

بررسی بقایای آنتی بیوتیک در شیرهای خام سنندج

نادر حبیبی^۱

تاریخ پذیرش: ۸۸/۹/۸ تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۸

چکیده

این طرح تحقیقاتی به منظور بررسی بقایای آنتی بیوتیک باقیمانده در شیرهای خام ارسالی به یک شرکت شیرولینیات 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 ۲۱، ۲۰ و ۲۳ بود. آزمایش برای هر گروه در تکرارهای منظم یک هفت‌های صورت گرفت. در کل بروی ۱۶۷ نمونه با استفاده از کیت کوپن آزمایش انجام شد. ۱۰۳ نمونه یعنی ۶۱٪ از لحاظ وجود آنتی بیوتیک منفی و ۶۴ نمونه یعنی ۳۸٪ مثبت بود. تعداد نمونه‌هادر گروه‌های ۲۰، ۲۱، ۶۱ و ۹۷ تعداد نمونه‌های مثبت به ترتیب ۲، ۲۱، ۶۱ و ۱۱ یعنی ۳/۳٪ و ۶۲٪ 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 خواهد داشت، پایین آوردن میزان آلودگی‌های میکروبی دردام 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 (۸ و ۳). 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 مصرف کنندگان 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 nhabiby@iausdj.ac.ir

قطره‌چکان ۱۰۰ میکرو لیترداخل کیت ریخته(کیت ها حاوی سرهای آلومینیومی هستند) و بعداز گذاشتن سرآلومینیومی 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 و لبنیات پاستوریزه توسط کلیه مراکز جمع‌آوری شیر، گاوداری‌های نیمه صنعتی و صنعتی در تابستان ۱۳۸۷ می‌باشد. که تعداد مراکز جمع‌آوری شیر، گاوداری‌های نیمه‌صنعتی و گاوداری‌های‌صنعتی به ترتیب ۱، ۱۷ و ۳ می‌باشد.

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

$$n = \frac{pq\tau^2}{d^2} = \frac{\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} \times (1.96^2)}{(0.08^2)} = 150$$

روش نمونه‌گیری بصورت طبقه‌بندی با تخصیص متناسب می‌باشد و تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده‌از نرم افزار spss انجام گرفت.

بدین منظور در تابستان ۱۳۸۷ برروی شیرهای تحویلی آزمایش جستجوی بقاوی آنتی‌بیوتیک بالاستفاده‌از کیت کوپن که یک آزمون استاندارد برای جستجوی آنتی‌بیوتیک می‌باشد، به فواصل منظم یک هفته‌ای انجام گردید. و نتایج آزمایش‌ها به صورت وجودی‌عدم بقاوی آنتی‌بیوتیک برای هر نمونه ثبت شد. نظربه این که تحقیق از نوع مشاهده‌ومقایسه می‌باشد بنابراین لازم است در پایان، نتایج این سه گروه با یکدیگر مقایسه شود.

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

جستجوی بقاوی آنتی‌بیوتیک در شیرخام در این منطقه انجام گیرد، اما تاکنون تحقیقات انجام‌گرفته محدودبوده و دامنه و گستره زیادی نداشته است. نظر به اینکه در غرب کشور به خصوص دراستان کردستان بیماری ورم پستان یکی از شایع ترین بیماری‌ها در بین دامها می‌باشد که به دلایل متعددی ممکن است به وجود بیاید و نیز برای درمان از آنتی‌بیوتیک استفاده‌می‌شود، بنابراین بعداز تزریق با توجه به زمان انتظار تا مدتی باید از شیر دام استفاده‌کرد و این به دلیل انتقال آن به شیر و حساسیت بعضی از افراد به آنتی‌بیوتیک و همچنین خسارت وارد به صنعت لبنی می‌باشد. اما آنچه که به طور مشخص مطرح می‌شود این است که آیا کسانی که درامر تهیه این ماده غذایی با ارزش و مفید که گستره مصرف آن و فرآورده‌های حاصله بسیار زیاد می‌باشد به این مسئله مهم واقع هستند و یا این که برای آن اهمیت قائل می‌شوند یا نه؟ که این بستگی به آموزش این افراد و نیز احساس مسئولیت و تعهد آن‌ها در برابر مصرف کنندگان دارد. بنابراین برای این که مشخص شود آیا در شیر بقاوی آنتی‌بیوتیک وجود دارد یا نه باید به جستجوی آن پرداخت. دراین زمینه روش‌های مختلفی وجود دارد اما یکی از روش‌های شناخته شده استفاده از کیت کوپن می‌باشد.

مواد و روش کار

۱- مواد

کیت کوپن برای تشخیص میزان آنتی‌بیوتیک موجود در شیر مورد استفاده قرار می‌گیرد که مواد موجود در آن شامل تخم‌های باسیلوس استئاروتروموفیلوس و کالیدولاکتیس می‌باشد.

۲- وسایل

- انکوباتور: انکوباتور مورد استفاده در این آزمایش انکوباتور نوع a_{10b} می‌باشد.

۳- روش آزمایش

در ابتدا نمونه‌های شیر را آماده کرده و توسط

در گروه‌های ۱ و ۲ و ۳ به ترتیب تعداد نمونه‌ها ۱، ۶۱ و ۶۲ بود که درصد آنها در این موارد به ترتیب ۳/۱٪، ۰/۱٪ و ۹۵/۳٪ بود.

۶- از تعداد ۱۰۳ نمونه بدون آلدگی به آنتی‌بیوتیک در گروه ۱، درصد آنها در گروه و کل نمونه‌های بدون آلدگی به ترتیب ۹۶/۷٪ و ۳۵/۳٪ بود. این مقدار برای گروه ۲ به ترتیب ۸۸/۹٪ و ۴/۸٪ و برای گروه ۳ به ترتیب ۳۷/۱٪ و ۲۱/۶٪ بود. (نمودار ۱)

۷- از تعداد ۶۴ نمونه آلدگی به آنتی‌بیوتیک در گروه ۱، درصد آنها در گروه و کل نمونه‌های آلدگی به ترتیب ۳/۳٪ و ۱/۲٪ بود. این مقدار برای گروه ۲ به ترتیب ۰/۶٪ و برای گروه ۳ به ترتیب ۱۱/۱٪ و ۵/۳٪ بود. (نمودار ۱)

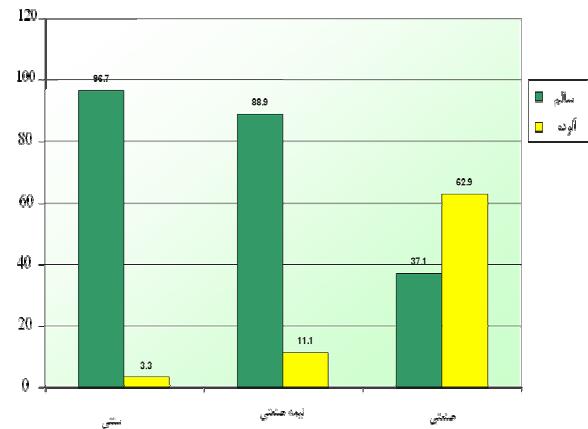
بحث

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 گاوداری‌صنعتی باید دارای یک نفر مسئول بهداشتی بوده و همواره بر امورات بهداشتی و پیشگیری از بیماری و درمان دام‌های بیمار نظارت داشته باشد و نحوه درمان، تجویز، نوع و زمان انتظار دارو را کنترل کند. اما برخی از این واحدها ممکن است این شخص را دراستخدام نداشته باشند و یا اینکه حضور مسئول فنی و بهداشتی کم نگ باشد و به صورت مستمر و مداوم به آنجا سرکشی نکند، در این صورت توسط دیگران فراد غیر متخصص آنتی‌بیوتیک به طور بی رویه به دام‌ها داده شده و نیز مسلم است که زمان انتظار رعایت نمی‌شود.

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

نتایج



نمودار ۱- مقایسه درصد نمونه‌های آلدگ و سالم (آنتی‌بیوتیک) در شیرهای تولیدی سنتی، نیمه‌صنعتی و صنعتی

در آماره کروسکال والیس $H = 58/92$ با درجه آزادی ۲، که در سطح $P < 0.001$ معنی دار است.

۱- درنتیجه آزمون ناپارامتری کروسکال والیس به منظور بررسی تفاوت بین سه گروه شیر خام مراکز جمع‌آوری شیر، گاوداری‌های نیمه‌صنعتی و گاوداری‌های صنعتی از نظر آلدگی شیر خام به باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک مقدار خی دو $X^2 = 58/92$ در سطح 0.001 معنی دار می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که در سطح 0.001 ($P < 0.001$) بین میزان آلدگی بقایای آنتی‌بیوتیک در سطح سه گروه ذکر شده تفاوت معنی داری وجود دارد.

۲- از مجموع کل نمونه‌ها که ۱۶۷ بود تعداد ۱۰۳ نمونه یعنی ۶۱/۷۹٪ آنها بدون آلدگی و تعداد ۶۴ نمونه یعنی ۳۸/۲۱٪ آنها دارای بقایای آنتی‌بیوتیک بودند.

۳- از تعداد ۱۶۷ نمونه مورد آزمایش قرار گرفته تعداد و درصد آنها در گروه ۱ به ترتیب ۳۶/۵٪ و در گروه ۲ به ترتیب ۹ و ۴/۴٪ و در گروه ۳ به ترتیب ۹۷ و ۱/۵٪ بود.

۴- از تعداد ۱۰۳ نمونه بدون آلدگی به آنتی‌بیوتیک در گروه‌های ۱ و ۲ و ۳ به ترتیب تعداد نمونه‌ها ۵۹، ۳۶ و ۸ بود که درصد آنها در این موارد به ترتیب ۵۷/۲۸٪، ۷/۷۷٪ و ۳۴/۹۵٪ بود.

۵- از تعداد ۶۴ نمونه آلدگی به آنتی‌بیوتیک

ایران تحقیقاتی بر روی شیرخام از لحاظ وجود یا عدم بقایای آنتی بیوتیک بر روی شیر خام صورت گرفته است که می توان به موارد زیر اشاره کرد: در پایش باقیمانده آنتی بیوتیک در شیر خام در آذربایجان شرقی توسط صفری و همکاران از ۱۰ دامداری در ۱۰ تکرار، یافته ها شامل ۱۰ الی ۲۰ درصد نتایج مثبت و مشکوک بودند، پس با مقایسه با نتایج تحقیق حاضر تعداد نتایج مثبت پایین می باشد. در تحقیق دیگری که بر روی ۹۰ نمونه شیر پاستوریزه در ۵ روز متوالی از ۶ شرکت عمده تولید کننده شیر پاستوریزه تهران برای بررسی اکسی تراسیکلین و تتراسیکلین با استفاده از روش HPLC انجام گرفته، نتایج نشان می دهد که میزان تتراسیکلین کمتر از حد مجاز یعنی ۱۰۰ PPM بود. تنها در یک نمونه مجموع دو آنتی بیوتیک قدری بالاتر و در حد ۱۳۸ PPM بود. این تحقیق چون بر روی دو آنتی بیوتیک و آن هم از لحاظ کمی انجام گرفته، بنابراین مقایسه مناسبی شکل نمی گیرد فقط می توان به این مطلب اکتفا کرد که نمونه های مثبت بسیار کم می باشد. علاوه بر این تحقیقات دیگری نیز در این رابطه در مناطق مختلف جهان صورت گرفته که نمونه هایی از آنها در ادامه می آید: در مکریک از ۲۶۴ نمونه شیر خام که از ۲۲ مزرعه در طول ۳ ماه و هر هفته یکبار توسط جورج سالتیجرال و همکاران در سال ۲۰۰۴ آزمایش شد ۷۷٪ نمونه ها مثبت بود (۱۴). مشاهده می شود که نتایج نمونه های مثبت بسیار بالاتر از تراز تحقیق فعلی یعنی ۳۸٪/۲۱٪ می باشد. نتایج آزمایش های 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 آنتی بیوتیک منفی و نمونه مثبت می باشد. در دو تحقیق مذکور در مقایسه با این تحقیق تعداد نمونه های مثبت پایین

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

معمولًا گاو های موجود در دامداری های سنتی نسبت به بیماری ها مقاوم ترند و نیز در صورت وقوع بیماری دامدار اهمیت کمتری برای آن قائل می شود و تا زمانی که مجبور نشود به دامپزشک مراجعه نمی کند بنابراین در این صورت داروی کمتری تجویز می شود. در دامداری های سنتی چون میزان تولید پایین می باشد بالطبع شیر تولیدی به میزان کمتری به واحدهای فرآوری تحويل داده می شود. در نتیجه احتمال مثبت بودن تست آنتی بیوتیک در این نمونه ها کاهش می یابد. در دامداری های سنتی در مراحل مختلفی از تولید و یا جمع آوری ممکن است به شیر آب افزوده شود که این امر سبب رقیق شدن آن گردیده و نتایج مثبت کمتر مشاهده می شود.

در فصل گرما حشرات بیشتری در محیط وجود دارند که می توانند حامل بسیاری از انگل ها باشند، بنابر این میزان ابتلا به بیماری های انگلی به خصوص تیلریوز که سبب ایجاد تب و کاهش تولید می گردد در دامداری ها افزایش یافته که نتیجه آن مصرف داروی انگلکی می باشد.

مروری بر تحقیقات انجام گرفته نشان می دهد که اغلب این تحقیقات بر روی شیر خام 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 می باشد (۱۲و۹). اما در مواردی مشاهده می شود که تفاوت نتایج به دست آمده با دیگر تحقیقات زیاد است، یا درصد موارد مثبت بقایای آنتی بیوتیک بیش از نتیجه حاصله این تحقیق بوده (۱۴) و یا موارد مثبت بسیار پایین بوده است (۱۷). البته نکته ای که در تحقیقات انجام گرفته دیگران به چشم می خورد این است که در آنها اشاره ای به منشأ تهیه شیر خام نشده تا بتوان در این ارتباط مقایسه مناسبی را ارائه داد. در

معروفی و نیز از راهنمایی جناب آقای دکتر لقمان اکرادي تشكر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- ۱- اف، هـ. (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 طباطبائی، ع.، فیروزی، ر. (۱۳۸۴): بیماری‌های باکتریایی دام. چاپ دوم. صفحات ۴۵-۴۹، ۴۹-۵۱.
- ۳- رکنی، ن. (۱۳۷۵): اصول بهداشت موادغذایی. 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 ۲۲۰-۲۲۰، ۲۱۹-۲۱۳، ۲۱۳-۲۱۱.
- ۵- کوین، 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.، پیترات، 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 شیرخام از دامداری‌ها و مغازه‌ها ۲۸ نمونه آن مثبت بوده است (۹). در پاکستان از ۱۳۷ نمونه شیرخام که از لحاظ بقایای آنتی‌بیوتیک بتالاکتام توسط ام‌خشحلی و همکاران در سال ۲۰۰۸ مورد آزمایش قرار گرفت، ۵/۳۶٪ نمونه‌ها متفق و ۱۲٪ آنها مثبت بود (۱۲).

باید یادآورشد که ورم‌پستان هرگز ریشه کن نمی‌شود. انواعی از باکتری‌هادراین امردختیل هستند و خیلی از آنها حضور دائمی دارند. میزان کارایی آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان موارد مختلف ورم پستان بسیار متفاوت است و به دلیل تنوع باکتری‌های در گیر، واکسیناسیون به تنها یکی کارایی اندکی در کاهش موارد بروز آنها دارد. به هر حال رویکرد کلی در ورم پستان باید کنترل آن باشد. امروزه با پیشرفت در امر تولید و دست یابی به گاوهای پر شیر، حساسیت آنها به ورم پستان نیز بیشتر شده است و از این رواهیمیت کنترل ورم پستان روز به روز بیشتر می‌شود.

اگر چه در مورد نحوه نفوذ باکتری‌ها به مجرای پستان، دسته بندی‌های 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 مجزانمود. واضح است که پس زدن شیر به کارتیه به حرکت و نفوذ باکتری‌های واگیردار از طریق مجرما کمک می‌کند: در حالی که در پاره‌ای از موقع مثلاً قرارگرفتن نوک پستانک در معرض آلودگی بالافاصله 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 و لبنیات پاستوریزه پاک آرا و خانم مهندس روشنک

- 9- Amar Said Ahmad, m.m., Ibtisam El Zubier,e., Osman El Owni, m.a.o and Mohmed 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, l.(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., Malikr, s., Arain, m.a., Soomro, a.h. and Arain, h.h. (2008):Detection Detection of β - 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.