



T.C. GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI
ULUSAL GIDA REFERANS LABORATUVARI
MINISTRY OF FOOD AGRICULTURE AND LIVESTOCK
NATIONAL FOOD REFERENCE LABORATORY



UGRL DERGİSİ
JOURNAL of NFRL

ULUSAL GIDA REFERANS LABORATUVARI DERGİSİ

Cilt: 2 Sayı: 4
Aralık/2011



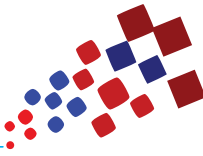
Vizyonumuz

“Gıda konusunda bilimsel, anlaşılır ve yenilikçi bakış açısı ile kamu ve özel sektörde liderlik vasfını koruyarak güncel ve kullanılabılır bilgiyi halk sağlığı ve toplum refahı için sunmaktır.”



Misyonumuz

“Kuruluş kanunumuzdan aldığımız güç ile ulusal ve uluslararası bilgi paylaşımına açık, yenilikçi, rehber, lider ve uzman bakış açımızla kaliteli ve saygın bilimsel yayınları bilim dünyasında ait olduğu haklı yere getirmektir. Sağlanan katma değer toplumsal refah, halk sağlığı ve milli ekonomi yönünden değerlendirildiğinde sürekli iyileştirmeye açık ve yenilikçi bir yaklaşımla seçkin dergiler arasında yer alacaktır.”



İçindekiler

Karaağaç Mezbahası'nın Tarihsel Gelişimi Üzerine Bir Çalışma

A study on historical development of "Karaağaç Slaughterhouse"5

Matrix Effect and Most Used Methods in Pesticide Residue Analysis

Pestisit Analizlerinde En Fazla Kullanılan Metotlar ve Matriks Etkisi13

Balıklarda Tüberküloz ve Halk Sağlığı Yönünden Önemi

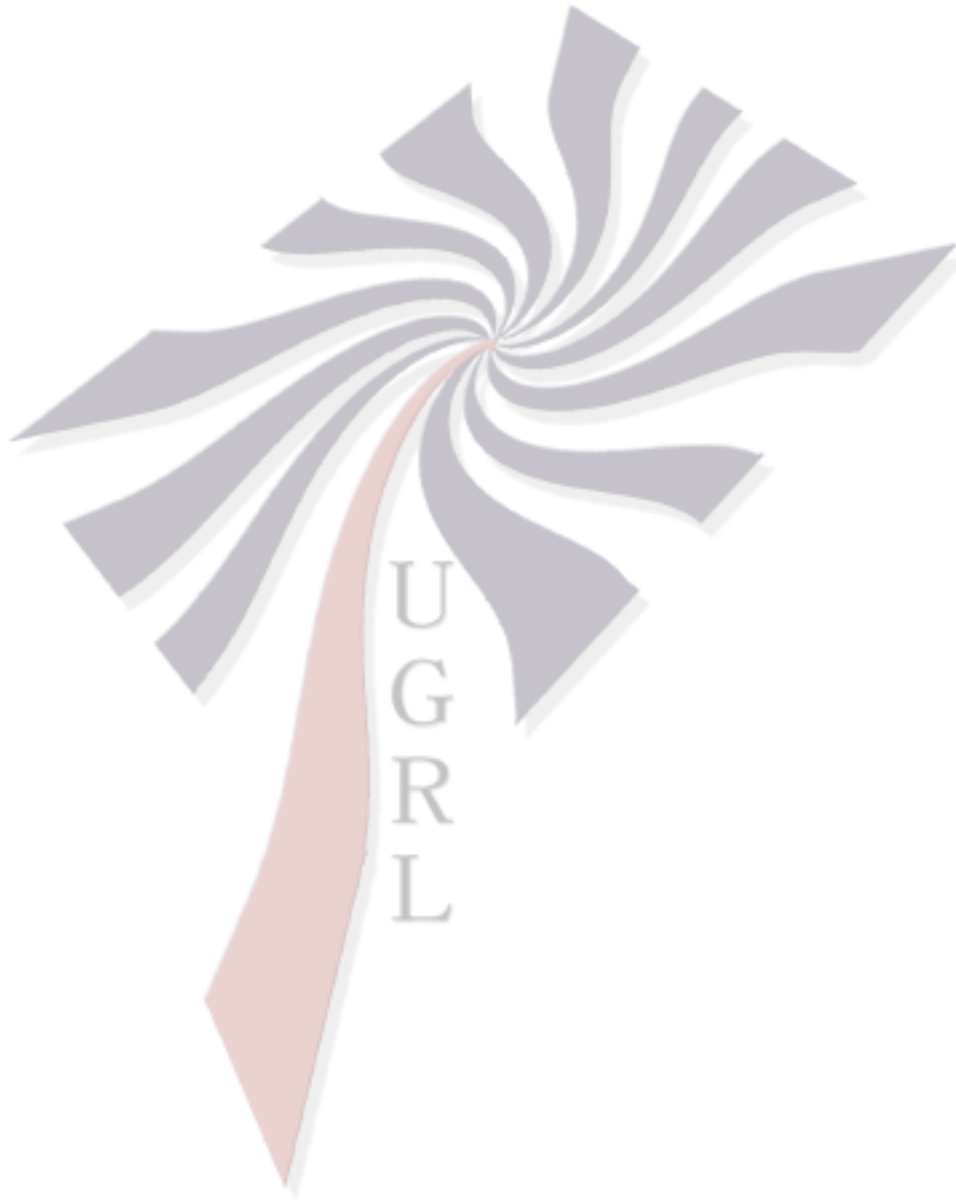
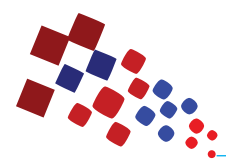
Fish Tuberculosis and its Importance in Public Health.....21

İnsan Sağlığı Açısından Değerli Bir Kaynak: Balık Yağı

A Valuable Source For Human Health: Fish Oil27

Antimicrobial Susceptibility of *Campylobacter jejuni* Isolated from Drinking Water from Poultry Houses, Neck Skins and Intestinal Content of Poultry Slaughterhouses.....33

Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı Dergisi Yazım Kuralları41





Karaağaç Mezbahası'nın Tarihsel Gelişimi Üzerine Bir Çalışma

A study on historical development of "Karaağaç Slaughterhouse"

Berfin Melikoğlu GÖLCÜ*

Şule Osmanağaoğlu SANAL*

Asuman KIZILTEPE**

*Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji ABD

**Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji ABD

ÖZET

Osmanlı Devletinde mezbahalarla ilgili ilk düzenlemeler, Fatih Sultan Mehmet tarafından yapılmış ancak izleyen yıllarda mezbahaların teşkilat yapısında meydana gelen bozulmalar, devletin mezbahalar üzerindeki kontrolünü giderek zayıflatmıştır. On dokuzuncu yüzyıl sonlarından itibaren veteriner halk sağlığı çalışmaları kapsamında, modern ve umumi bir mezbaha yapılmasına yönelik düşüncelerin gündeme gelmesine rağmen gerçekleştirilen girişimlerden uzun yıllar sonuç alınamamıştır. Bununla birlikte, II. Meşrutiyet'in ilanından sonra konu ile ilgili yaşanan gelişmeler, umumi mezbaha inşaatı çalışmalarına ivme kazandırmış ve 1919 yılında Türkiye'nin ilk modern ve umumi mezbahasının temelleri atılmıştır. Cumhuriyet'in ilk yılında faaliyete başlayan Karaağaç Mezbahası, toplum sağlığı ve ülke ekonomisi açısından olduğu kadar halk sağlığı alanında veteriner hekimliği hizmetlerini de öne çıkaran kurumlardan biri olmuş ve 1984 yılına kadar varlığını sürdürmüştür. Bu çalışmada, Karaağaç Mezbahası ile ilgili saptanabilen yeni bilgilerin, veteriner hekimliği tarihi açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar sözcükler: Karaağaç Mezbahası, veteriner halk sağlığı, veteriner hekimliği tarihi.

* Sorumlu yazar : berfinmelik@gmail.com

Adres: Yrd. Doç. Dr., Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Veteriner Hekimliği Tarihi ve Deontoloji AD, 55139, Kurupelit-Samsun

Telefon: 362 3121919-3788

ABSTRACT

In the Ottoman State, the first regulations related to slaughterhouses were made by Fatih Sultan Mehmet. The deterioration of the organizational structure of slaughterhouses in the course of time eventually led to the progressive weakening of the control of the state over these institutions. Despite the expression of an intention to build a modern public slaughterhouse for public health purposes, attempts failed to realize this for long years. Nonetheless, developments that occurred during the second constitutionalist period accelerated the efforts to build a public slaughterhouse, resulting in the launch of the construction work of the first modern public slaughterhouse in Turkey in 1919. The Karaağaç Slaughterhouse, which began to operate in the first year of the newly established Turkish Republic and remained operational until 1984, functioned as one of the leading institutions of the country in terms of not only public health and national economy, but also veterinary services. The present study was aimed at the assessment of newly acquired information on the Karaağaç Slaughterhouse from the viewpoint of the history of veterinary medicine.

Key words: History of veterinary medicine, Karaağaç Slaughterhouse, veterinary public health

GİRİŞ

Osmanlı Devletinde ilk mezbahalar “salhâne” adıyla Fatih Sultan Mehmet tarafından kurulmuştur. Bu dönem, şehir içinde yasaklanan hayvan kesiminin, Yedikule’de inşa olunan 33 adet salhânede yapılmasına ve devlet tarafından belirlenen şartlara tabii tutulmasına karar verilmiştir. Bu salhânelerin her biri numaralandırılarak, İstanbul’un belirli bölgelerine, askeri birliklere ve saray ihtiyaçlarına tahsis edilmiştir. Daha sonraki yıllarda Yedikule dışında kesim yerlerinin kurulmaya başlaması ile Fatih tarafından kurulan bu teşkilat yapısı dağılmaya başlamıştır (Akçay, 1965, Türkhan, 2006). Tanzimat’ın ilanından sonra, ticaret ve sanayide kullanılan gedik sisteminin¹ 1866 yılında bozulması sonucunda, devletin mezbahalar üzerindeki kontrolü tamamen ortadan kalkmış, şehir içinde hemen her kasap dükkanının yanında veya arkasında sağlık koşullarına uygun olmayan özel mezbahalar açılmıştır² (Osman Nuri, 1924, Rıza İsmail, 1923a).

Diğer taraftan, Türkiye’de modern belediyecilik çalışmaları kapsamında halk sağlığıyla ilgili yasal düzenlemelere gidilmiştir. Bu düzenlemeler arasında yer alan, 5 Ekim 1877 tarihli “Dersaadet Belediye Kanunu”na göre, sokaklarda yapılan hayvan kesiminin, belediye tarafından uygun görülen yerlerde inşa edilecek mezbahalarda gerçekleştirilmesi öngörülmüş, mevcut mezbahaların ise hıfzısıhha kurallarına uygunluğu şart koşulmuştur. Ancak, uygulamada görülen yetersizlikler ve kasaplar başta olmak üzere hayvansal ürün ticareti yapan esnafdan gelen tepkiler nedeniyle bu düzenlemelerden etkili bir sonuç alınamamıştır (Melikoğlu, 2012, Seyitdanlıoğlu, 2010). Bununla birlikte, geleneksel nitelik taşıyan salhânelerin ve özel mezbahaların kaldırılarak, İstanbul’un et sarfiyatını karşılayacak modern ve umumi bir mezbaha yapılması

düşüncesi, ilk kez bu dönem gündeme gelmiş ve yaklaşık elli yıl boyunca konuyla ilgili girişimler sürdürülmüştür (Aydın, 2010, Osman Nuri, 1924).

Bu çalışmada, Türkiye’de modern ve umumi bir mezbaha kurulması için gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda, 1923 yılında faaliyete başlayan Karaağaç Mezbahası ile ilgili saptanabilen bilgi, belge ve fotoğrafları gün ışığına çıkarmak ve konuyu tartışmaya açmak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmanın ana materyalini, Atatürk Üniversitesi Kütüphanesi Seyfettin Özege Kataloğu, İstanbul Büyükşehir Belediyesi Atatürk Kitaplığı ve Milli Kütüphaneden elde edilen kaynaklar oluşturmuştur. Ayrıca çalışma bulguları, Başbakanlık Devlet Arşivleri Genel Müdürlüğü’nün Osmanlı Arşivi ve Cumhuriyet Arşivi Bölümülerinden sağlanan ilk el kaynaklarla desteklenmiştir. Yapılan araştırmalarda, Karaağaç Mezbahası ile ilgili ulaşılabilen kaynakların, özellikle mezbahanın kuruluş süreci ve ilk faaliyet yıllarına ait olduğu belirlenmiş, çalışmada bu kaynaklardan edinilen bilgiler değerlendirilmiştir. Orijinal belgelerin künye bilgileri ve açıklayıcı ek bilgiler dipnotlarda gösterilmiştir. Çalışmada incelenen Osmanlıca kaynaklardan sağlanan bilgilerin metin içerisinde kullanımında günümüz Türkçesine uygun sadeleştirmeleri yapılmıştır. Çalışma, medikal tarih araştırmalarında uygulanan analiz ve sentez yöntemleriyle değerlendirilmiş, konu kronolojik olarak ele alınmıştır.

Bulgular

Karaağaç Mezbahasının kuruluş süreci

On dokuzuncu yüzyıl sonu ve yirminci yüzyıl başlarında İstanbul’da modern ve umumi bir mezbaha inşa edilmesine ilişkin çeşitli girişimler gündeme getirilmiş

¹Gedik sistemi: Osmanlılar zamanında esnaf ve sanatkârlar arasında yardımlaşma ve dayanışmayı sağlamak, kalite kontrolü yapmak ve esnaf içinde tekelleşmeyi önlemek için kurulmuş olan sistem veya bu sistem içinde kazanılan çalışma yetkisidir. Bu sisteme göre, Osmanlı şehirlerinde kişilerin, istedikleri ticaret ve sanat alanlarında çalışabilmeleri için belirli yeterlik ve şartları taşımaları zorunlu tutulmuştur.

²Osman Nuri (Ergin) Bey (1924), *Meşrutiyet’in ilanından önce sadece İstanbul’da 1260 kasap dükkanının olduğunu bildirmiş, ancak bu dükkanların kaçında hayvan kesiminin yapıldığı belirlenememiştir*

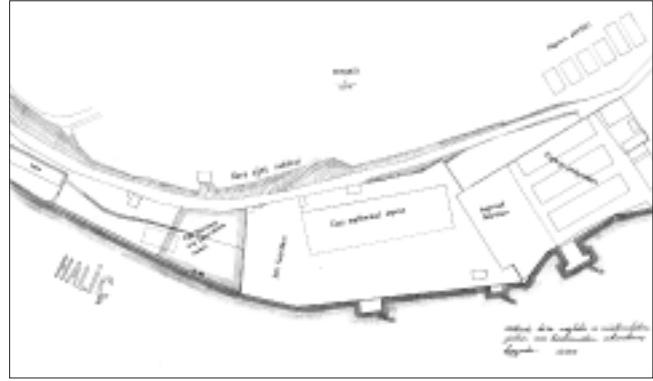


ise de başta siyasi gerekçeler ve maddi sıkıntılar nedeniyle konuya ilişkin bir adım atılamamıştır. (Osman Nuri, 1924). Osman Nuri (1924), Karaağaç Mezbahasının kuruluşuna temel oluşturan asıl girişimin, Operatör Dr. Cemil (Topuzlu) Bey'in ilk Belediye Başkanlığı döneminde gerçekleştirildiğini bildirmiştir. Cemil (Topuzlu) Bey, 1913 yılında İstanbul şehrinin tüm et ihtiyacını karşılayabilecek modern bir mezbahanın inşaa ve işletme imtiyazı için uluslar arası bir müsabaka açmıştır. Müsabakaya katılan Alman, Fransız, İngiliz ve Belçika kökenli şirketlerin teklifleri, dönemin ileri gelen mühendis, mimar ve veteriner hekimlerinden oluşan bilimsel ve teknik bir komisyon tarafından değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda, Paris umumi mezbahaları işleticisi M. Emil Kamus'un temsil ettiği şirketle sözleşme yapılmasına karar verilmiştir. Sözleşme maddelerine göre mezbahanın, toplam 224.545 m²'lik bir alan içinde istimlak bedeli dahil 18 milyon Frank'a mal olması; mezbaha inşaatının 2 yılda tamamlanması; işletme imtiyazının 40 yıl olması ve hasılatın yarısının belediyeye verilmesi kabul edilmiştir (Aydın, 2010, İstanbul Belediyesi Karaağaç Kurumları Yıllığı, 1955, Osman Nuri, 1924). Ancak daha sonra "Vilayet Meclis-i Umumisi"³ tarafından yapılan itirazlar ve Birinci Dünya Savaşı'nın patlak vermesi, sözleşmenin uygulamaya konulmasını engellemiştir.

Birinci Dünya Savaşı sırasında hükümetin öncelikli amacı, ordunun ihtiyaçlarını karşılamak olmuş, orduya et tedarikinde bulunabilmek için belirli günlerde ve mezbahalarda hayvanların kesimine izin verilmiştir. Bu amaçla, hayvan kesiminin, sadece hükümetin ve belediyenin uygun gördüğü yerlerde yapılmasına karar verilmiş ve İstanbul içindeki mezbahalar kısmen tasfiye edilerek sayıları 147'e indirilmiştir. Daha sonra, 11 Nisan 1918 tarihinde yayımlanan "Damızlığa ve Çifte Elverişli Hayvanat-ı Bakariye Vesairenin Suret-i Muhafazası Hakkındaki Kanun"⁴, 3. maddesinde yer alan "Şehir ve kasabalarda mezbaha ittihaz olunacak mahaller belediye sağlık heyeti veya tabibi raporuyla tayin olunur ve tayin olunan mezbahalardan başka yerlerde hayvan kesimi kesinlikle yasaktır" hükmü uyarınca, hayvan kesiminin, İstanbul'un çeşitli bölgelerinde bulunan 22 mezbahada yapılması öngörülmüştür (Osman Nuri, 1924, Topcubaşı, 1946). Ancak Belediyenin idaresine bırakılan bu mezbahalardaki sağlık ve hijyen koşullarının, savaş ve mütareke yıllarında daha da kötüleştiği bildirilmiştir (İstanbul Belediyesi Karaağaç Kurumları Yıllığı, 1955).

Belediye Başkanlığı görevine 5 Mayıs 1919 tarihinde tekrar getirilen Cemil Paşa, modern mezbaha yapımını yeniden ele alarak, konuyla ilgili çalışmaları başlatmıştır. Bununla beraber, bir taraftan İşgal Kuvvetleri

Kumandanlığının baskıları, diğer taraftan daha önce mezbaha inşaa ve işletme imtiyazı verilmiş olan Fransız şirket ile yapılan sözleşme şartlarının yerine getirilmesi üzerine Fransa Devleti'nin Osmanlı Hükümetine 3 milyon Frank tazminat talebinde bulunması, mezbaha yapımına ilişkin işlerin hızlandırılmasını sağlamıştır. Cemil Paşa, bu duruma bir çözüm getirebilmek ve mezbaha yapımına ayrılacak bütçe olanaklarını azaltmak amacıyla mezbaha inşasının Belediye tarafından sınırlı olanaklarla gerçekleştirilmesine karar vermiştir. Kısa bir süre sonra, Karaağaç Mezbahasının çekirdeğini oluşturan plan ve projeler (Şekil 1), Veteriner Bakteriolog Rıza İsmail (Sezginer) Bey'in Almanya'da bulunduğu sırada mezbahalar üzerinde yaptığı incelemeler göz önüne alınarak, Mimar Vedat Bey tarafından hazırlanmıştır (İstanbul Belediyesi Karaağaç Kurumları Yıllığı, 1955, Osman Nuri, 1924).



Şekil 1: 1931 yılında Karaağaç Mezbahasının planını gösteren harita

Tazminat talebine verilen cevapta, daha önce kabul edilen projenin hayata geçirilebilmesi için en az 5-6 yıllık süreye ve yüksek bir bütçeye ihtiyaç olduğu, şehir içindeki mezbahaların kapatılması dolayısıyla daha düşük bütçeli başka bir projenin 7 ayda tamamlanmak üzere Manizade Hacı Hüseyin Efendi'ye ihale edildiği ifade edilmiştir. Ayrıca, imzalanan sözleşmede yer alan "mezbahanın Belediye tarafından yapılması durumunda hiç bir hak iddia edilemeyecektir" maddesi gereği, istenen tazminatın yasal bir temele dayandırılmayacağı bildirilmiştir (İstanbul Belediyesi Karaağaç Kurumları Yıllığı, 1955, Topcubaşı, 1946). Bunun üzerine, mezbahanın inşaatına Haliç'in Karaağaç mevkiinde başlanmış, 27 Kasım 1919 tarihinde temel atma töreni yapılmıştır. Ancak, izleyen günlerde, umumi mezbaha yapımına karşı çıkan kasapların verdiği tepkilerin artarak devam etmesi, mütareke yıllarında görülen yokluk ve maddi imkânsızlıklar ile mezbahanın yapım aşamasında karşılaşılan sıkıntılar⁵ nedeniyle Karaağaç Mezbahasının açılışı

³Vilayet Meclis-i Umumisi: İl Genel Kurulu

⁴Düstur, II.Tertip, 10. Cilt, s.497-498.

⁵Başbakanlık Osmanlı Arşivi, Tarih: 09 Ra 1340 (10.11.1921), Dosya No: 98, Gömlek No: 15, Fon Kodu: DH.UMVM

ertelenmiş ve bu durum, Cumhuriyet dönemine kadar devam etmiştir (Aydın, 2010, Rıza İsmail, 1923b).

Karaağaç Mezbahası ve ilk yıllardaki faaliyetleri

Karaağaç Mezbahasının (Şekil 2) resmi açılışı, Cumhuriyet'in ilk İstanbul Valisi Haydar (Yuluğ) Bey'in gayretleri ile 12 Temmuz 1923 tarihinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3) (Akçay, 1965, Aydın, 2010). Mezbahada, birisi siğir, ikisi koyun kesimine ayrılmak üzere üç kesim salonu⁶; koyun ve siğirlerin barındırılması için ağıl ve ahırlar; kesim salonları, ağıl ve ahırları temizlemek üzere gerekli olan su deposu ile suyun kullanımını sağlayan tesisat ve makine dairesinin yapımına öncelik verilmiştir (Rıza İsmail, 1923b, Topcubaşı, 1946). Bununla birlikte, mezbaha alanında, kesim salonlarının içinde ayrılmış bağırsak ve işkembe yerleri ile sıcak ve soğuk su tertibatını içeren banyo alanları, ayrıca idare binası, laboratuvar, büfe ve yemekhanenin de mevcut olduğu bildirilmiştir.



Şekil 2: Karaağaç Mezbahasının genel görünüşü



Şekil 3: Karaağaç Mezbahasının kuruluş günlerinde çekilmiş bir fotoğraf. Vet.Hek.Bakteriyolog Rıza İsmail (Sezginer) (oturanlardan soldan sağa birinci) ve İstanbul Valisi Haydar (Yuluğ) Beyler (oturanlardan soldan sağa üçüncü)

Alman modeli örnek alınarak inşa edilen kesim salonları, ilk etapta günlük 2 bin koyun ve 120 siğirin kesimi yapılacak şekilde düzenlenmiştir. Koyun ve siğir salonları hemen hemen aynı tarzda inşa edilmiştir. Salonlarda, kesilen hayvanların derisinin yüzülmesi ve diğer işlemler için yerden belli bir yükseklikte bulunan ve üzerine çengeller asılan demir sütunlar yapılmış, büyük ağırlıkları kaldırmak için makaralar, kesilen etlerin kurutulmasında ise vantilatörler kullanılmıştır (Şekil 4-5). Mezbahanın su düzeneği, deniz suyu, kuyu suyu ve içme suyu olacak şekilde üçe ayrılmış, tatlı su, tuzlu su ve yedek suyun depolanmasını sağlayan santrifüjlü makinelerden yararlanılmıştır. Yine, büfe ve makine dairesi arasında küçük bir bina olarak inşa edilen laboratuvar, analizlerin yapılabilmesi için gerekli düzenlemeler gerçekleştirilmiştir. Ayrıca Vali Haydar (Yuluğ) Bey'in sayesinde mezbaha laboratuvarının Avrupa mezbahalarındaki kadar iyi düzeyde teknik donanımına sahip olduğu bildirilmiştir (Rıza İsmail, 1923b).



Şekil 4: Karaağaç Mezbahasının siğir kesim salonu

İzleyen yıllarda, mezbaha donanımının daha da geliştirilmesi ve artan et ihtiyacının karşılanabilmesi amacıyla Prof. Dr. Hulki Erem ve eski Belediye Veteriner Müdürü Esat Evsen'den oluşan bir ekip, mezbahalar üzerinde incelemeler yapmak için Avrupa'ya gönderilmiş ve belirlenen eksiklikler giderilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla, soğukhava tesisleri ile günlük 50 ton buz yapma kapasitesindeki buz fabrika-



Şekil 5: Karaağaç Mezbahasının koyun kesim salonu



Şekil 6: Etlerin nakliyatında kullanılan ilk araçlar

si işletmeye açılmış (1925); canlı hayvan pazarı ve pay-yeri⁷ yapılmış (1926); et satış salonu ve idare binası inşa edilmiş (1931); mezbaha civarında yer alan hazineye ait arsanın İstanbul Belediyesi tarafından satın alınarak mezbaha alanına katılması sağlanmış (1932)⁸; kesilen etlerin satış yerlerine uygun bir şekilde ulaştırılmaları için gerekli olan modern araçlar temin edilmiş (Şekil 6) (1939)⁹; ayrıca işkembe, paça, bağırsak temizleme yerleri, otopsi salonu, krematoryum ve gerekli diğer donanımlar zamanla tamamlanmıştır^{10,11} (İstanbul Belediyesi Karaağaç Kurumları Yıllığı, 1955, Topcubaşı, 1946).

Karaağaç Mezbahasının açılışını takip eden ilk yıllarda, daha önce Belediye hizmetinde ve şehir salmalarında çalışan veteriner hekimler görevlendirilmiştir (Tablo 1-2). Kurumun 1955’de çıkarılan yıllıkta veteriner hizmetlerinin bir veteriner şef, bir veteriner bakteriolog ve 19 et kontrol veterineri tarafından yürütüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca, veteriner hekimlerin kurumda idarecilik görevinde de bulunduğu belirlenmiş, ilk kez 1939 yılında Veteriner Hekim Servet İz Mezbaha Müdürlüğüne atanmıştır (Akkerman ve Bekman, 1942, İstanbul Belediyesi Karaağaç Kurumları Yıllığı, 1955).

Tablo 1. Karaağaç Mezbahasında 1923-1954 yılları arasında çalışan veteriner hekimler ¹²

Ferit Eren (1923-1924)	Rıfki Göktan (1924-1932)	İsmail Hakkı Teksur (1936-1946)
Rıza İsmail Sezginer Laboratuvar Şefi (1923-1924)	Şerafettin Altınçargı (1925-1946)	Bahattin Canıtez (1939-1940)
Münir Erem (1923-1936)	Mehmet Bey (1925-1934)	İbrahim Şimşekalp (1940-1946)
Sait İrgen (1923-1954)	M. Kasım Bey (1925-192)	Asım Şekerkaya (1940-1946)
Hasan Sırrı Fidancıoğlu (1923-1924)	Cemil İzgü (1926-1945)	Hakkı Beller (1940-1953)
Ahmet Susar (1923-1942)	Mustafa Asım Tokman (1927-1944)	Selahattin Batur (1941-1942)
Ali Şevket Ötkün (1923-1955)	Safi Toksöz (1928-1942)	Ahmet Necati Diril (1941-1942)
Kazım Atav (1923-1940)	Servet İz (1928-1930)	Nuri Akbaran (1943-1948)
Hayri Bey (1923-1924)	Basri Barın (1930)	Veliyettin Özkır (1943-1947)
Latif Berkmen (1923-1930)	M. Azmi Akkaya Başveteriner (1931-1949)	Haluk Sabahattin Bülay (1945-1947)
Nevzat Tüzdil (1923-1932)	Saffet Yılmazönce Başveteriner (1932-1952)	Hayri Kılıçlıoğlu (1946-1951)
Mehmet Ali Bey (1923-1932)	Hüseyin Cemal Tek (1933-1934)	Fikret Akın (1947-1951)
Hilmi Dalgimen (1923-1931)	İsmail Hakkı Akkent (1934-1946)	Naci Kıpçak (1947-1952)
İsmail Hakkı Bey (1923-1925)	Mehmet Savcı (1934-1946)	Mazhar Atay (1947-1954)
Cemalettin Şerbetçioğlu (1923-1924)	Osman Nuri Erkuş (1934-1935)	Ekrem Erbin Laboratuvar Şefi (1941)
Zeynelabidin Erdöl (1923-1925)	A.Hilmi Bey (1934-1936)	Siddik Olcay Mezbaha Şefi (1947)

⁷Payyeri: Canlı hayvanların ayakta muayene edildiği yerler

⁸Başbakanlık Cumhuriyet Arşivi, Tarih: 02.03.1932, Sayı:12960, Dosya No:105-72, Fon Kodu, 30.18.1.2, Yer No: 26.14.17

⁹Başbakanlık Cumhuriyet Arşivi, Tarih: 03.10.1939, Sayı:120792, Dosya No:84-28, Fon Kodu, 30.18.01.02, Yer No: 88.97.1

¹⁰İstanbul Umumi Meclisine Mülhak Karaağaç Müessesatı 1933 Yılı Bütçesi. Matbaacılık ve Neşriyat Türk Anonim Şirketi, İstanbul.

¹¹İstanbul Umumi Meclisine Mülhak Karaağaç Müessesatı 1940 Yılı Bütçesi. Belediye Matbaası, İstanbul.

¹²Çalışmada gerçekleştirilen arşiv ve kütüphane taramalarında Karaağaç Mezbahasının 1955 yılından sonraki faaliyetleri ile ilgili kayıtlara rastlanamadığından bu tarihten sonra kurumda çalışan veteriner hekimler belirlenilememiştir.

Tablo 2. Karaağaç Mezbahasında 1955 yılında çalışan veteriner hekimler¹²

Halit Hekimoğlu (1925)
Hüsnü Kızılyalım (1941)
Zehra Kutnak (1948)
İsmail Sefa Mete (1949)
Mahir Bagana (1950)
Osman Erken (1951)
Mehmet İra (1951)
Cemalettin Şerbetçioğlu (1952)
Ali Sıtkı Sipahi (1953)
Ali Çetin Şengenç (1953)
Nuri Barlas (1953)
Cemil Akbulut (Yevmiyeli 1953)
İsmail Ersoy (1954)
Nazım Antikacıoğlu (1955)
Hayri Tümer (Yevmiyeli 1955)
Burhan Tulunay (Yevmiyeli 1955)
Zühtü Beker (Yevmiyeli 1955)

Kurumun ilk servislerinden biri olan ve bir veteriner bakteriyolog yönetiminde yürütülen laboratuvar bölümü, mecburi kesim ve otopsi salonu, et sterilizasyon ünitesi, krematoryum ve tecrid ahırlarından oluşmuştur. Mezbaha laboratuvarında verilen hizmetler arasında, mezbaha dışında kesilen hayvanlar ile şehir içinde yakalanan kaçak etlerin muayenesi, mezbaha dışında ölen hayvanların otopsi ve bakteriyolojik muayeneleri, salgın hastalık görülen sürülerin muayenesi, tüketimine izin verilmeyen et, organ ve kadvraların imhası; tüketimi şarta bağlı etlerin otoklavda sterilizasyonu veya dondurulması ile et kontrol veteriner hekimleri ve kasaplar arasında kesilen etlerin tüketimi üzerinde çıkan görüş ayrılıklarında bilimsel yöntemlere başvurmak ve araştırmalar yapmak gelmektedir (Şekil 7-8) (İstanbul Belediyesi Karaağaç Kurumları Yıllığı, 1955).

Mezbahada her yıl Türkiye'nin dört bir tarafından gelen yüzbinlerce hayvanın kesiminin yapıldığı ve birçok hastalığın ortaya çıkarıldığı kaydedilmiştir (M Azmi, 1933). Kurumda 1923-1932 yılları arasında "Veteriner Şef" olarak görev yapan Ahmet Nevzat (Tüzdil) Bey (1925), kurumda canlı hayvan ve et muayenesinde izlenen yolları şu şekilde tarif etmiştir;

Mezbahaya getirilen hayvanlar ilk olarak canlı muayeneye tabi tutulurlar. Bu muayenede öncelikle sağlık açısından ya da kanunen kesilmemesi gereken hayvanlar ayrılır. Kesilmesinde bir sakınca bulunmayan hayvanlar mezbaha ahırlarına kabul edilirler. Bu hay-

**Şekil 7-8:** Karaağaç Mezbahasının Laboratuvarında Rıza İsmail (Sezginer) ve Zeynelabidin (Erdöl) Beyler

vanlar 24 saat aç bırakıldıktan sonra kesilmek üzere kesim salonlarına gönderilirler.

Kesimine izin verilen hasta hayvanlar veya mezbahaya kesilmiş getirilen etler, mutlaka veteriner hekimlerden oluşan bir kurulun muayenesinden ve laboratuvar incelemesinden geçmek üzere ayrı bir salonda kesilir veya hazırlanır. Bu muayene ile çiçek, uyuz, antraks, şap, sığır vebası, piyeten gibi halk sağlığı ve ülke ekonomisini önemli ölçüde etkileyen bulaşıcı hastalıklı hayvanlar; kırık, çıkık vb. ortopedik hastalıkların şekli ve çeşitli özellikleri ile kesilen etler üzerinde rastlanılan bozukluklar hakkında değerlendirmede bulunmak üzere incelemelerde bulunulur. Ayrıca fıtık, rahim ve bağırsak prolapsusu vb. hastalıklar bakımından da araştırmalar yapılmış olur.

Etlerin kesim sonrası muayenesi daha ayrıntılı bir biçimde yapılır. Bu muayene, hayvanların organları gövdeden ayrılmadan icra olunur. Bu zamanda, çeşitli ateşli, enfeksiyöz, mikrobik ve bulaşıcı hastalıklar ile etlerin özellikleri (zafiyet, kaşeksi sarılık vs.) incelenmiş olur.

Sistiserk dışında et ile alakalı olmayan parazitler hastalıklar hiçbir muameleye tabii bulundurulmaz.



Bulaşıcı nitelikte bir paraziter hastalığa ya da sistiserkusa rastlanılır ise bu etler derhal ayrılarak veteriner kurulu tarafından tekrar muayene edilir ve laboratuvar-da paraziter, mikrobiyolojik ve kimyasal araştırmalara tabi tutulur. Daha sonra bu etler duruma göre tamamen veya kısmen imhaya gönderilir, ayrıca kanunda bildirilen bulaşıcı bir hastalık var ise hayvanın ait olduğu sürü üzerinde de gerekli önlemler alınır ve uygulanır.

Tamamen sağlam görülen hayvanların etleri numaralandırılarak, etin belediye mezbahasına geldiğini ve hastalıktan arî bulunduğunu bildiren bir damga uygulanır. Damgacılar tarafından ete yapılan damga tatbikinin ardından organlar çıkarılır ve doğruca organ muayenehanesine gönderilir. Burada çeşitli paraziter



Şekil 9: Karaağaç Mezbahasında veteriner hekimler tarafından yapılan et muayenesi



Şekil 10: Karaağaç Mezbahasında et muayenesi sırasında Latif (Berkmen) ve Zeynelabidin (Erdöl) Beyler

hastalıklar [filaryalar, stronjiller, distom ve ekinokoklar, sarkosporidiler vs.] yönünden incelenir ve hastalığın bulunması halinde yine genel veya kısmi imha işlemi uygulanır. (Şekil 9-10).

Mezbaha, veteriner hekimlerinden Mehmet Azmi (1933), mezbahaya getirilen hayvanlarda çoğunlukla verem, sistiserkus, peritonitis, perikarditis, pnömoni, ekinokok, distamatososis ve şap hastalıklarına rastladığını bildirmiştir. Bununla birlikte, hiçbir muayeneye tabi tutulmayan kaçak kesimler, mezbahada yapılan denetimlerle kontrol altına alınmaya çalışılmışsa da toplum sağlığı açısından tehlike yaratmaya devam etmiştir. Diğer taraftan, tam anlamıyla bir uygulama alanı olan Karaağaç Mezbahası ülke hayvan sağlığı açısından taşıdığı önem dolayısıyla veteriner hekimlik, tıp ve mikrobiyoloji araştırmaları için de bir kaynak oluşturmuş, ilgili fakülteler ve okullardan gelen öğrenciler tarafından bir staj yeri olarak kullanılmıştır (İstanbul Belediyesi Karaağaç Kurumları Yıllığı, 1955).

Uzun yıllar faaliyet gösteren Karaağaç Mezbahası, 1984 yılına kadar varlığını sürdürmüştür. Karaağaç Mezbahasının kuruluşundan itibaren verdiği hizmetler ve yararlar, diğer belediyelerin de harekete geçmesini sağlamış, İstanbul dışındaki şehir ve kasabalarda ihtiyaçlar doğrultusunda modern mezbahalar kurulmaya başlamıştır (Akçay, 1965, Aydın, 2010)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Türkiye’de et muayenesi ile ilgili yasal düzenlemelerin Ondokuzuncu yüzyıl sonundan itibaren gerçekleştirilmesine (Melikoğlu, 2012) rağmen gerek İstanbul’un çeşitli bölgelerinde bulunan kesim yerlerinin sağlık şartlarına uygunsuzluğu gerekse bu mezbahalarda görevli veteriner hekimlerin idare işleri ile meşgul edilmeleri (M Azmi, 1933) nedeniyle canlı hayvan ve kesilen etlerin muayenesinde etkili bir işleyişin olmadığı ileri sürülebilir. Bu çerçevede, Karaağaç Mezbahasının faaliyete başlaması, Türkiye’de et muayenesi ve veteriner halk sağlığı açısından önemli bir adım olarak kabul edilebilir. Bununla birlikte, Mezbahanın, Belediyeye sağladığı maddi kaynak ile ülke ekonomisine de katkıda bulunduğu söylenebilir. Nitekim 1923 yılında yapılan bir değerlendirmede mezbahanın günlük 3 bin lira gelir temin etmesi (Rıza İsmail, 1923b), 1933 yılına ait gelirin ise 1,5 milyon liranın üzerine ulaşması¹⁰ (Topcubaşı, 1946), bunun bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Veteriner Hekim Bakteriyolog Rıza İsmail (Sezginer) Bey’in Mezbahanın proje aşamasından faaliyet gösterdiği ilk yıllara kadar etkin rol oynaması (Rıza İsmail, 1923b), Kurumun işleyişinde bilimsel temellerin ve veteriner halk sağlığı hizmetlerinin büyük ölçüde göz önüne alındığını göstermektedir. Yine kurumda

veteriner hekimlerden oluşan kalabalık bir ekibin görevlendirilmesi, çeşitli dönemlerde veteriner hekimlerin kurumun yönetiminde görev almaları, ayrıca kurum laboratuvarının bir veteriner bakteriyolog yönetiminde faaliyet göstermesi ve bu laboratuvarda bakteriyolojik analizlere olanak veren teknik donanım ve kadronun sağlanması (İstanbul Belediyesi Karaağaç Kurumları Yıllığı, 1955), bu kanıyı doğrular niteliktedir.

Sonuç olarak Türkiye'nin ilk modern ve umumi mezbahası olan Karaağaç Mezbahası, toplum ve hayvan sağlığı ile ülke ekonomisine yaptığı katkıların yanı sıra veteriner hekimliğin halk sağlığı alanındaki hizmetlerine de örnek teşkil etmiş, faaliyetleri ile veteriner halk sağlığı çalışmalarının önemini gözler önüne sermiştir.

TEŞEKKÜR

Çalışmanın kaynaklarına ulaşılmasında yardımcı olan Uzman Kütüphaneci Selçuk Aydın ve Arş. Gör. Sinan Sümbül ile çalışma süresince desteğini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Mehmet Aydın'a teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

Ahmet Nevzat. 1925. Sıhhi kısım: Karaağaç Mezbahasında hayvanatın usul-i muayenesi. İstanbul Şehremaneti Mecmuası. 1(6): 151-152.

Akçay Ş. 1965. Tarihte mezbaha. Türkiye'de Hayvan ve Hayvancılık, 3 (23):8-10,40.

Akkerman C., Bekman M. 1942. Türkiye'nin Et Meselesi. TC. Ziraat Vekaleti Neşriyatı, U.Sayı:533, Veteriner Serisi:13, Ankara.

Aydın M. 2010. Mütareke Döneminde İstanbul basınında Karaağaç Mezbahası'na yönelik tartışmalar. Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi, 3(14) 99-106.

İstanbul Belediyesi Karaağaç Kurumları Yıllığı. 1955. İstanbul Belediye Matbaası, İstanbul.

M Azmi. 1933. Karaağaç Mezbahasında sığır kesimi. İstanbul Belediye Mecmuası, 9 (106-107): 864-868

Melikoğlu B. 2012. Osmanlı Devletinde Et Muayenesi İle İlgili Düzenlemeler. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi. 82(2):59-70

Osman Nuri. 1924. İstanbul'un bir senelik et sarfiyatı ve Karaağaç Mezbahası. İstanbul Şehremaneti Mecmuası, 4, 65-77.

Rıza İsmail. 1923a. Mezbahaların tarihçesi. Baytari Mecmua, 1 (2) 52-56.

Rıza İsmail. 1923b. İstanbul'un yeni mezbahası. Baytari Mecmua, 1 (4) 118-122.

Seyitdanlioğlu M. 2010. Tanzimat döneminde Modern Belediyeciliğin Doğuşu – Yerel Yönetim Metinleri. Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları, İstanbul.

Topcubaşı A. C. 1946. Mezbahalar Gelir Kaynağı Değildir. Türk Belediyecilik Derneği Yayını No:2, Pulhan Matbaası, İstanbul.

Türkhan M. S. 2006. 18. Yüzyılın İkinci Yarısında İstanbul'un Et İlaşesinin Temini: Hassa Kasabbaşı Kurumu.. Marmara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.



Matrix Effect and Most Used Methods in Pesticide Residue Analysis

Pestisit Analizlerinde En Fazla Kullanılan Metotlar ve Matriks Etkisi

Sevilay KIRIS^a

Y. Sedat VELİOĞLU^{b*}

^aNational Food Reference Laboratory, Residue Department, FSM Bulvarı, Tarım Kampusu No: 70, 06170, Ankara, Turkey

^bAnkara University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering Diskapi, Ankara, Turkey.

ABSTRACT

Pesticide usage is the most preferential technique to apply for pest control because they are effective in solving the problems of agricultural production and simple to apply. But, in case dense amounts of pesticides are used unconsciously, their residues can be found on foods, land and in the water and air. Adverse effects on human health of pesticide residues remaining in food after they are applied to food crops are generally known as acute neurologic toxicity, chronic neurodevelopment impairment, possible dysfunction of immune, reproductive and endocrine systems or cancer and many others. Pesticide residues in foodstuffs should be below the prescribed levels so they do not constitute an unacceptable risk to consumer and animal health. For this reason, pesticide residue levels in foodstuffs must be sensitively determined. But, pesticide residue analysis can be an extremely challenging task due to large quantities of co-extracted components which may adversely affect the method and instrument performance and it is known as matrix effect. This article describes the comparison of the most used methods for pesticide residue analysis and presence of matrix effect during analysis.

Keywords: gas chromatography, liquid chromatography, matrix effects, pesticides, residue analysis.

* Sorumlu yazar : skiris@ugrl.gov.tr

Adres: Sevilay Kırış, National Food Reference Laboratory, Residue Department, FSM Bulvarı, Tarım Kampusu No: 70, 06170, Ankara, Turkey

Telefon: 90-312-327 41 81; Fax: 90-312-327 41 56

ÖNSÖZ

Tarımsal üretimde pestlerden kaynaklanan sorunlarla mücadelede yüksek etki göstermesi ve kullanımının kolay olması nedeniyle pestisit kullanımı en çok tercih edilen yöntemdir. Pestisitlerin yoğun ve bilinçsiz bir şekilde kullanılmaları sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada kalıntıları bulunabilmektedir. Gıdalara uygulandıktan sonra ürün üzerinde kalan pestisitlerin insan sağlığına olan olumsuz etkileri arasında akut nörolojik zehirlenme, kronik nörolojik bozukluklar, bağışıklık sisteminin, büyüme ve endokrin sistemlerinin bozulması veya kanser ve diğerler etkiler sayılabilir. Gıda maddelerindeki pestisit kalıntı miktarı tüketici ve hayvan sağlığına risk oluşturmaması için belirlenen miktarların altında bulunmalıdır ve bu nedenle, gıda maddelerindeki pestisit kalıntı miktarları hassasiyetle belirlenmelidir. Fakat, pestisit kalıntı analizleri matriks etkisi olarak bilinen, analitle birlikte ekstrakte edilen, metot ve cihaz performansını olumsuz yönde etkileyen örnek bileşenleri nedeniyle oldukça zor analizlerdir. Bu makalede özellikle gıda maddelerinde pestisit kalıntı analizlerinde en fazla kullanılan metotların karşılaştırılması ve analizler sırasında meydana gelen matriks etkilerini ortaya konulmuştur.

1. INTRODUCTION

Due to its significant effects in solving the problems of agricultural production and the simplicity of its application, using pesticide is the most preferential technique to apply. More than 1000 active substances against pests are currently used worldwide (Fernandez-Alba and Garcia-Reyes., 2008). Pesticides can be classified as insecticides, fungicides, herbicides, acaricides, rodenticides or nematocides based on their specific biological activity on target species, or can be classified as organonitrogen, organohalogen or organosulfur compounds based on functional groups in their molecular structure. Herbicides are by far the most commonly used pesticides, followed by insecticides, fungicides and others (Ahmed, 2001). The classification of pesticides based on their specific activity has been prepared as a poster by IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) (Anonymous, 2011a).

Because dense amounts of pesticides are used unconsciously, their residues are found on foods and land and in the water and air. It is reported that their residues are present in large amounts (Lambropoulou and Albanis, 2007). The products that have a high risk of residue are fresh fruits and vegetables served immediately for consumption after they have been harvested. Since most of them are eaten raw, it is expected that they contain higher pesticide residue levels compared to other food groups of plant origin (Chen et al., 2011).

Adverse effects on human health of pesticide residues remaining in food after they are applied to food crops are generally known: acute neurologic toxicity, chronic neurodevelopment impairment, possible dysfunction of immune, reproductive and endocrine systems or cancer and many others (Dömötova and Matisova, 2008). The U.S. Environmental Protection Agency (EPA) implied that the health effects of pesticides depend on the type of pesticide. Some, such as

the organophosphates and carbamates, affect the nervous system. Others may irritate the skin or eyes. Some pesticides may be carcinogens. Others may affect the hormone or endocrine system in the body (Anonymous, 2011b). It is implied that pesticides can be converted to degradation products in the environment, products, animals and humans. These degradation products are also called metabolites and pesticide derivatives. Nowadays, there is great concern that these degradation products are more toxic and more stable than the main pesticides (Vidal et al., 2009, Nieto et al., 2009).

The permitted maximum concentration of pesticide residue is defined as Maximum Residue Level-MRL and expressed as milligrams of residue per kilogram of commodity (mg/kg) (Dömötova and Matisova, 2008). The European Union has determined the MRLs for pesticide residues in many products (Anonymous, 2011c).

Pesticide residues in foodstuffs should be below the prescribed levels so they do not constitute an unacceptable risk to consumer and animal health. For this reason, pesticide residue levels in foodstuffs must be determined sensitively (Sanchez et al., 2006).

2. THE MOST COMMON METHODS OF PESTICIDE RESIDUE ANALYSIS

Different sample preparation methods were developed for pesticide residue analysis in foods. Table 1 summarizes the techniques used for the analysis of pesticides in different samples.

The most common methods used for the sample preparation in chromatographic analysis of pesticides are the following: Part 1-3 of DIN Norm 12393 adapted from German Standard DFG S 19 (Anonymous, 1998), Luke method (Luke et al., 1981) and QuEChERS method (Anastassiades and Lehotay, 2003). Among them, the most common ones are Luke method and QuEChERS method.



2.1. Luke Method

Luke method was one of the earliest methods applied in pesticide analysis and has been adopted by AOAC as the Official Method 958.22. The method is based on liquid-liquid extraction. Excessive amounts of acetone, dichloromethane and petroleum ether were used in this method (Kruve et al., 2008).

Luke method was developed by FDA when new, water-soluble, very polar, organophosphorus pesticides, like methamidophos and acephate were first used in the 1970s. The samples were extracted by acetone and the water in the extract was removed by a series of liquid-liquid extractions, first by petroleum ether-dichloromethane then dichloromethane-NaCl. Using this method, both polar and non-polar pesticides were extracted. Then, separation funnels were replaced by diatome soil. Extracts of acetone-water were adsorbed on diatome soil and pesticides were eluted from the column by dichloromethane. Because of the adverse environmental effects of dichloromethane, a combination of ethyl acetate-cyclohexane is used instead in Europe. Recent studies revealed that water can be removed from the extract by the combination of fructose, anhydrous MgSO₄ and NaCl (Tadeo, 2008).

2.2. QuEChERS Method

QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) method is a recently developed method. It has three versions: first is the original method published in 2003 with no buffering, second is the acetate-buffering version becoming the AOAC Official Method (2007.01) and third is the citrate-buffering version named European Committee for Standardization (CEN) Standard Method EN 15662. This method is not only suitable for the analysis of pesticide residues in foodstuffs, but it is also suitable for other compounds, for example drugs and blood (Frenich et al., 2008).

This simple method relies on liquid-liquid extraction of pesticides from samples with acetonitrile, removal of residual water and clean-up by dispersive solid phase extraction (dSPE) with primary-secondary amine (PSA) and anhydrous MgSO₄. When compared to other methods, the most significant advantage is the use of less solvent. For fatty matrices, GCB (Graphitized Carbon Black) and C18 are also used together with PSA for clean-up (Romero-Gonzalez et al., 2008, Gilbert-Lopez et al., 2009).

Furlani et al. (2011) applied QuEChERS sample preparation for the determination of seven pesticide residues in 80 samples of sugarcane juice. They validated the method using sugarcane juice spiked at 0.025, 0.10 and 0.20 mg/L. The results of the method validation indicate that the QuEChERS sample prepa-

ration coupled with the GC-ECD analysis is suitable for the determination of trifluralin, atrazine, acetochlor, alachlor, endosulfan-alpha, endosulfan-beta and endosulfan-sulphate in sugarcane juice.

3. MATRIX EFFECT IN PESTICIDE RESIDUE ANALYSIS

Considering common sample preparation procedures, lipids (waxes, triacyl glyceroles, phospholipids etc.), various pigments (chlorophylls, carotenoids, melanoidines etc.) and other higher molecular mass components (e.g. plant resins) soluble in solvent used for extraction represent typical bulk co-extracts, part of which can be contained even in purified samples. They lead to adverse changes in performance of the chromatographic system (Hajlova and Zrostlikova, 2003). The change in the signals of analysed pesticides in the presence of other compounds is called the matrix effect. In multiresidue pesticide analysis, it is the most commonly encountered problem (Tiryaki, 2009).

Still, it has been found that matrix effect may be caused by non-volatile materials or by compounds of high surface activity. Matrix effect also strongly depends on the chemical nature of the analyte. It has been observed that the ionisation efficiency of polar compounds is more influenced by co-eluting compounds than the ionisation of less polar compounds. Some instrumental parameters e.g. ionisation source (APCI vs. ESI) ionisation mode of flow rate, have also been found to influence the extent of matrix effect (Kruve et al., 2008). A change in ionisation mode, mostly from ESI-MS to APCI-MS, has been shown to be a successful way of eliminating matrix effects. Similarly, the use of the negative-ion mode instead of the positive-ion mode, or vice versa, may reduce matrix effects. In practice, this will not be possible for all target analytes (Niessen, 2006). In gas chromatography instruments, a different injection technique (e.g. splitless, programmed temperature vaporisation-PTV) may change the matrix effects but does not completely eliminate them (Poole, 2007).

The interferences of the matrix with the detection process causes problems such as false negative results, false positive results, over-estimation of results and underestimation of results (Romero-Gonzalez et al., 2008). Matrix effect can be determined by comparing the responses of the same amount of analyte in solvent standards and in sample extracts (Tiryaki, 2009).

There are common approaches to considering matrix effect. The most accurate one would be stan-

dard addition, which unfortunately increases the number of injections. Internal standards are not very often used in multiresidue analyses because matrix effect is highly compound dependent. The use of deuterated internal standards for each pesticide susceptible to the effect would solve the problem, but such standards are not generally available, and would be very expensive. In addition, it is known that sometimes isotopically labelled standard substances may cause matrix effect as well (Kruve et al., 2008, Anastassiades et al., 2003).

To reduce matrix effect in gas chromatography analysis, Anastassiades and Lehotay (2003) added analyte protectant to extracts. To find the most suitable analyte protectant, they evaluated 93 different compounds with strong hydrogen bonding capabilities. Because hydrogen bonding has been shown to be an important factor in analyte interactions with active sites, they mainly focused on additives with strong hydrogen bonding capabilities. Dramatic peak enhancements were achieved using compounds containing multiple hydroxyl groups, such as sugars and sugar derivatives; gulonolactone appears to be the most effective protecting agent for most of the pesticides they tested. However, they emphasised that long-term influences on the performance of the chromatographic system have yet to be established.

SANCO (Anonymous, 2011d) recommends using matrix-matched calibration curves, standard addition and in GC-analyses use of analyte protectants that are added both to the sample extracts and to the calibration solutions to minimise matrix effects. Matrix-matched calibration may compensate for matrix effects but does not eliminate the underlying cause. Because the underlying cause remains, the intensity of effect may differ from one matrix or sample to another and also according to the concentration of the matrix.

Kruve et al. (2008) compared the matrix effect, recovery and process efficiency of Luke (AOAC 985.22), QuEChERS (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe) and matrix solid-phase dispersion (MSPD) methods applied to different fruits and vege-

tables for the determination of 14 pesticides with HPLC/ESI/MS. The Luke method was found to produce the least matrix effect. On average, the best recoveries were obtained with the QuEChERS method. MSPD gave unsatisfactory recoveries for some basic pesticide residues.

Lehotay et al. (2010) compared the different versions of QuEChERS method for the determination of 32 pesticide residues in apple-blueberry sauce, peas and limes by concurrent use of LC-MS/MS and GC-MS. None of the QuEChERS versions gave significantly different matrix effects from each other with the instrument and conditions they used. They emphasised that in GC-MS, without use of the internal standard, the results were not consistent enough for different pesticides even within the same sequence, and day-to-day matrix effect differences were too large even if the same extracts were re-injected. This is because the GC-MS matrix effects were more dependent on the conditions of the instruments (inlet liner and retention gap) than on the method or matrix. They also emphasised that even in complex samples, the pesticide peaks were easy to integrate and data processing was fast and simple using LC-MS/MS.

4. CONCLUSIONS

Pesticide residue levels in foodstuffs must be determined sensitively because of their adverse effects on human health. The most suitable approaches in the determination of pesticide residue contents in food samples are chromatographic methods with different sample preparation methods. The most common methods used for the sample preparation in chromatographic analysis of pesticides are German Standard DFG S 19, Luke method and QuEChERS method. Although detection techniques are becoming more sensitive and specific, there should be good sample preparation methods to solve matrix effect problems. To minimise the matrix effect, matrix-matched calibration curves, standard addition and in GC-analyses use of analyte protectants can be applied but these applications does not eliminate the underlying cause.



REFERENCES

- Adou, K., Bontoyan, W.R., Sweeney, P.J. 2001. Multiresidue Method for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables by accelerated solvent extraction and capillary gas chromatography. *J. Agr. Food. Chem.* 49: 4153-4160.
- Ahmed, F.E. 2001. Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks. *Trends Anal. Chem.*, 20, 649-661.
- Ahmad, R., Salem, N.M., Estaitieh, H. 2010. Occurrence of organochlorine pesticide residues in eggs, chicken and meat in Jordan. *Chemosphere* 78: 667-671.
- Anastassiades, M., Lehotay, S. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive SPE" for the determination of pesticide residues in produce. *JAOAC Int.* 86: 412-431.
- Anastassiades, M., Mastovska, K., Lehotay, S.J. 2003. Evaluation of analyte protectants to improve gas chromatographic analysis of pesticides. *J. Chromat. A* 1015:163-184.
- Anonymous 1998. DIN EN 12393. Foods of plant origin- Multiresidue methods for the chromatographic determination of pesticide residues- Part 1: General considerations- Part 2: Methods for extraction and clean-up- Part 3: Determination and confirmatory tests.
- Anonymous 2011a. Mode of Action Classification The Key to Resistance Management. IRAC Insecticide Resistance Action Committee. 2009. Accessed address: http://www.irac-online.org/wp-content/uploads/2009/09/pp_moa_structure_poster_v2.7_16oct09.pdf. Accessed May 23, 2011.
- Anonymous 2011b. Pesticides: Health and Safety. Human Health Issues. US EPA. 2011. Accessed address: <http://www.epa.gov/pesticides/health/human.htm#healtheffects> , Accessed May 23, 2011.
- Anonymous 2011c. EU Pesticide database. Directorate General for Health and Consumers 2011. Accessed address: http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm , Accessed May 23, 2011.
- Anonymous 2011d. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Sanco, European Commission, Health and Consumer Protection Directorate, Document No. SANCO/12495/2011. Last updated 22.12.2011.
- Aroud, M., Douki, W., Rhim, A., Najjar, M.F., Gazzah, N. 2007. Multiresidue analysis of pesticides in fruits and vegetables by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Environ. Sci. Health Part B-Pestic. Contam. Agric Wastes* 42: 179-187.
- Blasco, C., Fernandez, M., Pico, Y., Font, G. 2004. Comparison of solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction for determining six organophosphorus insecticides in honey by liquid chromatography- mass spectrometry. *J. Chromat. A* 1030: 77-85.
- Chen, C., Qian, Y., Chen, Q., Tao, C., Li, C., Li, Y. 2011. Evaluation of pesticide residues in fruits and vegetables from Xiamen, China. *Food Control* 22: 1114-1120.
- Dömötörova, M., Matisova, E. 2008. Fast gas chromatography for pesticide residues analysis. *J. Chromat. A* 1207: 1-16.
- Fernandez-Alba, A.R., Garcia-Reyes, J.F. 2008. Large-scale multi-residue methods for pesticides and their degradation products in food by advanced LC-MS. *Trends Anal. Chem.*, 27: 973-990.
- Frenich, A.G., Bolanos, P.P., Vidal, J.L.M. 2007. Multiresidue analysis of pesticides in animal liver by gas chromatography using triple quadrupole tandem mass spectrometry. *J. Chromat. A* 1153: 194-202.
- Frenich, A.G., Vidal, J.L.M., Pastor-Montoro, E., Romero-Gonzalez, R. 2008. High-throughput determination of pesticide residues in food commodities by use of ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 390: 947-959.
- Furlani, R.P.Z., Marcilio, K.M., Leme, F.M., Tfouni, S.A.V. 2011. Analysis of pesticide residues in sugarcane juice using QuEChERS sample preparation and gas chromatography with electron capture detection. *Food Chem.* 126: 1283-1287.
- Garcia-Ayuso, L.E., Sanchez, M., Alba, A.F., Castro, M.D.L. 1998. Focused microwave-assisted soxhlet: An advantageous tool for sample extraction. *Anal. Chem.* 70: 2426-2431.
- Gilbert-Lopez, B., Garcia-Reyes, J.F., Molina-Diaz, A. 2009. Sample treatment and determination of pesticide residues in fatty vegetable matrices: A review. *Talanta* 79: 109-128.
- Granby, K., Andersen, J.H., Christensen H.B. 2004. Analysis of pesticides in fruits, vegetables and cereals using methanolic extraction and detection by liquid chromatography- tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 520: 165-176.
- Hajlova, J., Zrostlikova, J. 2003. Matrix effects in (ultra)trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices. *J. Chromat. A* 1000: 181-197.
- Hercegova, A., Dömötörova, M., Kruzlicova, D., Matisova, E. 2006. Comparison of sample preparation methods combined with fast gas chromatography- mass spectrometry for ultratrace analysis of pesticide residues in baby food. *J. Separ. Sci.* 29: 1102-1109.
- Kruve, A., Künnapas, A., Herodes, K., Leito, I. 2008. Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromat. A* 1187: 58-66.
- Lambropoulou, D.A., Albanis, T.A. 2007. Liquid-phase micro-extraction techniques in pesticide residue analysis. *J. Biochem. Bioph. Meth.* 70: 195-228.
- Lehotay, S.J., Son, K.A., Kwon, H., Koesukwiwat, U., Fu, W., Mastovska, K., Hoh, E., Leepipatpiboon, N. 2010. Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *J. Chromat. A* 1217: 2548-2560.
- Luke, M.A., Froberg, J.E., Doose, G.M., Masumato, H.T. 1981. Improved multiresidue gas chromatographic determination organophosphorus, organonitrogen and organohalogen pesticides in products. *JAOAC* 64:1187-1195.
- Moreno, J.L.F., Liebanas, F.J.A., Frenich, A.G., Vidal, J.L.M. 2006. Evaluation of different sample treatments for determining pesticide residues in fat vegetable matrices like avocado by low-pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromat. A* 1111: 97-105.
- Nguyen, T.D., Lee, M.H., Lee, G.H. 2010. Rapid determination of 95 pesticides in soybean oil using liquid-liquid extraction followed by centrifugation, freezing and dispersive solid phase extraction as cleanup steps and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Microchem. J.* 95: 113-119.
- Niessen, W.M.A., Manini, P., Andreoli, R. 2006. Matrix effects in quantitative pesticide analysis using liquid chromatography-mass spectrometry. *Mass Spectr. Rev.* 25: 881-899.
- Nieto, L.M., Hodaifa, G., Casanova, M.S. 2009. Elimination of pesticides residues from virgin olive oil by ultraviolet light: Preliminary results. *J. Hazard. Mat.* 168: 555-559.
- Poole, C.F. 2007. Matrix-induced response enhancement in pesticide residue analysis by gas chromatography. *J. Chromat. A* 1158: 241-250.
- Qu, L., Zhang, H., Zhu, J., Yang, G., Aboul-Enein, H.Y. 2010. Rapid determination of organophosphorous pesticides in leeks by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *Food Chem.* 122: 327-332.

Rodrigues, F.M., Mesquita, P.R.R., Oliveira, L.S., Oliveira, F.S., Filho, A.M.F., Pereira, P.A., Andrade, J.B. 2011. Development of a headspace solid-phase microextraction/gas chromatography-mass spectrometry method for determination of organophosphorus pesticide residues in cow milk. *Microchem. J.* 98: 56-61.

Romero-Gonzalez, R., Frenich, A.G., Vidal, J.L.M. 2008. Multiresidue method for fast determination of pesticides in fruit juices by ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Talanta* 76: 211-225.

Sanchez, A.G., Martos, N.R., Ballesteros, E. 2006. Multiresidue analysis of pesticides in olive oil by gel permeation chromatography

followed by gas chromatography-tandem mass-spectrometric determination. *Anal. Chim. Acta* 558: 53-61.

Tadeo, J.L. 2008. Analysis of pesticides in foods and environmental samples. CRC Press: Boca Raton, FL. USA. 367 pages.

Tiryaki, O. 2009. Sample matrix problem and its solution in pesticide residue analysis. *Erciyes University. J.Ins. Sci.Tech.* 25(1-2): 456-478.

Vidal, J.L.M., Plaza-Bolanos, P., Romero-Gonzalez, R., Frenich, A.G. 2009. Determination of pesticide transformation products: A review of extraction and detection methods. *J. Chromat. A* 1219: 6767-6788.

Table 1. The Techniques Used for the Analysis of Pesticides in Different Samples

Sample	Analyte	Extraction	Clean-up	Chromatography	Result(s)	Reference
Soil	8 herbicides	Comparison of Soxhlet and FMASE	-	GC-ECD	Extraction time was significantly shortened by FMASE technique	Garcia-Ayuso et al., 1998
Pear, melon, potato, cabbage	28 pesticides from 8 different pesticide class	ASE	SPE	GC-ECD and GC-NPD	-ASE may be used to extract a wide range of pesticide residues from a variety of fresh vegetables and fruits by minimizing labor, time and solvent -ASE may be combined with a chromatographic detector, like ECD	Adou et al., 2001
Honey	6 pesticides	Comparison of SPME and SBSE	-	LC-MS (APCI)	BSE technique was found to be more sensitive and applicable for wider concentration range	Blasco et al., 2004
Apple, avocado, carrot, lettuce, orange, potato, wheat	19 pesticide and degradation products	Ultrasonic	-	LC-MS/MS	Sample preparation of the applied chromatographic technique was reported to be more simple and rapid relative to GC multiresidue methods	Granby et al., 2004
Avocado	65 pesticides	Comparison of high speed homogenizer (polytron) and PLE	GPC	GC-MS/MS	Despite of good recovery rates were obtained with both extraction methods, several advantages in favor of polytron such as reduced time extraction, low cost, simple extraction, and less sample treatment, convert this technique in the most appropriate for routine analysis	Moreno et al., 2006

**Table 1.** (continued)

Baby foods (apple)	17 pesticides	Modified Schenck's method (ACN extraction) and QuEChERS method (ACN extraction) and modified QuEChERS method (ACN extraction) and MSPD	Modified Schenck's method (SPE) and QuEChERS method (dispersive SPE) and Modified QuEChERS method (column based SPE) and -	GC-MS	Four tested sample preparation methods combined with fast GC-MS analysis reached the requirements of EU legislation. MSPD provides the worst cleaning. Original QuEChERS method was found to be most appropriate method in terms of time consumption, laboriousness, demands on glassware and working place, and consumption of chemicals	Hercegova et al., 2006
Apple, pear, tomato, pepper	14 pesticides from 5 different pesticide class	LLE and SPE	Florisil	GC-MS	The techniques used in analysis of pesticides were found to be suitable for the analysis of non-polar pesticides residues.	Aroud et al., 2007
Animal liver	34 pesticides	(Liquid-solid extraction) and	GPC	GC-(EI) MS/MS	In sample pre-treatment the GPC method was selected and validated because analyzed pesticides were efficiently extracted from samples by providing good recoveries and overall quality parameters	Frenich et al., 2007
	25 pesticides	MSPD	Florisil			

Table 1. (continued)

Fruit juices (apricot, orange, apple, mixed)	90 pesticides	Comparison of QuEChERS method and SPE	-	UPLC- MS/MS	QuEChERS method was reported to be more easy, rapid and reliable for fruit juices.	Romero- Gonzalez et al., 2008
Leek	20 orga- nophosp- horous pesticide	Modified QuEChERS following microwave pre- treatment	Modified QuEChER S (dispersive SPE)	GC-QqQ- MS/MS	The applied extraction and clean –up approaches could effectively decrease the chlorophyll of the final extract and protect the chromatographic system.	Qu et al., 2010
Eggs, Chicken and meat	17 organochlo- rine pesticides	Soxhlet	Florisil Column	GC-ECD	Approaches were perfor- med under United Kingdom Accreditation Service (UKAS) accredita- tion. The average recoveri- es of pesticides showed that the reproducibility of the method was satisfac- tory for egg, chicken and meat samples.	Ahmad et al., 2010
Soybean oil	95 pesticides	LLE	Freezing and dispersive SPE	GC-MS	The applied extraction and clean-up procedures sho- wed a high sensitivity and confirmation of a large number of pesticide resi- dues in GC-MS. This pro- cedure was found to be fast and easy to carry out in routine analysis	Nguyen et al., 2010
Cow milk	10 organop- hosphorus pesticide	SPME	-	GC-MS	The best results were obtained using polydi- methylsiloxane/divinylben- zene fiber. This method could also be optimized for the analysis of pestici- de residues in many other biological and environ- mental matrices as well.	Rodrigues et al., 2011



Balıklarda Tüberküloz ve Halk Sağlığı Yönünden Önemi

Fish Tuberculosis and its Importance in Public Health

Bülent Baş

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Dışkapı/Ankara

ÖZET

Balık Tüberkülozu başta *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum* ve *M. chelonae* olmak üzere birçok mikobakteriyel tür tarafından meydana getirilen kronik seyirli, bulaşıcı ve zoonotik karakterli bir hastalıktır. Hastalık, tatlı ve tuzlu sularda yaşayan birçok balık türünde görülmekle beraber özellikle tropikal akvaryum balıklarında daha sık görülmektedir. Son yıllarda, hastalık insidansındaki artışa paralel olarak su ürünleri sektöründe yaşanan ekonomik kayıplar nedeniyle hastalığın önemini artmaktadır. Ayrıca hastalık, zoonotik önemi nedeniyle halk sağlığı açısından da önem arz etmektedir. Mikobakteriyel etkenler immün sistemi baskılanmış insanlarda sistemik enfeksiyonlara ve hatta ilerleyen olgularda ölüme neden olabilmektedir. Hastalığın teşhisinde fiziksel belirtiler ve kan testleri nonspesifik olduğu için teşhis genellikle geç konulmakta ve geciken tedavi; tendo rupturu, osteomyelitis, hareket kaybı hatta amputasyon gibi komplikasyonlara neden olmaktadır. Konvansiyonel mikrobiyolojik yöntemler ile hastalığın teşhis edilmesi uzun zaman almaktadır. Bu nedenle daha hızlı sonuç veren ve daha spesifik olan moleküler tabanlı yöntemler hastalığın teşhisinde yaygın bir kullanım alanı bulmuştur. Ancak etkenin izolasyon ve identifikasyonu altın standart olarak bilinmektedir. Hastalıktan etkilenmiş balıklarda tedavi, uzun zaman alması ve ekonomik olmaması nedeniyle genellikle yapılmamaktadır.

Anahtar kelimeler: Tüberküloz, balık, zoonoz

ABSTRACT

Fish Tuberculosis is a chronic, contagious and zoonotic disease which are caused by numerous *Mycobacterial* species particularly *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum* and *M. chelonae*. Disease can be found in a wide range of freshwater and saltwater fish as well as more often in tropical aquarium fish. In recent

years due to the economic losses in the aquaculture sector in parallel with the increasing incidence, the importance of disease has been increasing. Since the disease has a zoonotic character, it is also important for public health considerations. Mycobacterial agents may cause systemic infections and death in progressive conditions in immunocompromised people. As blood tests and physical symptoms are non-specific, the diagnosis of disease may be delayed and delayed treatment may result with complications including tendon rupture, osteomyelitis, loss of movement and even amputation. The diagnosis of disease with conventional microbiological methods is time consuming; therefore molecular based methods which are more specific and give result more quickly, have been applied more commonly. However, isolation and identification of the agent is known as gold standard. Generally treatment of diseased fish is not practiced as it is not economic and takes long time.

Key words: Tuberculosis, fish, zoonozis

GİRİŞ

Balık tüberkülozis'i (Fish tuberculosis, Piscine tuberculosis), tatlı ve tuzlu sularda yaşayan çeşitli balık türlerinde, organ ve dokularda değişik büyüklükte tüberküllerin oluşması ile karakterize, kronik ve genellikle sporadik seyreden, bulaşıcı karakterde enfeksiyondur (Arda ve ark., 2005; Barker ve ark., 1998; Zeruhin ve ark., 2012). Akvaryum balıklarının ise hemen hemen hepsinde görülebilen, deri ve kas dokusunun yangılanması, aşırı zayıflama ile karakterizedir (Andersen ve ark., 2012; Arda ve ark., 2005).

Balıklar için en patojen olan Mikobakteriyel tür, *Mycobacterium marinum* olmasına rağmen *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. smegmatis*, *M. abscessus*, *M. neonarum*, *M. simiae*, *M. scrofulaceum*, *M. poriferae*, *M. shottsii* ve *M. triplex*'de balıklardan izole edilen diğer patojen türler arasında bulunmaktadır (Lewis ve ark., 2003; Toranzo 2005; Ucko ve Colorni, 2005; Zanoni ve ark., 2008). Önceleri *M. piscium*, *M. anabanti* ve *M. salmonophilum*'un hastalığa neden olduğu bildirilmesine rağmen bu bakteriler son yapılan klasifikasyonda yer almamaktadırlar (Akay ve ark., 1988).

Etiyoloji

Balıklarda tüberküloz vakalarından izole edilen ve daha patojen olan etkenler arasında başlıca 3 tür bulunmaktadır. Bunlar *M. marinum*, *M. fortuitum* ve *M. chelonae*'dir (Andersen ve ark., 2012; Arda ve ark., 2005).

1- *Mycobacterium marinum*:

Etken asido-rezistans, aerobik, sporsuz, kapsülsüz olup, Gram pozitif boyanma özelliğine sahip bir mikroorganizmadır. Mikroorganizma, gliserinli agar veya Loewenstein Jensen (LJ) besi yerinde ve genellikle yavaş bir üreme gösterir. Gliserinli agar üzerinde 18-25 °C'ler arasında 2-3 hafta içinde şeffaf renkte koloniler meydana getirir. Bu koloniler ışığa tutulursa, limon sarısı renginde fotokromojenik karakterde kolo-

nilere dönüşmektedir. Bazı türler ise direnkt sarı renkte koloni vermektedir (Arda ve ark., 2005; Puttinaowarat ve ark., 2000).

Üreaz aktivitesi pozitif, nitrat redüksiyonu negatif, MacConkey agarda üreme negatif, katalaz testi değişken, tween hidrolizi pozitifdir (Hoilt ve ark., 1994; Lin ve ark., 2006). Bakteriyi boyamada Ziehl-Neelsen boyama tekniği fazlaca kullanılmakta ve mikroskop altında tek tek veya gruplar halinde pembe renkte mikroorganizmalar görülmektedir. (Arda ve ark., 2005; Ingles ve ark., 1994).

2- *Mycobacterium fortuitum*:

Bu etken bir çok özelliğiyle (morfolojik, kültürel, fizyolojik, biyokimyasal vb.) *M. marinum*'a benzerlik gösterir. Ancak besi yerinde *M. marinum*'a oranla daha çabuk (1 hafta) ürer ve besiyerinde fotokromojenik özellikte olmayan krem veya kahverengidir (Arda ve ark., 2005, Koneman 2006). *M. marinum*'un neden olduğu enfeksiyonlar daha çok tropikal ve ılık sularda yaşayan balıklarda bildirilmiştir (Decostere ve ark., 2004).

3- *Mycobacterium chelonae*:

Bu mikroorganizmanın iki alt türü bulunmaktadır. Bunlar *M. chelonae* subs. *abscessus* ve *M. chelonae* subs. *chelonae*'dir. Bu iki etkenin ayrımında sitrat kullanıp kullanılmadığına bakılmaktadır. *M. chelonae* subs. *abscessus* sitrat negatif, *M. chelonae* subs. *chelonae* sitrat pozitifdir (Hoilt ve ark., 1994). Besi yerlerinde 1 hafta gibi kısa bir sürede üremesi ve kolonilerinin fotokromojenik özellikte olmaması, *M. chelonae*'nin *M. fortuitum*'a benzeyen özellikleridir (Arda ve ark., 2005). Bu etken, psikrofilik balıklarda görülmektedir (Decostere ve ark., 2004).

Epizootiyoloji

Yakın zamana kadar mikobakteriozis'e tatlı ve tuzlu sularda yaşayan 200'den fazla balık türünde rastlandığını bildirmiştir. Zaman ilerledikçe yeni türlerin de



hastalığa duyarlı olduğu anlaşılmıştır (Gauthier ve Rhodes, 2009; Ingles ve ark., 1994; Toranzo ve ark., 2005).

Genellikle bütün balık türlerinin hastalığa yatkın olduğu düşünülmektedir, ancak tropikal akvaryum balıklarında enfeksiyon daha baskındır. Araştırmacılar bunun sebebini uzun süreli periyotta tutsak yaşamının vermiş olduğu strese bağlamaktadırlar. Balıklardan en fazla izole edilen mikobakteriyel tür *M. marinum*'dur. Etken daha çok deniz balıklarında görülmekte, *M. fortuitum* ise tatlı su balıklarında daha yaygın olarak görülmektedir. Hastalığın oluşmasında stres, ısı değişiklikleri, immun sistemin baskılanması, tek yönlü besleme önemlidir (Aldabahg ve Tomecki, 2009; Gauthier ve Rhodes, 2009; Ingles ve ark., 1994).

Bazı araştırmacılar, bataklıklardaki mikobakteri sıklığının daha fazla olduğunu ve organizmanın artışının düşük pH, yüksek organik içerik ve ılık su özelliği gösteren çevresel şartlar ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır. Diğer bir araştırma düşük tuz yoğunluğunda non-tüberküloz mikobakterilerin sıklığının arttığını belirtmektedir (Floyd ve Yanong, 2002).

Balıklara mikobakterilerle kontamine gıda veya akuatik atıkların yenmesi ya da deri ve/veya solungaçlardaki lezyonlardan etkenlerin içeri girmesi ile enfeksiyon meydana gelebilir (Arda ve ark., 2005; Kent ve ark., 2009; Toranzo 2005). Vücutta oluşan lezyonlardan tüberküllerin direne olması sonucu etkenler dışarı çıkarak çevreyi ve suları kontamine ederler. Balıkların kalabalık olduğu havuzlarda bulaşma ve enfeksiyon riski çok daha fazladır. Hasta ve ölü balıkların etkeni yaymada ve dolayısıyla hastalığı saçmada önemli rolleri bulunmaktadır. (Arda ve ark., 2005; Harms ve ark., 2003).

Etkenin yumurta ile de yayılabileceği bildirilmektedir ve Meksika küçük balıklarında (*Xiphophorus maculatus*) bu bulaşma kanıtlanmıştır (Arda ve ark., 2005; Stoskopf, 1993). Transovarian bulaşmanın vivipar balıklar arasında özel bir önemi vardır. Alabalıklarda ve diğer ovovivipar balıklarda vertikal bulaşma henüz bildirilmemiştir (Decostere ve ark., 2004; Noga 2000). Kurbağalar, yılanlar ve kaplumbağalar bulaşma döngüsünde rol oynayabilmektedirler (Parisot, 1958). Sümüklü böceklerin akvaryum balıkları arasında özellikle öneme sahip bir ara konak olduğu düşünülmektedir (Decostere ve ark., 2004). Ek olarak etken enfekte su ve toprakta 2 yıl veya daha fazla, karkas ve organlarda ise 1 yıl kadar canlılığını sürdürebilmektedir. (Decostere ve ark., 2004; Ingles ve ark., 1994).

Semptomlar

Balıklarda mikobakteriyozis, akut ya da kronik formda görülebilmektedir. Akut hastalık, yüksek oran-

da bakteri alınmasına bağlı olarak nadiren görülür, klinik belirtilerin az olması, hızlı bulaşma ve ölüm ile karakterizedir (Decostere ve ark., 2004; Gauthier ve Rhodes, 2009; Ingles ve ark., 1994). Enfeksiyon kronik bir karakter gösterdiğinden inkubasyon süresi oldukça uzundur (Arda ve ark., 2005). Klinik belirtiler hayvanların türüne ve ekolojik şartlara bağlı olarak değişiklikler göstermektedir (Ingles ve ark., 1994). İnkubasyon periyodu 3 hafta ile 9 ay arasında değişmektedir (Decostere ve ark., 2004).

Klinik olarak, balıklarda ilerleyen bir zayıflama, iştahsızlık, durgunluk, durgunluğa bağlı olarak balıkların elle kolaylıkla yakalanabilmesi, nefes darlığı, diskolorasyon (renklerinde bozulma), pulların dökülmesi, deri ve yüzgeçlerde ülserler, tek veya çift taraflı ekzotalmus (veya bazen ileri olgularda gözler içeri doğru da göçebilir), vertebra ve mandibulada deformasyonlar, spinal deformasyon, hareket yavaşlığı ve yüzme bozuklukları gözlenebilen semptomlar arasındadır (Gauthier ve Rhodes, 2009; Ucko ve ark., 2002; Yanong ve ark., 2003). İlerleyen olgularda vücut kas sisteminde hemorajik lezyonlar görülebilmektedir (Toranzo, 2005). Özellikle akvaryumdaki uzun süreli hasta olan hayvanlarda iskelet deformasyonları dikkati çeker. Ancak bu semptomların hepsini tek bir balıkta görebilmek mümkün değildir (Arda ve ark., 2005; Ingles ve ark., 1994).

İç organlarda, kaslarda, dölleme organlarında fazla sayıda küçük, grimsi-beyaz renkte nodüller dikkati çekmektedir (Yanong ve ark., 2003; Gauthier ve Rhodes, 2009). Bu nodüller tüm dokularda olabildiği gibi sıklıkla böbrek, dalak ve karaciğer üzerinden bulunmaktadır (Ingles ve ark., 1994; Pate ve ark., 2005).

İnsanlarda Hastalık

İnsan sağlığı ve sıcak kanlı vertebratlar için *M. marinum*, *M. fortuitum* ve *M. chelonae* önemlidir. Çünkü bu etkenler insanlarda el, yüz ve ayaklarda kutan granülomalar meydana getirmektedirler (Arda ve ark., 2005). Etken, derideki açık yerlerden girerek yaklaşık 2-4 hafta içinde lokal enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Vücutta özellikle de eller ve kollarında 3 mm çapında pembe-mor renkli eritematöz nodüller dikkat çekicidir. İlerleyen vakalarda nodüller genişleyen ülserlere dönüşebilmektedir. Lezyonların yakınındada bulunan lenf yumrularında ise şişmeler görülebilmektedir (Fabroni ve ark., 2008; Hummer ve ark., 1986; Lewis ve ark., 2003). Lenfadenopati, septik artrit, osteomyelit ve eklemlerde şişlik görülen diğer semptomlardır (Ucko ve Colorni, 2005).

Özellikle *M. marinum* insanların ekstremitelerindeki deri granülomalarının en önemli sebebidir (Mehta ve

ark., 2006). Yüzme havuzları bu yönden hem hastalık oluşturma hem de etkeni barındırma bakımından önem taşır (Arda ve ark., 2005). Etkenle bulaşık sularda yüzen insanlarda salgın halinde deride granülatöz oluşumlar görülebilmektedir (Jernigan ve Farr, 2000). İnsanlar arasında bulaşma bildirilmemiştir (Dailoux ve ark., 1999).

M. marinum, *M. fortuitum* ve *M. chelonae* immun sistemi baskılanmış kişilerde insan patojeni olarak bilinirler ve immun sistemi baskılanmış insanlarda (örneğin AIDS hastalarında) patojendir, sistemik infeksiyonlara neden olabilir, hatta ilerleyen olgularda ölüme sebep olabilir (Barker ve ark., 1998, Gauthier ve Rhodes, 2009).

İnsanlarda enfeksiyon direkt olarak balık yüzgeçleri ile temas sonucu ya da balık ısırması sonucu oluşan yaralanmalardan gelişebilir ancak enfeksiyonların çoğu temizleme veya su değiştirme gibi etkinliklerle akvaryuma dokunma esnasında bulaşır (Barker ve ark., 1998). *M. marinum* enfeksiyonları; balıkçılar, veteriner hekimler, balık yetiştiricileri, süs balığı satan akvaryumcular gibi bazı meslekler için tehlikeli olabilmektedir (Decostere ve ark., 2004).

Balığın insanlar tarafından gıda olarak tüketimi ile oluşan hastalık bildirilmemiş olmasına rağmen balık işleme tesislerinde çalışanlarda, balık temizleyenlerde hastalık meydana geldiği gözlenmiştir (Ghittino ve ark., 2003).

Teşhis

1-Bakteriyoskopi

Lezyonlu iç organlardan alınan küçük parçacıklardan, temiz iki lam arasında ezilerek hazırlanan frotiler Ziehl-Neelsen boyama yöntemi ile boyanırlar. Mikroskop sahasında pembe renkte çomakçıkların görülmesi mikobakteri enfeksiyonundan şüphelendir (Arda ve ark., 2005; Bilgehan 2004; Toranzo, 2005).

2-Kültür

Nekropsi sonrasında çıkarılan iç organlar homojenizasyon dekontaminasyon işlemi sonrası gliserinli agar veya LJ besi yerine ekilerek, aerobik koşullarda, 25-30 ° C arasında 2-3 hafta süre ile inkubasyona bırakılırlar (Koneman, 2006). Bunun yanında Dorset ve Petroff yumurta agar, Dubos agar, Sauton's agar, Ogawa yumurta agar, 7H11 agar başarılı bir şekilde etkeni izole etmekte kullanılabilmektedir (Clark ve ark., 1990; Durupınar, 1996).

M. marinum, 2-3 hafta içinde besi yerinin üzerinde sarı renkli, fotokromojenik koloniler oluş-turmaktadır. Koloniler ışığa tutulursa renk daha belirgin bir hal alır (Arda ve ark., 2005). Kolonileri ilk üremede düzgün (S tipli) ve nemli, zaman geçtikçe pürüzlü (R tipli) ve kuru, düz ve kabarık olabilmektedir (Parisot 1958).

Tablo 1- Patojen balık mikobakterilerinin ayırıcı karakterleri (Ingles ve ark., 1994; Koneman, 2006). (*°bilinmiyor*) (*-°ilk izolasyonda üremez, sonradan adapte edilebilir*)

	M. marinum	M. fortuitum	M. chelonae
25 °C'de izolasyon	+	+	+
37 °C'de izolasyon	—	+	—
Büyüme hızı	yavaş	hızlı	hızlı
Pigmentasyon	fotokromojen	—	—
McConkey'de üreme	—°	+	+
Nitrat Redüksiyon testi	—	+	—
Demire gereksinim	°	+	—
Sukrozu kullanma	°	+	—

M. fortuitum ve *M. chelonae* ise bir haftada ürerler ve kolonileri nonkromojenik özelliktedirler (Arda ve ark., 2005). Kolonilerde krem veya gri renk daha dominanttır fakat sandan kahverengiye kadar değişen renklerde koloniler oluşturabilmektedirler (Arda ve ark., 2005; Ingles ve ark., 19948).

3-Moleküler Teknikler

Özellikle latent enfeksiyon olgularında balık dokularında patojenik mikobakteri türlerinin hızlı teşhisi için DNA tabanlı metodlara gereksinim duyulmaktadır (Lin ve ark., 2006). DNA tabanlı moleküler bir yöntem olan Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile balıkların doku ve kanlarından etkenin hızlı teşhisi yapılmaktadır (Toranzo, 2005). Moleküler teşhiste sekans benzerliğinden ötürü *M. marinum*, *M. ulcerans* ile, *M. chelonae* ise *M. immunogenum* ile karışabilir. Moleküler teşhiste bu hususa dikkat edilmelidir (Richter ve ark., 2006). Non tuberküloz mikobakteriyel etkenlerin kültürden identifikasyonu amacıyla geliştirilmiş yeni bir kit olan, Genotype Mycobacterium assay (Hain Lifesciences), 23S rRNA gen bölgesini hedefleyen DNA amplifikasyonu ve sonrasında membran bantlara sabitlenmiş spesifik oligonükleotid problemlara tersine hibridizasyonu kapsamaktadır (Lee ve ark. 2009).

Sağaltım

Sağaltım oldukça güç, pahalı ve uzun zaman gerektirmektedir. Bu nedenle hastalıklı olan hayvanlar genellikle imha edilirler. Daha sonra hayvanların tutulduğu yerin iyice dezenfekte edilmesi gerekmektedir



(Arda ve ark., 2005; Gauthier ve Rhodes, 2009; Ingles ve ark., 1994)

Kemoterapötik maddelerle sağaltım, hem çok zaman almakta hem de tam bir başarı elde edilememektedir. Hastaları sağaltımda bazı antimikobakteriyel preparatlar kullanılabilir. Bu ilaçlar yemlere katılarak veya banyo tarzında uygulanabilirler (Arda ve ark., 2005).

Kıymetli akvaryum balıklarında İsoniazid, Rifadin, Rimactene, Streptomisin, Klaritromisin, Tetrasiklinler veya Kanamisin kullanılarak tedavileri yapılmaya çalışılır (Decostere ve ark., 2004). Akut aşamalarda tedavi için tetrasiklin veya kanamisin sülfat içeren banyolar

yaptırmak yarar sağlamaktadır (Conroy ve Conroy, 1999). Ancak etkenlerin genellikle pyrazinamide ve isoniazide dirençli olduğu unutulmamalıdır (Lacy ve ark., 1989)

Sonuç

Balıklarda Mycobacterium enfeksiyonları ekonomik boyutu ile önem arz ettiği gibi halk sağlığı yönünden meydana getirdiği risk ve klinik tablo ile de öne çıkan enfeksiyonlar arasında yer almaktadır. Bu kapsamda sağaltımdan çok koruyucu hekimlik ile balık stoklarının mikroorganizmalardan arı kılınması daha seçkin katma değer sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Aldabagh B. A., Tomecki K. J. 2009. Cutaneous nontuberculous mycobacterial infections. *Dermatol. Nurs.*, 21(4) : 179-182.
- Akay Ö., İzgür M., Seçer S., Özkul A. 1988. Leбіstes (Poecilia Reticulata) Balıklarında Saptanan Tüberküloz Olgusu. *Etlik Vet. Mikrob. Derg.*, 6 (3) : 127-134
- Andersen E. T., Frasca Jr S., Asakawa M. G., Fatzinger M. H., Johnson J., Marchetere K., Goodale L., Risatti G. R., Harms C. A. 2012. Splenic mycobacteriosis in an Atlantic gu-tarfish, *Rhinobatos lentiginosus* Garman. *J. Fish Dis.* 35 : 541-544.
- Arda M., Seçer S., Sarıeyyüpoğlu M., 2005. Balık Hastalıkları. 2. Baskı Medisan Yayınevi, Ankara.
- Barker L. P., Brooks D. M., Small P. L. C. 1998. The identification of *Mycobacterium marinum* genes differentially expressed in macrophage phagosomes using promoter fusions to green fluorescent protein. *Mol. Microbiol.*, 29 : 1167-1177.
- Bilgehan H. 2004. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 4. Baskı, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi. İzmir
- Clark R. B., Spector H., Friedman D. M., Oldrati K. J., Young C. L., Nelson S. C. 1990. Osteomyelitis and synovitis Produced by *Mycobacterium marinum* in a Fisherman. *J. Clin. Microbiol.*, 28 : 2570-2572.
- Conroy G., Conroy D. A. 1999. Acid-fast bacterial infection and its control in guppies (*Leбіstes reticulatus*) reared on an ornamental fish farm in Venezuela. *Vet. Rec.*, 144 : 178.
- Dailloux M., Laurain C., Weber M., Hartermann PH. 1999. Water and nontuberculous mycobacteria. *Wat. Res.*, 33 (10) : 2219-2228.
- Decostere A., Hermans K., Haesebrouck F. 2004. Piscine mycobacteriosis : a literature review covering the agent and the disease it causes in fish and humans. *Vet. Microbiol.*, 99 : 159-166.
- Durupinar B. 1996. Mikobakteriler ve çevre koşullarına dayanıklılıkları. *O.M.Ü. Tıp Dergisi.*, 13 (4) : 297-304.
- Fabroni C., Buggaani G., Lotti T. 2008. Therapy of environmental mycobacterial infections. *Dermatol. Ther.*, 21 : 162-166.
- Floyd R. F., Yanong R. 2002. Mycobacteriosis in fish. Erişim adresi : <http://www.aces.edu/dept/fisheries/education/ras/publications/Update/Mycobacteriosis%20in%20Fish.pdf> Erişim tarihi : 09.10.2012.
- Gauthier DT, Rhobes M. W. 2009. Mycobacteriosis in fishes: A review. *Vet J.*, 180 : 33-47.
- Ghittino C., Latini M., Agnetti F., Panzieri C., Lauro L., Ciappelloni R., Petracca G. 2003. Emerging Pathologies in Aquaculture: Effects on Production and Food Safety. *Vet. Res. Commun.* 27 Suppl 1: 471-479.
- Harms C. A., Howard K. E., Wolf J.C., Smith S. A., Stoskopf S. K. 2003. Transferring growth factor- β response to mycobacterial infection in striped bass *Morena saxatilis* and hybrid tilapia *Oreochromis spp.* *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 95 : 155-163.
- Holt J. G., Krieg N. R., Sneath P. H. A., Staley J. T., Williams S. T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Williams&Wilkins. Baltimore.
- Huminer D., Pitlik S. D., Block C., Kaufman L., Amit S., Rosenfeld J. B. 1986. Aquarium-Borne *Mycobacterium marinum* skin infection. *Arch. Dermatol.*, 122 : 698-704.
- Ingles V., Roberts R. J., Bromage N. R. 1994. *Bacterial Diseases of Fish*. Blackwell Science, Cambridge, UK.
- Jernigan J. A., Farr B. M. 2000. Incubation period and sources of exposure for cutaneous *Mycobacterium marinum* infections: case report and review of the literature. *Clin. Infect. Dis.*, 31 : 439-443.
- Kent M. L., Feist S. W., Harper C., Miller S. H., Law J. M., Morgado J. M. S., Tan-guay R. L., Sanders G. E., Spitsbergen J. M., Whipps C. M. 2009. Recommendations for control of pathogens and infectious diseases in fish research facilities. *Comp. Biochem Physiol Part C.*, 149 : 240-248.
- Koneman E. W., Procop G. W., Schreckenberger P. C., Woods G. L., Winn W. C., Allen S. D., Janda W. M. 2006. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 8th Ed. Chapter 19.
- Lacy J. N., Viegas S. F., Calhoun J., Mader J. T. 1989. *Mycobacterium marinum* flexor tenosynovitis. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 238: 288-293.
- Lee A. S., Jelfs P., Sintchenko V., Gilbert G. L. 2009. Identification of non-tuberculous mycobacteria: utility of the GenoType *Mycobacterium* CM/AS assay compared with HPLC and 16S rRNA gene sequencing. *J. Med. Microbiol.*, 58 : 900-904
- Lewis F. M. T., Marsh B. J., Reyn C. F. 2003. Fish Exposure and Cutaneous Infections Due to *Mycobacterium marinum* : Tuberculin Skin Testing, Treatment and Prevention. *Clin. Infect. Dis.*, 37 : 390-397.
- Lin C., Xue C., Ting Z., Chuan D. B., Zhong Z. J. 2006. Identification of *Mycobacterium marinum* 65 kD heat shock protein gene by polymerase chain reaction restriction analysis from lesions of swimming pool granuloma. *Chin. Med. J.*, 119 (1) : 43-48.
- Mehta P. K., Pandey A. K., Subbian S., El-etr S. H., Cirillo S. L. G., Samrakandi M. M., Cirillo J. D. 2006. Identification of *Mycobacterium marinum* macrophage infection mutants. *Microb. Pathog.*, 40 : 139-151.
- Noga E. J. 2000. *Mycobacteriosis (Tuberculosis)*. In *Fish Disease* 2nd ed. Ed. Noga E. J. Iowa State University Press p.: 156-158.
- Parisot T. J. 1958. Tuberculosis of Fish. *Bacterial. Rev.*, 22 : 240-245.
- Pate M., Jencic V., Zolnir-Dovc M., Ocepek M. 2005. Detection of mycobacteria in aquarium fish in Slovenia by culture and molecular methods. *Dis. Aquat. Org.*, 64 : 29-35.
- Puttiavarat S., Thompson K. D., Adams A. 2000. Mycobacteriosis: detection and identification of aquatic *Mycobacterium* species. *Fish Vet. J.*, 5 : 6-21.
- Richter E., Rüşch-Gerdes S., Hillemann D. 2006. Evaluation of the GenoType Myco-bacterium Assay for Identification of Mycobacterial Species from Cultures. *J. Clin. Microbiol.* 44 (5): 1769-1775.
- Stoskopf M. K. 1993. Bacterial diseases of freshwater tropical fishes. In *Fish Medicine*, 1st ed. Ed.: Stoskopf M. K. Saunders Company p.: 559-561.
- Toranzo A. E. 2005. A Review of the Main Bacterial Fish Diseases in Mariculture Systems. *Aquaculture.*, 246 : 37-61.
- Ucko M., Coloni A., Kviit H., Diamant A., Zlotkin A., Knibb W.R. 2002. Strain variation in *Mycobacterium marinum* fish isolates. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68 (11) : 5281-5287.
- Ucko M., Coloni A. 2005. *Mycobacterium marinum* Infections in Fish and Humans in Israel. *J. Clin. Microbiol.*, 43 : 892-895.
- Yanong R. P. E., Curtis E. W., Terrell S. P. 2003. Atypical Presentation of Mycobacteriosis in a Collection of Frogfish (*Antennarius striatus*). *J. Zoo Wildl. Med.*, 34 : 400-407.
- Zanoni R. G., Florio D., Fiaravanti M. L., Prearo M. 2008. Occurrence of *Mycobacterium* spp. in ornamental fish in Italy. *J. Fish Dis.*, 31 : 433-441.
- Zeruhin M. A., Colquhoun D. J., Poppe T. T. 2012. Experimental mycobacteriosis in Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *J. Fish Dis.* 35 : 365-377



İnsan Sağlığı Açısından Değerli Bir Kaynak: Balık Yağı

A Valuable Source For Human Health: Fish Oil

İlknur MERİÇ*

Nilsun DEMİR

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü, 06110, Dışkapı, Ankara, TÜRKİYE

ÖZET

Bu derleme ile, sağlık açısından çok değerli bir kaynak olan balık yağının özellikleri irdelenmiştir. İnsan vücudunun sağlıklı bir şekilde gelişmesi, zihinsel ve fiziksel faaliyetlerin devamlılığı ancak dengeli bir beslenme ile mümkün olmaktadır. Yağlar, insan beslenmesinde gerekli olan en önemli unsurlardan bir tanesidir. Esansiyel yağ asitleri insan vücudunda sentezlenemediğinden dışarıdan gıdalar ile alınması gerekmektedir. Çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA) özellikle de omega-3 yağ asitlerinden eikosapentaenoik asit (EPA) ve dekosahekzaenoik asit (DHA) balık başta olmak üzere su ürünlerinde bol miktarda bulunmaktadır. Omega-3 yağ asitlerinin diyetle birlikte alınması kalp ve damar hastalıkları; diyabet, astım, kanser gibi bir çok önemli hastalık riskini azaltmaktadır.

Anahtar kelimeler: Balık, yağ asitleri, omega-3, omega-6, EPA, DHA, insan sağlığı

ABSTRACT

With this review, the properties of fish oil which is a valuable source for health was examined. For the sustainability of mental and physical activity and balanced development of human body can be possible with a balanced nutrition, solely. Fats are one of the most important constituent required for human nutrition. The essential fatty acids must be taken with diet since they can not be synthesized in human body. Seafoods mainly fish contains huge amount of polyunsaturated fatty acids (PUFA) particularly, eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahekzaenoic acid (DHA) from omega-3 fatty acids. The intake of omega-3 fatty acids with diets reduce the risk of several important disease as diabet, asthma, cancer and cardiovascular disease in the first place.

Key words: Fish, fatty acids, omega-3, omega-6, EPA, DHA, human health

*Sorumlu yazar : meric@agri.ankara.edu.tr

GİRİŞ

Günümüzde, özellikle gelişmiş ülkelerde insanlar, beslenmelerine çok dikkat etmekte ve beslenme rejimlerinde sağlık açısından uygun gıdaları seçmeye özen göstermektedirler. Yapılan araştırmalar, insanların karşılaştıkları birçok hastalığa besin maddelerinin ve beslenme alışkanlıklarının neden olduğunu ortaya koymaktadır. Yüksek kolesterolden ileri gelen hastalıkların, önemli oranda kırmızı etten kaynaklandığı bilinen bir olgudur. İnsan sağlığı üzerine gıdalarla alınan kolestrol miktarının yanında tüketilen yağ asitlerinin çeşit ve miktarı da oldukça önemli rol oynamaktadır (Sarica, 2003). Bu bağlamda, doymamış yağ asitleri yönünden zengin gıdaların tüketilmesi tavsiye edilmektedir (Kaya ve ark., 2004). Bu gıdalar içerisinde ilk sırayı çoklu doymamış yağ asitleri yönünden zengin olan balık ve diğer su ürünleri almaktadır (Gordon ve Ratliff, 1992).

Balık Yağları ve Yapısal Özellikleri

Yağlar balığın temel bileşenlerinden olup suda çözünmeyen, fakat hidrokarbon ve dietil eter gibi polar olmayan organik çözücülerde çözünen doğal organik bileşiklerdir (Fessenden ve Fessenden, 1990).

Balıklarda yağlar polar ve nötral yağlar olmak üzere iki ana grup altında toplanmaktadır. Polar yağlar bünyelerinde fosfolipidleri içermektedir. Fosfolipidlerin yapısında gliserol, yağ asitleri ve anahtar bileşen olarak azotlu organik bileşikler veya farklı bir organik bileşik bulunmaktadır (Akyurt, 1993). Lesitin ve sefalin fosfolipidlerin iki ayrı türü olup, başlıca bulundukları yerler beyin, sinir hücreleri ve karaciğerdir (Yıldız, 1995). Diğer yağ grubu olan nötral yağları ise yağ asitleri, trigliseritler ve steroidler oluşturmaktadır. Yağ asitleri uzun zincirli hidrokarbona sahip karboksilik asit gruplarıdır. Yağ asitleri doğada nadiren serbest halde bulunurlar, çoğunlukla ester formunda olup triasilgliserol veya trigliserit olarak adlandırılırlar. Trigliseritler, gliserolün yağ asitleri ile oluşturduğu bileşikler olup, toplam yağın %80-90'nını oluşturan ve metabolik enerji depolayan başlıca etkili formdur. Çünkü bunlar, karbonhidratlar ve proteinlere oranla daha az okside olurlar ve bundan dolayı oksidasyon esnasında; belirgin bir şekilde daha fazla enerji verirler (De Silva ve Anderson, 1995). Steroidler, hayvansal dokularda bol miktarda bulunmaktadır. Besleme yönünden en önemli steroidler, steroller ve vitamin D grubu maddelerdir. Bir sterol olan kolestrol bütün hücrelerde ve kanda, serbest yağ asitleri ile birleşmiş ester olarak bulunmaktadır (Akyurt, 1993). Diğer önemli yağ sınıflarından biri de sfingolipidlerdir. Sfingolipid molekülleri sinir hücrelerinin membranında bulunurlar ve karbonhidrat veya fosfolipidlerle baş bölgelerinden bağlıdırlar (De Silva ve Anderson, 1995).

Yağ asitleri uzun zincirli hidrokarbona sahip karboksilik asit gruplarıdır. Balık lipidlerinin içinde yer alan yağ asitlerinin dağılımı, bitkisel ve hayvansal lipidlerdeki yağ asitleri dağılımından daha karmaşıktır. Yağ asitleri içerdikleri karbon sayısına göre sınıflandırılırlar.

Karbon sayısı 6'dan az olan yağ asitlerine kısa, 6-12 karbonlu yağ asitlerine orta, 13 ve daha büyük sayıda karbon içeren yağ asitlerine ise uzun zincirli yağ asitleri denir. Uzun zincirli yağ asitleri (özellikle C20 ve C22) balık lipidlerindeki tüm yağ asitlerinin 1/3 veya 1/4'nü oluşturmaktadır. Karbon zinciri üzerindeki hidrojen atomları eksiksiz olan yağ asitlerine doymuş yağ asitleri (DYA), eksik olanlara doymamış yağ asitleri denir (Norman, 1979). Balık yağı %20 oranında doymuş yağ asitlerini, %80 oranında ise doymamış yağ asitlerini içermektedir. Doymuş yağ asitlerinden palmitik asit %13-19, miristik asit %4-8 ve stearik asit %5-8 oranındadır. Balıkların yoğun olarak içerdikleri çoklu doymamış yağ asitleri (ÇDYA) karbon zincirinin metil grubundan itibaren çift bağın bulunduğu karbona göre ayrılır. İlk çift bağı metil grubundan itibaren üçüncü karbondan itibaren omeg-3 (n-3), altıncı karbondan itibaren omeg-6 (n-6) olarak adlandırılır.



Şekil 1. Omega-3 ve omega-6 yağ asitleri



omega-6 (n-6) yağ asiti denilmektedir. En önemli çoklu doymamış yağ asitleri 22 karbon atomlu ve 6 çift bağlı dekoheksaenoik asit (DHA; C 22: 6 n-3) ve 20 karbon atomlu 5 çift bağlı eikosapentaenoik asitdir (EPA; C 20: 5 n-3) (Kinsella, 1988; Yıldız, 1995). Bu esansiyel yağ asitlerinin her ikisi de insanlar tarafından sentezlenemediğinden gıdalar ile alınmaları zorunludur ve gıda ile alınmaları sağlıklı beslenme açısından büyük önem taşımaktadır (Mol, 2008) (Şekil 1).

Balık türüne göre omega-3 miktarı farklılıklar göstermektedir. Özellikle hızlı yüzen ve siyah etli olan balıklarda bu oran daha yüksektir. Somon, sardalya, uskumru, ton balığı gibi balıklar omega-3 yönünden oldukça zengindirler (Kaya ve ark., 2004). Bazı balık türlerine ait yağ miktarı ile omega-3 yağ asidi içeriği Tablo 1' de sunulmuştur.

Tablo 1. Bazı balık türlerine ait yağ miktarı ile omega-3 yağ asidi içerikleri (Kaya ve ark., 2004)

Balık Türü	Yağ	DYA	TDYA	ÇDYA	EPA	DHA
Hamsi	4,8	1,3	1,2	1,6	0,5	0,9
Sazan	5,6	1,1	2,3	1,3	0,2	0,1
Yayın	4,3	1,0	1,6	1,0	0,1	0,2
Morina	0,7	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2
Berlam	1,6	0,3	0,3	0,6	0,2	0,2
Ringa	9,0	2,0	3,7	2,1	0,7	0,9
Uskumru	13,0	2,5	5,9	3,2	1,0	1,2
G.alabalığı	3,4	0,6	1,0	1,2	0,1	0,4
Kefal	8,4	1,5	1,2	1,6	0,6	0,5
Orkinos	6,6	1,7	2,2	2,0	0,4	1,2

*Değerler g/100 g olarak ifade edilmiştir.

Omega-3 ve Omega-6 Yağ Asitleri Oranı

Sağlıklı beslenme açısından omega-3 ve omega-6 yağ asitleri arasında bir denge bulunması gerekmektedir. Günlük olarak gıdalarda 1:10 ile 1:25 olduğu tahmin edilen oranın 1:1 ile 4:1 olması önerilmektedir (Sarica, 2003). Özellikle, inflamasyon yanıtının inhibe edilmesinde omega-3 yağ asitlerinin omega-6 yağ asitlerine oranı kritik önem taşımaktadır. İnsan vücudu enzim aktivitesine bağlı olarak omega-3 yağ asitlerini antiinflamatuvar ajanlara dönüştürebilmekte, omega-6 yağ asitleri ise aynı enzimleri kullanarak proinflamatuvar ajanlar olan prostaglandin ve tromboksona dönüşmektedir (Das ve ark., 2009).

Balıklarda Yağların Dağılımı ve Miktarı

Balıklarda yağların dağılımı ve miktarı türlere göre büyük değişim gösterdiği gibi, aynı tür içerisinde yaşa,

cinsiyete ve mevsimlere göre de önemli farklılıklar oluşturmaktadır. Balıklarda lipidler, özellikle kas içerisinde, deri altında, karın bölgesinde ve karaciğerde depolanmaktadır (Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999). Yağlı balıklarda, yağ kas fibrilleri arasında kürecikler şeklinde depolanmaktadır. Özellikle karın bölgesinin alt kısımları, yüzgeçler ve kırmızı kaslarda lipid miktarı fazladır (Varlık ve ark., 1994). Beyaz kasa sahip yağsız balıklar genellikle mevsimsel değişimlerden etkilenen yağlı bir karaciğere sahiptirler (Ackman, 1989). Karın bölgesi bilindiği üzere birçok balık türünde vücudun en yağlı bölümüdür. Bununla beraber, deri altında bulunan lipid oranı da azımsanmayacak düzeydedir (Anonim, 1980). Genellikle kas yapısında lipid oranı düşük olan köpekbalığı ve mürekkep balığı gibi türlerin lipidleri karaciğerde depolanmıştır (Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999).

Balığın yenilebilir dokusundaki yağ miktarı %0,5 ile %25 arasında değişmektedir (Stansby, 1982).

Balıklar içerdikleri yağ oranına göre 4 grup altında sınıflandırılmaktadır; yağ oranı %2'den az olanlar yağsız (mezgit, kırlangıç, vatoz, dil, turna), %2 ile 4 arasında olanlar az yağlı (levrek, kalkan, kefal, hamsi, torik, sudak), %4 ile 8 arasında olanlar yağlı (orkinos, tekir, alabalık, sazan, yayın) ve %8'in üzerinde olanlar ise çok yağlı balık (uskumru, kolyoz, palamut, yılan balığı) olarak adlandırılmaktadır (Ackman, 1989; Göğüş ve Kolsarıcı, 1992)).

Balık Yağı Tüketimi ve İnsan Sağlığı Arasındaki İlişki

Yağ asitlerinin kalp krizi, kalp damar hastalıkları, depresyon, migren türü baş ağrıları, eklem romatizmaları, şeker hastalığı, yüksek kolesterol ve tansiyon, bazı alerji türleri ile kanser gibi birçok hastalıktan korunmada önemli etkisi olduğu tespit edilmiştir (Gorga, 1998; Nettleton, 2000).

Balık tüketimi ile kalp hastalıkları arasındaki ilişkilerin araştırıldığı ilk çalışmalar, Grönland eskimoları ile Danimarkalılar üzerinde yapılmış ve koroner kalp hastalığından ölümlerin çok düşük seviyede olduğu belirlenmiştir. ÇDYA yönünden zengin balina yağı ile diğer deniz ürünlerini tüketen eskimoların kanlarında HDL kolesterolün yüksek olduğu tespit edilmiştir. Khris-Etherton ve ark., (2000) n-3 tüketiminin LDL üzerine olumlu etkileri olduğunu belirtmiştir. Bu çalışmalara ilaveten epidemiyolojik olarak yapılan incelemelerde, deniz ürünlerinin fazlaca tüketildiği Hollanda, Norveç, Japonya ve ABD gibi ülkelerde balık yağı tüketen erkeklerin hiç balık tüketmeyenlere göre kalp hastalıkları riskinin çok düşük olduğu belirlenmiştir (Stone, 1996).

Kalp-damar hastalıkları üzerinde omega-3 ÇDYA'lerince zengin balık yağlarının etkisi çok faktörlü olup, yağların antikoagülen özelliğinin bu olayda katkısının olduğu düşünülmektedir (Vanschoonbeek ve ark., 2004). Balık yağlarının kan basıncını ve kanın yoğunluğunu düşürmek, ritim bozukluğunun gelişimini yavaşlatmak ve kandaki kolesterolü düşürmek gibi yararları olduğu da bilinmektedir (Mol, 2004). Ayrıca balık yağlarının atardamardaki düz kas hücrelerinin büyümelerini önlediği ifade edilmiştir (Connor, 1995).

İnsan beyni, fosfolipid, sphingolipid, gangliosid ve kolesterol içermektedir. Bu bileşikler beynin yapısında ve hücre membranlarının faaliyetinde yer almaktadır. Gliserofosfolipidler ise yüksek oranda ÇDYA bünyelerinde barındırmaktadırlar. Beyindeki başlıca ÇDYA, DHA, alfa-linolenik asit, araşidonik asit ve dekosatetraenoik asittir (Das ve ark., 2009). Omega-3 yağ asitlerinden olan DHA, insan beynindeki hücrelerin yenilenmesine yardım etmekte ve beyin ile retina hücrelerinin çoğalmasını sağlamaktadır. Bu hücrelerde DHA seviyesinin düşmesi, depresyon, hafıza kaybı, şizofreni ve görme bozuklukları gibi problemlerin ortaya çıkmasına yol açar. Yetişkin bir insan beyninde 20 g DHA bulunması gerekir. Düşük DHA seviyesi beyin serotonin seviyesinin düşmesine sebep olur ki bu intihar, depresyon ve şiddet eğilimini artırır. Yüksek oranda DHA içeren balıkları tüketen insanlarda zihinsel gelişimin arttığı gözlenmiştir (Kaya ve ark., 2004). Halisünasyon gören ve bundan çok etkilenen insanlara 6 ay boyunca günde 2 g EPA verilmiş ve şizofrenik belirtilerin %85 oranında azaldığı anlaşılmıştır (Cunquer, 2000). Okul çağındaki çocukların %30-40' da yaygın olarak görülen hiperaktivite üzerine omega-3 yağ asitlerini etkisini konu alan bir araştırmada, önceden davranış bozukluğu bulunan 6-12 yaş grubundaki çocuklardan omega-3 yağ asidi seviyesi düşük olan 53 çocuğun yaklaşık %40' ında hiperaktif düzensizliğe bağlı dikkat eksikliği olduğu tespit edilmiştir (Arnold, 2001; Kaya, 2004).

Harvard Tıp Fakültesi'nde yapılan araştırmalarda EPA ve DHA'nın hamilelikte çok önemli olduğu saptanmıştır. Diyetle önemli miktarda EPA ve DHA bulunmasının hamileliğin kalitesini artırdığı ve fetusteki beyin gelişimini destekleyici etki sağladığı bilinmektedir (Bourree, 2007). DHA, cenin ve bebeğin normal gelişimi için beyin zarının %15-20, retinanın da %30-60'ının oluşmasına yardım eder. Omega-3 yağ asitlerinin tüketilmesi ile erken doğum, düşük ve zayıf bebek doğma riski önemli ölçüde azaltılabilir. DHA içeren gıdaları almayan bir annede doğum sonrası depresyon vakaları ve yüksek kan basıncı gibi olumsuzluklar görülür. Uzmanlara göre hamile veya emziren kadınların günde 500-600 mg DHA almaları gerekmektedir. 1995 yılında

Dünya Sağlık Örgütü'nün bir raporuna göre; bebeklere vücut ağırlıklarının her bir kilosu için 40 mg DHA sağlanmalıdır. Yapılan çalışmalarda depresyon, dikkat eksikliği, hiperaktivite ve IQ seviyelerinin düşük olmasının DHA miktarının azlığından kaynaklandığı tespit edilmiştir (Kaya ve ark., 2004; Mol, 2008).

Balık yağlarının, bağışıklık sisteminde olumlu etkilerinin bulunduğu ve hastalıklara karşı vücudun direnç kazanmasına yardımcı olduğu belirtilmiştir. Yüksek düzeyde balık etinin tüketilmesi ile hücre duvarının sağlamlaştığı görülmüştür. Günde ortalama 120-180 gr civarında balık tüketmek bu etkiyi artırmaktadır (Stone, 1996).

Balık yağlarının kan damarlarının yüzeyini genişletip dokulara daha fazla oksijen girişine yardımcı olduğu için astım hastalarına önemli faydaları vardır. Balık tüketiminin çocukların %20-25'inde görülen astım hastalığına etkili olduğu yapılan çalışmalarla da kanıtlanmıştır (Kaya ve ark., 2004).

Tümörlü fareler üzerinde yapılan bir araştırmada diyeti n-3 içeren yağlarla veya saflaştırılmış n-3 yağ asitleriyle desteklenen farelerde akciğer, kolon, meme, prostat gibi çeşitli kanser tiplerinin yavaşlatılabildiği tespit edilmiştir. Ayrıca kemoterapi ilaçlarının etkinliği diyetle n-3 yağ asidi ilavesi sonucunda artırılmıştır. İnsanlarda n-3 yağ asitlerinin kanserle ilişkili kaşeksiyi azalttığı ve yaşam kalitesini artırdığı bilinmekte olup, göğüs kanserinde yapılan kemoterapinin daha çok n-3 yağ asidi tüketmiş olan hastalarda az tüketenlere oranla daha başarılı sonuç verdiği anlaşılmıştır. Balık yağlarının tümör gelişimini yavaşlattığı da bilinmektedir (Hardman, 2004). Kanseri önlemede balık yağlarının etkileri kısaca özetlenirse; bir proinflatuar olan eikosanoidlerin araşidonik asitten sentezlenmesini baskılayarak, tam bir antiinflatuar etki sağlamaktadırlar, gen ekspresyonunu veya moleküllerin sinyal iletim aktivitesini etkileyerek hücre büyümesinin kontrolü, apoptosisin farklılaşması, angiogenesis ve metastazın oluşumunda olumlu yönde rol oynamaktadır, kronik inflamasyon sırasında açığa çıkan azot oksitin üretimini baskılamakta, böylece oluşabilecek DNA hasarını önlemektedir. Östrojen üretimini düşürerek, östrojen tarafından stimule edilen hormonlara bağlı kanser hücrelerinin azalmasını sağlamaktadır. Ayrıca, insulin duyarlılığını ve hücre membran akışını geliştirerek bu etkilere bağlı olan metastazı önlemede de yardımcı olmaktadır (Das ve ark., 2009).

Balık yağlarının glikoz değerlerini azaltılmasında ve insulin seviyesinin kontrol edilmesinde, diyabet hastalarında da yararlı etkiler sağladığı bilinmekte olup, McKenney ve Sica (2007), balık yağından elde edilen n-3 yağ asitlerinin hiperglisemi üzerine etkili olduğunu



belirtmişlerdir. Özellikle tip 1 diyabet hastalığında, bu risk grubuna giren çocuklarda hastalığın gelişiminin önlenmesinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Das ve ark., 2009).

Balık yağlarının, kas ve eklemlerdeki yangıları eikosanoidlerin üretimini baskılayarak azalttığı ve artriti yavaşlatmak gibi yararlar sağladığı bilinmektedir. Bir araştırmada romatoid artrit hastalarına morina karaciğeri yağı kapsül halinde verilmiş ve sabah tutulmalarında, eklem ağrıları ve şişmelerinde, mevcut ağrıların şiddetinde azalma sağlandığı görülmüş; hastaların bu

uygulamadan memnuniyetinin üst seviyede olduğu belirtilmiştir (Gruenwald ve ark., 2002; Mol, 2008). Balık yağlarının osteoarthritis hastalığında kartilajı parçalayan enzimlerin etkisini azaltmaya da yardımcı olduğu ifade edilmiştir (Das ve ark., 2009).

Balık yağı tüketimi insan sağlığı açısından çok önemlidir. Ancak, kan sulandırıcı etkisi nedeni ile balık yağı içeren kapsüllerin tüketiminde doktor görüşü alınmalıdır. Bugün artık tüm sağlık otoritelerince kabul edildiği gibi daha sağlıklı bir yaşamın anahtarı haftada en az bir kez olacak şekilde balık tüketimini artırmaktır.

KAYNAKLAR

- Ackman R. G. 1989. Nutritional composition of fats in seafoods. *Progress in Food and Nutrition Science*, 13: 161-241.
- Akyurt İ. 1993. Balık besleme. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Erzurum, 219.
- Anonim 1980. *Advances in fish science and technology*, Farnham, Fishing Books, England, 1200.
- Arnold L. G. 2001. Alternative treatments for adult with ADHD analysis. *The New York Academy of Science*, 931: 310-341.
- Bourre J. M. 2007. Dietary omega-3 fatty acids for women. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 61: 105-112.
- Connor W. E. 1995. Diabets, fish oil and vascular disease. *Annals of Internal Medicine*, 123 (12): 950-952.
- Conquer J. A. 2000. Fatty acid analysis of blood plazma of patient with alzheimer's disease, other type of dementia, and cognitive impairment. *Lipids*, 35: 1305-1311.
- Das S., Paul B. N., Sengupta J., Datta A. K. 2009. Beneficial effects of fish oil to human health: a review. *Agric. Rev.*, 30 (3): 199-205.
- De Silva S. S., Anderson A. T. 1995. *Fish nutrition in aquaculture*. St. Edmundsbury Press, Great Britain, 319.
- Fessenden R. J., Fessenden J. S. 1990. *Organic chemistry*. Brooks/Cole Publishing Company, United States of America, 1226.
- Gordon D. T., Ratliff V. 1992. The implications of omega-3 fatty acids in human health. In: Flick GL eds. *Advances in Seafood Biochemistry Composition and Quality*, 406.
- Gorga, C. 1998. A new selected comments on lipids. *Quality Assurance of Seafood Appendix 1*, 245.
- Göğüş A. K., Kolsarıcı, N. 1992. Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1243, Ders Kitabı: 358, Ankara, 260.
- Gruenwald J., Graubaum H. J., Harde A. 2002. Effect of cod liver oil on symptoms of rheumatoid arthritis. *Advances in Therapy*, 19: 101-107.
- Gülyavuz H., Ünlüsayın M. 1999. Su ürünleri işleme teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Isparta, 366.
- Hardman W. E. 2004. (n-3) Fatty acids and cancer therapy. *Journal of Nutrition*, 34 (12): 3427-3430.
- Kaya Y., Duyar H. A., Erdem M. E. 2004. Balık yağ asitlerinin insan sağlığı için önemi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 21 (3-4): 365-370.
- Khris-Etherton P. M., Taylor D. S., Yu-Poth S. 2000. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71 (1): 179-188.
- Kinsella J. E. 1988. Fish and seafoods: nutritional implications and quality issues. *Food Technology*, May: 146-150.
- McKenney J. M., Sica D. 2007. Prescription omega-3 fatty acids for the treatment of hypertriglyceridemia. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 64 (6): 595-605.
- Mol S. 2004. Su ürünleri alternatif ürün sanayi. In: Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. İstanbul Üniversitesi Yayın no: 4465, Su Ürünleri Fakültesi, No: 7, İstanbul, 444-477.
- Mol S. 2008. Balık yağı tüketimi ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Journal of Fisheries Sciences*, 2 (4): 601-607.
- Nettleton J. A. 2000. Seafood nutrition in the 1990's issues for the consumer. In: Bligh G eds. *Seafood Science and Technology Chapter 4*, Canadian Institute of Fisheries Technology, 32-39.
- Norman O. V. S. 1979. *Structure and composition of fat and oils*. Bailey's Industrial Oil and Fat Products (Ed. Swern, D.), Fourth Edition, 98.
- Sarıca Ş. 2003. Omega-3 yağ asitlerinin insan sağlığı üzerine etkileri ve tavuk etinin omega-3 yağ asitlerince zenginleştirilmesi. *Hayvansal Üretim*, 44 (2): 1-9.
- Stansby M. E. 1982. Properties of fish oils and their application to handling of fish and to nutritional and industrial use. In: Martin RE, Flick GJ, Hebard CE, Ward DR, eds. *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. AVI Publ., Westport, Connecticut, 474.
- Stone J. N. 1996. Fish consumption, fish oil, lipids and coronary heart disease. *American Heart Association*, 94: 2337-2340.
- Vanschoonbeek K., Feijge M. A. H., Paquay M., Rosing J., Saris W., Kluff C., Giesen P. L. A., Maat M. P. M., Heemskerk J. W. M. 2004. Variable hypocoagulant effect of fish oil intake in humans. *American Heart Association*, 24 (9): 1734-1740.
- Varlık C., Erkan N., Özden Ö., Mol S., Baygar T. 1994. Su ürünleri işleme teknolojisi. İstanbul Üniversitesi Yayın No: 4465, Su Ürünleri Fakültesi No:7: 491.
- Yıldız M. 1995. Soğuk depolamanın gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) protein ve yağ özelliklerine etkisinin incelenmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi.



Antimicrobial Susceptibility of *Campylobacter Jejuni* Isolated from Drinking Water from Poultry Houses, Neck Skins and Intestinal Content of Poultry Slaughterhouses

Ahmet KOLUMAN^a

Haydar ÖZDEMİR^b

^aUlusal Gıda Referans Laboratuvarı, Fatih Sultan Mehmet Bulvarı No:70, 06170, Yenimahalle, Ankara

^bAnkara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Dışkapı, Ankara

ÖZET

Campylobacter jejuni önde gelen gıda kaynaklı patojenlerden olup antibiyotik dirençliliği belirgindir. Bu çalışmada boyun derisi, bağırsak içeriği ve kümes içme sularından izole edilen *C.jejuni* izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri incelenmiştir. Toplam 122 izolatın Trimethoprim-sulfamethoxazole, Streptomycin, Enrofloxacin, Levofloxacin, Erythromycin, Oxytetracycline, Polymixin B, Penicillin, Tetracycline, Novobiocin, Bacitracin, Ampicillin, Amoxicillin-clavulanic acid, Vancomycin, Cephalothin dirençlilikleri disk diffüzyon tekniği ile belirlenmiştir. En yüksek dirençlilik gözlemlenen antibiyotik Polymixin B (%89.34) olup, takiben Penicillin G (%78.68) ve Bacitracin (%70.49) dirençlilikleri kayıt edilmiştir. Suşlarda en yüksek duyarlılık Chloramphenicol (%82.78) ve takiben Amoxicillin-clavulanic acid (%61.47) ve Trimethoprim-sulfamethoxazole (45.08%) karşı gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *C.jejuni*, antibiyotik dirençlilik, tavuk, boyun derisi, bağırsak içeriği

^aSorumlu yazar : ahmetkoluman@hotmail.com

Adres: Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı, Fatih Sultan Mehmet Bulvarı No:70, 06170, Yenimahalle, Ankara

Telefon: 0 312 327 41 81

Faks: 0 312 327 41 56

ABSTRACT

Campylobacter jejuni is an emerging food borne pathogen with a significant antibiotic resistance. In this study the antibiotic resistance of *C.jejuni* isolated from neck skin, intestinal content and drinking water obtained from poultry houses. Totally 122 strains were evaluated for antibiotic susceptibility to Trimethoprim-sulfamethoxazole, Streptomycin, Enrofloxacin, Levofloxacin, Erythromycin, Oxytetracycline, Polymixin B, Penicillin, Tetracycline, Novobiocin, Bacitracin, Ampicillin, Amoxicillin-clavulanic acid, Vancomycin, Cephalothin using disc diffusion technique. The strains represented higher resistance to Polymixin B (89.34%) and followed by penicillin G (78.68%), bacitracin (70.49%). The strains were susceptible to Chloramphenicol (82.78%), Amoxicillin-clavulanic acid (61.47%) and Trimethoprim-sulfamethoxazole (45.08%). Higher intermittent resistance was recorded in enrofloxacin (42.62%).

Key words: *C.jejuni*, Antibiotic resistance, poultry, neck skin, intestinal content

INTRODUCTION

Campylobacter jejuni is the most commonly reported bacterial cause of foodborne infection (Altekruse et al. 1999). In developed countries, the illness is widespread in adults on the contrary; in developing countries illness affects children. Infections are often self-limiting and require no antimicrobial treatment (Belanger and Shryock 2007). Adding to the human and economic costs are chronic sequelae associated with *C. jejuni* infection-Guillain-Barré syndrome and reactive arthritis, Guillain-Barré syndrome, the most frequent cause of acute neuromuscular paralysis, occurs 1–2 week after various infections, in particular, *Campylobacter jejuni* enteritis. (Yuki et al., 2004). In European Union seasonal distribution of *Campylobacter* spp. has been reported with assembling individual country reports designed in member states. EU *Campylobacter* spp. report indicated that in 2008, 193 814 cases (193,554 confirmed) were reported by 25 EU and EEA/EFTA countries. Compared with 2007 (203,736 cases), the number of confirmed cases in 2008 decreased slightly by 5%, but still exceeded the number of confirmed cases in 2006 (178,933 cases). Data on the importation status of reported cases (n = 132,677) were available from 21 EU Member States, Iceland and Norway. As in the previous years, the infection is mainly domestically acquired (92% of all cases with information on importation status). Seven countries provided complete data (zero unknown) for importation status. Among these countries the proportion of domestic cases varied from 86% in Estonia to 100% in Malta and Spain. Three Scandinavian countries (Finland, Sweden, and Norway) reported high proportions of imported cases (77%, 71%, and 58%, respectively). The report indicates that there is an obvious increase in campylobacteriosis (ECDC, 2010).

An increasing proportion of human infections are caused by *C. jejuni* most of which are resistant to anti-

microbial therapy. Antimicrobial therapy may be needed in severe and prolonged cases of enteritis, in septicemia or other invasive infections and in patients who are immunocompromised (Allos 2001). Globally, fluoroquinolones and macrolides are the first choice of medical doctors for treatment of campylobacteriosis (de Saussure 2009). Resistance to the fluoroquinolones has been increasing since the 1990's (Aarestrup and Engberg 2001). Because of the resistance situation, antimicrobial susceptibility testing has become more important than ever in routine clinical practice (Lehtopolku, 2011).

The safety of food sources from farm to fork became main subject for a safer food. The contaminations of foodborne pathogens on public health have been more significant as the demand increases. On the other hand the increase in demand triggers an increase in supply but the supplies are limited. The producers have been taking additional measures in farm level, which includes antibiotic application as growth promoter. The growth promoter administration of antibiotics has been leading resistance in microflora of animals and this microflora contains pathogens. These pathogens can contaminate the food during process. The contamination with resistant bacteria leads major problems in treatment of gastroenteritis. As this became clearer, many countries published regulations and use of antibiotics as growth promoters banned. The ban lead lesser antibiotic residue in food but the resistance in bacteria remains (Koluman and Dikici, 2012). *C.jejuni* with resistance to ciprofloxacin or other fluoroquinolones, macrolides and lincosamides, chloramphenicol, aminoglycosides, tetracycline, ampicillin and other β -lactams, cotrimoxazole, and tylosin have been reported (Padungton and Kaneene, 2003; Moore et al., 2006, Alfredson and Korolik, 2007). In the past decade, a rapidly increasing proportion of *Campylobacter* strains world-wide have developed resistance to the fluoroquinolones.



This study aims to determine the antibiotic resistance of *C. jejuni* strains in two different cities of Turkey. The strains were isolated from drinking water in poultry houses, neck skin and intestinal contents of chickens in slaughterhouses.

Materials and Methods

In this study, 122 strains which are isolated from drinking waters in poultryhouses, neck skin and intestinal contents from two different slaughterhouses located in Ankara (slaughter house A) and Bolu (slaughter house B). The distributions of strains were published previously and given in table 1 (Koluman, 2010). All strains were analyzed for antibiotic susceptibility using disc diffusion and results were evaluated with CLSI (2012) break points.

Table 1. Distribution of *C. jejuni* strains isolated from different samples and two different slaughterhouses in different cities

Sample type	Slaughter house A	Slaughter house B	TOTAL
Neck skin	26	34	60
Intestinal content	28	32	60
Drinking water	1	1	2
TOTAL	56	66	122

All strains were stored in cryobanks at -80°C All strains were streaked on Charcoal Cephaperazone Deoxycholate agar (CCDA, Oxoid, England). All petri

dishes were incubated at 42°C, under microaerophilic conditions, for 48 hours.

Antibiotic susceptibility test

Typical colonies were picked from CCDA were suspended in 1000 µL Bolton broth (BB) without horse blood. 100 µL from these suspensions were inoculated on Mueller Hinton Agar (MHA, Oxoid, England) supplemented with sheep blood in duplicates. Discs which are listed in table 2. were applied all petri dishes were incubated at 42°C, under microaerophilic conditions, for 24 hours. After incubation the zones around the disks were measured with a ruler and recorded. Mean of each measurement obtained from two parallel petri dishes were recorded and calculated. All zones were evaluated according to CLSI (2012) break points.

The tested antibiotics represented the three main categories of antibiotic classification (Collignon et al., 2009), in five groups as follows:

Group 1: Critically important antibiotics which are approved for human and veterinary medicine

(AMP, ST, ENR, LE, E, VA, P, AMC)

Group 2: Critically Important antibiotics which are approved for human medicine (CF, STX, PB)

Group 3: Highly important antibiotics which are approved for human and veterinary medicine (OT, TE)

Group 4: Important antibiotics which are approved for veterinary medicine (NV)

Table 2. Antibiotic discs and concentrations used in this study

Name of the antibiotic	Short name	Concentration	Name of the antibiotic	Short name	Concentration
Ampicillin ¹	AMP	10 µg	Cephalothin ²	CF	30 µg
Streptomycin ¹	ST	25 µg	Trimethoprim-sulfamethoxazole ²	STX	25 µg
Nalidixic acid ¹	ENR	5 µg	Polymixin B ²	PB	300 IU
Levofloxacin ¹	LE	5 µg	Oxytetracycline ³	OT	30 µg
Erythromycin ¹	E	15 µg	Tetracycline ³	TE	30 µg
Vancomycin ¹	VA	30 µg	Novobiocin ⁴	NV	30 µg
Penicillin G ¹	P	5 IU	Chloramphenicol ⁵	RL	30 µg
Amoxicillin-clavulanic acid ¹	AMC	30 µg	Bacitracin ⁵	B	10 IU

¹Critically important antibiotics which are approved for human and veterinary medicine

²Critically important antibiotics which are approved for human medicine

³Highly important antibiotics which are approved for human and veterinary medicine

⁴Important antibiotics which are approved for veterinary medicine

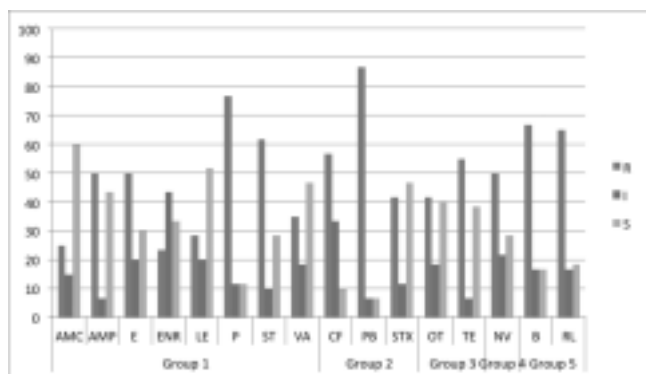
⁵Important antibiotics which are approved for human and veterinary medicine

Group 5: Important antibiotics which are approved for human and veterinary medicine (RL, B)

Results

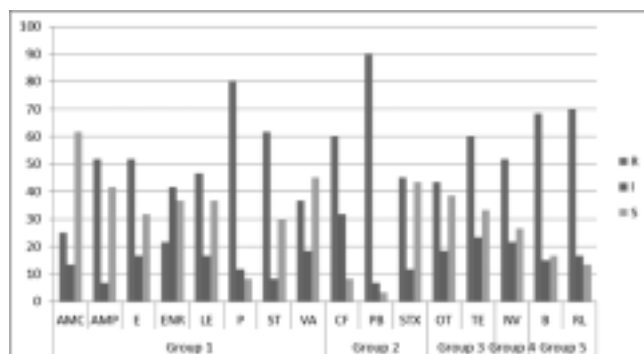
The distribution of antibiotic susceptibility of *C.jejuni* 122 strains are given in Table 3. The strains represented the highest resistance to polymyxin B (89.34%) and followed by penicillin G (78.68%), bacitracin (70.49%). The strains were susceptible to chloramphenicol (82.78%), amoxicillin-clavulanic acid (61.47%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (45.08%). Higher intermittent resistance was recorded in enrofloxacin (42.62%). According to the groups the highest resistance recorded was ST (65.57%) in group 1, PB (89.34%) in group 2, OT (43.44%) in group 3, NV (49.18%) in group 4 and B (70.49%) in group 5. There was no significant difference between two slaughterhouses.

Figure 1. The antibiotic resistance (%) of 60 *C.jejuni* strains isolated from neck skin obtained from two slaughterhouses



The antibiotic resistance of 60 *C.jejuni* strains isolated from neck skin obtained from two slaughterhouses is given in figure 1., and 60 *C.jejuni* strains isolated from intestinal contents is given in figure 2.

Figure 2. The antibiotic resistance (%) of 60 *C.jejuni* strains isolated from intestinal content obtained from two slaughterhouses



Two *C.jejuni* strains isolated from drinking waters in poultryhouses in two cities were resistant to PB and RL, one strain was resistant to LE, E, and one strain was resistant to VA.

The multiple drug resistance (MDR) was evaluated in Group 1 antibiotics due to critically importance and impact on public health. The strains with MDR to Group 1 antibiotics are summarized in Table 4.

Discussion

There are different studies held to determine antibiotic resistance of *Campylobacter* spp. Table 5. summarizes the selected publications held in five different continents and twelve countries.

According to the table AMP resistance changes between 3.07-43.1%, TET resistance changes between 7.8-100%, ENR resistance in Chinese *Campylobacter* spp. isolates was recorded as 98%. The data represented in table shows variation due to changes of application of antibiotics between countries. Likewise, the regulations also have an effect on the resistance of *Campylobacter* spp.

Table 3. Antibiotic resistance of 122 strains by different groups.

Group	Antibiotic resistance (%)															
	Group 1								Group 2				Group 3		Group 4	Group 5
Short Name	ST	ENR	LE	E	P	AMP	AMC	VA	STX	PB	CF	OT	TE	NV	RL	B
R	65.57	20.49	50	54.09	78.68	50	25.40	37.70	42.62	89.34	59.01	43.44	55.73	49.18	68.03	70.49
I	8.19	42.62	16.39	18.03	11.47	8.19	13.11	20.49	12.29	7.37	33.60	17.21	23.77	23.77	18.03	13.11
S	26.22	36.88	33.60	27.86	9.83	41.80	61.47	41.80	45.08	3.27	7.37	39.34	36.88	27.04	13.93	16.39

(R= Resistant , I=Intermittent, S=Susceptible)

**Table 4.** The strains which represent resistance to multiple resistance to Group 1 antibiotics

MRD to Group 1 antibiotics	n/N (%)		
	Neck skin	Intestinal content	Drinking water
Resistant to 3 antibiotics	26/60 43.33	21/60 35	1/2 50
Resistant to more than 3 antibiotics	12/60 20	16/60 26.66	1/2 50

In a study, held in Istanbul, Turkey, 292 were obtained from different meat types and *Campylobacter* isolates were most often resistant to tetracycline (69.1%), followed by trimethoprim-sulfamethoxazole (64.2%), nalidixic acid (58.1%), erythromycin (56.9%), enrofloxacin (48.8%), ciprofloxacin (42.7%), chloramphenicol (36.2%), and gentamicin (26.0%) (Bostan et al., 2009). In another study, Yildirim et al. (2005) isolated *Campylobacter* spp. from chicken intestines and they reported high resistance to tetracycline (76%) and ciprofloxacin (74.2%). The difference between these two studies and our results can be explained with the regional differences

In the Table 5. MDR of the *Campylobacter* spp. changes between 1-44.9% where the lowest is recorded in a study held in Switzerland and the highest is reported from Iran. In our study, MDR results of neck skin samples are similar to Iran, on the contrary, MDR of the strains isolated from intestinal content are similar to Denmark study.

Conclusion

Continuous surveillance of antibiotic resistance of thermophilic campylobacters is important, since resistance causes economic burden and more importantly public health emergency. The results indicate that antibiotic resistance of thermophilic campylobacters to critically important antibiotics is significant. Additionally, It should be taken into account that campylobacteriosis is one of the major public health problems in developed countries and antibiotic resistance of the causative agent led major problems in treatment. Antibiotic applications and residue control programs and regulations should be implemented nationally.

Acknowledgement

The authors have no conflict of interest to declare. The strains of this study were published previously in another journal and the data were summarized for comprehension of the readers.

Table 5. Different studies in different countries held to determine antibiotic resistance of *Campylobacter* spp.

Continent	Country	Sample type	Number of sample	Incidence of Campylobacter (%)	Number of strains	Antibiotic resistance of all strains (%)												
						%MR	AMP	C	TET	CN	NAD	CIP	E	K	ENR	STR	STX	References
ASIA	Iran	Poultry	494	37,9	187	44,9	31	2,1	71	0	54	49,7	1,1	NA	11,8	2,1	NA	Rahimi and Ameri-2011
						NA	39,9	1,5	43	2,6	44,9	41	6	38,5	NA	8,2	100	Ono and Yamamoto-1999
	Korea	Chicken	265	68,3	332	NA	43,1	2,6	99	6,9	92,2	92,2	0	NA	NA	NA	Han et al. - 2007	
EUROPE	Germany	Poultry	NA	NA	430	NA	12,8	NA	38	NA	NA	45,1	NA	NA	NA	NA	50	Atanassova and Ring-1999
						NA	40	2,4	65	4,9	76,9	74,4	17,1	19,5	NA	NA	NA	Saenz et al.-2000
	Denmark	Poultry	NA	NA	767	20,1	NA	0,3	7,8	NA	NA	4,3	0,5	NA	NA	0,9	NA	Andersen et al.-2006
AFRICA	Switzerland	Neck skin	800	NA	195	1	3,07	NA	0	NA	NA	0,5	NA	NA	NA	17,4	NA	Wolf and Stephan.-2003
						NA	43	NA	NA	NA	64	NA	50	NA	NA	NA	NA	Bester and Essack-2008
	Grenada	Broiler cecal	125	79,2	64	15,6	9,4	0	50	0	NA	12,5	3,1	NA	NA	NA	NA	Hariharan et al. -2009
NORTH AMERICA	USA	Chicken	180	44	80	NA	NA	NA	NA	NA	NA	10	2	NA	NA	NA	NA	Gupta et al. -2004

AMP: Ampicillin, RL:Chloramphenicol, TET: Tetracycline, CN: Cephalothin, NAD: Nalidixic Acid, CIP:Ciprofloxacin, E: Erythromycin, K: Kanamycin, ENR:Enrofloxacin, STR:Streptomycin, STX:Trimethoprim Sulfaxazol, NA:Not Available



References

- Aarestrup, F.M., Engberg, J. 2001. Antimicrobial resistance of thermophilic *Campylobacter*. *Vet. Res.* 32: 311-321.
- Alfredson, D., Korolik, V. 2007. Antibiotic resistance and resistance mechanisms in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *FEMS Microbiol. Let.* 277: 123-132.
- Allos, B.M. 2001. *Campylobacter jejuni* Infections: update on emerging issues and trends. *Clin. Infect. Dis.* 32: 1201-1206.
- Altekruse, S.F., Stern, N.J., Fields, P.I., Swerdlow, D.L. 1999. *Campylobacter jejuni*-an emerging foodborne pathogen. *Emerg. Infect. Dis.* 5: 28-35.
- Andersen, S.R., Saadbye, P., Shukri, N.M., Rosenquist, H., Nielsen, N.L., Boel, J. 2006. Antimicrobial resistance among *Campylobacter jejuni* isolated from raw poultry meat at retail level in Denmark. *Int. J. Food Microbiol.* 107:250-255.
- Belanger, A.E., Shryock, T.R. 2007. Macrolide-resistant *Campylobacter*: the meat of the matter. *J. Antimicrob. Chemother.* 60:715-723.
- Bostan, K., Aydın, A., Ang, M.K. 2009. Prevalence and Antibiotic Susceptibility of Thermophilic *Campylobacter* Species on Beef, Mutton, and Chicken Carcasses in Istanbul, Turkey. *Microb. Drug Resist.* 15: 143-149.
- CLSI (2012). Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 16th Informational Supplement. CLSI Document M100-S22. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- de Saussure, P.P. 2009. Management of the returning traveler with diarrhea. *Therap. Adv. Gastroenterol.* 2: 367-375.
- ECDC (2010). European Center for Disease Prevention and Control. Surveillance Report: Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe. ISBN 978-92-9193-222-1. Available at <http://www.ecdc.europa.eu>.
- Gupta, A., Nelson, M.J., Barrett, J.T., Tauxe, R.V., Rossiter, S.P., Friedman, C.R., Joyce, K.W., Smith, K.E., Jones, T.F., Hawkins, M.A., Shiferaw, B., Beebe, J.L., Vugia, D.J., Rabatsky-Her, T., Benson, J.A., Root, T.P., Angulo, F.J. 2004. Antimicrobial resistance among *Campylobacter* strains, United States, 1997-2001. *Emerg. Infect. Dis.* 10: 1102-1109.
- Hariharan, H., Sharma, S., Chikweto, A., Matthew, V., Claude DeAllie, C. 2009. Antimicrobial drug resistance as determined by the E-test in *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, and *C. lari* isolates from the ceca of broiler and layer chickens in Grenada. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 32: 21-28.
- Han, K.S., Jang, S., Choo, E., Heu, S., Ryu, S. 2007. Prevalence, genetic diversity, and antibiotic resistance patterns of *Campylobacter jejuni* from retail raw chickens in Korea. *Int. J. Food Microbiol.* 114: 50-59.
- Atanassova, V., Ring, C. 1999. Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry and poultry meat in Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 51: 187-190.
- Koluman, A. 2010. Detection of *Campylobacter jejuni* Contamination in Poultry Houses and Slaughterhouses. *Turk. Hij. Den. Biyol. Derg.*; 67: 57-64.
- Koluman, A., Dikici, A. 2012. Antimicrobial resistance of emerging foodborne pathogens: Status quo and global trends. *Crit. Rev. Microbiol.* Early Online: 1-13. DOI: 10.3109/1040841X.2012.691458.
- Lehtopolku, M. 2011. Antimicrobial Resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. Thesis. University of Turku, Finland. Available at www.doria.fi/AnnalesD976Lehtopolku.pdf
- Moore, J.E., Barton, M.D., Blair, I.S., Corcoran, D., Dooley, J.S.G., Fanning, S., Kempf, I., Lastovica, A.J., Lowery, C.J., Matsuda, M., McDowell, D.A., McMahon, A., Millar, B.C., Rao, J.R., Rooney, P.J., Seal, B.S., Snelling, W.J., Tolba, O. 2006. The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. *Microb. Infect.* 8: 1955-1966.
- Ono, K., Yamamoto, K. 1999. Contamination of meat with *Campylobacter jejuni* in Saitama, Japan. *Int. J. Food Microbiol.* 47: 211-219.
- Padungton, P., Kaneene, J.B. 2003. *Campylobacter* spp. in human, chickens, pigs and their antimicrobial resistance. *J. Vet. Med. Sci.* 65: 161-170.
- Rahimi, E., Ameri, M. 2011. Antimicrobial resistance patterns of *Campylobacter* spp. isolated from raw chicken, turkey, quail, partridge, and ostrich meat in Iran. *Food Cont.* 22: 1165-1170.
- Saenz, Y., Zarazaga, M., Lantero, M., Gastanares, M.J., Baquero, F., Torres, C. 2000. Antibiotic resistance in *Campylobacter* strains isolated from animals, foods, and humans in Spain in 1997-1998. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44: 267-271.
- Wolf, V.F., Stephan, R. 2003. Resistance patterns of *Campylobacter* spp. strains isolated from poultry carcasses in a big Swiss poultry slaughterhouse. *Int. J. Food Microbiol.* 89: 233-240.
- Bester, L.A., Essack, S.Y. 2008. Prevalence of antibiotic resistance in *Campylobacter* isolates from commercial poultry suppliers in KwaZulu-Natal, South Africa. *J. Antimicrob. Chemother.* 62: 1298-1300.
- Yuki, N., Susuki, K., Koga, M., Nishimoto, Y., Odaka, M., Hirata, K., Taguchi, K., Miyatake, T., Furukawa, K., Kobata, T., Yamada, M. 2004. Carbohydrate mimicry between human ganglioside GM1 and *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharide causes Guillain-Barre' syndrome. *PNAS.* 101: 11404-11409.





Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı Dergisi Yazım Kuralları

1. UGRL Dergisi Türkçe ve İngilizce yayınları kabul eder.
2. Dergi yayınlanmak üzere araştırma yazıları, derlemeler ve editöre mektuplar kabul etmektedir.
 - a. Araştırma yazıları kaynaklar dahil en fazla 15 sayfa olabilir
 - b. Derlemeler kaynaklar dahil en fazla 8 sayfa olabilir.
 - c. Editöre mektuplar 1 sayfayı aşamaz ve ilgili makalenin bildirilmesi gerekmektedir.
3. Yayınlanmak üzere gönderilen makaleler daha önce herhangi bir dergide yayınlanmamış olmalıdır.
4. Yayınlanmak amacıyla gönderilen makalelerde aşağıdaki düzenlemeler yapılmış olmalıdır.
 - a. A4 kağıtların yalnız bir yüzü kullanılmalı, kenarlardan 3'er cm boşluk bırakılmalıdır. 12 punto Times New Roman yazı karakteri kullanılmalı, 1.5 satır aralığı (double space) bulunmalıdır.
 - b. Başlık sayfasında makale başlığı, İngilizce başlık, kısa başlık, yazar adları, çalıştığı kurumlara ait birimler, yazışma işini üstlenen yazarın açık adresi, telefon numaraları (sabit ve cep), elektronik posta adresi belirtilmelidir:
 - i. Yazının başlığı kısa olmalı ve büyük harfle yazılmalıdır.
 - ii. Sayfa başlarına konan kısa başlık 40 karakteri geçmemelidir.
 - iii. Makale birden fazla yazar tarafından yazılmış ise, aynı ünitelerde çalışan yazarların soyadları sonuna aynı miktarda yıldız konur.
 - iv. Çalışma bilimsel bir kuruluş ve/veya fon ile desteklenmişse dipnot olarak başlangıç sayfasında belirtilmelidir. Aynı şekilde desteğin alındığı kurumun açık adı ve proje numarası ile teşekkür kısmında bildirilmelidir.
 - v. Makale, kongre/sempozyumda sunulmuşsa mutlaka sunum türü ile birlikte belirtilmelidir. Makalenin tamamının sunulmuş olması halinde yayınlanmak üzere kabul edilmeyecektir.
 - c. Yazılardaki terimler mümkün olduğunca Türkçe ve Latince olmalı, dilimize yerleşmiş kelimelere yer verilmeli ve Türk Dil Kurumu'nun güncel sözlüğü kullanılmalıdır. Öz Türkçe'ye özen gösterilmeli ve Türkçe kaynak kullanımına önem verilmelidir.
 - d. Metin içinde geçen Latince mikroorganizma isimleri ilk kullanıldığında tam ve açık yazılmalı, daha sonraki kullanımda kısaltılarak verilmelidir. Mikroorganizmaların orijinal Latince isimleri cins ismi büyük harfle başlayacak, tür ismi ise küçük harfle başlayacak şekilde italik olarak yazılmalıdır: *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa* gibi. Ayrıca kullanılan tür isimlerinin Linnuess tür olması durumunda bu durum mutlaka tür isminde sonra "L." harfi ile belirtilerek kullanılmalıdır. Yazıda sadece cins adı geçen cümlelerde stafilokok, streptokok gibi dilimize yerleşmiş cins adları Türkçe olarak yazılabilir. Antibiyotik isimleri dil bütünlüğü açısından okunduğu gibi yazılmalıdır. Antibiyotik isimleri uluslararası standartlara uygun olarak kısaltılmalıdır.
 - e. Yazılar bir zorunluluk olmadıkça "miş'li geçmiş" zaman edilgen kip ile yazılmalıdır. Genel geçer bilgilerde geniş zaman kullanılabilir. Örn: *Daucus carota* (L.) bir yıllık bir olup beta karoten içeriği oldukça yüksektir.
 - f. Tüm satırlar numaralandırılmalıdır. Numaralandırma sürekli olmalıdır.
 - g. Metinlerin tamamı CD'ye kopyalanmış olarak ve basılmış üç nüsha ile bir zarf içinde gönderilmelidir. İliştirilen bir üst yazıda metnin tüm yazarlarca okunduğu ve onaylandığı, yazıların yayına kabul edilmesi halinde telif hakkının dergiye devredileceği belirtilmelidir.
 - h. Yayımlanmış gereçleri yeniden basmak veya deney konusu olan insanların fotoğraflarını kullanmak için alınan izinler, insanlar üzerinde ilaç kullanarak yapılan klinik araştırmalarda ilgili "Kurum Etik Kurul Onayı"

ve gönüllülerden yazılı bilgilendirme ile olur alındığına dair belgeler birlikte gönderilmelidir. İlgili etik kurul belgesine yazı içerisinde Materyal-Metot bölümünde açık bir gönderme yapılmalıdır.

i. Makale yazımında dikkat edilecek hususlar şunlardır:

j. Araştırma yazıları; Türkçe Özet, İngilizce Özet, Giriş, Gereç ve Yöntem, Bulgular, Tartışma, Kaynaklar, Tablo ve Şekiller varsa Teşekkür bölümlerinden oluşmalıdır. Bu bölümler, iki yana yaslanacak şekilde büyük harflerle kalın yazılmalıdır. İngilizce makalelerde Türkçe Başlık ve Özet bulunmalıdır. Yabancı yazarlarda Türkçe özet koşulu aranmaz.

Türkçe Özet: Amaç, Yöntem, Bulgular ve Tartışma alt başlıklarından oluşmalıdır (yapılandırılmış özet) ve en az 100, en fazla 250 sözcük içermelidir.

İngilizce Özet (Abstract): Başlığı İngilizce olmalıdır. Türkçe Özet bölümünde belirtilenleri birebir karşılayacak şekilde yapılandırılmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Türkçe ve İngilizce Özetlerin altında her biri noktalı virgül işareti ile birbirinden ayrılarak verilmelidir. Anahtar kelime sayısı 3-8 arasında olmalı ve makalenin özgünlüğünü vurgulayacak sözcükler kullanılmalıdır.

Giriş: Araştırmanın amacı, benzer çalışmalarla ilgili kaynak bilgisi kısaca sunulmalı ve iki sayfayı aşmalıdır. Gereksiz bilgi aktarımı önlenmelidir.

Gereç ve Yöntem: Araştırmanın gerçekleştirildiği kuruluş ve tarih belirtilmeli, araştırmada kullanılan araç, gereç ve yöntem açıkça sunulmalıdır. Standart metotlarda yapılan modifikasyonlar açık olarak ortaya konulmalıdır.

Bulgular: Sadece elde edilen bulgular açık bir şekilde belirtilmelidir. Bulguların anlatımında tablo ve grafik kullanımı ile veriler desteklenmelidir.

Tartışma: Bu bölümde, araştırmanın sonunda elde edilen bulgular, diğer araştırmacıların bulgularıyla karşılaştırılmalıdır. Araştırmacı, kendi yorumlarını bu bölümde aktarmalıdır.

Teşekkür Bölümü: Gerekli görülüorsa Kaynaklar bölümünden hemen önce belirtilmelidir.

Kaynaklar: Metnin içinde geçiş sırasına göre numaralandırılmalıdır. Numaralar, parantez içinde cümle sonlarında verilmelidir. Kaynakların yazılımı mutlaka aşağıdaki örneklerle uygun olmalıdır:

Kaynak bir dergi ise: Yazar(lar)ın Soyadı Adının baş harf(ler)i (altı veya daha az yazar varsa hepsi yazılmalıdır; yazar sayısı yedi veya daha çoksa yalnız ilk üçünü yazıp İngilizce metinlerde et al. Türkçe metinlerde "ve ark." eklenmelidir) Makalenin başlığı, Derginin Index Medicus'a uygun kısaltılmış ismi, Yıl; Cilt (Sayı): İlk ve son sayfa numarası.

Standart Dergi makalesi için örnek: Demirci M., Ünlü M., Şahin Ü. 2001. A Case of Hydatid Lung Cyst Diagnosed by Kinyoun Staining of Bronco-Alveolar Fluid. Türkiye Parazitoloji Dergisi,; 25 (3): 234-5.

Anonim Kaynaklar için: Anonymous. 1981. Coffee drinking and cancer of the panceras (Editorial). Br. Med J; 283:628.

Dergi eki için örnek: Frumin A. M., Nussbaum J., Esposito M. 1979. Functinal asplenia: demonstration of splenic activity by bone marrow scan (Abstract). Blood; 54(Suppl 1): 26a.

Kaynak bir kitap ise: Yazar(lar)ın Soyadı Adının baş harf(ler)i. Kitabın Adı. Kaçınıcı basım olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı.

Örnek: Eisen H. N. Immunology: an Introduction to Molecular and Cellular Principles of the Immun Response. 5th ed. New York: Harper and Row, 1974: 406.

Kaynak kitabın bir bölümü ise: Bölüm yazar(lar)ın Soyadı Adının başharf(ler)i. Bölüm başlığı. In: Editör(ler)in Soyadı Adının başharf(ler)i ed/eds. Kitabın Adı. Kaçınıcı baskı olduğu. Basım yeri: Yayınevi, Basım yılı: Alıntı yapılan bölümün ilk ve son sayfa numarası.

Örnek: Weinstein L., Swarts M.N. Pathogenic properties of invading microorganisms. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. Pathologic Physiol ogy: Mechanism of Disease. Phidelphia. WB Saunders, 1974:457-72.

Kaynak bir internet sayfası adresi ise: İnternet sayfası adresi, erişim tarihi belirtilmelidir.



Şekil ve Tablolar: Her tablo (şekil, grafik, fotoğraf) ayrı bir sayfaya basılmalı, alt ve üst çizgiler ve gerektiğinde ara sütun çizgileri içermelidir. Tablolar, "Tablo 1." şeklinde numaralandırılmalı ve tablo başlığı tablo üst çizgisinin üstüne yazılmalıdır. Açıklayıcı bilgiye başlıkta değil dipnotta yer verilmeli, uygun simgeler (*,+,++, v.b.) kullanılmalıdır. Fotoğraflar "jpeg. veya tiff." formatında olmalıdır. Baskı kalitesinin artırılması için gerekli olduğu durumlarda fotoğrafların orijinal halleri talep edilebilir. Maksimum 127x173 mm ebadında, kaliteli, parlak kağıda basılmış olan fotoğrafların arkasına makale başlığı ve şekil numarası yazılıp ayrı bir zarf içinde yazıya eklenmelidir.

b) Derleme türü yazılarda yazar daha önce bu konuda çalışma ve yayın yapmış olmalıdır. İstisnai koşullarda editörlük tarafından davet çıkartılabilir. Derlemelerde İngilizce özet, İngilizce ve Türkçe anahtar sözcükler bulunmalıdır.

c) Daha önce yayımlanmış yazılara eleştiri getirmek, katkıda bulunmak ya da bilim haberi niteliği taşıyacak bilgilerin iletilmesi amacıyla yazılan yazılar, Yayın Kurulu'nun inceleme ve değerlendirmesinin ardından "Editöre Mektup" bölümünde yayınlanır. Bu yazıların bir sayfayı aşmaması ve en fazla beş kaynakla desteklenmesi gerekmektedir.

5. Yukarıda bildirilen yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan makaleler aşağıdaki adreslere gönderilmelidir.

a. Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı Dergisi Editörlüğü

Fatih Sultan Mehmet Bulvarı, Tarım Kampüsü, No:70, 06170, Yenimahalle, Ankara, Türkiye

b. E-mail adresi:

6. Yukarıda bildirilen yazım kurallarına göre uygun olarak hazırlanmamış makaleler hakem görüşü için gönderilmez.

