مقاله پژوهشي

ارمغان دانش، مجله علمي پژوهشي دانشگاه علوم پزشكي يasوج
دوره 19، شماره3، خرداد 1393(شماره پي در پي86)

تعيين مقدار داروي غير مجاز فورازوليدون در جوجه‌هاي گوشتي در كشتارگاه اهواز به روش HPLC

علي فضل آرا[1*]، منصور مياحي[2]، حسين نجف زاده ورزي[3] ، فرود گودرزنيا[4] ، شيرين محمديياري[4]

[1] گروه بهداشت مواد غذايي، دانشگاه شهيد چمران اهواز، اهواز، ايران، [2] گروه علوم درمانگاهي، دانشگاه شهيد چمران اهواز، اهواز، ايران، [3]گروه علوم پايه، دانشگاه شهيد چمران اهواز، اهواز، ايران، [4] دانشگاه شهيد چمران اهواز، اهواز، ايران

تاريخ وصول: 1392/5/27 تاريخ پذيرش: 1392/10/3

چكيده

زمينه و هدف: فورازوليدون به دليل خطراتي كه براي بهداشت انساني به خصوص از نظر سرطان‌زايي دارد، مصرف آن در حيواناتي كه فرآورده آن‌ها مورد استفاده غذايي انسان قرار مي‌گيرد، ممنوع مي‌باشد. هدف اين مطالعه تعيين مقدار داروي غيرمجاز فورازوليدون در جوجه‌هاي گوشتي در كشتارگاه اهواز به روش HPLC بود.

روش بررسي: در اين مطالعه توصيفي ـ تحليلي در طي 6 ماه، تعداد 100 عدد لاشه جوجه‌هاي گوشتي از كشتارگاه اهواز به صورت تصادفي تهيه شدند، سپس لاشه‌ها در كنار يخ به آزمايشگاه مواد غذايي منتقل شده و در كمتر از 24 ساعت با روش HPLC نسبت به جستجوي داروي غير مجاز فورازوليدون در لاشه‌ها اقدام شد. پس از استخراج و مشتق‌سازي براي جداسازي فورازوليدون از عضلات با كمك اتيل استات و پروتكل‌هاي مربوطه و هم‌چنين پس از كاليبره كردن دستگاه HPLC براي به دست آوردن منحني استاندارد، مقدار 20 ميكروليتر از نمونه‌ها به دستگاه تزريق و ميزان فورازوليدون در مخلوط عضلات سينه و ران مشخص گرديد. داده‌ها با آزمون آماري تي تجزيه و تحليل شدند.

يافته‌ها: ميانگين مقدار فورازوليدون در مخلوط عضلات سينه و ران 2/37±28/15 ميكروگرم در هر كيلوگرم تعيين گرديد و 39 درصد از نمونه‌ها از نظر وجود داروي غير مجاز فورازوليدون مثبت بودند.

نتيجه‌گيري: با توجه به نتايج اين بررسي، توجه بيشتر مسئولين ذيربط به وجود باقيمانده‌هاي آنتي‌بيوتيكي مانند فورازوليدون در گوشت طيور و انجام اقدامات لازم به منظور جلوگيري از تداوم مشكل حاضر ضروري است.

واژه‌هاي كليدي: گوشت طيور، فورازوليدون، HPLC

*نويسنده مسئول: دكتر علي فضل آرا ، اهواز، دانشگاه شهيد چمران اهواز، دانشكده دامپزشكي، گروه بهداشت مواد غذايي

Email: a.fazlara@scu.ac.ir

مقدمه

امروزه با توجه به ازدياد جمعيت، نياز افراد جامعه به مواد غذايي افزايش يافته است، كه يكي از اين اقلام غذايي پروتئين و از جمله گوشت طيور است. با توجه به تقاضاي زياد جامعه و نيز جنبه اقتصادي، سيستم پرورش طيور گوشتي متراكم است كه اين شرايط باعث شيوع بيماريهايي در بين طيور شده است؛ بيماريهاي باكتريايي از مهمترين اين امراض است. درمان بيماريهاي باكتريايي به وسيله آنتيبيوتيكها انجام ميپذيرد. فورازوليدون يكي از آنتيبوتيكهاي بسيار مؤثر در اين رابطه ميباشد؛ فورازوليدن يک داروي ضد ميكروب است كه علاوه بر خاصيت ضد باكتريايي، خاصيت ضد انگلي و ضد قارچي نيز دارد. فورازوليدن به مدت 20 تا 25 سال مورد استفاده قرار گرفته است، ولي متأسفانه به دليل عوارض كارسينوژنيک و موتاژنيک آن، بسياري كشورها از جمله اتحاديه اروپا استفاده از آن را ممنوع نمودهاند. استفاده از داروهاي ضد باكتريايي در درمان بيماريهاي طيور به دليل ورود دارو به تخم مرغ، گوشت و لاشه و مشكلاتي كه در سلامت انسان ايجاد ميكند، اهميت خاصي يافته و موجب نگراني دست اندركاران صنعت پرورش طيور در دنيا گشته است. همچنين استفاده از اين دارو بر اساس دستورالعملهاي سازمان دامپزشكي ايران نيز مجاز نمي-باشد، با اين حال به دليل عدم اطلاع بسياري از مرغداران از عوارض اين دارو، در مرغداريها به صورت داروي پيشگيري و يا درمان بيماريها از آن استفاده ميگردد (1).

ارزيابي باقيماندههاي دارويي و از جمله فورازوليدون در بسياري تحقيقات گزارش شده است(4ـ2). كه از آن جمله ميتوان به تحقيقات تيواري و همكاران در سال 2008 اشاره نمود كه مقدار فورازوليدون باقيمانده در كليه، كبد و سرم را به ترتيب 270 و 160 نانوگرم در هر گرم و نيز 88 نانوگرم در هر ميليليتر اعلام داشتند(5). همچنين مَک كراكِن و همكاران در سال 2005 ضمن اشاره به خواص كارسينوژن

نيتروفوران‌ها، مقدار باقيمانده متابوليت‌هاي حاصله از نيتروفوران‌ها را در كبد طيور1/1 و عضلات 0/33 ميكروگرم در كيلوگرم گزارش نمودند(6 و2).

با توجه به اين كه ممكن است گاهي اوقات به صورت غير مجاز از اين دارو در واحدهاي پرورشي طيور استفاده شود، از اين رو در جهت تشخيص احتمال مصرف اين دارو و جلوگيري از عوارض و اثر سوء دارو بر سلامت و بهداشت انساني در اين مطالعه ميزان باقيمانده داروي غيرمجاز فورازوليدون در گوشت طيور منطقه اهواز به وسيله دستگاه كروماتو گرافي مايع با كارايي بالا(HPLC) بررسي شده است.

روش بررسي

در اين مطالعه توصيفي ـ تحليلي در مدت 6 ماه، تعداد 100 عدد لاشه طيور به صورت تصادفي از كشتارگاه اهواز تهيه شدند، لاشه‌ها بلافاصله در كنار يخ به آزمايشگاه مواد غذايي منتقل شده و براي نمونه‌برداري مقدار200 گرم از لاشه طيور (از سينه و ران به يک ميزان) برداشته و چرخ مي‌شد و سپس با هموژنايزر مكانيكي به طور كامل هموژن گرديد. سپس از مخلوط گوشت هموژن شده جهت مراحل استخراج و مشتق‌سازي استفاده شد. بدين صورت كه يک گرم از مخلوط گوشت هموژن را با 5 ميلي‌ليتر محلول متانول و آب (به نسبت مساوي 50 به 50) با هم مخلوط كرده و پس از نگهداري محلول فوق به مدت 20 دقيقه در دماي اتاق، به منظور تبخير متانول محلول در بن ماري در دماي 40 درجه سانتي‌گراد به مدت 20 تا 30 دقيقه قرار داده شد. مقدار 3 ميلي ليتر اتيل استات به محلول اضافه گرديد و محلول به مدت 20 دقيقه مخلوط و به مدت 15 دقيقه با دور 3000 سانتريفيوژ شد. پس از سانتريفيوژ، فاز آلي (باقيمانده بالايي) را جدا كرده و از كاغذ صافي عبور داده، سپس در بن ماري 40 درجه سانتي‌گراد قرار داده شد تا خشک شود(11ـ7).

جهت استخراج و مشتق‌سازي از گوشت طيور با اضافه كردن مقادير مختلفي از فورازوليدون به عنوان استاندارد داخلي (سيگما ـ آمريكا)، غلظت‌هاي مشخصي (0/01، 0/1، 0/5، 0/75 و 1/5 ميكروگرم در ميلي ليتر) از داروي فورازوليدون (محلول استاندارد) به گوشت طيور (0/2 ميلي‌ليتر از هر غلظت به يک گرم گوشت طيور چرخ كرده) كه فاقد هر نوع دارويي بود اضافه شد و مراحل استخراج و مشتق‌سازي مانند روش ذكر شده انجام شد تا راندمان دستگاه HPLC (شيمادزو 10ـ ژاپن) و صحت روش كار بررسي شود.

روش تزريق و آناليز دستگاهي HPLC بر اساس روش دوود و همكاران(1998) انجام شد. در اين مرحله، به ماده خشک باقيمانده، 0/5 ميلي‌ليتر محلول استونيتريل و آب (به نسبت حجمي70 به 30) اضافه و حل كرده، سپس محلول از ميكروفيلتر 0/45 ميكروني عبور داده و20 ميكروليتر از اين محلول با سرنگ ميكروليتري هاميلتون به دستگاه تزريق شد. لازم به ذكر است كه جهت اطمينان از نتيجه حاصل از تزريق، هر نمونه 3 بار به طورمكرر به دستگاه تزريق شد و پس از هر تزريق، محل تزريق با محلول استونيتريل و آب (به نسبت حجمي70 به 30)شسته مي‌شد تا مسير كاملاً شسته شود.

اساس آزمايش سنجش فورازوليدون از گوشت طيور با استفاده از جذب اشعه فرابنفش[1] در 254 نانومتر، استفاده از فاز معكوس با سيستم ايزوكراتيک استونيتريل و آب (به نسبت حجمي70 به 30) با جريان حلال 1 ميلي ليتر در دقيقه در درجه حرارت 40 درجه سانتي‌گراد است. سپس بر اساس مقايسه زمان ماندگاري نمونه‌هاي مجهول با نمونه‌هاي استاندارد، فورازوليدون را شناسايي كرده و با توجه به سطح زير منحني پيک‌ها و معادله خط منحني استاندارد به صورت y= ax+b (y و x به ترتيب

1- Ultra Violet

سطح زير منحني پيک فورازوليدون و نيز ميزان داروي فورازوليدون) تعيين غلظت شدند.

با تزريق مقادير مختلف فورازوليدون و تغيير جريان فاز متحرک، ابتدا دستگاه کاليبره شد و زمان ماندگاري فورازوليدون و پيک خروجي کروماتوگرام 3 دقيقه و 10 ثانيه به دست آمد. همچنين با تزريق غلظت‌هاي مختلف فورازوليدون منحني استاندارد به صورت Y= 145336X - 158842 حاصل شد. ارتباط خطي بودن غلظت با سطح زير منحني براي فورازوليدون با رگرسيون R^2=0/9967 به دست آمد. ميزان ضريب تعيين (R^2) حاصل بيانگر همبستگي بالاي مقدار داروي فورازوليدون با سطح زير منحني پيک فورازوليدون در کروماتوگرام هاي مربوطه مي‌باشد. (Y: سطح زير منحني که پيک فورازوليدون را نشان مي‌دهد. X: مقدار داروي فورازوليدون)

با قرار دادن سطح زير منحني پيک فورازوليدون در کروماتوگرام حاصل از تزريق هر نمونه مورد آزمايش در معادله فوق، نهايتاً مقدار فورازوليدون به روش محاسباتي بر حسب ميکروگرم بر کيلوگرم به دست آمد. به اين ترتيب که نظر به آن که مقدار 20 ميکروليتر از 0/5 ميلي ليتر (500 ميکروليتر) محلول استونيتريل و آب مورد استفاده در روش کار به دستگاه HPLC تزريق مي‌شد، مقدار سطح زير منحني پيک فورازوليدون در کروماتوگرام مربوطه (Y)، در معادله منحني استاندارد فوق‌الذکر قرار گرفته و مقدار داروي فورازوليدون در 20 ميکروليتر تزريقي حاصل مي‌گرديد که با ضرب نمودن آن در ضريب 25، ميزان داروي فورازوليدون در يک گرم از نمونه مورد آزمايش به دست مي‌آمد که به طور محاسباتي به کيلو گرم تعميم داده مي‌شد. اين طريقه محاسبه در مورد تک تک نمونه‌ها به انجام رسيد.

داده‌هاي جمع‌آوري شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماري تي تجزيه و تحليل شدند.

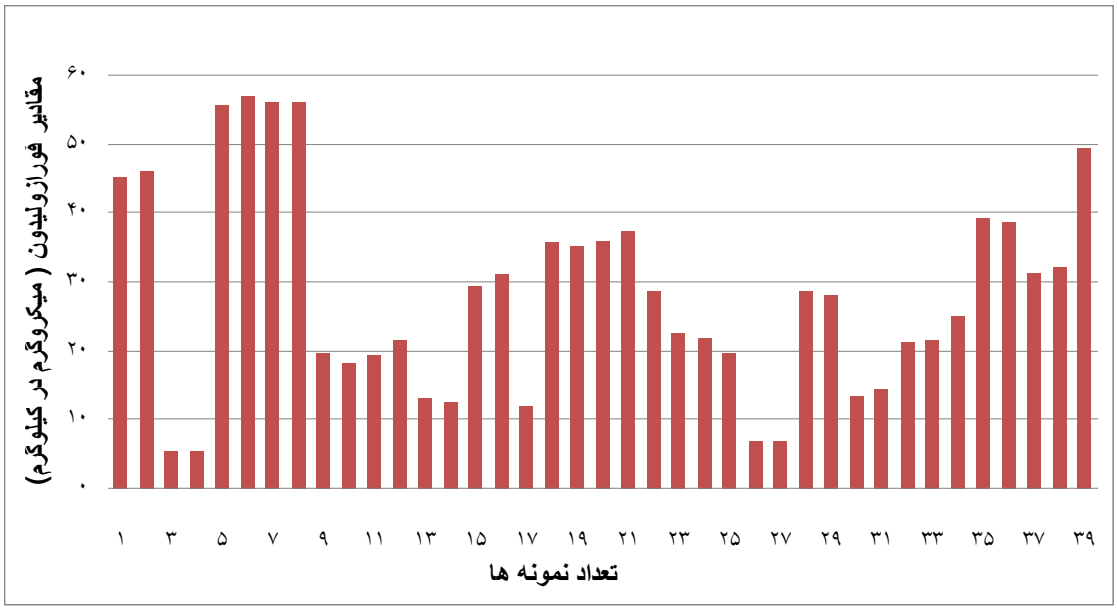
يافته‌ها

بر اساس نتايج حاصله، از 100 نمونه بررسي شده حداقل و حداکثر ميزان فورازوليدن به

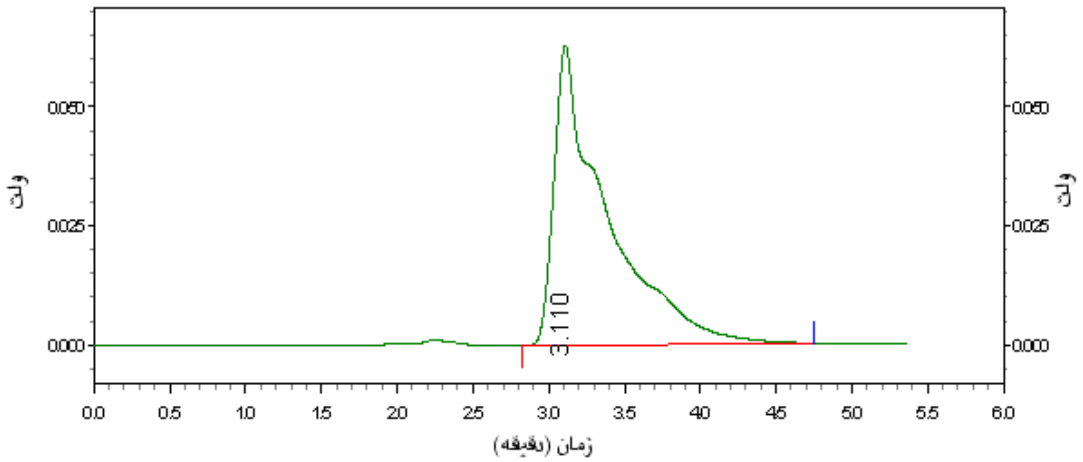
ترتيب صفر يا غير قابل شناسايي و 57/05 ميكروگرم بر كيلوگرم بود و در مجموع تعداد 39 نمونه (39 درصد) حاوي باقيمانده دارويي فورازوليدون بودند و 61 عدد (61 درصد) آنها عاري از فورازوليدون يا به بيان ديگر ميزان فورازوليدون در آنها صفر يا غير قابل شناسايي بود. در39 نمونه داراي فورازوليدن حداقل و حداكثر ميزان دارو به ترتيب 5/35 و 57/05 ميكروگرم بر كيلوگرم بود (جدول 1) كه در 7 نمونه 17/95 درصد مقدار فورازوليدون بالاتر از 40 ميكروگرم بر كيلوگرم يافت شد در حالي كه در 4 نمونه (10/26 درصد) مقادير اين دارو كمتر از 10 ميكروگرم بر كيلوگرم بود و در 28 نمونه (71/8 درصد) ديگرمقادير دارو بين 10تا 40 ميكروگرم بر كيلوگرم بودند (نمودار1). نمودار شماره 2، كروماتوگرام HPLC نمونه استاندارد داروي فورازوليدون در غلظت 0/0001 ميليگرم (0/1 ميكروگرم) را نشان داده و نمودارهاي شماره 2 تا 6 كروماتوگرام HPLC باقيمانده داروي فورازوليدون در عضله طيور براي 4 نمونه مثبت از نظر وجود اين دارو را نشان مي‌دهد.

جدول1: ميزان فورازوليدون (بر حسب ميكروگرم در كيلوگرم) در گوشت طيوربررسي شده

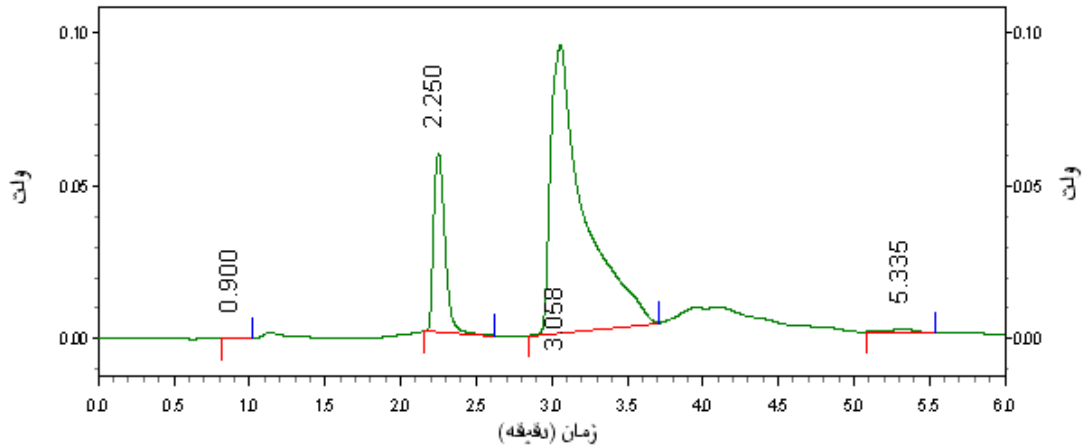
تعداد نمونه	حداقل دارو	حداكثر دارو	انحراف معيار± ميانگين
كل عضلات(سينه و ران) بررسي شده (100 نمونه)	0	57/05	10/97 ± 1/65
نمونه هاي داراي فورازوليدون (39 نمونه)	5/35	57/05	28/15 ± 2/37



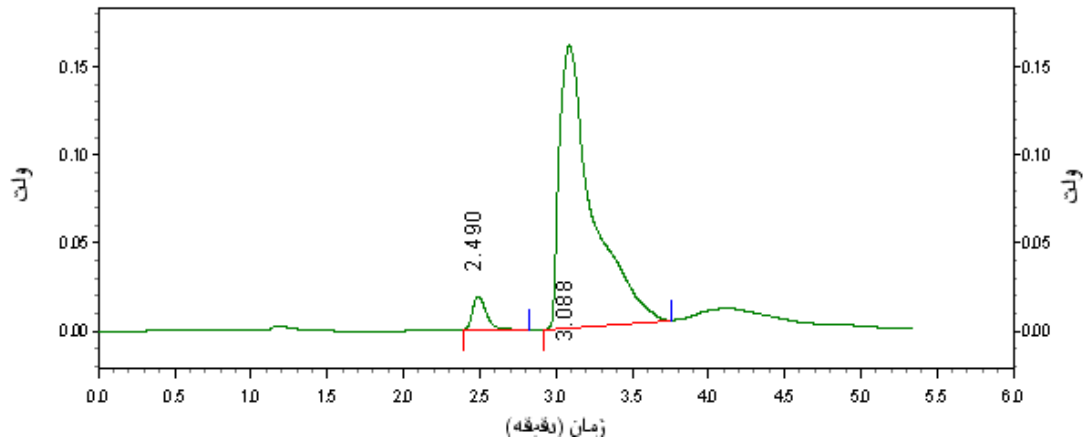
نمودار1: مقايسه مقادير فورازوليدون (بر حسب ميكروگرم در كيلوگرم) در نمونه هاي داراي فورازوليدون



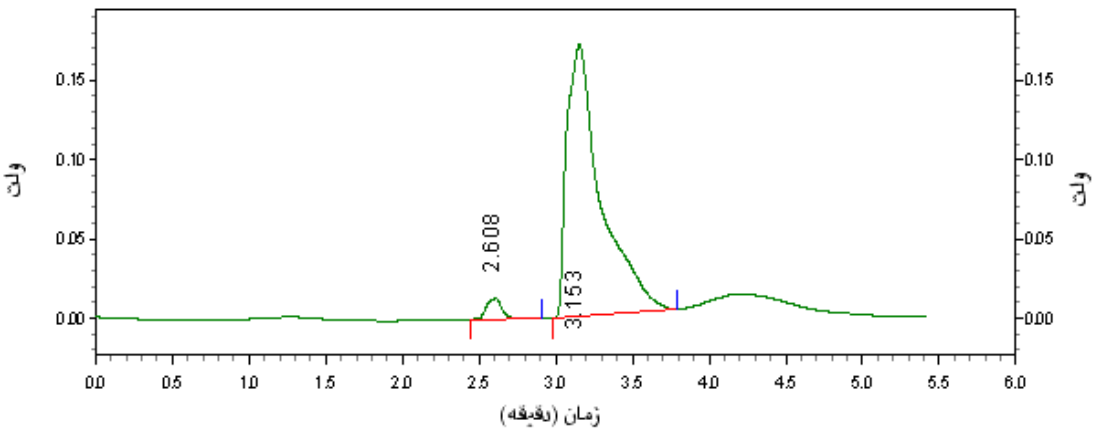
نمودار 2: كروماتوگرام HPLC نمونه استاندارد داروي فورازوليدون با غلظت 0/0001 ميلي گرم (0/1 ميكروگرم)



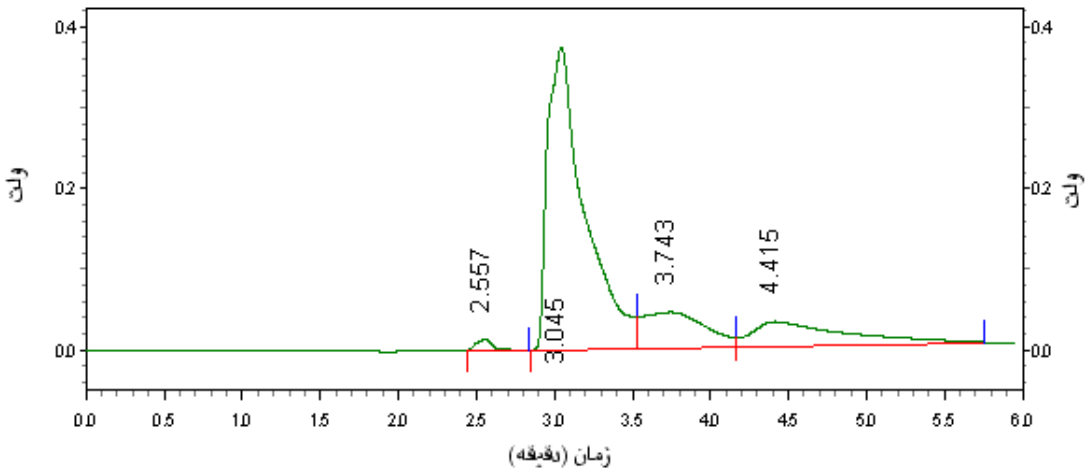
نمودار3: كروماتوگرام HPLC باقيمانده داروي فورازوليدون در عضله طيور (نمونه شماره 1)



نمودار 4 : كروماتوگرام HPLC باقيمانده داروي فورازوليدون در عضله طيور (نمونه شماره 2)



نمودار 5 : كروماتوگرام HPLC باقيمانده داروي فورازوليدون در عضله طيور (نمونه شماره 3)



نمودار 6 : كروماتوگرام HPLC باقيمانده داروي فورازوليدون در عضله طيور (نمونه شماره 4)

بحث

سابقه استفاده از داروي فورازوليدون به حدود ربع قرن مي‌رسد. فورازوليدون به دليل خطراتي كه براي بهداشت انساني به خصوص از نظر سرطان‌زايي و ناقص‌الخلقه‌زايي دارد، مصرف آن در بسياري كشورها از جمله اتحاديه اروپا و نيز كشورهاي در حال توسعه از جمله ايران درحيواناتي كه فراورده آن‌ها مورد استفاده غذايي انسان قرار مي‌گيرد، به دليل ورود دارو به تخم مرغ، گوشت و لاشه و مشكلاتي كه در سلامت انسان ايجاد مي‌كند، ممنوع مي‌باشد (1). با توجه به اين كه ممكن است در برخي مزارع پرورش طيور متعاقب عدم موفقيت درمان‌هاي ضد باكتريايي معمول، از اين دارو به صورت غير مجاز استفاده شود، هدف مطالعه حاضر بررسي وضعيت باقي مانده فورازوليدون در مخلوط عضله سينه و ران طيور گوشتي به روش HPLC در منطقه اهواز بود.

با توجه به يافته‌هاي اين تحقيق، منشأ اين دارو در مخلوط عضله سينه و ران طيور گوشتي را مي‌توان به دو مورد زير نسبت داد؛ 1ـ ممكن است داروي فورازوليدن در برخي از واحدهاي پرورش طيور به صورت غير مجاز استفاده شده باشد. 2ـ ممكن است مقدار داروي به دست

آمده در عضلات طيور به علت وجود داروي فورازوليدن در غذاي تجاري آماده باشد كه در واحدهاي مرغداري مورد استفاده قرار گرفته است. از طرفي ديگر، عدم وجود دارو در برخي نمونه ها مي‌تواند بيانگر عدم استفاده از داروي فورازوليدن باشد و يا ممكن است مقدار دارو در حدي بوده است كه به وسيله دستگاه HPLC و شناساگر مربوطه استفاده شده در اين مطالعه قابل شناسايي نبوده است.

در مطالعه حاضر ميزان باقيمانده داروي فورازوليدون در مخلوط عضلات سينه و ران طيور گوشتي با روش HPLC مورد بررسي قرار گرفت. علاوه بر HPLC روش‌هاي ديگري مانند الايزا و CD-IMS[1] جهت ارزيابي باقيمانده هاي نيتروفوراني وجود دارند كه از بين اين روش ها، HPLC به مراتب دقيق‌تر بوده و توانايي تفكيك انواع نيتروفوران‌ها و نيز متابوليت‌هاي حاصله را نيز دارا مي‌باشد (12 و3، 4). لازم به ذكر مي‌باشد كه اين روش براي تعيين ميزان داروي فورازوليدون در بافت‌هاي ديگر طيور و حتي تخم‌مرغ نيز به كار گرفته شده است(14و13). به عنوان نمونه علوي (2000) از روش HPLC جهت ارزيابي ميزان فورازوليدون و فورالتادون در تخم مرغ و بافت‌هاي طيور استفاده كرد. كه حداقل غلظت قابل تشخيص در اين مطالعه براي فورازوليدون 1 نانوگرم در هر گرم بود. و ميزان استحصال براي هر دو دارو بين 99ـ80 درصد متغير بود (14). در مطالعه جعفري و همكاران (2007) كه از روش CD-IMS به منظور تعيين باقيمانده فورازوليدون، كلرامفنيكل و انروفلوكساسين در گوشت طيور استفاده نمودند، حداقل غلظت قابل تشخيص باقيمانده دارويي براي فورازوليدون و ساير تركيبات را كمتر از 20 ميكروگرم در هر كيلوگرم اعلام داشتند (15). با مقايسه اين دو مطالعه اين نتيجه حاصل مي‌گردد كه اختلاف قابل توجهي در حداقل غلظت قابل تشخيص وجود دارد كه اين موضوع با توجه

به نوع دستگاه‌هاي مورد استفاده در ارزيابي ميزان باقيمانده‌هاي دارويي قابل توجيه مي‌باشد. در مطالعه حاضر نيز كه به روش HPLC صورت گرفت، حداقل غلظت قابل تشخيص براي فورازوليدون 2 نانوگرم در هر گرم بود. لازم به ذكر است با توجه به محدوديت دستگاه HPLC به خصوص آشكارساز UV، كمترين غلظت باقيمانده فورازوليدون در نمونه‌هاي مورد بررسي، 2 نانوگرم در هر گرم بود كه ممكن است مقادير پايين تري با دستگاه يا آشكار سازهاي ديگر شناسايي شود. بنابراين در مواردي كه در مطالعه حاضر مقدار صفر اعلام شده است به معناي غير قابل شناسايي بوده است.

در مطالعه حاضر به دليل عدم دسترسي به استاندارد متابوليت‌هاي فورازوليدون، صرفاً سنجش داروي مادر(فورازوليدون) صورت گرفت. كه با توجه به نكته فوق ممكن است برخي از موارد مصرف فورازوليدون كه تا پايان دوره پرورش استفاده نشده‌اند، مورد شناسايي واقع نشده باشد. فراهم‌ي‌زيستي متابوليت‌هاي نيتروفوران ها در ديگر مطالعات مورد بررسي قرار گرفته و مشاهده شده است كه امكان انتقال باقيمانده‌هاي متابوليت‌ها به گونه‌هاي ثانويه (نظير مصرف گوشت خوك داراي باقيمانده متابوليت نيتروفوراني به وسيله موش) وجود دارد(16). هم‌چنين بر اساس مطالعات موجود، اين متابوليت ها در محيط بدن مي‌توانند به وسيله اسيد معده آزاد شوند(17). فراهمي زيستي متابوليت‌هاي نيتروفوران‌ها مي‌تواند از طريق مصرف گوشت و ساير فراورده هاي آلوده حيوانات نظير تخم مرغ حتي بعد از پختن رخ دهد(19 و 18). هم‌چنين اين متابوليت ها مي‌تواند به نتاج مرغ‌هاي مادر منتقل شود(21 و20). در واقع پايداري متابوليت‌ها در خلال نگه‌داري و پخت گوشت مشاهده شده است(22). نگه‌داري هشت ماهه گوشت اثر قابل توجهي روي غلظت باقيمانده نيتروفوران‌ها در نمونه‌هاي عضله و كبد خوك نداشت. مك كراكن و

1-Corona Discharge Ion Mobility Spectrometry

همکاران بيان داشتند بين 67 تا 100 درصد باقيمانده دارو بعد از پخت، انجماد، کباب ، سرخ کردن و مايکروويو نمودن همچنان وجود داشتند. در مطالعه ديگري به وسيله همين محقق مشاهده گرديد که متابوليت‌هاي فورازوليدون در تخم مرغ حداقل تا 12 ماه در دماي 4 درجه سانتي‌گراد پايدار مانده است(20).

پتز در سال 1984 در تحقيقي که به وسيله HPLC بر روي تخم‌مرغ انجام داد به مدت 14 روز فورازوليدون را به مرغان با غلظت 0/04 درصد داد، ميانگين مقدار فورازوليدون 0/7 ميلي‌گرم در هر کيلوگرم به دست آمد. ميزان باقيمانده به صورت مشخص در زرده بيش از سفيده بود. باقيمانده فورازوليدون تا 5 روز پس از قطع دارو در تخم مرغ وجود داشت و پخت تخم مرغ‌ها به مدت 10 دقيقه تنها باعث کاهش اندکي در مقدار باقيمانده شد(13). همچنين شيتاندي و همکاران در سال 2008 به بررسي اثر حرارت شديد(210 درجه سانتي‌گراد به مدت 15 دقيقه) بر روي باقيمانده فورازوليدون در کبد و عضله طيور پرداختند و نتيجه حاصل از آن بدين صورت بود که باقيمانده فورازوليدون در عضله و کبد طيور به وسيله حرارت زياد از بين نمي‌رود(12).

عَلَوي در سال 1999 نيز به بررسي ميزان فورازوليدون و فورالتادون در تخم‌مرغ‌هاي کشور اردن پرداخت که در اين مطالعه 83/3 درصد از نمونه‌هاي مورد مطالعه به هر دو دارو آلوده بودند. و غلظت فورازوليدون در محدوده‌ي 101/3ـ12/2 نانوگرم در هر گرم بود(23). مَک کراکن و همکاران در سال 2005 به بررسي انتقال باقيمانده‌هاي نيتروفوران‌ها از والدين جوجه هاي گوشتي به جوجه‌ها پرداختند، که مشخص گرديد غلظت‌هاي بالاي نيتروفوران ها از طريق زرده به جوجه هاي تازه هچ شده منتقل مي‌شود. در طي اين مطالعه مقدار متابوليت حاصله از نيتروفوران‌ها در تخم مرغ معادل

1567 ميكروگرم در هر كيلوگرم گزارش شد و در جوجه هاي يک روزه حاصله از اين تخم مرغ ها، ميزان باقيمانده نيتروفوران ها در كبد و عضلات به ترتيب 26/6 تا 32/5 ميكروگرم در هر كيلوگرم بود و پس از گذشت 40 روز هيچ گونه اثري از باقيمانده ها در لاشه طيور وجود نداشت(2). بنابراين اين احتمال نيز وجود دارد كه مقادير اندک باقيمانده فورازوليدون در مطالعه حاضر تاحدودي مربوط به انتقال اين دارو از طريق تخم مرغان مادر يا مولد تخم گذار جوجه هاي گوشتي پرورشي باشد كه به دليل دوره كوتاه پرورش جوجه‌هاي گوشتي (36 الي 47 روز) به طور كامل از بدن آن ها دفع نشده است.

مک كراكن و همكاران (2005) به بررسي وجود متابوليت‌هاي نيتروفوران‌ها در بافت مرغاني كه در معرض مقادير بسيار كم نيتروفوران‌ها در جيره بودند، پرداختند. در اين مطالعه داروي فورازوليدون با غلظت 30 ميكروگرم به ازاي هر كيلوگرم به مرغ ها تزريق شد، كه مقدار متابوليت فورازوليدون در كبد طيور 0/2±1/1 ميكروگرم در هر كيلوگرم و در عضلات 0/03±0/33 ميكروگرم در هر كيلوگرم تعيين گرديد(6). هم‌چنين كوهن و همكاران (1992) به بررسي بافت‌هاي طيور از نظر باقيمانده‌هاي اكسي تتراسايكلين و فورازوليدون پرداختند، كه كليه، كبد و عضلات به اين منظور با روش HPLC بررسي شدند. فورازوليدون فقط دركبد و عضلات سينه با غلظت‌هاي متوسط به ترتيب 38 و13 ميكروگرم در هر كيلوگرم يافت شد. نتيجه به دست آمده اين بود كه براي اجتناب از وجود باقيمانده فورازوليدون، رعايت زمان كافي بين قطع دارو تا كشتار ضروري است(3). در تحقيق مشابه ديگري كه در سال 2008 صورت گرفته است، تيواري و همكاران(2008) مقدار فورازوليدون باقيمانده در كليه، كبد و سرم را به ترتيب 270 و 160 نانوگرم در هر گرم و نيز 88 نانوگرم در هر ميلي‌ليتر اعلام

كردند. اين محققين بيان نمودند كه رعايت يک هفته بين آخرين مصرف دارو تا زمان كشتار مي‌تواند جهت حذف بقاياي فورازوليدون در عضلات كافي باشد (5).

سال 1995 در اروپا استفاده از نيتروفوران‌ها براي حيوانات مزرعه‌اي كاملاً ممنوع شد (24). چندي پس از آن در كشورهايي نظير استراليا، آمريكا، فيليپين، تايلند و برزيل هم اين ممنوعيت اعمال شد و در نهايت استفاده از نيتروفوران‌ها در پرورش حيوانات تأمين كننده غذاي انسان در اكثر كشور هاي جهان ممنوع اعلام گرديد (25) كه اين موضوع با نتايج حاصله از مطالعه حاضر در تعارض مي‌باشد و بيانگر آن است كه متأسفانه علي‌رغم ممنوعيت استفاده از نيتروفوران‌ها در حيوانات تأمين كننده غذاي انسان، همچنان به دلايل مختلف ازجمله نبود اطلاعات كافي در مرغداران، واردات و عرضه اين داروها بصورت غير مجاز و نيز ضعف سيستم هاي كنترلي و نظارتي، همچنان در صنعت پرورش طيور در ايران مورد استفاده قرار مي‌گيرند.

نتيجه‌گيري

در اين مطالعه 39 درصد نمونه ها حاوي مقاديري از باقيمانده داروي فورازوليدون بودند و ميانگين دارو در اين نمونه ها 2/37 ± 28/15 ميكروگرم در هر كيلوگرم بود. با توجه به نتايج حاصل، مي‌توان علت وجود باقيمانده داروي غير مجاز فورازوليدون در عضلات طيور را به دليل رعايت نشدن بهداشت و عدم انجام به موقع واكسيناسيون و كافي نبودن مديريت و نظارت فني صحيح بر مرغداري‌ها دانست. لذا با توجه به نتايج اين بررسي، توجه بيشتر مسئولين ذيربط دامپزشكي به اين موضوع و انجام اقدامات لازم به منظور جلوگيري از تداوم مشكل حاضر ضروري مي-نمايد.

تقدير و تشكر

اين مطالعه حاصل پايان نامه مقطع دكتراي عمومي‌دامپزشكي دانشگاه شهيد چمران اهواز بود كه از محل اعتبار پژوهانه به انجام رسيده است.

REFERENCES

1.Peyghan R, Najafzadeh Varzi H, Jamzadeh E. Determination of Furazolidone residues in muscles of the cultured common carp following experimental bath and oral administration. J Vet Res 2012; 67(1): 71-5.
2.McCracken RJ, Van Rhijn JA, Kennedy DG. Transfer of nitrofuran residues from parent broiler breeder chickens to broiler progeny. Br Poult Sci 2005; 46(3): 287-92.
3.Kuhne M, Kobe A, Ebrecht A, Fries R. Residues of oxytetracycline and furazolidone in chicken after application of subtherapeutic dosages. LWT 1992; 25 (5): 484-6.
4.Cooper KM, Elliott CT, Kennedy DG. Detection of 3-amino-2-oxazolidinone (AOZ), a tissue-bound metabolite of the nitrofuran furazolidone, in prawn tissue by enzyme immunoassay. Food Addit Contam 2004; 21(9): 841-8.
5.Tiwari HK, Tiwari JG. Studies on the residues of teramycin and furazolidone in broiler meat, a public health concern. Indian J Public Health 2008; 52(1): 33-6.
6.McCracken RJ, Van Rhijn JA, Kennedy DG. The occurence of nitrofuran metabolites in the tissues of chickens exposed to very low dietary concentrations of the nitrofurans. Food Addit Contam 2005; 22(6): 567-72.
7.Sugden EA, Macintosh AI, Vilim AB. High pressure liquid chromatographic determination of nitrofurazone and furazolidone in chicken and pork tissues. J AOAC 1983; 66(4): 874-80.
8.Nakazawa H, Kato K, Watanabe T, Oka H. Simultaneous determination of residual tetracyclines in foods by high-performance liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. J Chromatogr 1999; 732(1): 55-64.
9.Kari FW, Weaver R, Neville MC. Active transport of nitrofurantoin across the mammary epithelium in vivo. J Pharm Exp Ther 1997; 280(2): 664-8.
10.Kajita H, Hatakeyama E. Simultaneous determination of residual veterinary drugs in livestock products and fish by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. J Food Hyg Soc Jpn 2008; 49(6): 381.
11.Degroodt JM, Wyhowski De Bukanski B, De Groof J, Beernaert H, Srebrnik S. Chloramphenicol and nitrofuran residue analysis by HPLC and photodiode array detection in mean and fish. J Liq Chromatogr 1992; 15(13): 2355-71.
12.Shitandi A, Aila O, Ottaro S, Aliong'o L, Mwangi G, Kumar-Sharma H, et al. Effect of deep frying on furazolidone anticoccidial drug residues in liver and muscle tissues of chicken. Afr J Food Sci 2008; 2(2): 144-8.
13.Petz M. Residues in eggs after treatment of laying hens with chloramphenicol and furazolidone. Arch Lebensmittelhyg 1984; 35(3): 51-4.
14.Alawi MA. Analysis of furazolidone in chicken tissues and eggs using a modified HPLC/ELCD method. Fresen Environ Bull 2000; 9(7): 508-14.
15.Jafari MT, Khayamian T, Shaer V, Zarei N. Determination of veterinary drug residues in chicken meat using corona discharge ion mobility spectrometry. Anal Chim Acta 2007; 581(1): 147-53.
16.Vroomen LH, Van Bladeren PJ, Groten JP, Wissink CJ, Kuiper HA, Berghmans MC. In vivo and in vitro metabolic studies of furazolidone: a risk evaluation. Drug Metab Rev 1990; 22(6): 663-76.
17. Hoogenboom LA, Berghmans MC, Polman TH, Parker R, Shaw IC. Depletion of protein-bound furazolidone metabolites containing the 3-amino-2-oxazolidinone side-chain from liver, kidney and muscle tissues from pigs. Food Addit Contam 1992; 9(6): 623-30.
18.McCracken RJ, Kennedy DG. The bioavailability of residues of the furazolidone metabolite 3-amino-2-oxazolidinone in porcine tissues and the effect of cooking upon residue concentrations. Food Addit Contam 1997; 14(5): 507-13.
19.Gottschall DW, Wang R. Depletion and Bioavailability of [C-14] Furazolidone Residues in Swine Tissues. J Agric Food Chem 1995; 43(9): 2520–2.

20.McCracken RJ, Spence DE, Floyd SD, Kennedy DG. Evaluation of the residues of furazolidone and its metabolite, 3-amino-2-oxazolidinone (AOZ), in eggs. Food Addit Contam 2001; 18(11): 954-9.
21.Finzi JK, Donato JL, Sucupira M, De Nucci G. Determination of nitrofuran metabolites in poultry muscle and eggs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Chromatogr B 2005; 824(1): 30-5.
22.Cooper KM, Kennedy DG. Stability studies of the metabolites of nitrofuran antibiotics during storage and cooking. Food Addit Contam 2007; 24(9): 935-42.
23.Alawi MA. Determination of furazolidone and furaltadone in Jordanian local eggs using a modified HPLC method. Fresen Environ Bull 1999; 8(1): 86-93.
24.Commission Regulation. Commission Regulation (EC) 1442/95 of 26 June 1995 amending Annexes I, II, III and IV of Regulation (ECC) No 2377/90 laying down a community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. Official J Europ Communit 1995; L143: 26-30.
25.Khong SP, Gremaud E, Richoz J, Delatour T, Guy PA, Stadler RH, et al. Analysis of matrix-bound nitrofuran residues in worldwide-originated honeys by isotope dilution high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Agric Food Chem 2004; 52(17): 5309-15.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ) **Original Articl**

Determination the Amount of Illegal Furazolidone Residues in Broilers in Ahvaz Abattoir by HPLC Method

Fazlara A[1*], Mayahi M [2], Najafzadeh Varzi H [3], Gudarznia F [4], Mohammadyari S [4]

[1]Department of Food Hygiene, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, [2]Department of Clinical Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, [3]Department of Basic Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, [4]Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 18 Aug 2013 Accepted: 24 Dec 2014

Abstract

Background & aim: due to the risks to human health, particularly in terms of carcinogenicity, the application of Furazolidone in animals which their products are consumed by human population is strongly prohibited. The purpose of this study was to determine the amount of unauthorized furazolidone in broiler chickens slaughtered in Ahvaz by using HPLC.

Methods: In the present cross-sectional study which was conducted within six months, 100 broiler carcasses were randomly collected from Ahvaz slaughterhouses. Then by using ice, the carcasses were transported to the laboratory in less than 24 hours inorder to illicit the amount of furazolidone drug by the HPLC method. After extraction and degrading processes, using Ethyl-acetate and related protocols for isolation of Furazolidone from muscles, and also calibrating HPLC system to obtain standard curves, the amount of 20 microliters of each sample was injected to the HPLC device and the amounts of Furazolidone were determined in the mixture of pectoral and femoral muscles. Finally the obtained results were statistically analysed by using one sample t-test in the SPSS software.

Results: The mean Furazolidone concentration in the mixture of femoral and thorasic muscles was 28.15±2.37 mg/kg. Thirty-nine percent of the samples were positive for containing illegal Furazolidone residue.

Conclusion: According to the results of the current study, more attention is seriously recommended by authorized responsibilities to prevent the antibiotic residues such as furazolidone in poultry meat.

Key words: Broiler muscles, Furazolidone, HPLC

* **Corresponding Author: Fazlara A,** Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Email: a.fazlara@scu.ac.ir