

## بررسی بقایای آنتی بیوتیک در شیرهای خام سنندج

نادر حبیبی<sup>۱</sup>

تاریخ پذیرش: ۸۸/۹/۸

تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۸

### چکیده

این طرح تحقیقاتی به منظور بررسی بقایای آنتی بیوتیک باقی مانده در شیرهای خام ارسالی به یک شرکت شیرولبنیات پاستوریزه در سنندج در تابستان ۱۳۸۷ انجام گرفت. نمونه‌ها مربوط به ۳ گروه مراکز جمع آوری شیر، گاوداری‌های نیمه صنعتی و گاوداری‌های صنعتی بود که تعداد آنها به ترتیب ۱، ۷، ۳ و ۳ بود. آزمایش برای هر گروه در تکرارهای منظم یک هفته‌ای صورت گرفت. در کل بر روی ۱۶۷ نمونه با استفاده از کیت کوپن آزمایش انجام شد. ۱۰۳ نمونه یعنی ۶۱/۷۹٪ از لحاظ وجود آنتی بیوتیک منفی و ۶۴ نمونه یعنی ۳۸/۲۱٪ مثبت بود. تعداد نمونه‌ها در گروه‌های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۶۱، ۹۷ و ۹ بود. تعداد نمونه‌های مثبت به ترتیب ۱، ۲ و ۳ یعنی ۳/۳٪، ۱۱/۱٪ و ۶۲/۹٪ بود. پس نتیجه گرفته می‌شود که بقایای آنتی بیوتیک در شیرهای دامداری‌های صنعتی بیشتر از دو گروه دیگر بوده و این میزان در مورد گاوداری‌های نیمه صنعتی بیشتر از گروه اول یعنی مراکز جمع آوری شیر می‌باشد.

### واژگان کلیدی: بقایا، آنتی بیوتیک، شیر خام، سنندج

### مقدمه

حساسیت خواهند داشت، پایین آوردن میزان آلودگی‌های میکروبی در دام و ممانعت از تشخیص آزمایشگاهی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و از بین بردن میکروارگانیسم‌های مفیدی که در صنایع لبنی وجود آن‌ها ضروری است را در پی خواهد داشت (۳ و ۸). بنابراین داشتن اطلاعات کافی در زمینه وجود یا عدم آنتی بیوتیک در شیر برای تمام کسانی که دست‌اندرکار تهیه و تولید این ماده غذایی می‌باشند ضروری می‌باشد. جهت پیشگیری از موارد فوق رعایت زمان قطع دارو و یا زمان معین فاصله بین آخرین مصرف آنتی بیوتیک و تهیه ماده غذایی از چنین دام‌هایی ضروری است (۱۰). در این ارتباط لازم است تحقیقاتی به منظور

شیرغذای کاملی برای نوزادان و کودکان محسوب می‌شود و به همین دلیل توقع و انتظار مصرف‌کنندگان برای تهیه شیر سالم از دیگر فرآورده‌های غذایی بیشتر است (۱). یکی از عوامل مؤثر بر سلامت شیر، عفونت غدد پستانی است که برای درمان آن از آنتی بیوتیک استفاده می‌شود، که اگر این استفاده به طور بی‌رویه و بدون تجویز متخصص صورت گیرد مخاطراتی را همانند ایجاد مصونیت برای میکروارگانیسم‌ها، ایجاد انواع آلرژی در افرادی که

۱- گروه صنایع غذایی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی سنندج- پست الکترونیکی [nhabiby@iausdj.ac.ir](mailto:nhabiby@iausdj.ac.ir)

قطره چکان ۱۰۰ میکرو لیتر داخل کیت ریخته (کیت ها حاوی سرهای آلومینیومی هستند) و بعد از گذاشتن سر آلومینیومی به انکوباتور منتقل گردید. بعد از گذشت ۳ ساعت نتیجه یادداشت شد (۱۵). در صورت ایجاد رنگ ارغوانی نتیجه مثبت، رنگ زرد نتیجه منفی، بین ارغوانی و زرد بیشتر آن مثبت +/- و بین زرد و خاکستری بیشتر آن منفی +/- گزارش گردید. جامعه آماری شامل شیرهای خام تحویلی به شرکت شیر لبنیات پاستوریزه توسط کلیه مراکز جمع آوری شیر، گاوداری های نیمه صنعتی و صنعتی در تابستان ۱۳۸۷ می باشد. که تعداد مراکز جمع آوری شیر، گاوداری های نیمه صنعتی و گاوداری های صنعتی به ترتیب ۳ و ۷،۱ می باشد.

حجم جامعه آماری در این بررسی ۱۱ بوده و برای برآورد حجم نمونه از روش کوکران استفاده می شد.

$$n = \frac{pqt^2}{d^2} = \frac{\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times (1.96^2)}{(0/08^2)} = 150$$

روش نمونه گیری بصورت طبقه بندی با تخصیص متناسب میباشد و تجزیه و تحلیل داده ها استفاده از نرم افزار spss انجام گرفت.

بدین منظور در تابستان ۱۳۸۷ بر روی شیرهای تحویلی آزمایش جستجوی بقایای آنتی بیوتیک با استفاده از کیت کوپن که یک آزمون استاندارد برای جستجوی آنتی بیوتیک می باشد، به فواصل منظم یک هفته ای انجام گردید. و نتایج آزمایش ها به صورت وجود یا عدم بقایای آنتی بیوتیک برای هر نمونه ثبت شد. نظریه این که تحقیق از نوع مشاهده و مقایسه می باشد بنابراین لازم است در پایان، نتایج این سه گروه بایکدیگر مقایسه شود.

برای بررسی رابطه بین متغیرهای مستقل و وابسته از روش تحلیل آماری کروسکال والیس Kruskal Wallis Test استفاده شد.

جستجوی بقایای آنتی بیوتیک در شیر خام در این منطقه انجام گیرد، اما تاکنون تحقیقات انجام گرفته محدود بوده و دامنه و گستره زیادی نداشته است. نظر به اینکه در غرب کشور به خصوص در استان کردستان بیماری ورم پستان یکی از شایع ترین بیماری ها در بین دام ها می باشد که به دلایل متعددی ممکن است به وجود بیاید و نیز برای درمان از آنتی بیوتیک استفاده می شود، بنابراین بعد از تزریق با توجه به زمان انتظار تا مدتی نباید از شیر دام استفاده کرد و این به دلیل انتقال آن به شیر و حساسیت بعضی از افراد به آنتی بیوتیک و همچنین خسارت وارده به صنعت لبنی می باشد. اما آنچه که به طور مشخص مطرح می شود این است که آیا کسانی که در امر تهیه این ماده غذایی با ارزش و مفید که گستره مصرف آن و فرآورده های حاصله بسیار زیاد می باشد به این مسأله مهم واقف هستند و یا این که برای آن اهمیت قائل می شوند یا نه؟ که این بستگی به آموزش این افراد و نیز احساس مسئولیت و تعهد آن ها در برابر مصرف کنندگان دارد. بنابراین برای این که مشخص شود آیا در شیر بقایای آنتی بیوتیک وجود دارد یا نه باید به جستجوی آن پرداخت. در این زمینه روش های مختلفی وجود دارد اما یکی از روش های شناخته شده استفاده از کیت کوپن می باشد.

## مواد و روش کار

### ۱- مواد

کیت کوپن برای تشخیص میزان آنتی بیوتیک موجود در شیر مورد استفاده قرار می گیرد که مواد موجود در آن شامل تخم های باسیلوس استئاروترموفیلوس و کالیدولاکتیس می باشد.

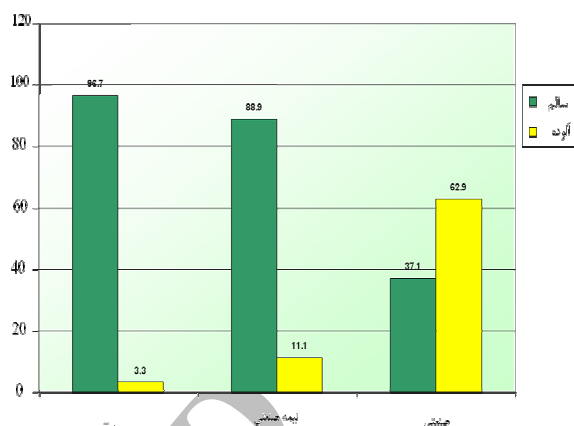
### ۲- وسایل

- انکوباتور: انکوباتور مورد استفاده در این آزمایش انکوباتور نوع ۱۰b\_a می باشد.

### ۳- روش آزمایش

در ابتدا نمونه های شیر را آماده کرده و توسط

## نتایج



نمودار ۱- مقایسه درصد نمونه‌های آلوده و سالم (آنتی بیوتیک) در شیرهای تولیدی سنتی، نیمه‌صنعتی و صنعتی

در آماره کروسکال‌والیس  $H = -0.8/92$  با درجه آزادی ۲، که در سطح  $P < 0.001$  معنی‌دار است.

۱- در نتیجه آزمون ناپارامتری کروسکال‌والیس به منظور بررسی تفاوت بین سه گروه شیر خام مراکز جمع‌آوری شیر، گاوداری‌های نیمه‌صنعتی و گاوداری‌های صنعتی از نظر آلودگی شیرخام به باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک مقدار  $X^2 = 0.8/92$  در سطح  $0.001$  معنی‌دار می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در سطح  $0.001$  ( $P < 0.001$ ) بین میزان آلودگی بقایای آنتی‌بیوتیک در سطح سه گروه ذکر شده تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

۲- از مجموع کل نمونه‌ها که ۱۶۷ بود تعداد ۱۰۳ نمونه یعنی  $61/79$ ٪ آنها بدون آلودگی و تعداد ۶۴ نمونه یعنی  $38/21$ ٪ آنها دارای بقایای آنتی‌بیوتیک بودند.

۳- از تعداد ۱۶۷ نمونه مورد آزمایش قرار گرفته تعداد و درصد آنها در گروه ۱ به ترتیب  $37/5$ ٪ و در گروه ۲ به ترتیب ۹ و  $5/4$ ٪ و در گروه ۳ به ترتیب ۹۷ و  $58/1$ ٪ بود.

۴- از تعداد ۱۰۳ نمونه بدون آلودگی به آنتی‌بیوتیک در گروه‌های ۱ و ۲ و ۳ به ترتیب تعداد نمونه‌ها ۵۹، ۸ و ۳۶ بود که درصد آنها در این موارد به ترتیب  $57/28$ ٪،  $7/77$ ٪ و  $34/95$ ٪ بود.

۵- از تعداد ۶۴ نمونه آلوده به آنتی‌بیوتیک

در گروه‌های ۱ و ۲ و ۳ به ترتیب تعداد نمونه‌ها، ۱ و ۶۱ بود که درصد آنها در این موارد به ترتیب  $3/1$ ٪،  $1/6$ ٪ و  $95/3$ ٪ بود.

۶- از تعداد ۱۰۳ نمونه بدون آلودگی به آنتی‌بیوتیک در گروه ۱، درصد آنها در گروه و کل نمونه‌های بدون آلودگی به ترتیب  $96/7$ ٪ و  $35/3$ ٪ بود. این مقدار برای گروه ۲ به ترتیب  $88/9$ ٪ و  $4/8$ ٪ و برای گروه ۳ به ترتیب  $37/1$ ٪ و  $21/6$ ٪ بود. (نمودار ۱) ۷- از تعداد ۶۴ نمونه آلوده به آنتی‌بیوتیک در گروه ۱، درصد آنها در گروه و کل نمونه‌های آلوده به ترتیب  $3/3$ ٪ و  $1/2$ ٪ بود. این مقدار برای گروه ۲ به ترتیب  $11/1$  و  $0/6$ ٪ و برای گروه ۳ به ترتیب  $62/9$ ٪ و  $37/5$ ٪ بود. (نمودار ۱)

## بحث

با توجه به نتایج آماری به دست آمده مشاهده می‌شود که میزان آنتی‌بیوتیک در گاوداری‌های صنعتی از دو گروه دیگر بیشتر بوده، همچنین این میزان در گاوداری‌های نیمه‌صنعتی بیشتر از گاوداری‌های سنتی می‌باشد. دلایلی برای توجیه این امر وجود دارد که در ذیل به آنها اشاره می‌شود:

همان طوری که می‌دانید هر واحد گاوداری صنعتی باید دارای یک نفر مسئول بهداشتی بوده و همواره بر امورات بهداشتی و پیشگیری از بیماری و درمان دام‌های بیمار نظارت داشته‌باشد و نحوه‌درمان، تجویز، نوع و زمان انتظار دارو را کنترل کند. اما برخی از این واحدها ممکن است این شخص را در استخدام نداشته‌باشند و یا اینکه حضور مسئول فنی و بهداشتی کم‌رنگ باشد و به صورت مستمر و مداوم به آنجا سرکشی نکند، در این صورت توسط دیگر افراد غیر متخصص آنتی‌بیوتیک به طور بی‌رویه به دام‌ها داده شده و نیز مسلم است که زمان انتظار رعایت نمی‌شود.

گاوه‌های موجود در دامداری‌های صنعتی نسبت به بیماری حساس‌ترند و معمولاً هر چه تولید بیشتر باشد

ایران تحقیقاتی بر روی شیرخام از لحاظ وجود یا عدم بقایای آنتی‌بیوتیک بر روی شیر خام صورت گرفته است که می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: در پایش باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک در شیر خام در آذربایجان شرقی توسط صفری و همکاران از ۱۰ دامداری در ۱۰ تکرار، یافته‌ها شامل ۱۰ الی ۲۰ درصد نتایج مثبت و مشکوک بودند، پس با مقایسه با نتایج تحقیق حاضر تعداد نتایج مثبت پایین می‌باشد. در تحقیق دیگری که بر روی ۹۰ نمونه شیر پاستوریزه در ۵ روز متوالی از ۶ شرکت عمده تولیدکننده شیر پاستوریزه تهران برای بررسی اکسی‌تتراسیکلین و تتراسیکلین با استفاده از روش HPLC انجام گرفته، نتایج نشان می‌دهد که میزان تتراسیکلین کمتر از حد مجاز یعنی ۱۰۰ PPM بود. تنها در یک نمونه مجموع دو آنتی‌بیوتیک قدری بالاتر و در حد ۱۳۸ PPM بود. این تحقیق چون بر روی دو آنتی‌بیوتیک و آن هم از لحاظ کمی انجام گرفته، بنابراین مقایسه مناسبی شکل نمی‌گیرد فقط می‌توان به این مطلب اکتفا کرد که نمونه‌های مثبت بسیار کم می‌باشد. علاوه بر این تحقیقات دیگری نیز در این رابطه در مناطق مختلف جهان صورت گرفته که نمونه‌هایی از آنها در ادامه می‌آید: در مکزیک از ۲۶۴ نمونه شیرخام که از ۲۲ مزرعه در طول ۳ ماه و هر هفته یک‌بار توسط جورج سالتیجرال و همکاران در سال ۲۰۰۴ آزمایش شد ۷۷٪ نمونه‌ها مثبت بود (۱۴). مشاهده می‌شود که نتایج نمونه‌های مثبت بسیار بالاتر از تحقیق فعلی یعنی ۳۸/۲۱٪ می‌باشد. نتایج آزمایش‌های ام یامکی و همکاران در سال ۲۰۰۴ در اسپانیا مشخص کرد که از تعداد ۲۶۸۶ نمونه شیر خام در تانک ذخیره ۱/۷٪ نمونه مثبت و ۲/۱٪ آنها مثبت و منفی بوده است (۱۷). همچنین گیلبرتو پوگیو و همکاران در سال ۲۰۰۹ با آزمایش بر روی ۱۰۰ نمونه شیر UHT در برزیل دریافتند که ۹۶ نمونه آنها نسبت به بقایای آنتی‌بیوتیک منفی و ۴ نمونه مثبت می‌باشد. در دو تحقیق مذکور در مقایسه با این تحقیق تعداد نمونه‌های مثبت پایین

دام‌ها نسبت به عوامل بیماری‌زا مقاومت کمتری دارند در نتیجه میزان ابتلا به بیماری بیشتر بوده و اینها تحت درمان قرار می‌گیرند.

معمولاً گاوهای موجود در دامداری‌های سنتی نسبت به بیماری‌ها مقاوم ترند و نیز در صورت وقوع بیماری دامدار اهمیت کمتری برای آن قائل می‌شود و تا زمانی که مجبور نشود به دامپزشک مراجعه نمی‌کند بنابراین در این صورت داروی کمتری تجویز می‌شود.

در دامداری‌های سنتی چون میزان تولید پایین می‌باشد بالطبع شیر تولیدی به میزان کمتری به واحدهای فرآوری تحویل داده می‌شود. در نتیجه احتمال مثبت بودن تست آنتی‌بیوتیک در این نمونه‌ها کاهش می‌یابد. در دامداری‌های سنتی در مراحل مختلفی از تولید و یا جمع‌آوری ممکن است به شیر آب افزوده شود که این امر سبب رقیق شدن آن گردیده و نتایج مثبت کمتر مشاهده می‌شود.

در فصل گرما حشرات بیشتری در محیط وجود دارند که می‌توانند حامل بسیاری از انگل‌ها باشند، بنابر این میزان ابتلا به بیماری‌های انگلی به خصوص تیلریوز که سبب ایجاد تب و کاهش تولید می‌گردد در دامداری‌ها افزایش یافته که نتیجه آن مصرف داروی انگلی می‌باشد.

مروری بر تحقیقات انجام گرفته نشان می‌دهد که اغلب این تحقیقات بر روی شیرخام انجام شده و در مراحلی مانند دامداری، مغازه و یا تانک ذخیره بوده است. نتایج کلی این تحقیق در مواردی بسیار نزدیک به تحقیقات انجام گرفته می‌باشد (۹ و ۱۲). اما در مواردی مشاهده می‌شود که تفاوت نتایج به دست آمده با دیگر تحقیقات زیاد است، یا درصد موارد مثبت بقایای آنتی‌بیوتیک بیش از نتیجه حاصله این تحقیق بوده (۱۴) و یا موارد مثبت بسیار پایین بوده است (۱۷). البته نکته‌ای که در تحقیقات انجام گرفته دیگران به چشم می‌خورد این است که در آنها اشاره‌ای به منشأ تهیه شیرخام نشده تا بتوان در این ارتباط مقایسه مناسبی را ارائه داد. در

معروفی و نیز از راهنمایی جناب آقای دکتر لقمان اکرادی تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

- ۱- اف، ه. (۱۳۸۰): شیر و کیفیت آن. ترجمه کریم، گ. و دیانی دردشتی، ا. دانشگاه تهران. موسسه انتشارات چاپ. چاپ دوم. ۱۳۸۵. صفحات ۴۸-۳۵
- ۲- حسنی طباطبایی، ع.، فیروزی، ر. (۱۳۸۴): بیماری‌های باکتریایی دام. چاپ دوم. صفحات ۴۵-۴۹، ۵۱، ۴۹
- ۳- رکنی، ن. (۱۳۷۵): اصول بهداشت مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دوم. صفحات: ۴۱-۴۰
- ۴- فرخنده، ع. (۱۳۷۷): روش‌های آزمایش شیر و فرآورده‌های آن. دانشگاه تهران. جلد اول. چاپ چهارم. صفحات ۲۲۰-۲۱۹، ۲۱۳-۲۱۱
- ۵- کوبین، ا. (۱۳۷۹): دانستنی‌های روز در ورم پستان گاو. ترجمه مجید، م.، تهران. آبیژ. چاپ اول. صفحه: ۱۴۹
- ۶- مرتضوی، ع.، محسن، ق. و جوینده، ح. (۱۳۸۴): تکنولوژی شیر و فرآورده‌های لبنی. مشهد: دانشگاه فردوسی مشهد. چاپ پنجم. صفحات ۲۵-۱۹
- ۷- وانامیکر، ب.، پتس، ک. ال. (۱۳۸۴): فارماکولوژی جامع دامپزشکی. ترجمه فاطمی، ا.، تهران. پرتو واقعه. چاپ اول. صفحات ۱۱-۹، ۳۳۱، ۳۱۴
- ۸- هلروی، ر.، پیترا، م. (۱۳۷۹): کنترل ورم پستان در گله‌های گاو شیری. مترجمین وجگانی، م. قراگوزلو، ف.، تهران. سپهر، نشر نیکخواه. چاپ اول. صفحات: ۵۵-۵۱

می‌باشد. در دو تحقیق دیگر نتایج به دست آمده مشابه این تحقیق می‌باشد: عمارسیداحمد و همکاران در سال ۲۰۰۸ در سودان گزارش کردند که از ۷۲ نمونه شیر خام از دامداری‌ها و مغازه‌ها ۲۸ نمونه آن مثبت بوده است (۹). در پاکستان از ۱۳۷ نمونه شیر خام که از لحاظ بقایای آنتی‌بیوتیک بتالاکتام توسط ام‌خشحلی و همکاران در سال ۲۰۰۸ مورد آزمایش قرار گرفت، ۶۳/۵٪ نمونه‌ها منفی و ۳۶/۵٪ آنها مثبت بود (۱۲).

باید یادآور شد که ورم‌پستان هرگز ریشه کن نمی‌شود. انواعی از باکتری‌ها در این امر دخیل هستند و خیلی از آنها حضور دائمی دارند. میزان کارایی آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان موارد مختلف ورم‌پستان بسیار متفاوت است و به دلیل تنوع باکتری‌های درگیر، واکسیناسیون به تنهایی کارایی اندکی در کاهش موارد بروز آنها دارد. به هر حال رویکرد کلی در ورم‌پستان باید کنترل آن باشد. امروزه با پیشرفت در امر تولید و دست‌یابی به گاوهای پر شیر، حساسیت آنها به ورم‌پستان نیز بیشتر شده است و از این رو اهمیت کنترل ورم‌پستان روز به روز بیشتر می‌شود.

اگر چه در مورد نحوه‌ی نفوذ باکتری‌ها به مجرای پستان، دسته‌بندی‌های مشخصی ارائه شده و برای باکتری‌های واگیردار رشد و تکثیر و همچنین برای باکتری‌های محیطی، نفوذ را مطرح کرده‌اند، ولی در واقع نمی‌توان این مورد را از یکدیگر مجزا نمود. واضح است که پس‌زدن شیر به کارتیبه به حرکت و نفوذ باکتری‌های واگیردار از طریق مجرا کمک می‌کند: در حالی که در پاره‌ای از مواقع مثلاً قرار گرفتن نوک پستانک در معرض آلودگی بلافاصله پس از شیردوشی، زمانی که هیچ‌گونه برگشت شیری وجود ندارد، می‌تواند منجر به عفونت کلی شود.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری‌ها مدیرعامل محترم شرکت شیر ولبنیات پاستوریزه پاک‌آرا و خانم مهندس روشنگر

- 9- Amar Said Ahmad, m.m., Ibtisam El Zubier, e., Osman El Owni, m.a.o and Mohamed Kheir Ahamed, a. (2008): Assessment of Microbial Load and Antibiotic Residues in Raw Milk Supply in Khartoum State, Sudan. Reserch Jornal of Dairy Science 2(3):57 – 62 .
- 10- Fonseca, g.p., Cruz, a.g., Faria, j.a.f., Silv, r., Moura, m.r.l., and Carvalhol, m.j.(2009): Antibiotic residues in Brazilian UHT milk : a screening study Cient . Tecnol. Aliment., Campinas, 29 (2 2): 1-3, abr.-jun
- 11- Hozovoa, b., and Minarovicovoa, I.(2001): Verification of Suitibility Selected Detection Systems for Stimating Antibiotic Residues in goats milk. Czech j.food science.Vol 19 ,No. 6:207- 212
- 12- Khaskheli, m., Malir, s., Arain, m.a., Soomro, a.h. and Arain, h.h. (2008):Detection Detection of  $\beta$  - Lactam Antibiotic Residues in Market Milk. Pakistan Journal of Nutrition 7 (5): 682-685.
- 13- Ruegg, p.l. (2005):Relationship Between BulkTank Milk Somatic Cell Count and Antibiotic Residues. NMC Annual Meeting Proceedings.
- 14- Saltijeral, j., Cordova, a. and Velazquez, v. (2004): Antibiotic Residues in Raw Milk in Mexico City. International Society for Animal Hygiène - Saint-Malo .
- 15- Copan, WWW.Shreeadditives .com / HTML SITE / anti – Copantest – Singl.htm
- 16- Yamaki, m., Berruga, m., Althaus, m.i., Molina, r., and Molina, m.p. (2006): Screening of antibiotic residues in ewes' milk destined to cheese by a commercial microbiological inhibition assay. Food Additives and Contaminants, Volume 23, Number 7, July 2006 , pp. 660-667(8).
- 17- Yamaki, m., Berruga, m., Althausr, l., Molinam, p. and Molinaa, m.p. (2004): Occurrence of Antibiotic Residues in Milk from Manchega Ewe Dairy Farms. J. Dairy Sci. 87:3132–3137.