

## بررسی میزان باقی مانده آنتی بیوتیک های خانواده تتراسایکلین در شیرهای پاستوریزه توزیع شده در شهر تهران به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

\* آراسب دباغ مقدم<sup>۱</sup>، لادن طیبی<sup>۲</sup>، حمید رضا فلاحی پیشه<sup>۳</sup>، مسعود محمودیان<sup>۴</sup>، نغمه کوثری<sup>۵</sup>، حسام الدین اکبرین<sup>۶</sup>، علیرضا سبزیکار<sup>۷</sup>

تاریخ اعلام وصول: ۹۲/۶/۲

تاریخ اعلام قبولی مقاله: ۹۲/۸/۲۶

### چکیده

**مقدمه:** با گسترش روش های نوین دامپروری و افزایش احتمال رخداد بیماری ها در پرورش متراکم دام ها، استفاده از آنتی بیوتیک ها برای رشد و نمو مطلوب، کنترل ورم پستان و بیماری های سیستمیک و موضعی در گله های گاو شیری رایج گشته است. عدم رعایت زمان منع مصرف و نیز مصرف بیش از میزان توصیه شده، سبب حضور باقی مانده دارویی در مواد غذایی با منشأ دامی و به ویژه شیر گشته است. به دلیل اثرات زیانبار باقیمانده های دارویی بر سلامت انسان، پایش حضور آن ها در مواد غذایی اهمیت به سزایی دارد. با توجه به مشکلات بهداشت عمومی و زیان های اقتصادی ایجاد شده به سبب استفاده ناصحیح از آنتی بیوتیک ها، این مطالعه با هدف تعیین میزان تتراسایکلین، کلر تتراساکلین، اکسی تتراسایکلین و داکسی سایکلین در شیرهای پاستوریزه عرضه شده در شهر تهران انجام گرفت.

**مواد و روش ها:** این مطالعه به صورت مقطعی طی زمستان سال ۱۳۹۰ انجام شد. ۵۶ نمونه شیر پاستوریزه از برندهای مختلف به صورت تصادفی از سطح شهر تهران جمع آوری گردید. با استفاده از کیت دلوتست (Delvotest®) آزمون غربالگری انجام شد و نمونه های مثبت برای آزمون کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مورد استفاده قرار گرفتند.

**یافته ها:** نتایج حاصل از آزمون غربالگری، حضور انواع آنتی بیوتیک ها را در ۳۳/۹۳ درصد از نمونه ها نشان داد. به وسیله آزمون کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مشخص شد که ۲۶/۳ درصد از نمونه های مثبت (۸/۹۳ درصد از کل) بیش از حد مجاز باقی مانده (MRL) به خانواده تتراسایکلین آلوده و سایر نمونه ها نیز حاوی دیگر آنتی بیوتیک ها بوده اند.

**نتیجه گیری:** با توجه به سرانه مصرف شیر در کشور، این میزان از آلودگی به آنتی بیوتیک تتراسایکلین، جمعیت قابل توجهی را تحت تأثیر قرار می دهد که در بین آن ها کودکان، سالمندان، بانوان باردار و بیماران، بیش از سایرین در معرض خطر می باشند. این پژوهش لزوم توجه بیش از پیش سازمان های قانون گذار و ناظر را برای کنترل و به حداقل رساندن این آلودگی ها گوشزد می کند.

**کلمات کلیدی:** باقی مانده دارویی، تتراسایکلین، تهران، شیر، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

### مقدمه

از گروه های اصلی غذایی، بهداشت و سلامت این محصول از اهمیت

ویژه ای برخوردار است. شیر در معرض آلودگی های بسیاری است که

با توجه به مصرف شیر در برنامه غذایی روزانه انسان به عنوان یکی

۱- مربی، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی آجا، مرکز پژوهشی علوم و فناوری جیره و تغذیه نظامی (\*نویسنده مسئول)  
تلفن: ۰۲۱-۸۵۹۵۵۱۶۸ آدرس الکترونیک: a.dabaghmoghadam@ajajums.ac.ir

۲- پژوهشگر، ایران، تهران، شرکت تحقیقاتی بیوفارماسی پارس

۳- پژوهشگر، ایران، تهران، شرکت تحقیقاتی بیوفارماسی پارس

۴- استاد، ایران، تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه فارماکولوژی

۵- پژوهشگر، ایران، تهران، شرکت تحقیقاتی بیوفارماسی پارس

۶- پژوهشگر، ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی

۷- پژوهشگر، ایران، تهران، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی

روش‌های گوناگون میکروبی، ایمونوشیمیایی و فیزیکوشیمیایی با هدف غربالگری، شناسایی و تعیین مقدار باقیمانده آنتی‌بیوتیک‌ها در مواد غذایی با منشأ دامی ایجاد شده است (۶). در این میان دو روش میکروبی و ایمونوشیمیایی به منظور انجام بررسی‌های غربالگری و روش‌های فیزیکوشیمیایی هم‌چون اسپکتروفتومتری، اسپکتروفلوریمتری و نیز کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، برای تعیین مقدار دقیق آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌شوند (۷).

با توجه به مشکلات بهداشت عمومی و زیان‌های اقتصادی ایجاد شده به سبب استفاده ناصحیح از آنتی‌بیوتیک‌ها، این مطالعه به منظور تعیین میزان تتراسایکلین، کلرتتراسایکلین، اکسی‌تتراسایکلین و داکسی‌سایکلین در شیرهای پاستوریزه عرضه شده در شهر تهران انجام گرفت.

### مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: طی یک مطالعه مقطعی، ۵۶ نمونه شیر پاستوریزه از برندهای مختلف عرضه شده در سطح شهر تهران، طی زمستان سال ۱۳۹۰ به‌طور تصادفی، جمع‌آوری و در بسته‌بندی‌های ۵۰ میلی‌لیتری جهت آزمایش به آزمایشگاه شرکت تحقیقاتی بیوفارماسی پارس (آزمایشگاه همکار وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی) ارسال گردید.

**آزمون غربالگری:** برای جستجوی آنتی‌بیوتیک در نمونه‌ها ابتدا از کیت دلوتست (Delvotest® SP-NT) ساخت شرکت DSM استفاده گردید. این کیت جهت سنجش کیفی حضور آنتی‌بیوتیک در شیر به کار برده می‌شود. برای انجام این آزمایش ۱۰۰ میکرولیتر از هر نمونه به لوله‌های حاوی محیط آگار و اسپور باسیلوس استئاروترموفیلوس واریته کالیدولاکتیس (*Bacillus stearothermophilus var. calidolactis*) اضافه گردید. سرلوله‌ها توسط پارافilm بسته و به مدت ۳ ساعت در انکوباتور ۶۴ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و سپس با توجه به راهنمای کیت، نتایج ثبت شد؛ رنگ بنفش به عنوان نشانه باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک در شیر (+)، رنگ زرد به عنوان نشانه‌ی عدم وجود باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک (-) و رنگ زرد/بنفش به عنوان مشکوک ثبت گردید (۸).

**آزمون کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا:** مواد و تجهیزات: استانداردهای اکسی‌تتراسایکلین، تتراسایکلین، کلرتتراسایکلین و

سلامتی انسان را تهدید می‌کنند. از جمله آلوده‌کننده‌های شیر، مواد شیمیایی مثل آنتی‌بیوتیک‌ها، هورمون‌ها، ضد عفونی‌کننده‌ها، حشره کش‌ها، مایکوتوکسین‌ها و فلزات سنگین هستند (۱). با گسترش روش‌های نوین دامپروری و بالا رفتن احتمال رخداد بیماری‌ها در پرورش متراکم دام‌ها، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای تضمین رشد و نمو مطلوب، کنترل ورم پستان و بیماری‌های سیستمیک و موضعی در گله‌های گاو شیری رایج گشته است. آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور معمول با دوز درمانی یا دوز پایین‌تر از دوز درمانی، به شکل تزریقی یا افزودنی به جیره غذایی روزانه دام مصرف می‌گردند. عدم رعایت دوز توصیه شده دارو و عدم توجه به مدت زمان منع مصرف دارو، سبب حضور باقی‌مانده دارویی در مواد غذایی با منشأ دامی می‌شود (۱ و ۲).

مشکلات بهداشتی گوناگونی هم‌چون ایجاد واکنش‌های آلرژیک، احتمال ایجاد سرطان یا موتاسیون (۳)، ایجاد میکروارگانسیم‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و کاهش حساسیت در برابر درمان آنتی‌بیوتیکی (۴) نگرانی در مورد وجود باقیمانده‌های دارویی در مواد غذایی را به حدی افزایش داده است که سازمان‌های ناظر بر ایمنی غذا در سطح جهان، بر عاری بودن مواد غذایی از این باقیمانده‌ها تأکید دارند. علاوه بر همه مسائل بهداشتی مطرح شده، احتمال ایجاد مشکلات صنعتی در تولید فراورده‌های شیری (به ویژه فراورده‌های تخمیری) در صورت وجود باقیمانده‌ی آنتی‌بیوتیکی در شیر، نیز مطرح است (۵).

تتراسایکلین‌ها جزء مهم‌ترین گروه‌های آنتی‌بیوتیکی هستند که از حدود ۵۰ سال قبل تا امروز به شکل گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این آنتی‌بیوتیک‌ها، فعالیت باکتریواستاتیک داشته و به‌طور گسترده‌ای برای درمان بیماری ورم پستان گاو به شکل خوراکی و با مقادیر کمتر از دوز درمانی استفاده می‌شوند. در این میان اکسی‌تتراسایکلین (OTC) و کلرتتراسایکلین (CTC) به مقدار بیشتری مورد استفاده قرار می‌گیرند. در صورتی که میزان باقیمانده تتراسایکلین‌ها در فراورده‌های دامی بیش از حد تحمل باشد، آسیب‌های جدی را به ویژه در بیماران، جنین، نوزادان و کودکان کمتر از ۱۲ سال به دنبال خواهد داشت. بر این اساس، پایش باقیمانده تتراسایکلین‌ها در شیر که اغلب مورد مصرف گروه‌های آسیب‌پذیر می‌باشد، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

متانول حل و توسط فیلتر PTFE با قطر منافذ ۰/۴۵ میکرومتر صاف شد. ۱۰۰ میکرولیتر از این محلول به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تزریق گردید. ارتفاع پیک‌های به دست آمده، برای ارزیابی هر یک از داروها مورد استفاده قرار گرفت (۷).

### شرایط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

ستون: C8 به ابعاد ۲۵۰ در ۴/۶ میلی‌متر I.D و قطر ذرات ۵ میکرومتر به همراه ستون محافظ مناسب از همین نوع در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، فاز متحرک: محلول ۰/۰۱ مولار اگزالیک اسید- استونیتریل با نسبت (۷/۱۵: ۸۵)، سرعت جریان حلال: ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه به همراه دتکتور با طول موج ۳۶۵ نانومتر

### یافته‌ها

در این مطالعه ۵۶ نمونه شیر پاستوریزه ابتدا با استفاده از کیت دلوتست آزمایش شد که در ۱۹ مورد رنگ محیط آزمایش کاملاً بنفش باقی ماند (+++) و ++ که نشانه وجود باقی‌مانده آنتی‌بیوتیکی بالاتر از MRL (Maximum Residue Limit/Level) است. بر این اساس، در این مرحله ۳۳/۹۳ درصد نمونه‌های شیر مورد آزمایش، حاوی آنتی‌بیوتیک بوده‌اند.

نمونه‌های مثبت تأیید شده توسط آزمون غربالگری، برای آزمایش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج حاصل از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نشان داد که هر ۴ نوع تتراسایکلین مورد آزمایش به طور توأم استخراج شده و در یک تزریق کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، به خوبی از هم جدا می‌شوند. روش از حساسیت مناسب، جهت نشان دادن مقادیر تتراسایکلین‌ها در حد MRL یا پایین‌تر برخوردار بود. میانگین جذب برای هر یک از نمونه‌های استاندارد، کنترل و نمونه‌های مورد آزمایش اندازه‌گیری شد. میانگین جذب استاندارد‌ها در برابر غلظت، رسم و از معادله‌ی خطی رسم شده (منحنی استاندارد) برای تعیین غلظت نمونه‌های مورد آزمایش استفاده گردید.

نتایج آزمون کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نشان داد که ۲۶/۳ درصد از این تعداد (۸/۹۳ درصد از کل نمونه‌ها) بیش از MRL به تتراسایکلین‌ها و نمونه‌های دیگر نیز به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها آلوده بوده‌اند. طبق استاندارد اتحادیه اروپا MRL برای اکسی‌تتراسایکلین،

داکسی‌سایکلین همگی با خلوص بالای ۹۵ درصد، کارتریج‌های Oasia HLB SPE (Waters, USA)، دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مدل یانگلین (Yonglin) مجهز به دتکتور UV-Vis، متانول، استونیتریل (HPLC grade)، اگزالیک اسید، اسیدسیتریک منوهیدرات، دی سدیم هیدروژن فسفات منوهیدرات، تری کلرواستیک اسید، دی سدیم اتیلن دی آمین تتراسایکلین اسید (Reagent grade)

### محلول‌ها

**محلول‌های استاندارد:** با در نظر گرفتن خلوص و فعالیت، از هر یک از پودرهای اکسی‌تتراسایکلین، تتراسایکلین، کلرتتراسایکلین و داکسی‌سایکلین محلول استوک استاندارد حاوی ۱۰ میکروگرم در هر میلی‌لیتر تهیه گردید که در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از محلول‌های استوک فوق‌رقت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ نانوگرم در میلی‌لیتر به وسیله فاز متحرک به طور روزانه تهیه و جهت رسم منحنی استاندارد به کار برده شد. از این نمونه‌ها به عنوان استاندارد روزانه استفاده گردید.

**محلول بافر مک ایلواین:** ۱۱/۸ گرم اسید سیتریک منوهیدرات، ۱۳/۷۲ گرم دی سدیم هیدروژن فسفات دی هیدرات و ۳۳/۶۲ گرم نمک دی سدیم اتیلن دی آمین تتراسایکلین اسید (EDTA) در آب مقطر حل کرده و به حجم ۱ لیتر رسانده و از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد.

### آماده سازی نمونه‌های شیر برای آزمون کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

به ۵ گرم از نمونه شیر به طور کامل همگن شده، ۲ میلی‌لیتر محلول ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید و ۲۰ میلی‌لیتر محلول بافر مک ایلواین افزوده شد. پس از ورتکس و ساتریفوژ کردن لوله‌ها فاز بالایی برای مرحله بعدی مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا ستون‌های SPE توسط عبور دادن ۳ میلی‌لیتر متانول و ۳ میلی‌لیتر آب فعال گردیدند، سپس فاز بالایی به دست آمده از مرحله قبل، به آرامی از روی آن‌ها عبور داده شد. پس از آن، ستون‌ها با ۲ میلی‌لیتر محلول متانول ۵ درصد در آب شستشو داده شد و در نهایت تتراسایکلین‌ها با عبور ۳ میلی‌لیتر متانول از ستون‌ها جدا گردیدند. محلول متانولی به دست آمده زیر گاز ازت تبخیر شده و باقی‌مانده در ۱ میلی‌لیتر

گوناهگونی هم‌چون ایجاد واکنش‌های آلرژی، ایجاد موتاسیون و رده‌های مقاوم میکروارگانیسم‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، اختلال در جذب کلسیم (در مورد تتراسایکلین‌ها)، املاح و سایر ریز مغذی‌ها و غیره، نگرانی در مورد وجود باقیمانده‌های دارویی در مواد غذایی را به حدی افزایش داده است که سازمان‌های بهداشتی و دامپزشکی بین‌المللی، بر کنترل مواد غذایی از نظر این باقیمانده‌ها تأکید دارند. در مورد لبنیات و به ویژه شیر، نکته مهم، طیف مصرف کنندگان آن است که به طور معمول کودکان، سالمندان، زنان باردار و بیماران جزء آسیب‌پذیر این طیف می‌باشند. وجود باقیمانده‌های آنتی‌بیوتیکی در مواد غذایی، نه تنها در دراز مدت هزینه‌های گزافی را به سامانه سلامت کشور تحمیل می‌کند، بلکه در کوتاه مدت نیز مانع صادرات مواد غذایی با منشأ دامی شده و ضررهایی را نیز به اقتصاد کشور وارد می‌سازد.

اولین مطالعات در زمینه باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک‌ها در شیر، توسط خاوری خراسانی در دهه ۴۰ انجام شد. در یک بررسی در سال ۱۳۵۱ بیش از ۵ درصد نمونه‌های شیر خام و ۲/۵ درصد از شیرهای پاستوریزه مورد آزمایش، آلوده به آنتی‌بیوتیک‌ها گزارش شدند. عطار باروق در سال ۱۳۵۷ در بررسی ۱۰۰۰ نمونه شیر خام، بیش از ۵۳ درصد از آن‌ها را آلوده به آنتی‌بیوتیک گزارش نمود. در سال ۱۳۷۱ کریم و نواب‌پور در یک بررسی یک ساله روی ۶۰۶ نمونه شیر جمع‌آوری شده از دامپروری‌های اطراف تهران، اعلام نمودند که در ۲۷ درصد موارد آلودگی به پنی‌سیلین‌ها و در ۴ درصد موارد آلودگی به سولفونامید وجود داشته است. همین افراد در سال ۱۳۷۵ با بررسی ۶۲۰ نمونه شیر خام دریافتی از کارخانه شیر پاستوریزه تهران در ۳۶/۴ درصد موارد آلودگی به آنتی‌بیوتیک‌ها را اعلام نمودند که هر دو این نتایج با نتایج حاصل از این مطالعه یعنی ۳۳/۹۳ درصد مطابقت دارد. در بررسی دیگری که روی ۵۷۶ نمونه شیر خام در فاصله اردیبهشت تا بهمن سال ۱۳۷۱ توسط معارفی انجام شد، میزان آلودگی کلی به آنتی‌بیوتیک‌ها ۳۲/۵ درصد گزارش گردید (۱۰، ۱۱، ۱۲).

علاوه بر این، در مطالعه‌ای که توسط رسولی و همکاران انجام شد (۱۳۸۸) ۸/۷ درصد از نمونه‌های شیر پاستوریزه‌ی آزمایش شده، دارای تتراسایکلین و اکسی‌تتراسایکلین بودند (۱۳)، هم‌چنین فلاح‌راد و همکاران (۱۳۸۴) نیز ۷/۱۱ درصد از کل نمونه‌های شیر

کلر تتراسایکلین و تتراسایکلین در شیر ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم و در مورد داکسی‌سایکلین صفر می‌باشد (جدول ۱).

در هیچ‌یک از نمونه‌های شیر پاستوریزه مورد آزمایش، تتراسایکلین و اکسی‌تتراسایکلین بیش از MRL یافت نشد اما در ۲ نمونه، کلر تتراسایکلین بیش از MRL و در ۳ نمونه، آلودگی به داکسی‌سایکلین وجود داشت. با توجه به نتایج به دست آمده، روش مورد استفاده به خوبی نسبت به مقادیر تتراسایکلین‌ها در حد MRL حساس می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱ - مقادیر به دست آمده برای هر یک از تتراسایکلین‌ها (بر حسب میکروگرم در کیلوگرم) در نمونه‌های +++ و ++ در آزمون کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

| شماره نمونه | Oxytet. | Tetracyc. | Chlortet. | Doxycyclin |
|-------------|---------|-----------|-----------|------------|
| ۱           | ۸۷/۱۹   | ۴۳/۴۳     | ۷۴۶/۳۹*   | ۱۷۶/۱۸*    |
| ۲           | ۸/۰۰    | ۲/۳۶      | ۰         | ۰          |
| ۳           | ۱۸/۸۶   | ۸/۶۳      | ۷۶/۶۴     | ۰          |
| ۴           | ۱۰/۷۲   | ۲۰/۵۰     | ۰         | ۰          |
| ۵           | ۱۳/۷۵   | ۲/۳۶      | ۰         | ۰          |
| ۶           | ۱۱/۶۷   | ۶/۸۱      | ۰         | ۰          |
| ۷           | ۷/۲     | ۰         | ۰         | ۰          |
| ۸           | ۱۸/۰۶   | ۰/۲۲      | ۲۴/۳۶     | ۰          |
| ۹           | ۲۶/۲۰   | ۱/۷۰      | ۳۲/۸۴     | ۰          |
| ۱۰          | ۲۳/۱۷   | ۱۷/۴۱     | ۰         | ۰          |
| ۱۱          | ۱۵/۸۱   | ۱۵/۷۲     | ۲۴۷/۶۱*   | ۰          |
| ۱۲          | ۲۷/۶۵   | ۱۷/۹۹     | ۰         | ۰          |
| ۱۳          | ۲۷/۶۵   | ۱۸/۱۴     | ۲۱/۴۲     | ۰          |
| ۱۴          | ۱۹/۰۰   | ۱۵/۴۹     | ۰         | ۰          |
| ۱۵          | ۱۵/۷۶   | ۱۰/۰۵     | ۰         | ۰          |
| ۱۶          | ۱۷/۹۸   | ۱۳/۸۵     | ۱۳/۷۵     | ۲۳/۲۶*     |
| ۱۷          | ۳۱/۹۷   | ۲۰/۳۵     | ۶۳/۹۵     | ۰          |
| ۱۸          | ۲۰/۳۹   | ۱۴/۷۶     | ۰         | ۰          |
| ۱۹          | ۱۹/۷۷   | ۱۲/۷۰     | ۰         | ۲۴/۶۹*     |

\* نمونه‌های آلوده و دارای آنتی‌بیوتیک بالاتر از MRL

## بحث و نتیجه‌گیری

همان‌طور که در مقدمه توضیح داده شد، مشکلات بهداشتی

وجود داشت (۱۸). در مطالعه‌ی دیگری که توسط گیدینی و همکاران در کشور ایتالیا انجام گرفت ۴۹ درصد از نمونه‌های شیر گاو مورد آزمایش، حاوی بقایای بتالاکتام بودند (۱۹). در مطالعه‌ای که توسط فقیهی و همکاران در ۲۲۰ مزرعه پرورش گاو شیری در دو استان تهران و قم انجام شد علت مصرف بالای آنتی‌بیوتیک‌ها، تراکم زیاد دام در مزرعه، وضعیت بهداشتی نامناسب و مدیریت ضعیف مزرعه گزارش شده است. این مطلب نشان دهنده اثر مدیریت مزرعه بر سلامت جامعه است (۲۰).

موارد فوق حاکی از اهمیت نظارت بر میزان باقیمانده‌های آنتی‌بیوتیکی در شیر و سایر فرآورده‌های غذایی با منشأ دامی می‌باشد. بدین منظور و با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد تنظیم و تدوین ضوابط و استانداردهای ملی مرتبط باید در دستور کار سازمان‌های مسئول نظیر وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، سازمان دامپزشکی کشور و سازمان استاندارد ملی ایران قرار گیرد. همچنین لازم است پژوهش‌های گسترده‌تر به منظور شناسایی سایر آنتی‌بیوتیک‌ها و داروها در فرآورده‌های شیری و دیگر انواع فرآورده‌های غذایی با منشأ دامی (گوشت، مرغ، ماهی، تخم‌مرغ، عسل و غیره) با هدف کمک به برنامه‌ریزی در جهت ایجاد نظارت‌های لازم و بهینه کردن زنجیره تولید مواد غذایی به منظور حفظ سلامت مصرف کنندگان انجام شود.

### تشکر و قدردانی

اعتبار این پژوهش توسط سازمان غذا و داروی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی تأمین گردیده است که بدین وسیله از سازمان یاد شده تشکر می‌شود.

خام و پاستوریزه‌ی جمع‌آوری شده از سطح شهر مشهد را، دارای بقایای جنتامایسین گزارش کردند (۱). در مطالعه‌ای دیگر که توسط قایم مقامی و همکاران روی نمونه‌های تحویلی شیر پگاه انجام شد، ۸۲ درصد از ۷۷ نمونه‌ی آزمایش شده، دارای میانگین ۵ میکروگرم در کیلوگرم تتراسایکلین بود (۱۴).

موارد فوق حاکی از عدم رعایت زمان منع مصرف (Withdrawal Time) توسط دامداران و عدم وجود نظارت کافی توسط سازمان‌های مسئول می‌باشد و لذا دور از ذهن نیست که در سایر فرآورده‌های غذایی با منشأ دامی نیز، این نوع آلودگی وجود داشته باشند. این موضوع در کشورهای پیشرفته به طور معمول به دلیل استفاده از دوز بیش از حد مجاز اتفاق می‌افتد (۱۵).

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۴ میلادی توسط یاماکی و همکاران در اسپانیا انجام شد ۷/۱ درصد از ۲۶۸۶ نمونه‌ی آزمایش شده‌ی شیر خام گوسفندی حاوی بقایای آنتی‌بیوتیکی بودند (۱۶) که این میزان باقی مانده به نسبت سایر نتایج به دست آمده از شیر گاو کمتر بود. ای‌ال سینکوئینا و همکاران در سال ۲۰۰۳ میلادی یک روش HPLC/PDAD را برای تعیین میزان تتراسایکلین‌ها در نمونه‌های شیر گاو و سایر بافت‌های حیوان طراحی و اجرا نمودند. درصد بازیافت تتراسایکلین‌ها در نمونه‌های شیر ۸۱/۱ درصد و در عضلات ۸۲ درصد بود. روش یاد شده کاملاً با پادمان کشورهای اروپایی (Sanco/۱۸۰۵/۲۰۰۰) مطابقت داشت (۱۷).

ای کی کانگ ات در سال ۲۰۰۵ میلادی در کنیا میزان تتراسایکلین‌ها و بتالاکتام‌ها را در ۸۵۴ نمونه شیر خام و ۱۱۰ نمونه شیر پاستوریزه توسط روش غربالگری سریع میکروبی بررسی نمود. نتایج این بررسی نشان داد که تقریباً در ۱۶ درصد از نمونه‌های شیر، آلودگی

### References

- 1- Fallah RA, Mohsenzade M, Assadpur H. Determination of gentamicin residues in the raw milk delivered to mashhad pasteurization plant and in the pasteurized milk obtained from the same raw milk. *Agricultural Sciences And Technology* 2006; 7 (127): 183-9. [Persian].
- 2- Meyer M, Bumgarner J, Varns JL, Daughtridge J, Thurman E, Hostetler KA. Use of radioimmunoassay as a screen for antibiotics in confined animal feeding operations and confirmation by liquid chromatography/mass spectrometry. *Science of the Total Environment* 2000; 248 (2): 181-7.
- 3- Somogyi A. Survey of animal drugs with carcinogenic properties. *Food Addit Contam* 1984; 1 (2): 81-7. PubMed PMID: 6536536.
- 4- Levy S. Antibiotic use for growth promotion in animals: ecologic and public health consequences. *Journal of Food Protection* 1987; 50.
- 5- Katla A-K, Kruse H, Johnsen G, Herikstad H. Antimicrobial susceptibility of starter culture bacteria used in Norwegian dairy products. *International journal of food microbiology* 2001; 67 (1): 147-52.

- 6- Abedi Shirazi K. A survey on antibiotic contamination in milk supplied in Shiraz and its effect on public health [DVM Thesis]1984.
- 7- Boatto G, Pau A, Palomba M, Arenare L, Cerri R. Monitoring of oxytetracycline in ovine milk by high-performance liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal* 1999; 20 (1-2): 321-6. PubMed PMID: 10704038.
- 8- Andersen WC, Roybal JE, Gonzales SA, Turnipseed SB, Pfenning AP, Kuck LR. Determination of tetracycline residues in shrimp and whole milk using liquid chromatography with ultraviolet detection and residue confirmation by mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 2005; 529 (1): 145-50.
- 9- Navratilova P, Borkovcova I, Dračková M, Janštová B, Vorlova L. Occurrence of tetracycline, chlortetracyclin, and oxytetracycline residues in raw cow's milk. *Czech Journal of Food Sciences* 2009; 27 (5): 379-85.
- 10- Dabbagh Moghaddam A, Hosseini Shokooh J, Salar Amoli J. Antibiotic residues in foods of animal origin and it's effect on public health. *Journal of Iran Veterinary Council* 2010; 9: 11-23. [Persian].
- 11- F M. Evaluation of milk contamination with antibiotics in animal Husbandries in Tehran and Suburbs [Thesis for Doctor of Pharmacy]. Tehran: Islamic Azad University, Tehran branch; 1991. [Persian]
- 12- Mansouri Najhand L. A Survey on antibiotic residues in milk from Kerman pasturized milk factory on 1993. 4th National Congress on Environmental Health; Yazd, Iran2001. p. 543-51.
- 13- Rasooli A, Abdolmaleki Z, Bokaii S, Kamkar A, Shams G. A cross-Sectional Study on Oxytetracycline and Tetracycline Residues in Pasteurized Milk Supplied in Tehran by an HPLC Method. *Iranian Journal of Veterinary Medicine* 2010; 4 (1): 1-3. [Persian].
- 14- Movassagh M. Identification of antibiotic residues in raw cow's milk collected from ilkhchei region (south west of tabriz) in spring of 2008. *Journal of Food Technology And Nutrition* 2012; 9 (3): 89-94. [Persian].
- 15- McEwen SA, Black WD, Meek AH. Antibiotic residues (bacterial inhibitory substances) in the milk of cows treated under label and extra-label conditions. *Can Vet J* 1992; 33 (8): 527-34. PubMed PMID: 17424060. Pubmed Central PMCID: 1481349.
- 16- 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. PubMed PMID: 15377591.
- 17- Cinquina AL, Longo F, Anastasi G, Giannetti L, Cozzani R. Validation of a high-performance liquid chromatography method for the determination of oxytetracycline, tetracycline, chlortetracycline and doxycycline in bovine milk and muscle. *J Chromatogr A* 2003; 987 (1-2): 227-33. PubMed PMID: 12613816.
- 18- Kang'ethe E, Aboje G, Arimi S, Kanja L, Omore A, McDermott J. Investigation of the risk of consuming marketed milk with antimicrobial residues in Kenya. *Food Control* 2005; 16 (4): 349-55.
- 19- Ghidini S, Zanardi E, Chizzolini R, Varisco G. Prevalence of molecules of beta-lactam antibiotics in bovine milk in Lombardy and Emilia-Romagna (Italy). *Annali della Facolta'di Medicina Veterinaria-Universita'degli Studi di Parma* 2002; 22.
- 20- M F. An overview of drug residues in food of animal origin. 2nd National conference on passive defense in agriculture section 2010.



## Evaluation of the tetracycline residues in pasteurized milks distributed in Tehran by HPLC method

\*Arasb Dabbagh Moghaddam<sup>1</sup>, Ladan Tayebi<sup>2</sup>, Hamidreza Falahatpisheh<sup>3</sup>, Masoud Mahmoudian<sup>4</sup>,  
Naghmeh Kowsari<sup>3</sup>, Hessameddin Akbarein<sup>5</sup>, Alireza Sabzikar<sup>6</sup>

Received: 24 Aug 2013

Accepted: 17 Nov 2013

### Abstract

**Background:** With developing new methods of animal husbandry and increasing the prevalence of diseases, using of antibiotics becomes common in assurance of growth and prevention of systemic diseases and mastitis in dairy herds. Ignorance or negligence of withdrawal time or using more antibiotics than prescribed, are two common causes of antibiotic residues. Due to the harmful effects of drug residues on human health, it is important to monitor their residues in foods.

**Materials and methods:** 56 pasteurized milk samples of different brands have gathered from Tehran retailers haphazardly. Screening test performed by Delvotest kit and the positive samples referred for HPLC test.

**Results:** The results of screening test showed the presence of different kinds of antibiotics in 33.93% of samples. HPLC determined that 26.3% of positive samples (8.93 % of total samples) were contaminated by tetracyclines more than Maximum Residue Level/Limit (MRL) and other samples had other antibiotics.

**Conclusions:** According to dairy per capita consumption of Iranians, these rates of contamination affect considerable part of population especially vulnerable groups like children, pregnant women, elderly and patients. This research shows the necessity of legislative and food inspecting organizations to control and minimize these kinds of contaminations. More research is recommended on other dairy foods.

**Keywords:** Drug residues; Chromatography, High Pressure Liquid; Milk; Tehran; Tetracycline

1- (\*Corresponding Author) Lecturer, Faculty of Medicine, AJA University of Medical Sciences, Tehran- Iran.

Tel: +98 21 88025428 E-mail: Dr\_arasb@armyums.ac.ir

2- Researcher, Pars Biopharmacy Research Co., Tehran, Iran

3- Researcher, Pars Biopharmacy Research Co., Tehran, Iran

4- Professor, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

5- Researcher, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

6- Researcher, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.