

تعیین بقایای آنتیبیوتیکی در لاشه طیور با استفاده از آزمایش چهارپلیت

در کشتارگاههای اطراف شیراز

دکتر عبدالحسین خان ناظر^۱ دکتر سعید حسینزاده^۱ دکتر حسین پرونده^۲

می باشد لذا از روش مذکور در این مطالعه استفاده گردید (۱).

محله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۴، شماره ۳، ۷۹ - ۸۳، (۱۳۷۸)

مواد و روش کار

۱- انجام تست حساسیت آنتیبیوتیکها بر روی باکتریهای مورد آزمایش: در این مرحله جهت تعیین میزان حساسیت دو گونه باکتری با سیلوس سابتیلوس و استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به ۷ نوع آنتیبیوتیک رایج در صنعت طیور و تعیین کمترین رقت ممانعت کننده از رشد باکتری مراحل زیر در مورد هر دو نوع باکتری انجام شد. آنتیبیوتیکهای مورد آزمایش شامل کلرامفینیکل، آکسی تتراسایکلین، استریتومایسین، تایلوزین، فورازولیدون، فلومکوئین، لینکواسپیکتین بودند.

الف. ابتدا باکتریهای مورد نظر (دو باکتری *Staphylococcus aureus* و *Bacillus Subtilis* توسط Dr. K. Howe از کلکسیون دیارتمان میکروبیولوژی دانشگاه بریستول انگلستان در اختیار این تحقیق قرار گرفت) به صورت خالص بر روی محیط ژل خوندار کشت داده شدند و یک کلنی از آنها به محیط تربیتیک سوی برات (TSB Oxoid CM 129) اضافه و به مدت ۱۸ ساعت در گرماخانه ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

ب. در این تحقیق از محیط مولرهینتون آکار (Oxoid CM 337) با سه pH مختلف، ۶، ۷/۲ و ۸ استفاده شد. برای تهیه این محیطها پس از ساختن محیط کشت طبق دستور شرکت سازنده و قبل از استریل نمودن با استفاده از pH متر مجهز به ترمومتر (pH-Meter Schott CG824) ساخت آلمان مدل دیجیتال با دقت ۰/۰۱)، pH موردنیاز تنظیم شده و پس از استریل نمودن محیطها برای کنترل نهایی pH پس از استریل شدن، مقداری از آن را برداشته و pH آن مجدداً کنترل گردید.

ج. تهیه غلظتهای متوالی از آنتیبیوتیکهای مورد نظر: رقت‌های متوالی از آنتیبیوتیکها به نحوی انجام گردید که در لوله اول رقت ۱۰۲۴ میکروگرم و در لوله آخر رقت ۱ میکروگرم در میلی لیتر به دست آید.

د. در این مرحله مقدار ۱ میلی لیتر از محیط آبگوشت تربیتیک سوی حاوی باکتری مورد نظر را که دارای کدپورت ۶۵٪ (Optical density) در طول موج ۶۶۰ نانومتر بود به تفکیک روی محیط آگار مولرهینتون آکار که از قبل بر روی سطح آن حفره‌هایی با قطر دو میلی متر ایجاد شده بود ریخته و با استفاده از سوپ استریل در جهات مختلف پخش می‌گردید. توضیح‌آینکه برای باکتری با سیلوس سابتیلیس از محیطها با pH ۶، ۷/۲ و ۸ (۱۱) و برای باکتری استافیلوکوکوس آرئوس از محیط با pH معادل ۸ استفاده گردید. بعد از گذشت زمان کافی برای نفوذ باکتریها (۱۵ دقیقه) با استفاده از میکروپیپت ۱۰ میلی لیتر از رقت‌های مختلف تهیه شده از هر آنتیبیوتیک را در حفره‌های ایجاد شده بر روی محیطها کشت ریخته و جهت نفوذ آنتیبیوتیک در محیط کشت به مدت ۲ ساعت آنها را در دمای اتاق نگهداری نموده و سپس با توجه به نوع باکتری کشت شده به گرماخانه ۳۷ یا ۳۷ درجه سانتی گراد منتقل گردید و

دویست و پنجاه نمونه لاشه طیور جمع‌آوری شده از کشتارگاههای طیور اطراف شیراز که قابل مصرف تشخیص داده شده بودند با استفاده از روش آزمایش چهارپلیت (Four Plate Test) جهت بررسی میزان آلدگی آنتیبیوتیکی آزمایش شدند. در این روش که به عنوان یکی از روش‌های محسوب می‌شود از دو باکتری با سیلوس سابتیلوس و استافیلوکوکوس اورئوس در محیط کشت مولرهینتون آگار با pH ۶، ۷/۲ و ۸ استفاده گردید، همچنین جهت تشخیص غلظتها اندک سولفانامیدها به محیط کشت به میزان ۱٪ میکروگرم در هر میلی لیتر برای با سیلوس سابتیلوس و ۰/۸ میکروگرم در میلی لیتر استافیلوکوکوس اورئوس تریمتوریم اضافه گردید. از تعداد ۲۵۰ لاشه مرغ، عضلات سینه به میزان ۵۴/۲ درصد، کلیه‌ها ۲/۶ درصد و کبد ۹/۹ درصد، آلدگی غیر مجاز به آنتیبیوتیک داشتند. از تعداد ۲۵۰ نمونه عضلات سینه، کبد و کلیه که از محیط مولرهینتون حاوی تریمتوریم برای تعیین بقایای سولفانامیدی استفاده گردید به ترتیب ۷، ۳ و ۱ درصد دارای بقایای سولفانامیدی بودند.

واژه‌های کلیدی: بقایای آنتیبیوتیکی، لاشه طیور و آزمایش چهارپلیت

کشف آنتیبیوتیکها در ابتدای قرن حاضر، تأثیر عمیق و قابل ملاحظه‌ای بر روی سلامت حیات انسان و حیوانات گذاشته است. این داروهای با کنترل بیماریهای عفونی زندگی فردی و اجتماعی را به میزان زیادی بهبود بخشیده‌اند (۹). ضمن اینکه استفاده از این داروهای رشد حیوانات را افزایش داده و موجب بهبود بخشیدن به صنایع مواد غذایی شده است.

آنتیبیوتیکها از داروهای مصرفی در حیوانات مولد غذا از جمله طیور هستند که در مقادیر تحت درمانی به عنوان مکمل جهت تسريع رشد، افزایش وزن، افزایش باردهی و یا به عنوان پیشگیری بر علیه یک یا چند بیماری مصرف می‌شوند. (۱۶).

استفاده از جیره غذایی حاوی آنتیبیوتیک برای حیوانات، سلامت جوامع بشری را با خطر جدی مواجه می‌سازد (۳). باقیماندهای آنتیبیوتیکی در فرآوردهای غذایی با منشاء دامی برای انسان مضر بوده و باعث ایجاد آلرژی و مهمتر از همه پیدایش باکتریهای روده‌ای مقاوم به آنتیبیوتیکها به دلیل وجود فاکتور R (Resistance factor) می‌گرددند (۴). و همکاران (Dewdney ۱۹۹۱) به ارزیابی خطر بقایای آنتیبیوتیکی در فرآوردهای غذایی پرداختند و نیاز به کنترل بقایای آنتیبیوتیکی در فرآوردهای غذایی را توصیه کردند (۸). به هر حال در صورت مصرف آنتیبیوتیکها در جیره غذایی دامها و طیور، بایستی زمان قطع دارو قبل از کشتار رعایت گردد تا میزان باقیماندهای دارویی در بافت‌های قابل مصرف ناچیز و یا کاملاً ناپدید گردد (۲). و از آنتیبیوتیکهایی استفاده شود که مصرف انسانی ندارند. نظر به اینکه در کشور ماناظرات خاصی بر میزان مصرف داروهای آنتیبیوتیکی و زمان استاندارد قطع دارو قبل از کشتار به طور کامل اعمال نمی‌گردد و در مطالعه قبلی نشان داده شده که روش Four plate test جهت این بررسی نسبت به روش‌های دیگر میکروبیولوژی ارجح

(۱) گروه آموزشی بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.

(۲) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.



جدول ۱- نتایج حاصل از انجام آزمایش F.P.T در اندامهای مختلف با توجه به نوع باکتری و pHهای محیط کشت بدون اضافه کردن تری متوفیریم به محیط کشت.

جمع	۸	۸	۷/۲	۶	pH محیط کشت	
	S. aureus	B. subtilis			نوع باکتری	اندام
	تعداد و درصد موارد مثبت				تعداد نمونه	مورد آزمایش
۵۴۲ (۵۴/۲)	۱۴۱ (۵۶/۴)	۱۲۸ (۵۱/۲۱)	۱۵۳ (۶۱/۲)	۱۲۰ (۴۸)	۲۵۰	عضله سینه
۲۶ (۲/۶)	۸ (۳/۲)	۵ (۲)	۷ (۲/۸)	۶ (۲/۴)	۲۵۰	کلیه
۹۹ (۹/۹)	۲۷ (۱۰/۸)	۲۰ (۸)	۲۹ (۱۱/۶)	۲۳ (۹/۲)	۲۵۰	کبد

جدول ۲- نتایج حاصل از باقیماندهای سولفافامیدی در اندامهای مختلف با توجه به نوع باکتری در محیط کشت مولرهینتون آگار حاوی تری متوفیریم

جمع	۷/۲	۷/۲	pH محیط کشت	
	S. aureus	B. subtilis	نوع باکتری	اندام
	تعداد و درصد موارد مثبت		تعداد نمونه	مورد آزمایش
۲۵ (۷)	۱۹ (۷/۲)	۱۶ (۶/۴)	۲۵۰	عضله سینه
۱۵ (۳)	۹ (۳/۶)	۶ (۲/۴)	۲۵۰	کبد
۵ (۱)	۳ (۰/۴)	۲ (۰/۸)	۲۵۰	کلیه

میلی لیتر و ۸٪ میکروگرم در میلی لیتر به ترتیب برای استافیلوكوکوس اورئوس و باسیلوس ساپتیلوس به دست آمد.

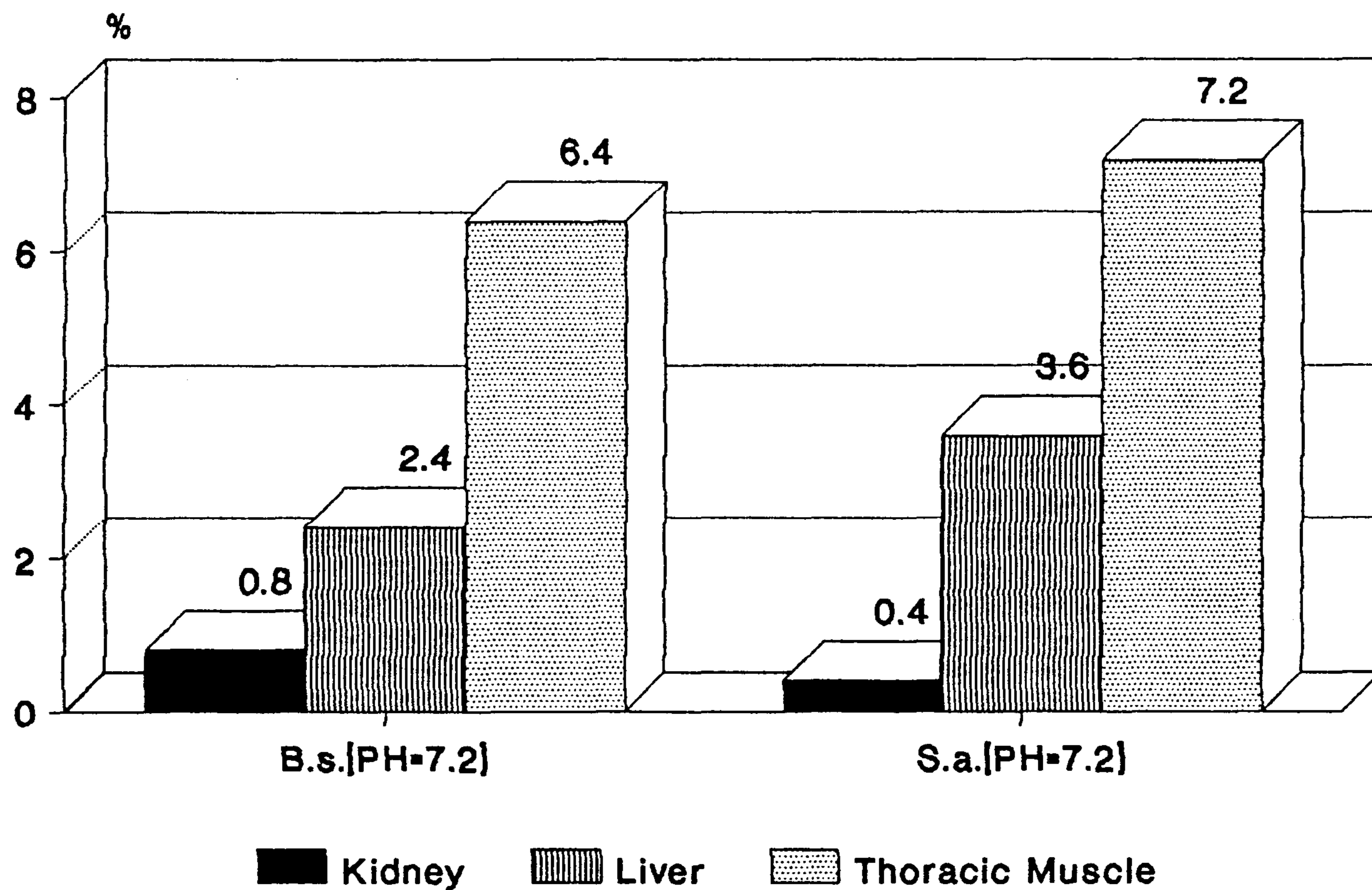
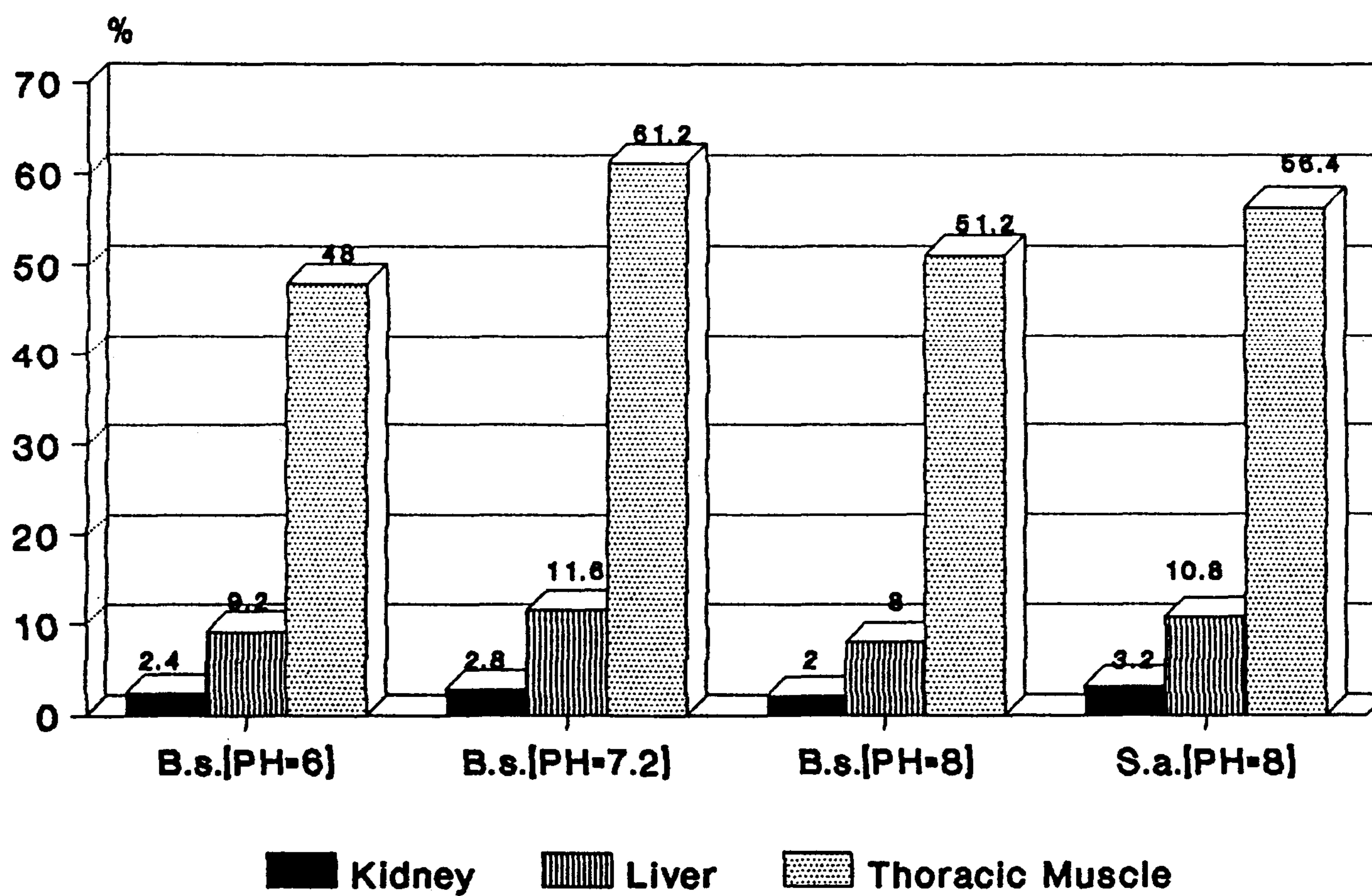
۳. تهیه شیرابه از نمونه‌ها: در این مطالعه ۲۵۰ نمونه لاشه طیور جمع آوری شده از کشتارگاههای اطراف شیراز که قابل مصرف تشخیص داده شده بودند مورد آزمایش قرار گرفت. با استفاده سانتریفوژ در دور بالا، شیرابه‌های مورد نیاز از نمونه‌های عضله سینه، کبد و کلیه هر لاشه تهیه گردید.

بعد جهت غیرفعال نمودن کمپلمان موجود در شیرابه‌ها و حذف عوامل طبیعی ضد میکروبی، شیرابه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب ۵۴ درجه سانتی گراد قرار داده شدند (۱).

۴. بررسی وجود یا عدم وجود آنتی بیوتیک در شیرابه‌های تهیه شده: در این مرحله پس از تهیه محیط کشت در pHهای مختلف، ۰٪ میلی لیتر از شیرابه‌های تهیه شده را بر روی محیط کشت ریخته و پس از نگهداری به مدت ۲ ساعت بعد قطره‌های شفاف اطراف حفرات با استفاده از خط کش اندازه گیری شد و نتایج ثبت گردید و قطره هالهایی که بیش از ۲ میلی متر بود به عنوان حساسیت باکتری مورد نظر قرار می‌گرفت. بدین ترتیب کمترین غلظت آنتی بیوتیک که مانع از رشد باکتری می‌شود، برای دو گونه باکتری مورد نظر و در شرایط محیطی مختلف تعیین می‌گردید.

۲. تعیین باقیماندهای سولفامیدی در فرآورده‌های طیور: تاکنون مطالعه جامع و کاملی بر روی روش‌های تشخیص باقیماندهای سولفافامیدی در بافت‌ها صورت نگرفته است و از آنجایی که افزودن تری متوفیریم به محیط مولرهینتون آگار حساسیت باکتری را به سولفامیدها افزایش می‌دهد لذا در این بررسی برای تشخیص مقادیر اندک سولفافامیدها به محیط‌های کشت تری متوفیریم اضافه گردید (۱۱). جهت استاندارد نمودن غلظت تری متوفیریم، مقادیر مختلف این دارو بر باکتریهای مورد نظر آزمایش شده و در نهایت غلظت ۱٪ میکروگرم در



نمودار ۱ - میزان باقیماندهای سولفانامیدی در اندامهای مختلف با استفاده از باکتریهای *S. aureus* و *B. Subtilis*نمودار ۲ - میزان باقیماندهای آنتیبیوتیکی در اندامهای مختلف با استفاده از باکتریهای *S. aureus* و *B. subtilis* در pH های مختلف.

مشخص گردید که دفع این داروها از عضلات نسبت به کلیه و کبد در زمان طولانی تری صورت می‌پذیرد (۶).

بر اساس تحقیقات Ziv و Nouws (۱۹۷۶) غلظت پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین و سفالوسپورین‌ها در نمونه کلیه نگهداری شده در ۴ درجه سانتی‌گراد سریعاً کاهش یافته ولی میزان آنها در عضلات همان دامها تا چهار روز بعد تا حد قابل ملاحظه‌ای ثابت مانده است. در این تحقیقات نیز مشخص گردید که پایداری آنتی‌بیوتیکها در عضلات بیش از کلیه‌ها می‌باشد (۱۴).

با توجه به جدول ۱ میزان آلدگی آنتی‌بیوتیکی در کبد ۹/۹ درصد تشخیص داده شد که در $pH = 8$ ، با استفاده از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به pH های دیگر بقایای آنتی‌بیوتیکی بیشتر نشان داده می‌شود. تراپیلو (Tropilo) و استپین (Stepien) (۱۹۸۹) نیز در مطالعه خود مشاهده نمودند که ۹/۲ درصد از کبد جوجه‌های کشتار شده با استفاده از روش باکتریولوژیکی دارای بقایای آنتی‌بیوتیکی بودند (۱۵). نتایج به دست آمده در بررسی حاضر با مطالعات محققین فوق همخوانی دارد. در مجموع با توجه به جدول ۱، عضلات سینه ۵۴/۲ درصد، کبد ۹/۹ درصد و کلیه‌ها ۲/۶ درصد دارای بقایای آنتی‌بیوتیکی بودند.

ناظر و همکاران (۱۳۷۲) با استفاده از روش چهار پلیت (F.P.T)، بقایای آنتی‌بیوتیکی در لشه گوسفندان کشتار شده در کشتارگاههای اضطراری را ۶۰/۵ درصد اعلام نمودند (۱). همکاران (Bellomento و همکاران ۱۹۹۳) اظهار داشتند که در نمونه‌های طیور از ۸۸ درصد تا ۹۵ درصد با استفاده از روش HPLC دارای بقایای آنتی‌بیوتیکی بودند (۱۶).

در این بررسی جهت تشخیص بقایای سولفانامیدی در نمونه‌ها از محیط مولر هینتون آکار حاوی تری‌متپریم در $pH = ۷/۲$ با استفاده از دو باکتری مورد نظر استفاده گردید. Gudding (۱۹۷۶) برای تشخیص بقایای سولفانامیدی در مواد غذایی با استفاده از محیط مولر هینتون با $pH = ۷/۲$ باکتریهای مختلف را مورد آزمایش قرار داده و نشان داد که اضافه کردن تری‌متپریم به محیط کشت، حساسیت آزمایش را جهت تشخیص بقایای سولفانامیدی ۵۰ و ۲۰ برابر بیشتر می‌کند (۱۰).

با توجه به جدول ۲، میزان بقایای سولفانامیدی در عضلات، کبد و کلیه به ترتیب ۷، ۳ و ۱ درصد تشخیص داده شد. با مقایسه جداول ۱ و ۲ مشخص می‌شود که میزان بقایای آنتی‌بیوتیکی در بافت‌ها بیشتر از سولفانامیدها می‌باشد که به نظر می‌رسد آنتی‌بیوتیکها در مقایسه با سولفانامیدها برای پیشگیری، درمان و تسريع رشد در طول دوره پرورش طیور بیشتر استفاده می‌شوند.

نتایج تحقیقات Kindred در سالهای ۱۹۸۷ تا ۱۹۹۰ برزوی بقایای آنتی‌بیوتیکی و سولفانامیدی نشان می‌دهد که میزان بقایای سولفانامیدی نسبت به آنتی‌بیوتیکها در بافت‌های مورد آزمایش کمتر است (۱۳). استفاده کمتر از سولفانامیدها نسبت به آنتی‌بیوتیکها در منطقه فارس ممکن است به دلایل زیر باشد:

پایین بودن میزان شیوع کوکسیدیوز طیور در منطقه فارس، کاهش تولید تخم مرغ، کاهش وزن، ایجاد پوسته نازک و ناصاف در اثر مصرف سولفانامیدها (۲)، تأثیر سوء این دارو بر روی سیستم خونساز و ایمنی (۷) و ایجاد مسمومیت شدید در طیور.

ساعت در دمای اطاق جهت نفوذ شیرابه به داخل محیط کشت حاوی باکتری، آنها به مدت ۱۸ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفتند. در صورت وجود آنتی‌بیوتیک در اطراف عصاره‌ها هاله‌های شفاف ایجاد می‌گردید. جهت مشخص نمودن وجود بقایای سولفانامید در نمونه‌ها، به محیط با $pH = ۷/۲$ متپریم اضافه گردید.

نتایج

در مجموع از تعداد ۲۵۰ لشه مرغ مورد آزمایش، در $pH = ۶$ با استفاده از باسیلوس سابتیلوس عضلات سینه ۴۸ درصد، کبد ۹/۲ درصد و کلیه‌ها ۲/۴ درصد دارای بقایای آنتی‌بیوتیک بودند. در $pH = ۷/۲$ با استفاده از این باکتری، عضلات سینه، کبد و کلیه‌ها به ترتیب ۶۱/۲ درصد، ۱۱/۶ درصد و ۲/۸ درصد دارای بقایای آنتی‌بیوتیک بودند و در $pH = ۸$ با استفاده از این باکتری، عضلات سینه، کبد و کلیه‌ها به ترتیب ۱۵/۲ درصد، ۸ درصد و ۲ درصد بقایای آنتی‌بیوتیک داشتند. آنالیز آماری با استفاده از آزمون Chi Square نشان داد که جداسازی بقایای آنتی‌بیوتیکی در انداههای مختلف با به کارگیری باکتری B. Subtilis در pH های مختلف با یکدیگر متفاوت بوده و در $pH = ۷/۲$ بیشترین و در $pH = ۶$ کمترین میزان بقایای آنتی‌بیوتیکی به دست می‌آید و در $pH = ۸$ این میزان در حد وسط می‌باشد ($pH = ۷/۲ > pH = ۸ > pH = ۶$). ضمناً در $pH = ۶$ با استفاده از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس، عضلات سینه، کبد و کلیه‌ها به ترتیب ۶۵/۴ درصد، ۱۰/۸ درصد و ۳/۲ درصد بقایای آنتی‌بیوتیکی داشتند. در مجموع موارد عضلات سینه، کبد و کلیه‌ها به ترتیب ۵۴/۲ درصد، ۹/۹ درصد و ۲/۶ درصد دارای بقایای آنتی‌بیوتیکی غیر مجاز بودند (۱). آنالیز آماری نشان داد که استفاده از باکتری S. aureus برای تعیین بقایای سولفانامیدی در انداههای مختلف در $pH = ۷/۲$ در مقایسه با باکتری B. subtilis به طور معنی‌داری مؤثرتر می‌باشد. ضمناً از تعداد ۲۵۰ نمونه عضلات سینه، کبد و کلیه که از محیط مولر هینتون حاوی تری‌متپریم برای تعیین بقایای سولفانامیدی استفاده گردید به ترتیب ۷، ۳ و ۱ درصد دارای بقایای سولفانامیدی بودند. خلاصه نتایج در جداول و نمودارهای ۱ و ۲ درج گردیده است. به طور کلی نمونه‌های مشبت کبد و کلیه در هر لشه همراه با وجود آنتی‌بیوتیک در لشه مربوطه بوده است.

بحث

در این مطالعه ۲۵۰ نمونه از لشه طیور کشتار شده در کشتارگاههای اطراف شیراز با استفاده از روش F.P.T مورد بررسی قرار گرفتند که از این تعداد با توجه به جدول شماره ۱، عضلات سینه ۵۴/۲ درصد، کبد ۹/۹ درصد و کلیه ۲/۶ درصد دارای بقایای آنتی‌بیوتیکی بیش از حد مجاز بودند (۱).

در تحقیقات وسیعی که برروی تشخیص بقایای آنتی‌بیوتیکی در مواد غذایی انجام گردیده است توضیه شده است که برای تشخیص بهتر بقایای آنتی‌بیوتیکی از محیط‌های با pH مختلف و سویه‌های مناسب باکتری استفاده شود (۱۲).

در جدول ۱ نشان داده می‌شود که بیشترین میزان بقایای آنتی‌بیوتیکی در نمونه‌های عضلات سینه ۵۴/۲ درصد و کمترین میزان این باقیمانده‌ها در کلیه، ۲/۶ درصد است. علت این موضوع شاید دفع سریعتر دارو از کلیه‌ها باشد. در بررسی Bugye و همکاران (۱۹۹۴) پس از تجویز آنتی‌بیوتیکها در طیور



منابع

- ۱ . حسین خان ناظر، ع. ج. شکر فروش، ش. و قانعی، ک. استفاده از روش Four plate test جهت تعیین باقیمانده آنتیبیوتیک در لاشه گوسفند. فصلنامه پژوهش و سازندگی شماره ۲۶. صفحات ۱۸۰ - ۱۸۳. (۱۳۷۴).
 - ۲ . فقیهی، س. م. نگرشی بر آنتیبیوتیکها در حیوانات مولد غذا، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۴۶، شماره ۲. صفحات ۹ - ۱. (۱۳۷۰).
 - ۳ . فاطمی، ا. ناسازگاری دارویی آنتیبیوتیکها و تداخلات آنها با تستهای آزمایشگاهی، مجله پژوهش و سازندگی شماره ۲۴. صفحات ۱۱۵ - ۱۱۶. (۱۳۷۳).
 - ۴ . Ansari, F.A. and Khton H.. Multiple antibiotic resistance among gram negative bacteria isolated from poultry. Indian. J. Exp.Biol. (32): 211 - 212, (1994).
 - ۵ . Bellomonte, G., filesi, C., Macri, A., Mosca, M. and Sanzinini, E., High performance liquid chromatographic determination of nitrofurans and free chloramphenicol in poultry muscle, liver and eggs. Italian Journal of Food Science. (5): 247-253. F.S.T.A., 1994, (26): Abs. 1S85, (1993).
 - ۶ . Bugyei, B.W., McEwen, S. and Meek, A.H., Detection oxytetracycline residues in chicken tissues using the Delvotest. J. Food Protect. (57): 141 - 145, (1994).
 - ۷ . Calnek, B.W., John Branes, H., Beard, C.W., Reid, M. and Yoder, H.V., Diseases of poultry. 9 th Ed. Iowa State University press, USA. PP: 803-864, (1991).
 - ۸ . Dewdney, J. M., Mesa, L., Raynaud, J.P., Blanc, F., Scheid, J.P., Jackson, T., Lens, S. and Vershvers, C., Risk assessment of antibiotic residues of betalactams and macrolides in food products with regard to their immunoallergic potential . J. Food Chem. Toxicol. (26): 477 - 483, (1991).
 - ۹ . Franco, D.A., Well, J. and Taylor, C.E., Antibiotic and sulfonamide residues in meat. implications for human health. J.Food protec. (53): 178 - 185, (1990).
 - ۱۰ . gudding , R., An improved bacteriological method for detection of sulfonamide residues in food. Acta. Vet. Scand, (17): 458-464, (1976).
 - ۱۱ . Gracy , J.F. and Collins, D.S., Meat Hygiene , 9th. Ed. Bailliere Tindall Publishes. London, PP: 38-39 , 168 - 170 , 209 - 215, (1992).
 - ۱۲ . Haaland, M.a., Monspeaker, J.F., and Moreland , T.W., Antibiotic residues in milk after intrauterine infusion. Vet. Med. (79): 382-386, (1999).
 - ۱۳ . Kindred, T.P., Antibiotics and sulfonamides in slaughtered cows. Proceedings of the United States Animal Health Association (96): 223-226, Vet. Bul. 1993 (63): Abs. 8281, (1992).
 - ۱۴ . Nouws, G.F.M. and Ziv, G., The effect of storages at 4C antibiotic residue in kidney and meat tissue of dairy cows. Tijdschrift Voor Diergeneeskunde. (101): 1145 - 1153, (1976).
 - ۱۵ . Tropilo, J. and Stepien, W., occurrence of antibiotics and other inhibitory substances in poultry meat and eggs. medycyna Veterinaryana. 45(3): 161 - 171, (1989).
 - ۱۶ . Vazaguea - Moreno, L., Bermudez, A., Higuera - Ciapara, I., Guayo, M.D. and Flores, E., antibiotic residues and drug resistant bacteria in beef and chicken tissues. Journal Foods Science. (55): 632 - 35, (1990).
- Detection of antibiotic residues in the carcasses of poultry slaughtered in Shiraz by four plate test method**
- Khannazer A.¹, Hossein zadeh S.², Parvandeh H.²,**
- ¹*Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz - Iran.* ²*Graduated From the Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz - Iran.*
- A study was conducted to evaluate the residues of antibacterial substances in 250 poultry carcasses. The diffuse four plate test method with the pH of 6 , 7.2 and 8 were employed. *B. Subtilis* and *S. aureus*, which were sensitive to all antibiotics tested, were used. 54.2 percent of the pectoralis muscles 9.9 percent of the livers and 2.6 percent of the kidneys were found to be contaminated with antibacterial substances, for the detection of sulfonamide residues, the plates containing trimethoprim were used. Out of 250 samples tested, the contamination rate of antibiotics in pectoralis muscle, liver, and kidney were 7.3 and 1 percent , respectively.
- Key words:**Antibiotic residues, Poultry carcasses, Four plate test.

