

مقایسه بقایای انروفلوکساسین در بافت‌های طیور کشتار شده در استان‌های شمال غرب ایران با دو روش F.P.T و ELISA

دکتر حسین تاجیک^{1*}، دکتر سید مهدی رضوی روحانی²، دکتر محمدرضا پژوهی الموتی³، دکتر رزاق محمودی⁴

تاریخ دریافت 89/6/27، تاریخ پذیرش 89/10/24

چکیده

پیش زمینه و هدف: استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در صنعت طیور به دلیل ایجاد باقیمانده‌های دارویی در فرآورده‌های خوراکی آن‌ها سبب نگرانی روزافزون مصرف کنندگان شده است. هدف از این مطالعه ارزیابی و مقایسه باقیمانده انروفلوکساسین در بافت‌های طیور کشتار شده در استان‌های شمال غرب ایران با دو روش F.P.T و ELISA می‌باشد.

مواد و روش کار: در این مطالعه بافت‌های عضله، کبد و کلیه 160 لاشه طیور گوشتی از استان‌های شمال غرب ایران شامل آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و اردبیل جمع آوری و جهت تعیین باقیمانده انروفلوکساسین از روش‌های میکروبی F.P.T و شیمیایی ELISA استفاده گردید. **یافته‌ها:** براساس نتایج حاصله از روش F.P.T تعداد 28 لاشه از مجموع 160 لاشه مورد بررسی واجد باقیمانده انروفلوکساسین بودند. تست الیزا نشان داد که از 28 لاشه مثبت در روش F.P.T، تعداد 24 نمونه کبد، 7 نمونه کلیه و 4 نمونه عضله دارای باقیمانده انروفلوکساسین بالاتر از حد مجاز تعریف شده (MRL) برای این آنتی بیوتیک بود. حداکثر و حداقل انروفلوکساسین شناسایی شده به وسیله الیزا به ترتیب در بافت کبد به میزان 659/31 ng/g و در عضله به میزان 10 ng/g بود.

بحث و نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان داد که انروفلوکساسین بطور وسیعی در منطقه شمال غرب ایران به ویژه استان آذربایجان غربی مورد استفاده قرار گرفته و به نظر می‌رسد دوره منع مصرف این آنتی بیوتیک به درستی اعمال نمی‌شود.

کلید واژه‌ها: انروفلوکساسین، MRL، F.P.T و ELISA

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و دوم، شماره اول، ص 24-18، فروردین و اردیبهشت 1390

آدرس مکاتبه: ارومیه، کیلومتر 11 جاده سرو، پردیس نازلو، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، صندوق پستی: 571531177، تلفن: (0441)2770508

Email: h.tajik@urmia.ac.ir

مقدمه

دلیل ایجاد باقیمانده‌های دارویی در فرآورده‌های طیور سبب توجه روزافزون و نگرانی گسترده مصرف کنندگان نسبت به سلامتی این فراورده‌ها، با توجه به عوارض ناشی از مصرف آن‌ها همچون سرطان‌زایی، جهش‌زایی، تولید آلرژی، ایجاد مقاومت دارویی و مشکلات عمده سلامت عمومی شده است (3).

آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور وسیعی به منظور پیشگیری و درمان بیماری‌ها، تحریک کننده رشد دام و افزایش راندمان تولید در صنعت دام و طیور استفاده می‌شوند (1،2). استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان ترکیبات ضد میکروبی در صنعت طیور به

¹ دانشیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

² استاد گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

³ استادیار گروه دامپزشکی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا همدان

⁴ دستیار گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

مواد و روش کار

مواد شیمیایی

در این مطالعه محیط کشت مولر هینتون آگار (V381547, Merck, Germany) پس از آماده سازی در pH های 6، 7/2 و 8 با استفاده از اسید استیک و هیدروکسید سدیم، به مدت 15 دقیقه در دمای 121 درجه سانتی‌گراد در دستگاه اتوکلاو استریل گردید. کیت الیزای انروفلوکساسین (REEN Enrofloxacin ELIZA kit, R 3111/RIDASC) از شرکت R-biopharm (Landwehrstr, 54, Germany) خریداری شد.

جمع آوری نمونه‌ها

در این مطالعه تعداد 160 لاشه مرغ گوشتی کشتار شده در سه استان شمال غربی ایران شامل آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و اردبیل (به‌طور تصادفی) جمع آوری و بافت‌های کبد، کلیه و عضله آن‌ها جهت انجام آزمایش برداشته شد. لازم به ذکر است نمونه‌ها از لاشه‌های با قابلیت خوراکی اخذ گردیدند. نمونه‌ها پس از جمع آوری تا زمان انجام آزمایش در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

ارزیابی میکروبی (F.P.T test)

آماده سازی کشت باکتریایی

در این مطالعه باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس ATCC 6633 و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 6538 تهیه شده از کلکسیون باکتری گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه جهت ارزیابی میکروبی مورد استفاده قرار گرفت. باسیلوس و به منظور تهیه سوسپانسیون باکتری‌های مورد مطالعه یک کلونی از کشت‌های باکتری‌های مورد مطالعه به محیط آبگوشت مولر هینتون انتقال داده و به مدت 18 ساعت در دمای 35 درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شدند این کار حداقل برای دو بار متوالی صورت گرفت. در ادامه با استفاده از نیم مک فارلند، میزان باکتری در سوسپانسیون کشت باکتری‌های مورد مطالعه محاسبه و به ترتیب به میزان 10^4 - 10^5 cfu/ml از باسیلوس سوبتیلیس و 10^6 cfu/ml از استافیلوکوکوس اورئوس به محیط مولر هینتون آگار استریل با pH های مختلف (6، 7/2 و 8) جهت تشخیص باقیمانده آنتی باکتریال تلقیح شدند.

آماده سازی نمونه‌ها

پس از انجماد زدایی نمونه‌های کبد، کلیه و عضله در دمای 4 درجه سانتی‌گراد، نمونه‌ها با استفاده از هموژنیزاتور Ultra Turax T25 همگن شدند. نمونه‌های هموژن شده به مدت 15 دقیقه به وسیله سانتریفیوژ با دور 10000 g سانتریفیوژ شدند. سپس به

کینولون‌ها یک گروه از ترکیبات ضد باکتریایی سنتتیک هستند که جهت درمان بیماری‌های تنفسی و عفونت‌های باکتریایی روده‌ای در دام‌های اهلی مورد استفاده قرار می‌گیرند. انروفلوکساسین، آنتی بیوتیک وسیع الطیف متعلق به گروه کینولون‌ها می‌باشد. خصوصیات ضد میکروبی بالقوه انروفلوکساسین از دلایل استفاده گسترده آن در صنعت طیور می‌باشد. استفاده عمده این آنتی بیوتیک در صنعت طیور بیشتر در درمان عفونت‌های مایکوپلاسمایی، کلی باسیلوز و پاستورلوز می‌باشد (4). به دنبال تجویز این آنتی بیوتیک در گونه‌های مختلف حیوانات، این ترکیب به هشت متابولیت مختلف متابولیزه شده که تنها سیپروفلوکساسین در میان آن‌ها دارای فعالیت ضد میکروبی می‌باشد (5). به دلیل ایجاد مشکلاتی همچون واکنش‌های آلرژیک، مقاومت دارویی باکتریایی و سایر عوارض آن، تعیین میزان باقیمانده این آنتی بیوتیک در بافت‌های خوراکی طیور از اهمیت ویژه‌ای برای سلامتی انسان برخوردار می‌باشد (6). حداکثر مقدار مجاز (MRL¹) تعیین شده برای این آنتی بیوتیک توسط اتحادیه اروپا در طیور 100 ng/g می‌باشد (7 و 8). با توجه به سهم عمده انروفلوکساسین در میان آنتی‌بیوتیک‌هایی که به‌طور وسیعی در صنعت طیور ایران استفاده می‌شوند، حداکثر مقدار مجاز ثابتی برای استفاده از این آنتی بیوتیک تعریف نشده است (6). با توجه به مصرف بی رویه آنتی‌بیوتیک‌ها در کشورهای در حال توسعه به خصوص ایران و عدم رعایت دوره دفع آنتی‌بیوتیک‌ها از بدن دام‌ها، مطالعات گسترده‌ای در جهت بررسی و شناسایی بقایای دارویی در فرآورده‌های دامی صورت گرفته است (9-11). امروزه از روش‌های مختلفی جهت شناسایی و تعیین باقیمانده‌های دارویی در مواد غذایی استفاده می‌شود که از آن جمله می‌توان به تست‌های غربالگری میکروبی مانند F.P.T² (12) و روش‌های کمی مانند الیزا و روش‌های تأییدی مانند انواع کروماتوگرافی اشاره نمود (13). در مطالعه قبلی روش‌های ELISA، F.P.T و HPLC برای اندازه گیری باقیمانده کلرامفنیکل مورد مقایسه قرار گرفتند (9). با توجه به عوارض و مشکلات ناشی از بقایای آنتی‌بیوتیک‌ها، کنترل فرآورده‌های دامی به لحاظ عاری بودن از آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. هدف از این مطالعه ارزیابی و مقایسه باقیمانده انروفلوکساسین در بافت‌های خوراکی شامل کبد، کلیه و عضله طیور گوشتی کشتار شده در استان‌های شمال غرب ایران شامل آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و اردبیل با استفاده از دو روش F.P.T و ELISA می‌باشد.

¹ Maximum Residue Limit

² Four Plate Test

ارزیابی قرار گرفت. اختلاف آماری در سطح $p < 0/05$ معنی‌دار قلمداد گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه جهت تشخیص باقیمانده انروفلوکساسین در نمونه‌های کبد، کلیه و گوشت طیور گوشتی کشتار شده در استان‌های شمال غرب ایران از روش‌های F.P.T و ELISA استفاده گردید. بر اساس منطقه مهار رشد ایجاد شده در تست F.P.T (2 میلی متر یا بیشتر) تعداد 28 لاشه از مجموع 160 لاشه بدست آمده از سه استان مورد بررسی به عنوان نمونه‌های مثبت تشخیص داده شدند. بافت‌های مورد بررسی 28 لاشه در تمام محیط‌های کشت موجب مهار رشد باکتری‌های مورد مطالعه شده بودند. از این تعداد به ترتیب 15، 7 و 6 لاشه متعلق به استان‌های آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و اردبیل بود. حداقل قطر منطقه مهار رشد در نمونه‌های عضله ($5/3 \pm 1/7$) برای باسیلوس سوبتیلیس و $3/8 \pm 0/4$ برای استافیلوکوکوس اورئوس) و حداکثر آن در نمونه‌های کبد ($18/7 \pm 1/2$) برای باسیلوس سوبتیلیس و $14/3 \pm 1/9$ برای استافیلوکوکوس اورئوس) مشاهده شد. این تعداد لاشه‌های مثبت در هر سه بافت مورد مطالعه دارای باقیمانده آنتی باکتریال، در تمامی محیط‌های کشت با pH مختلف و در رابطه با هر دو باکتری مورد مطالعه بودند. به منظور اندازه گیری میزان انروفلوکساسین در نمونه‌های مثبت F.P.T از روش کمی الایزا استفاده گردید. براساس نتایج بدست آمده از الایزا، تعداد 12 نمونه کبد، 7 نمونه کلیه و 2 نمونه عضله در استان آذربایجان غربی، تعداد 6 نمونه کبد، 1 نمونه کلیه و 1 نمونه عضله در آذربایجان شرقی و تعداد 6 نمونه کبد و 1 نمونه عضله در استان اردبیل از مجموع کل نمونه‌های مثبت تشخیص داده شده به روش F.P.T دارای باقیمانده انروفلوکساسین بالاتر از حد مجاز تعریف شده (MRL) برای این آنتی بیوتیک بودند. که در جدول‌های 1 تا 3 به ترتیب برای نمونه‌های کبد، کلیه و عضله نشان داده شده است. حداکثر و حداقل انروفلوکساسین شناسایی شده به وسیله الایزا به ترتیب در کبد به میزان $659/31 \text{ ng/g}$ و عضله به میزان 10 ng/g بود. در نمودار 1 میانگین مقدار باقیمانده انروفلوکساسین بالاتر از حداکثر مقدار مجاز در بافت‌های طیور سه استان مورد مطالعه با هم مقایسه شده است.

میزان 10 میکرولیتر از مایع فوقانی هر نمونه سانتریفیوژ شده به دیسک‌های کاغذی (Mast Diagnostic, BD0638W) منتقل و بعد از خشک شدن (دمای 40 درجه به مدت 15-10 دقیقه) دیسک‌ها بر روی پلیت‌های مولر هینتون آگار تلقیح شده با باکتری مورد مطالعه، قرار داده شدند. پلیت‌های تلقیح شده با باسیلوس سوبتیلیس (در pH مختلف) به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های حاوی استافیلوکوکوس اورئوس (تنها در pH 8) به مدت 24 ساعت در دمای 30 درجه سانتی‌گراد گرم خانه گذاری شدند. بعد از طی شدن زمان گرم خانه گذاری جهت تشخیص نمونه‌های واجد باقیمانده آنتی باکتریال مطابق با سایر مطالعات صورت گرفته، منطقه مهار رشد باکتری‌های مورد مطالعه به وسیله دیسک‌ها موجود بر روی پلیت‌ها، مورد ارزیابی قرار گرفت (14). در نهایت دامنه استاندارد برای نمونه‌های مثبت منطقه مهار رشد با عرض 2 میلی متر و یا بیشتر در نظر گرفته شد.

آنالیز الایزا

نمونه‌هایی که در تست F.P.T مثبت تشخیص داده شدند جهت اندازه گیری میزان انروفلوکساسین در آن‌ها از کیت الایزای انروفلوکساسین (R-biopharm, R 3111, Germany) استفاده گردید. بطور خلاصه، 4 گرم از هر نمونه توزین و به کمک یک میکسر هموژنیزه گردید. سپس 4 میلی لیتر متانول 70 درصد به یک گرم از نمونه‌های هموژن شده اضافه گردید. این سوسپانسیون به مدت 10 دقیقه به طور کامل مخلوط گردید. جهت جداسازی مایع فوقانی، سوسپانسیون نمونه‌ها سانتریفیوژ گردید (دور 3000 به مدت 10 دقیقه در دمای اتاق). در ادامه مایع فوقانی نمونه‌ها با آب مقطر به میزان یک به یک رقیق شدند و 50 میکرولیتر از آن‌ها برای بررسی در کیت الایزا به هر چاهک اضافه گردید. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 450 nm قرائت و میزان بقایای انروفلوکساسین بر اساس منحنی کالیبراسیون به صورت نانوگرم در گرم بافت‌های مورد مطالعه بیان گردید.

ارزیابی آماری

مقادیر باقیمانده انروفلوکساسین بدست آمده از تست ELISA در بافت‌های عضله، کبد و کلیه در نمونه‌های متعلق به سه استان مورد مطالعه با استفاده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون Tukey توسط نرم افزار SPSS 17.0 تحت ویندوز مورد

جدول شماره (1): میانگین غلظت انروفلوکساسین در نمونه بافت‌های طیور در استان آذربایجان غربی (MRL= 100 ng/g)

نمونه	میانگین غلظت انروفلوکساسین (ng/g) ± انحراف استاندارد														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
کبد ^a	125/79±11/56	64/43±8/23	56/72±3/16	553/34±31/90	618/61±45/51	638/63±39/27	494/96±41/12	638/63±48/25	659/31±52/46	580/42±36/42	618/61±64/15	49/15±2/10	219/67±38/24	202/85±22/74	389/76±26/34
کلیه ^b	230/42±27/10	25/58±4/35	27/70±2/14	67/59±8/42	125/79±16/18	43/27±5/20	55/83±7/21	142/88±25/18	131/95±25/80	125/79±16/19	114/32±32/14	23/25±4/08	25/99±5/84	162/30±18/04	35/17±2/28
عضله ^c	18/90±2/08	9/99±1/88	22/16±6/10	162/21±25/44	50/74±8/60	48/37±4/85	72/03±3/60	76/77±8/21	79/26±12/56	99/06±6/28	105/57±18/08	15/88±1/02	15/61±2/48	35/74±3/20	40/60±9/34

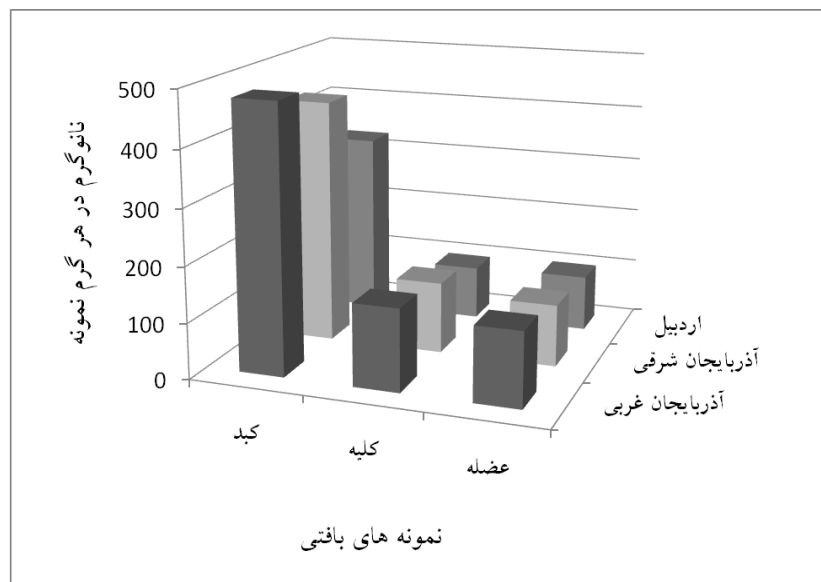
حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشد ($p < 0/05$).**جدول شماره (2):** میانگین غلظت انروفلوکساسین در نمونه بافت‌های طیور در استان آذربایجان شرقی (MRL= 100 ng/g)

نمونه	میانگین غلظت انروفلوکساسین (ng/g) ± انحراف استاندارد						
	1	2	3	4	5	6	7
کبد ^a	683/60±34/20	487/14±28/34	73/19±15/24	535/99±41/58	219/67±18/80	245/58±21/24	457/07±32/12
کلیه ^b	28/14±8/46	41/25±3/42	21/13±4/04	25/58±3/26	43/27±4/23	47/61±4/18	127/81±28/08
عضله ^c	15/86±1/41	18/31±2/12	10/00±1/28	16/90±1/18	19/20±2/58	22/52±6/38	110/74±5/30

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشد ($p < 0/05$).**جدول شماره (3):** میانگین غلظت انروفلوکساسین در نمونه بافت‌های طیور در استان اردبیل (MRL= 100 ng/g)

نمونه	میانگین غلظت انروفلوکساسین (ng/g) ± انحراف استاندارد					
	1	2	3	4	5	6
کبد ^a	502/90±38/22	389/76±23/12	219/67±12/44	196/49±8/45	274/54±21/06	383/60±18/32
کلیه ^b	48/37±7/48	35/17±2/26	41/25±5/68	37/49±3/10	49/15±2/14	95/95±8/22
عضله ^c	100/10±12/08	40/60±4/81	21/47±4/82	18/90±1/42	24/38±4/28	88/60±9/43

حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌داری می‌باشد ($p < 0/05$).



نمودار شماره (1): مقایسه میانگین باقیمانده انروفلوکساسین بالاتر از حداکثر مقدار مجاز در بافت‌های طیور استان‌های شمال غرب ایران

بحث و نتیجه گیری

با توجه به مصرف بالای فراورده‌های طیور به عنوان منبع پروتئینی حیوانی در ایران، کنترل کیفی این فراورده‌ها برای وجود باقیمانده‌های دارویی امری لازم و ضروری می‌باشد. روش‌های میکروبیولوژیکی از جمله روش‌های متداول جستجو و غربالگری باقیمانده‌های در بین سایر روش‌های تعیین بقایای دارویی در مواد غذایی (به دلیل هزینه کم‌تر و حساسیت تشخیصی) می‌باشند (12). از جمله معمول‌ترین این روش‌ها تست F.P.T می‌باشد که در صورت وجود غلظت بالای ترکیبات ضد باکتریایی منطقه مهار رشد وسیعی در این روش دیده می‌شود. عواملی همچون pH محیط کشت‌های بکار رفته و ترکیبات بافتی نمونه‌های مورد ارزیابی می‌توانند در نتایج به دست آمده با این روش تاثیر گذار باشند (15). بنابراین این تست از حساسیت لازم جهت تشخیص نوع ترکیب ضدباکتریایی خاص برخوردار نمی‌باشد. معمولاً این تست غربالگری در کنار سایر روش‌های کمی مانند ELISA و تأییدی مانند HPLC انجام می‌گیرد (16، 17).

در مطالعه حاضر از روش F.P.T در ابتدا به عنوان یک روش غربالگری اولیه و در ادامه از تست ELISA (با توجه به سرعت و ارزان بودن آن) به عنوان یک روش کمی جهت ارزیابی مقادیر باقیمانده انروفلوکساسین در بافت‌های کبد، کلیه و عضله طیور گوشتی کشتار شده در استان‌های شمال غرب ایران مورد استفاده قرار گرفت. لاشه‌های طیور مثبت تشخیص داده شده با تست

F.P.T (حاوی باقیمانده آنتی باکتریال)، 17/5 درصد کل نمونه‌های مورد ارزیابی را به خود اختصاص داده بودند. در مطالعه Salehzadeh و همکاران (2007) تمامی فارم‌های طیور مورد ارزیابی در استان تهران واجد باقیمانده انروفلوکساسین بودند که تنها 24 درصد آن‌ها بالاتر از MRL تعریف شده برای این آنتی بیوتیک بودند. از طرف دیگر بیشترین باقیمانده انروفلوکساسین را به ترتیب در بافت‌های کلیه، کبد و عضله گزارش نمودند (6).

در مطالعه دیگری که بر روی بقایای انروفلوکساسین در بافت‌های طیور به وسیله HPLC انجام شده بالاترین میزان باقیمانده انروفلوکساسین در کلیه مشاهده شد (18). در مطالعه قبلی ما، ارزیابی بافت‌های طیور توسط دو تست ELISA و HPLC نشان داد که بیشترین میزان این باقیمانده در بافت کبد می‌باشد (9).

در مطالعه حاضر تست ELISA به عنوان یک تست کمی برای ارزیابی نمونه‌های مثبت تشخیص داده شده در بررسی F.P.T نشان داد که به ترتیب 25، 85/71 و 14/28 درصد نمونه‌های کلیه، کبد و عضله واجد باقیمانده انروفلوکساسین بالاتر از حد مجاز MRL تعریف شده برای این آنتی بیوتیک در نمونه‌های طیور بودند، بیشترین و کم‌ترین میزان باقیمانده انروفلوکساسین به ترتیب در نمونه‌های کبد و عضله تشخیص داده شد، که این مسئله در مورد نمونه‌های عضله ناشی از انتشار ضعیف و حذف سریع این

با توجه به نیاز گسترده جامعه به فرآورده‌های پروتئینی به ویژه فرآورده‌های طیور، نظارت گسترده و دقیق بر روی تولید و عرضه این فرآورده‌ها و ارزیابی وجود باقیمانده‌های دارویی در آن‌ها ضروری به نظر می‌رسد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر انروفلوکساسین به‌طور وسیعی در فارم‌های طیور استان‌های مورد بررسی به ویژه استان آذربایجان غربی بکار رفته و دوره منع مصرف آن به درستی اجرا نشده یا برای این دارو نامناسب می‌باشد. نتایج این مطالعه بر اجرای دقیق قوانین جهت مصرف داروهای آنتی‌میکروبیال در صنعت طیور و همچنین بررسی لاشه‌ها برای وجود باقیمانده دارویی قبل از عرضه به مصرف کننده تاکید دارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه و معاونت پژوهشی دانشکده دامپزشکی که هزینه‌های طرح را تقبل نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

آنتی‌بیوتیک در این بافت می‌باشد. با توجه به این که کبد به عنوان یک ارگان ترشحی، محل تجمع و متابولیسم ترکیبات دارویی می‌باشد (12، 19) مقادیر متابولیت‌های دارویی در این ارگان به مراتب بیشتر از سایر بافت‌ها است، که در مطالعه ما نیز بیشترین مقدار انروفلوکساسین در این بافت تعیین شد. از طرف دیگر اختلاف نتایج مشاهده شده در روش‌های تشخیصی بکار رفته در مطالعه حاضر می‌تواند به دلیل حساسیت هم‌زمان روش F.P.T به چندین ترکیب آنتی‌باکتریال موجود در نمونه‌ها باشد (20).

میزان باقیمانده انروفلوکساسین در بافت‌های عضله، کبد و کلیه با هم اختلاف آماری معنی‌داری را نشان دادند ($p < 0/05$). تفاوت معنی‌داری بین مقادیر باقیمانده انروفلوکساسین در بافت‌های طیور استان آذربایجان غربی نسبت به آذربایجان شرقی مشاهده نشد، در حالی‌که مقادیر این باقیمانده در نمونه‌های استان اردبیل نسبت به دو استان دیگر تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$).

References:

1. Donoghue DJ. Antibiotic residue in poultry Tissues and Eggs: Human Health Concerns? *Poult Sci* 2003; 82: 618-21.
2. Bremner A. *Poultry Meat Hygiene and Inspection*, 1st ed. Sunders publisher; 1996.
3. Ferguson J, Baxter A, Young P, Kennedy G, Elliott C, Weigel S, et al. Detection of chloramphenicol and chloramphenicol glucuronide residues in poultry muscle, honey, prawn and milk using a surface plasmon resonance biosensor and Qflex® kit chloramphenicol. *Anal Chim Acta* 2005; 529: 109-13.
4. Mitchell MA. Enrofloxacin. *Journal of Exotic Pet Medicine* 2006; 15, 66-9.
5. Anonymous. USP-veterinary pharmaceutical monographs, fluoroquinolones / veterinary - systemic. *J Vet Pharmacol Ther*, 2003. 26 (Suppl. 2), 87-108.
6. Salehzadeh F, Salehzadeh A, Rokni N, Madani R, Golchinefar F. Enrofloxacin residue in Chicken tissues from Tehran slaughterhouses in Iran. *Pakistan Journal of Nutrition* 2007; 6(4): 409-13.
7. Food and Drug Administration (FDA). Tolerance for residues of new animal drug in food- U.S. FDA- Center for Devices and Biological Health- 106th regulation meeting, site 2003; 21 CFR 556.
8. Jafari MT, Khayamian T, Shaer V, Zarei N. Determination of veterinary drug residues in chicken meat using corona discharge ion mobility spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 2007; 581, 147-53.
9. Tajik H, Malekinejad H, Razavi-Rouhani SM, Pajohi MR, Mahmoudi R, Haghazari A. Chloramphenicol residues in chicken liver, kidney and muscle: A comparison among the antibacterial residues monitoring methods of Four Plate Test, ELISA and HPLC. *Food Chem Toxicol* 2010; 48: 2464-468.
10. Mottier P, Parisod V, Gremaud E, Guy PA, Stadler RH. Determination of the antibiotic chloramphenicol in meat and seafood products by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2003; 994: 75-84.
11. Toldra F, Reig M. Methods for rapid detection of chemical and veterinary drug residues in animal

- foods - a review. Trends Food Sci Technol 2006; 17: 482-89.
12. Okerman L, Wasch KD, Hoof JV. Detection of antibiotics in muscle tissue with microbiological inhibition tests: effects of the matrix. Analyst 1998; 123:2361-365.
 13. Neuhaus BK, Hurlbut JA, Hammack W. US Food and Drug Administration 2002; Laboratory Information Bulletin No. 4290.
 14. Oboegbulem SI, Fidels AP. detection of antimicrobial residues in poultry meat and slaughter cattle in Nigeria. Meat Sci 1996; 43(1):71-74.
 15. Okerman L, Hoof JV. Evaluating of the European Four-Plate test as a tool for screening antibiotic residues in meat samples from retail outlets. J AOAC Int 1997; 81:51-56.
 16. Pikkemaat MG. Microbial screening methods for detection of antibiotic residues in slaughter animals - a review. Anal Bioanal Chem 2009; 395:893-905.
 17. Kilinc B, Cakli S. Screening for antibiotic residues in the trout by the Four Plate test, Premi test and ELISA test. Eur Food Res Technol 2008; 226, 795-99.
 18. Rokni N, Salehzadeh F, Madani R. Study of Enrofloxacin residue in chicken tissues by HPLC. Iranian Journal of Food Sciences 2006; 2(4): 11-16.
 19. Rao GS, Ramesh SAH, Ahmad HC, Tripathi LD, Sharma JK, Mali k. Pharmacokinetics of Enrofloxacin and its metabolite Ciprofloxacin after intramuscular administration of Enrofloxacin in Goats. Vet Res Commun 2001; 25: 197-204.
 20. Myllyniemi AL, Rannikko R, Lindfors E, Miemi A, Backman C. Microbiological and chemical detection of incurred penicilline G, oxytetracycline, enrofloxacin, and ciprofloxacin in bovine and porcine tissues. Food Addit Contam 2000; 17 (12), 991-1000.