

بررسی چهار گروه آنتی‌بیوتیکی شایع در بافت عضله و جگر مرغ‌های کشتاری تهران به روش LC-MS/MS

• فاطمه زارعان بنی‌اسدی

دانش آموخته رشته بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران
 • محمد احمدی (نویسنده مسئول)

استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران
 • نوردهر رکنی

استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
 • لیلا گلستان

استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران
 • سید احمد شهیدی

دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷-۱۲-۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸-۰۱-۲۴

Email: m.ahmadi@iauamol.ac.ir



چکیده

آنتی‌بیوتیک‌ها در طول دوره پرورش طیور استفاده می‌گردد و حضور بیش از حد مجاز باقیمانده‌ها آنها در گوشت طیور سبب مقاومت دارویی میکروبی، ازدیاد حساسیت و... می‌گردد. در مطالعه حاضر باقی مانده آنتی‌بیوتیک‌های مختلف از جمله کوئینولون‌ها، ماکرولیدها و فلورفلوکسولون مجموعه ۸ آنتی‌بیوتیک (۴ گروه دارویی) در بافت عضله و کبد ۹۰ نمونه که در اوایل سال ۱۳۹۷ از ۱۳ کشتارگاه و ۱۳ گله مجزا با روش احتمالی تصادفی سیستماتیک جمع‌آوری و با روش کروماتوگرافی مایع با طیف سنج جرمی Tandem mass طبق روش استخراج و جداسازی گرنلی و همکارن بررسی شد. نهایتاً از خانواده ماکرولیدها لینکومایسین و از خانواده کوینولین‌ها انروفلوکساسین، سپیروفلوکساسین در نمونه‌ها موجود یافت شدند طوری‌که بیشترین فراوانی به ترتیب متعلق به انروفلوکساسین، لینکومایسین و سپیروفلوکساسین بود و بصورت معنی‌داری این نسبت در هر دو ماتریکس کبد و بافت مرغ نیز دیده می‌شود. در ۲۴ و ۱۶ درصد موارد نمونه‌های عضله و کبد فقط یک نوع آنتی‌بیوتیک شناسایی و در هیچ یک از نمونه‌ها دو نوع آنتی‌بیوتیک توامان وجود نداشت. هیچ یک از مقادیر مثبت بدست آمده از حد مجاز تعریف شده اداره استاندارد و MRLs اتحادیه اروپا بیشتر نبود.

کلمات کلیدی: کروماتوگرافی مایع، Tandem mass، باقیمانده آنتی‌بیوتیک، طیور

- Veterinary Researches & Biological Products No 124 pp: 55-63

Evaluation of four common antibiotic classes in the muscle and liver of chickens slaughtered tehran by LC-MS/MS

By: Zarean Baniasadi F., Food Hygiene Ph.D. Graduated, Department of Food Hygiene, Aytollah Amoli Branch, Islamic AZAD University, Amol, Iran. Ahmadi M. (Corresponding Author), Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Aytollah Amoli Branch, Islamic AZAD University, Amol, Iran. Rokni N., Professor, Department of Food Hygiene, Science and Research Branch, Islamic AZAD University, Tehran, Iran. Golestan L., Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Aytollah Amoli Branch, Islamic AZAD University, Amol, Iran. Shahidi Yasaghi A., Associated Professor Department of Food Science and Technology, Aytollah Amoli Branch, Islamic AZAD University, Amol, Iran.

Received: 2019-03-11 Accepted: 2019-04-13

Emali: m.ahmadi@iauamol.ac.ir

Antibiotics are such compounds that are used for prevention or treatment during the breeding term. The lack of attention of the farmers to veterinary recommendations regarding observance of the prohibition of slaughter and poultry consumption, increases the amount of residues in poultry meat. Regarding the complications caused of these residues, such as drug resistance of germs, increased sensitivity to consumers, etc. In the present study, antibiotics residues of different groups, including quinolones, macrolides and fluorophenicol were investigated. Totally 8 antibiotics (4 antibiotal classes) in muscle and liver tissues of 90 samples from 13 slaughterhouses and 13 separate herds in early 1397 with a systematic random probability were collected, By liquid chromatography with a tandem mass spectrometer according the Grabnelli and el al method tested in the Residues Department of National Diagnostic Center of IVO. Finally, form 21 analytes that just Lincomycinthe macrolide class, and the enrofloxacin, ciprofloxacin in Quinolines was detected in sample and most of the frequency belong to ENR, LINCO.CIP, STZ respectively, and this ratio is significantly correlated with both liver and chicken tissue matrix. It should be mentioned that in 24 and 16% of muscles and livers only one type of antibiotic was detected there aren't any samples with more than one antibiotic. None of the positive amounts weren't above ISIRI and EU MRLs, then again, the presence of antibiotics, in particular, can be a potential public health hazard.

Key words: Liquid chromatography, Tandem mass, Antibiotic residue, Poultry

دستورالعمل‌های مختلفی به دام‌پزشکان و فعالان این حوزه توصیه شد (۱۳). علیرغم وضع قوانین مختلف در این حوزه استفاده بی‌رویه از این ترکیبات و حضور متابولیت‌های آن‌ها در بافت‌های خوراکی دام اثرات سوء در سلامت مصرف‌کنندگان از قبیل بروز مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی، حساسیت‌ها، تغییر فلور گوارشی، سمیت و سرطان‌زایی را به همراه دارد و امروزه یکی از مخاطراتی است که بهداشت عمومی را تهدید می‌کند (۱۱). گروه‌های آنتی‌بیوتیکی مهم شامل بتا لاکتام‌ها، تتراسایکلین‌ها، آمینوگلیکوزیدها، فلور فنیکول و سولفانامیدها و... می‌باشند که برخی فقط در بخش دامپزشکی و برخی در هر دو زمینه دامی و انسانی کاربرد دارند. با وجود تلاش‌های گسترده، حضور آنتی‌بیوتیک‌ها در مواد غذایی چندان قابل کنترل نیست از این جهت سازمان بهداشت جهانی حداکثر میزان مجاز (Maximum Residue Limits MRLs) این ترکیبات را در محصولات غذایی مختلف تعیین کرده است این مقادیر در ایران با همکاری سازمان دامپزشکی کشور و سازمان استاندارد و بخش‌های

مقدمه

گوشت مرغ دومین پروتئین پر مصرف جهان و طبق برخی آمارها ۳۶ درصد تامین بار پروتئین را بر عهده دارد (۱۳) و ایالات متحده امریکا با تعداد تقریبی نه میلیارد قطعه طیور که شامل مرغ و سایر ماکیان از جمله بوقلمون، بلدرچین در صدر کشورهای تولید کننده می‌باشد. در این میان ایران یکی از بزرگ‌ترین تولیدکنندگان گوشت طیور در خاورمیانه با تولید متوسط دو میلیون تن در یال می‌باشد (۲۱). به صورت تاریخی آنتی‌بیوتیک‌ها و سایر ضد انگل‌ها در صنعت طیور جهت اهداف مختلفی از قبیل درمانی، پیشگیرانه (عمدتا در کوکسیدیوزیس و التهاب نکروتیک روده) و محرک رشد مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۶). از سال ۲۰۰۶ استفاده از این ترکیبات جهت محرک رشد در کشورهای عضو اتحادیه اروپا ممنوع شده و از سال ۲۰۱۷ استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در دام‌ها و یا خوراک دامی که نهایتا به مصرف انسان می‌رسد محدود و دسته‌بندی شدند طوری که با توجه به باقیمانده دارویی و طول دوره منع مصرفشان،

تیمولین (TIM) و لینکوماسین (LIN) برای گروه ماکرولیدها از شرکت (Sigma Chemical Co) با خلوص ۹۹٪ تهیه و رقت‌های کاری 1000 g/ml آنها در حلال متانول تهیه شد و همواره در دمای -20°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و از این استانداردهای اصلی رقت‌های مورد نظر به صورت استاندارد کاری روزانه تهیه می‌شد. سایر ترکیبات از جمله استونیتیک و متانول مصرفی در گرید HPLC بودند.

شناسایی، جداسازی و تعیین مقدار با در این روش از دستگاه (Perkin Elmer, USA) که مجهز به شناساگر Triple quadruple tandem mass spectrometer شرکت (AB Sciex IP3200) در مد مثبت و اسپری ولتاژ 5500 V که MRM بهینه شده برای هر آنالیت در جدول (۱) آورده شده است. از دو ترانزیشن برای هر آنالیت جهت شناسایی و تاییدی هر ترکیب استفاده شده است. از نرم‌افزار رابط Analyst 16.2 software برای بررسی کیفی و کمی نمونه‌ها استفاده شد. دستگاه مجهز به ستون‌های Pentafluorophenyl با مشخصات $2-150 \mu\text{m}$, fitted, mm شرکت (Macherey-Nagel, Germany) با جریان 0.4 ml/min و حجم تزریق $20 \mu\text{l}$ بود. حداقل حد تشخیص دستگاه با کمک تزریق مقادیر مختلف استاندارد و محاسبه سیگنال به نویز پیک‌های بدست آمده، محاسبه شدند. نهایتاً نتایج با کمک نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۶ و آزمون‌های آماری ANOVA, one sample T test and One-Sample Kolmogorov-Smirnov test مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

در سال‌های اخیر صنعت طیور رشد زیادی داشته و همراه با این افزایش استفاده از مکمل‌های دارویی و آنتی‌بیوتیک‌ها نیز بیش از پیش شده است. عمدتاً آنتی‌بیوتیک‌ها برای پیشگیری، کنترل بیماری‌های عفونی-غیرعفونی، کاهش استرس ناشی از تغییرات محیطی، واکسیناسیون، نوک چینی و دیگر تکنیک‌های مدیریتی به عنوان فزاینده رشد و تولید تخم‌مرغ به صورت افزودنی به غذا یا آب اضافه می‌شود (۳) و مشکلات بهداشتی و سلامتی متعددی را برای مصرف کنندگان ایجاد می‌کنند. در این مطالعه فراوانی و کمیت کلاس‌های مختلف آنتی‌بیوتیکی مورد بررسی قرار گرفت. یکی از گروه‌های آنتی‌بیوتیکی پر کاربرد در دامپزشکی فلوروکوئینولون‌ها هستند که شامل (سیپروفلوکساسین، انروفلوکساسین، دانوفلوکساسین و سارافلوکساسین ...) می‌باشد و عمدتاً برای درمان بیماری‌های تنفسی و گوارشی طیور استفاده می‌گردند و مکانیسم آن‌ها اتیله کردن حلقه پیرازین در بافت عضله و بیشتر در کبد قابل شناسایی هستند. در این میان انروفلوکساسین مختص مصارف دامی بوده ولی سیپروفلوکساسین در گروه دامی و انسانی توامان کاربرد دارد و حضور بالای آن در مواد غذایی مصرفی انسان مخاطره‌انگیز می‌باشد و از سال ۲۰۱۰ در اتحادیه اروپا و ۲۰۰۵ در ایالات متحده امریکا استفاده از این دو گروه بعثت ایجاد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در کمپیلوباکتر و سالمونلا بسیار محدود شده است. در مورد نتایج بدست آمده در گروه فلوروکوئینولون‌ها ۵/۵ و ۸/۸ درصد از کل نمونه‌ها (۳ نمونه بافت کبد و ۲ نمونه بافت عضله) و (۵ نمونه بافت کبد و ۳ نمونه بافت عضله) به ترتیب واجد آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین و انروفلوکساسین می‌باشند. حداقل و حداکثر مقادیر این آنتی‌بیوتیک‌ها و میانگین آن‌ها در بافت کبد و عضله به تفکیک در جدول (۱) ذکر شده است. با توجه به MRLs اتحادیه اروپا در مورد

مرتبط وزارت بهداشت تدوین و اجرایی می‌گردد (۴) و تلاش سازمان‌های متولی، محدود کردن این اعداد با بررسی نتایج برنامه‌های پایشی سالانه و مواجهه حداقلی مصرف‌کنندگان با این ترکیبات است (۱). روش‌های مختلفی آزمایشگاهی جهت بررسی این ترکیبات وجود دارد که شامل روش‌هایی بر اساس مهار رشد باکتری (FPT) و روش‌های ایمونولوژیک مانند الیزا (ELISA) می‌باشد که علیرغم راحتی و کم هزینه بودن بسیار زمان بر بوده و ویژگی کمی دارند. ولی امروزه روش کروماتوگرافی مایع بعثت استفاده از تکنیک‌های پیچیده استخراج، تغلیظ و شناسایی بواسطه شناساگرهای مختلف بسیار کارآمد هستند طوری‌که مقادیر بسیار کم، با دقت و ویژگی بالا تفکیک و شناسایی می‌شوند (۱۹). متأسفانه برنامه‌های پایشی ارگان‌های دولتی بعثت برخی محدودیت‌ها و گستردگی محصولات به صورت مدون قابل اجرا نیست و عمده تمرکز این سازمان‌ها بروی محصولات وارداتی-صادراتی و همچنین محصولات سبز یا فاقد آنتی‌بیوتیک می‌باشد. با وجود سوابق موجود در این زمینه تاکنون مطالعه‌ای جامع بر پایه طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌های رایج در صنعت طیور با روش کروماتوگرافی مایع با طیف سنج جرمی Tandem Mass صورت نپذیرفته است تا دید درستی از فراوانی و مقادیر این متابولیت‌ها در گوشت‌های مصرفی بدست آید و نهایتاً با مقایسه نتایج با مطالعات پیشین روند استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها، گروه‌های مورد استفاده، نوع مقاومت‌های پیش رو، نوع بیماری‌های شایع و نحوه کنترل و پیشگیری آن‌ها مورد استنتاج قرار گیرد از اینرو مطالعه حاضر به روی گوشت و جگر مرغ کشتاری کشتارگاه‌های مختلف استان تهران در اوایل سال ۱۳۹۷ با روش تصادفی سیستماتیک تهیه با در بخش باقیمانده‌های دارویی مرکز ملی تشخیص سازمان دامپزشکی کشور مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در طول ماه‌های ابتدایی سال ۱۳۹۷ تعداد ۹۰ نمونه با روش نمونه‌گیری تصادفی سیستماتیک از ۱۳ کشتارگاه طیور موجود در محدوده استان تهران تهیه و نمونه‌ها بعد از جداسازی بافت عضله و جگر در بسته‌بندی‌های مجزا بلافاصله به آزمایشگاه مرکز ملی تشخیص ارسال گردید و تا روز آزمون در برودت -20°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای بررسی نمونه‌ها از روش گرنتلی و همکاران استفاده گردید (۷). به صورت خلاصه سه گرم نمونه خرد و هموزن شده به داخل فالتون تیوب 50 ml میلی‌لیتری منتقل و به آن $200 \mu\text{l}$ EDTA یک دهم مولار اضافه گردید و در ادامه با اضافه کردن 10 g/ml استاندارد داخلی نمونه ۱۵ دقیقه در شرایط آزمایشگاهی قرار گرفت و سپس فالتون تیوب ورتکس شد. مقدار 15 ml متانول ۷۰٪ به مخلوط اضافه و دوباره به مدت ده دقیقه شیک شد. در ادامه لوله آزمایش را به مدت ۵ دقیقه با سرعت 6400 rpm سانتریفیوژ کرده و $100 \mu\text{l}$ از لایه رویی را با $400 \mu\text{l}$ آب دیو نیزه شده رقیق و وارد ویال‌های مخصوص تزریق دستگاه LC-MS/MS می‌کنیم.

در این آزمایش استانداردهای مرجع شامل سیپروفلوکساسین (CIP) و انروفلوکساسین (ENR) در گروه کوئینولون‌ها، فلورفنیکول (FFL)، اریترومایسین (ERY)، نافسیلین (NAF)، تیل مایکوزین (TIL)،

نمونه و چه از نظر تجهیزاتی مطابق آخرین روش‌های بین‌المللی برای تعیین آنتی‌بیوتیک‌ها بوده و قابل پذیرش می‌باشد. با مقایسه فراوانی تولیدی از نظر حضور این آنتی‌بیوتیک نسبت به دهه گذشته روند مطلوبی بخود گرفته است. مطالعات نشان داده اند که مدت ۴ روز withdrawal از مصرف این گروه می‌تواند مقدار این آنتی‌بیوتیک را به کمتر از MRLs برساند با این حال نتایج مطالعه پوگژوا و همکاران نشان می‌دهد که در صورت بهبود روش‌های شناسایی در مقادیر بسیار کمتر حتی با رعایت زمان withdrawal، باز متابولیت‌های این گروه در بافت مرغ حضور دارند و این نشان‌دهنده مصرف گسترده این آنتی‌بیوتیک در صنایع طیور اروپاست.

در گروه ماکرولیدها، آنتی‌بیوتیک‌هایی از قبیل اریترومايسين، نافيسيلين، تایلوزین، تیل مایکوزین، اسپیرومايسين، روکسی ترومایسین و لینکو مایسین قرار دارند که وجه مشترکشان حلقه macrocyclic lactone است و خاصیت باکترئوستات دارند و ریپوزوم ۵۰s سنتز پروتئین را مهار و از رشد باکتری ممانعت می‌کنند. این گروه بیشتر برای درمان عفونت‌های داخل سلولی کارایی دارند و بعلت متابولیزه شدنشان در بافت کبد غلظت آن در این بافت بالاست در ایالت متحده فقط تایلوزین بعنوان ماکرولید دامی مورد تایید می‌باشد. جذب این گروه دارویی بسیار متغییر است زیرا به صورت خوراکی مصرف می‌گردد و فلور ماده غذایی همراه این آنتی‌بیوتیک به صورت قابل توجهی باعث کاهش جذب آن می‌شود و برای مثال در اریترومايسين بهتر است که روزی دو بار و حداقل با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مصرف گردد و البته دوره منع مصرف‌شان متفاوت است طوری‌که برای اریترومايسين، روکسی ترومایسین، تیل مایکوزین حداقل ۳، ۷ و ۹ روز می‌باشد. از بین آنتی‌بیوتیک‌های این گروه فقط لینکومايسين با فراوانی ۵/۵ درصد در کل نمونه‌ها و به تفکیک ۱/۱ درصد در بافت کبد و ۵/۶ درصد در بافت عضله شناسایی شدند. در مطالعه مشابهی در الجزیره توسط مالکی و همکاران در سال ۲۰۱۳ به روی ۱۴۵ نمونه گوشت مرغ با روش غربالگری FPT در مورد ماکرولیدها حدود ۴۴ درصد نمونه‌های مثبت گزارش شدند (۱۰). با توجه به MRLs اتحادیه اروپا در خصوص این آنتی‌بیوتیک که ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در بافت عضله، کبد و کلیه طیور (۸) هیچ یک از نمونه‌ها بالاتر از حد پذیرش اتحادیه اروپا قرار نمی‌گیرند و تفاوت معنی‌داری بین مقدار این آنتی‌بیوتیک و نوع بافت مورد آزمایش مشاهده می‌گردد ($p < 0.05$). همانطور که شکل (۴) مشاهده می‌شود کروماتوگرام مربوط به لینکومايسين در مورد نمونه‌های مورد آزمایش آورده شده است زمان بازداری برای این آنتی‌بیوتیک در محدوده دقیقه ۱۰ قرار دارد که در تعیین موارد مثبت نمونه مورد نظر قرار می‌گیرند. کلرامفنیکل، فلورفنیکول و تیامفنیکول جزو گروهی از آنتی‌بیوتیک‌ها شامل آمفنیکول‌ها هستند. از نظر سرعت تاثیر، فلورفنیکول در این گروه از همه موثرترند و گاهی جایگزین کلرامفنیکل در صنعت طیور استفاده می‌شود و ویژگی‌های فارماکولوژیکی و فارماکوکینتیک این ترکیب باعث رغبت زیاد به استفاده آن شده است زیرا در مقادیر پایین نیز تاثیر زیادی دارند ولی از نظر مراجع بهداشتی حضور و استفاده آن در دام‌ها و مواد غذایی ممنوع می‌باشد و MRLs تعیین شده برای این آنتی‌بیوتیک در

سیپروفلوکساسین و انروفلوکساسین که به ترتیب $100,200 \mu\text{g}/\text{kg}$ و 300 در ماتریکس‌های عضله، کبد و کلیه طیور است (۶)، هیچ یک از نمونه‌ها بالاتر از سطح MRLs قرار نمی‌گیرند و تفاوت معنی‌داری از نظر همبستگی بین نوع ماتریکس و مقادیر بدست آمده، مشاهده نمی‌شود ($p > 0.05$). در کروماتوگرام‌های (۱) و (۲) نتایج نمونه‌های حاوی سیپروفلوکساسین و انروفلوکساسین و زمان بازداری در دقیقه‌های ۸/۲ و ۹ نشان داده شده است. در مطالعه که در سال ۲۰۱۰ در کشور پرتغال بروی ۹۸ نمونه بافت مرغ و بوقلمون توسط پنا و همکاران صورت گرفت نهایتاً ۴۴ درصد نمونه‌های مرغ و ۲۸ درصد نمونه‌های بوقلمون حاوی انروفلوکساسین بودند و به ترتیب میانگین مقدار این آنتی‌بیوتیک ۱۱۴ و ۸۷ میکروگرم بر کیلوگرم بود (۱۴). در سال ۱۳۹۳ طی نمونه‌برداری از مرغ و تخم‌مرغ مصرفی ارتش و بررسی میزان حضور آنتی‌بیوتیک‌ها با روش الیزا به این نتیجه رسیدند که ۱۰۰، ۸۵ و ۸۰ درصد گوشت مرغ مورد بررسی حاوی مقادیری از فلوروکوئینولون، تتراسایکلین و سولفونامیدها هستند که به ترتیب متوسط مقادیر موجود در نمونه‌ها برای این سه دسته آنتی‌بیوتیکی شامل ۱۵، ۷۲ و ۳۶ میکروگرم بر کیلوگرم بود و ۱۱ درصد نمونه‌ها مقادیر بیش از حداکثر مجاز بود (۴). کامکار و همکاران در سال ۱۳۸۶ با اندازه‌گیری باقی مانده انروفلوکساسین در ۲۷۰ نمونه از عضله، کبد و کلیه جمع‌آوری شده از ۹۰ مرغداری در استان تهران طی یک سال گزارش دادند که همه نمونه‌ها دارای باقی مانده آنتی‌بیوتیکی انروفلوکساسین می‌باشند و به ترتیب در ۸، ۱۲ و ۲۲ نمونه از عضله، کبد و کلیه باقیمانده انروفلوکساسین بیش تر از مقدار MRLs می‌باشد (۹). در مطالعه‌ای که توسط پوگژوا و همکاران در سال ۲۰۱۸ بروی ۴۰ نمونه گوشت مرغ جمع‌آوری شده از استونی، لیتوانی، لهستان و فرانسه با روش Ultra-Sensitive Spectrometric صورت گرفت مشخص گردید، ۹۳ درصد نمونه‌ها از نظر حضور انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین مثبت می‌باشند البته شایان ذکر است که رنج آلودگی بین ۳/۳ الی ۱۱۲۶ نانوگرم بر کیلوگرم بود این در صورتی است که حداکثر مجاز قابل پذیرش این گروه ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم می‌باشد که در صورت در نظر گرفتن این موضوع بخش عمده‌ای از نمونه‌ها قابلیت مصرف دارند (۱۵) در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۷ توسط صالحزاده و همکاران بروی طیور کشتاری تهران صورت گرفته بود تمامی ۹۰ نمونه مورد آزمایش حاوی انروفلوکساسین بود ولی فقط ۲۴ درصد نمونه‌ها مقادیر بالاتری از MRLs را شامل می‌شد و متوسط مقادیر شناسایی شده بین ۱۸ تا ۲۶ میکروگرم بر کیلوگرم بود (۱۷). همچنین در سال ۲۰۰۰ مصطفی و همکاران مطالعه‌ای در این خصوص انجام دادند که فراوانی حضور این آنتی‌بیوتیک در بافت عضله و کبد مورد آزمایش به ترتیب ۳۵ و ۵۷ درصد بدست آمد با این توضیح که متوسط مقدار انروفلوکساسین در آن‌ها به ترتیب ۱۱۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم بود (۲). برای گروه فلوروکوئینولون‌ها اخیراً در سال ۲۰۱۵ فراری و همکاران کمترین LOQ که معادل ۲ میکروگرم بر کیلوگرم بود را گزارش کردند و همچنین ژانگ و همکاران در سال ۲۰۱۶ این شاخص را به ۱ و ۰/۵ میکروگرم بر کیلوگرم برای انروفلوکساسین و سیپروفلوکساسین تعیین کردند با توجه به رنج نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر که حداقل ۲/۸۶ و ۲/۷۸ میکروگرم برای دو آنتی‌بیوتیک فوق بود روش بکار رفته چه از نظر آماده‌سازی

cin in poultry production in the eastern province of Saudi Arabia and its possible impact on public health. *International journal of environmental health research* 10: 291-299.

3- Choi, J. and K. Ryu. 1987. Responses of broilers to dietary zinc bacitracin at two different planes of nutrition. *British poultry science* 28: 113-118.

4- Dabagh Moghadam, A., M. Bashashati, S. J. Hosseini-Shokouh and S. R. Hashemi. 2017. Antibiotic residues in chicken meat and table eggs consumed in Islamic Republic of Iran Army. *FoodHygiene* 7: 69-81.

5- Fahim, A., B. Aslam, M. Mohsin, A. Raza, M. N. Faisal and A. Hussain. 2018. Estimation of Florfenicol Residues in Layer Meat and Egg Samples using High Performance Liquid Chromatography. *Pakistan Veterinary Journal* 38.

6- Faten, S. H., M. M. Mousa, A. Mahomud, M. Wafaa and H. A. Fatma. Ciprofloxacin residues in chicken and turkey carcasses.

7- Granelli, K. and C. Branzell. 2007. Rapid multi-residue screening of antibiotics in muscle and kidney by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 586: 289-295.

8- Kim, E., K. Bahn, E. Kang and M. Kim. 2012. Quantitative analysis of lincomycin and narasin in poultry, milk and eggs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food chemistry* 132: 1063-1070.

9- Mahmoudi, R., A. Golchin and A. Farhoodi. 2014. A Review on Antibiotic Residues in Animal-derived Foods in Iran over the Last Thirty Years. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences* 24: 213-222.

10- MALKI, O., N. CHENOUF, S. YAHIAOUI, M. LABIAD and H. GHENIM. 2013. Screening of antibiotics residues in poultry meat by microbiological methods. *Bulletin UASVM* 70: 1.

11- Moon, S. L., J. S. Bedi, J. P. S. Gill and R. S. Aulakh. 2018. Studies on Antibiotic Residues in Chicken and its Public health Significance. *Advances in Bioresearch* 9.

12- Nasim, A., B. Aslam, I. Javed, A. Ali, F. Muhammad, A. Raza and Z. u. D. Sindhu. 2016. Determination of florfenicol residues in broiler meat and liver samples using RP-HPLC with UV-visible detection. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96: 1284-1288.

13- Patel, T., T. Marmulak, R. Gehring, M. Pitesky, M. O. Clapham and L. A. Tell. 2018. Drug residues in poultry meat: A literature review of commonly used veterinary antibacterials and anthelmintics used in poultry. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics* 41: 761-789.

14- Pena, A., L. Silva, A. Pereira, L. Meisel and C. Lino. 2010. Determination of fluoroquinolone residues in poultry muscle in Portugal. *Analytical and bioanalytical chemistry* 397: 2615-2621.

15- Pugajeva, I., J. Avsejenko, E. Judjallo, A. Bērziņš, E. Bartkiene

بافت عضله و کبد طیور به ترتیب ۱۰۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم تعیین شده است. طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۷ توسط آقای امان فهیم و همکاران در پاکستان بروی ۱۵۰ نمونه مرغ و تخم مرغ به روش HPLC صورت گرفته است مشخص گردید که به ترتیب ۸۰ و ۷۲ درصد نمونه‌های مورد آزمایش حاوی فلورفنیکول بود و در بین موارد مثبت نیز ۸۷ و ۵۶ درصد نمونه‌های مثبت مقادیر بالاتر از حداکثر مجاز اتحادیه اروپا را داشتند (۵). البته نتایج مشابهی توسط شن و همکاران، تائو و همکاران و نسیم و همکاران به ترتیب در سال‌های ۲۰۰۹، ۲۰۱۳ و ۲۰۱۶ انجام شده است (۱۲، ۱۸، ۲۰) که با هم همخوانی دارند ولی با توجه به نتایج مطالعه حاضر هیچ مورد مثبتی از این آنتی‌بیوتیک در مرغ‌های کشتاری استان تهران مشاهده نشد نظارت بهداشتی بالا، هزینه زیاد و قوانین ممانعت کننده از تولید و واردات این گروه دارویی زمینه‌ساز عدم استفاده و حضور این ترکیب در مرغداری‌های کشور است.

نتیجه‌گیری کلی

اگرچه میزان آنتی‌بیوتیک‌های مورد اشاره در هیچ یک از نمونه‌ها مورد آزمون بیشتر از حد مجاز نبود و همچنین در گروه‌های مورد بررسی هیچ یک از نمونه‌های دو یا چند آنالیت به صورت همزمان نداشتند با این حال ۲۴ درصد نمونه‌های گوشت و ۱۶ درصد نمونه‌های جگر از نظر حضور آنتی‌بیوتیک‌ها مثبت گزارش شدند. وجود همزمان دو یا چند آنتی‌بیوتیک به صورت همزمان با توجه به اثرات هم‌افزایی، امکان ایجاد تداخلات دارویی، افزایش بیش از پیش مقاومت دارویی و افزایش خاصیت آلرژی‌زایی و مسمومیت‌زایی برای انسان می‌تواند هشدار دهنده و نگران کننده باشد که مستلزم بررسی‌های گسترده بروی گروه‌های بیشتری از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. نتایج بدست آمده نشان‌دهنده استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در محدوده توصیه شده، کوتاه مدت، تاثیر مثبت آموزش‌های دامپزشکی مرغداران در این زمینه، رعایت توصیه‌های زمان قطع دارو و نظارت دقیق و موثر مسئولین بهداشتی مرغداری‌ها و سازمان دامپزشکی را می‌رساند. خوشبختانه برنامه‌های نظارتی برای پایش حضور باقیمانده‌های دارویی در فرآورده‌های دامی توسط ادارات دامپزشکی به عنوان متولی اولیه امور بهداشتی انجام می‌شود. نتایج مطالعه حاضر برای مسئولین ایمنی و نظارتی به منظور ایجاد سیاست‌های جدید برای محدود کردن خطرات بالقوه در محصولات و فرآورده‌های دامی حالت گزارش‌دهی دارد.

تشکر و قدردانی

با تشکر از بخش باقیمانده‌های دارویی مرکز ملی تشخیص که در انجام آزمایشات کمک شایانی کردند.

منابع مورد استفاده

1- Al-Ghamdi, M., Z. Al-Mustafa, F. El-Morsy, A. Al-Faky, I. Haider and H. Essa. 2000. Residues of tetracycline compounds in poultry products in the eastern province of Saudi Arabia. *Public health* 114: 300-304.

2- Al-Mustafa, Z. H. and M. S. Al-Ghamdi. 2000. Use of norfloxacin

and V. Bartkevics. 2018. High occurrence rates of enrofloxacin and ciprofloxacin residues in retail poultry meat revealed by an ultra-sensitive mass-spectrometric method, and antimicrobial resistance to fluoroquinolones in *Campylobacter* spp. *Food Additives & Contaminants: Part A*: 1-9.

16- Reig, M. and F. Toldrá. 2008. Veterinary drug residues in meat: Concerns and rapid methods for detection. *Meat science* 78: 60-67.

17- Salehzadeh, F., A. Salehzadeh, N. Rokni, R. Madani and F. Golchinefar. 2007. Enrofloxacin residue in chicken tissues from Tehran slaughterhouses in Iran. *PJN* 6: 409-413.

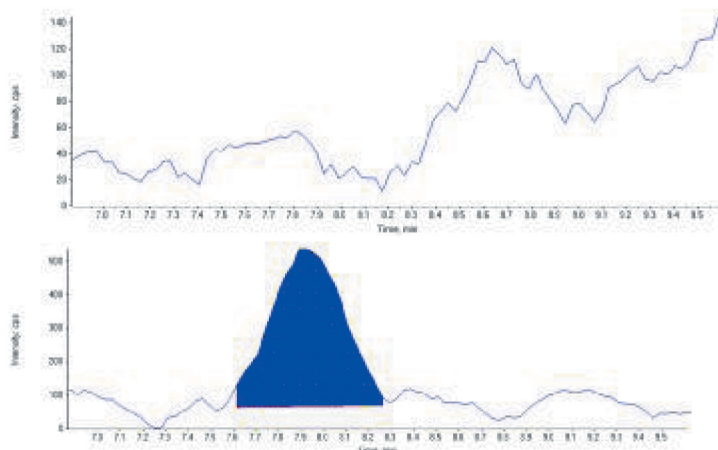
18- Shen, J., X. Xia, H. Jiang, C. Li, J. Li, X. Li and S. Ding. 2009. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol, florfenicol, and florfenicol amine in poultry and porcine muscle and liver by gas

chromatography-negative chemical ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 877: 1523-1529.

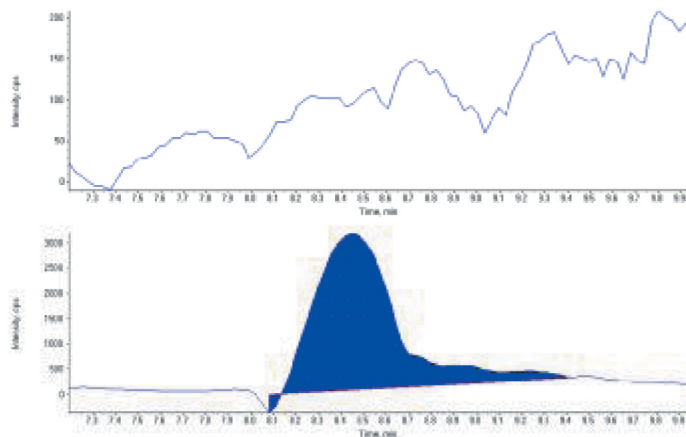
19- Tanner, A. 2000. Antimicrobial drug use in poultry. Antimicrobial therapy in veterinary medicine Iowa State University Press, Ames, IA: 637-655.

20- Tao, X., H. Jiang, X. Yu, J. Zhu, X. Wang, Z. Wang, L. Niu, X. Wu and J. Shen. 2013. Simultaneous determination of chloramphenicol, florfenicol and florfenicol amine in ham sausage with a hybrid chemiluminescent immunoassay. *Food Additives & Contaminants: Part A* 30: 804-812.

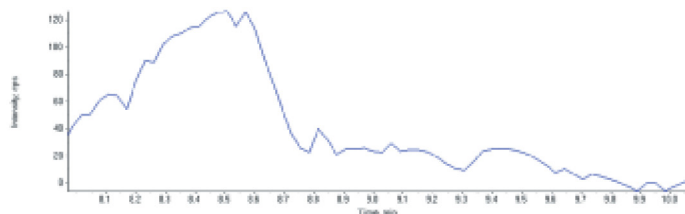
21- Wong, E. 2018. Differential gene expression in lung tissue of wooden breast syndrome affected and unaffected commercial broiler chickens. University of Delaware



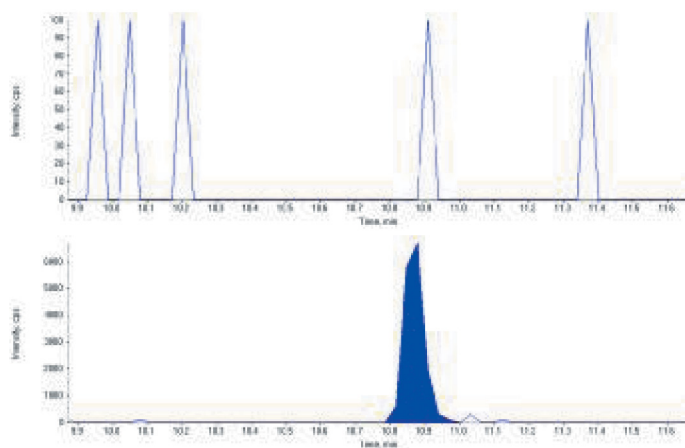
شکل ۱- کروماتوگرام دستگاه LCMS/MS برای آنالیت سیپروفلوکساسین در نمونه منفی و نمونه مثبت عضله شماره AV6



شکل ۲- کروماتوگرام دستگاه LCMS/MS برای آنالیت اندروفلوکسازین در نمونه منفی و نمونه مثبت عضله شماره K2



شکل ۳ - کروماتوگرام دستگاه LCMS/MS برای آنالیت فلور فنیکول در نمونه های مورد آزمایش



شکل ۴- کروماتوگرام دستگاه LCMS/MS برای آنالیت لینکوماسین در نمونه منفی و نمونه مثبت عضله شماره M6

جدول ۱- مقایسه میانگین باقیمانده آنتی بیوتیک های مورد بررسی در نمونه بافت عضله و جگر

آنتی بیوتیک	حداکثر میزان مجاز (MRL) (µg/Kg)	بافت عضله			بافت جگر			میانگین باقیمانده آنتی بیوتیک ± انحراف معیار
		تعداد نمونه های مثبت و موارد بالاتر از MRL	محدوده آنتی بیوتیک ها (µgr/Kg)	میانگین باقیمانده آنتی بیوتیک ± انحراف معیار	تعداد نمونه های مثبت و موارد بالاتر از MRL	محدوده آنتی بیوتیک ها (µgr/Kg)	میانگین باقیمانده آنتی بیوتیک ± انحراف معیار	
Ciprofloxacin (CIP) سپیروفلوکساسین	(M, L) ۱۰۰	MRL > ۲	۱۵/۸-۲-۸۶	۲ ± ۹/۳۳	MRL > ۳	۱۲/۹-۲/۹۴	۰/۰۳ ± ۷/۵	
Enrofloxacin (ENR) نروفلوکساسین	(M, L) ۱۰۰	MRL > ۳	۳۷/۲-۲/۷۸	۱/۲ ± ۱۹/۷	MRL > ۵	۱۹/۹-۲/۴۷	۱/۳۱ ± ۷/۴۳	
Florfenicol (FEL) فلورفنیکول	(M, L) ۱۰۰	LOD >	-	-	LOD >	-	-	
Erythromycin (ERY) اریترومايسين	(M, L) ۱۰۰	LOD >	-	-	LOD >	-	-	
Nafcillin (NAF) نافسیلین	(M, L) ۱۰۰	LOD >	-	-	LOD >	-	-	
Tilmicosin (TIL) تیل میکوزین	(M, L) ۱۰۰	LOD >	-	-	LOD >	-	-	
Tiamulin (TIM) تیامولین	(M, L) ۱۰۰	LOD >	-	-	LOD >	-	-	
Lincomycin (LIN) لینکومایسین	(M, L) ۱۰۰	MRL > ۲	۷۴/۴-۳/۸/۷	۱/۲۴ ± ۵۶/۵	MRL > ۳	۳/۲۵	۱/۸ ± ۱/۱	

M بافت عضله، L بافت جگر
LOD > کمتر از حداقل تشخیص دستگاه

