

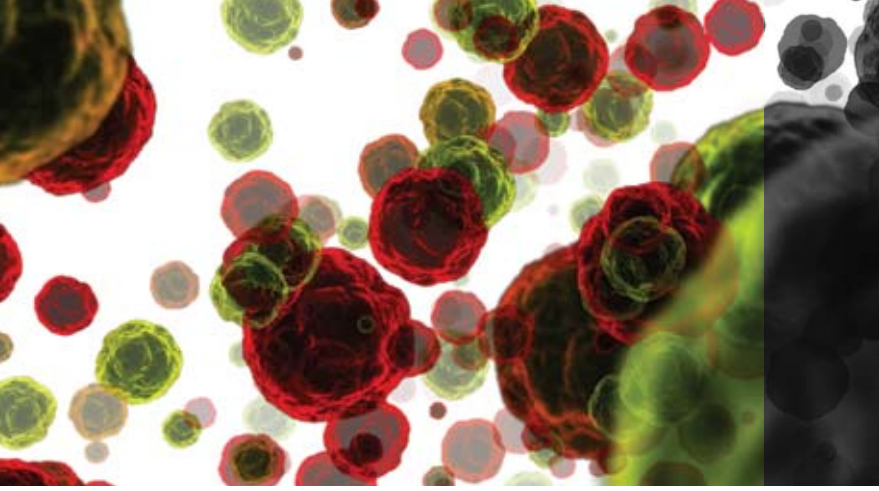


Hayvansal Gıda Maddelerinde Veteriner İlaç Kalıntılarının Taranması

Hamide Şenyuva - John Gilbert, *FoodLife International Ltd*
Edip Sincer, *Sincer Dış Ticaret*

sincer





Hayvansal Gıda Maddelerinde Veteriner İlaç Kalıntılarının Taranması

Hamide Şenyuva - John Gilbert, FoodLife International Ltd
Edip Sincer, Sincer Dış Ticaret

Hayvansal Üretimde Veteriner İlaçlarının Kullanımı

Modern hayvancılık uygulamalarında, veteriner ilaçlarının kullanımı, verimli ve güvenli et, balık, süt, yumurta ve bal üretimi için son derece önemlidir. Bu ilaçların kullanımı, tıbbi ilaçlardakine benzer bir sistemle, sıkı bir lisanslama ve onay prosedürlerine tabidir.

Aralarında Türkiye'nin de bulunduğu çok sayıda ülkede, büyüme hormonları (hayvanların kilo alımını hızlandırmak için kullanılan) ve hayvansal ürünlerde toksik kalıntı bırakan ilaçların kullanımı tamamen yasaklanmıştır. Bu tür yasaklı ürünlerin tespit edilebilir düzeyde kalıntısının bulunması yasanın ihlali olarak değerlendirilir. Stilbenler, stilben türevleri, anti-tiroid ajanlar, steroidler, resorsiklik asit laktonları (zeranol dahil) ve β -agonistler yasaklı ilaç kapsamındadırlar. Bunlara ek olarak doğal hormonların da büyüme hormonu olarak kullanımı AB ve Türkiye'de yasaklanmıştır. ABD'de ise, melengestrol asetat gibi doğal hormonların kullanımına izin verilmekte ve AB'ye ihrac edilen ürünler hariç, yaygın olarak kullanılmaktadır.

Türkiye'de bu kısıtlama ve yasalara rağmen birçok ilacın kullanımına da izin verilmektedir. Kullanımına izin verilen ilaçlar arasında, sülfanamidlar, ve kinolonlar gibi antibakterial maddeler, antelmintikler, antikokidialler (nitroimidazoller dahil), sedativler

ve steroidal olmayan anti inflammatuar ilaçlar (Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) bulunmaktadır. Bazı veteriner ilaçların da hastalıkların tedavisinden çok önleyici olarak kullanımı söz konusudur ve bu tür ilaçlar genellikle yemlere karıştırılarak kullanılır. İnsan sağlığını koruma amacıyla, kullanımına izin verilen ilaçların uygulanması ile hayvanın kesimi arasında zorunlu sürelerin (atılım süresi) bırakılması zorunluluğu getirilerek, ilaç veya ilaç metabolitlerinin gıda maddelerindeki kalıntı düzeylerinin en aza indirilmesi kanunlarda öngörülmüştür.

Veteriner İlaç Kalıntılarına Maruz Kalmanın Ortaya Çıkardığı Sağlık Kaygıları

Veteriner ilaçlarının kullanımı konusu kamuoyunun ilgisini çekmekte ve tartışma konusu olmaktadır. Ancak, modern hayvancılık tekniklerinde bu ilaçların kullanımı kaçınılmazdır. Bu konudaki en büyük endişe, veteriner ilaçlarının yaygın kullanımı sonucunda mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç kazanmalarındır. Bu endişenin kaynağı, ortaya çıkan antibiyotik direncinin insanları da etkilemesidir. Bu durumda insanlarda kullanılan ilaçların etkisinin azalması söz konusudur. Duyulan endişeler bazı antibiyotiklerin insan dışı kullanımının tekrar gözden geçirilmesine yol açmış ve 2005 yılında ABD'de enroflaksasinin tavuklarda kullanımı yasaklanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) insanların tedavisinde kritik önem taşıyan bir dizi antibiyotiğin hayvanlarda kullanımının yasaklanmasını talep etmiştir. Antibiyotik direnç endişeleri nedeniyle, AB'de, antibiyotiklerin büyüme desteği olarak kullanımı yasaklanmıştır.

Antibiyotik direnci tehlikesiyle karşılaştırıldığında, gıda maddelerinde kullanımına izin verilen ilaçların neden olduğu kalıntıların yol açacağı toksisite riski oldukça düşüktür. Buna rağmen, insanların zararlı düzeylerde kalıntılara maruz kalmalarını engellemek için, AB hayvansal gıda maddelerinde veteriner ilaçlarının Maksimum Kalıntı Limitlerini (MRL) belirlemiştir. AB Komisyonunun 37/2010 sayılı ve 22.12.2009 tarihli Aktif Farmakolojik maddeler ile ilgili düzenlemesi ise hayvansal kaynaklı gıda maddelerindeki maksimum kalıntı limitlerini listelemektedir.





Veteriner İlaçlarının Kalıntıları Hakkında Düzenlemeler

Avrupa Birliği'nde veteriner ilaçları konusunda çok sayıda düzenleme ve bu düzenlemelerin değişiklikleri ve güncellemeleri mevcuttur. Temel düzenlemeler ise hormonal, tayrostatik maddeler ve β -agonistlerin hayvanlarda kullanımını düzenleyerek, büyüme desteği olarak kullanılan maddelerin yasaklanmasında yasal dayanağı oluşturur. Kullanımına izin verilen ilaçlar konusundaki eski bir direktif ise yakın geçmişte güncellenerek izin verilen ilaçlar ve bunlarla ilgili maksimum kalıntı limitleri (MRL) konusunda kapsamlı bir liste oluşturulmuştur. Bu direktiflerin tamamı Türk Kanunlarına uyarlanmıştır. Türk Gıda Kodeksinin 2002/30 sayılı tebliğinde "Hayvansal Gıda Maddelerindeki Maksimum Kalıntı Düzeyleri" belirlenmiştir.

Kalıntı düzeylerinin ihlali ve yasal alt yapı 3285 sayılı kanunla düzenlenmiştir. Çiftlik denetimlerinde yasaklı bir maddenin bulunması durumda söz konusu maddeye el konularak, ilgililer hakkında yasal işlem yapılır. Mezbahalara gönderilen canlı hayvanlarda yasal atılım süresi beklenmediği durumlarda, hayvanın kesimi engellenir ve bu süre boyunca hayvan resmi gözetim altında tutulur. 5179 sayılı kanun uyarınca ise, kesimi yapılan hayvanlarda veya hayvansal ürünlerde ve balıklarda yasaklı madde veya MRL düzeyinin üzerinde kalıntıya rastlanması durumunda ürün piyasadan çekilerek el konur, para ve hapis cezaları uygulanır.

AB'de bunlara ek olarak iki ayrı yasal düzenleme bulunmaktadır. Birinci direktif veteriner ilaçları konusunda çalışacak Birlik ve Ulusal Referans Laboratuvarlarını belirlerken, ikinci direktif üye ülkelerin uygulaması zorunlu olan ilaç kalıntı izleme programlarını düzenleyerek hayvan türü başına, her üye ülkede, yapılması zorunlu tarama testleri sayısını belirler. Ulusal izleme programlarında tarama testleri önemli bir rol oynar. Birlik üyesi ülkelerdeki mezbahalarda çok sayıda idrar, safra ve dışkı numunesinde, ulusal kalıntı izleme programları çerçevesinde, tarama analizleri yapılır. Türkiye'de Tarım Bakanlığı bünyesindeki Veteriner Araştırma Laboratuvarları kendi uzmanlık alanlarında Ulusal Referans Laboratuvarı görevini yürütürler. Türkiye'de ayrıca 2000 yılından itibaren; bal, balık, tavuk ve yumurtada, Ulusal Kalıntı İzleme Programları uygulanmaya başlanmış ve sonuçları düzenli olarak AB'ye rapor edilmiştir.

Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) ve Gıda Kaygıları

Geçen on yılda veteriner ilaçları konusunda (yasaklı maddeler veya MRL'nin üzerinde kalıntı düzeyleri) çok sayıda panik yaşanmıştır. Bu panikler arasında, Asya ülkelerinden ithal edilen karideslerde kloramfenikol ile Brezilya ve Tayland menşeli tavuklarda nitrofuranlar ön plana çıkmaktadır. Tetrasiklinler ise kolay bulunmaları ve geniş spektrumlu olmalarından dolayı bir çok ülkede en yaygın kullanılan veteriner ilaç grubu arasında yer almaktadır. Bu nedenlerle de çok sayıda hayvansal gıda maddesinde kalıntılarına rastlanmaktadır.

Çin menşeli ballarda ise kloramfenikol problemi sıklıkla gözlenmiş ve sonuç olarak AB'de Çin balının yasaklanmasına varan problemler yaşanmıştır. 1997-1998 yıllarında, Çin'de, tüm bal endüstrisini etkileyen bir bakteriyel salgın yaşanmıştır. Çin veteriner ilaç kullanımı konusunda etkin düzenlemelere sahip bir ülke olmamasından dolayı kloramfenikol (streptomisin ile birlikte) bal üreticileri tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Ortaya çıkan kloramfenikol problemi sonucunda Çin'in 1997 yılındaki AB ülkelerine bal ihracatı üçte bire düşerek 50bin tona inmiştir.





Bal ürünlerinde rastlanan kalıntıların temel kaynağı antibiyotikler (bal ve arı sütündeki kalıntılar) ve kalıcı lipofilik akarasitlerdir (bal mumu ve arı reçinesindeki kalıntılar). Ballarda yapılan son çalışmalarda antibakteriyel ilaç kalıntılarında yaygın olarak rastlanmıştır. Tespit edilen aktif maddeler arasında ilk sırayı sülfanamidler alırken, bunları tetrasiklinler, streptomisin, tylosin ve kloramfenikol izlemektedir. Bu konuda Türkiye'deki problem ile ilgili veri oldukça sınırlıdır. 2007-2010 yılları arasında AB'de Türkiye menşeli ballarla ilgili RASFF'da 6 adet uyarı yayınlanmış ve bu bildirimlerde sulfadimidin ve sülfametazine rastlanmıştır.

RASFF

Tarih	Ülke	Ürün	Madde	Miktar, ppb
10/07/09	Almanya	Bal	sulphadimidine	42
01/10/08	Almanya	Bal	sulphadimidine	23, 231, 32, 35, 19, 301
18/07/08	Danimarka	Bal	sulphamethazine	>40
07/03/08	Almanya	Bal	sulphadimidine	84
05/07/07	Almanya	Bal	sulphadimidine	27
02/04/07	Almanya	Bal	sulphadimidine	1000 <> 2000

Tablo 1. Türkiye menşeli ballarla ilgili RASFF uyarıları (2007-2010)

Hayvansal ürünlerde veteriner ilaç kalıntıları konusunda Türkiye'nin ihracatını etkileyen sadece AB ülkeleri değildir. Son günlerde gündeme gelen Rusya'ya yapılacak büyük miktarda tavuk eti ihracatında da veteriner ilaç kalıntıları büyük öneme sahiptir. Rusya, antibiyotik kalıntılarını, "maksimum izin verilen konsantrasyonlar" adı altında düzenlemektedir. Tetrasiklin, penisilin ve kloramfenikol için, bu limitler sırasıyla 0.01, 0.5 ve 0.5 ng/g'dır. Rusya'ya yapılacak ihracatlarda bu son derece düşük limitlere uyma zorunluluğu vardır. Limitlere uyulmaması durumunda büyük ekonomik kayıplar söz konusu olabilir.

Veteriner İlaç kalıntılarının izlenmesinde Analiz Metodları

(a) ELISA tarama

Hayvansal ürünlerde çok sayıda ve farklı türlerde ilaç kalıntısı bulunması yanında etkin bir izleme için yüksek sayıda analiz gerekmesinden dolayı tarama analizlerinin kullanımı zorunludur. Bu konudaki yaygın uygulama ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) sistemlerinin kullanımıdır. Bu teknoloji hedef moleküle özel geliştirilmiş antikorların kullanılmasından dolayı yüksek spesifiteye sahip ve son derece hassastır. Spesifiteden dolayı hem analiz sonuçlarının güvenilirliği yüksektir, hem de görece kolay numune hazırlama prosedürleri içermelerinden dolayı kısa zamanda çok sayıda numunenin farklı ilaç kalıntılarını analiz etmeyi mümkün kıldır.

Tipik bir ELISA kiti, hedef veteriner ilacına karşı geliştirilmiş antikorlarla kaplı, 96 kuyucuktan oluşur (12 adet ayrılabilen 8'li kuyucuk şeridi). Analizin tamamı, belirli miktar numune ekstraktı ve takiben bir dizi reaktif eklenerek ve sonrasında yıkama yapılarak, bu kuyucuklar içerisinde gerçekleştirilir. Analiz sonucunda oluşan renk spektrofotometre yardımıyla okunarak miktar tayinine gidilir. Bazı sıvı numuneler (idrara ve plazma gibi) tampon çözeltiyle seyreltilerek doğrudan analiz edilirken, et ve balık gibi katı numunelerin, ELISA öncesi, ekstraksiyon solventleri ile karıştırılması ve filtrasyonu gerekmektedir. Bazı numunelerde ekstraktların küçük bir kolondan geçirilerek temizliği gerekirken, nitrofuranlarda olduğu gibi hedef molekülün bağlarının çözülebilmesi için kimyasal işlemlere gerek duyulur. Nitrofuran ELISA kitleri ana ilaç nitrofuranı değil nitrofuran metabolitlerini tespit etmeye yönelik olarak geliştirilmişlerdir.

Veteriner ilaç kalıntı analizlerinde kullanılmak üzere geliştirilmiş yirmi bir farklı **RIDASCREEN®** ELISA kiti Türkiye'de Sincer Dış Ticaret tarafından kullanıma sunulmaktadır. Bu kitler, kullanım alanları, hedef molekülleri ve tespit limitleri Tablo 2'de listelenmiştir. Bu kitlerden bazıları mezbahalarda kullanıma yönelik ve idrara, plazma, safra ve dışkıda, hormonlar ve β -agonistler gibi yasaklı maddelerin aranmasına yöneliktir. Diğer gruptaki test kitleri ise et ve et ürünlerinde kullanım amacıyla valide edilmişlerdir. ABD menşeli etlerde, ABD'de kullanımına izin verilen ancak AB'de ve Türkiye'de yasaklı melengestrol asetat analizleri büyük önem taşımaktadır. Süt, yumurta, bal ve etlerde kullanımı yasaklı olan nitrofuranlar ve kloramfenikol gibi maddelerin analizine yönelik **RIDASCREEN®** test kitleri de mevcuttur.



RIDASCREEN® ELISA kit	İlaç Sınıfı	Mevzuat	Matris	Tespit Limiti (LOD)
Testosterone	Doğal hormon	Yasaklı	sığır plazması	plazma -20 ppt
Methyl-testosterone	Doğal hormon	Yasaklı	idrар	idrар -200 ppt
17β-Estradiol	Doğal hormon		sığır plazması	plazma- 20 ppt
Melengestrol acetate	Doğal hormon	ABD: Serbest Türkiye: Yasak	Sığır yağı & eti	yağ-0.3 ppb et-0.075 ppb
Ethinylestradiol	Sentetik hormon	Yasaklı	idrар & sığır plazması	idrар -200 ppt plazma -20 ppt
DES	Sentetik hormon	Yasaklı	idrар, safra, kas & dışkı	kas -100 ppt safra -2 ppb
19-Nortestosterone	Sentetik hormon		idrар	3 ppb
Zeranol	Sentetik hormon	Yasaklı	idrар	1.5 ppb
Trenbolone acetate	Sentetik hormon	Yasaklı	idrар, safra, et, karaciğer & dışkı	idrар- 400 ppt et - 200 ppt dışkı- 25 ppt
β-agonist	β-agonistler için tarama	Yasaklı	idrар, serum, et & yem	idrар- 350 ppt et -300 ppt yem- 900 ppt
Ractopamine	Ractopamine β-agonist	Yasaklı	idrар, et & karaciğer	idrар -600 ppt et -200 ppt karaciğer -300 ppt
Clenbuterol	Clenbuterol + 5 β-agonist	Yasaklı (MRLs)	idrар, karaciğer & et	idrар -200 ppt
Acetylgestagene	medroxyprogesterone acetate + acetylgestagenes	Yasaklı	Sığır böbrek yağı.	yağ – 0.3-0.6 ppb
Streptomycin	Antibiyotik	MRL	süt, bal, et & karaciğer	bal -5 ppb süt- 10 ppb
Chinolone	Fluorokinolonlar	MRL	yumurta, et, balık & karides	yumurta -2 ppb et- 5 ppb
Sulphonamide	14 sulfonamid için tarama	MRL	yumurta, et, balık, karides,	yumurta -1.5 ppb balık, bal -2 ppb süt -3.5 ppb
Sulphamethazine	Antibakterial sulfonamid	MRL	süt, et, böbrek	süt -10 ppb et -2 ppb
Tetracyclin	Tetrasiklinler – 6 bileşik	MRL	süt, bal & et	süt – ppb bal, et - 6ppb
Chloramphenicol	Antimikrobiaj ajan	Yasaklı	süt, bal, yumurta, et	süt - 5 ppt bal - 25 ppt
Nitrofurаn (AOZ)	3- amino - 2 - oxazolidinone	Yasaklı	et, karaciğer, balık, yumurta süt	50-100 ppt
Nitrofurаn (AMOZ)	3 - amino - 5 - morpholinomethyl - 2 oxazolidinone	Yasaklı	et, karaciğer, balık, yumurta süt	yak. 200 ppt

Tablo 2. Veteriner ilaç kalıntılarını analizleri için RIDASCREEN® ELISA kitleleri

ELISA kitleri hedef veteriner ilaca karşı spesifik olsalar da, test kitlerinin üretiminde diğer maddelere karşı çapraz reaksiyona sahip antikorların da kullanımı mümkündür. Bu tür antikorların kullanıldığı dört farklı **RIDASCREEN®** test kiti bulunmaktadır. Altı farklı β -agonist'i, altı tetrasiklini, oniki sülfanamidi ve on florokinolonu aynı anda tespit etmeye imkan veren **RIDASCREEN®** test kitleri bulunmaktadır. Bu tür geniş kapsamlı test kitlerinin yanında kullanıma sunulan β -agonistler, raktopamin, klenbuterol, spesifik sulfanamid ve sulfametazin için geliştirilmiş spesifik kitler ürün yelpazesini tamamlamaktadır. Kullanımına izin verilen ilaçlar için geliştirilen ELISA kitlerindeki tespit limitleri MRL değerlerinin altında belirlenmiştir. Tablo 2'deki tespit limitleri ppt = ng/kg veya ppb = ng/g cinsinden verilmektedir. ELISA sisteminin ulaşabildiği hassasiyet sayesinde bazı hormonlarda 20ppt tespit limitlerine inilebilmektedir.

Hayvanlarda ve hayvansal ürünlerde ilaç kalıntısı analizi yasal düzenlemelere uyum açısından zorunlu olmakla birlikte, hayvan yemlerinde de analiz talep edilmektedir. İlaç katkılı yemlerle katkısız yemler arasındaki bulaşmalar sonucu geçmişte bazı problemler yaşanmış ve hayvansal ürünlerde istenmeyen kontaminasyonlar gözlenmiştir. Satın alınan yemlerde önlem amacıyla yapılacak analizlerle bu tür problemlerin önüne geçmek mümkündür.

(b) Tarama test sonuçlarının confirmasyonu

Test kitleri, mezbahaların izlenmesi, ithalatın kontrolü, yemlerin kontrolü veya pazar kontrolleri gibi çeşitli amaçlarla kullanılırlar. Bir yem partisinin kabul veya reddi gibi durumlarda karar ELISA sonuçlarına dayanılarak verilebilir. Ancak, yasal yaptırımlar içeren durumlarda, ELISA'dan elde edilen pozitif sonuçların, pahalı ve sofistike laboratuvar ekipmanlarının (LC/MS/MS gibi) kullanıldığı, zahmetli numune hazırlama aşamaları gerektiren metodlarla confirmasyonu gerekir. Bu analizler iyi eğitilmiş analitik kimyacılar tarafından yürütülür ve sonuçların güvenilirliğini sağlamak amacıyla sıkı kalite kontrol parametreleri uygulanarak gerçekleştirilir.



Gelecekteki Zorunluluklar: Türkiye’de veteriner ilaç tarama ve kontrolleri

Tüketime sunulan hayvansal gıdaların yasaklı ilaçlar içermesinin önüne geçmek, izin verilen ilaçlardaki kalıntı düzeylerinin ise MRL’nin altında olduğundan emin olmak için ELISA sistemleri son derece etkili ve görece düşük maliyetli araçlardır. Türkiye’de son yıllarda veteriner ilaç kalıntıları konusunda AB ile uyum yolunda önemli adımlar atılmış ve ulusal kalıntı izleme programı konusunda bazı ilerlemeler sağlanmıştır. Ancak, şu ana kadar atılan adımlar hedeflenen sonucu sağlamada tam anlamıyla yeterli değildir. Ülke çapında gıda zincirinin çeşitli aşamalarında yaygın bir izleme ve tarama sisteminin, ucuz ve hızlı olmaları nedeniyle, ELISA metodlarıyla gerçekleştirilmesi ve yürürlükteki kanun ve tebliğlere uyumun sağlanması gerekmektedir.

Sincer Dış Ticaret

Ziya Gökalp Bul. 17/4
Alsancak
İzmir 35220
Tel: +90 (0) 232 464 80 06
Fax: +90 (0) 232 464 80 07
Email: bilgi@sincer.com.tr
Web: www.sincer.com.tr

Foodlife International

ODTÜ Teknokent İkizler Binası
No. Ara-1 Çankaya,
Ankara 06531
Tel: +90 (0) 312 210 10 60
Fax: +90 (0) 312 210 10 60
Email: info@foodlifeint.com
Web: www.foodlifeint.com

sincer



ChemWell® 2910

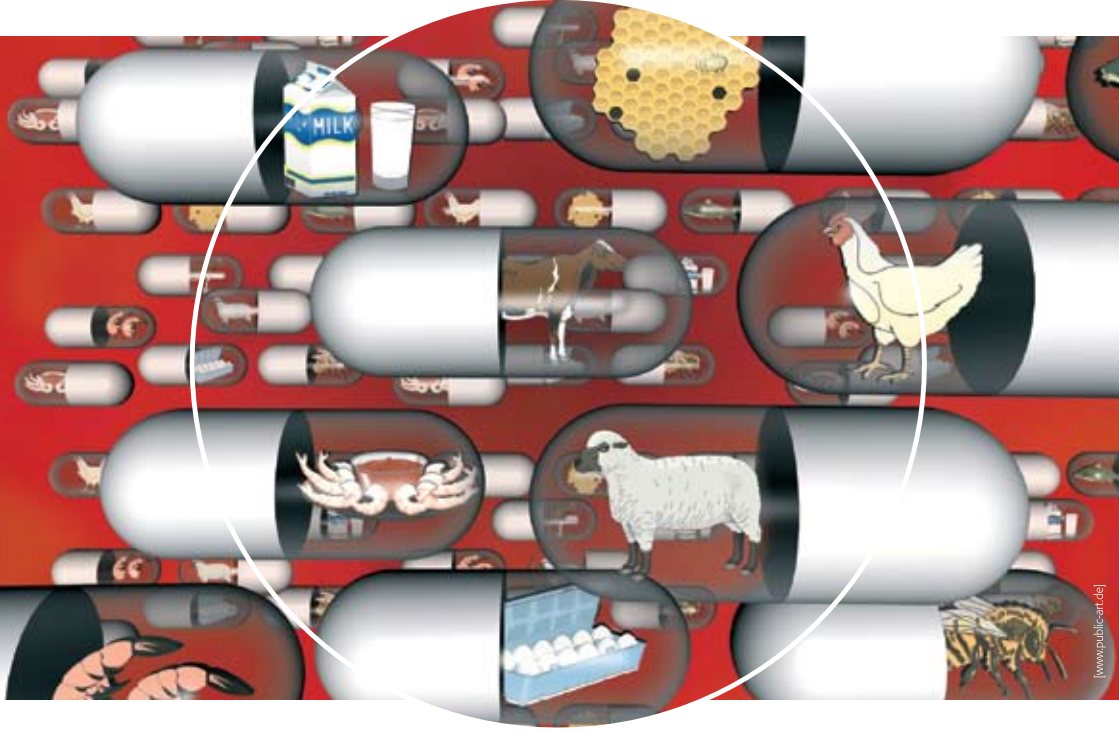
Tam Otomatik ELISA Analizörü

Siz sadece numuneyi hazırlayın...

Yeni



- Tam otomatik ELISA analizleri: Seyreltme, pipetleme, inkübasyon, yıkama, okuma ve rapor hazırlama
- Saatte 200 test
- Aynı anda birden çok parametre analizi
- İnkübasyon sıcaklık kontrolü
- Numune veritabanı



RIDASCREEN® ANTİBİYOTİK ELISA TESTLERİ

Bal, süt, et ve deniz ürünlerindeki antibiyotik kalıntılarının güvenilir yöntemlerle test edilmesi gereklidir. Güvenilir ve sayısal sonuç için:

RIDASCREEN® Nitrofurane (AOZ&AMOZ)
 RIDASCREEN® Streptomycine
 RIDASCREEN® Sulfamethazine
 RIDASCREEN® Chinolone

RIDASCREEN® Chloramphenicol
 RIDASCREEN® CAP-Glucuronid
 RIDASCREEN® Sulfonamide
 RIDASCREEN® Tetracycline

RIDASCREEN® HORMON & ANABOLİZAN ELISA TESTLERİ

Et ürünleri, idrar, yağ, plazma, dışkı ve safrada hormon ve anabolizan kalıntılarının analizlerinde güvenilir ve sayısal sonuç için:

RIDASCREEN® Clenbuterol
 RIDASCREEN® FAST Clenbuterol
 RIDASCREEN® Acetylgestagene
 RIDASCREEN® Melengestrolacetate
 RIDASCREEN® 17β-Estradiol
 RIDASCREEN® Zeranol

RIDASCREEN® Testosterone
 RIDASCREEN® Ethinylestradiol
 RIDASCREEN® Trenbolone
 RIDASCREEN® DES
 RIDASCREEN® 19-Nortestosteron
 RIDASCREEN® Methyltestosteron
 RIDASCREEN® β-Agonists

sincer

Ziya Gökalp Bul. 17/4, Alsancak, İzmir 35220
 Tel: +90 (0) 232 464 80 06
 Fax: +90 (0) 232 464 80 07

Email: bilgi@sincer.com.tr, Web: www.sincer.com.tr