DOI: 10.22055/IVJ.2020.212004.2214
DOR: 20.1001.1.17356873.1400.17.4.1.8

مقایسه‌ی دو روش پایش بقایای آنتی‌بیوتیک در لاشه‌ی جوجه‌های گوشتی

سارا بصیری[1*]، کرامت اساسی[2]، حمیدرضا هاشمی‌تبار[3]، سعید خالدیان[4] و سید شهرام شکرفروش[5]

[1] استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
[2] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
[3] دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
[4] دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
[5] استاد گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۴ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۶

چکیده

این تحقیق به منظور مقایسه‌ی حساسیت روش‌های پلیت هفت‌گانه و کیت تجاری در تشخیص آنتی‌بیوتیک‌ها در شرایط آزمایشگاهی و لاشه‌ی طیور انجام شد. در مرحله‌ی اول غلظت‌های مختلف پنج آنتی‌بیوتیک پرکاربرد در پرورش طیور، تهیه و حساسیت هر دو روش در تشخیص آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله‌ی بعد، جوجه‌های گوشتی ۲۰روزه پس از طی دوره‌ی تطبیق‌پذیری و تغذیه با جیره‌ی پایه‌ی فاقد آنتی‌بیوتیک، به ۵ گروه تقسیم و تحت تجویز دوزهای درمانی آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین، انروفلوکساسین، فلورفنیکل و فسفومایسین از طریق آب آشامیدنی قرار گرفتند و یک گروه نیز به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. روز قطع آنتی‌بیوتیک (روز صفر) و روزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ پس از آن، از هر گروه، ۳ جوجه ذبح شدند و از عضله ران، کبد و کلیه نمونه‌برداری شد و وجود باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی در آن‌ها با دو روش ذکر شده مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که حساسیت کیت تجاری در تشخیص بقایای آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در شرایط آزمایشگاهی بیشتر از لاشه طیور است. در روش پلیت هفت‌گانه، قابلیت تشخیص باقیمانده‌ها در کبد و کلیه بیشتر بود. کیت تجاری تنها تا ۲۴ ساعت پس از قطع دارو قادر به تشخیص بود و پس از آن تقریباً همه‌ی نمونه‌ها را منفی تشخیص داد. پلیت هفت‌گانه تا سه روز پس از قطع دارو اکثر نمونه‌ها را مثبت تشخیص داد. این تحقیق نشان داد که کارآیی روش پلیت هفت‌گانه بیش از کیت تجاری می‌باشد و به منظور افزایش کارایی در لاشه مرغ، ، پیشنهاد می‌شود این روش بر روی کبد و کلیه چهار لاشه از هر گله انجام شود (جمعاً ۸ نمونه) و در صورت مثبت شدن حداقل چهار نمونه، گله از نظر بقایای آنتی‌بیوتیک مثبت در نظر گرفته شده و به منظور تأیید نمونه‌ها، از روش HPLC استفاده گردد.

کلمات کلیدی: پلیت هفت‌گانه، کیت تجاری، بقایای آنتی‌بیوتیکی، جوجه‌های گوشتی

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها، متابولیت‌های ثانویه میکروارگانیسم‌ها (اغلب قارچ‌ها و گاهی باکتری) هستند که از راه مکانیسم‌هایی مانند مهار ساخت دیواره‌ی سلولی، مهار سنتز پروتئین، اختلال در نفوذپذیری غشای سلولی و اختلال در

*نویسنده مسئول : سارا بصیری، استادیار بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
E-mail: basiri@shirazu.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

متابولیسم اسیدهای نوکلئیک قادر به جلوگیری از رشد یا از بین بردن برخی از باکتری‌ها هستند (Kapoor et al, 2017). از آنتی‌بیوتیک‌ها برای اهدافی چون پیشگیری و کنترل بیماری‌های دامی و تحریک رشد استفاده می‌شود. مصرف بی‌رویه‌ی آنتی‌بیوتیک و عدم رعایت دوره‌ی دفع دارو، به وجود باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی در محصولاتی چون شیر، تخم‌مرغ و محصولات گوشتی منجر می‌گردد. وجود باقی‌مانده‌ی دارویی در مواد غذایی، انسان را با مخاطرات جدی از جمله اختلال در فلور میکروبی روده، بروز آلرژی، ایجاد مقاومت دارویی و اثرات سرطان‌زایی، مواجه می‌سازد (Kirbis, 2007).

مصرف گوشت سفید و خصوصا گوشت طیور در تمام دنیا در حال افزایش است. میزان مصرف جهانی گوشت طیور بین سال‌های ۱۹۹۰ تا ۲۰۰۹، ۷۵ درصد افزایش داشته است (Henchion et al, 2014). پیش‌بینی می‌شود سرانه‌ی مصرف گوشت طیور در سال ۲۰۳۰ به ۱۷/۲ کیلوگرم به ازای هر فرد برسد (Bruinsma, 2003). این روند افزایشی مصرف، مرغداران را وادار به تولید بیش‌تر و کاهش مدت زمان پرورش طیور نموده است (Muaz et al, 2018). انتخاب سویه‌های ژنتیکی مطلوب، فرمولاسیون مناسب جیره‌ی غذایی و اقدامات بهداشتی مناسب در مزارع پرورش طیور و به کارگیری روش‌های پیش‌گیری از ابتلا به بیماری‌ها از اقداماتی است که مرغداران برای رسیدن به اهداف مطلوب تولید از آن‌ها بهره می‌جویند (Apata, 2009).

در پرورش طیور از آنتی‌بیوتیک‌ها به منظور تسریع رشد و پیش‌گیری از بروز بیماری‌ها استفاده می‌شود. تتراسایکلین، کلرامفنیکل و پروکائین پنی‌سیلین در غلظت‌های کم‌تر از دوز درمانی، به منظور تحریک رشد و افزایش تولید تخم، در صنعت طیور کاربرد دارند (Kabir et al, 2004; Mehdizadeh et al, 2010). در صورت عدم رعایت دوره‌ی دفع این آنتی‌بیوتیک‌ها، امکان باقی‌ماندن مقادیری از آن‌ها در بافت و احشای طیور وجود دارد (Marshall and Levy, 2011). خطرات وجود آنتی‌بیوتیک‌ها، محققان مختلف را بر آن داشت تا به بررسی وجود باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی در گوشت و احشای طیور بپردازند. وجود باقی‌مانده‌های اکسی‌تتراسایکلین، انروفلوکساسین، کوئینون‌ها، کلرامفنیکل، آموکسی‌سیلین و ... در گوشت طیور در مطالعات قبلی به اثبات رسیده است (Adewuyi et al, 20011; Er et al, 2013; Hind et al, 2014; Salehzadeh et al, 2006; San Martin et al, 2009).

روش‌های مختلفی برای تشخیص باقی‌مانده‌ی آنتی-بیوتیک‌ها در مواد غذایی شناسایی شده‌اند. از این میان می‌توان به روش‌های مهار میکروبی در محیط آگار، کیت‌های آنتی‌بیوتیکی، الایزا، کروماتوگرافی، بیوسنسورها و غیره اشاره نمود (Kaya and Filazi, 2010). روش‌های مهار میکروبی از قدیمی‌ترین روش‌های غربالگری حضور باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیک در مواد غذایی است. این روش‌ها امروزه نیز به دلیل ارزانی و سهولت استفاده کاربرد زیادی دارند (Javadi et al, 2009). آزمون پلیت چهارگانه برای اولین بار در سال ۱۹۸۰ و بر اساس حساسیت *باسیلوس سابتیلیس* و *میکروکوکوس لوتئوس* به ترکیبات ضدمیکروبی مورد استفاده قرار گرفت (Bogaerts and wolf, 1980). پس از آن، محققین به منظور افزایش حساسیت آزمون‌های غربالگری، با ایجاد تغییر در باکتری‌های مورد استفاده، روش‌هایی چون پلیت پنج‌گانه (Gaudin et al, 2010) و شش‌گانه (Myllyniemi et al, 2001) را طراحی و مورد استفاده قرار دادند. امروزه، کیت-های تجاری و آزمون‌های مشابه برای غربالگری باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک‌ها در گوشت، ماهی و تخم‌مرغ طراحی شده، که به گفته سازندگان، به طور خاص به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها حساس است. هر چند برخی مطالعات به عدم حساسیت مطلوب این کیت‌ها اشاره دارد (Okerman et al, 2004; Pikkemaat et al, 2009).

با توجه به اهمیت بالای باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی در لاشه و احشای طیور و وجود تنوعی از روش‌های غربالگری، در این مطالعه به مقایسه حساسیت دو روش

غربالگری پلیت هفت‌گانه و کیت تجاری در تشخیص باقی‌مانده برخی از مهمترین آنتی‌بیوتیک‌های مصرفی در صنعت طیور در طی دوره‌های مختلف پس از قطع دارو پرداخته شد.

مواد و روش کار

تهیه محلول‌های آنتی‌بیوتیکی با غلظت‌های مختلف

غلظت‌های مختلف پنج آنتی‌بیوتیک (با خلوص آزمایشگاهی، سیگما، امریکا) رایج در صنعت پرورش طیور شامل اکسی‌تتراسایکلین (۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۱۰۰۰، ۱۰/۰۰۰، ۵۰/۰۰۰ و ۱۰۰/۰۰۰µg/L)، فسفومایسین (۵۰، ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۵۰۰۰، ۱۰/۰۰۰، ۵۰/۰۰۰ و ۱۰۰/۰۰۰µg/L)، انروفلوکساسین (۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۱۰۰۰، ۱۰/۰۰۰، ۵۰/۰۰۰ و ۱۰۰/۰۰۰µg/L)، کلرامفنیکل (۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۱۰/۰۰۰، ۵۰/۰۰۰ و ۱۰۰/۰۰۰µg/L)، و فلورفنیکل (۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۱۰۰۰، ۱۰/۰۰۰، ۵۰/۰۰۰ و ۱۰۰/۰۰۰µg/L)، بر اساس حداکثر مجاز باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی[1] تهیه شد (Codex Alimentarius, 2018).

ارزیابی حساسیت کیت تجاری در شرایط آزمایشگاهی

بر اساس دستور شرکت سازنده، صد میکرولیتر از محلول‌های آنتی‌بیوتیکی تحت شرایط سترون به آمپول‌های کیت انتقال داده شد و پس از ۲۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق و دو مرحله شست و شو، در دمای ۰/۵± ۶۴ درجه‌ی سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شد.. بعد از گذشت ۲ ساعت و چهل دقیقه و با مشاهده‌ی تغییر رنگ از بنفش به زرد در کنترل منفی، نتایج نمونه‌ها قرائت و ثبت گردید.

ارزیابی حساسیت روش مهار میکروبی پلیت هفت‌گانه در شرایط آزمایشگاهی

حساسیت باکتری‌های مختلف نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها متفاوت می‌باشد (باسیلوس سابتیلیس: حساس به تتراسایکلین‌ها، پنی‌سیلین‌ها، آمینوگلیکوزیدها و سولفانامیدها؛ میکروکوکوس لوتئوس حساس به ماکرولیدها و اشریشیا کلای: حساس به کوئینولون‌ها). به علاوه، آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در pHهای مختلف انتشار در آگار و اثرگذاری متفاوتی دارند (تتراسایکلین‌ها و پنی‌سیلین‌ها: pH=۶، سولفانامیدها: pH=۷/۲، آمینوگلیکوزیدها، ماکرولیدها، انروفلوکساسین و فلومکوئین: pH=۸)، لذا به منظور تشخیص آنتی‌بیوتیک‌های مختلف و از دست ندادن نمونه‌های آلوده، از روش پلیت هفت‌گانه استفاده می‌شود. بدین منظور از محیط کشت پلیت کانت آگار (PCA) در سه دامنه‌ی pH ۶، ۷/۲ و ۸ بر اساس Table 1 استفاده شد. ابتدا pH محیط با اسید کلریدریک و سود ۰/۱ نرمال تنظیم و در اتوکلاو، سترون شد باکتری‌های مورد نظر به تفکیک در محیط تریپتوز سوی براث سترون کشت داده شد و پس از یک شبانه‌روز گرم‌خانه‌گذاری در ۳۷ درجه‌ی سلسیوس، غلظت هر باکتری با روش مک‌فارلند تعیین گردید. میزان مشخصی از هر یک از باکتری‌های مورد نظر به محیط کشت سترون (دمای حدود ۴۷ درجه‌ی سلسیوس) تلقیح شد تا غلظت باکتری در محیط کشت به حدود 10^6 واحد تشکیل دهنده پرگنه در هر میلی‌لیتر برسد (National Veterinary Instructions, 1395).

Table 1: Bacteria and pH of the culture medium used in the seven plate microbial inhibition method

Bacterial strain	pH
Bacillus subtilis (PTCC 1023)	6
Bacillus subtilis (PTCC 1023)	7.2
Bacillus subtilis (PTCC 1023)	8
Micrococcus luteus (PTCC 1110)	8
E.coli (PTCC 1533)	6
E.coli (PTCC 1533)	8
Staphylococcus aureus (PTCC 1337)	7.2

[1] Maximum Residue levels (MRL)

محیط کشت تلقیح شده، در پلیت سترون ریخته شد و پس از بستن آگار، دیسک‌های کاغذی استریل بر سطح آن قرار داده شدند. ده میکرولیتر از هر یک از محلول‌های آنتی‌بیوتیکی بر روی دیسک‌ها قرار داده شد. پلیت‌ها نیم ساعت در دمای اتاق و در زیر هود میکروبی گذاشته تا محلول‌ها در آگار انتشار یابند، سپس به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۱±۳۵ درجه‌ی سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شدند. وجود (مثبت) یا عدم وجود (منفی) هاله مهاری رشد در اطراف دیسک‌ها مورد بررسی و نتایج ثبت گردید.

ارزیابی حساسیت روش مهار میکروبی پلیت هفت‌گانه و کیت تجاری در دام زنده

پرورش و تیمار جوجه‌های گوشتی

۱۲۵ قطعه جوجه‌ی گوشتی ۲۰ روزه سویه‌ی راس ۳۰۸ خریداری و به منظور تطبیق با شرایط محیطی، به مدت ۵ روز در شرایط معمول با دما، و تهویه کنترل شده و نوردهی ۲۴ ساعته نگهداری و با جیره‌ی پایه فاقد آنتی‌بیوتیک تغذیه شدند. سپس، جوجه‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۲۵ قطعه‌ای تقسیم و به مدت ۵ روز به شرح زیر تحت تجویز آنتی‌بیوتیک از طریق آب آشامیدنی قرار گرفتند.

گروه ۱) بدون مصرف آنتی‌بیوتیک (کنترل منفی).

گروه ۲) دریافت دوز درمانی (۱ گرم در لیتر) اکسی-تتراسایکلین (کیمیافام، ایران).

گروه ۳) دریافت دوز درمانی (۱۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن پرنده) فوزباک (فسفومایسین) (رویان‌دارو، ایران).

گروه ۴) دریافت دوز درمانی (۱ میلی‌لیتر در لیتر) انروفلوکساسین (رویان‌دارو، ایران).

گروه ۵) دریافت دوز درمانی (۱ میلی‌لیتر در لیتر) فلورفنیکل (رویان‌دارو، ایران).

بلافاصله پس از قطع آنتی‌بیوتیک (روز صفر) و روزهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ پس از قطع آنتی‌بیوتیک از هر گروه، ۳ جوجه انتخاب و ذبح شدند و از عضله‌ی ران سمت راست، کبد و کلیه نمونه‌برداری شد.

عصاره‌گیری از گوشت و بافت

سطح عضله و بافت‌های کبد و کلیه با آب مقطر شسته و به روش سانتریفیوژ (ده دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه) عصاره‌گیری صورت گرفت. به منظور حذف اثر احتمالی ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی موجود در گوشت، شیرابه‌های به دست آمده، به مدت پانزده دقیقه در حمام آب گرم ۵۸ درجه‌ی سلسیوس قرار داده شدند. سپس مجدداً به مدت پنج دقیقه با همان سرعت سانتریفیوژ شده و از عصاره به دست آمده، برای انجام آزمایشات بعدی استفاده شد (Hosseinkhan nazer et al, 1996).

ارزیابی باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی در لاشه‌ی مرغ به‌وسیله‌ی کیت تجاری

صد میکرولیتر از عصاره‌ی بافت یا عضله با رعایت شرایط سترون، به کیت منتقل و مراحل طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. از عصاره‌ی گوشت فاقد ترکیبات ضدمیکروبی و نوترینت براث حاوی آنتی‌بیوتیک به عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده شد. هر گونه تغییر رنگ به زرد در نمونه‌ها پس از سه ساعت و ده دقیقه، بررسی و موارد مثبت و منفی یادداشت شد.

ارزیابی باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی به روش مهار میکروبی پلیت هفت‌گانه

ده میکرولیتر از هر یک از عصاره‌های بافتی را بر روی دیسک‌های کاغذی موجود در سطح پلیت‌های آگار حاوی باکتری (مطابق Table 1) قرار داده و پس از نیم ساعت نگهداری در زیر هود میکروبی و جذب شیرابه بافتی توسط آگار، پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲±۳۵ درجه‌ی سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شدند و وجود (+) یا عدم وجود (-) هاله مهاری در اطراف دیسک‌ها ثبت گردید (National Veterinary Instructions, 1395).

نتایج

ارزیابی حساسیت روش مهار میکروبی پلیت هفت‌گانه در شرایط آزمایشگاهی

نتایج آزمایشگاهی آزمون‌های پلیت هفت‌گانه و کیت تجاری در Tables 2 & 3 آورده شده است. محدوده‌ی تشخیص پلیت هفت‌گانه در آنتی‌بیوتیک‌های اکسی تتراسایکلین، انروفلوکساسین، فلورفنیکل، کلرامفنیکل و فسفومایسین، به ترتیب ۱۰/۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰/۰۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۰/۰۰۰µg/L بود. انروفلوکساسین و کلرامفنیکل، بیشترین حساسیت را در این روش نشان دادند.

Table 2: presence (+) or absence (-) of inhibitory halo against different concentrations of Oxytetracycline, Enrofloxacin, Fluorfenicol, Chloramphenicol, and Fosfomycin in seven plate microbial inhibition method

Antibiotics	Antibiotic concentrations (µg/L)											
	2.5	5	10	25	50	100	200	400	1000	10,000	50,000	100,000
Oxytetracycline	N	N	−	−	−	−	−	−	−	+*	+	+
Enrofloxacin	N	N	−	−	−	−	−	−	+*	+	+	+
Florfenicol	N	N	−	−	−	−	−	−	−	−	+*	+
Chloramphenicolol	−	−	−	−	−	−	−	−	+*	+	+	+
Antibiotics	Antibiotic concentrations (µg/L)											
	50	125	250	500	1000	2000	5000	10000	50000	100000		
Fosfomycine	−	−	−	−	−	−	−	+*	+	+		

*: حد اندازه‌گیری (LOQ)

N: اندازه‌گیری نشده

Table 3 - Sensitivity of commercial kits to different concentrations of Oxytetracycline, Enrofloxacin, Fluorfenicol, Chloramphenicol, and Fosfomycin

Antibiotics	Antibiotic concentrations (µg/L)											
	0	2.5	5	10	25	50	100	200	400	1000	2000	4000
Oxytetracycline	−	N N	N	−	−	+*	+	+	+	+	−	−
Enrofloxacin	−	N	N	−	−	−	−	+*	+	+	+	+
Florfenicol	−	N	N	−	−	−	-	+*	+	+	+	+
Chloramphenicolol	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+*
Antibiotics	Antibiotic concentrations (µg/L)											
	0	50	125	250	500	1000	1500	2000	4000	5000		
Fosfomycine	−	−	−	−	+*	+	+	+	+	+		

*: حد اندازه‌گیری (LOQ)

N: اندازه‌گیری نشده

با مقایسه‌ی داده‌های Table 2 & 3 مشخص گردید که محدوده‌ی تشخیص کیت برای اکسی‌تتراسایکلین (µg/L ۵۰)، انروفلوکساسین (µg/L ۲۰۰)، فلورفنیکل (۲۰۰µg/L)، کلرامفنیکل (µg/L ۴۰۰۰) و فسفومایسین (۵۰۰µg/L) از پلیت هفت‌گانه پایین‌تر است. کم‌ترین محدوده‌ی تشخیص (بیش‌ترین حساسیت) مربوط به اکسی‌تتراسایکلین بود.

با مقایسه‌ی محدوده‌ی تشخیصی کیت با حداکثر مجاز باقی‌مانده هر یک از آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی (Table 4)، می‌توان دریافت که محدوده‌ی تشخیص اکسی-تتراسایکلین، کم‌تر از MRL است. محدوده‌ی تشخیص انروفلوکساسین، در کبد معادل MRL و در عضله بیش‌تر و در کلیه کم‌تر از MRL بود. محدوده‌ی تشخیص کلرامفنیکل بیش از MRL و محدوده‌ی تشخیص فسفومایسین در محدوده‌ی MRL است. محدوده‌ی تشخیص فلورفنیکل در عضله از MRL بیش‌تر و در کبد و کلیه از MRL کم‌تر است. محدوده‌ی تشخیصی پلیت هفت‌گانه در کلیه‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها از MRL بیش‌تر است.

Table 4- Detection limits of Oxytetracycline, Enrofloxacin, Fluorfenicol, Chloramphenicol, and Fosfomycin in seven plate method and commercial kits and their MRL (µg / kg) in poultry.

Antibiotic	Sample	MRL	Commercial kit	Kit manufacturer claims	Seven Plate
Oxytetracycline	Muscle	100	50	100	10,000
	Liver	300			
	Kidney	600			
Chloramphenicol	Muscle	0	2000		1000
Enrofloxacin	Muscle	100	200	600>	1000
	Liver	200			
	Kidney	300			
Fosfomycin	Muscle	500	500	1500>	10,000
	Liver	500			
	Kidney	500			
Fluorfenicol	Muscle	100	200	100	50,000
	Liver	2,500			
	Kidney	750			

ارزیابی حساسیت روش مهار میکروبی پلیت هفت‌گانه و کیت در لاشه

نتایج آزمون مهار میکروبی پلیت و کیت در بافت، نشان داد که بافت کبد و کلیه محیط مناسب‌تری برای تشخیص باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها بوده و مدت بقای آنتی‌بیوتک‌ها در این بافت‌ها بیش‌تر از عضله است. در ارتباط با فلورفنیکل، تفاوتی بین اندام‌های مختلف دیده نشد. کیت تجاری تا یک روز پس از قطع دارو، قادر به تشخیص باقی-مانده‌ی اکسی‌تتراسایکلین، انروفلوکساسین و فلورفنیکل در بافت کبد و کلیه بود ولی فسفومایسین (فوزباک) تنها در روز قطع آنتی‌بیوتیک تشخیص داده شد. انروفلوکساسین و فلورفنیکل تا یک روز پس از قطع آنتی‌بیوتیک در عضله تشخیص داده شدند ولی نتایج اکسی‌تتراسایکلین و فسفومایسین در تکرارهای مختلف، متغیر بود. انروفلوکساسین در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های دیگر برای مدت بیش‌تری در عضله و کبد قابل ردیابی بود و تا روز شش پس از قطع دارو مواردی از حضور آن در عصاره‌های بافتی مشاهده شد. با مقایسه‌ی اثرگذاری باقی‌مانده‌های دارویی بر میکروارگانیسم‌های مختلف (*اشریشیاکلای*، *باسیلوس سابتیلیس*، *میکروکوکوس لوتئوس* و *استافیلوکوکوس آرئوس*) در pHهای مختلف (۶، ۷/۲ و ۸) در روز صفر (روز قطع آنتی‌بیوتیک)، مشخص شد که کلیه آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر بیش‌ترین تاثیر را بر روی *اشریشیا کلای* با pH ۶ داشتند. انروفلوکساسین در روز صفر بر روی کلیه میکروارگانیسم‌ها در تمامی pHها اثر مهاری بارزی را نشان داد. با توجه به تفاوت‌های مشاهده شده در نتایج تکرارهای مختلف (خصوصاً در نمونه‌های عضله) و به منظور ارائه‌ی راهکاری مناسب برای مقایسه‌ی

بهینه‌ی روش‌های مهار میکروبی، در Table 5 به مقایسه‌ی نتایج بر سه اصل مثبت شدن ۵۰ درصد نمونه‌ها، مثبت شدن نمونه‌های کبد و مثبت شدن نمونه‌های کلیه پرداخته شد.

Table 5: Detectability of seven plate method and commercial kits on different days of chickens treatment with Oxytetracycline, Fosfomycin (fuzbac), Enrofloxacin and Fluorfenicol based on positivity of at least 50% of total samples, liver and kidney samples

Day	Test	Fluorfenicol			Enrofloxacin			Fosfomycin (fuzbac)			Oxytetracycline		
		Kidney	Liver	50% of samples	Kidney	Liver	50% of samples	Kidney	Liver	50% of samples	Kidney	Liver	50% of samples
0	Seven plate	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Commercial Kit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	Seven plate	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+
	Commercial Kit	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	+
2	Seven plate	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Commercial Kit	-	-	-	-	-	-	–	–	–	–	–	–
3	Seven plate	+	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Commercial Kit	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4	Seven plate	–	–	–	+	–	+	–	–	–	–	–	–
	Commercial Kit	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

در روزهای ۵ و ۶ کلیه نمونه‌ها منفی تشخیص داده شدند.

کیت تجاری تنها تا ۲۴ ساعت پس از قطع دارو قادر به تشخیص آلودگی آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین، فلورفنیکل و انروفلوکساسین می‌باشد و پس از آن تقریبا همه نمونه‌ها را منفی تشخیص می‌دهد. روش پلیت هفت-گانه تا سه روز پس از قطع دارو اکثر نمونه‌ها را مثبت تشخیص می‌دهد و از روز چهارم تقریباً همه نمونه‌ها را منفی تشخیص می‌دهد.

بحث

به دلیل اهمیت بالای باقیمانده‌های دارویی و خصوصاً آنتی‌بیوتیک‌ها، مقایسه حساسیت روش‌های غربالگری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مهار میکروبی به روش پلیت و کیت‌های تجاری از متداول‌ترین این روش‌ها است (Gondová et al., 2014). صحت و دقت روش مهار میکروبی در پلیت، به ماهیت ترکیب ضدمیکروبی، نوع باکتری مورد آزمون، غلظت ترکیب ضد میکروبی، بافت مورد استفاده، درجه‌ی حرارت و زمان گرمخانه‌گذاری بستگی دارد (Kavanagh, 1963; Koenen-Dierick and De Beer, 1998). در مطالعه‌ی حاضر، قابلیت ردیابی باقی-مانده‌ی اکسی‌تتراسایکلین، فسفومایسین و انروفلوکساسین در کبد و کلیه از عضله بیشتر بود. مطالعات نشان داده‌اند که غلظت سیپروفلوکساسین و انروفلوکساسین در کبد زودتر از عضلات افزایش می‌یابد و باقی‌مانده‌ی آن‌ها برای مدت طولانی‌تری در کبد قابل ردیابی است. محققین بافت

کبد را به عنوان اندام هدف جهت تشخیص باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی معرفی نمودند (San Martin et al, 2009).

توزیع آنتی‌بیوتیک‌ها در عضلات مختلف طیور یکسان نمی‌باشد و غلظت برخی آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله انروفلوکساسین و فلوروکوئینولون‌ها در عضله‌ی سینه از عضله‌ی ران بیش‌تر است. ولی در مورد سایر آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است مقادیر باقی‌مانده در عضلات ران بیش‌تر باشد (Reyes-Herrera et al, 2005). این نتایج در اتخاذ تدابیر مناسب در انتخاب نمونه مناسب جهت ارزیابی باقی‌مانده‌ی آنتی‌بیوتیکی مفید است. pH یکی از فاکتورهای مهم در عملکرد روش مهار میکروبی است. تاثیر pH در تشخیص باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی بسته به نوع آنتی‌بیوتیک متفاوت است. قابلیت تشخیص سیپروفلوکساسین، سارافلوکساسین و انروفلوکساسین در pH=۸ و تشخیص فلوماکوئین، دیفلوکساسین و اکسولینیک اسید در pH=۶ بیشتر است (Okerman et al, 2007). در مطالعه‌ی حاضر pH=۶ بیش‌ترین حساسیت را در تشخیص باقی‌مانده‌ی کلیه‌ی آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده داشت.

در مطالعه‌ی حاضر کاربرد روش پلیت هفت‌گانه در تشخیص کلرامفنیکل و فلورفنیکل زیاد بود. کارایی و دقت بیشتر پلیت هفت‌گانه در مقایسه با روش‌های دارای شاخص‌های میکروبی کمتر در مطالعات دیگر نیز به اثبات رسیده است (Okerman et al, 2007). استفاده از شاخص‌های میکروبی بیش‌تر در محیط کشت آگار، امکان تشخیص گروه وسیع‌تری از آنتی‌بیوتیک‌ها را فراهم می‌سازد (Pikkemaat et al, 2009). در مطالعه‌ی حاضر *اشریشیا کلای* به کلیه‌ی آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی حساس بود. با انتخاب باکتری‌های مناسب، می‌توان حساسیت روش‌های مهار میکروبی را برای تشخیص آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر افزایش داد. محققین دریافتند که استفاده از محیط حاوی *اشریشیا کلای* قابلیت تشخیص ترکیبات کوئینولینی را افزایش می‌دهد، در حالی که پلیت حاوی *باسیلوس سرئوس* کمترین حساسیت را در تشخیص کوئینولون‌ها دارد. همچنین *باسیلوس سابتیلیس* برای تشخیص تتراسایکلین‌ها محیط مناسب‌تری است (Gaudin et al, 2004).

انروفلوکساسین در مقایسه با سایر آنتی‌بیوتیک‌ها برای مدت بیش‌تری در عضله و کبد قابل پیگیری بود و تا روز شش پس از قطع دارو مواردی از حضور آنتی‌بیوتیک در عصاره‌های بافتی مشاهده شد. این امر احتمالاً به دلیل ماهیت چربی دوستی انروفلوکساسین و تجمع بیشتر آن در بافت است که با نتایج مطالعات دیگر نیز هم‌خوانی دارد (Amjad et al, 2005).

بر اساس مطالعه‌ی حاضر محدوده‌ی تشخیص اکسی‌تتراسایکلین، انروفلوکساسین، فسفومایسین، کلرامفنیکل و فلورفنیکل در روش پلیت هفت‌گانه بیشتر از MRL است. حد تشخیص در کیت تجاری برای آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین، انروفلوکساسین، فسفومایسین و فلورفنیکل به ترتیب ۵۰، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۲۰۰ µg/Kg بود در حالی که ادعای شرکت سازنده برای این آنتی‌بیوتیک‌ها به ترتیب، ۱۰۰، بیش‌تر از ۶۰۰، بیش‌تر از ۱۵۰۰ و ۱۰۰ µg/Kg میکروگرم در کیلوگرم بود که نشان دهنده‌ی عدم تطابق در ادعای شرکت سازنده بود. حد تشخیص کیت تجاری برای عضلات در آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکساسین و فلورفنیکل کم‌تر از MRL بود. در برخی مطالعات نیز مواردی از این عدم تطابق با MRL مشاهده شد. کیت تجاری قادر به تشخیص بتالاکتام‌ها، لینکومایسین و داکسی‌سایکلین در حد MRL است ولی محدوده تشخیص کیت تجاری برای اکسی‌تتراسایکلین و کلرامفنیکل در عصاره‌ی بافت کلیه بیش از محدوده MRL است (Cantwell and Okeeffe, 2005). محدوده‌ی تشخیص کیت تجاری برای پنی‌سیلین‌ها (پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، اکزاسیلین و کلوکساسیلین) کمتر از MRL است (Popelka et al, 2003). کیت تجاری قادر به تشخیص باقی‌مانده‌ی تتراسایکلین‌ها در گوشت خوک نمی‌باشد (Pikkemaat et al, 2010). در مطالعه‌ی دیگر کیت تجاری تا سه روز پس از قطع آنتی‌بیوتیک، توانست باقی‌مانده‌ی سولفادیازین/تری‌متوپریم را در ماهی قزل‌آلا تشخیص دهد

در حالی که آزمون پلیت چهارگانه نتوانست در روز سوم، باقی‌مانده را شناسایی نماید (Kilinc et al, 2007). مهمترین ویژگی کیت تجاری در مقایسه با روش پلیت چهارگانه را در توانایی آن در تشخیص سولفانامیدها و برخی ماکرولیدها بیان کرد. محققین بیان نمودند که کیت تجاری نباید به عنوان ابزاری معجزه‌گر در جهت تشخیص کلیه‌ی انواع آنتی‌بیوتیک‌ها در هر نوع گوشتی در نظر گرفت (Okerman et al, 1998).

عصاره‌ی بافت (کلیه) تاثیر قابل توجهی بر حساسیت کیت تجاری در مقایسه با زمانی که از محلول آبی استفاده می‌شود دارد (Cantwell and Okeeffe, 2005). این امر در ارتباط با سفالکسین تایید نگردید ولی در ارتباط با سایر آنتی‌بیوتیک‌ها (آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین، پنی‌سیلین، کلرتتراسایکلین، داکسی سایکلین، جنتامایسین، فلومکوئین، کلرامفنیکل)، حساسیت کیت هنگامی که از عصاره‌ی بافتی استفاده شد، کمتر از محلول آبی بود. در مطالعه‌ی حاضر نیز استفاده از عصاره‌ی بافت، حساسیت کیت را در مقایسه با شرایط آزمایشگاهی کاهش داد.

استفاده از کیت تجاری روشی سریع می‌باشد که در برخی مواقع صرفا در تشخیص گروه خاصی از آنتی-بیوتیک‌ها کارایی دارد (Lohajova et al, 2006) و این در حالی است که روش مهار میکروبی پلیت با وجود زمان‌بر بودن، برای تمام گروه‌های آنتی‌بیوتیکی مؤثر است. البته نباید این نکته را از نظر دور داشت که روش‌های مهار میکروبی (کشت و کیت تجاری) قادر به تشخیص کلیه‌ی گروه‌های آنتی‌بیوتیکی در محدوده‌ی MRL نمی‌باشند.

با توجه به نتایج به دست آمده، هیچ یک از روش‌های غربالگری برای لاشه‌ی مرغ کارایی لازم را ندارند. با این حال با توجه به بیشتر بودن زمان ردیابی در روش پلیت هفت‌گانه در مقایسه با کیت تجاری، استفاده از آن مناسب‌تر است. به منظور افزایش حساسیت و قابلیت تشخیص بهتر موارد مثبت و منفی، پیشنهاد می‌شود از گله‌ی مورد آزمایش، چهار لاشه انتخاب و نمونه کبد و کلیه اخذ شود (۸ نمونه) و با روش پلیت هفت‌گانه تست شود. در صورتی که حداقل چهار نمونه مثبت بود، گله آلوده به آنتی‌بیوتیک تلقی گردد و نمونه‌ها برای تایید با روش‌های HPLC آزمایش گردند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شیراز و شرکت میلاد نور حقیقت به خاطر تأمین کیت کمال تشکر را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی ندارند.

منابع مالی

هزینه‌های این تحقیق از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه شیراز تأمین شده است.

منابع

Amjad, H., Iqbal, J., & Naeem, M. (2005). Analysis of Some Residual Antibiotics in Muscle, Kidney and Liver Samples of Broiler Chicken by Various Methods. Proceedings of the *Pakistan Academy of Sciences*, *42*(4), 223–231.

Adewuyi, G.O., Olatoye, O.I., Abafe, A.O., Otokpa, M.O., & Nkukut, N.K. (2011). High Performance Liquid Chromatographic Methods for Evaluation of Two Antibiotic Residues in Liver and Muscle of Broilers in Ibadan City, Southern Nigeria. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, *11*(6), 1–4.

Apata, D. (2009). Antibiotic resistance in poultry. *International Journal of Poultry Sciences, 8*, 404–408.

Bogaerts, R., & Wolf, F. (1980). A standardized method for the detection of residues of antibacterial substances in fresh meat. *Fleischwirtschaft, 60*, 672–674.

Bruinsma, J. (2003). World agriculture: towards 2015/2030: an FAO perspective. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Cantwell, H., & Okeeffe, M. (2005). Evaluation of the premi® test and comparison with thr One-plate test for the detection of antimicrobials in kidney. *Food Additives and Contaminants*, *23* (2), 120- 125.

Codex Alimentarius. (2018). Maximum resdue limits (MRL) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods. Pp: 1-46.

Er, B., Onurdağ, F.K., Demirhan, B., Özgacar, S.Ö., Öktem, A.B., & Abbasoğlu, U. (2013). creening of Quinolone Antibiotic Residues in Chicken Meat and Beef Sold in the Markets of Ankara, Turkey. *Poultry Sciences*, *92*, 2212–2215.

Gaudin, V., Maris, P., Fuselier, R., Ribouchon, J.L., Cadieu, N., & Rault, A. (2004). Validation of a microbiological method: the STAR protocol, a five-plate test, for the screening of antibiotic residues in milk. *Food Additives and Contaminants*, *21* (5), 422–433.

Gaudin, V., Hedou, C., Rault A., & Verdon E. (2010). Validation of a Five Plate Test, the STAR protocol, for the screening of antibiotic residues in muscle from different animal species according to European Decision 2002/657/EC, *Food Additives & Contaminants: Part A*, 27 (7), 935-952.

Gondová, Z., Kožárová, I., Poláková, Z., &Mad'arová, M. (2014). Comparison of Four Microbiological Inhibition Tests for the Screening of Antimicrobial Residues in the Tissues of Food-Producing Animals. *Italian Journal of Animal Science*, *13* (4), 3521.

Henchion, M., McCarthy, M., esconi, V.C., &Troy, D. (2014). Meat consumption: Trends and quality matters. *Meat Science*, *98*, 561- 568.

Hind, E.A., Adil, S.M., &El-Rade, S.A. (2014). Screening of Antibiotic Residues in Poultry Liver, Kidney and Muscle in Khartoum State, Sudan. Journal of *Applied and Industrial Sciences*, *2*(3), 116–122.

Hosseinkhan nazer, A., Shekarforosh, S.S., &Ghaneei, K. (1996). Using F.P.T. Method to Assess Antibiotic Residues in Lamb Carcass. *Animal Science Journal*, *8* (1), 186- 189.

Javadi, A., Mirzaie, H., & Khatibi, S.A. (2009). Effect of roasting process on antibiotic residues in edible tissues of poultry by FPT method. *Journal of Animal and veterinary Advances 8*(12), 2468-2472.

Kabir, J., Umoh, V.J., Audu-okoh, E., Umoh, J.U., & Kwaga, J.K.P. (2004). Veterinary drug use in poultry farms and determination of antimicrobial drug residues in commercial eggs and slaughtered chicken in Kaduna State, Nigeria. *Food Control*, *15*, 99–105.

Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, *33*(3), 300–305.

Kavanagh, F. (1963). *Analytical microbiology*. New York and London: Academic Press.

Kaya, S.E., & Filazi, A. (2010). Determination of antibiotic residues in milk samples. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, *16*: 31-35.

Koenen-Dierick, K., & De Beer, J.O. (1998). Optimization of an antibiotic residue screening test, based on inhibition of *Bacillus subtilis* BGA, with experimental design. *Food Additives and Contaminants*, *12*, 77–82.

Kirbis, A. (2007). Microbiological screening method for detection of aminoglycosides, β-lactames, macrolides, tetracyclines and quinolones in meat samples. *Slov Vet Res*, *44*(1/2), 11-18.

Kilinc, B., Meyer, M., & Hilge, V. (2007). Evaluation of the EEC four-plate test and Premi test for screeningantibiotic residues in trout (*Salmo trutta*). *International Journal of Food Science and Technology*, *42*, 625–628.

Lohajova, L., Nagy, J., Rozanska, H., Popelkai, P., & Jevinova, P. (2006). Suitability of STAR and Premi® test for the detection of Amoxycilin residues in laying hens. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, *50*, 367- 371.

Marshall, B.M., & Levy, S.B. (2011). Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. *Clinical Microbiology Reviews*, *24*(4), 718–733.

Mehdizadeh, S., Kazeranim H.R., & Jamshidi, A. (2010). Screening of chloramphenicol residues in broiler chickens slaughtered in an industrial poultry abattoir in Mashhad, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Sciene and Technology*, *2*, 25–32.

Muaz, KH., Riaz, M., Akhtar, S., Park, S., & Ismail, A. (2018). Antibiotic Residues in Chicken Meat: Global Prevalence, Threats, and Decontamination Strategies: A Review. *Journal of Food Protection*, *81* (4), 619–627

Myllyniemi, A.L., Nuotio, L., Lindfors, E., Rannikko, R., Niemi, A., & Backman, C. (2001). A microbial six-plate method for the identification of certain antibiotic groups in incurred kidney and muscle samples. *Analyst*, *126*, 641–6.

National Veterinary Instructions. (1395). Qualitative detection of antibiotic residues in milk using agar diffusion method.

Okerman, L. De Wasch, K. & Van Hoof, J. (1998). Detection of antibiotics in muscle tissue with microbiological inhibition tests: effects of the matrix. *Analyst*, *123*, 2361–2365.

Okerman, L. Croubels, S. Cherlet, M. De Wasch, K. De Backer, P. & Van Hoof, J. (2004). Evaluation and establishing the performance of different screening tests for tetracycline residues in animal tissues. *Food Addition Contamination*, *21*, 145–153.

Okerman, L. Noppe, H. Cornet, V. & Dezutter, L. (2007). Microbiological detection of 10 quinolone antibiotic residues and its application to artificially contaminated poultry samples. *Food Additives and Contaminants*, *24*(3), 252–257.

Pikkemaat, M.G., Rapallini, M.L.B.A., Oostra-van Dijk, S., & Elferink, J.W.A. (2009). Comparison of three microbial screening methods for antibiotics using routine monitoring samples. *Analytica Chimica Acta*, *637*, 298–304.

Pikkemaat, M.G., Rapallini, M.L.B.A., Zuidema, T., Elferink, J.W.A., Oostra-van Dijka, S., & Driessen-van Lankveld, W.D.M. (2010). Screening methods for the detection of antibiotic residues in slaughter animals: comparison of the European Union Four-Plate Test, the Nouws Antibiotic Test and the Premi®Test (applied to muscle and kidney). *Food Additives and Contaminants*, *28* (1), 26–34.

Popelka, P., Nagy, J., Popelka, P., Marcincák, S., Jevinová, P., & Hussein, K. (2003). Comparison of BsDA and Premi® test sensitivity to penicillin standards in poultry meat and after administration of amuril PLV.SOL. *Solia Vetericaria*, *47*, 3.

Reyes-Herrera, I., Schneider, M.J., Cole, K., Farnell, M.B., Blore, P.J., & Donoghue, D.J. (2005). Concentrations of Antibiotic Residues Vary between Different Edible Muscle Tissues in Poultry. *Journal of Food Protection*, *68* (10), 2217–2219.

Salehzadeh, F., Salehzadeh, A., Rokni, N., Madani, R., & Golchinefar, F. (2007). Enrofloxacin Residue in Chicken Tissues from Tehran Slaughterhouses in Iran. *Pakistan Journal of Nutrition*, *6*(4), 409–413.

Salehzadeh, F., Madani, R., Salehzadeh, A., Rokni, N., & Golchinefar, F. (2006). Oxytetracycline Residue in Chicken Tissues from Tehran Slaughterhouses in Iran. *Pakistan Journal of Nutrition*, *5*(4), 377–381.

San Martin, B., Cornejo, J., Lapierre, L., Iraguen, D., Perez, F., Hidalgo, H. et al. (2009). Withdrawal time of four pharmaceutical formulations of enrofloxacin in poultry according to different maximum residues limits. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, *33*, 246–251.

Received: 25.12.2019
Accepted: 26.05.2020

Vol. 17, No. 4, Winter, 2022 **Original Article**

DOI: 10.22055/IVJ.2020.212004.2214
DOR: 20.1001.1.17356873.1400.17.4.1.8

Comparison of two methods for monitoring antibiotic residues in broiler carcasses

Sara Basiri[1*], Keramat Asasi[2], Hmidreza Hashemitabar[3], Saeed Khaledian[4] and Seyed Shahram Shekarforoush[5]

[1] Assistant Professor of Food Hygiene and Public Health, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
[2] Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
[3]DVM Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
[4] PhD Student of Food Hygiene and Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
[5] Professor, DepartmentFood Hygiene and Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 25.12.2019 Accepted: 26.05.2020

Abstract

This study was performed to compare the sensitivity of seven plate methods and commercial kits for the detection of antibiotics in vitro and in poultry carcasses. In the first step, different concentrations of five commonly used antibiotics in poultry breeding were prepared and the sensitivity of both methods in antibiotic residue detection was evaluated. Subsequently, 20 days old broilers were divided into 5 groups. After an adaptation period and feeding non-antibiotic diet, groups were treated with therapeutic doses of Oxytetracycline, Enrofloxacin, Florfenicol, and Fosfomycin through drinking water. One group was considered as a control. At antibiotic discontinuation day (day 0) and days 1, 2, 3, 4, 5, and 6 thereafter, 3 chicks from each group were slaughtered and thigh muscle, liver and kidney were sampled and residual antibiotics were evaluated by both methods. The results showed that sensitivity of commercial kits was higher in in-vitro condition than that of poultry carcass. In the seven plate method, the residuals were more detectable in the liver and kidney. The commercial kit was able to detect antibiotics only up to 24 hours, after which almost all specimens were negative. The seven plate method was positive for most of the specimens up to three days after discontinuation. This study showed that the efficacy of the seven-plate method was more than commercial kits, and in order to increase the efficiency of detection methods, it is recommended to perform it on the liver and kidney of four carcasses from each herd (total of 8 samples). If at least four samples are positive, the herd is considered as infected and the HPLC method is used to confirm the specimens.

Key words: Seven plate, Commercial kit, Antibiotic residue, Broilers

[*] **Corresponding Author**: Sara Basiri, Assistant Professor, Department of Food Hygiene and Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
E-mail: basiri@shirazu.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).