

مقایسه بقایای انروفلوكسازین در بافت‌های طیور کشتار شده در استان‌های شمال غرب ایران با دو روش ELISA و F.P.T

دکتر حسین تاجیک^{*}، دکتر سید مهدی رضوی روحانی^۲، دکتر محمد رضا پژوهی الموتی^۳، دکتر رزاق محمودی^۴

تاریخ دریافت ۸۹/۰۶/۲۷، تاریخ پذیرش ۸۹/۱۰/۲۴

چکیده

پیش زمینه و هدف: استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در صنعت طیور به دلیل ایجاد باقیمانده‌های دارویی در فرآورده‌های خوراکی آن‌ها سبب نگرانی روزافزون مصرف کنندگان شده است. هدف از این مطالعه ارزیابی و مقایسه باقیمانده انروفلوكسازین در بافت‌های طیور کشتار شده در استان‌های شمال غرب ایران با دو روش ELISA و F.P.T می‌باشد.

مواد و روش کار: در این مطالعه بافت‌های عضله، کبد و کلیه ۱۶۰ لاشه طیور گوشتی از استان‌های شمال غرب ایران شامل آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و اردبیل جمع آوری و جهت تعیین باقیمانده انروفلوكسازین از روش‌های میکروبی F.P.T و شیمیابی ELISA استفاده گردید. یافته‌ها: براساس نتایج حاصله از روش F.P.T تعداد ۲۸ لاشه از مجموع ۱۶۰ لاشه مورد بررسی واحد باقیمانده انروفلوكسازین بودند. تست الایزا نشان داد که از ۲۸ لашه مثبت در روش F.P.T، تعداد ۲۴ نمونه کبد، ۷ نمونه کلیه و ۴ نمونه عضله دارای باقیمانده انروفلوكسازین بالاتر از حد مجاز تعريف شده (MRL) برای این آنتی بیوتیک بود. حداکثر و حداقل انروفلوكسازین شناسایی شده به وسیله الایزا به ترتیب در بافت کبد به میزان ۳۱ ng/g و در عضله به میزان ۶۵۹ ng/g و در عضله به میزان ۱۰ ng/g بود.

بحث و نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان داد که انروفلوكسازین‌ها در منطقه شمال غرب ایران به ویژه استان آذربایجان غربی مورد استفاده قرار گرفته و به نظر می‌رسد دوره منع مصرف این آنتی بیوتیک به درستی اعمال نمی‌شود.

کلید واژه‌ها: انروفلوكسازین، MRL، F.P.T، ELISA

مجله پژوهشی ارومیه، دوره بیست و دوم، شماره اول، ص ۲۴-۱۸، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۰

آدرس مکاتبه: ارومیه، کیلومتر ۱۱ جاده سرو، پردیس نازلو، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، صندوق پستی: ۵۷۱۵۳۱۱۷۷
تلفن: (۰۴۴۱) ۰۵۰۸ ۲۷۷۰ ۵۰۸

Email: h.tajik@urmia.ac.ir

دلیل ایجاد باقیمانده‌های دارویی در فرآورده‌های طیور سبب توجه روزافزون و نگرانی گسترشده مصرف کنندگان نسبت به سلامتی این فرآورده‌ها، با توجه به عوارض ناشی از مصرف آن‌ها همچون سرطان‌زا، جهش‌زا، تولید آلرژی، ایجاد مقاومت داروئی و مشکلات عده سلامت عمومی شده است (۳).

مقدمه

آن‌تی بیوتیک‌ها به‌طور وسیعی به منظور پیشگیری و درمان بیماری‌ها، تحریک کننده رشد دام و افزایش راندمان تولید در صنعت دام و طیور استفاده می‌شوند (۱، ۲). استفاده بی‌رویه از آنتی بیوتیک‌ها به عنوان ترکیبات ضد میکروبی در صنعت طیور به

^۱ دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

^۲ استاد گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

^۳ استادیار گروه دامپزشکی، دانشکده پرورادامپزشکی، دانشگاه بولعلی سینا همدان

^۴ دستیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

مواد و روش کار

مواد شیمیایی

در این مطالعه محیط کشت مولر هینتون آگار (V381547, Merck, Germany) پس از آماده سازی در pH های ۶، ۷/۲ و ۸ با استفاده از اسید استیک و هیدروکسید سدیم، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد در دستگاه اتوکلاو REEN / RIDASC استریل گردید. کیت الایزای انروفلوکسازین (Enrofloxacin ELISA kit, R 3111 R-biopharm) از شرکت (Landwehrstr, 54, Germany) خریداری شد.

جمع آوری نمونه‌ها

در این مطالعه تعداد ۱۶۰ لشه مرغ گوشتی کشتار شده در سه استان شمال غربی ایران شامل آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و اردبیل (به طور تصادفی) جمع آوری و بافت‌های کبد، کلیه و عضله آن‌ها جهت انجام آزمایش برداشته شد. لازم به ذکر است نمونه‌ها از لاشه‌های با قابلیت خوارکی اخذ گردیدند. نمونه‌ها پس از جمع آوری تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

ارزیابی میکروبی (F.P.T test)

آماده سازی کشت باکتریایی

در این مطالعه باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس ATCC 6633 و استافیلکوکوس اورئوس ATCC 6538 تهیه شده از گلکسیون باکتری گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه جهت ارزیابی میکروبی مورد استفاده قرار گرفت. باسیلوس و به منظور تهیه سوسپانسیون باکتری‌های مورد مطالعه یک کلونی از کشت‌های باکتری‌های مورد مطالعه به محیط آبگوشت مولر هینتون انتقال داده و به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند این کار حداقل برای دو بار متواتی صورت گرفت. در ادامه با استفاده از نیم مک فارلن، میزان باکتری در سوسپانسیون کشت باکتری‌های مورد مطالعه محاسبه و به ترتیب به میزان 10^5 cfu/ml و 10^6 cfu/ml از باسیلوس سوبتیلیس و آگار استریل با pH های مختلف (۶، ۷/۲ و ۸) جهت تشخیص باقیمانده آنتی باکتریال تلقیح شدند.

آماده سازی نمونه‌ها

پس از انجام ارزایی نمونه‌های کبد، کلیه و عضله در دمای ۴ درجه سانتی گراد، نمونه‌ها با استفاده از هموژنیزاتور Ultra Turax T25 همگن شدند. نمونه‌های هموژن شده به مدت ۱۵ دقیقه به وسیله سانتریفیوژ با دور g ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. سپس به

کینولون‌ها یک گروه از ترکیبات ضد باکتریایی سنتتیک هستند که جهت درمان بیماری‌های تنفسی و عفونت‌های باکتریایی روده‌ای در دام‌های اهلی مورد استفاده قرار می‌گیرند. انروفلوکسازین، آنتی بیوتیک وسیع الطیف متعلق به گروه کینولون‌ها می‌باشد. خصوصیات ضد میکروبی بالقوه انروفلوکسازین از دلایل استفاده گسترده آن در صنعت طیور می‌باشد. استفاده عمده این آنتی بیوتیک در صنعت طیور بیشتر در درمان عفونت‌های مایکوپلاسمایی، کلی باسیلوز و پاستورلوز می‌باشد (۴). به دنبال تجویز این آنتی بیوتیک در گونه‌های مختلف حیوانات، این ترکیب به هشت متابولیت مختلف متabolized شده که تنها سیپروفلوکسازین در میان آن‌ها دارای فعالیت ضد میکروبی می‌باشد (۵). به دلیل ایجاد مشکلاتی همچون واکنش‌های آلرژیک، مقاومت دارویی باکتریایی و سایر عوارض آن، تعیین میزان باقیمانده این آنتی بیوتیک در بافت‌های خوارکی طیور از اهمیت ویژه‌ای برای سلامتی انسان برخوردار می‌باشد (۶). حداقل مقدار مجاز (MRL) تعیین شده برای این آنتی بیوتیک توسط اتحادیه اروپا در طیور g ۱۰۰ می‌باشد (۷ و ۸). با توجه به سهم عمده انروفلوکسازین در میان آنتی بیوتیک‌هایی که به طور وسیعی در صنعت طیور ایران استفاده می‌شوند، حداقل مقدار مجاز ثابتی برای استفاده از این آنتی بیوتیک تعریف نشده است (۶). با توجه به مصرف بی رویه آنتی بیوتیک‌ها در کشورهای در حال توسعه به خصوص ایران و عدم رعایت دوره دفع آنتی بیوتیک‌ها از بدن دام‌ها، مطالعات گسترده‌ای در جهت بررسی و شناسایی بقاوی دارویی در فراورده‌های دامی صورت گرفته است (۹-۱۱). امروزه از روش‌های مختلفی جهت شناسایی و تعیین باقیمانده‌های دارویی در مواد غذایی استفاده می‌شود که از آن جمله می‌توان به تست‌های غربالگری میکروبی مانند^۱ F.P.T (۱۲) و روش‌های کمی مانند الایزا و روش‌های تأییدی مانند انواع کروماتوگرافی اشاره نمود (۱۳). در مطالعه قبلی روش‌های ELISA و HPLC برای اندازه گیری باقیمانده کلرامفینیکل مورد مقایسه قرار گرفتند (۹). با توجه به عوارض و مشکلات ناشی از بقاوی آنتی بیوتیک‌ها، کنترل فراورده‌های دامی به لحاظ عاری بودن از آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی و مقایسه باقیمانده انروفلوکسازین در بافت‌های خوارکی شامل کبد، کلیه و عضله طیور گوشتی کشتار شده در استان‌های شمال غرب ایران شامل آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و اردبیل با استفاده از دو روش ELISA و F.P.T می‌باشد.

¹ Maximum Residue Limit

² Four Plate Test

از زیابی قرار گرفت. اختلاف آماری در سطح $p < 0.05$ معنی دار
قلمداد گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه جهت تشخیص باقیمانده انروفلوكسازین در نمونه‌های کبد، کلیه و گوشت طیور گوشته کشتار شده در استان‌های شمال غرب ایران از روش‌های ELISA و F.P.T استفاده گردید. بر اساس منطقه مهار رشد ایجاد شده در تست F.P.T (۲ میلی متر یا بیشتر) تعداد ۲۸ لاشه از مجموع ۱۶۰ لاشه بدست آمده از سه استان مورد بررسی به عنوان نمونه‌های مثبت تشخیص داده شدند. بافت‌های مورد بررسی به عنوان نمونه‌های مثبت محیط‌های کشت موجب مهار رشد باکتری‌های مورد مطالعه شده بودند. از این تعداد به ترتیب ۱۵، ۷ و ۶ لاشه متعلق به استان‌های آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و اردبیل بود. حداقل قطر منطقه مهار رشد در نمونه‌های عضله $5/3 \pm 1/7$ برای باسیلوس سوبتیلیس و $3/8 \pm 0/4$ برای استافیلوكوکوس اورئوس) و حداکثر آن در نمونه‌های کبد $1/8/7 \pm 1/2$ برای باسیلوس سوبتیلیس و $14/3 \pm 1/9$ برای استافیلوكوکوس اورئوس) مشاهده شد. این تعداد لاشه‌های مثبت در هر سه بافت مورد مطالعه دارای باقیمانده آنتی باکتریال، در تمامی محیط‌های کشت با pH مختلف و در رابطه با هر دو باکتری مورد مطالعه بودند. به منظور اندازه گیری میزان انروفلوكسازین در نمونه‌های مثبت F.P.T از روش کمی الایزا استفاده گردید. براساس نتایج بدست آمده از الایزا، تعداد ۱۲ نمونه کبد، ۷ نمونه کلیه و ۲ نمونه عضله در استان آذربایجان غربی، تعداد ۶ نمونه کبد، ۱ نمونه کلیه و ۱ نمونه عضله در آذربایجان شرقی و تعداد ۶ نمونه کبد و ۱ نمونه عضله در استان اردبیل از مجموع کل نمونه‌های مثبت تشخیص داده شده به روش F.P.T دارای باقیمانده انروفلوكسازین بالاتر از حد مجاز تعريف شده (MRL) برای این آنتی بیوتیک بودند. که در جدول‌های ۱ تا ۳ به ترتیب برای نمونه‌های کبد، کلیه و عضله نشان داده شده است. حداکثر و حداقل انروفلوكسازین شناسایی شده به وسیله الایزا به ترتیب در کبد به میزان 10 ng/g و عضله به میزان $65.9/31 \text{ ng/g}$ بود. در نمودار ۱ میانگین مقدار باقیمانده انروفلوكسازین بالاتر از حد اکثر مقدار مجاز در بافت‌های طیور سه استان مورد مطالعه با هم مقایسه شده است.

میزان ۱۰ میکرولیتر از مایع فوقانی هر نمونه سانتریفیوژ شده به دیسک‌های کاغذی (Mast Diagnostic, BD0638W) منتقل و بعد از خشک شدن (دماهی ۴۰ درجه به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه) دیسک‌ها بر روی پلیت‌های مولولینتون آگار تلقیح شده با باکتری مورد مطالعه، قرار داده شدند. پلیت‌هایی تلقیح شده با باسیلوس سوبتیلیس (در 3 pH مختلف) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و پلیت‌هایی حاوی استافیلوكوکوس اورئوس (تنها در $\text{pH } 8$) به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد گرم خانه گذاری شدند. بعد از طی شدن زمان گرم خانه گذاری جهت تشخیص نمونه‌های واجد باقیمانده آنتی باکتریال مطابق با سایر مطالعات صورت گرفته، منطقه مهار رشد باکتری‌های مورد مطالعه به وسیله دیسک‌ها موجود بر روی پلیت‌ها، مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۴). در نهایت دامنه استاندارد برای نمونه‌های مثبت منطقه مهار رشد با عرض ۲ میلی متر و یا بیشتر در نظر گرفته شد.

آنالیز الایزا

نمونه‌هایی که در تست F.P.T مثبت تشخیص داده شدند جهت اندازه گیری میزان انروفلوكسازین در آن‌ها از کیت الایزا انروفلوكسازین (R-biopharm, R 3111, Germany) استفاده گردید. بطور خلاصه، ۴ گرم از هر نمونه توزین و به کمک یک میکسر هموژنیزه گردید. سپس 4 ml لیتر متابول ۷۰ درصد به یک گرم از نمونه‌های هموژن شده اضافه گردید. این سوسپانسیون به مدت ۱۰ دقیقه به طور کامل مخلوط گردید. جهت جداسازی مایع فوقانی، سوسپانسیون نمونه‌ها سانتریفیوژ گردید (دور 3000 rpm به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق). در ادامه مایع فوقانی نمونه‌ها با آب مقطر به میزان یک به یک رقيق شدن و 50 ml میکرولیتر از آن‌ها برای بررسی در کیت الایزا به هر چاهک اضافه گردید. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 450 nm قیائت و میزان بقایای انروفلوكسازین بر اساس منحنی کالیبراسیون به صورت نانوگرم در گرم بافت‌های مورد مطالعه بیان گردید.

ارزیابی آماری

مقادیر باقیمانده انروفلوكسازین بدست آمده از تست ELISA در بافت‌های عضله، کبد و کلیه در نمونه‌های متعلق به سه استان مورد مطالعه با استفاده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون Tukey توسط نرم افزار SPSS 17.0 تحت ویندوز مورد

جدول شماره (۱): میانگین غلظت اتروفلوکساسین در نمونه بافت‌های طیور در استان آذربایجان غربی (MRL= 100 ng/g)

میانگین غلظت اتروفلوکساسین (ng/g) ± انحراف استاندارد															نمونه
۱۵	۱۴	۱۳	۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	
۳۱۶/۷۶۴±۲۶۳۴	۲۰۲/۷۸۵±۲۷۴	۲۱۹/۶۷۴±۳۸۲۴	۴۹۱/۱۵۷±۲۱۰	۱۱۶/۴۶۱±۴۶۱۵	۶۷۹/۳۱۱±۴۷۲۴	۴۳۹/۶۳۱±۴۷۲۴	۴۹۴/۹۶۴±۴۱۱۲	۴۳۸/۷۹۳±۳۹۱۲۷	۶۱۶/۶۸۱±۴۳۹۰	۵۵۳/۳۴۳±۳۱۹۰	۶۴۴/۴۳۷±۲۳۳	۱۲۷/۷۶۱±۱۱۷۶	۱۲۷/۷۶۱±۱۱۷۶	۱۲۷/۷۶۱±۱۱۷۶	کبد ^a
۳۷۵/۱۸۲±۲۲۸	۴۰۵/۰۱۶±۱۳۶	۳۷۵/۰۱۶±۱۳۶	۲۷۵/۰۱۶±۱۳۶	۱۱۶/۰۱۶±۱۳۶	۱۳۷/۰۱۶±۱۳۶	۱۴۲/۰۱۶±۱۳۶	۷۵۷/۰۱۶±۱۳۶	۴۳۷/۰۱۶±۱۳۶	۷۱۲/۰۱۶±۱۳۶	۶۷۵/۰۱۶±۱۳۶	۲۷۷/۰۱۶±۱۳۶	۲۳۰/۰۱۶±۱۳۶	۲۳۰/۰۱۶±۱۳۶	کلیه ^b	
۷۰/۰۱۶±۱۳۶	۳۷۵/۰۱۶±۱۳۶	۴۰۵/۰۱۶±۱۳۶	۲۷۵/۰۱۶±۱۳۶	۱۱۶/۰۱۶±۱۳۶	۱۳۷/۰۱۶±۱۳۶	۱۴۲/۰۱۶±۱۳۶	۷۵۷/۰۱۶±۱۳۶	۴۳۷/۰۱۶±۱۳۶	۷۱۲/۰۱۶±۱۳۶	۶۷۵/۰۱۶±۱۳۶	۲۷۷/۰۱۶±۱۳۶	۲۳۰/۰۱۶±۱۳۶	۲۳۰/۰۱۶±۱۳۶	عضله ^c	

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشد ($p < 0.05$).

جدول شماره (۲): میانگین غلظت اتروفلوکساسین در نمونه بافت‌های طیور در استان آذربایجان شرقی (MRL= 100 ng/g)

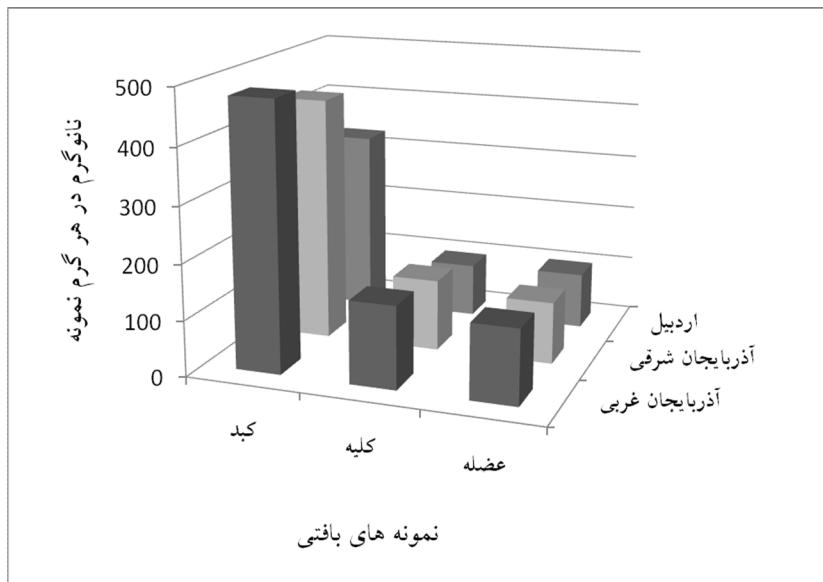
میانگین غلظت اتروفلوکساسین (ng/g) ± انحراف استاندارد								نمونه
۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱		
۴۵۷/۰۷±۳۲/۱۲	۲۴۵/۵۸±۲۱/۲۴	۲۱۹/۶۷±۱۸/۸۰	۵۳۵/۹۹±۴۱/۵۸	۷۳/۱۹±۱۵/۲۴	۴۸۷/۱۴±۲۸/۳۴	۶۸۳/۸۰±۳۴/۲۰	کبد ^a	
۱۲۷/۸۱±۲۸/۰۸	۴۷/۶۱±۴/۱۸	۴۳/۲۷±۴/۲۳	۲۵/۵۸±۳/۲۶	۲۱/۱۳±۴/۰۴	۴۱/۲۵±۳/۴۲	۲۸/۱۴±۸/۴۶	کلیه ^b	
۱۱۰/۷۴±۵/۳۰	۲۲/۵۲±۶/۳۸	۱۹/۲۰±۲/۵۸	۱۶/۹۰±۱/۱۸	۱۰/۰۰±۱/۲۸	۱۸/۳۱±۲/۱۲	۱۵/۸۶±۱/۴۱	عضله ^c	

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشد ($p < 0.05$).

جدول شماره (۳): میانگین غلظت اتروفلوکساسین در نمونه بافت‌های طیور در استان اردبیل (MRL= 100 ng/g)

میانگین غلظت اتروفلوکساسین (ng/g) ± انحراف استاندارد							نمونه
۶	۵	۴	۳	۲	۱		
۳۸۳/۶۰±۱۸/۳۲	۲۷۴/۵۴±۲۱/۰۶	۱۹۶/۴۹±۸/۴۵	۲۱۹/۶۷±۱۲/۴۴	۳۸۹/۷۶±۲۳/۱۲	۵۰۲/۹۰±۳۸/۲۲	کبد ^a	
۹۵/۹۵±۸/۲۲	۴۹/۱۵±۲/۱۴	۳۷/۴۹±۳/۱۰	۴۱/۲۵±۵/۶۸	۳۵/۱۷±۲/۲۶	۴۸/۳۷±۷/۴۸	کلیه ^b	
۸۸/۸۰±۹/۴۳	۲۴/۳۸±۴/۲۸	۱۸/۹۰±۱/۴۲	۲۱/۴۷±۴/۸۲	۴۰/۶۰±۴/۸۱	۱۰۰/۱۰±۱۲/۰۸	عضله ^c	

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشد ($p < 0.05$).



نمودار شماره (۱): مقایسه میانگین باقیمانده ازوفلوكسین بالاتر از حد اکثر مقدار مجاز در بافت‌های طیور استان‌های شمال غرب ایران

(حاوی باقیمانده آنتی باکتریال)، ۱۷/۵ درصد کل نمونه‌های F.P.T

مورد ارزیابی را به خود اختصاص داده بودند.

در مطالعه Salehzadeh و همکاران (۲۰۰۷) تمامی فارم‌های طیور مورد ارزیابی در استان تهران واجد باقیمانده ازوفلوكسین بودند که تنها ۲۴ درصد آن‌ها بالاتر از MRL تعریف شده برای این آنتی بیوتیک بودند. از طرف دیگر بیشترین باقیمانده ازوفلوكسین را به ترتیب در بافت‌های کلیه، کبد و عضله گزارش نمودند (۶).

در مطالعه دیگری که بر روی بقاوی ازوفلوكسین در بافت‌های طیور به وسیله HPLC انجام شده بالاترین میزان باقیمانده ازوفلوكسین در کلیه مشاهده شد (۱۸). در مطالعه HPLC ما، ارزیابی بافت‌های طیور توسط دو تست ELISA و قابلی ما، بیشترین میزان این باقیمانده در بافت کبد می‌باشد (۹).

در مطالعه حاضر تست ELISA به عنوان یک تست کمی برای ارزیابی نمونه‌های مثبت تشخیص داده شده در بررسی F.P.T نشان داد که به ترتیب ۲۵، ۸۵/۷۱ و ۱۴/۲۸ درصد نمونه‌های کلیه، کبد و عضله واجد باقیمانده ازوفلوكسین بالاتر از حد مجاز MRL تعریف شده برای این آنتی بیوتیک در نمونه‌های طیور بودند، بیشترین و کمترین میزان باقیمانده ازوفلوكسین به ترتیب در نمونه‌های کبد و عضله تشخیص داده شد، که این مسئله در مورد نمونه‌های عضله ناشی از انتشار ضعیف و حذف سریع این

بحث و نتیجه گیری

با توجه به مصرف بالای فراورده‌های طیور به عنوان منبع پروتئینی حیوانی در ایران، کنترل کیفی این فراورده‌ها برای وجود باقیمانده‌های دارویی امری لازم و ضروری می‌باشد. روش‌های میکروبیولوژیکی از جمله روش‌های متداول جستجو و غربالگری باقیمانده‌های در بین سایر روش‌های تعیین بقاوی دارویی در مواد غذایی (به دلیل هزینه کمتر و حساسیت تشخیصی) می‌باشند (۱۲). از جمله معمول‌ترین این روش‌ها تست F.P.T می‌باشد که در صورت وجود غلظت بالای ترکیبات ضد باکتریالی منطقه مهار رشد وسیعی در این روش دیده می‌شود. عواملی همچون pH محیط کشت‌های بکار رفته و ترکیبات بافتی نمونه‌های مورد ارزیابی می‌توانند در نتایج به دست آمده با این روش تاثیر گذار باشند (۱۵). بنابراین این تست از حساسیت لازم جهت تشخیص نوع ترکیب ضدباکتریالی خاص برخوردار نمی‌باشد. معمولاً این تست غربالگری در کنار سایر روش‌های کمی مانند ELISA و تأییدی مانند HPLC انجام می‌گیرد (۱۷، ۱۶).

در مطالعه حاضر از روش F.P.T در ابتدا به عنوان یک روش غربالگری اولیه و در ادامه از تست ELISA (با توجه به سرعت و ارزان بودن آن) به عنوان یک روش کمی جهت ارزیابی مقداری باقیمانده ازوفلوكسین در بافت‌های کبد، کلیه و عضله طیور گوشتی کشtar شده در استان‌های شمال غرب ایران مورد استفاده قرار گرفت. لشه‌های طیور مثبت تشخیص داده شده با تست

با توجه به نیاز گسترده جامعه به فراورده‌های پروتئینی به ویژه فراورده‌های طیور، نظارت گسترده و دقیق بر روی تولید و عرضه این فراورده‌ها و ارزیابی وجود باقیمانده‌های دارویی در آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر انروفلوكسازین بهطور وسیعی در فارم‌های طیور استان‌های مورود بررسی به ویژه استان آذربایجان غربی بکار رفته و دوره منع مصرف آن به درستی اجرا نشده یا برای این دارو نامناسب می‌باشد. نتایج این مطالعه بر اجرای دقیق قوانین جهت مصرف داروهای آنتی‌بیکتریال در صنعت طیور و همچنین بررسی لشه‌ها برای وجود باقیمانده دارویی قبل از عرضه به مصرف کننده تاکید دارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه و معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی که هزینه‌های طرح را تقبل نمودند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References:

1. Donoghue DJ. Antibiotic residue in poultry Tissues and Eggs: Human Health Concerns? Poult Sci 2003; 82: 618-21.
2. Bremner A. Poultry Meat Hygiene and Inspection, 1nd ed. Saunders publisher; 1996.
3. Ferguson J, Baxter A, Young P, Kennedy G, Elliott C, Weigel S, et al. Detection of chloramphenicol and chloramphenicol glucuronide residues in poultry muscle, honey, prawn and milk using a surface plasmon resonance biosensor and Qflex® kit chloramphenicol. Anal Chim Acta 2005; 529: 109-13.
4. Mitchell MA. Enrofloxacin. Journal of Exotic Pet Medicine 2006; 15, 66-9.
5. Anonymous. USP-veterinary pharmaceutical monographs, fluoroquinolones / veterinary - systemic. J Vet Pharmacol Ther, 2003. 26 (Suppl. 2), 87-108.
6. Salehzadeh F, Salehzdeh A, Rokni N, Madani R, Golchinefar F. Enrofloxacin residue in Chicken tissues from Tehran slaughterhouses in iran. Pakistan Journal of Nutrition 2007; 6(4): 409-13.
7. Food and Drug Administration (FDA). Tolerance for residues of new animal drug in food- U.S. FDA- Center for Devices and Biological Health- 106th regulation meeting, site 2003; 21 CFR 556.
8. Jafari MT, Khayamian T, Shaer V, Zarei N. Determination of veterinary drug residues in chicken meat using corona discharge ion mobility spectrometry. Analytica Chimica Acta 2007; 581, 147-53.
9. Tajik H, Malekinejad H, Razavi-Rouhani SM, Pajohi MR, Mahmoudi R, Haghnazari A. Chloramphenicol residues in chicken liver, kidney and muscle: A comparison among the antibacterial residues monitoring methods of Four Plate Test, ELISA and HPLC. Food Chem Toxicol 2010; 48: 2464-468.
10. Mottier P, Parisod V, Gremaud E, Guy PA, Stadler RH. Determination of the antibiotic chloramphenicol in meat and seafood products by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. J Chromatogr A 2003; 994: 75-84.
11. Toldra F, Reig M. Methods for rapid detection of chemical and veterinary drug residues in animal

آنچه بیوتیک در این بافت می‌باشد. با توجه به این که کبد به عنوان یک ارگان ترشحی، محل تجمع و متابولیزاسیون ترکیبات داروئی می‌باشد (۱۲، ۱۹) مقدادیر متابولیت‌های دارویی در این ارگان به مراتب بیشتر از سایر بافت‌ها است، که در مطالعه ما نیز بیشترین مقدار انروفلوكسازین در این بافت تعیین شد. از طرف دیگر اختلاف نتایج مشاهده شده در روش‌های تشخیصی بکار رفته در مطالعه حاضر می‌تواند به دلیل حساسیت هم زمان روش F.P.T به چندین ترکیب آنتی‌بکتریال موجود در نمونه‌ها باشد (۲۰). میزان باقیمانده انروفلوكسازین در بافت‌های عضله، کبد و کلیه با هم اختلاف آماری معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0.05$). تفاوت معنی‌داری بین مقدادیر باقیمانده انروفلوكسازین در بافت‌های طیور استان آذربایجان غربی نسبت به آذربایجان شرقی مشاهده نشد، در حالی که مقدادیر این باقیمانده در نمونه‌های استان اردبیل نسبت به دو استان دیگر تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$).

- foods - a review. *Trends Food Sci Technol* 2006; 17: 482-89.
12. Okerman L, Wasch KD, Hoof JV. Detection of antibiotics in muscle tissue with microbiological inhibition tests: effects of the matrix. *Analyst* 1998; 123:2361-365.
13. Neuhaus BK, Hurlbut JA, Hammack W. US Food and Drug Administration 2002; Laboratory Information Bulletin No. 4290.
14. Oboegbulem SI, Fidels AP. detection of antimicrobial residues in poultry meat and slaughter cattle in Nigeria. *Meat Sci* 1996; 43(1):71-74.
15. Okerman L, Hoof JV. Evaluating of the European Four-Plate test as a tool for screening antibiotic residues in meat samples from retail outlets. *J AOAC Int* 1997; 81:51-56.
16. Pikkemaat MG. Microbial screening methods for detection of antibiotic residues in slaughter animals - a review. *Anal Bioanal Chem* 2009; 395:893-905.
17. Kilinc B, Cakli S. Screening for antibiotic residues in the trout by the Four Plate test, Premi test and ELISA test. *Eur Food Res Technol* 2008; 226, 795-99.
18. Rokni N, Salehzadeh F, Madani R. Study of Enrofloxacin residue in chicken tissues by HPLC. *Iranian Journal of Food Sciences* 2006; 2(4): 11-16.
19. Rao GS, Ramesh SAH, Ahmad HC, Tripathi LD, Sharma JK, Mali k. Pharmacokinetics of Enrofloxacin and its metabolite Ciprofloxacin after intramuscular administration of Enrofloxacin in Goats. *Vet Res Commun* 2001; 25: 197-204.
20. Myllyniemi AL, Rannikko R, Lindfors E, Miemi A, Backman C. Microbiological and chemical detection of incurred penicilline G, oxytetracycline, enrofloxacin, and ciprofloxacin in bovine and porcine tissues. *Food Addit Contam* 2000; 17 (12), 991-1000.