



دانشگاه فروردین مشهد
دانشکده دامپزشکی

شماره ثبت: ۳۵۷

پایان نامه:

جهت دریافت درجه دکتری عمومی دامپزشکی (D.V.M)

عنوان پایان نامه:

جست و جوی برخی باقی مانده های آنتی بیوتیکی در لاشه های طیور در

کشتار گاه صنعتی مشهد

به کوشش:

فریده قاسمی

استاد راهنما:

دکتر بهروز فتحی

استاد مشاور:

دکتر عبدالله جمشیدی

تیر ۱۳۹۰



دانشگاه فروردین مشهد
دانشکده دامپزشکی

شماره ثبت: ۳۵۷

پایان نامه:

جهت دریافت درجه دکتری عمومی دامپزشکی (D.V.M)

عنوان پایان نامه:

جست و جوی برخی باقی مانده های آنتی بیوتیکی در لاشه های طیور در

کشتار گاه صنعتی مشهد

به کوشش:

فریده قاسمی

استاد راهنما:

دکتر بهروز فتحی

استاد مشاور:

دکتر عبدالله جمشیدی

تیر ۱۳۹۰

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

اظہار نامہ

اینجانب فریدہ قاسمی دانشجوی دوره دکتری / کارشناسی ارشد رشته دامپزشکی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد نویسنده‌ی پایان‌نامه جست‌وجوی برخی باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی در لاشه‌های طیور در کشتارگاه صنعتی مشهد تحت راهنمایی دکتر بهروز فتاحی متعهد می‌شوم:

- تحقیقات در این رساله/پایان‌نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهش‌های محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در رساله/پایان‌نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه فردوسی مشهد » و یا « Ferdowsi University of Mashhad » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی رساله/پایان‌نامه تأثیرگذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از رساله/پایان‌نامه رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این رساله/پایان‌نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافت‌های آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این رساله/پایان‌نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ و امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در رساله/پایان‌نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

به نام خدا

جست و جوی برخی باقی مانده های آنتی بیوتیکی در لاشه های طیور در کشتارگاه صنعتی مشهد

به کوشش:

فریده قاسمی

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه فردوسی مشهد به عنوان
بخشی از فعالیت های تحصیلی لازم برای اخذ درجه دکتری عمومی

در رشته ی:

دکتری حرفه ای دامپزشکی (DVM)

از دانشگاه فردوسی مشهد

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی کمیته پایان نامه، با رتبه عالی و نمره ۱۹/۸۷ به تصویب هیات محترم داوران رسید.

امضای اعضای کمیته پایان نامه:

استاد راهنما: دکتر بهروز فتاحی، استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

استاد مشاور: دکتر عبدالله جمشیدی، دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

استاد داور: دکتر سعید خانزادی، استادیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

استاد داور: دکتر امیر افخمی، استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

تیر ۱۳۹۰

تقدیم به پدر و مادر عزیزم:

ایجا کلامی نیست، حتی برای یکی دو جمله، تا به پاس همراهان گویم.

ایجا حرفی نیست تا آثار وجودتان کنم

ایجا نیاز به واژه ای نیست وقتی باغزور

دستان پر مهرتان را گرم می بوسم.

و خواهران مهربانم فرشته و سادی

که شکرانه وجودشان، سجده مایی به درازای عمرم سزااست.

محبت های بی دریغتان را پاس می دارم...

تقدیم به بهترین دوست و همراهم:

تکیه گاه امنی

که زندگیم را به دستان پر مهرش می سپارم

به همسر مهربانم حمید

که محبتش مایه آرامش و

لجندش نوید بخش آینده ای سبز است...

دوستت دارم...

باساس فراوان از:

استاد راهنمای بزرگوارم جناب آقای دکتر فتحی که در طول سال های تحصیل و تدوین و تنظیم این مجموعه، نظرات و حمایت های علمی ایشان، همواره کمک و راهنمای من بوده است.

استاد گرامی جناب آقای دکتر جمشیدی به خاطر تمام محبت های بی دریغشان که بدون شک، بدون راهنمایی های ارزنده شان این کار محقق نمی شد.
استاد ارجمندم جناب آقای دکتر عزیززاده که در انجام این تحقیق صمیمانه وقت و انرژی و سرمایه خویش را در اختیارم گذاشتند...

استادید که تقدیر:

دکتر خانزادی و دکتر افخمی که بر من منت نهاده و به دانش و پویایی، مهربانانه زحمت داوری این پایان نامه را پذیرفتند...

باشکراز:

مسؤل محترم آزمونگاه بهداشت مواد غذایی: سرکار خانم نوابه نصیری

مسؤلین محترم کتابخانه: خانم ایمان طلب و خانم روحبخش

مسؤل محترم رایانه: خانم مهندس رحیمی

,

تمامی کارمندان و پرسنل محترم دانشکده دامپزشکی و کلیه عزیزانی که حضور مهربانانه شان محیطی سرشار از صفا و صمیمیت را در طول شش سال تحصیل فراهم کردند...

چکیده

استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها در مزارع پرورش طیور که به منظور پیشگیری و درمان انجام می‌گیرد احتمال وجود بقایای دارویی در محصولات دامی را افزایش می‌دهد. گسترش مقاومت‌های دارویی، تغییر میکروفلور طبیعی سیستم گوارشی، بروز آلرژی در افراد حساس، مسمومیت‌های مستقیم و ایجاد اختلال در تکنولوژی فرآورده‌های گوشتی تخمیری، از مشکلاتی است که به دنبال وجود بقایای آنتی‌بیوتیکی در محصولات دامی به وجود می‌آید. یکی از علل اصلی بقایای دارویی بیش از حد مجاز، در فرآورده‌های حاصل از دام‌ها عدم شناخت کافی از فارماکوکینتیک داروها و سهل‌انگاری در رعایت زمان پرهیز از مصرف دارو تا پاکسازی آن از بدن است. در نتیجه چنین پدیده‌ای، داروها در تمامی بافت‌ها به ویژه در کلیه، کبد، چربی و عضلات تجمع پیدا می‌کنند.

در این تحقیق از تعداد ده گله گوشتی ارجاعی به کشتارگاه طیوران مشهد، ۱۶۰ نمونه از بافت‌های عضله سینه و کبد جمع‌آوری شد. در این پژوهش از روش استاندارد موسوم به "تست چهار پلیت" استفاده شده است. این آزمون شامل مراحل مختلفی از جمله محیط‌سازی، آماده‌سازی نمونه‌ها به صورت دیسک و قرار دادن آن‌ها به صورت جداگانه در هر ۴ پلیت با pH های متفاوت (۶، ۷/۲، ۸ و ۸) می‌باشد. پس از انجام این مراحل پلیت‌های حاوی باکتری باسیلوس سوبتیلیس در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و پلیت‌های حاوی باکتری میکروکوکوس لوتنوس در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و بعد از ۲۴ ساعت نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این بررسی در ۱۸/۷۵٪ نمونه‌ها، باقی‌مانده آنتی‌بیوتیکی ردیابی شد. و ۶/۹۹٪ نمونه‌ها مشکوک به حضور باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی بودند. مقایسه گله‌ها از نظر درصد نمونه‌های آلوده توسط آزمون آماری Fischer exact test انجام شد. بر اساس این آزمون آماری در ۳۰٪ گله‌ها وجود باقی‌مانده آنتی-بیوتیکی در حداقل یک نمونه کبد و در ۸۰٪ گله‌ها در حداقل یک نمونه گوشت تأیید شد. بنابراین، برای حفظ بهداشت عمومی، از خطرات این باقی‌مانده‌ها لازم است اقدامات لازم از سوی ارگان‌های مرتبط جهت پایش و کنترل بقایای آنتی‌بیوتیکی در فرآورده‌های غذایی با منشأ دامی صورت گیرد. همچنین ضروری به نظر می‌رسد که ضمن اینگونه کنترل‌ها، آموزش‌های علمی و دقیقی نیز جهت آگاهی از مصرف صحیح داروها و رعایت زمان پرهیز از مصرف آن‌ها به مرغداران از یک سو و به مصرف‌کننده از سوی دیگر داده شود.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و هدف

۱-۱- مقدمه و هدف ۱

فصل دوم: مبانی نظری تحقیق

- ۱-۲- اهمیت گوشت طیور ۵
- ۲-۲- باقیمانده ها در فرآورده های طیور ۶
- ۳-۲- آنتی بیوتیکها ۸
- ۱-۳-۲- تعریف: ۸
- ۲-۳-۲- آنتی بیوتیکها از نظر منشأ: ۸
- ۳-۳-۲- آنتی بیوتیکها از نظر ساختمان شیمیایی: ۹
- ۴-۳-۲- آنتی بیوتیکها از نظر نوع اثر: ۱۰
- ۵-۳-۲- آنتی بیوتیکها از نظر شدت اثر: ۱۰
- ۶-۳-۲- آنتی بیوتیکها از نظر مکانیسم اثر: ۱۱
- ۴-۲- اهداف استفاده از آنتی بیوتیکها در صنعت پرورش دام و طیور: ۱۱
- ۵-۲- متداولترین آنتی بیوتیکهای مورد استفاده در پرورش طیور: ۱۲
- ۶-۲- فارماکوکینتیک آنتی بیوتیکها: ۱۳
- ۱-۶-۲- جذب و غلظت در خون: ۱۳
- ۲-۶-۲- توزیع در خون و بافتها: ۱۴
- ۳-۶-۲- متابولیسم: ۱۴

- ۱۵.....۲-۶-۴- دفع:
- ۱۵.....۲-۷- زمان پرهیز از مصرف داروها:
- ۱۶.....۲-۸- میزان دریافت مجاز روزانه:
- ۱۷.....۲-۹- حداکثر باقیمانده مجاز دارویی:
- ۱۷.....۲-۹-۱- داروهایی که باقیمانده آنها در غذا با تعیین MRL مجاز شناخته شده است
- ۱۷.....۲-۹-۲- داروهایی که منع مصرف قانونی دارند:
- ۱۹.....۲-۱۰- آثار سوء باقیمانده های آنتی بیوتیکی
- ۱۹.....۲-۱۰-۱- تأثیرات منفی بر مصرف کننده:
- ۱۹.....۲-۱۰-۱-۱- اثرات سمی:
- ۲۰.....۲-۱۰-۱-۲- آلرژی:
- ۲۰.....۲-۱۰-۱-۳- اثرات سرطانزایی:
- ۲۱.....۲-۱۰-۱-۴- ناقص الخلقه زایی:
- ۲۱.....۲-۱۰-۱-۵- ایجاد مقاومت:
- ۲۲.....۲-۱۰-۱-۵-۱- انواع مقاومت:
- ۲۳.....۲-۱۰-۱-۵-۲- انتقال مقاومت:
- ۲۳.....۲-۱۰-۱-۶- تغییر فلور باکتریایی روده انسان:
- ۲۴.....۲-۱۰-۲- تأثیرات منفی بر تجارت گوشت و صنعت دامپروری
- ۲۴.....۲-۱۱- روشهای ردیابی بقایای آنتی بیوتیکی
- ۲۵.....۲-۱۱-۱- روشهای آنالیز دستگاهی:
- ۲۷.....۲-۱۱-۲- رادیوایمونواسی (RIA)
- ۲۸.....۲-۱۱-۳- روشهای ایمنی- آنزیمی
- ۲۹.....۲-۱۱-۴- روشهای میکروبیولوژیک
- ۳۱.....۲-۱۲- روش چهار پلیت (FPT) (Four-plate test):
- ۳۱.....۲-۱۲-۱- آماده سازی نمونه ها:
- ۳۲.....۲-۱۲-۲- محیط سازی:

- ۳۲..... روش بررسی نتایج در تست چهار پلیت ۳-۱۲-۲
- ۳۳..... بتالاکتام ها ۱۳-۲
- ۳۴..... مکانیسم عمل ۱-۱۳-۲
- ۳۴..... فارماکوکینتیک ۲-۱۳-۲
- ۳۵..... اثرات جانبی ۳-۱۳-۲
- ۳۵..... تتراسایکلین ها ۱۴-۲
- ۳۶..... مکانیسم عمل ۱-۱۴-۲
- ۳۶..... فارماکوکینتیک ۲-۱۴-۲
- ۳۷..... اثرات جانبی ۳-۱۴-۲
- ۳۷..... سولفونامیدها ۱۵-۲
- ۳۸..... مکانیسم عمل ۱-۱۵-۲
- ۳۸..... فارماکوکینتیک ۲-۱۵-۲
- ۳۹..... اثرات جانبی ۳-۱۵-۲
- ۳۹..... آمینوگلیکوزیدها: ۱۶-۲
- ۴۰..... مکانیسم عمل ۱-۱۶-۲
- ۴۰..... فارماکوکینتیک ۲-۱۶-۲
- ۴۱..... اثرات جانبی ۳-۱۶-۲
- ۴۱..... ماکرولیدها ۱۷-۲
- ۴۱..... مکانیسم عمل ۱-۱۷-۲
- ۴۲..... فارماکوکینتیک ۲-۱۷-۲
- ۴۲..... اثرات جانبی ۳-۱۷-۲

فصل سوم: مروری بر تحقیقات انجام شده

- ۴۴..... مروری بر تحقیقات انجام شده

فصل چهارم: روش تحقیق

- ۴-۱- مواد و تجهیزات:..... ۵۰
- ۴-۲- نمونه، محل نمونه گیری و محل آزمایش نمونه:..... ۵۱
- ۴-۳- روش کار:..... ۵۲
- ۴-۳-۱- روش تهیه سوسپانسیون باکتریایی از سوش لیوفیلیزه شده استاندارد:..... ۵۲
- ۴-۳-۲- تهیه محیط کشت:..... ۵۲
- ۴-۳-۳- تهیه نمونه مناسب و انجام کشت:..... ۵۳
- ۴-۴- تجزیه و تحلیل آماری داده ها:..... ۵۴

فصل پنجم: نتایج

- نتایج..... ۵۶

فصل ششم: بحث و نتیجه گیری

- بحث و نتیجه گیری..... ۷۰
- منابع:..... ۷۷

فهرست جداول

جدول ۱- زمان پرهیز از مصرف برخی داروهای مورد استفاده در طیور.....۱۶

جدول ۲- حداکثر باقی مانده مجاز دارویی (MRL) (ug/kg) برخی از داروهای دامپزشکی.....۱۸

جدول ۳- نتایج ردیابی باقیمانده‌های آنتی بیوتیکی در کبد در ۱۰ گله مورد آزمایش.....۵۷

جدول ۴- نتایج ردیابی باقیمانده‌های آنتی بیوتیکی در گوشت در ۱۰ گله مورد آزمایش.....۵۸

فهرست شکل‌ها

شکل ۱- توزیع فراوانی نمونه‌های مثبت، مشکوک و منفی از نظر آلودگی ۵۶

فهرست نمودارها

- نمودار ۱- مقایسه بقایای آنتی‌بیوتیکی در بافت‌های کبد و عضله طیور (درصد نمونه‌های مثبت، مشکوک و منفی به تفکیک نوع نمونه)..... ۵۹
- نمودار ۲- نتایج آزمایش چهار- پلیت در پلیت اول ($pH=6$ ، باسیلوس سوبتیلیس) در نمونه‌های کبد..... ۶۱
- نمودار ۳- نتایج آزمایش چهار- پلیت در پلیت دوم ($pH=7/2$ ، باسیلوس سوبتیلیس) در نمونه‌های کبد..... ۶۲
- نمودار ۴- نتایج آزمایش چهار- پلیت در پلیت سوم ($pH=8$ ، باسیلوس سوبتیلیس) در نمونه‌های کبد..... ۶۳
- نمودار ۵- نتایج آزمایش چهار- پلیت در پلیت چهارم ($pH=8$ ، میکروکوکوس لوتئوس) در نمونه‌های کبد..... ۶۴
- نمودار ۶- نتایج آزمایش چهار- پلیت در پلیت اول ($pH=6$ ، باسیلوس سوبتیلیس) در نمونه‌های گوشت..... ۶۵
- نمودار ۷- نتایج آزمایش چهار- پلیت در پلیت دوم ($pH=7/2$ ، باسیلوس سوبتیلیس) در نمونه‌های گوشت..... ۶۶
- نمودار ۸- نتایج آزمایش چهار- پلیت در پلیت سوم ($pH=8$ ، باسیلوس سوبتیلیس) در نمونه‌های گوشت..... ۶۷
- نمودار ۹- نتایج آزمایش چهار- پلیت در پلیت چهارم ($pH=8$ ، میکروکوکوس لوتئوس) در نمونه‌های گوشت..... ۶۸

فصل اول

مقدمه و هدف

فصل اول: مقدمه و هدف

۱-۱- مقدمه و هدف

تا قبل از قرن بیستم بسیاری از مرگ و میرهای بیمارستانی در اثر عفونت زخم‌ها یا عفونت‌های پس از اعمال جراحی که ناشی از ورود باکتری‌های پاتوژن بودند بروز می‌کرد. با کشف پنی‌سیلین^۱ در سال ۱۹۲۸ میلادی توسط الکساندر فلمینگ^۲ امیدهای تازه‌ای جهت برخورد و مقابله با این گونه عفونت‌ها پدیدار گشت و به مرور زمان انواع دیگری از آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان عفونت‌ها تولید و به کار برده شدند (۱). امروزه آنتی‌بیوتیک‌ها به طور گسترده‌ای به منظور پیشگیری، درمان و نیز به عنوان محرک رشد در دام‌ها به کار برده می‌شوند (۲ و ۳). به گزارش FDA^۳ حدود ۸۷٪ مصارف آنتی‌بیوتیک در دام‌ها جهت درمان و کنترل عفونت‌ها و ۱۳٪ آن‌ها جهت تغذیه‌ای و به عنوان مکمل غذایی^۴ به کار رفته است. علی‌رغم مفید بودن این داروها در درمان بیماری‌ها و افزایش وزن دام‌ها، اثرات زیان‌بار آن‌ها نیز ممکن است باعث ایجاد عوارض ناخواسته چه در دام‌ها و چه در انسان شود (۴).

۱ - Penicillin

۲ - Alexander Phelming

۳ - Food and Drug administration

۴ - Feed supplement

نگرانی‌های مختلفی درباره باقی‌مانده داروهای دامپزشکی بالاتر از حد مجاز (MRL)^۱ در فرآورده‌های دامی مورد مصرف انسان وجود دارد که می‌تواند منجر به عوارض مختلفی به شرح زیر شود:

الف) ایجاد مقاومت در میکروارگانیسم‌ها، به ویژه عوامل بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها.

ب) ایجاد انواع آلرژی در افرادی که حساسیت دارند.

ج) ایجاد سرطان

د) تغییر فلور طبیعی دستگاه گوارش

ه) ایجاد جهش و ناقص‌الخلقه‌زایی (۵ و ۶)

از آنجایی که مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در کشورهای جهان سوم از جمله ایران بی‌رویه و تقریباً خارج از نظارت کامل می‌باشد و به ویژه به دوره دفع آنتی‌بیوتیک از بدن دام‌ها توجهی نمی‌شود، این مسئله حادث می‌باشد. لذا کنترل کیفی فرآورده‌های غذایی از نظر عاری بودن از آنتی‌بیوتیک‌ها امری لازم و ضروری می‌باشد (۱).

در بین انواع روش‌های مختلف تشخیص بقایای آنتی‌بیوتیکی، روش‌های میکروبیولوژیکی از متداول‌ترین و کاربردی‌ترین روش‌های تعیین بقایای آنتی‌بیوتیکی، در مواد غذایی هستند، زیرا این روش‌ها در مقایسه با دیگر روش‌ها از نظر هزینه، زمان و حساسیت تشخیصی به صرفه‌تر و دقیق‌تر می‌باشند (۲).

تست چهار-پلیت (FPT)^۲ که در این تحقیق از آن استفاده شده است، در سال‌های اخیر به علت حساسیت و دقت بالای آن جهت تأیید باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی، توسط برخی از محققین توصیه شده است و امروزه به عنوان روش استاندارد تعیین بقایای آنتی‌بیوتیکی، در اتحادیه اروپا کاربرد دارد (۱).

۱ - MRL: Maximum Residue Limit

۲ - Four-Plate Test