-content/uploads/2020/03/ozgul-keci-sutu.pdf>. Erişim Tarihi: 20.06.2021.
- ARDIÇ M, DURMAZ H (2006). Investigation of beta-lactam residues in unpacked milk consumed in Şanlıurfa. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimler Dergisi*, **1**: 74-77.
- AVCI T (2010). Sığırlara parenteral yolla uygulanan bazı makrolid grubu antibiyotiklerin sütteki seviyelerinin belirlenmesi (Doktora Tezi). Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- AYCAN E (2016). Afyonkarahisar bölgesinden toplanan çiğ sütlerde beta-laktam grubu antibiyotik kalıntı varlığının araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon.
- BOTSOĞLOU NA, FLETOURİS DJ (2000). Drug residues in food. pharmacology, food safety and analysis new drug residues in food. *Pharmacology Food Safety and Analysis*. New York, USA.
- BOULTIF L (2015). Détection et quantification des résidus de terramycine et de pénicilline dans le lait de vache par chromatographie liquide haute performance (HPLC). These Presentee En Vue De L'obtention Du Doctorat En Sciences.
- CHUNG HH, LEE JB, CHUNG YH, LEE KG (2009). Analysis of sulfonamide and quinolone antibiotic residues in Korean milk using microbial assays and high performance liquid chromatography. *Food Chemistry*, **113**: 297-301.
- ÇAKIR S (2008). Çukurova yöresinde toplanan sütlerde sentetik pretroid insektisid varlığının araştırılması (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- DEMET Ö, ACET A, TRAŞ B, BAŞ L, EĞİLMEZ İ (1992). Konya'da tüketime sunulan yumurtalarda kloramfenikol furazolidon ilaç kalıntılarının araştırılması. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **6**: 61-63.

DEMİR M (2009). Analitik verilerin değerlendirilmesi. Erişim Adresi: <http://web.adu.edu.tr/user/mdemir/K214/K21402/analitikverideğerlendirme090301.pdf>.

Erişim Tarihi: 20.06.2021.

DISERENS JM, RICHARD M, BECK A (1995). Recovery of penicillin and sulfamethazine from contaminated milk after spray drying. symposium on residue of antimicrobial drugs and other inhibitors in milk. Internatinal Dairy Federation. P: 149-150.

DOKUZLU C, TAYAR M (2001). Bursa ve çevresinde çiğ sütlerde antibiyotik varlığının belirlenmesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, **17**: 153-157.

ERGİN KAYA Ş, FİLAZİ A (2010). Determination of antibiotic residues in milk samples. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **16(Suppl-A)**: 31-35.

ERTAŞ Ö S, KAYALI A (2005). Analitik yöntem geçerliliğine genel bir bakış. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, **34**: 41-57.

GEÇER B (2006). Pastörize ve UHT sütlerde antibiyotik kalıntılarının HPLC yöntemi ile belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

GÜNGÖR M (2008). Klinik biyokimyada ölçüm belirsizliği (Uzmanlık Tezi). Sağlık Bakanlığı, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya ve Klinik Biyokimya Laboratuvarı.

HELIO A, MARTINS J, TEREZA A, KUSSUMI A, WANG D, LEBRE T (2007). A rapid method to determine antibiotic residues in milk using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **18**: 52-71.

ICH (2005). International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals For Human Use, ICH Harmonised Tripartite Guideline Validation of Analytical Procedures:Text and Methodology Q2(R1), Current Step.

- JENNESS R (1980). Composition and characteristics of goat milk: review 1968-1979. *Journal of Dairy Science*, **63**: 1605-1630.
- KAFALI H (2008). Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) kolon sonrası türevlendirme ile 7 adet sülfonamid tespitinin metot validasyonu (Yüksek Lisans Tezi). Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- KARAÇAL F (2004). Ankara piyasasında satılan sütlerde bazı antibiyotik kalıntıları (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- KARAÇAL F, KAYA S (2010). Ankara piyasasında satılan sütlerde bazı antibiyotik kalıntılarının ince tabaka kromatografisi ve biyootografik yöntemle saptanması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **16(2)**: 187-191.
- KATZUNG BG (1989). *Qinolones basic and clinical pharmacology*. Prentice-Hall International Limited, London. S: 607-609.
- KAYA S (2014). Veteriner Farmakoloji Cilt 1, Baskı 6. Editör: Prof.Dr. Sezai Kaya. Sayfa: viii + 492. ISBN: 978-9757774-75-7. Medisan Yayınevi, Ankara.
- KAYA S, BAYDAN E, YARSAN E (1998). Hayvan Dokularındaki Veteriner ilaç Kalıntılarında Pişirme ve Dondurma işlemlerinin Etkileri. *Türk Veteriner Hekimliği Dergisi*, **10**: 50.
- KAYA S, ÜNSAL A (2013). Antibiyotikler, besinlerdeki ilaç kalıntıları ve denetimi. Alınmıştır: Veteriner Uygulamalı Farmakoloji, Cilt 2, Baskı 5. Ed: S. Kaya, İ. Pirinçci, A. Bilgili. Medisan Yayınevi, Ankara.
- KAYAALP S O (1998). Tıbbi Farmakoloji, 1. Cilt, 8. Baskı. Hacettepe Taş Yayınları, Ankara, S: 248-254.
- KOŞUM N (2010). Her yönüyle keçi sütü. Erişim Adresi: <https://atafenblog.com/her-yonuyle-keci-sutu-haziran-2010/>. Erişim Tarihi: 20.06.2021.
- NAVRATILOVA P, BORKOVCOVA I, VYHNALKOVA J, VORLOVA L (2011). Fluoroquinolone residues in raw cow's milk. *Czech J Food Sci*, **29(6)**: 641-646.

- NINA B, BOZIKA K, IVANA V, GIAMPIERO S, LOREDANA A, MATKO B, NEVENKA R (2011). Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia. *Food Control*, **22**: 1941-1948.
- ORAL Ö (2002). Akılcı antibiyotik kullanımı ve erişkinde toplumdan edinilmiş enfeksiyonlar sempozyum dizisi. S: 23-38.
- ORUÇ H, SONAL S (2005). Determination of oxytetracycline, penicillin G and sulphadimidine residues in cow milks in Bursa. *Uludağ Univ J Fac Vet Med*, **24**: 11-13.
- OZANSOY A (2011). Ölçüm, ölçüm hataları ve anlamlı rakamlar. Erişim: <http://80.251.40.59/science.ankara.edu.tr/aozansoy/olcme.pdf>. Erişim Tarihi: 20.06.2021.
- ÖNAL A, AYDIN N, AYAZ Y, İŞCAN D, SAVAŞ N (1993). Süt ve etlerde bulunan bazı antibiyotiklerin çeşitli yöntemlerle saptanması. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Enstitüsü Dergisi*, **7**: 48-51.
- ÖNAL AR (2005). Trakya'da özel bir süt işleme tesisi tarafından değerlendirilen çiğ sütlerin somatik hücre sayısı ve bazı bileşenlerinin tespiti (Yüksek Lisans Tezi). Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- ÖZCAN T, ERBİL F, KURDAL E (1998). Sütün insan beslenmesindeki önemi. İçme Sütü Sempozyumu Tebliğler Kitabı, Tekirdağ. S: 31-41.
- PARK YW, HAENLEİN GFW (2006). Overview of milks of minor species. in: handbook of milk of non-bovine mammals. Park, Y.W. and G.F.W. Haenlein, (Eds). Blackwell Publishers. Ames, Iowa and Oxford, England. Pp. 3-10.
- PENA-PEREIRA F, LAVILLA I, BENDİCHO C (2009). Miniaturized preconcentration methods based on liquid-liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: a review. *Spectrochimica Acta Part B*, **64**: 1-15.
- PSILLAKIS E, KALOGERAKIS N (2003). Developments in liquid-phase microextraction. *TrAC Trend in Analytical Chemistry*, **22(9)**: 565-574.

- PULCE C, LAMAISON D, KECK G, BOSTVIRONNOIS C, NICOLAS J, DESCOTES J (1991). Collective human food poisoning by clenbuterol residues in veal liver. *Veterinary Human Toxicology*, **33**: 480-481.
- RAYNAL-LJUTOVAC K, LAGRIFFOUL G, PACCARD P, GUILLET I, CHILLARD Y (2008). Composition of goat and sheep milk products. An update. *Small Ruminant Research*, **79**: 57-72.
- SAMANIDOU V, NISYRIOU S (2008). Multi-residue methods for confirmatory determination of antibiotics in milk. *J Sep Sci*, **31**: 2068-2090.
- SERRATOSA J, BLASS A, RIGAU B, MONGRELL B, RIGAU T, TORTADES M, TOLOSA E, AGUILAR C, RIBO O (2006). Residues from veterinary medicinal products, growth promoters and performance enhancers in food-producing animals: a European Union Perspective. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*, **25**: 637-653.
- SEĞMENOĞLU MS (2014). Makrolit grubu bazı antibiyotiklerin sütte varlığının belirlenmesi. *AVKAE Dergisi*, **4**: 9-13.
- SHABIR GA (2003). Validation of High-performance Liquid Chromatography Methods for Pharmaceutical Analysis Understanding the Differences and Similarities Between Validation Requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. *Journal of chromatography A*, **987**: 57-66.
- ŞANLI Y, KAYA S, YAVUZ H, AYDIN N, AKAR F, DOĞAN A (1991). Süt örneklerinde kloramfenikol kalıntıları. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **38**: 402-416.
- ŞEN F (2013). İnek sütlerinde bazı penisilin kalıntılarının hplc yöntemiyle belirlenmesi (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

ŞENYUVA HZ, GILBERT J (2006). Metot geliştirme ve validasyonu için basit kullanım kılavuzu. ISBN 975-00884-0-9. Hacettepe Üniversitesi Hastaneler Basımevi. Ankara.

ŞENYUVA H, GILBERT J (2015). Hayvansal gıda maddelerinde veteriner ilaç kalıntılarının taranması. Erişim Adresi: <http://docplayer.biz.tr/3173220-Hayvansal-gida-maddelerinde-veteriner-ilackalintilarinin-taranmasi.html>. Erişim Tarihi: 20.06.2021.

TELLİ AE, DOĞRUER Y (2014). Keçi sütünde biyoaktif bileşenler. *Animal Health, Production and Hygiene*, **3(1)**: 264-271.

TEMAMOĞULLARI F, KAYA S (2010). Ankara piyasasında satılan sütlerde bazı antibiyotik kalıntılarının ince tabaka kromatografisi ve biyootografik yöntemle saptanması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **16**: 187-191.

TGK (2017). Türk Gıda Kodeksi hayvansal kökenli gıdalarda veteriner ilaçları maksimum kalıntı limitleri tebliğinde değişiklik yapılması hakkında tebliği. Resmi Gazete, 07.03.2017 – Sayı: 30000.

TÜİK (2020). Hayvansal üretim istatistikleri, 2019. Erişim Adresi: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Hayvansal-Uretim-Istatistikleri-2019-33873>. Erişim Tarihi: 02.02.2021.

UKİP (2018). Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Ulusal Kalıntı İzleme Planı. Türkiye.

YARALI E, ATAY O, GÖKDAL Ö, ÇETİNER Ş (2013). Keçi sütünün insan beslenmesi açısından önemi ve Türkiye’de ve dünyada keçi sütü üretimi (Yüksek Mühendislik Tezi). Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

YARSAN E (2014). Hayvancılıkta Bilinçli İlaç Kullanımı ve Hayvansal Gıdalarda Kalıntıların Önlenmesi. *Çiftlik Dergisi*. Erişim Adresi: <http://www.ciftlikdergisi.com.tr/hayvancilikta-bilncli-ilac-kullanimi-ve-hayvansal-gidalarda-kalintilarin-onlenmesi.html>. Erişim Tarihi: 20.06.2021.

YILMAZ A (2021). Kimyasal analizlerde metot validasyonu ve verifikasyonu.
Erişim Adresi: http://turklab.org/tr/TURKLAB_Rehber_01_Rev.2.pdf. Erişim
Tarihi: 20.06.2021.

YILMAZ ÖT, HIZLISOY H, ONMAZ NE, AL S, YILDIRIM Y, GÖNÜLALAN Z
(2018). Sütte antibiyotik kalıntı durumunun incelenmesi. *Erciyes Üniv Vet Fak
Derg*, **15(2)**: 169-178.

YU H, MU H, HU YM (2011). Determination of fluoroquinolones, sulfonamides,
and tetracyclines multiresidues simultaneously in porcine tissue by MSPD and
HPLC–DAD. *Journal of Pharmaceutical Anlysis*, **2(1)**: 76-81.

