



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2018; 32 (2): 99 - 103
http://www.fusabil.org

Tavuk Kas Dokularında LC-MS/MS ile Çoklu Antibiyotik Kalıntılarının Taranması *

Mustafa YİPEL ^{1, a}
İbrahim Ozan TEKELİ ^{2, b}
Cemil KÜREKÇİ ^{3, c}

¹ Namık Kemal Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Farmakoloji ve Toksikoloji
Anabilim Dalı,
Tekirdağ, TÜRKİYE

² Mustafa Kemal Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Farmakoloji ve Toksikoloji
Anabilim Dalı,
Hatay, TÜRKİYE

³ Mustafa Kemal Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Gıda Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı,
Hatay, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-6390-9313

^b ORCID: 0000-0002-6845-2279

^c ORCID: 0000-0002-6442-2865

Geliş Tarihi : 21.12.2017
Kabul Tarihi : 11.04.2018

Yazışma Adresi Correspondence

Mustafa YİPEL
Namık Kemal Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Farmakoloji ve Toksikoloji
Anabilim Dalı,
Tekirdağ – TÜRKİYE

musyip@hotmail.com

Bu çalışmada, tavuk eti örneklerinde florokinolon (n=10), tetrasiklin (n=4), makrolid (n=3), sülfonamid (n=7), penisilin (n=7), sefalosporin (n=3), amfenikol (n=2) ve trimetoprim (n=1) gruplarını içeren antibiyotik kalıntılarının (n=37) varlığı araştırıldı. Hatay, Adana, Gaziantep, Mersin ve Osmaniye illerinde farklı yerel satış noktalarından toplanan örneklerde (göğüs eti, n=25) seçilen antibiyotiklerin konsantrasyon analizleri LC-MS/MS ile gerçekleştirildi. Çalışmada, test edilen numunelerde tespit edilebilir bir antibiyotik kalıntı konsantrasyonu saptanmadı. İlave olarak, hayvansal gıdalardaki çoklu antibiyotik kalıntılarının belirlenmesinde LC-MS/MS yönteminin yararlılığı, bu alandaki mevcut bilgileri destekleyici olarak gösterildi. Sonuç olarak, tavuk eti tüketiminin seçilen antibiyotik kalıntıları açısından halk sağlığı için herhangi bir risk oluşturmadığı söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Antibiyotik kalıntısı, halk sağlığı, tavuk, LC-MS/MS

Multi-Class Antibiotic Residue Screening of Chicken Muscle by LC-MS/MS

This study was conducted to investigate the occurrence of antibiotic residues (n=37) including fluoroquinolone (n=10), tetracycline (n=4), macrolide (n=3), sulphonamide (n=7), penicillin (n=7), cephalosporin (n=3), amphenicol (n=2) and trimethoprim (n=1) groups in chicken meat samples. Concentration of selected antibiotics in samples (breast meat, n=25), which were collected from different local markets in Hatay, Adana, Gaziantep, Mersin and Osmaniye provinces, were determined by LC-MS/MS. In the current study, no detectable concentration of antibiotic residues was found in the tested samples. In addition, the usefulness of LC-MS/MS method to identify multi antibiotic residues in foods of animal origin has been also proven to support the existing knowledge in this area. Finally, it is reasonable to assume that chicken meat consumption poses no risk for public health in terms of selected antibiotic residues.

Key Words: Antibiotic residues, public health, chicken, LC-MS/MS

Giriş

Günümüzde antibiyotikler tavukçuluk endüstrisinde hastalıkların tedavisi, önlenmesi ve dolayısıyla hastalıklara bağlı oluşan ekonomik kayıpların önüne geçilmesi açısından önemlidir (1). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesinin yayınladığı rapora göre 2015 yılında hayvansal üretimde yaklaşık 15.6 milyon kg antibiyotik tüketildiği saptanmıştır (2). Türkiye’de hayvansal üretimde antibiyotik kullanım miktarına yönelik resmi bir veri bulunmamasıyla birlikte florokinolon grubu (FK); [danofloksasin (n:1)], tetrasiklin grubu (TS) [tetrasiklin (n:1), oksitetrasiklin (n:28), klortetrasiklin (n:6)], makrolid grubu (ML) [eritromisin (n: 12), tilozin (n: 30)], sülfonamid grubu (SFN) [sülfadiazin (n:7)], penisilin grubu (PEN) [amoksisilin (n: 37)], aminoglikozid grubu (AG) [gentamisin (n:2), neomisin (n: 33)], amfenikol grubu (AF) [tiamfenikol (n: 3)], linkozamid grubu (LZ) [linkomisin (n:34)], polimiksin grubu (PM) [kolistin (n: 25)] ve tiamulin (TML) (n: 2) etken maddelerini kapsayan 25’i ithal, 169’u yerli olmak üzere toplam 194 preparat broiler yetiştiriciliği alanında ruhsatlandırılmıştır (3).

Veteriner antibiyotiklerin gereğinden fazla kullanımı ve kullanım sonrası yasal arınma sürelerine uyulmaması sonucu et, süt, yumurta gibi hayvansal ürünlerde kalıntıların gözlenmesine neden olmaktadır. Hayvansal gıdalardaki antibiyotik kalıntısı insanlarda alerjik reaksiyonlar, gastro-intestinal hastalıklar ve dirençli bakteri suşlarının gelişmesi gibi olumsuz etkilere yol açabilmektedir (1, 4, 5). Antibiyotiklerin düşük dozda uzun süre kullanılmaları; bakteriler üzerinde seçici baskı oluşmasına ve dolayısıyla antibiyotiklere dirençli bakterilerin çoğalmasına neden olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (6, 7). Kalıntı yoluyla insan sağlığı üzerinde meydana getirdikleri riskler yanında ana bileşik ya da metabolitlerinin gübre olarak kullanılan dışkılarla atılmaları sonucu önemli çevresel sorunlara neden olabilmektedirler (8). Bundan dolayı Türkiye ve Avrupa Birliği üyesi ülkelerde geçmiş yıllarda büyüme faktörü olarak (düşük konsantrasyonda uzun süre) kullanılan antibiyotiklerin (monensin, salinomisin vs.) bu amaçla kullanılmaları 2006 yılında yasaklanmasına karşın üretimin büyük bir kısmının yapıldığı Amerika, Kanada, Brezilya ve Çin gibi ülkelerde antibiyotikler büyüme faktörü

* II International Congress on Advances in Veterinary Sciences & Technics, 04-08 October 2017, Skopje, Macedonia.

olarak hala kullanılmaktadır (9-12). Tüketime sunulan hayvansal gıdalarda güvenliği sağlamak amacıyla Türkiye ve Avrupa Birliği ülkeleri, hayvansal gıdalarda bulunabilecek maksimum kalıntı limitlerini (MKL) belirleyen yönetmelikler yayımlamışlardır (13, 14). Günümüzde dünyanın farklı bölgelerinde hayvansal ürünlerde AF, SFN ve FK gibi antibiyotik gruplarının kalıntıları bildirilmektedir (1, 15). Dolayısıyla, dünya genelinde hayvanların yenilebilir dokularında antibiyotik kalıntı varlığının izlenmesi halk sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Türkiye’de tavuk etlerinde antibiyotik kalıntısının araştırıldığı çalışmalar olsa da çoğunda tek antibiyotik grubu üzerine odaklanılmıştır (16, 17). Yapılan bu çalışmada sıvı kromatografisi tandem kütle/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) cihazında Türkiye’nin 5 farklı şehrinde (Adana, Gaziantep, Hatay, Mersin ve Osmaniye) tüketime sunulan tavuk kas dokularında 7 farklı gruptan toplam 37 adet broiler yetiştiriciliği alanında ruhsatlı olan ve olmayan antibiyotiklerin kalıntısı araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Numunelerin Toplanması: Adana, Gaziantep, Hatay, Mersin ve Osmaniye illerindeki perakende satış noktalarından toplanan (n=25; her bir ilden lokal ve ulusal farklı markalara ait beş örnek) tavuk göğüs etleri soğuk zincir altında laboratuvara getirildi ve -20 °C’de analiz aşamasına kadar muhafaza edildi.

Kimyasal ve Standartlar: Çalışmada kalıntıları aranan antibiyotikler (FK; [norfloksasin, siprofloksasin, enrofloksasin, danofloksasin, difloksasin, marbofloksasin, flumekuin, nalidiksik asit, sarafloksasin, oksolinik asit], TS; [tetrasiklin, oksitetrasiklin, klortetrasiklin, doksisisiklin], ML; [tilmikosin, spiramisin, tilosin], SFN; [sülfaklorpidazin, sülfatiazol, sülfadiazin, sülfadimetoksin, sülfametoksazol, sülfamerazın, sülfakinoksalin], PEN; [penisilin G, ampisilin, amoksisilin, kloksasilin, dikloksasillin, nafsilin, oksasilin], sefalosporinler (SS); [sefalekssin, sefapirin, seftiofur], AF; [kloramfenikol, florfenikol] ve trimetoprim (TP) ve diğer kimyasallar (asetonitril, formik asit, metanol, oksalik asit, sodyum hidroksit ve etilendiamintetrasetik asit) Sigma-Aldrich (Seelze, Almanya), Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Almanya), Merck (Darmstadt, Almanya)’den temin edildi. Analiz ve validasyon çalışmaları için stok solüsyonlar (50 µg mL⁻¹) hazırlanarak +4 °C’de muhafaza edildi.

Ekstraksiyon ve Analize Hazırlık: Tavuk kas dokularındaki antibiyotik kalıntılarının ekstraksiyon işlemi için 3 g numune 50 mL’lik vida kapaklı tüp içine alındı ve 200 µL 0.1 M EDTA ve 15 mL %70’lik metanol eklendi. Karışım ultratoraks vasıtasıyla 1 dk homojenize edildikten sonra 3800 x g’de 5 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant (500 µL) polipropilen tüpler içine alındı ve 2 mL saf su eklenerek karıştırıldı. Son olarak karışım 0.45 µm’lik filtreden süzüldü (18, 19). Numuneler arasında çapraz kontaminasyonu önlemek için ekipmanların temizliği yapıldı ve hekzanla durulandı.

Enstrümantal Analiz, Cihaz çalışma şartları: Antibiyotik kalıntılarının enstrümantal analizleri kantitatif

olarak sıvı kromatografi (LC) (Shimadzu, Kyoto, Japan) sistemine bağlanmış tandem kütle spektrometresi (MS/MS) (AB SCIEX, Toronto, ON, Kanada) ve elektro-sprey iyonizasyon (ESI) probu ile donatılmış LC-MS/MS sistemiyle Tablo 1’de belirtilen cihaz şartlarında gerçekleştirildi. Ekstraktlar LC-MS/MS sistemine 0.3 mL dk⁻¹ hızında 20 µL enjekte edildi. Hayvansal kas dokularında çalışılan çoklu antibiyotik kalıntıları için önceki çalışmamızda (20) detaylı bir şekilde verilen metot validasyonu doğrultusunda ölçüm aralığı, tespit limiti (LOD), tayin limiti (LOQ), geri kazanım ve kesinlik parametreleri üzerinden yapıldı (21). Geri kazanım oranları %23-119, LOD ve LOQ değerleri ise sırasıyla 0.3-2.5 ile 0.1-5.8 aralığında belirlendi.

Tablo 1. LC-MS/MS cihazı çalışma şartları

LC	Shimadzu
MS/MS	API 3200
Mobil Faz	A:Formik asit, 0.1 mM Oksalik asit ve su B: Formik asit, 0.1 mM Oksalik asit + asetonitril
Mobil Faz Akış	0.3 mL dk ⁻¹
Kolon	Synergi Fusion-RP 100A 50X2.0 mm partikül çapı: 2.5 µm
Enjeksiyon Hacmi	20 µL
İyon sprej voltajı	Negatif: -4500 V Pozitif: 35 V
Nebulizer Basıncı	40 PSI
Gaz Basıncı	60 PSI
MS Gaz Sıcaklığı	400 °C

Bulgular

Türkiye’nin 5 farklı şehrinde (Adana, Gaziantep, Hatay, Mersin ve Osmaniye) tüketime sunulan tavuk kas dokularında 7 farklı gruba ait antibiyotik kalıntılarının LC-MS/MS cihazında araştırıldığı bu çalışmada, seçilen 37 antibiyotiğin standart solüsyon kromatogramları Şekil 1’de verilmiştir.

Yapılan analiz sonucunda kanatlı sağlıklı alanında ruhsatlı ve ruhsatlı olmayan antibiyotiklerden seçilen FK (n=10), TS (n=4), ML (n=3), SFN (n=7), PEN (n=7), (SS) (n=3), AF (n=2) ve TP (n=1) grubu çoklu antibiyotik (n=37) kalıntısına rastlanılmamıştır.



Şekil 1. Seçilen 37 antibiyotik için standart solüsyonların kromatogramları ile negatif pik

Tartışma

Artan küresel besin ihtiyacı ve paralelindeki üretim miktarları dolayısıyla gıda değeri olan hayvanlarda antibiyotik kullanımının, mortalite ve hastalık sıklığını azaltarak hayvan sağlığına önemli katkılar sağladığı rapor edilse de (1, 22) diğer hayvansal ürünler gibi kanatlı yetiştiriciliğinde de antibiyotiklerin kullanımı ciddi olarak tartışılmaktadır (22).

Hayvansal dokularda çoklu antibiyotik kalıntısının hızlı, güvenilir ve tekrarlanabilir analizler ile belirlenmesi üzerine son yıllarda pek çok metot geliştirilmiştir. LC-MS/MS ve HPLC gibi kromatografik metotların bu ihtiyaca cevap verebildiği daha önceki yapılan çalışmalarda ispatlanmıştır (4, 5, 18).

Türkiye'de konuyla ilgili yapılan çalışmaları, antibiyotiklerin hayvan yetiştiriciliğinde yemden yararlanmayı artırmak için kullanılmalarının 2006 yılında yasaklanması öncesi ve sonrası olarak değerlendirmek

daha doğru bir yaklaşım olacaktır. Bu açıdan, yasaklamadan önce Akar (23) tarafından Ankara'da yapılan çalışmada 350 adet tavuk eti ve karaciğeri örneklerinde ince tabaka kromatografisi yöntemiyle yapılan taramada tavuk etlerinin %5.7'si ile karaciğerlerin %3.4'ünde kloramfenikol, eritromisin ve tilozin kalıntısı tespit edilmiştir. Aynı bölgede yapılan başka bir çalışmada (24) toplanan 50 adet tavuk numunesinde (kas, karaciğer, böbrek ve dalak) oksitetrasiklin, kloramfenikol ve çinko basitrasin kalıntısı taranmıştır. Çalışma sonunda tavuk numunelerinde oksitetrasiklin, kloramfenikol ve çinko basitrasin kalıntısına rastlanmamıştır. Antibiyotik kullanımının yasaklanması sonrası Bursa'da yapılan bir çalışmada marketlerden toplanan 60 adet tavuk etinde LC-MS/MS cihazında TS grubu (klortetrasiklin, doksisisiklin, tetrasiklin, oksitetrasiklin) antibiyotik kalıntısı araştırılmıştır. Tavuk numunelerinin 4'ünde doksisisiklin ($19.9-35.6 \mu\text{g kg}^{-1}$) ve bir tanesinde de tetrasiklin ($17.2 \mu\text{g kg}^{-1}$) kalıntısına rastlanmakla birlikte MKL'nin altında oldukları tespit edilmiştir (16). Metli ve ark. (25) tarafından Antakya'daki 34 farklı marketten toplanan tavuk ciğerlerinde 7 gruptan toplam 38 antibiyotik kalıntısı LC-MS/MS cihazında çalışılmıştır. 33 tavuk numunesinde antibiyotik kalıntısına rastlanmazken sadece 1 numunede TP ($298.5 \mu\text{g kg}^{-1}$) ve sülfometoksazol ($312.8 \mu\text{g kg}^{-1}$) kalıntısına rastlanmış ve kalıntı seviyelerinin MKL'den yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmaların (16,25) aksine Er ve ark. (17) yaptıkları bir çalışmada ise Ankara'daki marketlerden toplanan 127 adet tavuk etinde ELISA yöntemi ile örneklerin %45.7 (58/127)'sinde FK kalıntısına rastlamışlardır. Fakat kalıntı analiz yöntemlerinin (ELISA ve LC-MS/MS) karşılaştırılması amacıyla yapılan bir çalışmada kloramfenikol kalıntısı açısından ELISA yöntemi ile tespit limitinin üzerinde tespit edilen 15 pozitif numunenin 13 tanesinin hatalı pozitif olarak belirlendiği ve 45 negatif numuneden 1 tanesinin ise pozitif olduğu LC-MS/MS yöntemi ile yapılan tarama sonucunda ortaya konulmuştur (26). Benzer şekilde yapılan başka bir çalışmada da ELISA ile yapılan antibiyotik kalıntı analizlerinde pozitif bulunan sonuçların bazıları, kromatografi yöntemleri ile (GC-MS, LC-MS) doğrulanamamış ve ELISA ile antibiyotik kalıntı taramalarında yanlış pozitif sonuçlar çıkabileceği belirtilmiştir (27).

Bu çalışmanın sonuçları ile benzer olarak Avrupa Birliği'nin konuyla ilgili 2012 yılında yayınladığı kalıntı tarama sonuçları incelendiğinde 27 Avrupa Birliği ülkesinden toplanan 18412 kanatlı numunesi (FK, ML, SFN, TS, AG, PEN, SS vs.) antibiyotik kalıntılarını açısından taranmıştır. Kanatlı numunelerinde %0.12 (23/18412) oranında antibiyotik kalıntısı tespit edilmiştir. En çok kalıntısına rastlanan antibiyotiğin doksisisiklin olduğu rapor edilmiştir (28).

Avrupa Birliği ülkelerinin aksine, Vietnam gibi balık yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapıldığı ülkelerde hayvansal üretimde antibiyotik kullanımı üzerine MKL gibi yasal limitler bulunmamaktadır (15). Uzakdoğu'da konuyla ilgili çalışmalar incelendiğinde; Vietnam'da yapılan bir çalışmada 156 tavuk (148 kas, 8 karaciğer)

numunesinde LC-MS/MS cihazında β -laktam, FK, ML ve SFN gruplarından 28 antibiyotik kalıntı düzeyi çalışılmış ve örneklerin %17.3'ünde (27/156) SFN (sülfaklozin ve sülfamonometoksin), FK (enrofloksasin, difloksasin ve norfloksasin) ve ML (tilmikosin) grubu antibiyotik kalıntılara rastlanmıştır. Hiçbir tavuk numunesinde PEN ve SS grubu antibiyotik kalıntısına rastlanmamıştır (15). Jang ve ark. (29) tarafından yapılan çalışmada Güney Kore'nin farklı şehirlerinden toplanan 369 hayvan (21 tanesi tavuk) ve deniz ürününde elektrosprey iyonizasyon tandem kütle spektrometresi ile birleştirilmiş ultra performanslı sıvı kromatografisi (UPLC-ESI-MS/MS) cihazında TP kalıntıları araştırılmıştır. Çalışma sonunda tavuk numunelerinde TP kalıntısına rastlanmamıştır. Tokyo'da yapılan benzer bir çalışmada (30) marketlerden toplanan 10'ar adet kas örneklerinde (sığır, tavuk ve domuz); LC-MS/MS cihazında β -laktam, TS ve ML gruplarından toplam 19 adet antibiyotik çalışılmış ve tavuk kaslarında antibiyotik kalıntısına rastlanmamıştır.

Orta doğuda konuyla ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde; Attari ve ark. (1) tarafından İran (Tebriz)'daki marketlerden toplanan 90 adet (35 göğüs, 35 bacak kası ve 20 adet karaciğer) tavuk numunesinde ELISA yöntemi ile enrofloksasin ve kloramfenikol kalıntısı araştırılmıştır. Kas numunelerinden 20 tanesinde kloramfenikol ve 63 tanesinde enrofloksasin kalıntısına rastlanmıştır. Kas numunelerinin ortalama enrofloksasin seviyesi MKL (30 ng g^{-1})'nin altında bulunmuştur. Kloramfenikol kalıntısına rastlanan tavuk

çiftliklerinde illegal kullanımın olduğu iddia edilmiştir. Ancak ELISA çalışması sonucunda elde edilen veriler kromatografik bir analiz ile desteklenmediği için sonuçların güvenilirliği doğrulanmalıdır. İran'da yapılan başka bir çalışmada (31) tavuk karaciğer, böbrek ve kas dokusunda HPLC cihazı ile enrofloksasin kalıntısı araştırılmıştır. Tüm örneklerde enrofloksasin kalıntısına rastlanmakla birlikte kas dokularından 8, karaciğer dokularından 12, böbrek dokularından 22 tanesinde kalıntı seviyesi MKL (30 ng g^{-1}) düzeylerinin üstünde tespit edilmiştir.

Türkiye'nin yurt dışına tavuk eti ihracatı 2010 yılında 98.091 ton iken 2013 yılında 303.198 tona yükselmiştir (32). Türkiye tavuk eti üretiminde son 11 yılda 2 kat büyüyerek, 2006 yılında 917.659 ton iken 2016 yılında 1.879.018 ton üretime ulaşmıştır (33). Avrupa Birliği ülkeleri ile karşılaştırıldığında Türkiye'nin 2014 yılında tavuk eti üretimi 1.894.700 ton iken Avrupa Birliğinin 28 ülkesinin toplam tavuk eti üretimi 10.073.800 ton olarak gerçekleşmiştir (34).

Sonuç olarak, resmi otoritelerce kanatlı yetiştiriciliğinde kalıntı izlemenin sürekli ve daha efektif hale getirilerek yaygınlaştırılması ve yasal yaptırımların uygulanabilirliğinin artırılması birincil öncelik taşımaktadır. Çalışmanın materyalini oluşturan şehirlerde halk sağlığı açısından tavuk göğüs etlerinin tüketilmesinde analizleri yapılan antibiyotiklerin kalıntısı bakımından sakınca olmadığı sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Attari VE, Abbasi MM, Abedimanesh N, Ostadrahimi A, Gorbani A. Investigation of enrofloxacin and chloramphenicol residues in broiler chickens carcasses collected from local markets of Tabriz, northwestern Iran. *Health Promot Perspect* 2014; 4: 151-157.
- FDA. "2015 Summary Report on Antimicrobials Sold or Distributed for Use in Food-Producing Animals. Food and Drug Administration Department of Health and Human Services". 2016. <https://www.fda.gov/downloads/ForIndustry/UserFees/AnimalDrugUserFeeActADUFA/UCM534243.pdf>/ 28.07.2017.
- GKGM. "Ruhsatlı Veteriner Tıbbi Ürünler. Türkiye Cumhuriyeti Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü. 2016". <http://www.gkgm.gov.tr/vtu/RListe.asp/> 04.08.2016.
- Macarov CA, Tong L, Martínez-Huélamo M, et al. Multi residue determination of the penicillins regulated by the European Union, in bovine, porcine and chicken muscle, by LC-MS/MS. *Food Chem* 2012; 135: 2612-2621.
- Bousova K, Senyuva H, Mittendorf K. Quantitative multi-residue method for determination antibiotics in chicken meat using turbulent flow chromatography coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2013; 1274: 19-27.
- Harbarth S, Samore MH, Lichtenberg D, Carmeli Y. Prolonged antibiotic prophylaxis after cardiovascular surgery and its effect on surgical site infections and antimicrobial resistance. *Circulation* 2000; 101: 2916-2921.
- Gullberg E, Cao S, Berg OG, et al. Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *PLoS Pathog* 2011; 7: e1002158.
- Ho YB, Zakaria MP, Latif PA, Saari N. Simultaneous determination of veterinary antibiotics and hormone in broiler manure, soil and manure compost by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2012; 1262: 160-168.
- EU. Directive 1831/2003 of the European Parliament and of The Council 2003 On additives for use in animal nutrition. *Official Journal of the European Union*; 2003, L 268/29.
- GTHB. "Yem Katkıları ve Premikslerin Üretimi, ithalatı, ihracatı, Satışı ve Kullanımı Hakkında Tebliğde Değişiklik Yapılmasına Dair Tebliğ. Resmi Gazete tarih ve sayısı: 21.01.2006/26056". <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2006/01/20060121.htm/> 06.09.2017.
- Kumar RR, Lee JT, Cho JY. Fate, occurrence, and toxicity of veterinary antibiotics in environment. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 2012; 55: 701-709.
- Laxminarayan R, Van Boeckel T, Teillant A. "The economic costs of withdrawing antimicrobial growth promoters from the livestock Sector. OECD Food, Agriculture and Fisheries Papers, No. 78, OECD Publishing 2015". <http://dx.doi.org/10.1787/5js64kst5wv1-en/> 06.09.2017.
- EC. Pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. Commission Regulation No 37/2010. *Off. J. Eur. Union*, 2010, L15: 1-72.

14. GTHB. "Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalarda Bulunabilecek Farmakolojik Aktif Maddelerin Sınıflandırılması ve Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği. Resmi Gazete tarih ve sayısı: 04.05.2012/28282". <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2012/05/20120504-9.htm/> 06.09.2017.
15. Yamaguchi T, Okihashi M, Harada K, et al. Antibiotic residue monitoring results for pork, chicken, and beef samples in Vietnam in 2012–2013. *J Agric Food Chem* 2015; 63: 5141-5145.
16. Çetinkaya F, Yibar A, Soyutemiz GE, et al. Determination of tetracycline residues in chicken meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Addit Contam Part B Surveill* 2012; 5: 45-49.
17. Er B, Onurdağ FK, Demirhan B, et al. Screening of quinolone antibiotic residues in chicken meat and beef sold in the markets of Ankara, Turkey. *Poult Sci* 2013; 92: 2212-2215.
18. Chico J, Rúbies A, Centrich F, Companyó R, Prat MD, Granados M. High-throughput multiclass method for antibiotic residue analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2008; 1213: 189-199.
19. Graneli K, Elgerud C, Lundström Å, Ohlsson A, Sjöberg P. Rapid multi-residue analysis of antibiotics in muscle by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 2009; 637: 87-91.
20. Yipel M, Kürekci C, Tekeli İO, Metli M, Sakin F. Determination of selected antibiotics in farmed fish species using LC-MS/MS. *Aquaculture Research* 2017; 48: 3829-3836.
21. EC. Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002: Implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Off J Eur Comm*, 2002, L221: 8-36.
22. Diarra MS, Malouin F. Antibiotics in Canadian poultry productions and anticipated alternatives. *Front Microbiol* 2014; 5: 1-15.
23. Akar F. Tavuk eti ve karaciğerlerinde bazı antibiyotik kalıntılarının araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 1994; 41: 199-207.
24. Yüksek N. Etilerde antibiyotik kalıntılarının aranması üzerinde çalışmalar. *J Fac Vet Med* 2001; 20: 85-90.
25. Metli M, Yakar Y, Tekeli Y. Determination of antibiotic residues in chicken liver by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Adıyaman Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 2015; 5: 120-131.
26. Yibar A, Cetinkaya F, Soyutemiz GE. ELISA screening and liquid chromatography-tandem mass spectrometry confirmation of chloramphenicol residues in chicken muscle, and the validation of a confirmatory method by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Poult Sci* 2011; 90: 2619-2626.
27. Impens S, Reybroeck W, Vercammen J, et al. Screening and confirmation of chloramphenicol in shrimp tissue using ELISA in combination with GC-MS 2 and LC-MS 2. *Anal Chim Acta* 2003; 483: 153-163.
28. EC. Council of the European Union. Commission Staff Working Document on the Implementation of National Residue Monitoring Plans in the Member States in 2012 (Council Directive 96/23/EC).
29. Jang JW, Lee KS, Kim WS. Monitoring of trimethoprim antibiotic residue in livestock and marine products commercialized in Korea. *Food Sci Biotechnol* 2015; 24: 1927-1931.
30. Nakajima T, Sasamoto T, Hayashi H, et al. Screening assay of residual antibiotics in livestock samples by LC-MS/MS. *Shokuhin eiseigaku zasshi. Food Hyg Saf Sci* 2012; 53: 91-97.
31. Salehzadeh F, Salehzadeh A, Rokni N, Madani R, Golchinefar F. Enrofloxacin residue in chicken tissues from Tehran slaughterhouses in Iran. *Pakistan Journal of Nutrition* 2007; 6: 409-413.
32. GTHB. "Kümes Hayvancılığı Ürün Raporu. 2014" http://arastirma.tarim.gov.tr/tepge/Lists/Haber/Attachment/s/18/KANATLI_URUN_RAPORU_2014.pdf/ 28.10.2016.
33. TÜİK. "Hayvansal üretim verileri. 2017". <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist/> 21.06.2017.
34. EUROSTAT. "Meat production statistics. 2015". http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Meat_production_statistics/ 21.06.2017.