

“Research article”

DOI:10.30495/JFH.2022.1961856.1361

Determination of tylosin, gentamicin, and neomycin residues in distributed milk and ice-cream in Tehran by HPLC method in 2019

Khatami, A.¹, Movassagh, M.H.^{2*}

1. D.V.M Graduate of Veterinary Medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran

2. Associate Professor, Department of Veterinary Medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran

*Corresponding author: drmhmg@gmail.com

(Received: 2022/6/25 Accepted: 2022/7/11)

Abstract

Improper use of antibiotics, and the subsequent residues in raw animal products such as milk, can directly or indirectly cause health problems in human communities such as allergic reactions and reduce the effectiveness of antibiotic treatments. The aim of the present study was to determine the residual levels of tylosin, gentamicin, and neomycin in milk and ice cream distributed across Tehran. A total of 125 samples, including raw milk, pasteurized and sterilized milk, traditional and pasteurized ice cream. The samples were randomly obtained from retail centers in Tehran from July to September 2019. The residual levels of tylosin, gentamicin, and neomycin were determined using high-performance liquid chromatography (HPLC) method. Of the samples, tylosin, gentamicin, and neomycin were detected in 94.4%, 92.2%, and 96.6%, respectively. The highest tylosin residues in raw milk and ice cream samples was 26.72 ± 1.55 and 26.01 ± 1.55 $\mu\text{g/l}$, respectively. The highest gentamicin residues in raw milk and ice cream samples were 28.15 ± 1.29 and 28.8 ± 1.29 $\mu\text{g/l}$, respectively. The highest neomycin residues in raw milk and traditional ice cream samples were 33.46 ± 1.95 and 34.7 ± 1.95 $\mu\text{g/l}$, respectively. According to the Iranian National Standard, in all tested samples the residual antibiotics were below the standard approval limit. Since most samples contained antibiotic residues, continuous monitoring of milk samples for antibiotic residues is recommended.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Milk, Ice Cream, Antibiotic, High-Performance Liquid Chromatography, Tehran

DOI:10.30495/JFH.2022.1961856.1361

«مقاله پژوهشی»

تعیین میزان باقی مانده‌های تایلوزین، جنتامایسین و نئومایسین در شیر و بستنی توزیعی در شهر تهران به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در سال ۱۳۹۸

افشین خاتمی^۱، محمد حسین موثق^{۲*}

۱. دانش‌آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران

۲. دانشیار گروه دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: drmhmg@gmail.com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۴/۴ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۴/۲۰)

چکیده

مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت مستقیم یا غیرمستقیم ناشی از باقی مانده دارویی در فرآورده‌های خام دامی مانند شیر، می‌تواند باعث ایجاد معضلات بهداشتی در جوامع انسانی همچون واکنش‌های آلرژیک و کاهش تأثیر درمان‌های آنتی‌بیوتیکی شود. هدف از این مطالعه، تعیین میزان باقی مانده تایلوزین، جنتامایسین و نئومایسین در شیر و بستنی توزیعی در شهر تهران بود. در این مطالعه ۱۲۵ نمونه شامل شیر خام، شیر پاستوریزه و شیر فرادما، بستنی سنتی و پاستوریزه از مراکز توزیع در سطح شهر تهران از تیر تا شهریور ۱۳۹۸ به صورت تصادفی خورده‌ای اخذ و میزان باقی مانده تایلوزین، جنتامایسین و نئومایسین توسط روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تعیین گردید. در مجموع باقی مانده تایلوزین، جنتامایسین و نئومایسین به ترتیب در ۹۴/۴، ۹۲/۲ و ۹۶/۶ درصد نمونه‌ها مشاهده گردید. بیشترین میانگین باقی مانده تایلوزین در نمونه‌های شیر خام و بستنی سنتی به ترتیب با مقادیر $26/72 \pm 1/55$ و $26/01 \pm 1/55$ میکروگرم در لیتر بود. بیشترین میانگین باقی مانده جنتامایسین در نمونه‌های شیر خام و بستنی سنتی به ترتیب $28/15 \pm 1/29$ و $28/8 \pm 1/29$ میکروگرم در لیتر بود. بیشترین میانگین باقی مانده نئومایسین در نمونه‌های شیر خام و بستنی سنتی به ترتیب $33/46 \pm 1/95$ و $34/7 \pm 1/95$ میکروگرم در لیتر بود. با توجه به استاندارد ملی ایران مقادیر باقی مانده آنتی‌بیوتیک‌ها در هیچ کدام از نمونه‌ها بیش از حد استاندارد برآورد نشد. به علت مشاهده باقی مانده آنتی‌بیوتیک در اغلب نمونه‌ها کنترل مستمر نمونه‌های شیر از نظر باقی مانده آنتی‌بیوتیک توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: شیر، بستنی، آنتی‌بیوتیک، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، تهران

مقدمه

شیر غذای اصلی نوزادان را تشکیل می‌دهد. امروزه اهمیت سلامت شیر مصرفی و عاری بودن آن از مواد غیرمجاز در کشورهای مختلف مورد توجه است و ارگان‌های نظارتی وظیفه کنترل را بر عهده دارند. بستنی یکی از فرآورده‌های شیر هست که محبوبیت فراوانی در بین مردم به‌ویژه کودکان دارد و با توجه به استفاده از شیر در تولید بستنی وجود هرگونه مواد غیرمجاز در بستنی می‌تواند برای مصرف‌کنندگان به‌ویژه کودکان مخاطره‌آمیز باشد (Park et al., 2007). اولین مطالعه در مورد باقی مانده آنتی بیوتیک‌ها در شیر در سال ۱۳۴۱ در ایران انجام شده است و نتایج بررسی‌های بعدی نشان می‌دهد که روند حضور باقی مانده این داروها در طول دهه‌های گذشته، افزایشی بوده است (Karim et al., 2011).

مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۰ میلادی میزان مصرف آنتی بیوتیک‌ها در ۲۲۸ کشور را در پرورش دام و طیور ۶۳۱۵۱ تن گزارش کرده است. پیش‌بینی می‌شود این میزان مصرف تا سال ۲۰۳۰ میلادی تا ۶۷ درصد افزایش یابد و در کشورهایی نظیر برزیل، روسیه، هند، چین و آفریقای جنوبی دو برابر شود (Van Boeckle et al., 2015). در پرورش دام، آنتی بیوتیک‌ها برای اهداف درمانی و پیشگیری استفاده می‌شوند (Kümmerer, 2001). امروزه برای افزایش سرعت رشد و درمان دام‌ها استفاده جهانی از آنتی بیوتیک‌ها در حیوانات در مقایسه با انسان دو برابر شده است (Arikan, 2008; WHO, 2012). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که ۳۰ تا ۷۰ درصد از آنتی بیوتیک‌ها بدون تغییر آزاد می‌شوند (Sarmah et al., 2006). آنتی بیوتیک‌ها یا متابولیت‌های

آن‌ها در بافت‌های حیوانی که برای مصرف انسان در نظر گرفته شده است رسوب کرده و اگر غلظت آن از حد مجاز فراتر رود، باقی مانده آنتی بیوتیکی اطلاق می‌شود (Nisha, 2008).

مصرف بی‌رویه آنتی بیوتیک‌ها در دامداری و مرغداری‌ها و باقی مانده آن‌ها در گوشت و شیر دام‌ها سبب ایجاد مخاطرات فراوانی برای مصرف‌کنندگان می‌شود. این مخاطرات شامل ایجاد مقاومت دارویی، حساسیت، پایین آوردن میزان آلودگی‌های میکروبی در دام‌ها و ممانعت از تشخیص آزمایشگاهی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و از بین بردن میکروارگانیسم‌های مؤثر در تهیه فرآورده‌های تخمیری شیر، هستند (Karim et al., 2011). در ایران دامداران زمان پرهیز از مصرف را در درمان دام‌ها با آنتی بیوتیک‌ها رعایت نمی‌کنند. زمان پرهیز از مصرف عبارت است از دوره زمانی بین آخرین مصرف یک دارو و زمان استحصال بافت یا فرآورده خوراکی از دام درمان شده میزان باقی مانده دارو در مواد خوراکی از بیشینه مجاز باقی مانده داروی دامی، بیش‌تر نباشد (Movassagh and Karamibonari, 2014).

در دهه‌های گذشته مطالعات متعددی برای تعیین میزان باقیمانده آنتی بیوتیک‌ها در ایران انجام گرفته است که در اکثر موارد از روش‌های غربالگری و الایزا استفاده شده است. در اغلب مطالعات جدید از روش‌های نوین نظیر کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده می‌شود که دقت اندازه‌گیری بالایی را دارا است. هدف از این مطالعه تعیین میزان باقیمانده‌های جنتامایسین، نئومایسین و تایلوزین در شیر خام، شیر پاستوریزه، شیر فرادما و

فاز متحرک اول شامل استونیتریل/آب (۵:۹۵ حجمی-حجمی) و فاز متحرک دوم از استونیتریل/آب (۵۰:۵۰، حجمی-حجمی) تشکیل شده بود که هر دو حاوی ۲۰ میلی مول هپتافلور و بوتریک اسید ال-۱ بودند. جداسازی کروماتوگرافی یون‌های آنالیت بین دو فاز در دمای اتاق انجام شد و شستشو با سرعت ۱ میلی لیتر در دقیقه در حالت شستشوی گرادیان انجام شد. حجم تزریق ۴۰ میکرولیتر بود. مدت زمان لازم برای عبور محلول جنتامایسین و نئومایسین از ستون کروماتوگرافی به ترتیب ۱۷/۲ و ۱۸/۳ دقیقه تنظیم شد (Liu et al., 2017).

به منظور اندازه‌گیری باقی مانده آنتی بیوتیک تایلوژین، ۱۰ میلی لیتر نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد تا لایه چربی آن جدا شود. لایه زیرین به لوله سانتریفیوژ دیگری منتقل شد. ۲۰ میلی لیتر استونیتریل (Acetonitrile) به شیر اضافه شد و محلول مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۴۰۰ در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. سپس لایه حلال استخراج شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب به آهستگی تخلیه و به کارتریج SEP-Pak Vac C18 منتقل شد. در ادامه کارتریج (C18، ۲۰۰ میلی گرم) با ۲ میلی لیتر متانول و ۵ میلی لیتر آب فعال شد. مایع رویی حاوی تایلوژین به کارتریج SPE اضافه شد و در خلأ با فشار کمتر از ۵ میلی لیتر در دقیقه صاف گردید. سپس تایلوژین به مقدار ۲ میلی لیتر در ۰/۱ مول محلول آمونیوم استات محلول در متانول شستشو و محلول حاصله با ۶ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۰۱ میلی لیتر (pH ۶) در قیف جدا کننده مخلوط شد. ۲۰ میلی لیتر دی کلرومتان به محلول اضافه

بستنی پاستوریزه و بستنی سنتی توزیعی در شهر تهران به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا بود.

مواد و روش‌ها

- روش نمونه‌گیری

در این مطالعه توصیفی-مقطعی، ۷۵ نمونه شیر شامل ۲۵ نمونه شیر خام، ۲۵ نمونه شیر پاستوریزه و ۲۵ نمونه شیر فرادما و ۵۰ نمونه بستنی شامل ۲۵ نمونه بستنی سنتی و ۲۵ نمونه بستنی پاستوریزه از مراکز توزیع در سطح شهر تهران از تیر ماه لغایت شهریور ماه سال ۱۳۹۸ اخذ گردید. در مرحله اول برای انتخاب مراکز عرضه محصول در شهر تهران از روش تصادفی خوشه‌ای و در مرحله دوم از روش تصادفی ساده استفاده گردید. شهر تهران به ۵ ناحیه شمال، شرق، غرب، جنوب و مرکز تقسیم گردید و از مراکز عرضه برندهای تجاری مختلف در سطح شهر تهران نمونه‌ها انتخاب شدند. نمونه‌های پاستوریزه و فرادما در بسته‌بندی اصلی و نمونه‌های شیر خام و بستنی سنتی پس از خریداری از مراکز فروش، در ظرف‌های استریل درب‌دار ۵۰ میلی لیتری جمع‌آوری شد و سپس به صورت منجمد تا زمان تحویل به آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه خوارزمی نگهداری گردید.

- روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

دستگاه (HPLC Unicam-Crystal-200-انگلستان) متشکل از بخش خلأ، پمپ چهاربخشی و یک نمونه‌بردار خودکار (Autosampler) بود. ردیاب، مایع (Evaporative Light Scattering) ELSD ۲۴۲۴ (Detector) مجهز به ژنراتور جداساز هوا GA-10B بود.

استخراج شده با دقت روی کارتریج Oasis MCX SPE بارگذاری شدند. کارتریج‌ها با ۳ میلی‌لیتر اسید استیک ۲ درصد و ۳ میلی‌لیتر آب با سرعت ۱ میلی‌لیتر در طی ۱ دقیقه شستشو گردیدند. محلول شسته شده در یک لوله شیشه‌ای ۱۰ میلی‌لیتری جمع‌آوری شد و در فاصله تبخیر تا خشک شدن در دمای ۴۵ درجه سلسیوس در معرض ازت قرار گرفت. ۱ میلی‌لیتر از محلول ۲۰ میلی مول هپتافلورو بوتریک اسید ال.ال. در بازسازی باقی مانده استفاده شد. محلول‌های توزیع شده ۱ دقیقه ورتکس و از طریق فیلتر غشایی ۰/۲۲ میکرومتر قبل از تزریق بر روی سیستم HPLC-ELSD فیلتر شدند (Liu et al., 2017).

- تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری میزان باقی مانده آنتی بیوتیک از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و مقایسه بین میانگین داده‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS استفاده شد.

یافته‌ها

باقی مانده تایلوزین، جنتامایسین و نئومایسین به ترتیب در ۹۴/۴، ۹۲/۲ و ۹۶/۶ درصد نمونه‌ها مشاهده گردید. نتایج باقی مانده‌های آنتی بیوتیکی و آنالیز آماری مربوطه در جدول (۱) نشان داده شده است.

شد و مخلوط به مدت ۵ دقیقه مخلوط گردید. لایه ارگانیک توسط یک تبخیرکننده خلأ تبخیر و جداسازی شد. باقی مانده خشک شده در یک فاز متحرک ۲ میلی‌لیتری حل و با حجم ۲۰ میکرولیتر به سیستم HPLC (Unicam-Crystal-200) مجهز به ستون محافظ Lichrospher 100 RP-C18 (۵ میلی‌متر، ۴×۴ میلی‌متر) تزریق شد. سرعت جریان ۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه و عمل ایزوکراتیک (Isocratic) با فاز متحرک استونیتریل-اسید فسفریک ۰/۰۵ مول، pH ۲/۴ (۶۰+۴۰) انجام شد. این نسبت به عنوان یک میانگین جداسازی و حساسیت بهینه تحت عنوان ستون قدیمی در نظر گرفته شد. هر دو نمونه و استانداردها به فاز متحرک تزریق شدند. مدت زمان عبور محلول تایلوزین از ستون کروماتوگرافی ۷ دقیقه بود (Dudriková et al., 2017). یک گرم نمونه در لوله سانتریفیوژ ۱۵ میلی‌لیتری وزن شد. ابتدا ۵ میلی‌لیتر محلول مواد معدنی استخراج شده (۱۰ میلی مول پتاسیم دی هیدروژن فسفات L-1 حاوی ۰/۴ میلی مول اتیلن دی آمین تتراستیک اسید L-1 و تری کلرواستیک اسید ۲ درصد) به لوله منتقل شدند. لوله ۱ دقیقه روی ورتکس و سپس ۱۰ دقیقه تحت اولتراسوند قرار داده شد. سپس مخلوط در ۴ درجه سلسیوس و ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. باقی مانده‌ها مجدداً به همان روش استخراج شد. مایع شناور درون یک لوله جدید، سانتریفیوژ شد. pH مایع رویی با آمونیاک روی ۰/۵ ± ۰/۵ تنظیم شد و بعد عصاره‌های

جدول (۱) - مقایسه میانگین میزان آنتی بیوتیک‌های موجود در نمونه‌های شیر و بستنی جمع‌آوری شده در شهر تهران

آنتی بیوتیک (میکروگرم در لیتر)			نوع نمونه
تایلوزین	جتتامایسین	نئومایسین	
۲۶/۷۲ ^a	۲۸/۱۵ ^a	۳۳/۴۶ ^a	شیر خام
۱۶/۷۷ ^b	۵/۸۹ ^c	۱۶/۷۳ ^b	شیر پاستوریزه
۸/۶۱ ^c	۵/۳۲ ^c	۷/۴۳ ^c	شیر فرا دما
۲۶/۰۱ ^a	۲۸/۸ ^a	۳۴/۷ ^a	بستنی سنتی
۱۷/۳۰ ^b	۱۰/۷ ^b	۱۹/۰۹ ^b	بستنی پاستوریزه
۱/۵۵	۱/۲۹	۱/۹۵	SEM
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	ارزش P

a, b, c: اعداد با حروف غیرمشابه اختلاف معنی‌دار با یکدیگر دارند.

درصد فراوانی نمونه‌های شیر و بستنی حاوی باقیمانده آنتی‌بیوتیک بیش از حد مجاز در شهر تهران در جدول (۲) نشان داده شده است. طبق جدول (۲) در هیچ‌یک از نمونه‌ها مقدار باقی‌مانده تایلوزین، جتتامایسین و نئومایسین بیش از حد مجاز استاندارد ملی ایران نبود.

طبق جدول (۱) در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده در شهر تهران شیر خام و بستنی سنتی بیشترین مقدار تایلوزین و شیر فرا دما کمترین میزان باقی‌مانده را داشتند. بیشترین میزان باقی‌مانده جتتامایسین مربوط به شیر خام و بستنی سنتی هست و کمترین میزان باقی‌مانده در شیر فرا دما و شیر پاستوریزه بود. بیشترین میزان باقی‌مانده نئومایسین در شیر خام و بستنی سنتی و کمترین مقدار در شیر فرا دما بود.

جدول (۲) - درصد فراوانی نمونه‌های شیر و بستنی حاوی باقیمانده آنتی بیوتیک بیش از حد مجاز در تهران

نوع آنتی بیوتیک	نوع نمونه	تعداد (درصد) نمونه‌های کمتر از حد مجاز	کمینه	بیشینه
جنتامایسین	شیر خام	۲۵ (۱۰۰)	۴/۰۹	۴۱/۷
(حد مجاز ۲۰۰ میکروگرم در هر لیتر طبق استاندارد ملی ۱۱۰۱)	شیر پاستوریزه	۲۵ (۱۰۰)	۳/۷۱	۹/۳۰
	شیر فرا دما	۲۵ (۱۰۰)	۲/۲۵	۷/۸۰
	بستنی سنتی	۲۵ (۱۰۰)	۹/۷	۴۱/۶
	بستنی پاستوریزه	۲۵ (۱۰۰)	۲/۰	۲۱/۰
نئومایسین	شیر خام	۲۵ (۱۰۰)	۱۰/۵	۷۰/۳
(حد مجاز ۱۵۰۰ میکروگرم در هر لیتر طبق استاندارد ملی ۱۱۰۱)	شیر پاستوریزه	۲۵ (۱۰۰)	۸/۹۴	۲۲/۷
	شیر فرا دما	۲۵ (۱۰۰)	۲/۵۵	۱۷/۴۱
	بستنی سنتی	۲۵ (۱۰۰)	۱۰/۳	۵۳/۵
	بستنی پاستوریزه	۲۵ (۱۰۰)	۹/۸	۲۷/۵
تایلوزین	شیر خام	۲۵ (۱۰۰)	۹/۵	۵۳/۷
(حد مجاز ۱۰۰ میکروگرم در هر لیتر طبق استاندارد ملی ۱۱۰۱)	شیر پاستوریزه	۲۵ (۱۰۰)	۷/۶	۲۸/۲
	شیر فرا دما	۲۵ (۱۰۰)	۴/۴۲	۱۲/۹
	بستنی سنتی	۲۵ (۱۰۰)	۱۰/۴	۵۵/۸
	بستنی پاستوریزه	۲۵ (۱۰۰)	۶/۸	۳۰/۴

بحث و نتیجه گیری

۳۱/۴ و ۶۰ درصد نمونه‌ها مشاهده گردید که با نتایج مطالعه کنونی هم‌خوانی نداشت. این تفاوت که می‌تواند مربوط به نوع روش تعیین نمونه‌های حاوی باقی مانده آنتی بیوتیک‌ها باشد (Akbari Kishi et al., 2016). در مطالعه دیگری، ۶۸ نمونه شیر شامل ۴۰ نمونه شیر خام از مخزن دامداری‌های طرف قرارداد با کارخانه‌های شیر پاستوریزه مشهد و ۲۸ نمونه شیر پاستوریزه از همان کارخانه‌ها به وسیله کیت الایزای جنتامایسین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد از میان ۶ نمونه شیر خام و ۲ نمونه شیر پاستوریزه (۱۱/۷۶) درصد از کل نمونه‌های شیر خام و پاستوریزه) حاوی باقی مانده جنتامایسین بودند. محدوده بالاترین میزان باقی مانده جنتامایسین در نمونه‌ها ۶۳۰ الی ۱۲۵۰ میکروگرم در

با توجه به نتایج مطالعات انجام گرفته در سال‌های گذشته در نقاط مختلف کشور سه آنتی بیوتیک تایلوزین، جنتامایسین و نئومایسین برای این مطالعه انتخاب گردید. با توجه به جستجو در منابع در دسترس تعیین مقادیر باقی مانده آنتی بیوتیک در بستنی در شهر تهران در ۱۰ سال اخیر برای اولین بار انجام شده است. در یک مطالعه، ۵۷۰ نمونه شیر خام از مراکز جمع‌آوری شیر واقع در ۱۵ شهر استان گیلان و ۳۰ نمونه شیر پاستوریزه از برندهای مختلف عرضه شده در سطح استان گیلان به صورت تصادفی جمع‌آوری شد و با آزمون کوپن مورد ارزیابی قرار گرفت. باقی مانده آنتی بیوتیک در شیر خام و شیر پاستوریزه به ترتیب در

هر لیتر بود. میزان میانگین باقی مانده تایلوزین به ترتیب ۰/۹۸، ۰/۶۲ و صفر میکروگرم در هر لیتر بود. با توجه به نتایج مطالعه اخیر، مقادیر باقی مانده جنتامایسین و تایلوزین بسیار کمتر از مطالعه حاضر است و فقط مقادیر باقی مانده نئومایسین بیشتر از مطالعه حاضر بود (Bilandzic et al., 2011).

تحقیقی در منطقه شمال شرقی رومانی بین سال‌های ۲۰۰۶ تا ۲۰۰۹ روی باقیمانده جنتامایسین و نئومایسین در نمونه شیر خام گاو با روش الیزا انجام گرفته بود. باقیمانده جنتامایسین و نئومایسین در ۲۵ درصد نمونه‌ها مشاهده گردید که میانگین این باقیمانده‌ها به ترتیب ۱۹۸/۶۸ و ۲۰۴۸/۵۳ میکروگرم در کیلوگرم بود که در مقایسه با مطالعه حاضر، درصد نمونه‌های حاوی جنتامایسین و نئومایسین کمتر بود ولی میانگین میزان باقی مانده خیلی بیش تر برآورد شد (Gradinaru et al., 2011).

در مطالعه‌ای در نیجریه، ۲۰۵ نمونه شامل ۱۲۶ نمونه شیر خام و ۷۹ نمونه شیر تخمیری از نظر وجود تایلوزین با روش کروماتوگرافی و باقی مانده‌های آنتی‌بیوتیکی با روش چهار پلیت بررسی شد. در ۷۶ درصد نمونه‌های شیر خام باقی مانده آنتی‌بیوتیکی مشاهده گردید و باقی مانده تایلوزین در ۲۴ درصد نمونه‌های شیر خام مشاهده شد. میانگین میزان باقی مانده تایلوزین $۰/۶۹ \pm ۱۴/۶۴$ میکروگرم در لیتر بود. درصد و میزان باقی مانده تایلوزین با مطالعه حاضر همخوانی نداشت (Stella et al., 2020).

لیتر بود. درصد نمونه‌های حاوی باقی مانده جنتامایسین و میزان باقی مانده آنتی‌بیوتیک با مطالعه کنونی همخوانی ندارد (Fallah Rad et al., 2006).

مطالعه‌ای در سال ۱۳۸۹ در استان آذربایجان شرقی از نظر وجود باقی مانده نئومایسین در فصل بهار و پاییز روی ۲۰۰ نمونه شیر پاستوریزه انجام شد. میزان باقی مانده نئومایسین در نمونه‌ها در دو فصل بهار و پاییز به ترتیب $۸/۱۰ \pm ۴۳/۲۰$ و $۲/۰۸ \pm ۲۶/۶۳$ میکروگرم در لیتر بود (Movassagh and Karamibonari, 2014). در مطالعه کنونی میزان باقی مانده نئومایسین در نمونه‌های شیر پاستوریزه در شهر تهران در فصل تابستان $\pm ۱/۹۵$ $۱۶/۷۳$ میکروگرم در لیتر بود که می‌تواند علت کمتر بودن باقی مانده دارو نوع فصل نمونه برداری باشد. در لبنان مطالعه‌ای روی میزان باقی مانده جنتامایسین و استرپتومایسین انجام گرفت و میانگین باقیمانده این آنتی‌بیوتیک‌ها به ترتیب ۹۰ و ۸۰ میکروگرم در لیتر بود که در مقایسه با مطالعه حاضر بسیار بالاتر بود (Zeina et al., 2013).

در مطالعه‌ای در کرواسی که از سال ۲۰۰۸ تا ۲۰۱۰ انجام شده بود، تعداد ۱۲۵۹ نمونه شیر خام گاو جمع‌آوری شد و از نظر باقیمانده آنتی‌بیوتیکی با روش‌های الیزا و میکروبی مورد بررسی قرار گرفت. باقی مانده آنتی‌بیوتیک در ۳۰ نمونه مشاهده گردید. میزان میانگین باقی مانده جنتامایسین در سه سال نمونه برداری متوالی به ترتیب ۱/۷۶، ۱/۰۵ و ۱/۱۲ میکروگرم در لیتر بود. هم‌چنین میزان میانگین باقی مانده نئومایسین به ترتیب ۳۲۸/۶، ۱۱۹/۶ و صفر میکروگرم در

سپاسگزاری

مقاله منتج از پایان نامه دوره دکترای حرفه‌ای دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر است. نگارندگان از همکاری آقای دکتر مسعود مشهدی اکبربوجار برای آنالیز نمونه‌ها با HPLC تقدیر و تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

با توجه به نتایج به دست آمده، باقیمانده تایلوزین، جنتامایسین و نئومایسین در شیر و بستنی در شهر تهران در حد مجاز است؛ اما با توجه به درصد بالای نمونه‌های حاوی باقی مانده آنتی بیوتیکی و اثر تجمعی این مقادیر می‌تواند در اثر مصرف روزانه شیر و سایر فرآورده‌های آن داشته باشد. به طور کلی بقایای آنتی بیوتیک‌ها در شیر باعث ایجاد تداخل در تهیه محصولات تخمیری شیر خواهد شد و همچنین ایجاد سویه‌های میکروبی مقاوم در برابر آنتی بیوتیک‌ها از عواقب حضور آنتی بیوتیک‌ها در شیر و فرآورده‌های آن هست. کنترل منظم و دوره‌ای همراه با آموزش دامداران برای عدم مصرف خودسرانه آنتی بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های دامی در نظر گرفته شود.

منابع

- Akbari Kishi, S., Asmar, M. and Mirpur, MS. (2016). The study of antibiotic residues in raw and pasteurized milk in Gilan province. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 11(3):71-77. [In Persian]
- Arikian, O.A. (2008). The fate of chlortetracycline during the anaerobic digestion of manure from medicated calves. *Journal of Hazardous Materials*, 158(2-3): 485-490.
- Bilandzic, N., Kolanovic, B.S., Varenina, I., Scortichini, G., Annunziata, L., *et al.* (2011). Veterinary drug residues determination in raw milk in Croatia. *Food Control*. 22(12): 1941-1948.
- Burrows, G.E., Parto, P.B. and Martin, B.B. (1987). Comparative pharmacokinetics of gentamicin, neomycin and oxytetracycline in newborn calves. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 10(1): 54-63.
- Dudriková, E., Jozef, S. and Jozef, N. (1999). Liquid chromatographic determination of tylosin in mastitic cow's milk following therapy. *Journal of AOAC international*. 82(6): 1303-1307.
- Fallah Rad, A., Mohsenzadeh, M. and Asadpour, H. (2006). Determination of gentamicin residue in raw milk delivered to Mashhad pasteurized milk factory and pasteurized milk obtained from the same raw milk. *Agricultural Science and Technology*, 20(7): 183-189.
- Food and Agriculture Organization, (2019). Neomycin. Available at: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/vetdrug/docs/41-15-neomycin.pdf
- Gradinaru, A.C., Popescu, O. and Solcan, G. (2011). Antibiotic residues in milk from Moldavia, Romania. *Human and Veterinary Medicine*, 3(2): 133-141.

-
- Ghidini, S.M., Zanardi, E., Varisco, G. and Chizzolini, R. (2003) Residues of β lactam antibiotics in bovine milk: Confirmatory analysis by liquid chromatography tends mass spectrometry after microbial assay screening. *Food Additives and Contaminants*, 20(6): 528-534.
 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), (2018). Maximum residue limits for veterinary drugs in food. 2nd Revision, ISIRI No. 11101. [In Persian]
 - Karim, G., Kiaei, S., Rokni, N. and Razavi, R.S. (2011). Antibiotic residue contamination in milk during last forty years in Iran. *Food Hygiene*, 1(1): 23-30. [In Persian]
 - Kümmerer, H.T.K. (2001). Pharmaceuticals in the environment – sources, fate, effects and risks. *Aquatic Toxicology*, 71: 391–392
 - Liu, Q., Li, J., Song, X., Zhang, M., Li, E., Gao, F., et al. (2017). Simultaneous determination of aminoglycoside antibiotics in feeds using high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection. *RSC Advances*, 7(3): 1251-1259.
 - Movassagh, M. and Karamibanari, A.R. (2014). Investigating the residual amount of neomycin in pasteurized milk produced in a number of factories in East Azerbaijan Province. *Journal of Food hygiene*, 4(3): 43-49. [In Persian]
 - Nisha, A.R. (2008). Antibiotic residues—a global health hazard. *Veterinary World*, 1(12): 375–377.
 - Park, Y.W and Haenlein, G.F. (2013). *Milk and dairy products in human nutrition: production, composition and health*. 1st Edition, Wiley publishers, pp. 644-658.
 - Papich, M. (2016). *Saunders Handbook of Veterinary Drugs*. 4th Edition, Saunders, pp. 826-827.
 - Sarmah, A.K., Meyer, M.T. and Boxall, A.B. (2006). A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*, 65(5): 725–759.
 - Stella, O.I.O., Ezenduka, E.V. and Anaelom, N.J. (2020). Screening for tylosin and other antimicrobial residues in fresh and fermented (nono) cow milk in Delta state, South-South, Nigeria. *Veterinary World*, 13(3): 458–464.
 - Van Boeckel, T.P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B.T., Levin, S.A., Robinson, T.P., et al. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(18): 5649–5654.
 - World Health Organization (2012). The evolving threat of antimicrobial resistance: options for action: executive summary. World Health Organization. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/75389>.
 - Zeina, K., Pamela, A.K. and Fawwak, S. (2013). Quantification of antibiotic residues and determination of antimicrobial resistance profiles of microorganisms isolated from bovine milk in Lebanon. *Food and Nutrition Sciences*, 4(7): 1-9.