ارزیابی باقی‌مانده انروفلوکساسین در گوشت گوسفندی و گاوی عرضه‌شده در شهر بابلسر به روش الایزا

مهدی شریفی سلطانی*[1]، حسین ناظمی وان علیا[2]

۱- استادیار، گروه دامپزشکی، واحد چالوس، دانشگاه آزاد اسلامی، چالوس - ایران.

۲- دانش آموخته، گروه دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل- ایران.

* **نویسنده مسوول**: متخصص بهداشت مواد غذایی - آدرس: چالوس، خیابان ۱۷ شهریور، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده کشاورزی، طبقه چهارم، گروه دامپزشکی– تلفن تماس: ۰۹۱۱۳۹۳۴۵۲۶

ایمیل: sharifisoltani_m@iau.ac.ir

چکیده

انروفلوکساسین یکی از آنتی‌بیوتیک‌های پرکاربرد در دامپزشکی است که باقی‌مانده‌ی آن در فرآورده‌های دامی می‌تواند سلامت مصرف‌کنندگان را به مخاطره اندازد. هدف این مطالعه ارزیابی میزان باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین در گوشت گاو و گوسفند عرضه‌شده در شهر بابلسر با استفاده از روش‌های مهاری میکروبی ساده و الایزا بود. در این پژوهش ۳۶۰ نمونه گوشت شامل ۱۸۰ نمونه‌ی گاوی و ۱۸۰ نمونه‌ی گوسفندی به‌طور تصادفی جمع‌آوری و آزمایش‌شدند. نتایج آزمون مهاری میکروبی ساده نشان داد که ٪۳۰ از نمونه‌ها واجد باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی بودند (٪۳۵ گاوی و ٪۲۵ گوسفندی). آزمون الایزا وجود انروفلوکساسین را در ٪۵ نمونه‌ها تأیید کرد که فراوانی مشابهی در هر دو نوع گوشت مشاهده شد ($p > ۰/۰۵$). میانگین غلظت انروفلوکساسین در نمونه‌های گوسفندی ۳/۶ ± ۱۰۷/۳ میکروگرم در کیلوگرم و بالاتر از نمونه‌های گاوی (۸/۷ ± ۷۵/۷ میکروگرم در کیلوگرم) بود. تمامی نمونه‌های مثبت گوشت گوسفندی مقادیری بالاتر از حد مجاز (۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم) داشتند، در حالی که نمونه‌های گاوی از این حد فراتر نرفتند؛ هرچند تفاوت آماری این توزیع (آزمون فیشر) در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار نبود. این نتایج نشان‌دهنده ضرورت پایش مستمر باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی در فرآورده‌های دامی و رعایت دقیق دوره‌ی پرهیز دارویی به‌ویژه در دام‌های سبک است تا سلامت مصرف‌کنندگان تضمین‌شود.

کلمات کلیدی

انروفلوکساسین، بابلسر، باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی، گوشت‌گاو، گوشت‌گوسفند.

مقدمه

استفاده‌ی گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها در دامپزشکی، به‌ویژه در دام‌های بزرگ و کوچک، نقش مؤثری در کنترل و درمان بیماری‌های عفونی دارد (۱). در این بین، فلوروکینولون‌ها به عنوان دسته‌ای مهم از آنتی‌بیوتیک‌ها با طیف اثر وسیع علیه باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی شناخته‌می‌شوند (۲). انروفلوکساسین، یکی از پرکاربردترین اعضای این گروه، به طور گسترده در دامپزشکی برای درمان بیماری‌های تنفسی، عفونت‌های گوارشی و عفونت‌های دستگاه ادراری در گاو و گوسفند استفاده می‌شود (۳). با وجود اثر بخشی بالای انروفلوکساسین، باقیماندن آن در بافت‌های خوراکی پس از مصرف، نگرانی‌های قابل توجهی را از منظر ایمنی غذایی و سلامت عمومی ایجاد کرده‌است. مطالعات نشان‌داده‌اند که وجود باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین و متابولیت‌های آن در گوشت می‌تواند عوارض متعددی بر مصرف‌کنندگان انسانی داشته‌باشد (۴). از جمله‌ی این اثرات می‌توان به بروز واکنش‌های آلرژیک، اختلالات گوارشی، آسیب‌های کبدی و کلیوی، و مهم‌تر از همه افزایش خطر گسترش مقاومت میکروبی اشاره‌کرد (۵). مقاومت میکروبی به‌ویژه در برابر فلوروکینولون‌ها به عنوان یک معضل جهانی شناخته‌می‌شود و سازمان جهانی بهداشت (WHO) بارها نسبت به پیامدهای آن هشدار داده‌است (۶).

پایش باقی‌مانده‌های دارویی در فرآورده‌های دامی یکی از الزامات اصلی تضمین ایمنی مواد غذایی است. تاکنون روش‌های مختلفی برای تشخیص و اندازه‌گیری این ترکیبات به‌کار رفته‌است. روش بیولوژیکی آزمون مهاری میکروبی ساده با وجود حساسیت نسبتا پایین، به عنوان یک روش غربالگری ابتدایی مقرون‌به‌صرفه مورد استفاده قرارمی‌گیرد (۷). در مقابل، روش‌های ایمنوشیمیایی مانند آزمون الایزا (ELISA) با حساسیت و ویژگی بالا، امکان شناسایی مقادیر اندک باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک‌ها را فراهم می‌آورند و در بسیاری از مطالعات برای تأیید نتایج غربالگری به کار رفته‌اند (۸). مطالعات متعددی در نقاط مختلف جهان به بررسی میزان باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین در محصولات دامی پرداخته‌اند. به عنوان مثال، **رکنی** و همکاران در یک مطالعه بر روی گوشت مرغ گوشتی در استان تهران گزارش‌کردند که مقادیر قابل توجهی از باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین در نمونه‌ها شناسایی شده‌است که در برخی موارد بالاتر از حد مجاز تعیین‌شده توسط اتحادیه‌ی اروپا بود (۹). همچنین **Zhang** و همکاران در چین نشان‌دادند که بقایای فلوروکینولون‌ها در گوشت گاو و گوسفند می‌تواند به طور مستقیم با افزایش سویه‌های مقاوم *اشریشیاکولای* در انسان ارتباط داشته باشد. این یافته‌ها ضرورت بررسی وضعیت باقی‌مانده‌های دارویی در مناطق مختلف را بیش از پیش آشکار می‌سازد (۱۰).

شهرستان بابلسر، به دلیل ماهیت توریستی و گردشگری به عنوان یکی از مراکز مهم عرضه و مصرف گوشت در استان مازندران است. با توجه به فقدان داده‌های مستند و ثبت شده در خصوص میزان باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین در گوشت عرضه‌شده در این شهرستان، انجام مطالعه‌ی حاضر ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی میزان باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین در گوشت گوسفند و گاو عرضه‌شده در کبابی‌ها، قصابی‌ها و هایپرمارکت‌های شهر بابلسر با استفاده از روش آزمون مهاری میکروبی ساده و آزمون الایزا و تعیین فراوانی باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین، غلظت آنتی‌بیوتیکی و مقایسه‌ی بین‌گونه‌ای جانوری است. نتایج به‌دست آمده در این مطالعه می‌تواند به درک بهتر وضعیت ایمنی غذایی منطقه و اتخاذ سیاست‌های بهداشتی مناسب کمک‌نماید.

روش کار

جمع آوری نمونه

برای جمع آوری نمونه‌ها در این مطالعه که در بازه‌ای ۳ ماهه و در فصل بهار به روش میدانی انجام‌شد در مجموع ۳۶۰ نمونه گوشت‌گاو و گوشت‌گوسفند (عضله ران) با وزن تقریبی ۱۰۰گرم از لاشه‌های به ظاهر سالم و دارای مهر بهداشتی دامپزشکی از

مراکز عرضه‌ی گوشت (از جمله قصابی‌ها و هایپرمارکت‌ها هرکدام ۱۸۰ نمونه) شهر بابلسر جمع‌آوری و نمونه‌ها پس از کدگذاری، در مجاورت یخ و شرایط بهداشتی به آزمایشگاه باکتری شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل انتقال‌یافت.

تست مهاری میکروبی ساده

برای تعیین وجود ترکیبات ضد میکروبی در گوشت به روش آزمون مهاری میکروبی ساده از باکتری *اشریشیاکولای* (ATCC۲۵۹۲۲) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC۲۵۹۲۳) استفاده شد. از باکتری‌ها سوسپانسیون نیم مک‌فارلند تهیه‌شد و ۱۰ میکرولیتر از آن بر روی محیط کشت مولرهینتون آگار (مرک، آلمان) کشت سطحی داده‌شد. سپس در کنار شعله و با رعایت شرایط استریل با استفاده از پنس و تیغ استریل، تکه‌های مکعبی (تقریبی) حدودا با قطر ۵ میلی‌متر برش زده‌شد و روی محیط کشت قرار داده‌شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، گرم‌خانه‌گذاری و هاله عدم رشد اطراف تکه‌های گوشت بررسی‌شد (۱۱). مابقی نمونه‌ی گوشت در ظروف استریل در دمای ۱۸- درجه‌ی‌سانتی‌گراد فریز شد تا در صورت نیاز برای آزمون الایزا استفاده‌شود.

تست الایزا

نمونه‌های مثبت در تست میکروبی که هاله‌ی عدم‌رشد داشتند در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد از حالت انجماد خارج‌شدند. جهت اندازه‌گیری میزان انروفلوکساسین در نمونه‌های مثبت از کیت الایزای انروفلوکساسین (R-biopharm, R ۳۱۱۱، آلمان) استفاده شد که حد تشخیص یافتی (LOD) ۱۰ppb، حد کمی شدن (LOQ) ۴۰ppb و تداخل با متابولیت‌های سیپروفلوکساسین۰/۰۰۳ درصد بود؛ ۴ گرم از نمونه گوشت به کمک همزن آزمایشگاهی (ULTRA-TURRAX، آیکیا) همگن و یک گرم از آن با ۴ میلی‌لیتر متانول ۷۰ ٪ مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه به شیک گذاشته‌شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شد تا مایع فوقانی جدا شود. سپس یک میلی‌لیتر از مایع فوقانی با یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل رقیق و ۵۰ میکرولیتر از مایع رقیق‌شده‌ی مذکور برای بررسی حضور و تعیین غلظت انروفلوکساسین در نمونه‌ها به چاهک‌ها اضافه‌شد و به منظور انجام واکنش‌های بیوشیمیایی با کیفیت و دقت بالاتر چاهک‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده‌شدند؛ در ادامه ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده‌ی واکنش به چاهک‌ها افزوده‌شد. به منظور تعیین وجود باقیمانده‌ی آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین در نمونه‌ها و همچنین غلظت آن از دستگاه الایزا ریدر با جذب نوری با طول موج ۴۵۰ نانومتر استفاده‌شد و تعیین میزان باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین بر اساس منحنی کالیبراسیون به صورت نانو گرم در گِرم بافت‌های مورد مطالعه بیان‌گردید (۱۲).

تحلیل آماری

داده‌ها پس از جمع‌آوری و ثبت در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ (IBM Corp., Armonk, NY, USA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای بررسی تفاوت در فراوانی نمونه‌های دارای باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین بالاتر از حد مجاز (MRL) میان گوشتِ دو گونه (گاو و گوسفند)، از آزمون دقیق فیشر (Fisher's exact test) به‌صورت دوطرفه (two-tailed) با سطح معنی‌داریِ ۵ درصد استفاده‌شد. همچنین برای توصیف داده‌ها از آمار توصیفی شامل فراوانی (تعداد و درصد)، میانگین و انحراف‌معیار استفاده‌گردید. در مواردی که یک یا چند سلول جدول دارای مقدار صفر بودند، جهت برآورد نسبت شانس (Odds Ratio) از تصحیح هالدین–آنزکوم (Haldane–Anscombe correction) استفاده‌شد. نتایج به‌صورت مقادیر p، نسبت شانس (OR) و بازه‌ی اطمینان ۹۵ درصد (Confidence Interval) گزارش‌شدند.

نتایج

در این مطالعه، ۳۶۰ نمونه‌ی گوشت شامل ۱۸۰ نمونه گوشت‌گاوی و ۱۸۰ نمونه گوشت‌گوسفندی به‌طور تصادفی از مراکز عرضه‌ی گوشت شهر بابلسر جمع‌آوری شدند. نتایج آزمون‌های مهاری میکروبی ساده و الایزا نشان‌داد که در هر دو نمونه‌های گوشت‌گاو و گوشت‌گوسفند عرضه‌شده در شهر بابلسر، باقی‌مانده‌ی ترکیبات ضد میکروبی و به طور خاص آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین بوده‌است (جدول ۱). آنالیز آماری نتایج، نشان‌داد که از نظر نسبت مثبت بودن تست الایزا، بین گوشت دو گونه‌ی حیوانی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

جدول ۱: فراوانی مطلق و نسبی (درصد) آلودگی نمونه‌های گوشت در تست مهاری میکروبی ساده و الایزا

نوع گوشت	تعداد نمونه	تعداد مثبت (مهاری میکروبی ساده)	تعداد مثبت الایزا
گوسفندی	۱۸۰	۴۵ (٪۲۵)	۹ (٪۵)
گاوی	۱۸۰	۶۳ (٪۳۵)	۹ (٪۵)
مجموع	۳۶۰	۱۰۸ (٪۳۰)	۱۸ (٪۵)

نتایج آزمون الایزا جهت شناسایی اختصاصی باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین انجام‌شد که نشان‌داد ۱۸نمونه (٪۵) واجد انروفلوکساسین بودند؛ شامل ۹ نمونه (٪۵) گوشت گاوی و ۹ نمونه (٪۵) گوشت گوسفندی. مقایسه‌ی فراوانی نمونه‌های مثبت الایزا بین دو نوع گوشت با آزمون دقیق فیشر نشان‌داد که تفاوت آماری معنی‌داری ($p > ۰/۰۵$) بین آنها وجود نداشته‌است.
مقادیر غلظت انروفلوکساسین در نمونه‌های مثبت گوشت گوسفندی در بازه‌ی ۱۰۲ تا ۱۱۲ میکروگرم در کیلوگرم (µg/kg) قرار داشت، در حالی که در نمونه‌های گوشت گاوی در بازه‌ی ۶۴ تا ۸۵ µg/kg بود.

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار غلظت باقی‌مانده انروفلوکساسین در نمونه‌های مثبت

نوع گوشت	غلظت (µg/kg) Mean ± SD
گوسفندی	۱۰۷/۳ ± ۳/۶
گاوی	۷۵/۷ ± ۸/۷

بر اساس حد مجاز باقی‌مانده (MRL = ۱۰۰ µg/kg) (۱۳)، تمامی نمونه‌های مثبت گوشت‌گوسفندی دارای مقادیر بالاتر از حد مجاز بودند، در حالی که هیچ‌یک از نمونه‌های مثبت گوشت‌گاوی از این حد فراتر نرفتند. با این حال نتایج آزمون فیشر در خصوص موارد بالاتر از حد مجاز باقی‌مانده در گوشت دو گونه، نشان‌دهنده‌ی تفاوت آماری معنی‌دار ($p >۰/۰۵$) بین گوشت دو گونه‌ی حیوانی نبود؛ با این حال الگوی باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین در بافت گوشت از تفاوت زیستی و مدیریتی حمایت می‌کند. یعنی ممکن است در مطالعات با حجم نمونه بزرگ‌تر معنی‌دار شود.
در این تحقیق تمامی مواد مثبت گوشت‌گوسفندی مقادیر بالاتر از حد مجاز داشتند و هیچ یک از نمونه‌های واجد انروفلوکساسین گوشت‌گاوی فراتر از حد مجاز تشخیص داده‌نشدند (جدول ۳).

جدول ۳: فراوانی مطلق و نسبی آلودگی بالاتر از حد مجاز در نمونه‌های واجد انروفلوکساسین

کمتر از حد مجاز (۱۰۰ µg/kg)	بالاتر از حد مجاز (۱۰۰ µg/kg)

	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی (٪)	فراوانی مطلق	فراوانی نسبی (٪)
گوسفندی	۰	۰	۹	۱۰۰
گاوی	۹	۱۰۰	۰	۰

نسبت شانس (Odds Ratio) با تصحیح صفر و فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد (CI:۰/۳۶-۱۴۰/۶)؛ ۱به۷ بود که نشان داد احتمال وجود باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین بالاتر از حد مجاز در گوشت گوسفند حدود هفت برابر بیشتر از گوشت گاو است، هرچند این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود و فاصله‌ی اطمینان زیاد نشان‌دهنده‌ی عدم دقت ناشی از حجم نمونه‌ی کوچک است.

بحث و نتیجه گیری

در خارج از کشور مطالعات زیادی در خصوص باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی به خصوص انروفلوکساسین در گوشت شده‌است. برای مثال در تحقیقی در یونان ۹۸ درصد (۱۴)، در چین ۹۵/۶ درصد (۱۵)، در هند ۳۸/۷۱ درصد (۱۶) و در ویتنام در دو تحقیق جداگانه ۱۱/۹ و ۳۹ درصد (۱۷-۱۸) باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی شناسایی‌شد.

در تحقیقی که به روش الایزا برای تعیین باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی انجام شده بود مشخص شد که ۱۰۰ درصد از نمونه‌ها حاوی باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیک فلوروکینولون هستند (۱۹).

ارزیابی‌ها نشان‌داد که ۳۹ درصد از نمونه‌ها در استان خوزستان، شهر اهواز (۲۰)؛ ۱۷/۹درصد در استان اصفهان و شهر اصفهان (۲۱)؛ ۶۵ درصد در استان مازندران و شهرهای قائمشهر، ساری و آمل (۲۲)؛ ۱۴/۷ درصد در استان همدان (۲۳)؛ ۶۰ درصد در شهرستان مراغه (۲۴) واجد باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیک بودند. علت بالاتر بودن باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی در تحقیقات اشاره شده با تحقیق ما ممکن است به دلیل تفاوت گونه‌ی جانوری، تفاوت مدیریتی و حتی تفاوت نوع آنتی‌بیوتیک مورد مطالعه باشد. با این حال در تحقیقی مشابه با تحقیق حاضر در مشهد مشخص‌شد که ۱۸/۸ درصد از نمونه‌های گوشت گوسفندی (۲۵) و در تحقیق در تبریز ۷۳/۳۳ درصد نمونه‌های گوشت گاوی باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی داشتند (۲۶). احتمالا تفاوت بین نتایج تحقیقات مختلف به دلیل تفاوت در نوع ردیابی باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی باشد.

در مطالعه‌ای دیگر باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین در استان‌های شمال غرب ایران با دو روش چهار پلیت و الایزا ارزیابی‌شد و بر اساس نتایج ۲۸ لاشه از مجموع ۱۶۰ لاشه (۱۷/۵ درصد) واجد باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین بودند. که نسبت به تحقیق ما بیشتر بود. نتایج این مطالعه نشان‌داد که انروفلوکساسین به‌طور وسیعی در منطقه شمال غرب ایران به ویژه استان آذربایجان غربی مورد استفاده قرارگرفته و به نظر می‌رسد دوره‌ی منع مصرف این آنتی‌بیوتیک به درستی اعمال نمی‌شود (۲۷)؛ احتمالا در تحقیق ما نیز همین مورد موجب باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی در گوشت شده‌است.

نتایج این مطالعه نشان‌داد که میزان فراوانی نمونه‌های دارای باقی‌مانده انروفلوکساسین در گوشت گاوی و گوسفندی عرضه‌شده در شهر بابلسر برابر و در حدود ۵ درصد بود. با این‌حال، میانگین غلظت این دارو در گوشت گوسفندی بالاتر از گوشت گاوی بود. این موضوع می‌تواند ناشی از تفاوت‌های متابولیکی و زیستی بین این دو گونه‌ی حیوانی باشد (۲۸). متابولیسم داروها در گوسفند نسبت به گاو متفاوت است؛ و همچنین دوره‌های درمانی و فاصله زمانی بین پایان درمان و کشتار (withdrawal period) در دام‌های سبک کم‌تر رعایت می‌شود که منجر به حضور بیشتر دارو در بافت‌های گوشت می‌شود (۲۹).

نتایج تحقیقات مشابه نشان‌داد که با افزایش وزن دام، مقدار باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی انروفلاکساسین نیز به شکل معنی‌داری کاهش‌یافت (۲۹) و این موضوع می‌تواند توجیه‌کننده‌ی تفاوت در تحقیق ما باشد.

نکته کلیدی دیگر که این مطالعه به آن اشاره‌دارد، عبور تمام نمونه‌های مثبت گوشت گوسفندی از حد مجاز باقی‌مانده دارویی است، در حالی که نمونه‌های مثبت گوشت گاوی این حد را رعایت کرده‌بودند. این یافته از منظر بهداشت عمومی اهمیت بالایی دارد، زیرا مصرف فرآورده‌های دامی با مقادیر بالاتر از حد مجاز باقی‌مانده می‌تواند به بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی، اثرات جانبی دارویی و مخاطرات زیست‌محیطی منجر شود. همچنین، این امر بر ضرورت آموزش دامداران و کنترل دقیق‌تر دوره‌ی پرهیز دارویی تاکید می‌کند.

با وجود اینکه آزمون دقیق فیشر در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ تفاوت آماری معناداری بین فراوانی موارد بالاتر از حد مجاز در گوشت گوسفندی و گاوی نشان نداد ($p > ۰/۰۵$)، اما روند مشاهده‌شده و نسبت شانس ۷، نشان‌دهنده‌ی ریسک بالاتر مواجهه‌ی باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی در گوشت گوسفندی است که ممکن است در مطالعات با تعداد بیشتر موارد بالاتر از حد مجاز، معنی‌دار شود و نمی‌توان با قاطعیت به آن استناد کرد و این اختلاف صرفا توصیفی است؛ با این حال توجه ویژه در سیاست‌گذاری‌ها و برنامه‌های نظارتی به خصوص در بخش دام سبک همچنان حائز اهمیت است.

از دیدگاه سلامت عمومی، وجود هرگونه نمونه‌ی بالاتر از حد مجاز باقی‌مانده حتی در درصد پایین، هشدار دهنده است. مصرف مداوم گوشت حاوی مقادیر فراتر از حد مجاز آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند باعث تجمع دارو یا متابولیت‌های آن در بدن انسان، بروز واکنش‌های حساسیتی و از همه مهم‌تر، تسریع شکل‌گیری مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های بیماری‌زا شود. در مورد انروفلوکساسین، که از خانواده فلوروکینولون‌هاست، این نگرانی بسیار جدی است زیرا مقاومت متقاطع با آنتی‌بیوتیک‌های انسانی نظیر سیپروفلوکساسین گزارش شده‌است (۳۰). بنابراین، حتی با وجود عدم معنی‌داری آماری، مشاهده ۵٪ از نمونه‌های گوسفندی بالاتر از حد مجاز می‌تواند از نظر بهداشت مواد غذایی اهمیت عملی بالایی داشته‌باشد.

از نظر روش‌شناسی، باید توجه داشت که آزمایش الایزا گرچه برای غربالگری سریع باقی‌مانده‌های دارویی مفید است، اما به تنهایی برای تعیین قطعی غلظت بالاتر از حد مجاز باقی‌مانده کافی نیست و از نظر قانونی و استاندارد آزمون تاییدی محسوب نمی‌شود. بنابراین، لازم است در خصوص یافته‌های بالاتر از حد مجاز باقی‌مانده، تحقیقات تکمیلی با روش‌های شناسایی دقیق‌تر مانند کروماتوگرافی مایع فشار بالا (HPLC) یا کروماتوگرافی مایع جرمی (LC–MS/MS) انجام‌گیرد. همچنین تعداد موارد مثبت نسبتا کم‌است (۹ مورد) و باعث می‌شود قدرت آماری مطالعه برای شناسایی اختلاف‌های واقعی محدود باشد. علاوه بر این، اطلاعات مربوط به محل پرورش دام، تاریخ آخرین تجویز دارو و نوع مصرف در دام‌ها در دسترس نبوده‌است؛ این موضوع تحلیل علّی دقیق را دشوار می‌کند؛ همچنین در این مطالعه محاسبه حجم نمونه بر اساس تفاوت بین‌گونه‌ای مورد انتظار نبود. با وجود این محدودیت‌ها، یافته‌های به‌دست آمده می‌توانند مبنایی برای تقویت برنامه‌های نظارت بر بقایای دارویی در منطقه بابلسر باشند. توصیه‌می‌شود در مطالعات آینده از روش‌های کروماتوگرافی استفاده‌شود. همچنین پیشنهاد می‌شود نظام آموزش و آگاهی‌بخشی به دامداران درباره‌ی رعایت دوره پرهیز دارویی تقویت‌گردد و کنترل‌های دقیق‌تری در سطح کشتارگاه‌ها و بازارهای گوشت اعمال‌شود.

جمع بندی

مطالعه‌ی حاضر نشان‌داد که باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین در گوشت‌های گاوی و گوسفندی عرضه‌شده در بازار شهر بابلسر وجود دارد، هرچند فراوانی نمونه‌های مثبت در هر دو نوع گوشت مشابه‌بود. با این حال، غلظت باقی‌مانده انروفلوکساسین در گوشت گوسفندی بالاتر بوده‌است. نتایج به وضوح نشان می‌دهد که گوشت گوسفندی در این مطالعه، سطوح بسیار بالاتری از باقی‌مانده‌ی انروفلوکساسین را نشان‌داد و در تمامی موارد مشاهده‌شده از MRL فراتر رفت. این مشاهده نشان‌دهنده‌ی نیاز به توجه بیشتر در مورد استفاده از این آنتی‌بیوتیک در دامداری‌های گوسفند در منطقه‌ی مورد مطالعه است. با این حال، به دلیل

محدودیت‌های آماری (عدم معنی‌داری آزمون فراوانی)، از هرگونه تعمیم گسترده یا استنتاج قطعی درباره‌ی کل جمعیت خودداری می‌شود. این یافته‌ها، زمینه را برای مطالعات آینده با حجم نمونه‌ی بزرگتر برای تأیید آماری این پتانسیل خطر فراهم می‌آورد. این یافته‌ها ضرورت پایش مستمر باقی‌مانده‌های دارویی، افزایش آگاهی دامداران نسبت به رعایت دوره‌ی پرهیز دارویی و تقویت نظارت‌های قانونی به‌ویژه در دام‌های سبک را تاکید می‌کند تا سلامت مصرف‌کنندگان حفظ شود و خطرات ناشی از مصرف فرآورده‌های دامی آلوده به آنتی‌بیوتیک به حداقل برسد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله با هیچ شخص حقیقی و حقوقی تعارض منافع ندارند.

سپاسگزاری

از کلیه افرادی که به نوعی در به انجام رسیدن این پروژه تحقیقاتی همکاری نموده‌اند کمال تشکر به‌عمل می‌آید.

منابع:

1. **Sheir MA, Mohammed NS, Abd-elaziz MM.** Influence of Some Cooking Procedures on Quality Criteria and Some Veterinary Drugs Residues in Chicken Wings Meals. J Nutr Food Sec. 2025; 10(2): 303-314. [In Persian].
2. **Martinez M, McDermott P, Walker R.** Pharmacology of the fluoroquinolones: a perspective for the use in domestic animals. Vet J. 2006; 172(1): 10-28.
3. **Trouchon T, Lefebvre S.** A review of enrofloxacin for veterinary use. Open J Vet Med. 2016; 6(2): 40-58.
4. **Menkem ZO, Ngangom BL, Tamunjoh SS, Boyom FF.** Antibiotic residues in food animals: Public health concern. Acta Ecol Sin. 2019; 39(5): 411-415.
5. **Badawy S, Yang Y, Liu Y, Marawan MA, Ares I, Martinez MA, *et al.*,** Toxicity induced by ciprofloxacin and enrofloxacin: oxidative stress and metabolism. Crit Rev Toxicol. 2021; 51(9): 754-787.
6. **Sun W, Qian X, Wang X, Gu J.** Residual enrofloxacin in cattle manure increased persistence and dissemination risk of antibiotic resistance genes during anaerobic digestion. J Environ Manage. 2023; 326 part B: 116864.
7. **Moghaddam NR, Nemati M, Lotfipur F.** Determination of antibiotic residues in chicken tissues using four plate test method. Int J Adv Biol Biomed Res. 2022; 10(3): 194-201.
8. **Lu N, Bu M, Zhang C, Gao Q, Wang X, Zhou X, *et al.*,** Development of a rapid detection method for enrofloxacin in food. Biotechnol Genet Eng Rev. 2024; 40(4): 3931-3949.
9. **Rokni ND, Kamkar AAF, Salehzadeh F, Madani R.** Study on the enrofloxacin residues in chicken tissues by HPLC. Iran J Food Sci Technol. 2007; 4(13): 11-17. [In Persian].
10. **Zhang Y, Lu J, Yan Y, Liu J, Wang M.** Antibiotic residues in cattle and sheep meat and human exposure assessment in southern Xinjiang, China. Food Sci Nutr. 2021; 9(11): 6152-6161.
11. **Alimohammadi M, Askari SG, Azghadi NM, Taghavimanesh V, Mohammadimoghadam T, Bidkhori M, *et al.*,** Antibiotic residues in the raw and pasteurized milk produced in Northeastern Iran examined by the four-plate test (FPT) method. Int J Food Prop. 2020; 23(1): 1248-1255.
12. **Mahmoudi R, Norian R.** Determination of enrofloxacin residue in chicken eggs using FPT and ELISA methods. J Res Health. 2015; 5(2): 159-164.
13. **European Commission**. Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. Off J Eur Union. 2010 Dec 22;15(2377):1-72.
14. **Stavroulaki A, Tzatzarakis MN, Karzi V, Katsikantami I, Renieri E, Vakonaki E, *et al.*,** Antibiotics in raw meat samples: estimation of dietary exposure and risk assessment. Toxics. 2022; 10(8): 456.
15. **Hua Y, Yao Q, Lin J, Li X, Yang Y.** Comprehensive survey and health risk assessment of antibiotic residues in freshwater fish in southeast China. J Food Compos Anal. 2022; 114: 104821.

16. **Arsène MM, Davares AK, Viktorovna PI, Andreevna SL, Sarra S, Khelifi I, *et al.*,** The public health issue of antibiotic residues in food and feed: Causes, consequences, and potential solutions. Vet world. 2022; 15(3): 662-671.
17. **Yamaguchi T, Okihashi M, Harada K, Konishi Y, Uchida K, Do MHN, *et al.*,** Antibiotic residue monitoring results for pork, chicken, and beef samples in Vietnam in 2012–2013. J Agric Food Chem. 2015; 63(21): 5141-5145.
18. **Kim DP, Degand G, Douny C, Pierret G, Delahaut P, Ton VD, *et al.*,** Preliminary evaluation of antimicrobial residue levels in marketed pork and chicken meat in the Red River Delta region of Vietnam. Food Public Health. 2013; 3(6): 267-76.
19. **Dabagh Moghadam A, Bashashati M, Hoseini Shokouh SJ, Hashemi SR.** antibiotic residues in chicken meat and table eggs consumed in islamic republic of iran army. J Food Hyg. 2017; 7(26): 69-81. [In Persian].
20. **Fazlara A, Mayahi M, Najafzadeh Varzi H, Gudarznia F, Mohammadyari S.** Determination the amount of illegal furazolidone residues in broilers in Ahvaz abattoir by HPLC method. Armaghan Danesh. 2014; 19(3): 252-264. [In Persian].
21. **Rahimi I, Jafarian M.** Study of chloramphenicol residues in poultry meat using ELISA method in Isfahan. Vet Clin Pathol. 2008; 2(3): 203-207. [In Persian].
22. **Vahedi N, Motaghedi A, Golchin M.** Determination of antibiotic residues in industrial poultry carcass by means of F.P.T (four-plate-test) method in Mazandaran province. Iran J Food Sci Technol. 2011; 8(28): 65-72. [In Persian].
23. **Adabi M, Reza Faryabi M, NiliAhmadabadi A, Gharekhani J, Mehri F.** Evaluation of tetracycline antibiotics residues in chicken tissues using the fourplate test, ELISA, and HPLC methods in Iran. Int J Environ Anal Chem. 2024; 104(9): 2014-2023.
24. **Abasi M, Mahdavi S.** Investigation of antibiotic residues in edible tissues of slaughtered broilers in Maragheh abattoir using FPT method. J Food Hyg. 2016; 6(1): 91-97. [In Persian].
25. **Babapour A, Azami L, Fartashmehr J.** Overview of antibiotic residues in beef and mutton in Ardebil, North West of Iran. World Appl Sci J. 2012; 19(10): 1417-1422.
26. **Torbati MA, Shamshiri M, Javadi A.** Detection of antibiotic residues in edible tissue of slaughtered cows in Tabriz abattoir with FPT method. J Food Hyg. 2011; 1(2): 29-37. [In Persian].
27. **Tajik H, Razavi Rouhani S, Pajohi Alamoti M, Mahmoudi R.** Comparison of enrofloxocin residues in poultry tissues slaughtered in north west provinces of Iran by using FPT and ELISA. Stud Med Sci (The Journal of Urmia University of Medical Scinces). 2011; 22(1): 18-24. [In Persian].
28. **Mahmoudi R, Norian R, Ghajarbeygi P.** Survey of antibiotic residues in raw milk samples in Qazvin (2012). J Inflamm Dis. 2014; 18(1): 45-52. [In Persian].
29. **Fadaeifard F.** Determination of enrofloxacin residue in the muscle and liver of cultured rainbow trout in Chaharmahal-va-bakhtiary province by ELISA. J Food Hyg. 2012; 2(1): 53-62. [In Persian].
30. **Hutchings MI, Truman AW, Wilkinson B.** Antibiotics: past, present and future. Curr Opin Microbiol. 2019; 51: 72-80.

Evaluation of enrofloxacin residues in lamb and beef supplied in Babolsar city using ELISA method

Mahdi Sharifi Soltani*[1]; Hossein Nazemi Vanolia[2]

1. Professor assistant, Department of veterinary, Cha. C., Islamic Azad University, Chalus-Iran.

2. Graduated, Department of veterinary, Babol, Islamic Azad University, Babol-Iran.

* **Corresponding author**: Food hygiene (PhD) - Address: Chalus, 17th Shahrivar Street, Islamic Azad University, Faculty of Agriculture, Fourth Floor, Department of Veterinary Medicine – Tel: +989113934526 – Email: sharifisoltani_m@iau.ac.ir

Abstract:

Enrofloxacin is one of the most widely used antibiotics in veterinary medicine, and its residues in animal products can pose a health risk to consumers. The aim of this study was to evaluate the level of enrofloxacin residues in beef and lamb supplied in Babolsar city using four-plate and ELISA methods. In this study, 360 meat samples, including 180 beef samples and 180 lamb samples, were randomly collected and tested. The results of the four-plate test showed that 30% of the samples had antibiotic residues (35% beef and 25% lamb samples). The ELISA test confirmed the presence of enrofloxacin in 5% of the samples, with a similar frequency observed in both types of meat ($p > 0.05$). The mean concentration of enrofloxacin in lamb samples was 107.3 ± 3.6 μg/kg, higher than that in beef samples, 75.7 ± 8.7 μg/kg. All positive lamb samples had levels above the permissible limit (MRL 100 μg/kg), while beef samples did not exceed this limit ($p > 0.05$). These results indicate the need for continuous monitoring of antibiotic residues in livestock products and strict adherence to the drug withdrawal period, especially in light livestock, to ensure the health of consumers.

Key words:

Enrofloxacin, Babolsar, Antibiotic residues, MRL, beef, lamb.