

مطالعه بقایای آنتی بیوتیک‌ها در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان

(*Oncorhynchus mykiss*) بازاری در تبریز

افشین جوادی*؛ حمید میرزایی و فرزاد میررضوی

javadi@iaut.ac.ir

گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز صندوق پستی: ۵۳۳-۵۱۵۷۹۴۴

تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: تیر ۱۳۸۸

چکیده

با توجه به کاربرد وسیع آنتی‌بیوتیک‌ها در دامها و عدم مراعات دوره منع مصرف آنها، کنترل کیفی مواد غذایی از نظر عاری بودن از بقایای این گروه از داروها امری ضروری است. مسلم است وجود بقایای آنتی‌بیوتیک در مواد غذایی و انتقال آن به مصرف‌کنندگان سبب بروز اثراتی نظیر مقاومت باکتریایی، واکنش‌های آلرژیک، مسمومیت، سرطان و بهم زدن میکروفلور طبیعی روده می‌شود. بنابراین هدف از این مطالعه تعیین آلودگی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی به بقایای آنتی‌بیوتیک است. روش چهار پلیت یکی از روشهای میکروبیولوژیک برای تایید حضور بقایای آنتی‌بیوتیک در مواد غذایی است که بر پایه تشکیل هاله عدم رشد در اطراف نمونه در چهار محیط کشت دارای pH و باکتری‌های متفاوت استوار است. به این منظور تعداد ۴۵ نمونه از پوست و ۴۵ نمونه از گوشت ماهی قزل‌آلای رنگین کمان از مراکز فروش ماهی در شهر تبریز تهیه شد. پس از انجام مراحل مختلف آزمون چهار پلیت از مجموع ۱۸۰ نمونه پوست روی چهار پلیت، ۱۳ مورد (۷/۲۲ درصد) و از مجموع ۱۸۰ نمونه گوشت روی چهار پلیت، ۱۸ مورد (۱۰ درصد) آلوده به بقایای آنتی‌بیوتیک تشخیص داده شدند. نتایج نشان داد که فراوانی آلودگی دو بافت تحت مطالعه اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). بیشترین مقدار بقایای آنتی‌بیوتیک مربوط به گروه‌های پنی‌سیلین و ماکرولیدها تعیین شد ($P < 0.005$).

کلمات کلیدی: پوست، مسمومیت، قزل‌آلای رنگین کمان، آزمون چهار پلیت

مقدمه

دارویی ناشی از آنها به مصرف‌کنندگان و همچنین ورود داروها یا متابولیت آنها به محیط‌های آبی خواهد شد (عبدی، ۱۳۸۵). بعلت جوان بودن صنعت آبی‌پروری کشور و کمبود نیروهای متخصص لازم در زمینه بهداشت و بیماری‌های آبزیان، تجویز داروها و مواد شیمیایی درمانی بصورت بی‌رویه انجام شده و بدون توجه به بقایای دارویی، اثرات آلاینده‌گی آنها در طبیعت و عوارض سوء این مواد بر روی انسان مصرف می‌شوند. لذا کنترل کیفی فرآورده‌های آبزیان از نظر عاری بودن از آنتی‌بیوتیک‌ها امری ضروری است (عبدی، ۱۳۸۵).

رشد فزاینده و کنترل نشده جوامع بشری و محدود بودن ذخایر غذایی دامی سبب توسعه روز افزون و شتاب‌زده آبی‌پروری در کشور شده است. افزایش پرورش متراکم آبزیان به همراه معرفی گونه‌های جدید به استخرهای پرورشی و منابع آبی با افزایش بیماری همراه بوده است (عبدی، ۱۳۸۵). سلامت آبزیان بطور مستمر توسط عواملی از قبیل ویروس‌ها، باکتری‌ها، انگل‌ها و قارچ‌ها به مخاطره می‌افتد. این عوامل به تنهایی و بصورت اولیه یا پس از عملیات تکثیر و بطور ثانویه سبب ایجاد بیماری در آبزیان می‌شوند. استفاده از شیمی درمانی آبزیان منجر به ورود داروهایی نظیر آنتی‌بیوتیک‌ها و مقاومت

استریل قرار داده شده و پس از ثبت کد بر روی آنها، تا زمان انجام آزمایش‌های مربوطه در فریزر با دمای -70°C درجه سانتیگراد (NIW Brunswick ساخت انگلستان) منجمد شدند (حسین خان ناظر، ۱۳۷۸).

باکتری‌های مورد استفاده در روش چهار پلیت شامل *Bacillus subtilis* با کد PTCC 1365 و *Micrococcus luteus* با کد PTCC 1169 بودند که از مرکز کلکسیون قارچها و باکترهای صنعتی و عفونی ایران وابسته به سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی تهیه شدند. این باکتری‌ها برای استفاده در محیط آگار مغذی کشت داده شده بودند. پس از تکثیر باکتری‌ها، سوسپانسیونی از آنها با غلظت 0.5×10^8 مک فارلند تهیه شد (Berna, 2008).

محیط کشت مورد استفاده در روش چهار پلیت، مولر هینتون آگار ساخت شرکت Quelab انگلستان بود. pH محیط تهیه شده با استفاده از pH متر دیجیتالی (Horiba F12، ساخت ژاپن) بوسیله اسید استیک و هیدروکسید سدیم معادل 6.6 و 7.2 و 8 تنظیم گردید. سپس این محیط کشت در دمای 121°C درجه سانتیگراد به مدت 15 دقیقه در اتوکلاو (زعیم مگا 25 لیتری، ساخت ایران) استریل شد (شرکت بازرگانی مرک، ۱۳۷۱).

پس از آماده کردن پلیت‌ها، طبق دستورالعمل روش چهار پلیت، باکتری *Bacillus subtilis* در سه pH 6.6 ، 7.2 و 8 و باکتری *Micrococcus luteus* در $\text{pH} = 8$ از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده با غلظت 0.5×10^8 مک فارلند با استفاده از سواب پنبه‌ای و رعایت شرایط استریل در سطح پلیت‌ها کشت داده شدند (Botsoglou, 2001).

برای اطمینان از حساسیت باکتری‌های مورد استفاده در انجام آزمایش، تعداد 9 عدد دیسک آنتی‌بیوگرام از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بعنوان نمونه‌های شاهد مثبت در هر یک از پلیت‌های دارای pH‌های مختلف قرار داده شدند.

نمونه‌های منجمد شده با استفاده از تیغ شماره 7 وسایل مخصوص بیوپسی به شکل استوانه‌ای بریده شده و سپس با استفاده از اسکالپل قطعاتی از نمونه مربوطه به شکل دیسک‌هایی با ضخامت 2 میلی‌متر برش داده شدند. از پوست و گوشت هر نمونه منجمد که مربوط به یک عدد ماهی بود بطور جداگانه چهار نمونه به شکل دیسک با ضخامت 2 میلی‌متر تهیه شد. نمونه‌های بدست آمده در چهار pH فوق تحت آزمایش قرار گرفتند. پس از آن بر روی هر کدام از پلیت‌ها برجسی زده شد که روی آن نام باکتری مورد آزمایش، pH محیط، نام بافت مورد

سرعت متابولیزه شدن داروها در ماهیان حدود یک دهم مقدار آن در پستانداران است. همچنین در ماهیان، دمای مطلوب برای انجام بسیاری از این واکنش‌ها کمتر از پستانداران بوده و معمولاً نزدیک به دمای محیط زندگی ماهیان است. بطور کلی بسیاری از فرآیندهای متابولیک در حیوانات خونسرد به ازای هر 10 درجه سانتیگراد کاهش دما، دو برابر کاهش می‌یابد (عبدی، ۱۳۸۵).

مشکلاتی که برای سلامتی انسان در اثر دریافت مقادیر آنتی‌بیوتیک در دراز مدت ایجاد می‌شود شامل واکنش‌های آلرژیک در افراد حساس، مسمومیت، خواص سرطان‌زایی برخی آنتی‌بیوتیک‌ها، تغییر میکروفلور دستگاه گوارش و تغییرات محیطی است (Dipeolu, 2002).

از روش‌های تشخیص بقایای آنتی‌بیوتیک‌ها روش‌های میکروبیولوژیک، ایمنوشیمیایی و روش سنجش کمی بقایای دارویی با دستگاه‌های کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا، کروماتوگرافی گاز، کروماتوگرافی نازک لایه و طیف‌سنجی جرمی است که در میان این روش‌ها، روش‌های میکروبیولوژیک از متداول‌ترین و کاربردی‌ترین روش‌های تعیین بقایای آنتی‌بیوتیک در مواد غذایی هستند؛ زیرا این روش‌ها از نظر هزینه و زمان به صرفه‌تر می‌باشند (Mariël, 2008).

روش میکروبیولوژیک F.P.T (Four Plate Test) که این مطالعه براساس آن انجام شده است، از دهه پیش توسط برخی محققین استفاده شده و حساسیت آن جهت تایید بقایای آنتی‌بیوتیک مورد تایید قرار گرفته است و امروزه بعنوان روش استاندارد تایید بقایای آنتی‌بیوتیک در اتحادیه اروپا کاربرد دارد (حسین خان ناظر، ۱۳۷۸).

هدف از این پژوهش بررسی وضعیت آلودگی ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان پرورشی به بقایای آنتی‌بیوتیک در بازار ماهی در تبریز با روش F.P.T و همچنین معرفی بافت‌های آلوده به بقایای آنتی‌بیوتیک در ماهی است.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری از 45 عدد ماهی با وزن متوسط 250 گرم بصورت تصادفی در مقطع زمانی بهار و تابستان 1387 از ماهیهای قزل‌آلای رنگین کمان عرضه شده در مراکز معتبر پخش آبزیان در تبریز، طی هفت بار مراجعه صورت گرفت. پوست و گوشت ناحیه ساقه دمی در هر عدد ماهی به میزان 20 گرم برداشت شد. نمونه‌ها پس از ثبت مشخصات، در ظروف پلی‌اتیلنی درپوش‌دار

آمینوگلیکوزیدها و ماکرولیدها را شناسایی کرد (Koenen-Okerman, 2007; Dierick, 1995). این توانایی تشخیص براساس نوع محیط کشت و باکتری استفاده شده در آن می‌باشد که خلاصه آن در جدول ۱ آورده شده است.

نتایج بدست آمده از انجام آزمایش توسط نرم افزار SPSS و آزمون مربع Chi مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. هاله عدم رشد ناشی از وجود بقایای آنتی‌بیوتیک در بافتهای پوست و گوشت ماهی قزل‌آلا در شکل ۱ نشان داده شده است.

نظر و شماره نمونه ثبت شد. در ادامه، پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور (Memmert, ساخت آلمان) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پلیت‌های حاوی باکتری *Micrococcus luteus* به علت رشد بطئی این باکتری به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شده و سپس نتایج بدست آمده با استفاده از کولیس دیجیتال (Diamond, ساخت چین) قرائت شد (افشار, ۱۳۷۹).

به کمک آزمون چهار پلیت می‌توان، پنج گروه مختلف از آنتی‌بیوتیک‌ها شامل بتالاکتام‌ها، تتراسیکلین‌ها، سولفونامیدها،

جدول ۱: محیط کشت، باکتریها و آنتی‌بیوتیکهای احتمالی قابل شناسایی در آزمون چهار پلیت (Chui-shiang, 2000).

آنتی‌بیوتیکهای قابل شناسایی	باکتری‌های مورد آزمایش	pH محیط کشت آگار
گروه پنی‌سیلین‌ها	<i>Bacillus subtilis</i>	۶/۰
گروه تتراسیکلین‌ها	<i>Bacillus subtilis</i>	۷/۲
داروهای سولفونامیدی	<i>Bacillus subtilis</i>	۸/۰
گروه آمینوگلیکوزیدها	<i>Bacillus subtilis</i>	۸/۰
گروه پنی‌سیلین‌ها	<i>Micrococcus luteus</i>	۸/۰
گروه ماکرولیدها		



شکل ۱: نمونه‌ای از پلیت‌های حاوی نمونه‌های آزمایش و هاله‌های عدم رشد

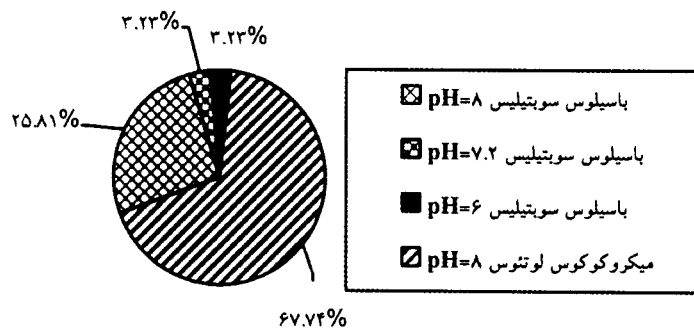
نتایج

از سوی دیگر با در نظر گرفتن باکتری‌های مورد استفاده در روش FPT، از مجموع ۳۶۰ نمونه مورد آزمایش (با احتساب ۴۵ نمونه برای هر کدام از چهار pH در گوشت و پوست) ۳۱ نمونه مثبت ارزیابی شد که ۱۰ مورد با استفاده از *Bacillus subtilis* و ۲۱ مورد با بکارگیری *Micrococcus luteus* مشخص شد. آنالیز آماری نتایج نشان داد که بیشترین میزان آلودگی بقایای آنتی‌بیوتیک در $\text{pH} = 8$ است که مطابق جدول ۱، دلیل بر رسوب گروه آنتی‌بیوتیک ماکرولیدها و پنی‌سیلین‌ها می‌باشد ($P < 0.005$). ولی مقایسه داده‌های مربوط به دو بافت تحت مطالعه با آزمون مربع χ^2 اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($P > 0.05$). عبارتی دیگر پوست و گوشت از نظر فراوانی آلودگی به بقایای آنتی‌بیوتیک در یک حد تعیین شد. در حالت کلی با در نظر گرفتن ۳۱ نمونه مثبت برای پوست و گوشت، درصد فراوانی آلودگی به گروه‌های آنتی‌بیوتیک برحسب pH‌های تحت مطالعه، نمودار ۱ ترسیم شد.

با توجه به مطالعات صورت گرفته، هاله عدم رشد در آزمون چهار پلیت فقط زمانی مشاهده می‌شود که بقایای آنتی‌بیوتیک بیش از حد مجاز باشد. زیرا حساسیت این تست طوری است که قادر به شناسایی بقایای آنتی‌بیوتیکی کمتر یا در حد مقدار مجاز نمی‌باشد (حسین خان ناظر، ۱۳۷۴ و ۱۳۷۸؛ Botsoglou, 2001). لذا ایجاد هاله در اطراف نمونه، در هر یک از pH‌ها بعنوان نتیجه مثبت، یعنی آلودگی نمونه به بقایای آنتی‌بیوتیکی در نظر گرفته شد. تعداد و درصد موارد مثبت به تفکیک بافت و pH در جدول ۲ خلاصه شده است. از آنجایی که از بافتهای هر عدد ماهی، چهار نمونه برای بررسی چهار گروه آنتی‌بیوتیک تحت مطالعه روش FPT تهیه شده بود لذا از مجموع ۱۸۰ نمونه پوست (با احتساب ۴۵ نمونه برای هر کدام از چهار pH)، ۱۳ مورد (۷/۲۲ درصد) و از مجموع ۱۸۰ نمونه گوشت (با احتساب ۴۵ نمونه برای هر کدام از چهار pH)، ۱۸ مورد (۱۰ درصد) آلوده به بقایای آنتی‌بیوتیک تشخیص داده شدند.

جدول ۲: نتایج حاصل از آزمایش نمونه‌ها به تفکیک بافت، باکتری استفاده شده و pH محیط کشت (تعداد و درصد)

جمع	<i>M. luteus</i>		<i>Bacillus subtilis</i>		باکتری تست	
	۸	۸	۷/۲	۶	pH محیط کشت	
	تعداد و درصد موارد مثبت				تعداد نمونه	بافت
۱۳ (۱۸۰) (۷/۲ درصد)	۸ (۱۷/۷)	۴ (۸/۸)	۱ (۲/۲)	۰ (۰)	۴۵	پوست
۱۸ (۱۸۰) (۱۰ درصد)	۱۳ (۲۸/۸)	۴ (۸/۸)	۰ (۰)	۱ (۲/۲)	۴۵	گوشت
۳۱ (۳۶۰) (۸/۶ درصد)	۲۱ (۲۳/۲۵)	۸ (۸/۸)	۱ (۱/۱)	۱ (۱/۱)	۹۰	جمع



نمودار ۱: فراوانی آلودگی کلی به گروه‌های آنتی‌بیوتیک برحسب pH‌های تحت مطالعه

بحث

روش غربالگری اولین قدم در بررسی نمونه‌ها برای اثبات وجود یا عدم وجود بقایای دارویی است. این روش بایستی ارزان بوده، قابلیت انجام با تعداد بالای نمونه‌ها و حداقل نتایج مثبت کاذب و منفی کاذب را داشته باشد. همچنین تمام نمونه‌های حاوی بقایای آنتی‌بیوتیک را در سطح بالای حداکثر مقدار مجاز باقیمانده دارویی (MRL) Maximum residue limit مثبت نشان دهد (Mariël, 2008). حداکثر مقدار مجاز باقیمانده دارویی براساس نوع و اندازه باقیمانده، به گونه‌ای در نظر گرفته شده که هیچگونه مخاطره‌ای از دیدگاه سم‌شناسی برای سلامت انسان نداشته باشد (افشار، ۱۳۷۹).

امروزه هنوز آزمونهای میکروبیولوژیک بیشترین استفاده را در غربالگری نمونه‌های غذایی در سطح کلان دارند، زیرا این آزمونها به آسانی قابل اجرا بوده و نسبت به هزینه‌های مصرف شده، توانایی شناسایی چندین نوع باقیمانده آنتی‌بیوتیک با ساختارهای شیمیایی متفاوت را دارند. این عمل موجب کاهش تعداد نمونه‌های ارسالی برای آزمایش‌های تکمیلی می‌شود. ولی باید توجه داشت که این آزمونها باید به نحوی تنظیم شوند که حداقل منفی کاذب را داشته باشند (Botsoglou, 2001).

با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه، مشخص شد که استفاده از باکتری *M. luteus* در pH معادل ۸ بیشترین نتایج را به همراه داشته است. بنابراین تغییر pH محیط کشت و نوع باکتری بیشترین تاثیر را بر روی آشکارسازی اثرات مهاری آنتی‌بیوتیک‌ها دارا می‌باشد (حسین خان ناظر، ۱۳۷۴).

در مطالعات قبلی محققین در مورد تاثیر محیط کشت بر شناسایی ترکیباتی نظیر سفتیوفورها، سولفونامیدها، استرپتومایسین و برخی ماکرولیدها مشخص شد که قرار دادن نمونه گوشت روی محیط کشت بصورتیکه در روش چهار پلیتی انجام می‌گیرد، هیچ تضمینی برای شناسایی این آنتی‌بیوتیک‌ها نمی‌باشد (Botsoglou, 1998a,b; Okerman, 2001). در مطالعه دیگری بر روی آزمون چهار پلیتی، دو پلیت از این سیستم جهت غربالگری سولفامتازین و استرپتومایسین مناسب تشخیص داده نشد. پلیت سوم تتراسایکلین‌ها را در مقادیر بالای MRL شناسایی کرد ولی پلیت چهارم به بتالاکتام‌ها و برخی ماکرولیدها حساس بود (Gaudin, 2004; Botsoglou, 2001). بنابراین می‌توان از این روش برای جستجوی بتا لاکتام‌ها و ماکرولیدها نظیر اریترومایسین که آنتی‌بیوتیک رایج برای درمان آبزیان در منطقه تحت مطالعه تحقیق حاضر می‌باشد، استفاده نمود.

روشهای میکروبیولوژیک در بررسی بقایای سولفونامیدی در مواد غذایی بسیار ارزشمند هستند. تعیین وجود یا عدم وجود بقایای سولفونامیدی در مقادیر پایین‌تر از MRL کاملاً وابسته به حساسیت آزمون می‌باشد. محققین زیادی حساسیت روش چهار پلیتی را در مورد بقایای سولفونامیدی بررسی کرده‌اند و در این میان روش چهار پلیت موفق به تشخیص بقایای سولفادیمیدین گردیده است؛ ولی حساسیت آن در مقادیر بالای MRL بوده است (Currie, 1998; Hurd, 2004).

در مطالعه دیگری جهت مقایسه روشهای مختلف شناسایی بقایای پنی‌سیلین در مواد غذایی، در میان روشهای میکروبیولوژیک تنها نتایج روش چهار پلیت با HPLC یکسان و مطابقت داشت (Jevinova et al., 2003).

طبق گزارش حسین خان ناظر در سالهای ۱۳۷۴ و ۱۳۷۸، حساسیت آزمون چهار پلیتی، ۲/۵ برابر سایر آزمونهای میکروبی برآورد شده است. بنابراین روش مورد استفاده در تحقیق حاضر با در نظر گرفتن مستندات فوق تایید شده و نتایج آن قابل تامل می‌باشد.

Janosova و همکاران در سال ۲۰۰۷، تحقیقاتی پیرامون مقایسه حساسیت سه روش جستجوی آنتی‌بیوتیک سولفانامید با استفاده از روشهای Premi test, Screening Test for Antibiotic Residues (STAR) و FPT انجام دادند. نتایج این تحقیق نشان داد که حساسیت روش Premi test در مقایسه با دو روش دیگر در حد بالایی است.

در تحقیق دیگر که توسط Berna و همکاران در سالهای ۲۰۰۷ و ۲۰۰۸، سرروی تشخیص باقیمانده آنتی‌بیوتیکی سولفادiazین بر روی ماهی قزل‌آلا با استفاده از سه روش ELISA, Premi test و FPT انجام شد، نشان داد حساسیت FPT در مقایسه با دو روش Premi test و ELISA، برای تشخیص بقایای سولفادiazین در حد پایینی است.

تحقیقی با عنوان میزان حساسیت روشهای جستجوی آنتی‌بیوتیکی بر روی چهار خانواده پنی‌سیلین، سفالوسپورین، تتراسایکلین و کینولون در بافت ماهی توسط Okerman و همکاران در سال ۲۰۰۷ انجام شد. در این تحقیق نشان داده شد که تنها پلیت حاوی باکتری *B. subtilis* در pH معادل ۶ در روش FPT قادر به تشخیص باقیمانده آنتی‌بیوتیکی تمامی گروه‌هاست ولی فقط دو آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین G و تتراسایکلین را بطور قطعی بالاتر از حد مجاز نشان می‌دهد و

- حسین خان ناظر، ع. و کهبا، ج.، ۱۳۷۸. بررسی باقیمانده‌های آنتی‌بیوتیک و سولفونامیدی در طیور با روش چهار پلیت و اثر حرارت بر آنها، مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۴۳، صفحات ۶۵-۶۲.
- شرکت بازرگانی مرک، ۱۳۷۱. راهنمای میکروبی‌شناسی عملی. انتشارات شرکت بازرگانی مرک، تهران. صفحات ۱ تا ۱۵.
- عبسدی، ک.، ۱۳۸۵. اطلاعات و کاربرد داروهای آبی‌زیان. انتشارات پرتو واقعه، تهران. صفحات ۱ تا ۳۰.
- Berna K., Carsten M. and Volker H., 2007. Evaluation of the EEC four-plate test and Premi test for screening antibiotic residues in trout. International Journal of Food Science and Technology, 42:625-628.
- Berna K. and Sukran C., 2008. Screening for antibiotic residues in the trout by the four-plate test. Premi test and ELISA test. European Food Research and Technology, 226:795-799.
- Botsoglou N.A. and Fletouris D.J., 2001. Drug residue in foods, Marcel Dekker, New York, USA. pp.965-985.
- Chui-shiang C., Tung-fa T. and Hui-ping L., 2000. Evaluating the applicability of the modified four-plate test on the determination of antimicrobial agent residues in pork, Journal of Food and Drug Analysis, 8(1):25-34.
- Currie D., Lynas L., Kennedy D.G. and McCaughey W.J., 1998. Evaluation of a modified EC Four Plate Method to detect antimicrobial drugs, Food Additication Contamin, 15(6):651-660.
- Dipeolu M.A. and Alonge D.O., 2002. Residues of streptomycin antibiotic in meat sold for human consumption in some state of SW Nigeria, Archivos de Zootecnia, 51:477-480.
- Gaudin V., Maris P., Fuselier R., Ribouchon J.L., Cadieu N. and Rault A., 2004. Validation of a

باقی آنتی‌بیوتیک‌ها را زیر حد مجاز تشخیص می‌دهد. طبق نتایج بدست آمده مشخص شد پلیت حاوی باکتری *M. luteus* برای تشخیص قطعی باقیمانده آنتی‌بیوتیک بالاتر از حد مجاز از خانواده بتالاکتام و آنتی‌بیوتیک‌های سفتیوفور و سفکوئینوم از خانواده سفالوسپورین بکار می‌رود. وی خاطر نشان کرد که پلیت حاوی باکتری اش‌ریشیاکلی جهت تشخیص قطعی باقیمانده آنتی‌بیوتیکی خانواده کینولون‌ها کاربرد دارد. مقادیر بالاتر از حد مجاز خانواده تتراسایکلین‌ها بطور کامل توسط پلیت حاوی باکتری *B. subtilis* تشخیص داده شد. این تحقیق نشان داد که تست‌های نفوذ در ژل قادر به شناسایی بقایای آنتی‌بیوتیکی تمامی آنتی‌بیوتیک‌های موجود در خانواده سولفانامید نیستند و بهتر است در مورد این خانواده از روش‌های دیگر مانند کروماتوگرافی نازک لایه یا روش ELISA استفاده کرد.

با توجه به نتایج مطالعات گذشته در دنیا و مقایسه آن با مطالعه اخیر می‌توان نتیجه گرفت پلیت حاوی باکتری *M. luteus* برای تشخیص قطعی باقیمانده آنتی‌بیوتیکی خانواده بتالاکتام و ماکرولیدها بکار می‌رود و مقادیر بالای MRL این خانواده را نشان می‌دهد. بنابراین عمده‌ترین آلودگی بافتهای خوراکی به آنتی‌بیوتیک در ماهی تحت مطالعه براساس آزمون چهار پلیت شامل گروه پنی‌سیلین‌ها و ماکرولیدها است. که در حال حاضر اریترومایسین از گروه ماکرولیدها از آنتی‌بیوتیک‌های رایج در بازار مصرف برای درمان بیماریهای ماهی در منطقه می‌باشند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاریهای صمیمانه گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز تقدیر و تشکر می‌نمایم.

منابع

- افشار، ک.، ۱۳۷۹. روش نمونه‌برداری برای کنترل باقیمانده داروهای دامی در گوشت قرمز و گوشت ماکیان و فرآورده‌های آن. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، استاندارد شماره ۵۶۵۹، صفحات ۲۴-۱.
- حسین خان ناظر، ع.، شکر فروش، ش. و قانعی، ک.، ۱۳۷۴. استفاده از روش FPT جهت تعیین باقیمانده آنتی‌بیوتیک در لاشه گوسفند، مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۲۸، صفحات ۱۸۴-۱۸۰.

- microbiological method: The STAR protocol, a five-plate test, for the screening of antibiotic residue in milk, *Food Additication Contamin*, 21(8): 422-423.
- Hurd H.S., Doores S. and Hayes D., 2004.** Public health consequences of macrolide use in food animals: A deterministic risk assessment, *Journal Food Protection*, 67(5):980-992.
- Janosova J., Kozavova I. and Kavalikova M., 2007.** A comparison of the sensitivity of antiblotic residue screening methods the four-plate test (FPT), the screening test for antiblotic residues (STAR), and the premi test to sulphonamide standards. *Sijencanj*, 9:37-43.
- Jevinova P., Dudrikova E. and Sokol J., 2003.** Determination of oxytetracycline residues in milk with the use of HPLC method and two microbial inhibition assay. *Bulltine of Vetinary Institute, Pulawy*. 47:211-216.
- Koenen-Dierick K., Okerman L., de Zutter L., Degroodt J.M., Van Hoof J. and Srebrnik S., 1995.** A one-plate microbiological screening test for antibiotic residue testing in kidney tissue and meat; an alternative to the EEC four-plate method? *Food Additication Contamin*, 12(1):77-82.
- Mariël G. Pikkemaat, Sabrina O., Jan S., Michel R. and Harry J.V., 2008.** A new microbial screening method for the detection of antimicrobial residues in slaughter animals: The Nouws antibiotic test (NAT-screening), *Food Control*, 19(8):781-789.
- Okerman L., Dewasch K. and Van Hoof J., 2007.** An inhibition test intended to detect and to differentiate between penicillins, cephalosporins, tetracyclines and quinolones, for use in muscle tissue from different animal species. *Journal of AOAC International*, 124:56-62.
- Okerman L., De Wasch K. and Van Hoof J., 1998a.** Detection of antibiotics in muscle tissue with microbiological inhibition tests: Effects of the matrix, *Analyst*. 123(11):2361-2365.
- Okerman L., Van Hoof J. and Debeuckelaere W., 1998b.** Evaluation of the European four-plate test as a tool for screening antibiotic residues in meat samples from retail outlets. *Journal of AOAC International*, 81(1):51-56.

**Study on antibiotic residues in Rainbow trout
(*Oncorhynchus mykiss*) in Tabriz market**

Javadi A. ⁽¹⁾*; Mirzai H. ⁽²⁾ and Mirrazavi F. ⁽³⁾

javadi@iaut.ac.ir

Food Hygiene Dept., Veterinary Science Faculty, Islamic Azad University, Tabriz Branch,
P.O.Box: 5157944-533 Tabriz, Iran

Received: July 2009

Accepted: April 2010

Keywords: Skin, Toxicity, Rainbow trout, Four-Plate Test

Abstract

Vast application of the antibiotic drugs in animals without due attention to withdrawal times necessitates quality control of food stuff in terms of antibiotics' residues. Antibiotic residues in food stuff cause bacterial resistance, allergic reactions, toxicity, carcinogenic effects and change of natural micro flora of intestine in consumers. So, the aim of the present study is detection of antibiotic residues and its contamination rate in cultured rainbow trout.

Four-plate test is one of the microbiological methods of detecting antibiotic residues in food stuff, which is based on inhibition zone formation around the sample in four culture media with different pH and test bacteria. For this purpose, 45 samples from skin and meat of rainbow trout fish were obtained randomly from fish market of Tabriz city. After different phases of four-plate test, from a total of 180 skin samples, 13 cases (7.22%) and from a total of 180 meat samples, 18 cases (10%) were diagnosed to be contaminated to antibiotic residues.

The results showed that contamination rate of two tissues, (meat and skin), have no significant difference ($P>0.05$), and the highest contamination to antibiotic residues were related to penicillin and macrolides groups ($P<0.05$).

* Corresponding author