

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ



**HATAY İLİNDEN TOPLANAN SIĞIR SÜTLERİNDE
ENROFLOKSASİN, DANOFLOKSASİN VE MARBOFLOKSASİN
KALINTISININ ARAŞTIRILMASI**

Ayşegül AKYILDIZ ÜNAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Erdiñç TÜRK

HATAY-2025

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ

**HATAY İLİNDEN TOPLANAN SIĞIR SÜTLERİNDE
ENROFLOKSASİN, DANOFLOKSASİN VE MARBOFLOKSASİN
KALINTISININ ARAŞTIRILMASI**

Ayşegül AKYILDIZ ÜNAL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Erdiñ TÜRK

HATAY-2025

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI

**HATAY İLİNDEN TOPLANAN SIĞIR SÜTLERİNDE
ENROFLOKSASİN, DANOFLOKSASİN VE MARBOFLOKSASİN
KALINTISININ ARAŞTIRILMASI**

Yüksek Lisans Tezi
Ayşegül AKYILDIZ ÜNAL

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından .../... /2025 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi: Jüri başkanı: Doç. Dr. Orhan ÇORUM

Üye : Doç. Dr. Erdiñ TÜRK.....

Üye : Doç. Dr. Devran COŞKUN

Bu tez, Enstitümüz Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu tezin yazılma süreci boyunca baŐta en değerli Őeyi -zamanını- ve emeğini veren sevgili hocam Erdiń TÜRK'e, ölçümlerimizde laboratuvarını kullanmamızda bize yardım eden Orhan ÇORUM hocamıza, deprem öncesi ve sonrası maddi manevi desteklerini esirgemeyen annem, babam ve kardeşlerime, sevgisi ve desteğiyle hep yanımda olan eşime teşekkürü borç bilirim.

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (HMKÜ-BAP, No: 23.YL.008) tarafından desteklenmiŐtir. Desteklerinden dolayı HMKÜ-BAP'a teşekkür ederim.

Ayşegül AKYILDIZ ÜNAL

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
GRAFİK DİZİNİ	IX
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
ÖZET	XI
ABSTRACT.....	XII
1. GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Antibiyotikler	3
2.1.1. Antibiyotik Gruplarının Sınıflandırılması.....	3
2.1.2. Florokinolonlar.....	3
2.1.2.1. Enrofloksasin.....	6
2.1.2.2. Danofloksasin.....	7
2.1.2.3. Marbofloksasin.....	8
2.2. Hayvansal Gıdalarda Antibiyotik Kalıntısı.....	9
2.3. Sütte Antibiyotik Kalıntısının Sonuçları	13
2.3.1.Antibiyotik Kalıntısının Halk Sağlığına Etkileri.....	13
2.3.1.1. Alerjik Etki.....	14
2.3.1.2. Antibiyotik Direnci	14
2.3.1.3. Karsinojenik Etki	15
2.3.1.4. Mutajenik ve Teratojenik Etki	15
2.3.1.5.İntestinal Sistem Florasının Bozulması.....	15
2.3.1.6.Süt ve Süt Ürünleri Endüstrisine Etkileri.....	15
2.3.2.Antibiyotik Kalıntısının Çevreye Etkileri	15
2.4. Yasal Limitler.....	16
3. YÖNTEM VE GEREÇLER	18
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	18
3.2. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler	18

3.3. Numunelerin Toplanması.....	18
3. 4. Yöntem.....	19
3.4.1. Süt Numunelerinin Analizi	19
3.4.2. HPLC Koşulları.....	19
3.4.3. Standartların Hazırlanması ve Metot Validasyonu	20
3.4.4. Metod Validasyon Parametreleri.....	20
3.4.4.1. Özgünlük (Specificity)	20
3.4.4.2. Doğrusallık (Linearity).....	21
3.4.4.3. Kesinlik (Precision).....	21
3.4.4.4. Duyarlılık (Sensitivity).....	21
3.4.4.5. Geri Kazanım (Recovery)	21
4.BULGULAR.....	23
4.1. Metot Validasyon Bulguları.....	23
4.1.1. Özgünlük (Specificity)	23
4.1.2.Doğrusallık (Linearity).....	23
4.1.3. Kesinlik (Precision).....	25
4.1.4.Duyarlılık (Sensitivity).....	25
4.1.5.Geri kazanım (Recovery)	25
4.2. Süt Örneklerinde Sonuçlar	26
5.TARTIŞMA	27
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	31
7. KAYNAKLAR	32
ÖZGEÇMİŞ	35

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADI	: Günlük alınmasına izin verilen miktar
ALARA	: Alınabilecek en düşük düzeylerde alım
C_{doruk}	: Maksimum plazma konsantrasyonu
CVMP	: Committee for Veterinary Medicinal Products
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
<i>E.coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EFSA	: European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
EMA	: European Medicines Agency
ESL	: Extended Shelf Life (Uzatılmış Raf Ömrü)
g	: gram
GAP	: İyi Tarım Uygulamaları
GHP	: İyi Hijyen Uygulamaları
IUPAC	: Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
LOD	: Tespit Edilebilir Limit
LOQ	: Tespit Edilebilirlik Sınırı
mg/kg	: miligram/kilogram
MKL	: Maksimum Kalıntı Limiti
<i>N. meningitidis</i>	: <i>Neisseria meningitidis</i>
<i>N.gonorrhoeae</i>	: <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
OECD	: Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü
RNA	: Ribonükleik asit
rpm	: Revolutionsperminute

s	: saat
<i>Strep. Zooepidemicus</i>	: <i>Streptococcus Zooepidemicus</i>
TEBGE	: Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü
T_{doruk} zamanı	: Maksimum plazma konsantrasyonuna (C _{doruk}) erişme
TÜBA	: Türkiye Bilimler Akademisi
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UHT	: Ultra High Temperature (Ultra Yüksek Isı)
<i>V.cholerae</i>	: <i>Vibrio cholerae</i>
µg/mL	: Mikrogram/mililitre
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Florokinolon grubu antibiyotiklerin genel yapısı	6
Şekil 2. Enrofloksasinin kimyasal yapısı (EMEA 1998a).....	7
Şekil 3. Danofloksasin kimyasal yapısı (EMEA.1998).....	8
Şekil 4. Marbofloksasinin kimyasal yapısı (EMEA, 2006).....	9
Şekil 5. HPLC Cihazının şematik gösterimi (Yıldız ve ark, 1997)	20



GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1. 2023 yılında süt üretimi kaynakları oranları	11
Grafik 2. Türkiye’de Süt ve Süt Ürünleri İhracat	12
Grafik 3. Yıllara Göre Antibiyotik Kalıntı Çalışmaları	13
Grafik 4Grafik 4: Siprofloksasin Kalibrasyon Eğrisi	23
Grafik 5..Enrofloksasin Kalibrasyon Eğrisi.....	24
Grafik 6.Danofloksasin Kalibrasyon Eğrisi.....	24
Grafik 7.Marbofloksasin Kalibrasyon Eğrisi.....	25



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Türkiye’de çiğ süt üretimi, 2023	11
Çizelge 2. Otoritelerce Sütte Antibiyotik Bulunmasına Müsaade Edilen Konsantrasyonlar	17



ÖZET

Hatay İlinde Toplanan Sığır Sütlerinde Enrofloksasin, Danofloksasin ve Marbofloksasin Kalıntısının Araştırılması

İlaçların uygun doz, süre ve endikasyonda kullanılmaması sonucu insan ve hayvan sağlığında istenmeyen sonuçlar meydana gelebilir. Özellikle et, süt, yumurta için yetiştirilen hayvanlarda bilinçsiz antibiyotik kullanımı sonucu tüketime sunulan gıdalarında kalıntı bulunabilir ve bu kalıntılı ürünlerinin insan ve hayvanlardan tarafından tüketilmesi sağlık açısından önemli sorunlar doğurabilir. Kalıntılı gıdaların tüketilmesi ile toksikolojik, mutajenik, karsinojenik, immun-supresif ve alerjik reaksiyonlar görülebilir. Ayrıca antibiyotikli sütlerin yoğurt ve peynir imalatında kullanılması sonucunda ürünler tam olarak olgunlaşamayabilir veya kalitesi düşük ürünler meydana gelebileceği akılda tutulmalıdır.

Bu araştırmada Hatay ilinden toplanan inek sütü örneklerinden florokinolon antibiyotiklerden enrofloksasin, danofloksasin ve marbofloksasinin kalıntı düzeyini belirlenmesi amaçlandı. Araştırmada 70 adet süt numunesi toplandı ve toplanan numunelerden enrofloksasin, danofloksasin ve marbofloksasinin analizi yüksek basınçlı sıvı kromatogram ile gerçekleştirildi. Toplanan bütün süt numunelerinde ölçülen florokinolon grubu antibiyotikler yönünden sütte bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı limitlerinin altında olduğu görüldü. Bu sonuca göre yetiştiricilerin antibiyotik uygulanması sonrasında antibiyotik kalıntısını bulunan hayvanları tüketime sunmadığı ve gerekli arınma sürelerine dikkat edildiği sonucuna varılabilir.

Anahtar kelimeler: Enrofloksasin, Danofloksasin, Marbofloksasin, Kalıntı, Süt.

ABSTRACT

Investigation of Enrofloxacin, Danofloxacin, and Marbofloxacin Residues in Bovine Milk Collected from Hatay Province

The inappropriate use of medications in terms of dosage, duration, and indication may lead to undesirable outcomes for both human and animal health. In particular, the unconscious use of antibiotics in animals raised for meat, milk, and eggs can result in residues in the food products available for consumption, posing significant health risks when these contaminated products are consumed by humans and animals. The consumption of contaminated food may cause toxicological, mutagenic, carcinogenic, immunosuppressive, and allergic reactions. Moreover, it should be noted that the use of milk containing antibiotics in the production of yogurt and cheese may prevent proper maturation of the products or lead to low-quality products.

This study aimed to determine the residue levels of the fluoroquinolone antibiotics enrofloxacin, danofloxacin, and marbofloxacin in cow milk samples collected from the Hatay province. A total of 70 milk samples were collected, and the analysis of enrofloxacin, danofloxacin, and marbofloxacin was performed using high-performance liquid chromatography. The results showed that the fluoroquinolone antibiotics in all the collected milk samples were below the maximum residue limits allowed in milk. Based on this result, it can be concluded that farmers did not market animals with antibiotic residues after the application of antibiotics and paid attention to the necessary withdrawal periods.

Keywords: Enrofloxacin, Danofloxacin, Marbofloxacin, Residue, Milk.

1. GİRİŞ

Süt, memeli hayvanlarda meme bezi dokusunda üretilen, kendine özgü koku ve tadı olan, bileşiminde insan vücudu için gerekli birçok vitamin, mineral ve makromoleküller olan değerli bir besin kaynağıdır. Dünyada 550 milyon 498 bin tonu inek sütü olmak üzere toplam 910 milyon 964 bin ton süt üretimi olduğu tahmin edilmektedir. Güncel TÜİK verilerine göre, Türkiye’de 2023 yılında çiğ süt üretim miktarı 21 milyon 481 bin 567 ton olarak kaydedilmiştir. Hatay il genelinde ise yıllık 171 bin 577 ton çiğ süt üretimi yapılmaktadır. Ekonomik İş birliği ve Kalkınma Örgütü (OECD)’nin raporuna göre düşük ve orta gelirli ülkelerde taze süt tüketimi tercih edilirken gelişmiş ülkelerde ise işlenmiş süt tüketmek tercih edilmektedir (Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE), 2023).

Antibiyotikler hem beşerî hekimlikte hem de veteriner hekimlikte sıklıkla kullanılan ilaç gruplarından biridir. Antibiyotikler 20. yüzyılda tedavide kullanıma sunulmuştur. 1940’lı yıllarda süt sığırcılığında enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Beşerî ve veteriner hekimlikte antibiyotik kullanımının başlıca nedenleri eklem, meme dokusu, solunum sistemi ve gastrointestinal ile diğer doku ve organlarda meydana gelen bakteriyel enfeksiyonlardır. Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde antibiyotikler sıklıkla kas içi, deri altı ve damar içi yollarla uygulanırken lokalize enfeksiyonlarında genellikle lokal uygulama (eklem içi, meme içi vb.) yolları tercih edilir.

Ülkemizde beşerî hekimlikte kullanılan 1627 antibiyotik müstahzarı vardır. Veteriner hekimlikte ise bu sayı 811’dir. Doğu Avrupa ülkeleri arasında yapılan bir çalışmada DSÖ verilerine göre ülkemizin bu bölgede yer alan ülkeler arasında en yüksek antibiyotik tüketimine sahip olduğu gösterilmiştir (Türkiye Bilimler Akademisi TÜBA, 2017). Ancak ülkemizde hayvan sağlığında kullanılan antibiyotiklerle ilgili benzer bilgiler oldukça sınırlıdır.

Sığır sütlerinde antibiyotik kalıntısının bulunmasının nedeni; hayvanlarda kullanılan antibiyotiklerin uygun süre yüksek dozda kullanılması, prospektüsüne uygun kullanılmaması, kullanıldıktan sonra gerekli arınma süresine uyulmaksızın sağılan sütün tüketiciye sunulması, sağılan sütün antibiyotik kullanmayan hayvanlardan elde edilen süt ile aynı tankta toplanması gibi sebepler yatmaktadır. Bu bilinçsiz antibiyotik kullanımı sonucu süte geçen antibiyotik miktarının izin verilen maksimum konsantrasyon, DSÖ tarafından sınırlandırılmıştır (Yılmaz ve ark, 2018, Bacanlı ve ark, 2019).

Antibiyotik kalıntısı taşıyan süt, işlenirken kalitesi düşük işlenmiş gıdalar elde edilmesine sebep olur. Kıvamı, son tüketiciler tarafından arzulanmayan şekilde üretilen daha düşük kalitedeki peynir, labne, yoğurt gibi fermente süt ürünleri daha düşük fiyata satılarak veya satılmayarak üretici için ekonomik kayıplara sebep olur. Sütteki antibiyotiğin bireyler tarafından kronik alımı ile birlikte bakterilerde direnç gelişiminin yanında genotoksik ve karsinogenik etkiler gibi birçok istenmeyen etkiye neden olabilir. Tüketilen antibiyotikli süt ve süt ürünleri; besin zincirinde su boruları veya kanalizasyonla toprağa karışır ve bitkilere, oradan da tekrar insan vücuduna geçerek besin zincirinde dolaşabileceğinden antibiyotikli ürünlerin evre ile bulaşının da kesilmesi oldukça önemlidir ve dikkat edilmelidir.

Bu çalışmada amacımız; Hatay ilinden toplanan sığır sütlerinde veteriner hekimliğinde sıklıkla kullanılan florokinolon grubu antibiyotiklerin kalıntısının olup olmadığını tespit etmesi ve sütlerdeki düzeylerinin belirlenmesidir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Antibiyotikler

Antibiyotik; bakteri, mantar, aktinomisetler gibi mikroorganizmalar tarafından doğal olarak üretilen veya sentetik yollarla elde edilen düşük yoğunluklarda bile bakterilerin büyümesini engelleyen veya onları öldüren maddelerdir. Antibiyotikler, beşerî ve veteriner hekimlikte sıklıkla, bakteriyel kaynaklı hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaç grubudur. Türk Gıda Kodeksi ve Amerikan Gıda ve İlaç Ajansı Veterinerlik Merkezi'ne göre kalıntı, hayvanlarda veya hayvansal kaynaklı gıdalarda ilaç ve metaboliti olarak tanımlanır. İlaçların çoğu, canlı vücuduna uygulandıktan sonra metabolize olur ve itraha uğrar (Bacanlı ve ark. 2019).

2.1.1. Antibiyotik Gruplarının Sınıflandırılması

Antibakteriyel ilaçlar sekiz grup altında sınıflandırılmaktadır:

- Beta laktam antibiyotikler
- Makrolid grubu antibiyotikler
- Sülfonamidler
- Florokinolonlar (siprofloksasin, ofloksasin, levofloksasin, moksifloksasin, danofloksasin, marbofloksasin, enrofloksasin)
- Tetrasiklinler
- Aminoglikozidler
- Amfenikoller
- Dar spektrumlu polipeptid yapılı antibiyotikler

2.1.2. Florokinolonlar

Veteriner hekimlikte en sık kullanılan antibiyotik gruplarından biri florokinolonlardır. 1962 yılında antimalaryal bir ilaç olan klorokin üzerine araştırma yapılırken nalidiksik asit sentezlenmiştir. Nalidiksik asit çekirdeğiyle üretilen ilk kinolon yapısının, gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. Yaklaşık yirmi yıl sonra 1980'li yıllarda ana iskelete farklı gruplar eklenmesiyle etki spektrumları genişletilmiştir. Flor atomu

eklenmesiyle birlikte siprofloksasin, ofloksasin, norfloksasin geliştirilirken, altıncı karbon atomuna flor içeren farklı grupların eklenmesiyle gram pozitif mikroorganizmalara karşı etkileri güçlendirilmiştir (Stahlmann, 2002). Daha sonra geliştirilen türevleriyle direnç gelişiminin daha zor olduğu, farmakokinetik özellikleri iyileştirilmiş florokinolonlar piyasaya sunulmuştur. Lipofiliklerinin artmasıyla oral biyoyararlanımı artırılmış ve tedavide kullanımı yaygınlaştırılmıştır (Andriole, 1999).

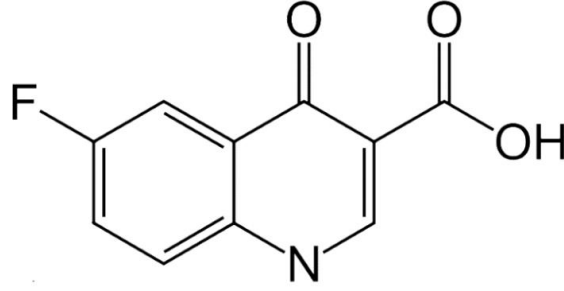
Florokinolonlar, DNA jiraz enziminin inhibisyonu ile bakteri hücresinin uzamasından sonra bölünme evresine geçememesi sayesinde etkinlik gösterir (Akkaya, 1997). Yan etki bakımından iyileştirilmeye çalışılsalar da her ilaçta olduğu gibi bu ilaç grubunda da bireyler arası farklılık gösteren istenmeyen etkiler görülebilmektedir. Veteriner hekimlikte sıklıkla kullanılan florokinolonların sahip olduğu birçok üstün özellikten dolayı klinikte kullanımı oldukça yaygındır. Verimli ve değerli antibiyotik olmalarının yanı sıra hayvanlarda enfeksiyon tedavisinde alternatif olarak kullanılabilirler (European Medicines Agency, CVMP, 2007). Florokinolonlar, küçük moleküler yapıları sayesinde sitoplazmik membrandan kolaylıkla geçerler ve sitoplazmik zarıdan hızlıca hücre içine geçebilirler. Bazı bakterilerin zarında bulunan porin proteinlerinin kaybı veya değişimi, ilacın sitoplazma içerisindeki konsantrasyonunu düşürerek yüksek düzeyde olmasa da florokinolon direncine yol açabilmektedir (Gülay, 2002). Hayvanlarda kullanımının önemi; mikoplazmaları da kapsayan geniş spektrumlu oluşlarıyla, düşük konsantrasyonlarda bakterisid etkisini sürdürmesi ile ilişkilidir. Aynı zamanda toksisitelerinin az olması ve vücut sıvılarında dağılım göstermesinden dolayı veteriner hekimlikte kullanımı tercih edilir (Pharm ve ark, 2019; Akkaya, 1997).

Avrupa ve Türkiye’de gıda elde etmede kullanılan hayvanlar üzerinde uygulanmasına izin verilen ruhsatlı florokinolonlar; oksolinik asit, flumequin, danofloksasin, difloksasin, enrofloksasin, marbofloksasin, sarafloksasindir. Bu etkin maddeler içinde Avrupa’da en sık kullanılan antibiyotiklerde ilk sırada enrofloksasin gelirken, flumequin, oksolinik asit, marbofloksasin, danofloksasin, difloksasin ve son olarak da sarafloksasin gelmektedir. Aynı sıralama, sığır türü için en sık kullanılan florokinolon müstahzarları da kullanım sıklığına göre çoktan aza, enrofloksasin, flumequin, oksolinik asit, marbofloksasin, danofloksasin ve difloksasindir (European Medicines Agency CVMP, 1999). Ülkemizde kinolon grubu bazı antibiyotiklerin sığır, koyun, keçi sütünde

maksimum kalıntı limitleri; danofloksasin için 30 µg/kg, enrofloksasin için 100 µg/kg ve marbofloksasin için ise 75 µg/kg'dır (Türk Gıda Kodeksi, 2007).

Veteriner ilaçlar için geri çekilme süresi vardır. Geri çekilme süresi; bir veteriner ilacının son uygulanması ile o hayvanın kesimi veya gıda üretimi arasında, gıdanın maksimum kalıntı sınırını aşan ilaç seviyeleri içermediğinden emin olmak için geçmesi gereken süredir (EMA, 2006). Bu süre boyunca süt, insan tüketimi veya gıda üretimi amacıyla kullanılamaz. Geri çekilme süresi, ilaç ve türe bağlı bir parametredir. Damar içi, kas içi, deri altı ve oral uygulama yolları ile ilacın sütteki dağılımı ve sütteki yarı eliminasyon süreleri değişebilir (Riviere & Papich, 2017).

Enrofloksasin, danofloksasin ve marbofloksasin veteriner hekimlikte en çok kullanılan florokinolon türevi antibiyotiklerdir. Florokinolon iskeletine sahip bu etkin maddelerin, *in vitro* gram negatif bakteriler üzerinde yüksek derecede duyarlı olduğu ve gram pozitif bakteriler üzerinde orta derecede duyarlı olduğu gösterilmiştir (Campoli-Richards, 1988). Florokinolonlar IUPAC (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği)' a göre numaralandırıldığında 6. Konumdaki flor atomu, DNA jiraz enziminin inhibisyonu üzerinde etkilidir (Şekil 1'de Florokinolon ana iskeleti görülmektedir). DNA sentezi ve tamirinden sorumlu olan bu enzim hücre içinde sitoplazmada konumlanır ve eksikliğinde hücre bölünmeden anormal şekilde uzayarak parçalanır. Memeli hayvan hücresinde aynı görevdeki DNA topoizomerazlar süper sarmal yapıda olmadıkları için florokinolon türevi antibiyotikler bakteriyel hücre bölünmesini engellerken memeli hücrelerinin aktivitesini değiştirmezler. Florokinolonların kan konsantrasyonları dozla doğru orantılıdır. Dokulardan absorpsiyonları hızlıdır. Plazma proteinlerine düşük oranda bağlanırlar. Plazma yarı ömürleri uzun olduğu için de 8-12 saat aralıklarında uygulanırlar. Bu farmakolojik üstünlükleri sayesinde doku ve yumuşak doku enfeksiyonlarında sıklıkla tercih edilen ajanlardır. Kıkırdak, kemik, akciğer ve tonsillere geçebilirler. Danofloksasin, sığırlarda subkutan veya intramuskuler uygulama sonrasında akciğer konsantrasyonunun plazma pik konsantrasyonunun 4 katına ulaşır. Başlıca itrahi idrarla olmakla birlikte bir kısmı da böbreklerden glomerüler filtrasyonla atılır (Akkaya, 1997).



Şekil 1. Florokinolon grubu antibiyotiklerin genel yapısı

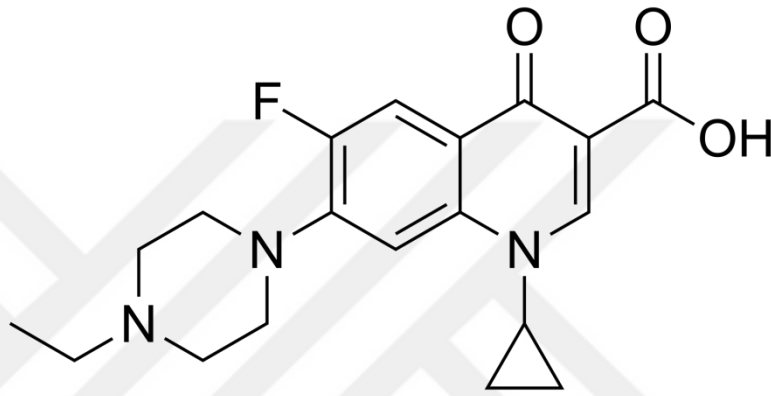
2.1.2.1. Enrofloksasin

Enrofloksasin, lipofilik, amfoterik yapısıyla hücre içine geçişi ve vücutta dağılımı kolay olan bakterisidal etkili bir antibiyotiktir. İnsanlarda vücutta büyük oranda siprofloksasine dönüşür. Maksimum kalıntı düzeyi (MKL) inek sütü için 100 µg/kg'dir (CVMP EMEA 1998a, 2002a; TKG 2007).

Enrofloksasin (1- siklopropil – 7 – (4 – etil – 1 – piperazinil) – 6 – floro – 1,4 – dihidro – 4 – okso – 3 – kinolon karboksilik asit), gram negatif ve gram pozitif bakterilere etki eden geniş spektrumlu bir antibiyotiktir (Şekil-2). Başlıca duyarlı bakteriler; *E.coli*, *Salmonella sp.*, *Yersinia sp.*, *Proteus sp.*, *Leptospira sp.*, *Enterobacter sp.*, *Shigella sp.*, *Acinobacter sp.*, *Campylobacter sp.*, *Actinobacillus sp.*, *Pasteurella sp.*, *Klebsiella sp.*, metisiline ve gentamisine dirençli olanlar da dahil *Staphylococcus sp.*, penisiline dirençli olanlarda dahil *N.gonorrhoeae*, *Mycoplasma sp.*, *Corynebacterium sp.*, *N. Meningiditis*, *Chlamydia sp.*, *V. Cholerae*, 'dir. Bazı streptococcus türleri ve mikobakterilere karşı orta derecede duyarlılık gösterir. Anaerobik kokların çoğuna karşı ise dirençlidir.

Enrofloksasin oral yolla verildikten kısa bir süre sonra kolayca emilir ve geniş ölçüde vücutta dağılır. Akciğer, karaciğer, böbrek, kemikler ve lenfatik sistemde serum seviyelerinin 2-3 katı konsantrasyonlarda bulunmuştur. Enrofloksasin verilmesini takiben 1-2 saat içinde pik plazma yoğunluğuna ulaşır ve 24 saat süre ile terapötik seviyede kalır. Hayvanlarda birçok enfeksiyon için tedavi edici doz 2.5 mg/kg olmakla birlikte dozaj rejimi veteriner hekim kontrolündedir. Başlıca kendisi ve metabolitleri safra ve idrar yoluyla atılır (Trouchon ve Lefebvre, 2016). Karaciğerde metabolize olduktan sonra aktif metaboliti siprofloksasine dönüşür. İlaç uygulamasından 6-24 saat sonra alınan süt örneklerinde %8

enrofloksasin, %30 siprofloksasin kalıntısı bulunmuştur (EMEA, 1998a; Turgut, 2000). Uzun süreli kullanılan enrofloksasinin karaciğer ve böbrekte hasara neden olduğu kaydedilmiştir (Çorum ve ark., 2019; Yasini ve ark., 2015). Kan tablosunda veya diğer biyolojik sıvılardaki bazı parametrelerin ölçümü çeşitli organ hasarı varlığı hakkında fikir vermektedir.



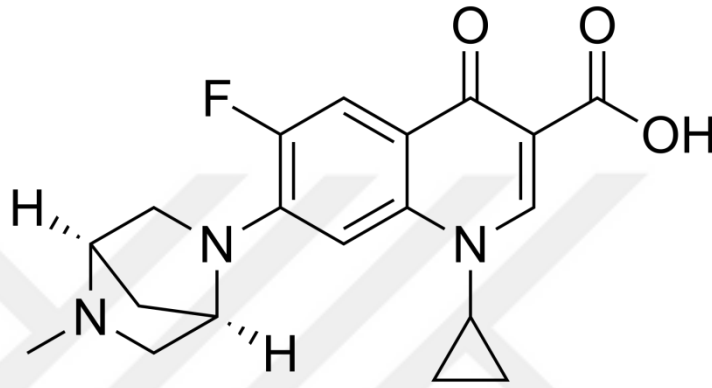
Şekil 2. Enrofloksasinin kimyasal yapısı (EMEA 1998a)

2.1.2.2. Danofloksasin

Danofloksasin bakteriyel DNA jirazı inhibe ederek DNA replikasyonunu önleyerek bakterisid etki gösterir. Kısa süreli yüksek doz kullanımı olduğu gibi, uzun süreli düşük dozda kullanımı da tedavi rejimleri arasındadır. Danofloksasin sütte süresi uygulanan son dozdan 4 gün sonradır (Halleran ve ark. 2021). Süt sığırcılığında genellikle solunum sistemi hastalıklarında kullanılır (EMEA, 1998).

Danofloksasinin kimyasal formülü (1-siklopropil-6-floro-7-[(1S,4S)-5-metil-2,5-diazabisiklo [2.2.1]heptan-2-il]-4-oksokinolin-3-karboksilik asit)'dir. Şekil-3'te danofloksasin kimyasal formülü gösterilmiştir. Baslica duyarli bakteriler; *E.coli*, *Klebsiella sp.*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Serratia sp.*, *Enterobacter sp.*, *Versinia sp.*, *Moraxella sp.*, *Acinobacter sp.*, *Actinobacillus sp.*, *Proteus sp.*, *Leptospira sp.*, *Campylobacter sp.*, *Haemophilus sp.*, *Pasteurella sp.*, *Enrichia sp.*, *Citrobacter sp.*, *Coxiellabrunetti*, metisiline ve gentamisine dirençli olanlar da dahil Staphylococcus sp., penisiline dirençli olanlarda

dahil *N.gonorrhoeae*, *N. Meningitidis*, *Strep. Zooepidemicus*, *Corynebacterium sp.*, *V.cholerae*, *Mycoplasma sp.* Dir. *Strep. Suis*, *Strep. Agalactia*, *Strepdysgalactia Requi*, *Chlamydia sp.*, *Mycobacterium sp.*Orta derecede duyarlılık gösterir. Anaerobik kokların çoğu, *Bacteroides sp.*,*Clostridium sp.*, ve *Ps. Maltophila* kinolonlara genellikle az duyarlı veya dirençlidir (EMEA, 1998b).



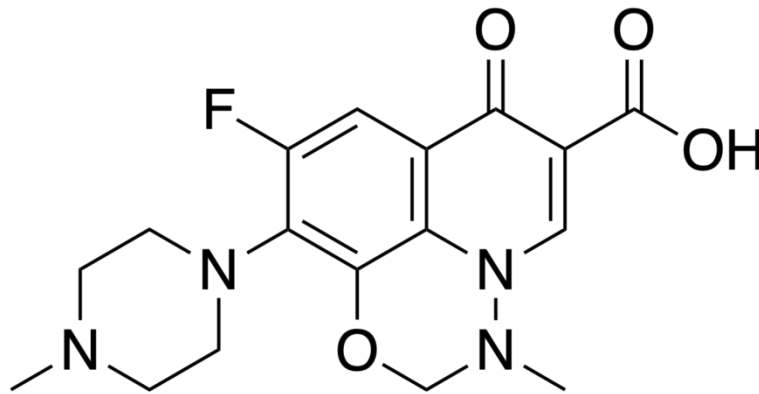
Şekil 3. Danofloksasin kimyasal yapısı (EMEA.1998)

Danofloksasin, yüksek lipid çözünürlüğüne, plazma proteinlerine düşük bağlanmasına ve ATP'ye bağımlı eflüks taşıyıcıları için bir substrat olmasına bağlı olarak koyun ve keçilerde çok geniş bir dağılım hacmine sahiptir (Çorum, 2019).

2.1.2.3. Marbofloksasin

Marbofloksasin sadece veteriner hekimlikte kullanılan üçüncü nesil bir florokinolondur. Yarılanma süresi enrofloksasinden uzundur (Giguère ve Dowling, 2013). Marbofloksasin kimyasal yapısı (7-floro-2-metil-6-(4-metilpiperazin-1-il)-10-okso-4-oksa-1,2-diazatrisiklo [7.3.1.05,13] trideka-5(13),6,8,11-tetraen-11-karboksilik asit)'dir. Şekil'4-te kimyasal yapısı gösterilmiştir. Süt sığırcılığında, mastisit tedavisinde sıklıkla kullanılır. İn vitro olarak, Gram(-) bakteriler *Escherichia coli*, *Pasteurella (P. Multocida)*, *Histophilussomni*, *Mannheimia (M. Haemolytica)*, ve *Salmonella* başta olmak üzere çeşitli bakteri türlerinin yanı sıra, *Streptococcus (S. Agalactiae)*, *Staphylococcus (S. Aureus)*, *S. Dysgalactiae* ve *Mycoplasma (Mycoplasma bovis)* başta olmak üzere Gram(+) bakterilere karşı geniş spektrumlu bir etkiye sahiptir.

Marbofloksasin 8 mg/kg'lık tek bir kas içi uygulamanın ardından maksimum plazma konsantrasyonu (C_{doruk}) 8 $\mu\text{g/mL}$ 'dir ve bu konsantrasyona yaklaşık 1 saatte (T_{doruk}) ulaşılırken, 2 mg/kg'ın deri altı olarak uygulanmasının ardından ise, 1 saat içinde maksimum plazma konsantrasyonu olan 1,7 $\mu\text{g/mL}$ 'ye ulaşır. Biyoyararlanımı %100'e yakındır. Marbofloksasin, plazma proteinlerine zayıf (%30) düzeyde bağlanır, geniş ölçüde dağılır ve çoğu dokuda (karaciğer, böbrek, deri, akciğer, safra kesesi, uterus), plazmadan daha yüksek konsantrasyonlara ulaşır. Marbofloksasin, ağırlıklı olarak idrar ve dışkı ile aktif formda atılır. Marbofloksasin, sığırlarda marbofloksasine duyarlı bakteriler tarafından oluşturulan solunum yolu enfeksiyonları, akut mastitis, neonatal enterit ve metritis enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. Veteriner hekim tarafından başka şekilde tavsiye edilmediği takdirde; solunum yolları enfeksiyonlarında: kas içi enjeksiyon yoluyla tek bir doz halinde 8 mg/kg; deri altı veya damar içi enjeksiyon yoluyla 2 mL/25 kg, üç gün süreyle günde bir kez 2 mg/kg dozunda uygulanır. Neonatal enterit ve akut mastitis ve tedavisinde kullanılır. Enjekte edilecek miktar 20 mL'den fazla ise, iki veya daha fazla enjeksiyon yerinden enjekte edilecek şekilde bölünmelidir. Tedavi süresince ve son ilaç uygulamasından sonra eti için yetiştirilen sığırlar 6 gün geçmeden kesime gönderilmemelidir. Ayrıca son ilaç uygulamasından sonra 1,5 gün (3 sağımlı) süreyle elde edilen inek sütü tüketime sunulmamalıdır (EMEA, 2006).



Şekil 4. Marbofloksasinin kimyasal yapısı (EMEA, 2006)

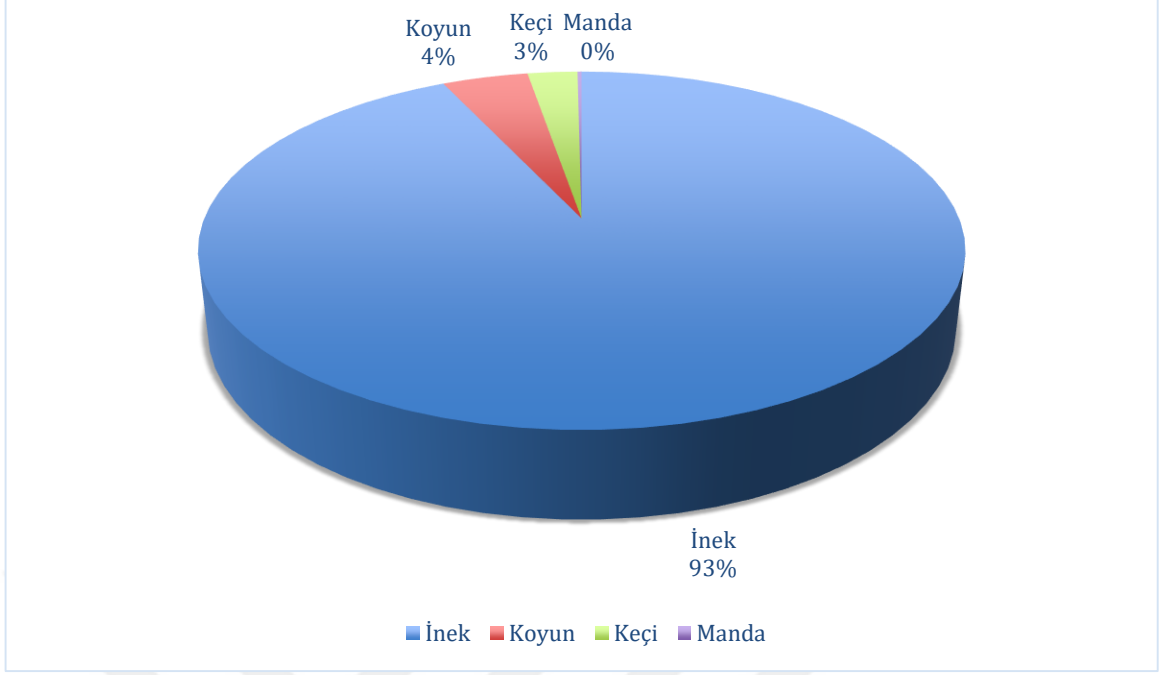
2.2. Hayvansal Gıdalarda Antibiyotik Kalıntısı

Süt; içerdiği A, D, E, K, C, B1, B2, B6, B12 vitaminlerinin yanında çeşitli proteinler, demir, fosfor, kalsiyum gibi önemli makro ve mikro besin öğelerini barındırır. 2022'de yayınlanan Ulusal Süt ve Süt Ürünleri Konseyi Beslenme Rehberi'nde her gün erişkin

bireylerin 3 porsiyon (1 porsiyon 240 mL ifade eder), 2 yaş üzeri çocukların, adolesanların, gebelerin, laktasyondaki kadınların ve postmenopozal kadınların 2 ile 4 porsiyon arasında süt ve süt ürünlerini tüketmeleri tavsiye edilmektedir. Zengin bir kalsiyum kaynağı olduğu için çocuk ve adolesanlarda sağlıklı kemik ve diş gelişimini destekler. Yetişkinlerde ise bazı metabolik hastalıklara karşı koruyucu olduğu bilinmektedir (Türkiye Beslenme Rehberi, 2022).

Sütten elde edilen peynir, tereyağı, kefir, yoğurt, dondurma da tıpkı süt gibi besin değeri yüksek gıdalardır. Süt üretiminde yemden, hayvanın memesinden taşınan ve sütün depolandığı kaptan çeşitli kontaminasyonlar oluşabilmektedir. Kılavuzlara göre tüm aşamalarda (İyi Üretim Uygulamaları (GMP), İyi Tarım Uygulamaları (GAP), İyi Hijyen Uygulamaları (GHP)'na uyulmalıdır. Zengin içeriği sayesinde süt, memelilere faydalı olduğu gibi; insanda hastalığa neden olabilen zararlı mikroorganizmaların üremesi için de ideal bir besiyeridir. *Bacillus anthracis* isimli bakteriyle kontamine yemi yiyen hayvanların enfekte olması, sonrasında bu hayvanların insanlara besin olarak kullanılması ile şarbon gelişebilir. İnsanların ve hayvanların bağırsak sistemlerinde yaşayan ve genellikle hayvan dışkıyla ile kontamine gıdaların tüketilmesi ile insanlara Salmonella bakterisi geçebilir ve tifo hastalığına sebep olur. Bu gibi hastalıkların etkenleri et ve çiğ süt ile bulaşan zoonoz hastalıklardır (Yılmaz ve ark., 2022).

2022'de dünya süt üretimi 930 milyon tona çıkmıştır. Türkiye İstatistik Kurumu tarafından seçilen 40 000'den fazla tarımsal işletmeden elde edilen verilere bakıldığında en fazla inek sütü üretimi yapıldığı görülmektedir. Hayvanlar arasında en fazla çiğ süt üretiminin inek sütü olduğu görülmektedir. Grafik 1: Türkiye'de 2023 yılında süt üretimi kaynakları oranları, Grafik1'de Türkiye'de 2023 yılı çiğ süt üretimi verilmiştir (TÜİK,2023):



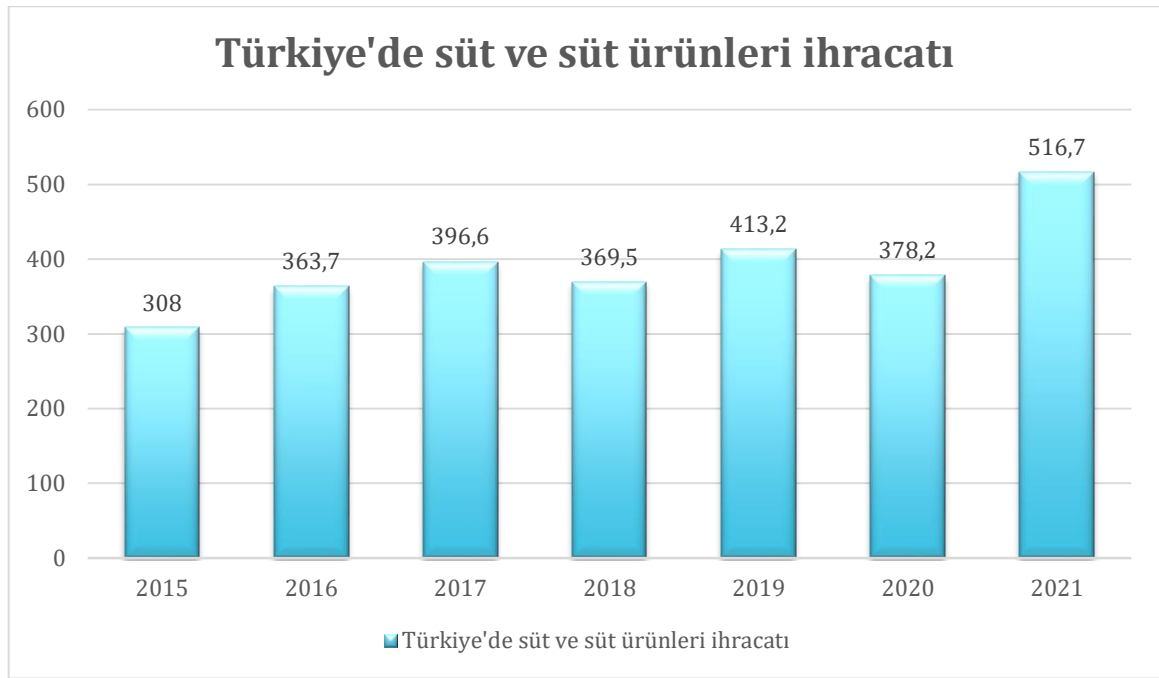
Grafik 1. 2023 yılında süt üretimi kaynakları oranları (TÜİK,2023)

Çizelge 1. Türkiye’de çiğ süt üretimi, 2023 (ton)

	2023	%
İnek	19 961 908	%93
Manda	43 025	%0,00000005
Koyun	933 576	%4
Keçi	543 058	%3
Toplam	21 481 567	%100

Ülkemizde süt ve süt ürünlerinin ihracatı, ülke ekonomisine ciddi katkı sağlamaktadır (TÜİK, 2023). İhracat miktarları Grafik 2’de verilmiştir.

Grafik 2. Türkiye’de Süt ve Süt Ürünleri İhracat (milyon \$)



TÜİK verilerine göre ülkemizin süt ve süt ürünleri ihracatı 5 yıl içinde %42 oranında artmıştır. 2021 yılında süt ve süt ürünleri ihracatımız ilk kez 516,7 milyon dolara ulaşmıştır.

Hatay ilinde ise süt üretimi için kullanılan büyükbaş hayvan varlığından elde edilen süt üretim miktarı 2018 yılı sonu itibari ile 165.189 ton olmuştur. 2018 yılında sağılan büyükbaş hayvan varlığından elde edilen süt üretim miktarının %72,0’si kültür, %25,9’u melez, %1,9’u yerli sığırlardan ve %0,2’si ise manda sütünden oluşmaktadır (Küçük ve ark, 2020).

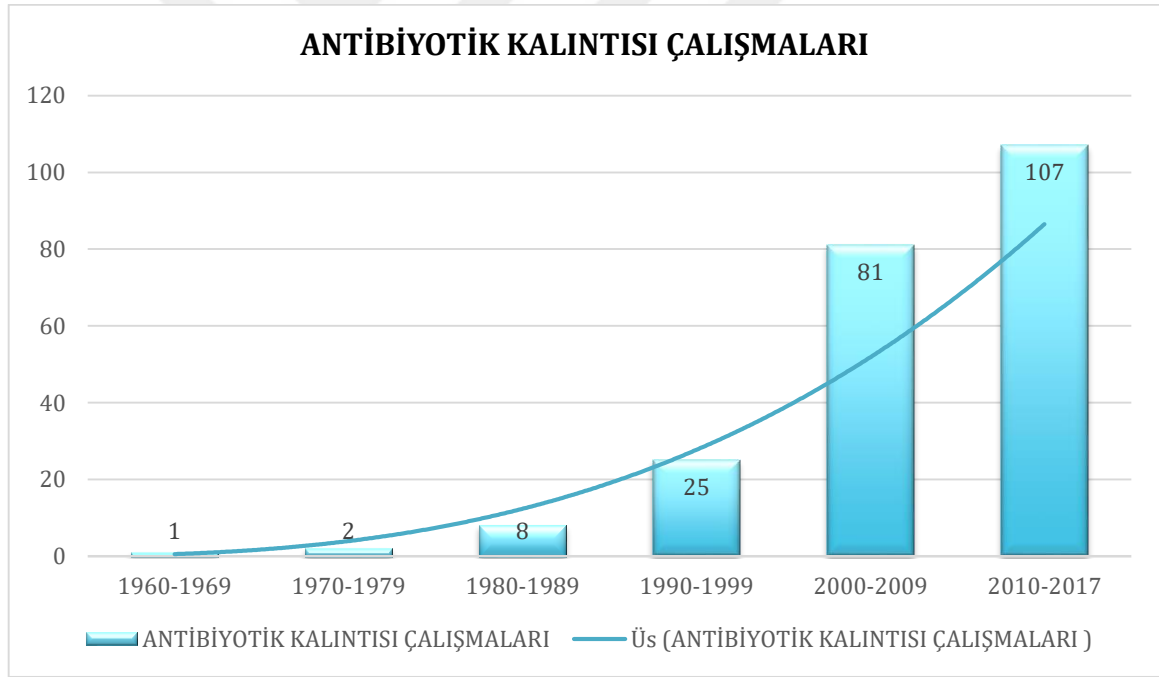
Meme dokusunda bulunan kan içeriği, süte hastalık durumunda geçirgenliği değiştirerek antibiyotiklerin süte geçişine izin veren fiziyojiye sahiptir. Antibiyotiklerin prospektüse uygun kullanılmaması, sağılan memenin ilaç verilen memeye aynı olmadığına sütün sağılıp kullanıma sunulabileceği düşüncesi, ilaç kalıntı arınma süresine uyulmaması gibi bilinçsiz kullanımı sonucu sütte antibiyotik kalıntısına rastlanır. Antibiyotiklerin süt salgısına; ortak taşıyıcı, pasif difüzyon, pH farklılık ve intersellüler difüzyon teorileri ile geçtiği varsayılmaktadır (Yılmaz ve ark, 2018). Florokinolon stabilitesinin iyi olması sebebiyle veteriner kliniğinde tercih edilir. 2010 yılında yapılan bir araştırmada, süt ve süt ürünlerinin, kaynatma, mikrodalga fırınlama, kavurma, ızgara ve kızartma gibi ısı işlemlerden geçirilmesiyle dahi florokinolonun yapısının değişmediği ortaya koyulmuştur

(Roca ve ark, 2010). İlaç kalıntısı bireylerde alerjik etkilere, ihtiyaç olmadığı halde farmakolojik etkiye, karsinojenik etkiye, sindirim kanalı florasının değişmesine, cinsiyet özelliklerinin değişmesine, gıda endüstrisinde kalitesiz gıda üretimine ve dirençli suşların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Bacanlı ve ark, 2019).

Sütte antibiyotik kalıntılarının belirlenmesinde; immünolojik yöntemler, mikrobiyolojik inhibisyon analizleri, kromatografik yöntemler ve biyosensörler kullanılabilir. (Kantiani ve ark., 2009; Yılmaz ve ark., 2018). Yüksek hassasiyet ve spesifik çalışmaya olanak sağlaması ve aynı anda birden fazla numune ile kolay nicel analiz yapma olanağından dolayı en sık kullanılan yöntem kromatografik yöntemlerdir.

Dünyada yıllar içinde sütteki antibiyotik miktarı çalışmalarının artışı grafik 3'te görülmektedir (Sachi ve ark, 2019).

Grafik 3. Yıllara Göre Antibiyotik Kalıntı Çalışmaları



2.3. Sütte Antibiyotik Kalıntısının Sonuçları

2.3.1. Antibiyotik Kalıntısının Halk Sağlığına Etkileri

Besin kaynağı olarak kullanılmak üzere yetiştirilen hayvanların bakteriyal enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotik kullanılır. Bu antibiyotikler, hayvanın itrah organlarında toplanabilir. Antibiyotik verilen hayvanlardan elde edilen süt, peynir, bal gibi

hayvansal ürünlere de geçmektedir. Antibiyotiğin uzun veya yüksek dozda kullanımı sonucu halk sağlığını tehdit etmektedir (Çancılar ve ark, 2017). İlaç kalıntısı bireylerde alerjik etkilere, ihtiyaç olmadığı halde farmakolojik etkiye, karsinojenik etkiye, sindirim kanalı florasının değişmesine, cinsiyet özelliklerinin değişmesine, gıda endüstrisinde kalitesiz gıda üretimine ve dirençli suşların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Bacanlı ve ark., 2019).

2.3.1.1. Alerjik Etki

Beşerî hekimlikte %10 sıklıkta görülen penisilin alerjisine rağmen, veteriner hekimlikte bilinçli veya bilinçsiz kullanımlarıyla hayvansal besinlerin alımıyla hafif deri döküntülerinden anaflaktik şoka kadar birçok alerjik reaksiyon kaydedilmiştir (Bacanlı ve ark. 2019; Kyuchukova, 2020). Kalıntıların insan sağlığı üzerinde yaptığı en yaygın etki, ilaç alerjileridir. İlaça tek seferli maruziyet, alerji oluşumuna sebep olmayabilirken, hayvansal kaynaktan alınan düşük dozlardaki antibiyotik geç tip alerjik reaksiyonlara (tip-3 alerji) sebep olabilir. Aynı zamanda penisilin alerjisi olan bir bireyde çok düşük miktarlarda penisilin dahi anaflaksi sonucu ölümle sonuçlanan bir maruziyet olarak gösterilebilir (Çancılar, 2017).

2.3.1.2. Antibiyotik Direnci

Antibiyotikler, kalıntılarının gereksiz ve kontrolsüz dozda vücuda alınması mikroorganizmaların bu antibiyotiklere karşı direnç kazanmasına ve doğrudan temas yoluyla direnç gelişimine sebep olur (Rana ve ark, 2019). Antibiyotik direnci, birçok bakteride antibiyotiğin hücreye girişinden sonra dışarıya atan efflux pompa sistemleri sayesinde olur. Bu çalışmada incelenecek olan kinolon grubu antibiyotiklerin atılımı ile alakalı pompalar, *E. Coli*, *Burkholderiacepacia*, *P. Aeruginosa*, *S. Aureus*, *S. Pneumoniae* gibi insanda patojen olabilen önemli türlerde vardır. Kinolon direnci, pompa sistemlerinin aşırı üretimi ile gelişir. Dolayısıyla pompa proteinlerinin ekspresyonunu arttıran ve genellikle kontrol genlerini ilgilendiren kromozomal bir mutajenite, florokinolonların direnç geliştirmesi için uygun koşulları hazırlar. Pompa sisteminin indüklenmesi ile sadece florokinolonlara değil, pompanın substratları olan tetrasiklinker, kloramfenikol, beta-laktamlar, trimetoprim gibi farklı antibiyotiklere karşı çoğul direnç görülmektedir (Gülay, 2002).

2.3.1.3. Karsinojenik Etki

Bakteri hücrelerine spesifik geliştirilmeye çalışılan antibiyotikler, insan DNA ve RNA gibi makromoleküllerle etkileşime geçerek potansiyel karsinojenik etkiler gösterir (Rana ve ark, 2019).

2.3.1.4. Mutajenik ve Teratojenik Etki

DNA molekülünün yapısına bağlanan antibiyotik kalıntıları çeşitli mutasyonlara sebep olabilir. Kısırlığa sebep olabilecek mutasyonlar görülebilmektedir. Aynı zamanda gebelikte bu kalıntılara maruziyet, bebekte konjenital anomalilere sebep olabileceği de ortaya konulmuştur (Rana ve ark, 2019).

2.3.1.5. İntestinal Sistem Florasının Bozulması

Son yıllarda bağırsak florasının, bireyin sağlığında doğrudan etkili olduğu yönünde birçok çalışma yapılmıştır. Bağırsak florasında, kısa veya uzun süreli antibiyotik maruziyeti sonucu olumsuz etkilenerek bağışıklık, enerji metabolizması, yapım olaylarında rol oynayan faydalı mikroorganizmaları öldürür. Özellikle geniş spektrumlu antibiyotikler, patojen olmayan bakterileride öldürür.

2.3.1.6. Süt ve Süt Ürünleri Endüstrisine Etkileri

Türkiye'de süt üretimi, ekonomik açıdan önemlidir. Yoğurt, peynir, kaymak gibi süt ürünlerinde istenen kıvam, tat ve aroma için, süt içerisindeki bazı bakterilerin varlığı şarttır. Sütteki antibiyotik kalıntısı, laktik asit bakterilerinin fermentasyonu için uygun ortam kaybedildiğinden kalitesi düşer. Hastalık dönemi geçen hayvandan arınma süresi beklenilmeden alınan süt, kalitesiz olduğu için aslında elde edilmeye çalışılan kâr, yerini zarara bırakır (Dokuzlu, 2001; Rana ve ark, 2019).

2.3.2. Antibiyotik Kalıntısının Çevreye Etkileri

Birçok çalışma, florokinolon kalıntısının atık sulara ve toprağa karışmasıyla ilgili antibiyotik ve diğer mikro kirleticilerin ekotoksikoloji yönünden daha dikkatli kullanılması gerektiğini ortaya koymaktadır (Doorslaerer ve ark, 2014). Florokinolonların beşerî kullanımdan sonra %10-90 arasında değişmeden atılması, kanalizasyonla birlikte suda

birikimine sebep olur. Florokinolon birikmiş bir su ile sulanan topraktan da bitkilere geçer ve bu şekilde besin zincirine katılmış olur (Bhatt ve ark., 2022).

Çin'in Yangtze Nehri Deltası'ndaki tarımsal topraklarda çeşitli antibiyotiklerin dağılımının incelendiği bir çalışmada antibiyotikler içinden en yaygın antibiyotiğin siprofloksasin olduğu gösterilmiştir. Aynı ülkede yapılan diğer bir çalışmada ise ülkenin güneyindeki çeşitli tortu numuneleri incelenmiştir, bulunan en yüksek antibiyotik konsantrasyonu 1.03– 722.18 µg/kg konsantrasyon aralığı ile siprofloksasin, norfloksasin, enrofloksasin ve ofloksasin kalıntıları olmuştur (Bhatt ve ark, 2022).

Hindistan'da yapılan bir çalışma çöplüklerde siprofloksasin, norfloksasin ve ofloksasin kalıntılarının varlığını ortaya koymuştur (Arun, 2020). Florokinolonlar mikro kirlenici olmakla birlikte sadece su ve toprak ekosistemine katılmakla kalmayıp bitki gelişimini de olumsuz etkileyebilmektedir. Bazı bitkiler daha duyarlı olmakla birlikte çalışmalar, bitkilerdeki biyoakümüülasyonun büyümelerini, gelişmelerini ve tohum çimlenmesini durdurabileceğini göstermektedir (Riaz ve ark., 2018).

Amerika'da 2007 yılında yapılan tarımsal arazide hayvan gübresinin bakteriyel direncin artışına etkisinin inceleyen karşılaştırmalı bir çalışmada, 10 adet süt çiftliğinden toprak örneği analiz edilmiş. Klortetrasiklin varlığı araştırılıp çalışma bulguları değerlendirilmiştir. Özellikle 1 çiftlikte aşırı hayvan gübresi uygulamasının topraktaki bakterilere karşı direncin artmasına sebep olduğu ve bu durumun antibiyotik direncini yaydığı sonucuna ulaşılmıştır (Ghosh ve LaPara, 2007). Amerika Birleşik Devletleri'nde siprofloksasin direnci %1,4 oranında iken, Kanada'da %3 ve Hong Kong'da %12'ye varan direnç oranları bildirilmiştir (Gülay, 2002).

2.4. Yasal Limitler

Türk Gıda Kodeksine göre; maksimum kalıntı limiti, hayvansal gıdalarda bulunmasına izin verilen farmakolojik aktif madde kalıntısının maksimum konsantrasyonudur. Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliğine göre bazı antibiyotiklerin sığır sütünde bulunmasına müsaade edilen miktarlar Tablo 2'de gösterilmiştir (Resmi Gazete, Türk Gıda Kodeksi; 2017).

Çizelge 2. Otoritelerce Sütte Antibiyotik Bulunmasına Müsaade Edilen Konsantrasyonlar

	Sütteki MKL (TGK'ye göre)	Sütteki MKL (EMEA'ya göre)
Enrofloksasin	100 µg/kg	100 µg/kg
Siprofloksasin	100 µg/kg	100 µg/kg
Marbofloksasin	75 µg/kg	75 µg/kg
Danofloksasin	30 µg/kg	30 µg/kg

Veteriner tıbbi ürünlerde, gıda maddelerinin, toplum sağlığının korunmasına yönelik olarak, kalıntı ile ilgili mevzuatta belirtilen limitlerin üzerinde kalıntı barındırmasını önlemek üzere, normal şartlarda ve bu yönetmeliğin hükümlerine uygun olarak kullanılır. İlaç kalıntı arınma süresi, hayvanlara en son ilaç uygulandığı zaman ile bu hayvanlardan gıda elde edilmesi arasında geçmesi gereken süre olarak tanımlanır (Resmî Gazete, 2011).

3. YÖNTEM VE GEREÇLER

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Falkon tüpü (VWR)

Ependorf Tüpü (VWR),

İnsört

Santifrj Cihazı (Mikro 100),

Vorteks Cihazı (VWR),

Derin Dondurucu (Uğur),

Hassas Terazi (Kern),

pH metre (Knick)

Otomatik Pipetler (VWR) (50 ve 200 µL, 1 mL'lik pipetler)

Pipet uçları (VWR) (50 ve 200 µL, 1 mL'lik pipet uçları)

Tüplük

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi Sistemi (HPLC) (Shimadzu, Tokyo, Japonya)

3.2. Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

Enrofloksasin standard (Sigma)

Siprofloksasin standart (Sigma)

Marbofloksasin standard (Sigma)

Danofloksasin standard (Sigma)

Asetonitril (HPLC grade Merck)

Ultra saf su (Deiyonize su)

Trietilamin (HPLC grade Merck)

Ortofosforik asit (HPLC grade Merck)

3.3. Numunelerin Toplanması

Proje kapsamında Hatay ve ilçelerinden toplanan sığır sütleri enrofloksasin, siprofloksasin (enrofloksasinin aktif metaboliti), marbofloksasin, danofloksasin kalıntıları yönünden analizleri yapıldı. Süt sığırı işletmelerinden 70 adet sığır sütü toplandı. Çalışmada toplanan çiğ süt örnekleri analiz zamanına kadar -20 °C de saklandı. Analizler Hatay

Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji-Toksikoloji Ana Bilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı.

3. 4. Yöntem

Hatay'da çiğ inek sütlerinde belirlenen antibiyotiklerin varlığını tespit etmek için kantitatif bir analiz metodu olan HPLC ile ölçüldü.

3.4.1. Süt Numunelerinin Analizi

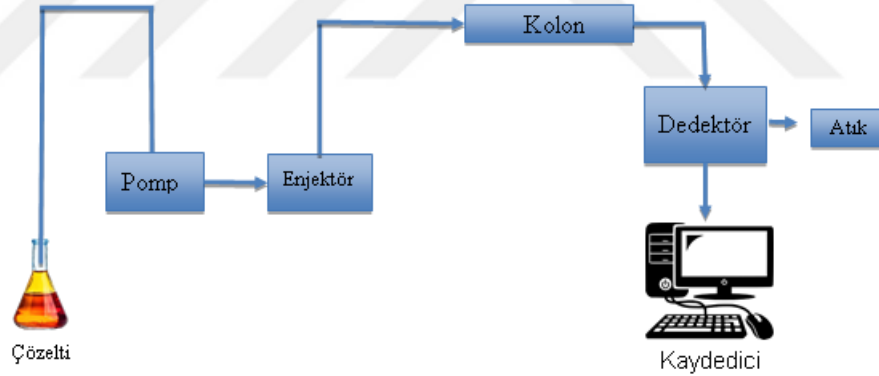
Süt numunelerinde enrofloksasin ve aktif metaboliti siprofloksasin, marbofloksasin ve danofloksasin analizleri daha önce rapor edilen yöntemler kullanılarak HPLC'de gerçekleştirildi (Corum ve ark., 2019; Uney ve ark., 2021; Uney ve ark., 2024). Süt numuneleri buzdolabından çıkartılarak oda ısısına gelmesi sağlandı. 200 µL süt örneği mikrosantrifüj tüplerine konuldu ve proteinleri denatüre etmek için üzerlerine 400 µL asetonitril eklendi. Numuneler 30 saniye vortekslendi ve 10.000 x g'de 10 dakika santrifüjlendi. Numunelerin santrifüjlenmesinden sonra, 100 µL üst fazdan ayrı bir epondorf tüpüne alındı ve üstüne 100 µL saf su ilave edildi. Karışım 10 saniye vortekslendikten sonra viallere alındı ve 20 µL'si HPLC sistemine enjekte edildi.

3.4.2. HPLC Koşulları

Analizler için CBM20A sistem kontrollü pompa (LC-20AT), degasser (DGU-20A), otomatik örnekleyici (SIL-20A) ve kolon fırınından (CTO-10A) oluşan HPLC sistemi (Shimadzu, Tokyo, Japonya) kullanıldı. Enrofloksasin siprofloksasin ve marbofloksasin analizi ultraviyole dedektörde (SPD-20A UV-VIS) danofloksasin analizi ise floresan dedektörde (RF-20AXS) gerçekleştirildi. Dalga boyu enrofloksasin ve metaboliti siprofloksasin için 280 nm'ye ve marbofloksasin için ise 295 nm'de ayarlandı. Danofloksasinin uyarma ve emisyon dalga boyu sırasıyla ile 338 nm ve 425 nm'ye ayarlandı. Kromatografik ayırma için bir C18 kolon (250 × 4,6 mm; iç çap, 5 µm; phenomenex, Torrance, CA) kullanıldı. Kolon ve otosampler için sıcaklıklar sırasıyla 40°C ve 24°C idi. Düşük basınç gradyan sistemiyle donatılmış bir pompa yardımıyla, %82 ortofosforik asit (%0,04 lük) ve trietilamin (%0,04) karışımı ve %18 asetonitril 1 mL/dakika akış hızında HPLC'ye verildi.

3.4.3. Standartların Hazırlanması ve Metot Validasyonu

Standartların hazırlanması Avrupa İlaç Ajansı (EMA, 2011) önerilerine göre oluşturulmuştur. Enrofloksasin ve siprofloksasinin stok solüsyonları 0,01 M NaOH'de 1 mg/ml, danofloksasin ultra saf su da 0.2 mg/ml ve marbofloksasin 1 mg/ml konsantrasyonda hazırlandı. Tüm solüsyonlar -80°C'de saklandı. Stok solüsyonlar dilue edilerek çalışma standartları hazırlandı. Enrofloksasin, siprofloksasin ve marbofloksasin (0, 0,04, 0,1, 0,2, 0,4, 1, 2, 4 ve 10 µg/mL) ve danofloksasinin kalibrasyon standartları (0, 0,02, 0,04, 0,1, 0,2, 0,4, 1, 2, 4 ve 10 µg/mL) kontrol sütlerine çalışma standartları eklenerek hazırlandı. Geri kazanım, kesinlik ve doğrusallığın saptanması için düşük (0,1µg/mL, sadece danofloksasin için 0.04µg/mL), orta (1 µg/mL) ve yüksek (10 µg/mL) konsantrasyonlardaki kalite kontrol örnekleri kullanıldı. Kalite kontrol örnekleri günde altı kez ve altı ayrı günde tekrar edildi. Özgünlük, kesinlik, doğrusallık, duyarlılık ve geri kazanım metot validasyonunun belirlenmesinde performans ölçütleri olarak alındı.



Şekil 5. HPLC Cihazının şematik gösterimi (Yıldız ve ark, 1997)

3.4.4. Metod Validasyon Parametreleri

3.4.4.1. Özgünlük (Specificity)

Özgünlük tespit edilecek olan maddeyi ortamda bulunması muhtemel başka bileşenlerin varlığından ayırarak net bir şekilde gözlemleyebilmesidir. Etken madde ve metabolitlerini içermeyen sütü (negatif kontrol sütü) kullanılarak Danofloksasin, marbofloksasin ve enrofloksasin ve aktif metaboliti siprofloksasinin alıkonma zamanlarında süt ve diğer kaynaklı piklerin olup olmadığı incelendi.

3.4.4.2. Doğrusallık (Linearity)

Belirli sınırlar içerisinde ölçülen analitin konsantrasyonu ile dedektör cevabının ne derece doğru orantılı olduğu ile belirlenir. Çalışma ve kalibrasyon konsantrasyonları, bu konsantrasyonlara karşılık gelen pik alan değerleri kullanılarak korelasyon katsayıları hesaplanır ve kalibrasyon eğrileri çizilir.

3.4.4.3. Kesinlik (Precision)

Homojen bir biyolojik matris hacmine sahip çeşitli örneklerin aynı prosedür çerçevesinde tekrar tekrar yapıldığında elde edilen sonuçların benzerlik derecesinin ifadesidir (CDER 2015). Kesinlik için gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik ölçüt olarak kullanıldı. Kesinlik parametresi standart sapma ve/veya varyasyon katsayısıyla ifade edilir. Aynı konsantrasyona sahip örnekler kullanılarak ortalama, standart sapma ve varyasyon katsayılarının tayini analitik yöntemin kesinliğinin belirlenmesi için kullanılır. Gün içi ve günler arası farklılığın tespiti için düşük, orta ve yüksek konsantrasyondaki kalite kontrol örneklerinin her düzeyi için 6 tekrarlı analiz yapıldı ve 6 gün tekrarlandı. Tekrarlanabilirlik ve tekrar üretilebilirlik, pik alanlara karşılık gelen konsantrasyonların % varyasyon katsayılarının 15'den küçük olmasına göre değerlendirildi.

3.4.4.4. Duyarlılık (Sensitivity)

Bir analitik yöntemde saptanabilen en küçük analit miktarı tespit edilebilir limit (LOD) olarak, ölçülebilirlik sınırı ise (LOQ) olarak ifade edilir. LOD olarak kromatogramın temel çizgisi üzerinde maddelerin oluşturdukları sinyallerin arka plan gürültüye oranının (S/G) 3 olduğu konsantrasyon, LOQ olarak ise S/G oranının 6 olduğu konsantrasyon düzeyi baz alındı. Tespit limiti (LOD) ve hesaplanabilir limiti (LOQ) belirlemek için enrofloksasin, siprofloksasin marbofloksasin ve danofloksasin için en düşük standart solüsyonları blank süt numunelerine yüklendi.

3.4.4.5. Geri Kazanım (Recovery)

Bir ölçümün gerçek değeri metoda bağımlı olarak değişkenlik göstermektedir. Ölçüm sırasında bazı kayıplar meydana gelmektedir. Bu kayıpların hesaplanması ve belirsizliğin giderilmesi gerekmektedir. Meydana gelen bu kayıp miktarları geri kazanım

olarak ifade edilir (Kafalı, 2008). Geri kazanım, süt örneklerinde tayin edilecek maddenin (kalite kontrol örneklerinin) pik alanlarının standartların pik alanları ile karşılaştırılmasıyla hesaplandı.



4.BULGULAR

4.1. Metot Validasyon Bulguları

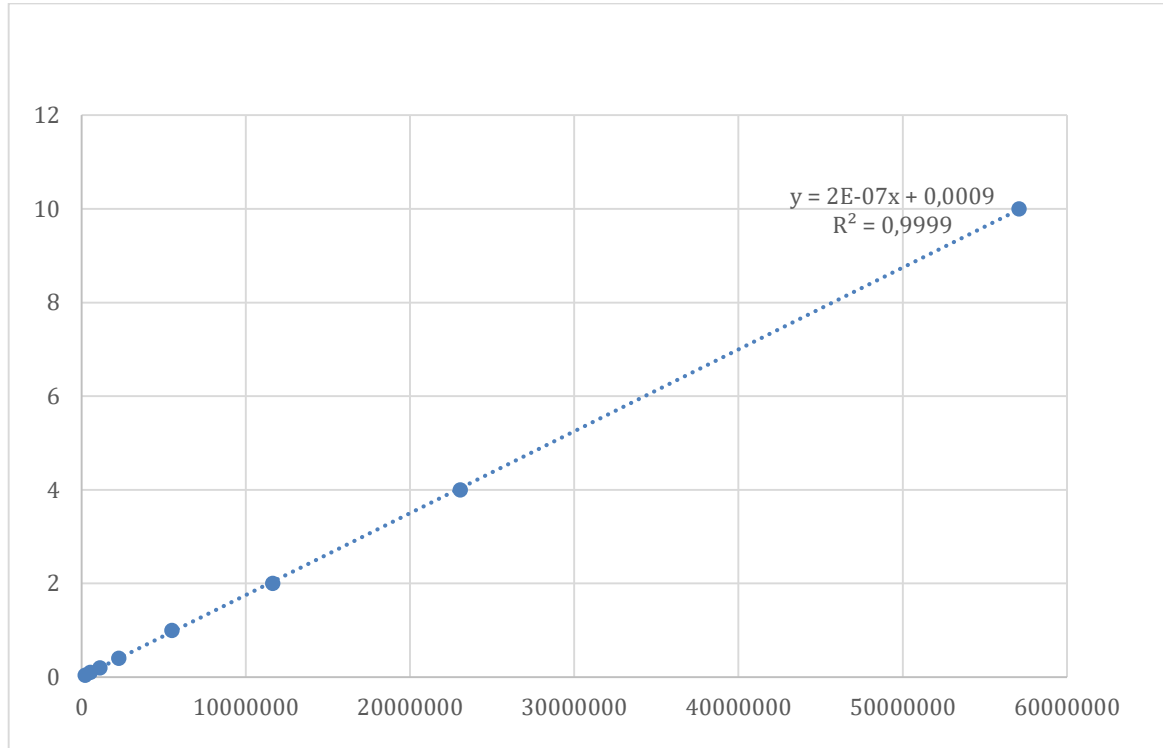
4.1.1. Özgünlük (Specificity)

Etken maddeleri içermeyen süt numunelerinin HPLC sistemine uygulanması sonrasında kromatogram üzerinde enrofloksasin, siprofloksasin, marbofloksasin ve danofloksasinin alıkonma zamanlarında süttten kaynaklanan piklere rastlanmadı.

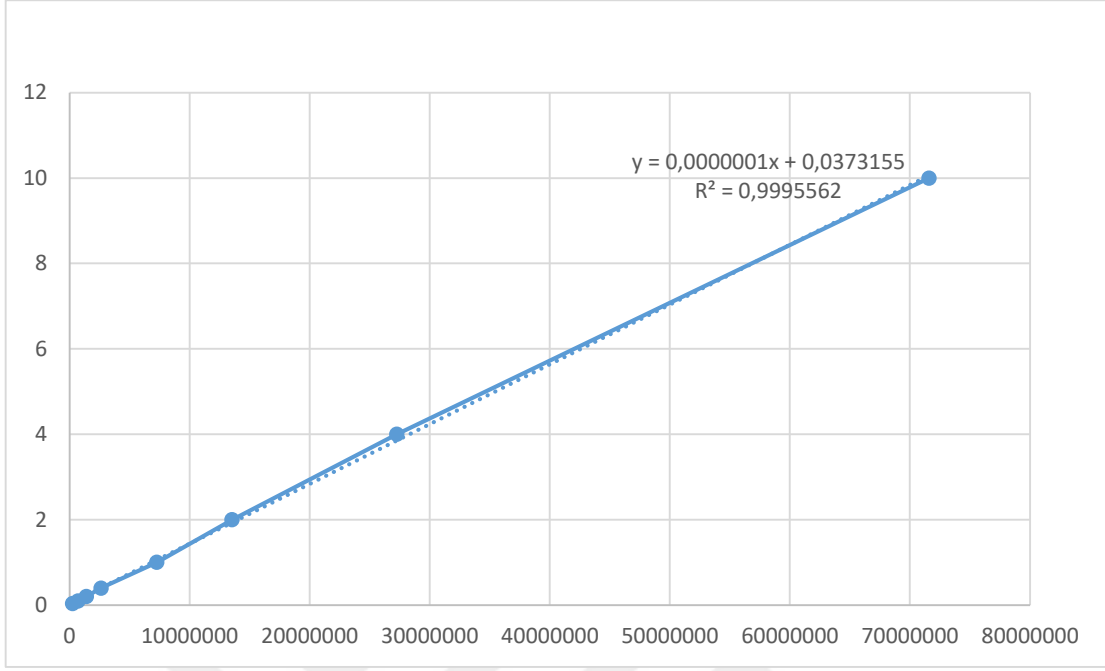
4.1.2. Doğrusallık (Linearity)

Doğrusallık için kalibrasyon eğrilerinin korelasyon katsayısı bulundu. Süt analizinde kalibrasyon eğrileri katsayısı $R^2 = 0,999$ üzerinde bulundu. Elde edilen korelasyon katsayılarının doğrusal olduğu değerlendirildi. Kalibrasyon eğrileri Grafik 4, 5, 6 ve 7'de verilmiştir:

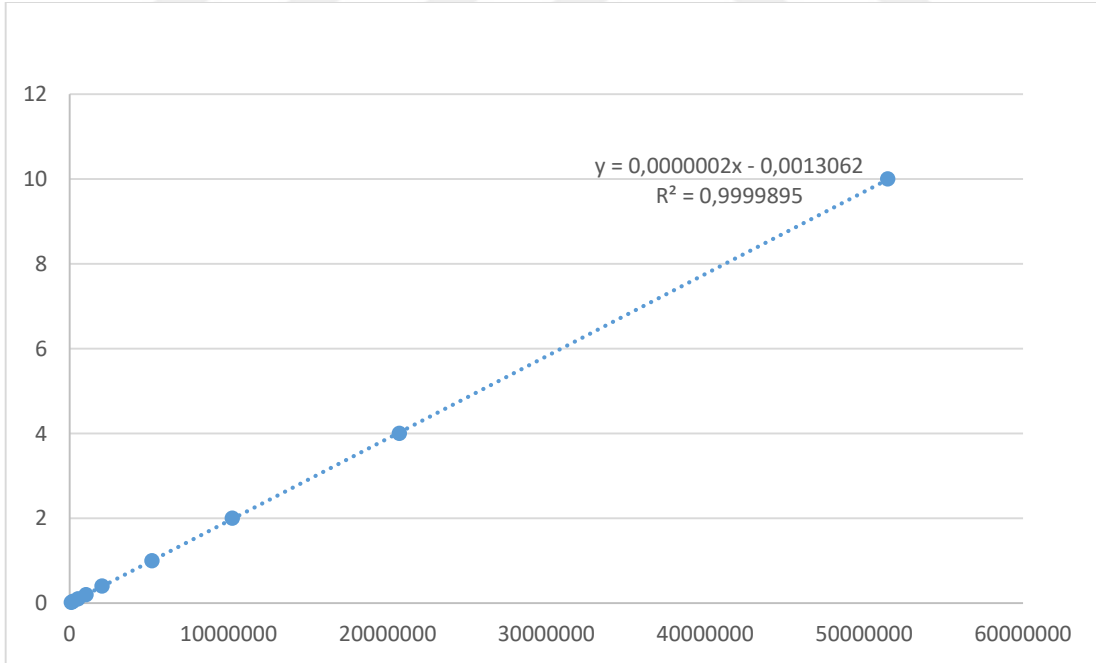
Grafik 4. Siprofloksasin Kalibrasyon Eğrisi



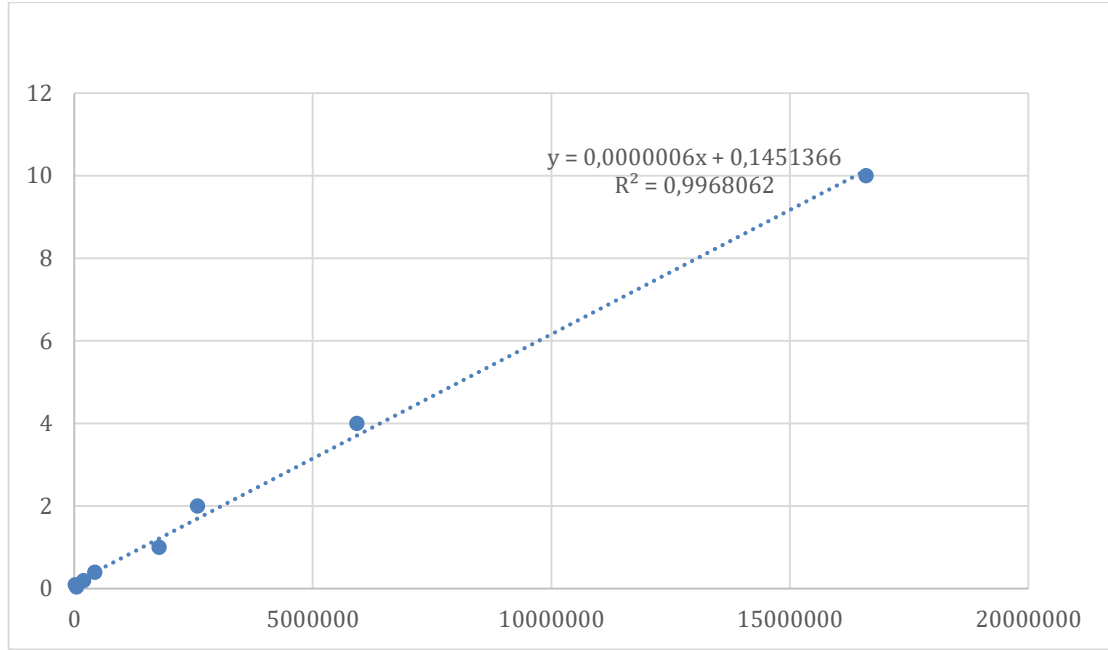
Grafik 5. Enrofloksasin Kalibrasyon Eğrisi



Grafik 6. Danofloksasin Kalibrasyon Eğrisi



Grafik 7. Marbofloksasin Kalibrasyon Eğrisi



4.1.3. Kesinlik (Precision)

Kesinliğin değerlendirilebilmesi için gün içi ve günler arası tekrar edilebilirlik ölçütü olarak kullanıldı. Kalite kontrol örneklerinin her düzeyi altı ayrı günde altı tekrar halinde analiz edildi. Enrofloksasin, siprofloksasin, marbofloksasin ve danofloksasinin sütteki gün içi ve günler arası varyasyon katsayıları sırasıyla % 6.2 ve %4.9 bulundu. Gün içi ve günler arası varyasyon katsayısı %20'den düşük hesaplandı.

4.1.4. Duyarlılık (Sensitivity)

Enrofloksasin, siprofloksasin ve marbofloksasin için en düşük hesaplanabilir limit (LOQ) ve en düşük tespit edilebilir limit (LOD) sırasıyla 40 µg/kg ve 20 µg/kg iken danofloksasin için bu değerler sırasıyla 5 µg/kg ve 2 µg/kg olarak tespit edildi.

4.1.5. Geri kazanım (Recovery)

Metot validasyonu için hazırlanan süt örneklerinde tayin edilecek maddenin pik alanlarının standart çözeltilerin ölçülen pik alanları ile karşılaştırılmasıyla hesaplanmıştır. Enrofloksasin, siprofloksasin, marbofloksasin ve danofloksasin için sırasıyla geri kazanımlar %97, %96, %95 ve %99 olarak tespit edildi.

4.2. Süt Örneklerinde Sonuçlar

70 adet süt örneğinin 7 tanesinde enrofloksasin ve 2 tanesinde marbofloksasin tespit edildi. Ancak süt örneklerinin hiçbirinde siprofloksasin ve danofloksasin tespit edilemedi.

Süt örneklerindeki enrofloksasin düzeyi 40-89 µg/kg arasında (40, 44, 47, 55, 62, 65, 89µg/kg) iken marbofloksasin düzeyi ise 48-64 µg/kg arasında idi. Bu değerlerin ülkemizde sığır sütünde bu ilaçlar için belirtilen maksimum kalıntı limitlerinin (Enrofloksasin: 100 µg/kg, marbofloksasin: 75 µg/kg, TGK, 2007) altında olduğu bulundu.



5.TARTIŞMA

Artan dünya nüfusu, birçok temel ihtiyaç gibi ciddi oranda bir artış ile gıda ihtiyacı doğurmuştur. İnsanlar kısıtlı kaynakları kullanarak daha fazla gıdaya erişebilmek için hayvansal ve bitkisel gıdaların üretimi için verimliliği artırmak çözümüne gitmiştir. Özellikle gıda kaynağı olarak kullanılan hayvanların hastalanması veya bu hayvandan elde edilen etin, sütün miktarının azalması hayvan yetiştiricileri tarafından istenmeyen durumdur. Hayvansal kaynakların üretimi sürecinde verimi artırmak amacıyla birçok ilaç grubu gibi antibiyotikler de yoğun olarak kullanılmaktadır. Bilinçli kullanıldığında son derece fayda sağlayan bu ilaçlar, kontrol dışı kullanıldıklarında faydadan çok zarar sağlar. Kontrolsüz kullanılan antibiyotikler halk sağlığını da tehdit edici boyutlara ulaşabilir.

Bu çalışmada Hatay ilinde çiftliklerde üretilen 70 adet çiğ sütte florokinolon grubu antibiyotiklerden enrofloksasin, marbofloksasin ve danofloksasin antibiyotiklerinin varlığı araştırılmıştır. Antibiyotik kalıntı miktarlarını incelemek üzere HPLC cihazı ile kantitatif analiz gerçekleştirilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda 61 numunede antibiyotik varlığına rastlanmamıştır. Antibiyotik kalıntısı bulunan 9 adet numunenin de hepsi maksimum kalıntı limiti altında olduğu tespit edilmiştir. Hatay ilinde yaptığımız bu çalışmada süt üretimi yapılan işletmelerde antibiyotik kullanıldığı, ancak çiftçiler tarafından antibiyotiklerin sütlerden arınma süresine dikkat edildiği tespit edilmiştir.

Nizamlioğlu ve Aydın tarafından 2012 yılında Konya ilinde yapılan çalışmada kinolon antibiyotik kalıntılarının (enrofloksasin, siprofloksasin, danofloksasin, marbofloksasin, sarafloksasin, difloksasin, flumequin ve oksolinik asit) varlığı, toplanan 50 adet çiğ sütte ELISA tekniği kullanılarak analiz edilmiştir. Analiz sonunda süt örneklerinin hiçbirinde ise tespit edilebilir düzeyde kinolon kalıntılarına rastlanılmamıştır (Nizamlioğlu, 2012).

Temamoğulları ve ark. tarafından 2010 yılında yapılan çalışmada, 120 adet çiğ ve pastörize süttten oluşan toplam 240 adet numunede danofloksasin, enrofloksasin, eritromisin, florfenikol, ampisilin, amoksisilin ve kloksasilin antibiyotiklerinin kalıntı miktarı incelenmiştir. Analizleri gerçekleştirmek için İTK ve mikrobiyolojik disk difüzyon tekniğine dayalı biyootografi yöntemlerini kullanılmışlardır. 239 örnekte herhangi bir kalıntı saptanmamıştır. 1 tane pastörize sütte ampisilin kalıntısına rastlanmıştır. Bu 1 örnek de Türk

Gıda Kodeksinin kabul ettiği MKL'nin değerin üzerinde antibiyotik kalıntısı içermektedir (Temamoğulları ve ark, 2010).

Çancılar ve ark. tarafından 2017 yılında Afyon ilinden toplanan 80 adet çiğ süt örneklerinde kinolon grubu antibiyotiklerin kalıntısını ELISA yöntemiyle araştırılmıştır. 70 numunenin kalıntı içermediği, 10 örnekte ise maksimum kalıntı limitlerinin altında kalıntı varlığı tespit edilmiştir (Çancılar ve ark, 2017). Bu araştırmanın sonuçları, mevcut çalışmamızın sonuçlarıyla benzerdir.

Taşçı ve ark. tarafından Burdur'da 2021 yılında yayınlanan başka bir çalışmada 130 süt örneğinden, 3 UHT sütte ortalama 0.016 µg/mL, 1 inek sütünde 0.012 µg/mL ve 3 keçi sütünde ortalama 0.016 µg/mL siprofloksasin bulunurken numunelerin hiçbirinde enrofloksasin tespit edilememiştir. Türk Gıda Kodeksi'nde sütte izin verilen maksimum enrofloksasin ve metaboliti konsantrasyonundan az olduğu kaydedilmiştir. Sonuçlar mevcut çalışmamızla uyumlu çıkmıştır.

Ardıç ve Durmaz'ın tarafından 2006 yılında yapılan çalışmada ise Şanlıurfa'da yarısı yaz, yarısı kış aylarında alınan 300 çiğ süt örneğinin, kalitatif analizinde disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. 96'sında antimikrobiyal kalıntı olduğu, bunların 64'ünün beta laktam grubu antibiyotikler olduğu, 32'sinin de diğer antibiyotik gruplarına ait kalıntılar olduğu kaydedilmiştir. Antibiyotik kalıntılarının kış aylarında alınan sütlerde daha fazla olması, özellikle bu aylarda insidansı artan mastisit enfeksiyonları sonrası sağaltım sürelerine yeterince uyulmadığını ortaya koymuştur.

2018 yılında Afyonkarahisar'da ELİSA yöntemi kullanılarak 80 numuneyle yapılan başka bir çalışma, 38 numunenin antibiyotik kalıntısı olmadığını, 35'inin maksimum kalıntı limitinin altında kalıntı içerirken, 7 tanesinin bu değerlerin üzerinde olduğu kaydedilmiştir (Aycan, 2018). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, mevcut çalışmamızdan daha yüksek olduğu görülmüştür. Özellikle 7 ayrı süt numunesinin halk sağlığı için risk taşımaktadır.

Dokuzlu ve ark, 2001'de Bursa'da yapılan bir kalitatif analizde 150 çiğ süt örneğinin 40'ında antibiyotik kontaminasyonuna rastlanmıştır. Disk difüzyon yöntemiyle incelenen numunelerden 2 tanesinde kullanılması yasak olan kloramfenikol bulunmuştur. Diğer kalıntı içeren numunelerde penisilin, tetrasiklin ve diğer antibiyotikler bulunmuştur.

Temamoğulları ve arkadaşlarının 2010 yılında yayınladığı bir çalışmada Ankara'dan toplanan yarısı çiğ ve yarısı UHT olmak üzere toplam 240 süt, ince tabaka kromatografisi ve disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Danofloksasin ve enrofloksasinin de dâhil olduğu

7 antibiyotik açısından analiz edilmiş ve sadece 1 UHT sütte 300 µg/L ampisilin kalıntısına rastlanmıştır. Mortaş ve arkadaşlarının, bu çalışmadan yaklaşık 10 yıl sonra 2022 'de Ankara'da yaptıkları başka bir çalışmada sokakta satılan 60 süt örneği, antibiyotik test kitiyle 17 tanesinde beta laktam, 1 tanesinde de tetrasiklin grubu antibiyotik varlığı gösterilmiştir. 60 numunenin 18'inde antibiyotik kalıntısı Idexx Snap ST Plus DUO test kiti tespit edilmiştir. Mevcut çalışmamızda ise tespit ettiğimiz antibiyotik kalıntıları maksimum kalıntı limitinin altındadır.

Tuncay ve arkadaşlarının 2022 yılında Van'da yaptığı bir kalitatif çalışma, antibiyotik test stripleri ile 60 adet çiğ süt örneğinde 8'inde beta laktam grubu, 6'sında ise tetrasiklin grubu antibiyotik varlığı ortaya konulmuştur.

Akhan ve arkadaşlarının 2023'te İstanbul'da 100 UHT süt numunesinde antibiyotik test kitiyle incelenen sütlerin hiçbirinde antibiyotik kalıntısına rastlanmamıştır. Kinolon antibiyotikler yönünden sütlerde bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı limitlerinin altında olduğu görülmüştür. Bu sonuca göre antibiyotik uygulanmış olan hayvanlardan gerekli arınma süresine tamamen uyularak sütlerin tüketime sunulduğu sonucuna varılabilir.

Bilandžić ve arkadaşlarının 2011 yılında Hırvatistan'da yayınladığı bir çalışmada mikrobiyoloji ve immunoassay yöntemi kullanılarak kinolon, sefalosporin, penisilin, tetrasiklin, kloramfenikol, sülfonamid, beta laktam grubu antibiyotik varlığı araştırılmıştır. Bu çalışmada 1259 adet çiğ süt numunesinde 37 adet numunede MKL'yi geçmeyen konsantrasyonlarda antibiyotik kalıntısı tespit edilmiştir. Bu sonuçların mevcut çalışmamızla uyumlu olduğu görülmüştür.

Ibarra ve arkadaşlar tarafından 2012'de Meksika'da rastgele seçilen 20 süt örneği kapiler elektroforez yöntemiyle incelenmiştir ve tüm örnekler MKL altında değişen konsantrasyonlarda antibiyotik içermektedir. 20 numuneden 15'i danofloksasin, 17'si marbofloksasin, 13'ü siprofloksasin ve 18'i oksolinik asit içerdiği kaydedilmiştir. Meksika'da ve mevcut çalışmamızda süt inekçiliğinde antibiyotik kullanıldığı ve arınma sürelerine dikkat edildiği görülmüştür.

Zheng ve arkadaşlarının 2013'te Çin' de 10 farklı ilde toplanan 199 çiğ sütteki kinolon, beta-laktam, tetrasiklin, sülfonamid grubu antibiyotiklerden bazılarının miktarları ELİSA yöntemiyle araştırılmıştır, 3.55 ile 13.31 µg/kg arasında farklı konsantrasyonlarda numuneler kaydedilmiştir. Toplam numunelerin hiçbirinde tetrasiklin bulunmazken, sırayla kinolon, sülfonamid ve beta laktam grubu antibiyotik bulunma yüzdeleri: %47,2, %20,1,

%0,5'i olarak kaydedilmiştir. Sadece 1 numunede beta laktam MKL üzerinde tespit edilmiştir. Aynı ülkede Zhang ve arkadaşları tarafından 2020 yılında yapılan bir çalışmada pastörize süt üretimi yapan 10 merkezden toplanan toplam 182 süt örneğinin 15'inde antibiyotik tespit edilmiştir. HPLC ve ardışık kütle spektrofotometresi ile tespit edilen veteriner ilaçlar penisilin G, tetrasiklin, tilosin, amoksisilin, oksitetrasiklin ve gentamisin olarak belirlenmiştir. Bu numunelerde kalıntı seviyeleri; sırasıyla 3,4; 11,9; 28,2; 3,0; 26,9 ve 63,5 µg/kg şeklinde olup tüm kalıntı içeren numuneler MKL'nin altında kalıntı olarak kaydedilmiştir. Mevcut çalışmamızla sonuçların uyumlu olduğu görülmüştür.

Rahman ve ark. tarafından 2021 yılında Bangladeş'te yapılan bir çalışmada ince tabaka kromatografisiyle ve HPLC kullanılarak amoksisilin, streptomisin, oksitetrasiklin, gentamisin ve seftriakson antibiyotiklerinin varlığı tespit edilmesi hedeflenmiştir. Toplam 100 adet çiğ süt ve marketten alınan UHT süt numunesi toplanmıştır. Marketten alınan sütlerin daha az antibiyotik kalıntısı içerdiği ortaya konulmuştur. 5 oksitetrasiklin ve 3 amoksisilin olmak üzere, toplam 8 numunede MKL üzerinde antibiyotik varlığı kaydedilmiştir. Sonuçlar, mevcut çalışmamızdaki antibiyotik kalıntı miktarlarından yüksektir.

Navratilova ve ark Çek Cumhuriyeti'nde 150 inek sütüyle yapılan bir araştırmada siprofloksasin, enrofloksasin, danofloksasin ve marbofloksasin varlığı ters faz HPLC ile araştırılmıştır. Numunelerden 131 tanesinin florokinolon kalıntısı içerdiği, hepsinin MKL altında değerde kaydedildiği gösterilmiştir. Sonuçlar mevcut çalışmamızla uyumludur.

Aalipour ve arkadaşları tarafından 2015'te İran'da yapılan bir çalışmada ise oksitetrasiklin, tetrasiklin, klortetrasiklin ve doksisisiklin kalıntılarının varlığı, 24 İran ambalajlı ticari süt, 33 sterilize ve 154 pastörize, toplam 187 sütte araştırılmış ve 4'ü MKL üzerinde olan 37 süt öreğinde antibiyotik kalıntısına rastlanmıştır.

Elde edilen sonuçlar, Türkiye'deki diğer sütte antibiyotik kalıntı araştırmaları ile benzerdir. Türkiye'deki üretici ve tüketici farkındalığı artmıştır. Süt inekçiliğinde antibiyotik kullanılsa bile kalıntı arınma sürelerine dikkat edildiği tespit edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada Hatay il merkezi ve ilçelerinden toplanan sığır sütlerinde enrofloksasin, marbofloksasin ve danofloksasinin kalıntısının olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Tüketilen sütlerde halk sağlığını tehdit edebilecek düzeyde kalıntı olup olmadığının tespit edilmesi çalışmanın önemini oluşturmaktadır. Proje kapsamında Hatay ve ilçelerinden toplanan 70 sığırın sütleri enrofloksasin, siprofloksasin (enrofloksasinin aktif metaboliti), marbofloksasin ve danofloksasin kalıntıları yönünden analiz edildi. Sütlerdeki kinolon antibiyotiklerin bulunma düzeyinin izin verilen maksimum kalıntı limitlerinin altında olduğu tespit edilmiştir. Yapılan araştırmada, antibiyotik uygulanmış hayvanlarda gerekli arınma süresine uyularak sütlerin tüketime sunulduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu alanda çalışma yapacak araştırmacılara önerilerimiz şunlardır:

- Gıda güvenliği, sağlık otoriteleri tarafından takip edilmesi gereken önemli bir konudur. Bu konuda hayvansal ürün satışı yapılan işletmeler için Türkiye’de “Hastalıktan Ari İşletmeler” projesi hayata geçirilmiştir. Bunun gibi “İlaç Kalıntılarında Ari İşletme” projesi gibi proje ve finansal desteklerle süt ve süt ürünleri işletmeleri, kaliteli üretime teşvik edilebilir.
- Hayvan yetiştiricilerinin ilaç ve antibiyotik kullanımı konusunda periyodik olarak eğitim düzenlenmeli ve belli aralıklarla denetlenmelidir. Kamu ve özel sektördeki kurum ve kuruluşlar sütün antibiyotik varlığı açısından analizlerini ve kontrollerini düzenli bir şekilde sürdürmelidir.
- Çiğ sütlerde, antibiyotik direnci ve kalıntısı yönünden izlenerek gerekli önlemler alınmalıdır. Son tüketiciye sunulan süt ve süt ürünlerinin çoklu antibiyotik kalıntısı yönünden analiz edilmesine olanak sağlayan analiz yöntemleri ile yapılarak önlemlerin alınması halk sağlığının korunmasına katkı sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Aalipour F, Mirlohi M, Jalali M, Azadbakht L. Dietary exposure to tetracycline residues through milk consumption in Iran. *J Environ Health Sci Eng.* 2015, 23(13):80. doi: 10.1186/s40201-015-0235-6.
2. Akkaya R. Florokinolon Grubu Antibiyotikler. *Etlik Vet. Mikrob. Derg.* 1997,9.(1).
3. Andriole VT. The Future of the Quinolones. *Drugs.*1999, 58 (2): 1–5. <https://doi.org/10.2165/00003495-199958002-00001>.
4. Anonim. Committee For Veterinary Medicinal Products. Enrofloxacin. 1998a. EMEA/MRL/398/98-Final.
5. Anonim. Committee For Veterinary Medicinal Products. Danofloxacin. 1998b. EMEA/MRL/458/98-Final.
6. Anonim. Committee For Veterinary Medicinal Products. Publicstatement on the use of (fluoro) quinolones in food-producing animals in the European Union: development of resistance and impact on human and animal health. EMEA/CVMP/SAGAM, 2007: 1–18. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Public_statement/2009/10/WC500005152.pdf.
7. Ardiç M, Durmaz H. Investigation of beta-lactam residues in unpacked milk consumed in Sanlıurfa Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi. 2006, 1(1-4):74-77.
8. Aycan E, İnce S. Presence of Beta-Lactam Antibiotic Residues in Raw Milk Obtained From Afyonkarahisar Province. *Kocatepe Veterinary Journal.* 2018, 11(2): 113- 118.
9. Bacanlı M, Başaran N. Importance of antibiotic residues in animal food. *Food Chem Toxicol.* 2019, 125:462-466. doi: 10.1016/j.fct.2019.01.033.
10. Bhatt S, Chatterjee S. Fluoroquinolone antibiotics: Occurrence, mode of action, resistance, environmental detection, and remediation- A comprehensive review. *Environ Pollut.* 2022, 15;315:120440. doi: 10.1016/j.envpol.2022.120440.
11. Bilandžić N, Solomun Kolanović B, Varenina I, Scortichini G, Annunziata L, Brstilo M, Rudan N. Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia. *Food Control.* 2011, 22 (12);1941-48. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.05.007>.
12. Campoli-Richards DM, Monk JP, Price A, Benfield P, Todd PA, Ward A. Ciprofloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs.* 1988, 35(4):373-447. doi: 10.2165/00003495-198835040-00003.
13. CDER (U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research Center for Veterinary Medicine (CVM)), 2015. Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation.
14. Çorum O, Altan F, Yildiz R, Ider M, Ok M, Uney K. Pharmacokinetics Of Enrofloxacin And Danofloxacin In Premature Calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics,* 2019, 42(6):624-631.
15. Çorum O, Terzi E, Durna Çorum D, Kenanoglu ON, Bilen S, Uney K. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Integration of Marbofloxacin After Oral And Intravenous Administration in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Aquaculture,* 2020, 514:1-5.
16. Dokuzlu C, Tayar M. Bursa ve çevresinde çiğ sütlerde antibiyotik varlığının belirlenmesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi. Eurasian Journal of Veterinary Sciences.* 2001, 17(1): 153- 157.
17. EFSA. Risk assessment of aflatoxins in food, *EFSA Journal.* 2020,18(3):e06040. doi: 10.2903/j.efsa.2020.6040.
18. EMEA. (2002a). Enrofloxacin, summary report (5) committee for veterinary medicinal products. EMEA. EMEA/MRL820/02 final.
19. EMEA/CVMP/818/99 A Risk Management Strategic Plan for controlling Antimicrobial Resistance through the Authorisation of Veterinary Medicines
20. Ertaş Ö, Kayalı A. Analitik Yöntem Geçerliliğine Genel Bir Bakış. 2005,34(1): 40-57.
21. Et ve Süt Kurumu, Süt ve süt ürünleri tüketmenin önemi nedir? [internet sitesi] (son erişim: 5.12.23.) (<https://www.esk.gov.tr/tr/10903/Sut-ve-sut-urunleri-tuketmenin-onemi-nedir>)
22. European Medicines Agency (EMA). (2011). Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP); Guideline on Bioanalytical Method Validation, EMA/CHMP/EWP/192217/2009.
23. European Medicines Agency (EMA), London, UK www.ema.eu.int, Agency For Veterinary Medicinal Products French Agency For Food Safety.

24. Ghosh S, LaPara TM. The effects of subtherapeutic antibiotic use in farm animals on the proliferation and persistence of antibiotic resistance among soil bacteria. *ISME J.* 2007, 1(3):191-203. doi: 10.1038/ismej.2007.31.
25. Gıdalarda Katkı-kalıntı ve Bulaşanların İzlenmesi -II-. Bursa: Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü Bursa Gıda Kontrol ve Merkez Araştırma Enstitüsü, 2002.
26. Giguère S, Prescott JF, Dowling PM. Fluoroquinolones. In: Giguère, S., Dowling, P.M. (Eds.), *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine*. Wiley Blackwell, Iowa, USA, 2013, 295–315.
27. Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM) May 2001 BP.
28. Gülay Z. Kinolon Direnci. *Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi.* 2002,7(4): 225-232.
29. Halleran JL, Callahan BJ, Jacob ME, Sylvester HJ, Prange T, Papich MG, Foster DM. Effects of danofloxacin dosing regimen on gastrointestinal pharmacokinetics and fecal microbiome in steers. *SciRep.* 2021, 11:11249. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90647-z>
30. Ibarra IS, Rodriguez JA, Paez-Hernandez ME, Santos EM, Miranda JM. Determination of quinolones in milk samples using a combination of magnetic solid-phase extraction and capillary electrophoresis. *Electrophoresis,* 2012,13: 2041-2048.
31. Kafalı, H. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kolon sonrası türevlendirme ile 7 adet sulfonamid tespitinin metot validasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, 2008.
32. Kantiani L, Farré M, Barceló D. Analytical methodologies for the detection of β lactam antibiotics in milk and feed samples. *TrACTrends in Analytical Chemistry.* 2009,28(6): 729-744.
33. Küçük R, Tapkı N. Hatay İlinde Süt ve Süt Ürünleri Üreten İşletmelerin Üretim ve Pazarlama Yapısı. *Hayvan Bilimi ve Ürünleri Dergisi.* 2020, 3(2): 104-119.
34. Kyuchukova R. Antibiotic residues and human health hazard-review. *Bulg. J. Agric. Sci.* 2020, 26(3):664–668.
35. Mortaş H, Bilici S, Varlı S. Sokak Sütlerinde Gizli Tehlike: Antibiyotik Kalıntısı. *Beslenme ve Diyet Dergisi.* 2022, 50(1): 19- 26.
36. National Research Council (US) Committee on Drug Use in Food Animals. *The Use of Drugs in Food Animals: Benefits and Risks.* Washington (DC): National Academies Press (US); 1999. 5, Drug Residues and Microbial Contamination in Food: Monitoring and Enforcement. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK232575/>.
37. Navrátilová P, Borkovcová I, Vyhnálková J, Vorlová L. Fluoroquinolone residues in raw cow's milk. *Czech J. FoodSci.* 2011, 29: 641–646.
38. Pham TD, Ziora ZM, Blaskovich MA. Quinolone antibiotics. *Med chem comm* 2019, 10 (10): 1719–1739.
39. Ragnar Norrby S, Lietman PS. Safety and Tolerability of Fluoroquinolones. *Drugs.* 1993: 45 (3), 59–64. <https://doi.org/10.2165/00003495-199300453-00012>.
40. Rahman MS, Hassan MM, Chowdhury S. Determination of antibiotic residues in milk and assessment of human health risk in Bangladesh. *Heliyon.* 2021 Aug 8;7(8):e07739. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e07739.
41. Rana MS, Lee SY, Kang HJ, Hur SJ. Reducing Veterinary Drug Residues in Animal Products: A Review. *Food Sci Anim Resour.* 2019, 39(5):687-703. doi: 10.5851/kosfa.2019.e65.
42. Riaz L, Mahmood T, Khalid A, Rashid A, Ahmed Siddique MB, Kamal A, Coyne MS. Fluoroquinolones (FQs) in the environment: A review on their abundance, sorption and toxicity in soil. *Chemosphere.* 2018, 191:704-720. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.10.092.
43. Riviere JE, Papich MG. *Veterinary pharmacology and therapeutics.* John Wiley & Sons. 2018,10: 324-331.
44. Roca M, Castillo M, Marti P, Althaus RL, Molina MP. Effect of heating on the stability of quinolones in milk. *J Agric Food Chem.* 2010, 58(9):5427-31. doi: 10.1021/jf9040518.
45. Sachi S, Ferdous J, Sikder MH, Azizul Karim Hussani SM. Antibiotic residues in milk: Past, present, and future. *Journal of advanced veterinary and animal research.* 2019, 6(3): 315–332. <https://doi.org/10.5455/javar.2019.f350>.
46. Stahlmann R. Clinical toxicological aspects of fluoroquinolones. *Toxicol Lett.* 2002,127(1-3):269-77. doi: 10.1016/s0378-4274(01)00509-4.

47. Taşçı F, Canbay HS, Doğanturk M. Determination of antibiotics and their metabolites in milk by liquid chromatography-tandem mass spectrometry method. *Food Control*. 2021, 127, 108147. doi:10.1016/j.foodcont.2021.10814.
48. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Hayvansal Gıdalar İçin Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliği. Resmî Gazete: 27 Aralık 2011-28155. Erişim: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111227-10.htm> Erişim Tarihi: 07 Mart 2022.
49. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği. Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği. Resmî Gazete: 7 Mart 2017- 30000. Erişim: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2017/03/20170307-4.htm> Erişim Tarihi: 7 Mart 2022.
50. Temamogulları F, Kaya S. Ankara piyasasında satılan sütlerde bazı Antibiyotik Kalıntılarının ince tabaka kromatografisi ve biyootografik yöntemle saptanması. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2010, 16(2): 187- 191.
51. Troughon, T. Lefebvre, S. A review of enrofloxacin for veterinary use. *Open Journal of Veterinary Medicine*. 2016, 6(2): 40-58. <https://doi.org/10.4236/ojvm.2016.62006>.
52. Tuncay R, Sancak Y, Çakmak T, İşleyici Ö. Van'da Tüketime Sunulan Çiğ Sütlerde Mikrobiyolojik Kalite ve Antibiyotik Varlığı. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*. 2022, 12(1): 53- 63. 10.53518/mjavl1033318
53. TÜBER Beslenme Rehberi. 2022. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/saglikli-beslenme-ve-hareketli-hayat-db/Dokumanlar/Rehberler/Turkiye_Beslenme_Rehber_TUBER_2022_min.pdf
54. Turgut, K. Veterinary clinic laboratory diagnosis, second press, Bahcivanlar Press, Konya, Turkey. 2000, 17-123, 202- 257, 320-366.
55. TÜBA-İnsan ve Hayvan Sağlığında Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Antibiyotik Dirençlilik Raporu. 2017.
56. Resmî Gazete. 7 Mart 2017. Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Veteriner İlaçlarına Ait Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitlerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ.
57. Uney K, Corum DD, Marin, P, Coskun D, Terzi E, Badillo E, Corum O. Effect of Body Size on Plasma and Tissue Pharmacokinetics of Danofloxacin in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animals*.2024, 14(22): 3302. <https://doi.org/10.3390/ani14223302>
58. Uney K, Terzi, E Durna Corum D, Ozdemir RC, Bilen S, Corum O. Pharmacokinetics and pharmacokinetic/pharmacodynamic integration of enrofloxacin following single oral administration of different doses in Brown trout (*Salmo trutta*). *Animals*. 2021,11(11): 3086. <https://doi.org/10.3390/ani11113086>
59. Validation of Analytical Procedures. Proceedings of the International Conference on Harmonisation (ICH). Commission of the European Communities, 1996.
60. Van Doorslaer X, Dewulf J, Van Langenhove H, Demeestere K. Fluoroquinolone antibiotics: an emerging class of environmental micropollutants. *The Science of the total environment*. 2014, 500-501, 250–269. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.075>
61. Yasini SA, Zadeh MHB, Shahdadi H. The antibacterial activity and toxicity of enrofloxacin are decreased by nanocellulose conjugated with aminobenzylpurin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2015, 135: 518-524. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.08.005>
62. Yıldız A, Genç Ö, Bektaş S. Enstrümental Analiz Yöntemleri. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara. 1997.
63. Yılmaz ÖT, Hızlısoy, H, Onmaz NE, Al S, Yıldırım Y, Gönülalan Z. Sütte antibiyotik kalıntı durumunun incelenmesi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*.2018, 15(2):169-178.
64. Zhang WQ, Yu ZN, Ho H, Wang J, Wang YT, Fan RB, Han RW. Analysis of Veterinary Drug Residues in Pasteurized Milk Samples in Chinese Milk Bars. *J Food Prot*. 2020, 83(2):204-210. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-19-333.
65. Zheng N, Wang J, Han R, et al. Occurrence of several main antibiotic residues in raw milk in 10 provinces of China. *Food Addit Contam Part B Surveill*. 2013, 6(2):84-89. doi:10.1080/19393210.2012.727189.

ÖZGEÇMİŞ

Eğitim

Nihal Turgut Anlar Anadolu Öğretmen Lisesi 2012-2016

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi 2016-2021

Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi- Farmakoloji –Toksikoloji Yüksek Lisans (devam ediyor)

İş Hayatı

Hatay Özge Eczanesi 2021-2022

Hatay Antakya Özel Akademi Hastanesi 12.2022-02.2023

Konya Torun Eczanesi 03.2023- 08.2023

Kağızman Devlet Hastanesi 05.2024

İstanbul Başakşehir Devlet Hastanesi 05.2024- (devam ediyor)