

بررسی باقیماندهای آنتیبیوتیک و سولفونامیدی در طیور با روش چهارپلیت (F.P.T.)

واثر حرارت بر آنها

● عبدالله حسین خان ناظر، استاد گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی شیراز

● حسن کهبا، دانشآموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز

تاریخ دریافت: ماه ۱۳۷۸

show any residual antibiotics were experimentally contaminated with streptomycin, neomycin, oxytetracycline and furazolidone. Boiling heat treatment was administered on those specimens which were positive for residual of antibiotics as well as 30 specimens from experimentally contaminated carcasses. There was no significant effect of boiling heat treatment on the residual of antibiotics of the specimens collected from slaughter-house, but there was a significant reduction in residual of antibiotics of the carcasses being contaminated by the streptomycin and furazolidone.

مقدمه

علیرغم اثرات مفید آنتیبیوتیکها، اثرات سوء آنها ممکن است باعث ایجاد عوارض زیبانباری در دامها و انسان گردد. وجود باقیمانده آنتیبیوتیک در لاشه دامهای ذبح شده و انتقال آن به بدن مصرف کنندگان یکی از این اثرات زیبانبخش می‌باشد. مصرف محصولات دامی آلودگی به آنتیبیوتیک در بیشتر مواقع عوارضی شبیه به مصرف مستقیم آنتیبیوتیک در انسان ایجاد می‌کند. از جمله این عوارض می‌توان واکنشهای ازدیاد حساسیت یا آلرژی نظریه کهیر، خارش، بثورات جلدی، تهوع، استفراغ، شوک آنافیلاکسی (۶، ۱۶ و ۱۷)، تغییر در فلور میکروبی دستگاه گوارش و ایجاد زمینه مناسب جهت رشد و فعالیت میکروبیهای بیماریزا (۱۸)، اختلالات متابولیکی و کم خونی (۲ و ۱۸)، مسمومیت (۱۸)، اختلالاتی در جنبین انسان از جمله اختلالات شنوایی، دندانی و یرقانی (۸) و ایجاد مقاومت قابل

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 43 PP:

62-65

Detection of antibiotic residues in the carcasses of poultry by four plate test method and the boiling effect on them

By: Khan-Nazer A.H., Professor of vet-faculty of Shiraz University

Kahba H., Graduated from Shiraz University

A study was conducted to evaluate the residues of antibacterial substances on 250 poultry carcasses. A total of 750 specimens were collected from kidneys, livers and breast muscles of the carcasses. The diffuse four plate test method with the pH of 6, 7.2 and 8 employed for each specimen. *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* which were sensitive to the inhibitory action of the antibacterial drugs were used. It was found that 31(12.40%) of 250 carcasses had the residual of antibiotics at one or more sites. 11.20% of the breast muscles, 6.80% of the kidneys and 8.00% of the livers were shown to be contaminated with antibacterial substances. For detection of sulphonamide residues the plates containing trimethoprim were used. Out of 250 samples tested the contamination rate of antibiotics in breast muscles, kidneys and livers were 1.80, 0.20 and 0.80 percent respectively. 30 carcasses which didn't

چکیده

در این تحقیق در مجموع ۲۵۰ لاشه طیور از کشتارگاههای طیور اطراف شیراز که قابل مصرف تشخیص داده شده بودند جهت بررسی میزان آلودگی آنتیبیوتیک مورد بررسی قرار گرفتند. از کلیه، کبد و عضله سینه لاشه‌های مذکور ۷۵ نمونه تهیه گردید و جهت تشخیص باقیمانده آنتیبیوتیک مورد آزمایش قرار گرفتند و در مجموع ۴۸۶ نمونه آزمایش انجام پذیرفت. نمونه‌هایی که از نظر آنتیبیوتیک مشبت تشخیص داده می‌شد مجدداً پس از حرارت دادن مورد آزمایش قرار می‌گرفتند و با هم مقایسه می‌گردید و در مجموع ۵۱۳ آزمایش در این زمینه صورت گرفت. این تحقیق با روش چهارپلیت (F.P.T) که یک روش کیفی جهت تشخیص آنتیبیوتیک در گوشت است و با استفاده از دو باکتری *Staphylococcus* و *Bacillus subtilis* و *aureus* و محیط کشت آگار مولر هینتون با H₂O و آلودگی آنتیبیوتیک داشتند. آزمایش بقایای سولفونامیدی نیز روی نمونه‌های این ۲۵۰ لاشه صورت گرفت، کلیه‌ها، کبد و عضله سینه به ترتیب ۰/۲۰، ۰/۸۰ و ۱/۸۰ درصد آلودگی تشخیص داده شدند. نمونه‌های دارای بقایای آنتیبیوتیک و نمونه‌هایی تحریبی تحت حرارت جوش قرار گرفته و مجدداً مورد آزمایش قرار گرفتند که در مورد بقایای آنتیبیوتیک موجود هیچ کاهش معنی داری مشاهده نگردید ولی نمونه‌هایی که به طور تجربی استرپتومایسین و فورازولیدون به آنها اضافه شده بود، کاهش معنی دار نشان دادند. تحقیق حاضر مبنی این موضوع است که کارآئی روش F.P.T در تشخیص باقیمانده آنتیبیوتیکها در گوشت بیش از دو چهارگزین نمودن این روش به جای روشهای معمول، در کلیه آزمایشگاههای کنترل کیفی و بهداشتی مواد غذائی پیشنهاد می‌گردد.

استریپتومایسین، نئومایسین، اکسیتراسایکلین و فورازولیدون مورد آزمایش قرار گرفته و نتایج بررسی شد.

در این تحقیق از روش Mc Nemar chi-square test جهت تجزیه و تحلیل نتایج به دست آمده بهره گرفته شد و تغییرات در سطح $P < 0.05$ مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

از تعداد ۲۵۰ لاشه ۳۱ عدد (۱۲/۴٪) دارای بقایای آنتی‌بیوتیک بودند و از ۳۰۰ نمونه مورد آزمایش مربوط به این تعداد لاشه قبل از حرارت دادن ۱۵۳ مورد (۵/۱٪) مثبت ارزیابی گردید که ۲۱ مورد (۴/۰٪) با به کارگیری *Bacillus subtilis* و سیله *Staphylococcus aureus* مشخص گردید.

از ۳۱ لاشه دارای بقایای آنتی‌بیوتیک ۲ مورد (۶/۴٪) در کلیه، یک مورد (۳/۲٪) در کبد، ۶ مورد (۱۹/۳٪) در عضله، ۳ مورد (۹/۶٪) در عضله - کلیه، ۶ مورد (۱۹/۳٪) در کبد - عضله و ۱۳ مورد (۴۳/۹٪) در کلیه - کبد - عضله مشاهده گردید (جدول شماره ۲).

در مجموع از تعداد ۲۵۰ نمونه کلیه ۱۷ مورد (۶/۸٪)، از ۲۵۰ نمونه کبد ۲۰ مورد (۸/۰٪) و از ۲۵۰ نمونه عضله ۲۸ مورد (۱۱/۲٪) دارای بقایای آنتی‌بیوتیک بوده‌اند و همانطور که مشاهده می‌گردد به ترتیب عضله بیشترین تعداد را دارا بوده و بعد کبد و کلیه قرار می‌گیرند (جدول شماره ۳).

از ۲۵۰ آزمایشی که برای هر یک از اندامهای کلیه، کبد و عضله سینه باکتری *Bacillus subtilis* انجام شد، به ترتیب صفر (۰/۰٪)، ۲ (۰/۰٪) و ۴ (۱۶/۰٪).

جدول شماره ۱- حداقل غلظت آنتی‌بیوتیک تشخیص داده شده به سیله آزمایش حساسیت (F.P.T.) بر حسب m/m و $\mu g/ml$ مقایسه آن با حداقل مقدار مجاز آنتی‌بیوتیک در گوشت (۱۲).

حداقل مقدار مجاز آنتی‌بیوتیک در گوشت m/m	۷	۸	$7/2$	۶	pH محيط کشت
S.A.	B.S.	B.S.	B.S.	نوع باکتری	
۱	۱۶	۸	۸	۲۲	استریپتومایسین
۰/۵	۸	۴	۴	۸	نئومایسین
۰/۰۱	۲۲	۶۴	۶۴	۱۶	کلارامفنیکل
۰/۲۵	۴	۴	۱	۱	اکسی‌تراسایکلین
۹	۷۵۶	۳۲	۸	۲	فلومکوئین
۰/۴۰	۴	۸	۸	۱۶	تاپلوزین
۰/۰۰۵	۱۶	۴	۴	۴	فورازولیدون
۰/۱					سولفالانامیدها
۰/۰۵					تری‌متوبریم

جدول شماره ۲- نتایج لاشه‌های مثبت (آلوده به آنتی‌بیوتیک) بر حسب اندامهای مختلف

درصد	تعداد	لاشه‌های مثبت (آلوده به آنتی‌بیوتیک)	آندامهای آزمایش شده
۱۰۰/۰۰	۳۱		۳۱ مورد مثبت بر حسب
۶/۴۵	۲	کلیه	
۳/۲۲	۱	کبد	
۱۹/۳۵	۶	عضله	
۹/۶۷	۳	کلیه و عضله	
۱۹/۳۵	۶	کبد و عضله	
۴۱/۹۶	۱۳	کلیه، کبد و عضله	

روش کار

الف- انجام تست حساسیت آنتی‌بیوتیک

بر روی باکتریهای مورد استفاده

به منظور تعیین میزان حساسیت دو باکتری *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* به هفت نوع آنتی‌بیوتیک رایج در درمان طیور و تعیین کمترین رقت دارو که مانع از رشد باکتری می‌گردد از رقت‌های متواالی^۳ کلرامفنیکل، نئومایسین، اکسی‌تراسایکلین، فلومکوئین، استریپتومایسین، تایلوزین و فورازولیدون و محیط کشت آگار (مولر-هینتون) با pH های ۷/۲، ۶ و ۸ استفاده گردید.

توضیح اینکه pH محيط‌های کشت قبل از استریل شدن با استفاده از pH متر مجهز به دماسنگ، با اسیدکلیدریک و یا هیدروکسید سدیم رقیق تنظیم می‌گردد.

حداقل غلظت آنتی‌بیوتیک تشخیص داده شده بر حسب ug/ml و مقایسه آن با حداقل مقدار مجاز آنتی‌بیوتیک در گوشت (۱۶) در جدول شماره ۱ آورده شده است (۱۶).

جهت تشخیص اندک سولفونامیدها از محیط حاوی تری‌متوبریم با pH=۷/۲ استفاده گردید. با توجه به اینکه، نوع باکتری حساس مورد استفاده هر یک به غلظت خاصی از تری‌متوبریم جواب مناسب را می‌دادند لذا جهت استاندارد نمودن، غلظت مورد نیاز تری‌متوبریم روی باکتریهای موردنظر آزمایش گردید که برای *Staphylococcus aureus* میکروگرم در میلی لیتر و برای *Bacillus subtilis* $0/8$ میکروگرم در میلی لیتر به دست آمد.

نمونه‌های ۳۰ لاشه که قادر بقایای آنتی‌بیوتیک تشخیص داده شده بودند به طور تجربی مجدداً با اضافه کردن رقت‌های خاصی از چهار آنتی‌بیوتیک

انتقال در باکتریهای بیماریزا و غیر بیماریزا موجود در دستگاه گوارش انسان را نام برد (۱۶ و ۱۷). به علت کارائی بالائی که آنتی‌بیوتیکها در درمان و پیشگیری بیماریها دارند متأسفانه انواع مختلف آنتی‌بیوتیکها بدون در نظر گرفتن عوارض جانبی و دوره دفع دارویی علاوه بر دامپزشکان توسط تکنیسنهای دامپزشکی و حتی خود دامداران مورد استفاده قرار می‌گیرند. علیرغم اثرات مفیدی که آنتی‌بیوتیکها در درمان بیماریها و افزایش وزن بدن دامها در آنها نیز ممکن است باعث ایجاد عوارض زیبانیاری چه در دامها و چه در انسان شود. وجود باقیمانده آنتی‌بیوتیک در لشه طیور و انتقال آن به بدن مصرف کنندگان یکی از اثرات مهم زیانبخش آنها می‌باشد، که این خود می‌تواند باعث ایجاد مقاومت‌های آنتی‌بیوتیک، از دیاد حساسیت و غیره در انسان شود. گروهی از باکتریها بدون تماس دارو ذاتاً نسبت به بعضی آنتی‌بیوتیکها مقاومند ولی اکثر باکتریها مقاومت خود را پس از مجاورت با آنتی‌بیوتیکها کسب می‌نمایند و گروه دیگری نیز مقاومت را از طریق دارود کسب می‌کنند. به مقاومت نوع دوم مقاومت اکتسابی و نوع سوم مقاومت متقاطع می‌گویند.

زمانی که در یک فرد آنتی‌بیوتیک به مقدار کم و در طولانی مدت از طریق مواد غذائی مصرف شود باعث ایجاد مقاومت در باکتریهای بیماریزا یا غیر بیماریزا می‌گردد. همچنین در افرادی که مقداری کم آنتی‌بیوتیک هم از دیاد حساسیت دارند به مصرف مواد غذائی حاوی آنتی‌بیوتیک احتمال بروز از دیاد حساسیت افزایش می‌یابد. از آنجاکه مصرف آنتی‌بیوتیکها در کشورهای جهان سوم بخصوص ایران بی‌رویه می‌باشد و بد دوره دفع آنتی‌بیوتیک از بدن دامها توجهی نمی‌شود، این مسئله حادتر می‌باشد. برای برسی این مطلب که چند درصد از طیور ذبح شده در کشتارگاه‌های طیور آلوده به آنتی‌بیوتیک هستند به نظر رسید که تحقیق نیاز است جامعی در این مورد انجام پذیرد و از این نظر نیز از روش (F.P.T.) استفاده شد که ثابت گردیده است از حساسیت بالائی جهت تشخیص وجود آنتی‌بیوتیک در مواد غذائی برخوردار است. از طرفی چون گوشت مرغ (چه به طور مستقیم و چه محصولاتی که از گوشت مرغ تهیه می‌شود) معمولاً حرارت جوش را دریافت می‌دارد بررسی تأثیر حرارت روی بقایای آنتی‌بیوتیک لاشه ضروری بنظر رسانید زیرا اگر حرارت روی بقایای آنتی‌بیوتیک لاشه اثر کاهش دهنده داشته باشد به عنوان یک روش کاهش دادن عوارض جانبی آنتی‌بیوتیکها برای مصرف کننده مطرح می‌باشد.

در این رابطه از روش (F.P.T.) که از جمله روشهای میکروبیولوژیک است که در سالهای اخیر توسعه بعضی از محققین مورد استفاده قرار گرفته و حساسیت آن جهت تشخیص آنتی‌بیوتیکهای مختلف ذخیره شده در مواد غذائی مورد تأثیرگذاری قرار گرفته است (۱۵ و ۸، ۴).

در این روش نمونه‌های مواد غذائی اخیر پلیت حاوی محیط کشت با pH های ۶، ۷/۲ و ۸ برده می‌شوند *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* استفاده می‌گردد (۴ و ۱۵).

(ug/ml) که در جدول شماره ۱ آمده است، ملاحظه می‌گردد که مشاهده هاله مهاری فقط زمانی امکان‌پذیر است که بقاوی آنتی بیوتیک بیش از حد مجاز باشد زیرا که حساسیت این آزمایش طوری است که بقاوی کمتری یا در حد مقدار مجاز را نمی‌تواند تشخیص دهد (۷). از طرفی براساس این تحقیق بقاوی آنتی بیوتیک در pH=۷/۲ با استفاده از باکتری *Bacillus subtilis* بهتر تشخیص داده شد (جدول شماره ۳). بنابراین تغییر pH محیط کشت و نوع باکتری بیشترین تأثیر را روی آشکارسازی اثرات ممانعت کننده از رشد آنتی بیوتیکها دارا می‌باشد (۱۰).

جهت تشخیص باقیمانده آنتی بیوتیکها در مواد غذایی از روش‌های مختلف کمی و کیفی استفاده می‌شود که هر کدام توانائی، معایب و محضات خاص خود را داراست. از متدالورترین روش‌های تشخیص کیفی باقیمانده آنتی بیوتیکها در مواد غذایی آزمایشات میکروبولوژی می‌باشد (۷ و ۱۱). همه این آزمایشات بر یک اصل استوار شده‌اند و آن تشخیص بر روی محیط کشت است که بر اثر جلگوگری از رشد باکتری حساس به وسیله آنتی بیوتیک‌های مختلف ایجاد می‌شود ولی اختلافاتی در نوع محیط کشت و pH آن، نوع باکتری مورد استفاده در آزمایش و افزودن ترکیباتی به عنوان سینرژیست به وجود دارد (۵، ۶، ۱۰ و ۱۱).

براساس نتایج به دست آمده بیشترین آلدگی آنتی بیوتیک به ترتیب در عضله سینه، کبد و کلیه بوده است (جدول شماره ۲) و در مورد سولفونامیدها نیز بیشترین آلدگی به ترتیب در عضله سینه، کبد و کلیه به دست آمد (جدول شماره ۴). در صورتی که کلیه‌ها به دلیل اینکه اندام دفعی بدن می‌باشند به نظر می‌رسد باید بیشترین موارد مثبت را دارا باشند و در تحقیقاتی که Bugyei و همکارش (۱۹۹۴) برای تشخیص بقاوی اکسی تتراسایکلین در بافت‌های جوجه‌ها با استفاده از Delvotest P. انجام دادند، دریافتند که اکسی تتراسایکلین در بافت کلیه تجمع می‌یابد و بهترین اندام برای تشخیص بقاوی، کلیه می‌باشد. به طوریکه اگر کلیه در آزمایش منفی بود عضلات نیز عملأً منفی ارزیابی می‌شد (۴). شاید دلیل این کاهش نگهداری نمونه‌ها در سردخانه بخچال از زمان نمونه برداری تا زمان آزمایش بوده است. براساس تحقیقات Nouws (۱۹۷۶) غلاظت پنی سیلین جی، آمپی سیلین، آموکسی سیلین و سفالوسپورین در نمونه‌های کلیه نگهداری شده در ۴ درجه سانتیگراد سریعاً کاهش یافته ولی میزان آنها در عضلات همان دامها تا چهار روز بعد تا حد قابل ملاحظه‌ای ثابت مانده بوده است. در تحقیق مذکور مشخص گردید که پایداری آنتی بیوتیکها در عضلات بیش از کلیه‌ها می‌باشد (۱۲).

مرحله بررسی تأثیر حرارت روی بقاوی آنتی بیوتیک با حرارت دادن نمونه‌های مثبت صورت گرفت و عمدها کاهش در قطر هاله بعد از حرارت دادن دیده می‌شد ولی با بررسیهای آماری در سطح معنی دار آنتی بیوتیک مشاهده نگردید.

قطر هاله‌های مشاهده شده در نمونه‌های دارای بقاوی کوچک بود و با توجه به اینکه عدمتاً پس از

است و این تأثیر بالقوی‌تر شدن pH بیشتر می‌گردد. کلیه، کبد و عضله با باکتری *Bacillus subtilis* در pH های ۶/۲ و ۸ با افزودن رقت خاصی از نثومایسین واکسی تتراسایکلین هیچ کاهش معنی داری را نشان نداد و در مورد باکتری *Staphylococcus aureus* pH=۸ هیچ کاهش معنی داری در اندامهای مربوطه مشاهده نگردید. بنابراین در این موارد حرارت در کاهش بقاوی آنتی بیوتیکی مؤثر نبوده است.

فورازولیدون نیز مانند استرپتومایسین کاهش معنی دار نشان داد که با باکتری *Bacillus subtilis* بیشترین کاهش به ترتیب مربوط به کلیه، کبد و عضله pH=۸ در *Staphylococcus aureus* بود. همچنان که با استفاده از آنتی بیوتیکی می‌باشد که با باکتری *Bacillus subtilis* بیشترین کاهش به ترتیب مربوط به کلیه، کبد و عضله pH=۸ در *Staphylococcus aureus* نیز بود.

مورد مثبت ارزیابی گردید و در مورد باکتری *Staphylococcus aureus* نیز به ترتیب ۱ (٪۰/۰)، ۲ (٪۰/۰) و ۵ (٪۰/۰) عدد دارای بقاوی سولفونامیدی بودند (جدول ۴).

آزمایشی که به طور تجربی با اضافه کردن آنتی بیوتیک به شیرآب‌های ۳۰ لشه منفی اختباری صورت گرفت همگی جواب مثبت داشت که از این تعداد ۲۷ مورد مربوط به *Bacillus subtilis* و ۹۰ مورد مربوط به *Staphylococcus aureus* بود.

نمونه‌هایی که مثبت تشخیص داده شدند شیرابهای آنها در لوله آزمایش تحت حرارت جوش به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند و برای مرحله دوم آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. در این مرحله در مجموع ۵۱۳ آزمایش صورت گرفت که ۱۵۳ مورد آن مربوط به بقاوی آنتی بیوتیک ثبت شده در لشه‌ها بود و ۳۶۰ مورد مربوط به نمونه‌هایی بود که به طور تجربی آنتی بیوتیک بد شیرآب‌ها اضافه شده بود.

کلیه، کلب و عضله با باکتری *Bacillus subtilis* در pH های ۶، ۷/۲ و ۸ هیچ کاهش معنی داری در سطح بقاوی آنتی بیوتیک را نشان نداد (P>۰/۰۵).

کلیه، کبد و عضله با باکتری *Staphylococcus aureus* در pH=۸ نیز کاهش معنی داری در سطح بقاوی آنتی بیوتیک را نشان نداد. بنابراین حرارت در این مورد در کاهش بقاوی آنتی بیوتیک تأثیر نداشته است.

کلیه، کلب و عضله با باکتری *Bacillus subtilis* در pH=۸ کاهش معنی دار مشاهده گردید که بیشترین کاهش به ترتیب مربوط به کلیه و عضله بود. بنابراین در این موارد حرارت در کاهش آنتی بیوتیک مؤثر بوده

بحث

از مجموع ۲۵۰ لشه که به طور مستقیم مورد آزمایش قرار گرفتند، ۳۱ عدد (٪۱۲/۴۰) دارای بقاوی آنتی بیوتیک بودند که کلیه‌ها ۱۷ مورد (٪۱۶/۸) کبد (٪۱۱/۲۰) و عضله سینه ۲۸ مورد (٪۱۱/۲۰) آلدگی را نشان دادند. براساس استانداردهای بین‌المللی و نتایج به دست آمده از آزمایش حساسیت دو باکتری *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* در مقایسه با حداکثر مقدار مجاز آنتی بیوتیک در لشه بر حسب

جدول شماره ۳- نتایج حاصل از انجام آزمایش F.P.T. در اندامهای مختلف با توجه به نوع باکتری و pH مختلف محیط کشت

				pH محیط کشت	
S.A.	B.S.	B.S.	B.S.	نوع باکتری	اندام
		تعداد و درصد موارد مثبت		تعداد نمونه	
۵ (٪۰/۰)	۷ (٪۱/۸۰)	۱۰ (٪۴/۰۰)	۸ (٪۳/۲۰)	۲۵۰	کلیه
۷ (٪۲/۸۰)	۱۰ (٪۴/۰۰)	۱۲ (٪۴/۸۰)	۱۰ (٪۴/۰۰)	۲۵۰	کبد
۲۰ (٪۸/۰۰)	۲۱ (٪۸/۴۰)	۲۲ (٪۸/۸۰)	۲۱ (٪۸/۴۰)	۲۵۰	عضله
۳۲ (٪۴/۲۶)	۳۸ (٪۵/۰۶)	۴۴ (٪۵/۸۶)	۳۹ (٪۵/۲۰)	۷۵۰	جمع

جدول شماره ۴- نتایج حاصل از باقیماندهای سولفونامیدی در اندامهای مختلف با استفاده از *Bacillus subtilis* و در محیط *Staphylococcus aureus* کشت حاوی تری متپریم.

میانگین و درصد جمع	pH محیط کشت		
	نوع باکتری		اندام
	S.A.	B.S.	
۱ (٪۰/۲۰)	۱ (٪۰/۴۰)	۰ (٪۰/۰۰)	۲۵۰
۲ (٪۰/۸۰)	۲ (٪۰/۸۰)	۲ (٪۰/۸۰)	کبد
۹ (٪۱/۸۰)	۵ (٪۲/۰۰)	۴ (٪۱/۶۰)	۲۵۰
	۸ (٪۱/۰۶)	۶ (٪۰/۸۰)	۷۵۰
			جمع میانگین و درصد

- 7- Gracy J.F. and Collins D.S., 1992. Meat Hygiene. 9th Ed. ELBS with Bailler tindall. pp: 38-9, 168-70, 209-12.
- 8- Hannu K., Olli S., Desmo M.P. and Jorma H., 1982. Comparison of different agar diffusion methods for the detection of antimicrobial residues in slaughter animals. *Acta Vet. Scand.* 23; 407-415.
- 9- Hubber W.G., Carlson M.B. and Lepper M.H., 1969. Penicillin and antimicrobial residues in domestic animal at slaughter, *JAVMA*, 154 (12): 1590-95.
- 10- Korkeala H., Sorvettula O., Maki-petays, O. and Hirn J., 1982. Comparision of different agar diffusion methods for the detection of antimicrobial residues in slaughter animal, *Acta Vet. Scand.*, (23): 407-15.
- 11- Mineo H., Kaneko S., Koizumi I., Asida K. and Akahori F., 1992. An analytical study of antibacterial residues in meat: The simultaneous determination of 23 antibiotics and 13 drugs using gas chromatography, *Vet. Hum. Toxicol.*, 34(5): 393-97.
- 12- Nouws G.F.M. and Ziv G., 1976. The effect of storage at 4 °C on antibiotic residue in kidney and meat tissues of dairy cows, *Vet. Rec.*, (6): 173-75.
- 13- Reynolds J.E.F. and Parfitt K., 1989. Martindale: The extra pharmacopoeia, 29th Ed., London the pharmaceutical press, PP: 94-106, 232-33, 266, 302-6, 664-65.
- 14- Reynolds J.E.F. and Prasad A.B., 1982. Martindale: The extra pharmacopoeia, 28th Ed., London the pharmaceutical press. PP: 976-80, 1136-37, 1188-89, 1212-13, 1473-76, 1711, 1767-68.
- 15- Smither R., Lott A.F., Dalziel R.W. and Ostler D.C., 1980. Antibiotic residues in meat in the united kingdom; An assessment of specific tests to detect and identify antibiotic residues, *J. Hyg.*, 85(3): 539-69.
- 16- Stefan F. and Ake R., 1979. Modified method for the detection of antibiotic residues in slaughter animals. *Acta vet. Scand.* 20: 477-491.
- 17- Van. H. and Gainer J.H., 1978. Public concerns relative to the use of subtherapeutic levels of antibiotics in animal feeds. *J. Animal sci.* 46(5): 1413-1424.
- 18- Walton J.R., 1981. Problems of medicinal residues in animal products. University of liverpool. Hare signh W. Rec. Advances in animal nutrition. PP: 145-151.

- ### توصیه‌ها
- ۱- جلوگیری از فروش و مصرف آنتی بیوتیکها در دامها بدون نظرات دقیق کارشناسان.
 - ۲- نمونه گیری تصادفی از دامهای گلهای ارسال شده به کشاورزی جهت بررسی آنودگی آنتی بیوتیکی آنها به خصوص نمونه گیری از گلهای طیور.
 - ۳- ایجاد آزمایشگاه‌های تشخیص دامپیشکی و انجام آزمایش آنتی بیوگرام قبل از تجویز آنتی بیوتیکها به دامها.
 - ۴- کنترل مداوم مواد غذائی مختلف با منشأ دامی تولید داخل کشور و وارداتی از نظر داشتن باقیمانده آنتی بیوتیک.
 - ۵- جایگزین نمودن روش F.P.T. به جای روش‌های معمول آزمایشگاهی در آزمایشگاه‌های کنترل بهداشتی مواد غذائی جهت تشخیص باقیمانده آنتی بیوتیکی در مواد غذائی.
 - ۶- بالابردن سطح آگاهی ادامهاران و مرغداران در خصوص مضرات استفاده بی‌رویه از آنتی بیوتیکها و همچنین خطرات باقیمانده آنتی بیوتیکها در مواد غذائی.

تشکر و قدردانی
هزینه مربوط به این پژوهه (۵۵۱-۹۳۷-۷۵) توسط شورای محترم تحقیقات دانشگاه شیراز تأمین شده است که بدین‌وسیله قدردانی می‌گردد.

پاورقی

- 1- Four plate test
- 2- Minimal inhibitory concentration
- 3- Serial dilution

منابع مورد استفاده

- ۱- حسین خان ناظر، عبداله، شکرخواش، شهرام و قانعی، کریم، ۱۳۷۴. استفاده از روش F.P.T. جهت تعیین باقیمانده آنتی بیوتیک در لشه گوسفند. مجله پژوهش‌وسازندگی، شماره ۳۸، ص ۱۸۰-۱۸۴.
- 2- Brady M.S., White N. and Katz S.E., 1993. Resistance development potential of antibiotic\antimicrobial residues levels designated as "safe levels" *J. food protec.* 56(3): 229-33.
- 3- Barler B.M. and Prescott T., 1973. Antimicrobial agents in medicine, first ed., PP: 9-10, 25-26.
- 4- Bugyei K., Black W., McEwen S. and Meek A.H., 1994. Detecting oxytetracycline residues in chicken tissues using the delvotest p system, *J. food protec.*, 57(2): 141-45.
- 5- Fabiansson S. and Rutergard A., 1979. A modified method for the detection of antibiotic residues in slaughter animal, *Acta vet. Scand.*, (20): 477-91.
- 6- Gouding R., 1976. An improved bacteriological method for the detection of sulfanamide residues in food. *Acta Vet. Scand.* 17: 458-464.

حرارت دادن دیگر هالهای تشکیل نمی‌گردد، برای بررسی دقیقتر، نمونه‌های ۳۰ لاشه منفی مجدداً با اضافه کردن رقتها خاصی از آنتی بیوتیک بررسی گردیدند. هالهای تشکیل شده در این موارد بزرگتر بودند و مقابله آنها با زمان بعد از حرارت دادن راحتتر صورت می‌گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده و بررسیهای آماری در سطح معنی دار $P < 0.05$ و اکسی تراپیاکلین هیچ کاهش معنی داری را برابر حرارت نشان ندادند. در این مطالعه همراه با بررسیهای آماری مشاهده شد که دو آنتی بیوتیک استرپتومایسین و فورازولیدون بر اثر حرارت کاهش فعالیت را نشان دادند. استرپتومایسین بیشترین کاهش را در pH های قلیانی داشته است که این شاید به دلیل فعالیت بالاتر این آنتی بیوتیک در این pHها باشد که تأثیر حرارت در کاهش آن مشهودتر می‌گردد (۵). از نظر میزان کاهش در اندازهای مختلف کبد بیشترین کاهش را نشان داد و کلیه و عضله در رده بعدی قرار می‌گیرند. کاهش در کبد و کلیه قابل ملاحظه می‌باشد و این ممکن است به دلیل تشدید تخریب این آنتی بیوتیک براثر حرارت در این اندازها باشد یا شاید به دلیل اتصال آنتی بیوتیک به پروتئینها و مواد منعقد شده باشد که عمل آنتی بیوتیک را از شیرابه خارج می‌نمایند. استرپتومایسین آنتی بیوتیکی نسبتاً حساس به حرارت می‌باشد به طوریکه در $pH = 6/5$ و دمای $95^{\circ}C$ درجه سانتیگراد در مدت ۴ ساعت نیمی از فعالیت آن کاهش می‌یابد (۱۳).

فورازولیدون بیشترین کاهش را در pH های نشان داد و بیشترین کاهش را به ترتیب کلیه، کبد و عضله دارا بود و در باکتری *Staphylococcus aureus* بیشترین کاهش مربوط به کبد و در رده بعدی کلیه و عضله قرار می‌گیرند. در اینجا نیز کاهش در کلیه و کبد قابل ملاحظه بود که همان دلایل می‌تواند مطرح باشد. فورازولیدون نیز به حرارت نسبتاً حساس می‌باشد و در درجه حرارت‌های بالا به سرعت تخریب می‌شود (۱۳).

سولفونامیدها ترکیباتی مقاوم به حرارت می‌باشند به طوری که ترکیباتی مانند سولفادیازین و سولفادیمیدین حرارت جوش را به راحتی تحمل می‌نمایند و محلولهای آنها به سیله آتوکلاو استریل نمی‌گردد. در این تحقیق نیز نتایج به دست آمده کاهشی را به طور معنی دار در بقایای سولفونامیدی نشان نداد (۱۴ و ۱۳).

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق مشخص می‌گردد که عضلات بیشترین خطر را برای مصرف کنندگان دارند زیرا برخلاف آنچه به طور معمول تصور می‌گردد آنودگی عضلات بیشتر از کلیه و کبد می‌باشد و در این تحقیق هم به اثبات رسید و از طرفی براثر بخت بستن یا حرارت جوش امکان کاهش میزان آنتی بیوتیک و غیرفعال شدن آن در کلیه و کبد بیشتر از عضلات می‌باشد. بنابراین باید دقت کامل برای پیشگیری از بقایای آنتی بیوتیک در لاشدها به ویژه طیور که به طور بی‌رویه آنتی بیوتیک را به طرق مختلف دریافت می‌دارند، وجود داشته باشد. در این زمینه توجه به نکاتی ضروری می‌باشد: