

تعیین باقی مانده آنتی بیوتیک سولفانامید در شیر خام، گوشت و تخم مرغ به روش ELISA

ابراهیم رحیمی^{۱*}، امیر شاکریان^۱، آیدا اسدی^۲

^۱ استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد، شهرکرد، ایران
^۲ دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد، شهرکرد، ایران
^۳ استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۰۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۱/۰۸

چکیده

مقدمه: امروزه وجود باقی مانده های آنتی بیوتیکی یکی از دغدغه های اصلی صنعت مواد غذایی به شمار می رود. از جمله آثار منفی استفاده نابه جا از آنتی بیوتیک ها می توان به اختلالات متابولیکی، واکنش های سمی و تحریکی و حساسیت و آلرژی اشاره کرد.

مواد و روش ها: در این مطالعه توصیفی تعداد ۵۴۰ نمونه از مواد غذایی شامل: شیر خام گاو (n=۸۰)، گوشت گاو (n=۵۰)، گوشت گوسفند (n=۵۰)، کبد گاو (n=۵۰)، کلیه گاو (n=۵۰)، کبد گوسفند (n=۵۰)، کلیه گوسفند (n=۵۰)، گوشت مرغ (n=۸۰) و تخم مرغ (n=۸۰) به طور تصادفی از مراکز جمع آوری شیر، کشتارگاه ها و فروشگاه های موجود در شهر اصفهان طی سال های ۹۳-۱۳۹۲ جمع آوری شدند و میزان بقایای آنتی بیوتیک سولفانامید در آن ها با استفاده از روش ELISA مورد آزمایش قرار گرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد که از ۵۴۰ نمونه مورد بررسی، ۵۸ نمونه (۱۰/۴۸ درصد) حاوی آنتی بیوتیک سولفانامید بودند. به این صورت که گوشت مرغ، شیر خام گاو، کبد گاو، کلیه گاو، گوشت گوسفند، تخم مرغ، کبد گوسفند و کلیه گوسفند به ترتیب حاوی ۶،۱۲،۱۲،۲۰، ۲۰، ۲۵، ۴، ۲۵، ۲۰ درصد آنتی بیوتیک سولفانامید بودند. غلظت آنتی بیوتیک سولفانامید در نمونه های آلوده معادل ۷/۳۴-۱۷۲/۲۴ نانوگرم بر گرم به دست آمد. علاوه بر این، میزان باقی مانده آنتی بیوتیک سولفانامید در گوشت مرغ به طور معناداری بیشتر از سایر فرآورده های مورد مطالعه بود ($P < 0.05$).

نتیجه گیری: با توجه به یافته ها، نظارت گسترده و دقیق بر تولید و عرضه فرآورده های غذایی با منشأ دامی از جمله گوشت، شیر خام و تخم مرغ و ارزیابی وجود باقی مانده های دارویی در آن ها ضروری می باشد.

کلمات کلیدی: باقی مانده آنتی بیوتیک سولفانامید، تخم مرغ، شیر خام، گوشت، ELISA

مقدمه

از نظر داروشناسی، هر ماده شیمیایی تولیدشده توسط موجودات زنده میکروسکوپی و یا ساخته شده به طور مصنوعی که موجب وقفه پدیده‌های حیاتی موجود زنده دیگر شود، آنتی‌بیوتیک نام دارد (۱). این ترکیبات ممکن است سبب مرگ و یا جلوگیری از رشد باکتری‌ها گردند؛ از این رو، مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در دامداری‌ها و مرغداری‌ها و وجود باقی‌مانده آن‌ها در گوشت و شیر دام‌ها سبب ایجاد مخاطرات فراوانی برای مصرف‌کنندگان خواهد شد که عبارت هستند از: ایجاد مصونیت برای میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه عوامل بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، ایجاد انواع آلرژی در افرادی که حساسیت دارند، از بین بردن میکروارگانیسم‌های مفیدی که در تهیه فرآورده‌های تخمیری شیر از جمله ماست و پنیر وجود آن‌ها ضروری می‌باشد و واردآوردن خسارات اقتصادی فراوان به صنایع تبدیلی شیر (۲). باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک‌ها اکثراً در انواع گوشت به‌ویژه گوشت پرندگان، گوشت گاو و گوسفند و شیر وجود دارند. در سال‌های گذشته دانشمندان دریافتند که افزودن آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیبات آنابولیک به غذای دام از طریق افزایش میزان پروتئین‌سازی موجب بهبود افزایش وزن در آن‌ها می‌شود (۱).

در حال حاضر استفاده از برخی آنتی‌بیوتیک‌ها در پرورش دام و طیور در بسیاری از کشورهای دنیا ممنوع است. امروزه مصرف آنتی‌بیوتیک‌های متنوع در دامپزشکی برای درمان و پیشگیری از انواع بیماری‌های دام و طیور متداول می‌باشد. باید عنوان نمود که از این ترکیبات به‌منظور محرک رشد حیوانات نیز استفاده می‌شود؛ زیرا مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها سبب نازک‌شدن دیواره روده باریک گشته و جذب مواد غذایی را افزایش می‌دهد؛ بنابراین استفاده درست از آنتی‌بیوتیک‌ها و رعایت زمان پرهیز

دارویی قبل از دوشیدن و یا کشتار دام مانع از حضور باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک خواهد شد (۲). زمان ذکرشده برای هر ترکیب دارویی و در میان گونه‌های مختلف حیوانی متفاوت بوده و از چند ساعت تا چندین روز و گاهی هفته‌ها متغیر می‌باشد (۳).

براساس دستورالعمل‌های سازمان جهانی بهداشت (Organization Health World)، سازمان خوار و بار کشاورزی آمریکا (Food and Agriculture Organization of the United States of America) و سازمان استاندارد ملی ایران (Institute of Standards and Industrial Research of Iran) در هیچ‌کدام از مواد غذایی با منشأ دامی نباید هیچ‌گونه آنتی‌بیوتیکی تشخیص داده شود (۱). مقاومت دارویی میکروارگانیسم‌ها در مقابل آنتی‌بیوتیک‌ها در بسیاری از نقاط دنیا وجود داشته و این مشکل در حال افزایش می‌باشد. در کشورهای پیشرفته اغلب مصرف‌کنندگان به توانایی خطر باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک‌ها در فرآورده‌های دامی و اثر آن بر سلامت خود آگاه هستند. متأسفانه در اغلب کشورهای درحال رشد برنامه ملی مدونی برای ارزیابی این باقی‌مانده‌ها در فرآورده‌های دامی وجود ندارد (۱،۳). سولفانامیدها دسته‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها هستند که میکروارگانیسم را از بین می‌برند؛ بنابراین باکتریواستاتیک می‌باشند. مکانیسم اثر آن‌ها مهار سنتز اسید نوکلئیک است (۲). سولفانامیدها به دلیل شباهت ساختمانی با پارآمینوبنزوئیک اسید به‌صورت رقابتی آنزیم دی‌هیدروپتروآت سنتتاز باکتری که مسئول تبدیل کردن پارآمینوبنزوئیک اسید به اسید دی‌هیدروفولیک است را مهار می‌کنند؛ در نتیجه اسید فولیک ساخته نمی‌شود (۱). اسید فولیک (ویتامین B₉) نقش مهمی در سنتز اسیدهای نوکلئیک دارد و به همین جهت عدم سنتز آن به توقف رشد سلول منجر می‌گردد (۳).

درصد از نمونه‌های شیر خام دامداری‌های صنعتی و ۱۶ درصد از نمونه‌های شیر خام مراکز جمع‌آوری شیر آلوده به انواع آنتی‌بیوتیک سولفانامید بودند. همچنین ۳۰ درصد از کل نمونه‌های شیر پاستوریزه آلوده به آنتی‌بیوتیک سولفانامید تشخیص داده شدند (۶). در مطالعه‌ای که توسط Yamaki و همکاران در سال ۲۰۰۴ در کشور اسپانیا انجام گرفت نیز از مجموع ۲۶۸۶ نمونه شیر خام گوسفند، ۱/۷ درصد از نمونه‌ها حاوی باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک سولفانامید بودند که درصد نسبتاً پایینی را شامل می‌شود (۷). در این راستا، از آنجایی که بررسی جامعی در ارتباط با وضعیت آلودگی مواد غذایی با منشأ دامی به آنتی‌بیوتیک سولفانامید در شهرستان اصفهان صورت نگرفته است، مطالعه حاضر با هدف بررسی باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک سولفانامیدها در مواد غذایی از جمله گوشت طیور، شیر خام گاو، کبد، کلیه و گوشت گاو، کبد، کلیه و گوشت گوسفند و تخم‌مرغ در شهر اصفهان با توجه به اهمیت آن‌ها صورت گرفت تا وضعیت کیفیت این مواد غذایی از نظر باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک سولفانامید بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

در مطالعه توصیفی حاضر از مهر ۱۳۹۲ تا فروردین ۱۳۹۳ در مجموع ۵۴۰ نمونه مواد غذایی شامل: گوشت مرغ (n=۸۰)، گوشت گاو (n=۵۰)، گوشت گوسفند (n=۵۰)، کبد گاو (n=۵۰)، کلیه گاو (n=۵۰)، کبد گوسفند (n=۵۰)، کلیه گوسفند (n=۵۰)، شیر خام گاو (n=۸۰) و تخم‌مرغ (n=۸۰) به ترتیب از قصابی‌ها و کشتارگاه‌ها، مراکز جمع‌آوری شیر و فروشگاه‌ها در شهرستان اصفهان به صورت تصادفی ساده جمع‌آوری گردید و به آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه

سولفانامیدها در زمره آنتی‌بیوتیک‌های صنعتی قرار دارند که بر طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی اثر می‌گذارند و در نتیجه باعث درمان بسیاری از عفونت‌ها و افزایش رشد حیوانات در صنعت پرورش دام و طیور می‌شوند؛ بنابراین استفاده بی‌رویه و غیراصولی از آن‌ها باعث باقی‌ماندن آن‌ها در مواد غذایی با منشأ دامی خواهد شد (۱). روش‌های مختلفی برای مطالعه باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی در شیر و سایر فرآورده‌های جانبی وجود دارند که شامل: استفاده از روش‌های سرم‌شناسی، میکروب‌شناسی، تجزیه‌ای و آنزیمی می‌باشند. یکی از روش‌های آنزیمی، روش ELISA است که از آن به دلیل دقت، حساسیت و سرعت آزمایش برای تعیین میزان باقی‌مانده انواع آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله تعیین میزان سولفانامیدها در مواد غذایی استفاده‌های فراوانی می‌شود (۴).

اساس آزمون ELISA بر پایه واکنش آنتی‌بادی با آنتی‌ژن می‌باشد. در آزمون‌های ELISA یک آنتی‌بادی اختصاصی با یک آنتی‌ژن مشخص واکنش نشان داده و با استفاده از یک آنتی‌بادی اتصال‌یافته با یک آنزیم به‌عنوان سیستم نشانگر، آزمون ادامه می‌یابد. در نهایت با افزودن سوبسترای آنزیم و تبدیل سوبسترا به محصول که یک ماده رنگی می‌باشد، آزمون ELISA به پایان می‌رسد. طول موج رنگ به‌دست‌آمده که نشانگر حضور یک آنتی‌بادی (و یا آنتی‌ژن) و نیز غلظت آن می‌باشد، توسط یک دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شده و ثبت می‌گردد (۵). مطالعات مختلفی در زمینه سنجش باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک سولفانامید در مواد غذایی در ایران و سایر کشورها صورت گرفته است (۱،۲،۴،۶)؛ به‌عنوان مثال در پژوهش منافی و همکاران در سال ۲۰۱۰ میزان باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک سولفانامید در شیر خام به روش Delvotest اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که ۲۶

آزاد اسلامی واحد شهرکرد منتقل شد.

در ادامه، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق و سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گشتند و مایع رویی برداشته شد. سپس، یک میلی‌لیتر n -هگزان (ساخت شرکت Merck آلمان) و ۰/۵ میلی‌لیتر سولفات بافر به نمونه‌ها اضافه گردید و پس از مخلوط شدن بر روی شیکر در حرارت ۲۵-۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه و سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. شایان ذکر است که فاز آبی یا پایینی به‌عنوان نمونه آماده‌سازی شده برای انجام آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. آنگاه نمونه‌ها و کلیه محلول‌های مورد نیاز به چاهک‌ها اضافه گردیدند و در دمای ۲۵-۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری شدند. در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده واکنش به چاهک افزوده گشت و میزان جذب نوری هر چاهک با استفاده از دستگاه قرائت‌کننده ELISA همانند روش قبل قرائت گردید. در ادامه، منحنی استاندارد با توجه به میزان جذب نمونه‌های استاندارد رسم شد و براساس آن میزان غلظت آنتی‌بیوتیک سولفانامید در نمونه‌ها بر حسب نانوگرم در میلی‌گرم محاسبه گردید. برای محاسبه دقیق میزان آنتی‌بیوتیک سولفانامید در نمونه‌ها، درصد بازیافت سولفانامید در نمونه‌های شیر و گوشت با استفاده از کیت ELISA مورد مطالعه قرار گرفت و ضریب آن در غلظت سولفانامید به‌دست آمد. براساس اطلاعات کیت ELISA، حد تشخیص میزان سولفانامید در نمونه‌های شیر، گوشت و تخم‌مرغ به‌ترتیب معادل ۲/۵ نانوگرم بر میلی‌لیتر و ۳ و ۴ نانوگرم بر گرم بوده است (۲).

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS 18 در دو سطح آمار توصیفی شامل:

آماده‌سازی و اندازه‌گیری باقی‌مانده سولفانامید به

روش ELISA در نمونه‌های گوشت، شیر و تخم‌مرغ

تمامی نمونه‌ها با استفاده از کیت‌های ELISA اختصاصی رقابتی ساخت شرکت Euro Proxima آلمان مورد آزمایش و بررسی قرار گرفتند. برای انجام ELISA ۵۰ میلی‌لیتر از نمونه‌های شیر به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۴۰ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند (مدل C30P، ساخت کشور آمریکا). سپس، لایه چربی از روی شیر جدا گردید. آنگاه ۰/۷۵ میلی‌لیتر شیر با ۰/۲۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ساخت شرکت Merck آلمان مخلوط گردید و ۱۰۰ میکرولیتر از آن با ۲۰۰ میکرولیتر بافر رقیق‌کننده اتیل استات ساخت شرکت Merck آلمان مخلوط شد. این سوسپانسیون به مدت یک دقیقه به‌طور کامل مخلوط گردید. برای جداسازی مایع فوقانی، سوسپانسیون مذکور با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شد. در ادامه، مایع فوقانی نمونه‌ها به میزان ۱ به ۲ با آب مقطر رقیق گردید و ۵۰ میکرولیتر از آن برای بررسی در کیت ELISA به هر چاهک اضافه شد. شایان ذکر است که جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گشت و میزان بقایای آنتی‌بیوتیک سولفانامید براساس منحنی کالیبراسیون به‌صورت نانوگرم در میلی‌گرم محاسبه شد.

در ادامه، یک گرم گوشت و یک گرم تخم‌مرغ یکنواخت گردیدند و با ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۱۰۰ درصد مخلوط شدند و به مدت ۵ دقیقه با دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ گشتند. سپس ۵۰ میکرولیتر از محلول با ۳۵۰ میکرولیتر بافر رقیق‌کننده اتیل استات ساخت شرکت Merck آلمان مخلوط گردید.

باقی مانده سولفانامید به طور خلاصه در جدول ۲ ارائه شده است.

بر مبنای آزمون آماری تحلیل واریانس دوطرفه، اختلاف آماری معناداری ($P < 0.05$) در مقدار باقی مانده آنتی بیوتیک سولفانامید در نمونه های گوشت مرغ، تخم مرغ، گوشت گاو، کبد گاو، کلیه گاو، کبد گوسفند، کلیه گوسفند، گوشت گوسفند و شیر وجود دارد؛ به عبارت دیگر، میزان باقی مانده آنتی بیوتیک سولفانامید در گوشت مرغ به طور معناداری بیشتر از سایر فرآورده های مورد مطالعه می باشد.

میانگین، میانه و انحراف معیار و آمار تحلیلی شامل: تحلیل واریانس دوطرفه بین نمونه های شیر، گوشت و تخم مرغ در سطح اطمینان ($P < 0.05$) تجزیه و تحلیل گردیدند.

نتایج

میانگین درصد بازیافت سولفانامید از نمونه های شیر، گوشت و تخم مرغ به ترتیب معادل ۹۰/۹۴، ۸۵/۱۲ و ۱۰۲/۶۶ درصد به دست آمد (جدول ۱). نتایج وضعیت آلودگی نمونه های شیر، گوشت، کبد، کلیه و تخم مرغ به

جدول ۱: درصد بازیافت آنتی بیوتیک سولفانامید از گوشت، شیر و تخم مرغ

آنتی بیوتیک	نمونه	تعداد نمونه های آزمایش شده	غلظت آنتی بیوتیک اضافه شده (نانوگرم بر گرم)	میانگین اندازه گیری شده (نانوگرم بر گرم)	انحراف معیار
سولفانامید	شیر	۳	۵۰	۴۵/۴۷	۱/۰۷
	گوشت	۳	۵۰	۴۲/۵۶	۰/۹۷
	تخم مرغ	۳	۵۰	۵۱/۳۳	۰/۵۵

جدول ۲: میانگین، میانه و محدوده باقی مانده سولفانامیدها در نمونه های آلوده گوشت، کبد، کلیه، شیر و تخم مرغ به روش ELISA در شهرستان اصفهان

نوع نمونه	تعداد نمونه های آزمایش شده	تعداد نمونه های آلوده	میانگین (نانوگرم بر گرم)	انحراف معیار	میانه	محدوده آلودگی (نانوگرم بر گرم)
گوشت مرغ	۸۰	۲۰	۷۶/۵۴	۴۴/۳۳	۷۰/۷۶	۱۴/۱۷۲-۰۶/۲۴
تخم مرغ	۸۰	۴	۱۷/۸۴	۱۲/۰۴	۱۴/۹۳	۷/۳۴-۳۴/۱۹
کبد گاو	۵۰	۶	۴۴/۴۰	۲۳/۰۹	۳۳/۰۲	۱۷/۱۱-۸۰/۱۹
کلیه گاو	۵۰	۶	۲۰/۳۹	۹/۲۹	۲۲/۷۹	۸/۳۰-۰۵/۱۹
کبد گوسفند	۵۰	۲	۳۲/۷۴	۲۴/۸۴	۲۲/۷۴	۱۵/۱۷-۵۰/۳۱
کلیه گوسفند	۵۰	۱	۱۷/۵۴	۰	۱۷/۵۴	۱۷/۱۷-۵۴/۵۴
گوشت گوسفند	۵۰	۳	۱۴/۱۴	۵/۵۶	۱۲/۳۰	۹/۷۴-۲۰/۴۰
شیر خام گاو	۸۰	۱۶	۴۱/۴۴	۲۹/۸۶	۳۸/۲۰	۹/۴۳-۱۷/۱۰
گوشت گاو	۵۰	۰	۰	۰	۰	۰
مجموع	۵۴۰	۵۸	۴۷/۹۲	۳۸/۵۸	۳۶/۳۰	۷/۳۴-۱۷۲/۲۴

بحث

آنتی بیوتیک سولفانامید در گوشت مرغ با ۲۵ درصد، شیر با ۲۰ درصد، کبد گاو با ۱۲ درصد، کلیه گاو با ۱۲ درصد، گوشت گوسفند با ۶ درصد، تخم مرغ با ۵ درصد، کبد

مواد غذایی باید عاری از هرگونه مواد تهدیدکننده سلامت انسان از جمله آنتی بیوتیک ها باشند (۱). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بیشترین درصد باقی مانده

پژوهش Mehtabuddin و همکاران در سال ۲۰۱۲ در کشور پاکستان در ۴۳ درصد از گوشت طیور و ۳۰ درصد از تخم‌مرغ‌های مورد بررسی با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، آنتی‌بیوتیک سولفانامید تشخیص داده شد که غلظت این آنتی‌بیوتیک در نمونه‌های تخم‌مرغ برابر با $0/02-0/08$ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش گردید (۱۱). همچنین در پژوهش Cheong و همکاران در کشور مالزی در سال ۲۰۱۰ میزان غلظت سولفانامیدها در عضله سینه جوجه‌های گوشتی برابر با $0/062-0/06$ میکروگرم بر گرم و در نمونه‌های کبد جوجه‌های گوشتی برابر با $0/193-0/08$ میکروگرم بر گرم گزارش نمودند (۱۲). تفاوت‌های مشاهده‌شده بین نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر و مطالعات مشابه در ایران و کشورهای دیگر می‌تواند ناشی از عوامل متفاوتی از جمله روش بررسی، روش نمونه‌گیری، نحوه آماده‌سازی نمونه‌ها، فصل سال، نوع ماده غذایی مصرفی، نحوه نمونه‌گیری، تعداد نمونه و وجود و درصد بیماری ورم پستان در گله‌های گاو شیری باشد که مقایسه را مشکل خواهد کرد. از نقاط قوت روش ELISA در این پژوهش می‌توان به مواردی همچون سریع، ساده و ارزان قیمت بودن این روش اشاره کرد. در مقابل، یکی از نقاط ضعف این روش آن است که نسبت به روش‌های پیشرفته دستگاهی همچون کروماتوگرافی با کارایی بالا و کروماتوگرافی گازی از حساسیت کمتری برخوردار می‌باشد (۱۰، ۹، ۱).

نتیجه‌گیری

نتایج حاکی از آن هستند که باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک سولفانامید در نمونه‌های مورد بررسی آمار بالایی را نشان می‌دهد و می‌تواند خطرات بالقوه‌ای را برای مصرف‌کنندگان و به‌ویژه افراد در حال رشد از جمله نوزادان، کودکان و زنان

گوسفند با ۴ درصد و کلیه گوسفند با ۲ درصد می‌باشد. مطالعات مختلفی در نقاط مختلف دنیا در مورد باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک‌ها در مواد غذایی صورت گرفته است؛ به‌عنوان مثال در پژوهشی که توسط Kaya و Filazi در سال ۲۰۱۰ در کشور ترکیه انجام شد، میزان باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین، اکسی‌تتراسایکلین و جنتامایسین در ۲۴۰ نمونه شیر خام و پاستوریزه به روش کروماتوگرافی لایه نازک اندازه‌گیری گردید. در این پژوهش بیشترین میزان اکسی‌تتراسایکلین معادل $150/4$ میکروگرم در لیتر و پنی‌سیلین برابر با $33/5$ گرم در لیتر در شیر پاستوریزه بود و بیشترین میزان نئومایسین معادل $7688/4$ میکروگرم در لیتر در شیر خام تحویلی به کارخانه به‌دست آمد (۸، ۹). همان‌طور که نتایج پژوهش حاضر و سایر مطالعات نشان می‌دهند، بین $1/7$ تا 50 درصد از نمونه‌های شیر حاوی آنتی‌بیوتیک می‌باشند که این امر می‌تواند خطرات بالقوه‌ای را برای سلامت مصرف‌کنندگان به‌ویژه کودکان و نوزادان به همراه داشته باشد. در پژوهش حاضر ۲۵ درصد از گوشت طیور حاوی سولفانامید بودند؛ در صورتی که در بررسی Matea و همکاران در سال ۲۰۰۷ در کشور رومانی از ۲۵ نمونه گوشت جوجه‌های خریداری‌شده از فروشگاه‌ها، با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا هیچ آنتی‌بیوتیک سولفانامیدی تشخیص داده نشد که این امر ناشی از اجرای قوانین اصولی در مصرف بهینه داروهای دامپزشکی و رعایت زمان پرهیز از مصرف پس از آخرین تجویز دارو می‌باشد. این پژوهشگران مشخص نمودند که سولفانامیدها تأثیری منفی بر غده تیروئید دام‌ها می‌گذارند و در نهایت منجر به ایجاد سرطان در آن‌ها می‌شوند. شایان ذکر است که گزارش‌هایی مبنی بر احتمال ایجاد سرطان در انسان در اثر مصرف مواد غذایی حاوی این آنتی‌بیوتیک وجود دارد (۱۰). از سوی دیگر، در

پرورش دام و طیور صورت گیرد.

تضاد منافع

نویسندگان هیچ گونه تضاد منافی ندارند.

باردار به همراه داشته باشد. از سوی دیگر، مشخص شد که سولفانامیدها باعث ایجاد سرطان در انسان در اثر مصرف مواد غذایی حاوی این آنتی بیوتیکها خواهند شد؛ بنابراین لازم است نظارت و کنترل بیشتری با هدف کاهش باقی مانده های آنتی بیوتیکی در فرآورده های دامی در مراکز

References

1. Karim G, Kiaei S, Rokni N, Razavi RS. Antibiotic residue contamination in milk during last forty years in Iran. *J Food Hygiene*. 2012; 1(1):23-30. [in Persian]
2. Nero LA, Mattos MR, Beloti V, Barros MA, Franco BD. Residues of antibiotics in raw milk from four dairy regions in Brazil. *Cienc Tecnol Aliment Campinas*. 2007; 27:391-3.
3. de Oliveira LP, Soares Barros LS, Silva VC, Cirqueira MG. Microbiological quality and detection of antibiotic residue in raw and pasteurized milk consumed in the Recôncavo area of the State of Bahia, Brazil. *J Food Proc Technol*. 2012; 3(1):137.
4. Draisci R, delli Quadri F, Achene L, Volpe G, Palleschiand L, Palleschi G. A new electrochemical enzyme-linked immunosorbent assay for the screening of macrolide antibiotic residues in bovine meat. *Analyst*. 2001; 126(11):1942-6.
5. Mascher A, Lavagnoli S, Curatolo M. Determination of residual oxytetracycline in honey with an immunoassay kit. *Apidologie*. 2001; 27(4):229-33.
6. Manafi M, Hesari J, Rafat SA. Monitoring of antibiotic residue in raw and pasteurised milk in East Azerbaijan of Iran by delvotest method. *J Food Res*. 2010; 20(2):125-31.
7. Yamaki M, Berruga MI, Althaus RL, Molina MP, Molina A. Occurrence of antibiotic residues in milk from Manchega ewe dairy farms. *J Dairy Sci*. 2004; 87(10):3132-7.
8. Kaya SE, Filazi A. Determination of antibiotic residues in milk samples. *Kafkas Univ Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2010; 16:S31-5.
9. Matea CT, Bele C, Dulf F. Determination of sulfonamides in chicken meat by solid phase extraction and high performance liquid chromatography. *Agriculture*. 2008; 63:563-8.
10. Mehtabuddin A, Ahmad T, Nadeem S, Tanveer ZI, Arshad J. Sulfonamide residues determination in commercial poultry meat and eggs. *J Anim Plant Sci*. 2012; 22(2):473-8.
11. Cheong CK, Hajeb P, Jinap S, Ismail-Fitry MR. Sulfonamides determination in chicken meat products from Malaysia. *Int Food Res*. 2010; 17:885-92.



Original Article

Determination of Sulfonamide Antibiotic Residues in Milk, Meat, and Egg Using ELISA Method

Ebrahim Rahimi^{1*}, Amir Shakerian¹, Aida Asadi³

¹ Professor, Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

² MSc, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

³ Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

Received: 27 Mar 2016

Accepted: 31 Aug 2017

Abstract

Introduction: Nowadays, antibiotics residues are one of the major issues that food industry has to confront. Various side effects due to inappropriate application of antibiotics could be mentioned, including metabolic disorders, toxic and stimulatory reactions, as well as hypersensitivity and allergy.

Materials and Methods: This descriptive study was performed on 540 samples of raw cow milk (n= 80), cow meat (n= 50), sheep meat (n= 50), cow liver (n= 50), cow kidney (n= 50), sheep liver (n= 50), sheep kidney (n= 50), chicken meat (n= 80), and hen eggs (n= 80). The samples were randomly collected from the milk collecting centers, slaughterhouses, and butcheries in addition to markets in Esfahan, Iran, during 2013-2014. Finally, the amount of sulfonamide residues in samples was investigated using the ELISA method.

Results: The results of this study demonstrated that 58 samples (10.48%) out of all the 540 ones contained sulfonamide antibiotic. Regarding the different samples, 25%, 20%, 12%, 12%, 6%, 5%, 4%, and 2% of sheep meat, cow kidney, cow liver, cow milk, chicken meat, sheep liver, hen egg, and sheep kidney samples were contaminated by sulfonamides, respectively.

The concentration of antibiotic residues in the samples was obtained as 7.34-172.24 ng/g. Furthermore, the level of sulfonamide antibiotic residues was significantly higher in chicken meat, compared to the other products ($P<0.05$).

Conclusion: According to the findings of the present study, it is essential that all the food products with animal origin, such as meat, raw milk, and eggs be evaluated extensively and accurately concerning the drug residues.

Keywords: Egg, ELISA, Meat, Raw milk, Sulfonamide antibiotic residues

* **Corresponding Author:** Ebrahim Rahimi, Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran. Tel : 03833361045; Email: ebrahimrahimi55@yahoo.com