

Balık Kas Dokuda Tetrasiklin Grubu Bazı Antibiyotiklerin Araştırılması

Mansur Seymen SEĞMENOĞLU¹

¹ Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü, 01122, Türkiye

Geliş tarihi/Received:25.4.2014, Kabul Tarihi/Accepted: 16.9.2014

Özet

Balıkların birçok bakteriyel hastalığında yaygın olarak tetrasiklin grubu antibiyotikler kullanılmaktadır. Bu maddelere balığın dokularında kalıntı olarak rastlanmaması hem ürün hem de insan sağlığı açısından önemlidir. Bu bağlamda 2011-2013 yılları arasında “Ulusal Kalıntı Planı” çerçevesinde enstitü laboratuvarımıza gelen 386 adet balığa ait kas doku örnekleri Charm II cihazı ile tarama işleminden geçirildi ve yalnızca 2011 yılında gelen numunelerin 3 adedinde oksitetrasiklin kalıntısına rastlandı, 2012 ve 2013 yılında gelen balık örneklerinde kalıntıya rastlanmadı. Son yıllarda balık işletmelerinin bilinçli antibiyotik kullandıkları ve ilaç prospektüs bilgilerine riayet ettikleri görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: balık, kalıntı, tetrasiklin

The Observation of Some Antibiotics of Tetracycline Group within the Fish Muscle Tissue

Abstract

In many bacterial diseases of the fish, the tetracycline group antibiotics are commonly used. So, these substances are not found in the tissue of the fish is important for both production and human health. In the framework of “National Residue Plan”, 386 fish muscle tissue samples which had been brought to our laboratory were scanned using the Charm II and only three of the samples which were brought to our laboratory were found the oxytetracycline in 2011 residue. No residue was seen in 2012 and 2013 samples. In the recent years, the fish farms have been much conscious in using antibiotics and they have used the medicines according to their prescribing information.

Key Words: fish, residue, tetracycline

GİRİŞ

Beslenme, hızla artan dünya nüfusunun en önemli problemlerinden biridir (4). Hayvansal kaynaklı beslenme ihtiyacını karşılamak için; yetiştiriciliği yapılan hayvanlarda hastalıkların

sağaltımı ve önlenmesi, gelişiminin hızlandırılması ve yemden yararlanmanın artırılması, paraziter hastalıkların kontrolü ve beslenmenin desteklenmesi amacıyla çok sayıda ilaç, hormon, vitamin ve mineral madde kullanılmaktadır(5).

İletişim/Correspondence

Mansur Seymen SEĞMENOĞLU: Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü, 01122, Adana, Türkiye, TLF: +903222390490 E-mail: mansurseymen@mynet.com

Gelişmekte olan ülkelerde antibiyotik insan, hayvan, bitki ve su canlılarında yaygın olarak kullanılmaktadır (8). Ülkeler arası farklılık göstermek ile beraber hayvancılıkta kullanılan ilaç ve yem katkı maddelerinin %30'luk bir kısmını antibiyotikler oluşturmaktadır, bu kullanılan miktarın yaklaşık %40'luk bir kısmı da verim artırma ve koruyucu amaç oluşturmaktadır (11). Geçmişte hayvanlarda ölüm ve ekonomik kayba neden olan, önu kesilemeyen, birçok hastalık, günümüzde antibiyotiklerin zamanında kullanılmasını ile daha ortaya çıkmadan engellenebilmektedir (5).

Hayvanlarda hayvan sağlığının kontrolü, hastalıklarının sağaltımı, önlenmesi ile gelişmenin hızlandırılması amacıyla doğrudan veya suya ya da yeme katılarak uygulanan ilaç ve diğer kimyasal maddelerin kullanılmasını takiben hayvanın besin değeri taşıyan doku ve organları ile bunlardan elde edilen besinlerde biriken veya depolanan değişmemiş, metabolitleri, parçalanma ürünleri, serbest veya bağlı haldeki maddeler kalıntı olarak tanımlanır (5).

İnsan gereksinimi olan protein kaynaklarının doğada sınırlı hale gelmesi, alternatif yaklaşımları ortaya çıkarmaktadır. Buna bağlı olarak su ürünleri yetiştiriciliği de her geçen gün büyüyen bir sektör haline gelmiştir (1).

Tetrasiklinler su ürünleri yetiştiriciliği sektöründe yaygın olarak geniş spektrumlu antibiyotik bileşikleridir (6). Balıklarda görülen bakteriyel hastalıkların sağaltımında tetrasiklin grubu ilaçlar özellikle de oksitetrasiklin yaygın olarak kullanılmaktadır (1, 10). Oksitetrasiklin HCL Amerikan Federal Besin ve İlaç Birliği (FDA) tarafından su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanımına izin verilen ilk antibiyotiktir (9).

Balıklarda görülen bakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ajanların immun sistemi baskıladığı, gastro-intestinal sistemde problemlerine, viruslarla süper enfeksiyonlara, nefro toksiteye, protein sentezi inhibisyonuna bağlı büyümede yavaşlamaya, sucul mikroorganizmalarda direnç oluşmasına, çevresel problemlere ve sağaltım sonrası ilaç kalıntısına neden olduğu bildirilmektedir (1).

Gıdalarda veteriner tıbbi ürünlere bağlı kalıntı insanlarda; allerjik reaksiyonlara, zehirlenmelere, sindirim sistemi mikro-florasında değişimlere, ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişmesine, üremenin bozulmasına, teratojenik ve karsinojenik etkilere neden olur (3, 11).

Bu araştırmanın amacı, "Ulusal Kalıntı Planı" çerçevesinde Türkiye'de farklı illerden gelen balık örneklerini bazı tetrasiklin grubu antibiyotikler yönünden analiz etmek ve elde edilen verileri araştırmacılara ve kamuya sunarak, bilinçli ilaç kullanımı ve ürün denetimi ile her geçen yıl daha sağlıklı ürünlerin tüketiciye sunulduğunu göstermektir.

MATERYAL ve METOT

Araştırma, 2011, 2012 ve 2013 yıllarında Türkiye'nin farklı bölgelerinden Adana Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Toksikoloji ve Metabolik Hastalıklar Laboratuvarına gönderilen toplam 386 adet (2011 yılında 141 adet, 2012 yılında 125 adet, 2013 yılında 120 adet) balık numunesinde yapıldı. Balık numuneleri en az 500 gr balık/balıklardan oluşmaktadır, soğuk veya donmuş şartlarda laboratuara ulaştırılan numuneler 10 gün içinde analiz edildi, gelen balık örnekleri analiz aşamasına kadar derin ondurucuda (-20°C) korundu.

Tablo 1. Charm II cihazı ile yapılan analizlerin yıllara göre dağılımı

Yıl	Aranan Madde Grubu	Kalıntıya Sebep Olan Madde	Numune Sayısı	Charm II Cihazı Saptama Limiti (ppb)	Mevzuatta Belirlenen Limit (ppb)	Pozitif Numune Sayısı
2011	Tetrasiklin	Tetrasiklin	141	25	100	0
		Oksitetrasiklin		100	100	3
		Klortetrasiklin		100	100	0
		Doksisiklin		100	Bulunmamalı	0
2012	Tetrasiklin	Tetrasiklin	125	25	100	0
		Oksitetrasiklin		100	100	0
		Klortetrasiklin		100	100	0
		Doksisiklin		100	Bulunmamalı	0
2013	Tetrasiklin	Tetrasiklin	120	25	100	0
		Oksitetrasiklin		100	100	0
		Klortetrasiklin		100	100	0
		Doksisiklin		100	Bulunmamalı	0

Numunelerin analizleri hızlı bir radioreseptör testi olan ve valide edilmiş (%95 güven aralığı) Charm II metodu (2) kullanılarak Charm II cihazında (CHARM Sciences Inc., USA) gerçekleştirildi ve konfirmasyonları LCMSMS cihazı ile yapıldı. Charm II metoduna göre, öncelikle numuneden ekstraksiyon elde etme işlemi gerçekleştirildi. Bu işlem sırasıyla donmuş numuneler çözüldükten sonra kas dokuyu ayırma işlemine tabi tutuldu, mikser yardımıyla parçalandı ve homojenize edildi. Parçalanmış numuneden 50 ml'lik santrifüj tüpüne 10 gr tartılarak kondu. Üzerine 30 ml MSU buffer kondu ve 10 dakika karıştırıcıda karıştırıldı. Sonra 45 dakika 80+2°C'de sıcak su banyosuna bekletildi ve daha sonra buradan alınıp buz banyosunda bekletilerek soğutuldu. 4000 RPM'de ve 0-1°C'de 10 dakika santrifüj (Universal 320R, Hettich) edildi. Santrifüjden alınarak hemen üst sıvı fazdan 10 ml alınıp M2 buffer ile pH=7.5'a ayarlandı ve ekstraksiyon işlemi tamamlandı. Elde edilen ekstraksiyon Charm II Doku Tetrasiklin Testi hazır antibiyotik kitleri ve radioaktif madde

(optiflour) ile metoda göre muamele edildi. Son olarak Charm II cihazında antibiyotik varlığı taraması işlemi gerçekleştirildi.

BULGULAR

Tetrasiklin grubu antibiyotikler içerisinde yer alan tetrasiklin, oksitetrasiklin, klortetrasiklin ve doksisiklin yönünden balık kas dokuda Charm II cihazı ile metod-validasyon çalışmaları yapıldı.

Charm II cihazı ile yapılan çalışmadan elde edilen verilerin yıllara göre dağılımı Tablo 1.'de verildi. Bu verilere göre balık kas dokuda tetrasiklin grubu bazı antibiyotikler yönünden kalıntıya 3 adet numunede rastlanıldı. 3 adet numunenin LCMSMS ile yapılan konfirmasyonunda tetrasiklin grubu antibiyotiklerden oksitetrasiklin kalıntısı olduğu belirlendi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

2011/20 sayılı Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Veteriner İlaçlarına Bağlı Farmakolojik Aktif Maddelerin

Sınıflandırılması Ve Maksimum Kalıntı Limitlerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ (12)'e göre tetrasiklin grubu maddelerin kalıntı limitleri: doksisiklin antibiyotiği bulunmamalı; tetrasiklin, oksitetrasiklin ve klortetrasiklin antibiyotikleri için 100 ppb'dir. 3 yıl boyunca yapılan 386 analiz sonucuna göre balık kas dokuda tetrasiklin grubu bazı antibiyotiklerin kalıntısına sadece 3 numunede rastlandı. Bu numunelerde 2011 yılına ait olan numunelerdir, 2011 yılında balık etleri %97,8 oranında tetrasiklin grubu antibiyotikler yönünden sağlıklı görülürken, 3 yıllık çalışmada bu oran %99,2'dir.

İran'nın kuzeybatı bölgesinde çeşitli marketlerden toplanan 100 adet alabalık örneğinin elisa metodu ile incelemesinde, balık örneklerinin %30'unun tetrasiklin ile kontamine olduğu belirlenmiş ve bu örneklerde tetrasiklin yoğunluğunun 2,09-22,12 ppb düzeylerinde olduğu tespit edilmiş, kabul edilebilir maksimum limitleri olan 200 ppb'nin çok altında bulaşma olduğu görülmüş (6).

Nijerya Ibadan Şehri'nde nehir, market ve balık çiftliğinde içinde yer aldığı dört farklı noktadan temin edilmiş 60 adet taze ve donmuş balık ile HPLC cihazı ile yapılan çalışmada balıklarda kabul edilebilir limitin (200 ppb) çok üzerinde tetrasiklin kalıntısı ile karşılaşılmış, özellikle de balık çiftliğinden temin edilen balıklarda kalıntı yoğunluğunun diğer temin edilen yerlere göre daha yüksek olduğu görülmüş, sadece nehirden temin edilen balıklarda tetrasiklin kalıntısına rastlanmamış (8).

Oyo State, Nijerya'da yapılan çalışmada balık örnekleri restaronlardan ve çiftliklerden temin edilmiş, 165 balık örneğinin kas doku ve karaciğer dokusu HPLC cihazında kalıntı yönünden incelenmiş. Codex Alimentarius Commission'ın tetrasiklin kalıntısı için belirlediği karaciğer

dokusunda 600 ppb, kas dokusunda 200 ppb kalıntı miktarı değerini, 43 balıktan alınan karaciğer örneği ve 30 balıktan alınan kas doku örneği geçmiş, karaciğerlerin %26,9'unda kas dokunun %18,8'inde maksimum kabul edilebilir limit üzerinde tetrasiklin kalıntısını tespit etmişlerdir (7).

Yapılan çalışma ile Mahmoudi ve ark. (6)'nın yaptıkları çalışma paralellik göstermektedir. Olosulo ve ark. (8) ile Olatoye ve Basiru (7)'nin yaptıkları çalışmalarda tetrasiklin kalıntı miktarları çok yüksek çıkmıştır. Nijerya'da yapılan 2 çalışmada gösteriyor ki balık üreticilerinde bilinçsiz bir antibiyotik kullanımı ve arınma süresine dikkat etmeme söz konusu, çiftçi eğitimi ve yasal yaptırımlar ile ilaçların gelişi güzel kullanımının ve kontaminasyonunun önüne geçilebilir.

Sonuç olarak, balıklarda hastalık yapan birçok bakteriyel kökenli enfeksiyonlarda tedavi amacıyla sıklıkla kullanılan tetrasiklin grubu antibakteriyel maddelerin, Türkiye'de üretilip tüketime sunulan balıklarda %99,2 oranında rastlanılmaması Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın yaptığı eğitim, denetim, tarama analizleri ve çiftçilere verilen eğitimin bir sonucudur. Sağlıklı bireylerin yetiştirilmesi sağlıklı gıda ile olur, bu nedenle sağlıklı hayvansal gıda üretmek ve tüketmek için veteriner hekimlere danışmalı, "veteriner hekim reçetesine" bağlı olarak ilaç kullanmalı, ilaç prospektüs bilgilerine ve hayvansal ürünlerin kalıntıdan arınma sürelerine dikkat edilmelidir.

KAYNAKLAR

1. **Balta, F., Serezli, R., Kayış, Ş., Akhan, S., Yandı, İ. (2005).** Gökkuşluğu Alabalığında (*Onykorhynchus mykiss*) Oksitetrasiklin HCl'nin Nötrofillerin Fagositik Aktivitesine ve Bazı Kan Parametrelerine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Egirdir Su

- Ürünleri Fakültesi Dergisi Cilt I, Sayı I, 7-11.
2. **Charm Sciences, Inc. (2011).** Operator's Manual: Charm II Tetracycline Test for Tissue. OM-234-017, 16-Feb-2011, 6-7.
 3. **Elizabeta, D.S., Zehra, H.M., Biljana, S.D., Pavle, S., Risto, U. (2011).** Screening of Veterinary Drug Residues in Milk from Individual Farms in Macedonia. Mac.Vet.Rev.Vol 34, No.1, 5-13.
 4. **Karakaya, M., Boyraz, N. (1992).** Gıda Kirlenmesinde Pestisitler ve Korunma Yolları. Ekoloji, 1, 4, , 11-15.
 5. **Kaya S, Ünsal A. (2000)** Besinlerdeki İlaç Kalıntıları ve Denetimi. **In,** Kaya S, Piriñçi İ, Bilgili A (Eds): Veteriner Uygulamalı Farmakoloji Cilt 2. Baskı 2, s. 713-730, Medisan Yayınevi, Ankara
 6. **Mahmoudi, R., Gajarbeygi, P., Norian, R., Farhoodi, K. (2014).** Chloramphenicol, Sulfonamide and Tetracycline Residues in Cultured Rainbow Trout Meat (*Oncorhynchus mykiss*). Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, Online First.
 7. **Olatoye, I.O., Basiru, A. (2013).** Antibiotic Usage and Oxytetracycline Residue in African Catfish (*Clarias gariepinus* in Abadan, Nigeria). World Journal of Fish and Marine Sciences 5 (3):302-309.
 8. **Olusolo, V.A., Folashade, P.A., Ayoade, O.I. (2012).** Heavy Metal (Lead, Cadmium) and Antibiotic (Tetracycline and Chloramphenicol) Residues in Fresh and Frozen Fish Types (*Clarias gariepinus*, *Oreochromis niloticus*) in Ibadan, Oyo State, Nigeria. Pakistan Journal of Biological Sciences 15 (18): 895-899.
 9. **Reed, L. A., Siewicki, T. C., Shah, J. C., (2004).** Pharmacokinetics of Oxytetracycline in the White Shrimp, *Litopenaeus setiferus* Aquaculture 232, 11 –28.
 10. **Serezli, R., Çağırğan, H., Okumuş, A., Akhan, S., ve Balta, F., (2005).** The Effect of Oxytetracycline On Non-Specific Immune Response in Sea Bream (*Sparus aurata* L.1758). Turkish J. of Vet. and Anim. Sci. 29, 31-35.
 11. **Temamoğulları, F., Kaya, S. (2010).** Ankara Piyasasında Satılan Sütlerde Bazı Antibiyotik Kalıntılarının İnce Tabaka Kromotografisi ve Biyootografik Yöntemle Saptanması. Kafkas Univ.Vet.Fak.Derg. 16(2):187-191.
 12. **Türk Gıda Kodeksi Tebliği (2011).** Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Veteriner İlaçlarına Bağlı Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması Ve Maksimum Kalıntı Limitlerinin Belirlenmesi Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2011/20), 29 Nisan 2011 tarih 27919 sayılı Resmi Gazete.