



تعیین باقیمانده فلورفنیکل در قزل‌آلای پرورشی منطقه سپیدان استان فارس

نیما شیرینی^{۱،۲}، حسین علی شمسایی^۳، امین غلامحسینی^۱^۱ گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران^۲ اداره کل شیلات استان خوزستان، سازمان شیلات ایران، آبادان، ایران^۳ آزمایشگاه مرکزی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۳۱ فروردین ماه ۱۴۰۰، تاریخ پذیرش: ۱۵ تیر ماه ۱۴۰۰

doi 10.22059/jvr.2020.304986.3074



20.1001.1.20082525.1400.76.3.4.6

چکیده

زمینه مطالعه: اطمینان از کیفیت بهداشتی یک محصول کشاورزی و غذایی برای مصرف کنندگان اهمیت زیادی دارد و می‌تواند نقش تعیین کننده‌ای از نظر جذب و حفظ بازار برای تولید کنندگان داشته باشد.

هدف: تعیین باقیمانده داروی آنتی باکتریال فلورفنیکل در بافت خوراکی (ماهیچه) قزل‌آلای پرورشی در منطقه سپیدان استان فارس.

روش کار: تعداد ۵۰ قطعه ماهی از ۷ مزرعه در منطقه سپیدان به صورت تازه خریداری شده و نمونه‌های برداشته شده از ماهیچه پهلویی آن‌ها تا زمان انجام تست‌های باقیمانده دارویی در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند. سنجش غلظت فلورفنیکل از طریق کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) به انجام رسید.

نتایج: میانگین باقیمانده فلورفنیکل در ماهیچه ماهیان منطقه سپیدان به‌طور معنی‌داری کمتر از مقدار استاندارد ارزیابی محصولات دارویی (برابر با ۱ میکروگرم بر گرم) بوده ($P < 0/05$)، ولی غلظت این آنتی بیوتیک در نمونه‌های بدست آمده یکی از مزارع پرورشی از حد استاندارد تجاوز نمود (۱/۱۲ میکروگرم بر گرم) که البته این تفاوت معنی‌دار نبود ($P > 0/05$).

نتیجه‌گیری نهایی: به نظر می‌رسد که میزان باقیمانده فلورفنیکل در ماهیانی که روانه بازار می‌شوند به مرز هشدار رسیده است؛ با این‌که ممکن است از نظر میانگین در یک منطقه در محدوده استانداردهای غذایی باشد، پیشنهاد می‌شود پایش دوره‌ای در این خصوص توسط نهادهای ذی‌ربط به‌طور مستمر صورت گیرد تا حقوق مصرف کننده به شکل مناسب‌تری استیفاء گردد.

کلمات کلیدی: قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)، فلورفنیکل، باقیمانده دارویی، بهداشت عمومی، سلامت محصول

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: نیما شیرینی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

پست الکترونیکی: nimashiry@yahoo.com

مقدمه

(۱۳). بنابراین، این آنتی بیوتیک جزءس گروه آنتی بیوتیک‌های مهارکننده سنتز پروتئین به شمار می‌رود. ماهیت شیمیایی فلورفنیکل به صورت محلول در چربی و دارای pH اسیدی می‌باشد (۲۰). زیست‌فراهمی آن نظیر کلرامفنیکل بسیار بالا و معادل ۹۶/۵ درصد تعیین شده است. از این رو، برای رسیدن به اهداف بالینی، انتشار دارو رضایت بخش بوده و با توجه به حجم انتشار قابل توجه، مقدار بافتی آن با مقدار پلاسمایی‌اش برابر

فلورفنیکل نسل سوم کلرومایستین، یکی از مشتقات کلرامفنیکل بوده که به عنوان یکی از مهم‌ترین آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف در کلینیک‌های دامپزشکی شناخته می‌شود. این عامل ضد میکروبی دارای خاصیت باکتریواستاتیک وابسته به دوز بوده و با اتصال به زیر واحد ۵۰S ریبوزوم‌های باکتری‌های حساس موجب مهار آنزیم پپتیدیل ترانسفراز گشته، در نتیجه باعث توقف انتقال اسید آمینه به زنجیره‌های پپتیدی در حال شکل‌گیری می‌گردد

است. نیمه عمر حذفی برابر با ۱۲/۲ ساعت حاکی از این است که نیاز به تجویز روزانه دارد (۱۴). با توجه به این که، اثرات دارو به طور مستقیم به غلظت دارو در محل ایجاد عفونت بستگی دارد و با توجه به نفوذ قابل قبول این آنتی بیوتیک به بافت‌های هدف، در نتیجه رسیدن به دوز اثرگذار این دارو در محل آسیب بوسیله گردش خون بسیار عملکرد مناسبی دارد (۱۶).

این آنتی بیوتیک از نظر جذب دارو در بدن میزبان و حذف شدگی در بدن ماهیان رفتار مناسبی از خود نشان داده است؛ به طوری که در ارزیابی ایمنی فلورفنیکل در مصرف خوراکی تیلاپیا (دوزهای ۰، ۱۵، ۴۵ و ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۲۰ روز متوالی)، بیشتر از ۹۶/۹ درصد دارو در بافت‌های هدف دریافت گردید (۷). علاوه بر این، مطالعه Bowser و همکاران در سال ۲۰۰۹ حاکی از نیمه عمر حذف کوتاه‌تر فلورفنیکل نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها بوده است، که در این میان، دارو حذف شدگی سریع‌تری از بدن ماهیان کوچک‌تر نسبت به ماهیان بازاری داشت (۵). به طور کلی آنتی بیوتیک‌های مصرفی در آبی پروری دوره خروج (تخلیه از بدن) متفاوتی دارند. به طوری که برای آموکسی سیلین، آمپی سیلین و فلورفنیکل در حدود ۵ روز و برای اریتروماکسین، اسپیرامایسین، اکسی تتراسایکلین، هیدروکلراید، سولفادیمتوکسین، انروفلوکسازین و اکسولینیک اسید حدود ۳۰ روز ذکر شده است (۳، ۱۵). در عمل نیز بکارگیری آنتی بیوتیک‌های با دوره پرهیز از مصرف طولانی‌تر (اکسی تتراسایکلین، اریتروماکسین و انروفلوکسازین) برای درمان عفونت‌های باکتریایی ماهیان قزل‌آلای پرورشی در ایران (استان چهارمحال و بختیاری) سبب شده تا محصول بازاری از نظر باقیمانده دارویی دارای حدود بالاتر از استانداردهای بهداشت مواد غذایی باشد و این مسئله نیازمند توجه جدی و فوری می‌باشد (۱۹).

در مقابل، مکانیسم حذف سریع فلورفنیکل از بدن ماهیان سبب شده که باقیمانده دارویی در محصول نهایی (ماهیان بازاری) از حدود قابل قبولی (بر مبنای رهنمود اتحادیه اروپا) برخوردار باشد. به نحوی که بالاترین و پائین‌ترین میزان آنتی بیوتیک به ترتیب برابر با ۳۱/۴۲ (در ماهیان بالای ۱۵۰ گرم) و ۱۰/۳۵ نانوگرم بر گرم وزن بدن (در ماهیان زیر ۵۰ گرم) در کبد، و مقادیر ۴۸/۸۴ (ماهیان ۱۵۰-۵۰ گرم) و ۱۸/۲ نانوگرم بر گرم وزن بدن (ماهیان بالای ۱۵۰ گرم) بوده است. بنابراین باقیمانده فلورفنیکل پائین‌تر از بیشینه تراز قابل قبول بوده است (۶). البته

در نواحی که دارای اپیدمی برخی بیماری‌های باکتریایی می‌باشند، به دلیل مصرف بی‌رویه از آنتی بیوتیک‌ها ممکن است باقیمانده دارویی بیش از حد مجاز (۱ میکروگرم بر گرم) باشد. برای مثال Ansari و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که غلظت آنتی بیوتیک در فیله قزل‌آلا در دامنه ۰/۴-۳/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و با میانگین ۰/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است (۲). Barani و Fallah در سال ۲۰۱۵ نیز از سطوح بالای باقیمانده آنتی بیوتیک‌های فلورفنیکل و اکسی تتراسایکلین در گوشت قزل‌آلای رنگین‌کمان پرورشی در گستره جغرافیایی گوناگون ایران خبر دادند. به طوری که پتانسیل خطر نسبتاً بالایی برای بهداشت عمومی به دنبال مصرف مداوم وجود دارد (۴). مطالعه دیگری که در گستره وسیعی (شمال، شمال غرب، غرب و نواحی مرکزی ایران) صورت گرفت نیز نشان داد که فلورفنیکل پس از اکسی تتراسایکلین و انروفلوکسازین مصرف بی‌رویه‌ای در صنعت سردابی کشور داشته و شوربختانه نزدیک به ۵۰ درصد ماهیان قزل‌آلای بازاری دارای مقادیر بالای (۲/۶۱-۰/۲۱ میکروگرم بر گرم) باقیمانده در بافت عضلانی بوده‌اند (۱).

این مطالعات می‌توانند کاربرد آکوافلور در دوزهای بالاتر از مقادیر پیشنهادی توسط NACA (۱۲) و US.FDA (۱۸) برابر با ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن را تأیید نمایند که در کنترل مرگ و میر آزاد ماهیان بیمار در اثر عفونت ناشی از *Flavobacterium psychrophilum* اثربخشی بهتری دارد و می‌تواند علاوه بر بهبود سیستم ایمنی سبب افزایش نرخ تولید ماهی شده و در عین حال سلامت مصرف کنندگان را تأمین کند (۱۱). در مطالعه دیگری نشان داده شد که بکارگیری تجربی ۱۵ میلی گرم فلورفنیکل بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۰ روز متوالی برای مهار بیماری استرپتوکوکوزیس/لاکتوکوکوزیس در قزل‌آلای رنگین‌کمان، نیازمند دوره بازیابی (Recovery) ۱۰ روزه برای ماهیان بازاری پس از تجویز دارو است تا خطری متوجه مصرف کنندگان محصول نباشد (۱۷). باید دقت شود که این دوره بازیابی کاملاً وابسته به شرایط محیطی ماهی پرورشی به ویژه دمای آب است (۱۰).

نظر به این که اطمینان از کیفیت بهداشتی یک محصول کشاورزی و غذایی برای مصرف کنندگان اهمیت زیادی دارد، می‌تواند نقش تعیین کننده‌ای از نظر جذب و حفظ بازار برای تولید کنندگان داشته باشد. از سوی دیگر، پایش باقیمانده فلورفنیکل در ماهیان بازاری به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین آنتی

۱۵ دقیقه انکوبه شدند و در پایان هر نمونه به حجم ۶۰ میکرولیتر یکی پس از دیگری به دستگاه تزریق شدند (۱۶،۱۷).

سنجش شیمیایی: غلظت فلورفینیکل از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و با بکارگیری دستگاه Knauer-HPLC (برلین، آلمان) مجهز شده به یک دتکتور UV (مدل K2500) و انژکتور Rheodyne (مدل ۷۱۲۵) تعیین شد. جداسازی مواد در دمای ۴۰ درجه سلسیوس بر روی یک ستون ۴/۶×۲۰۰ میلی‌متری با 120-A C18 به عنوان فاز ثابت (جامد) انجام شد. فاز مایع (آب- استونیتریل) از فیلتر سرسرنگی ۰/۴۵ میکرومتری عبور داده شد و از طریق هموژنایزر اولتراسونیک گاززدایی گردید. نرخ جریان فاز مایع بر روی ستون معادل ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

محاسبات: محاسبه غلظت فلورفینیکل بر مبنای سطح زیر پیک حاصل شده در نمودارها بود. به طوری که نخست منحنی استاندارد به عنوان همبستگی دو متغیر غلظت فلورفینیکل افزوده شده به پلاسم (Y) و مساحت پیک‌های فلورفینیکل (X) ترسیم گردید. غلظت‌های فلورفینیکل مورد استفاده شامل ۲/۵، ۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بر غلظت استاندارد داخلی (۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) تقسیم شدند، تا غلظت‌های حقیقی فلورفینیکل حاصل شوند. سپس در نمونه‌ها (مجهول)، نسبت مساحت زیر پیک‌های فلورفینیکل به مساحت زیر پیک‌های کلرامفنیکل محاسبه شد و به عنوان متغیر X در معادله خط منحنی استاندارد قرار گرفتند. بدین ترتیب غلظت‌های مجهول بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر (قسمت در میلیون) به عنوان متغیر Y بدست آمدند.

محدودیت تشخیص (LOD) و محدودیت مقدارسنجی (LOQ) با استفاده از روابط ذیل تعیین شدند:

$$LOD = \frac{Sd \text{ intercept}}{X\text{-variable}} * 3.3 \text{ (معادله ۱)}$$

$$LOQ = \frac{Sd \text{ intercept}}{X\text{-variable}} * 10 \text{ (معادله ۲)}$$

جایی که Sd انحراف معیار، intercept عرض از مبدا (b) و X-variable شیب خط (a) هستند.

به منظور محاسبه انحراف معیار نسبی (RSD%)، متوسط خطای نسبی (RE%) و میانگین نرخ بازیابی نسبی (RR%) به عنوان شاخص‌های صحت اندازه‌گیری، پس از انتخاب غلظت‌های

بیوتیک‌ها در صنعت تولید ماهیان سردابی کشور نیازمند توجه بیشتری است. مطالعه حاضر در نظر دارد تا باقیمانده این داروی آنتی‌باکتریال را در بافت خوراکی (ماهیچه) قزل‌آلای پرورشی در منطقه سپیدان استان فارس به عنوان یکی از قطب‌های تأمین بازار شهر شیراز، تعیین نماید.

مواد و روش کار

نمونه برداری از مزارع پرورش ماهی: تعداد ۵۰ قطعه ماهی از ۷ مزرعه در منطقه سپیدان (30°10'N 52°00'E) و در فاصله زمانی آبان الی اسفند ۱۳۹۷ به صورت تازه خریداری شده و طبق آئین‌نامه اخلاق زیستی دانشگاه شیراز برای نگهداری و استفاده از جانوران مهره‌دار در مطالعات آزمایشگاهی (IACUC. No. 4687/63) کشته شدند. نمونه برداری از ماهیچه پهلویی آن‌ها صورت گرفته و نمونه‌ها تا زمان انجام تست‌های باقیمانده دارویی در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند (۲۱).

تهیه رونشین (Supernatant): پس از یخ‌زدایی، توزین آن‌ها به مقدار ۱ گرم صورت گرفت، به آن‌ها ۴ میلی‌لیتر اتیل استات اضافه شد و به صورت دستی هموژن شدند. پس از سانتریفیوژ (۴۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه) رونشین جدا شده و به عنوان منبع برای سنجش شیمیایی مورد استفاده قرار گرفت (۹).

آماده سازی نمونه‌ها: روش آماده سازی در مطالعه Shiry و همکاران در سال ۲۰۱۹ شرح داده شده است (۱۶). به طور خلاصه، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر نمونه به حجم ۳۰ میکرولیتر کلرامفنیکل با درجه خلوص بالای ۹۸ درصد (سیگما-آلدریج، سنت لوئیس، ایالات متحده آمریکا) به غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، به عنوان استاندارد داخلی افزوده شد. هر نمونه به مدت ۲ دقیقه به خوبی ورتکس شده و سپس ۱/۴ میلی‌لیتر اتیل استات به عنوان رسوب دهنده پروتئین‌ها به هر یک افزوده گردید و بلافاصله سانتریفیوژ (۵۰۰۰ دور برای ۳ دقیقه) انجام شد. میزان ۱۳۰۰ میکرولیتر از رونشین هر نمونه برداشت شد و فرایند تبخیر مایعات آن‌ها تحت بخار نیتروژن در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ دقیقه صورت گرفت. به باقیمانده (جامدات) هر نمونه حجم ۲۰۰ میکرولیتر فاز متحرک (مایع) شامل آب و استونیتریل با نسبت حجمی ۲۵:۷۵ افزوده شد و سپس از فیلتر سرسرنگی ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد. نمونه‌های حاصل شده به مدت

ترتیب معادل ۱۹/۸۷، ۵/۸۴ و ۵/۵ درصد بدست آمدند. همچنین متوسط خطای نسبی (به عنوان شاخص صحت اندازه‌گیری) و میانگین نرخ بازیابی نسبی دارو به ترتیب معادل ۳/۸۱ و ۹۶/۱۸ درصد ثبت شدند.

نتایج حاصل از تحلیل نمودارهای کروماتوگرافی نشان داد که کمینه، میانگین و بیشینه مقادیر فلورفنیکل تجمع یافته در نمونه‌ها، برابر با ۰ (غیر قابل تشخیص)، $0.04 (\pm 0.0713)$ و $0.09 (\pm 0.134)$ می‌گروگرم بر گرم بودند.

بر اساس آزمون کولموگروف اسمیرنوف، تفاوت معنی‌داری بین فراوانی باقیمانده دارویی در عضله ماهیان نمونه با مقادیر مورد انتظار وجود نداشت و توزیع جامعه نرمال بود. بنابراین به منظور مقایسه آماری، می‌توان از آزمون‌های پارامتریک بهره گرفت.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس (نمودار ۲) نشان دهنده این بود که باقیمانده دارویی در نمونه‌های مربوط به مزارع E و F به طور معنی‌داری بیشتر از سایر مزارع بوده است ($P < 0.05$).

جدول ۱ نتایج مقایسه باقیمانده دارویی فلورفنیکل را با مقدار استاندارد اروپایی (۱ میکروگرم بر گرم وزن بدن) نشان داده است. بر این اساس، میانگین باقیمانده فلورفنیکل در ماهیچه ماهیان منطقه سپیدان به طور معنی‌داری کمتر از مقدار استاندارد می‌باشد ($P < 0.05$)، ولی غلظت این آنتی بیوتیک در نمونه‌های بدست آمده یکی از مزارع پرورشی از حد استاندارد تجاوز نمود ($1/12$ میکروگرم بر گرم) که البته این تفاوت معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

کمینه (min)، بهینه (opt) و بیشینه (max) به شرح معادلات ذیل استفاده گردید:

$$RSD\% = \frac{Sd}{\bar{X}} * 100 \text{ (معادله ۳)}$$

$$RE\% = \frac{\text{Measured value} \times \text{Nominal value}}{\text{Measured value}} * 100 \text{ (معادله ۴)}$$

$$RR\% = \frac{\text{Measured value}}{\text{Nominal value}} * 100 \text{ (معادله ۵)}$$

جایی که Sd انحراف معیار، \bar{X} میانگین نمونه بوده و مقدار اندازه‌گیری شده از قرار دادن متغیر X در معادله استاندارد بدست می‌آید و مقدار واقعی نیز همان مقدار معلوم (غلظت فلورفنیکل افزوده شده به پلاسما) می‌باشد (۸).

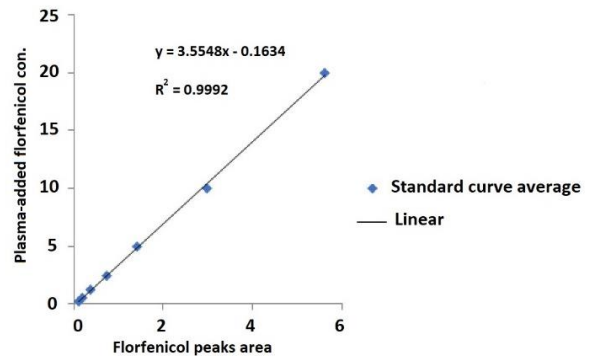
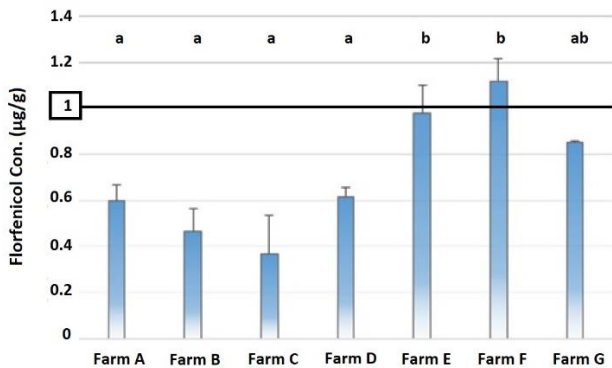
تجزیه و تحلیل آماری: باقیمانده دارویی در نمونه‌های ماهیچه با استفاده از تی تست تک نمونه‌ای با استاندارد ارزیابی محصولات دارویی (۶) (برابر با ۱ میکروگرم بر گرم) مقایسه گردید. همچنین قیاس بین میانگین‌های غلظت فلورفنیکل در نمونه‌های مزارع مختلف با یکدیگر از طریق آنالیز واریانس یک طرفه انجام شد. کلیه عملیات آماری در محیط نرم افزار SPSS (نسخه ۲۰) صورت گرفت.

نتایج

منحنی استاندارد ترسیم شده فلورفنیکل در **نمودار ۱** نشان داده شده است. محدودیت‌های تشخیص و مقدارسنجی فلورفنیکل توسط سیستم به ترتیب برابر با ۰/۰۲۴ و ۰/۰۷۳ قسمت در میلیون تعیین شدند. انحراف معیار نسبی داده‌های منحنی استاندارد مربوط به غلظت‌های کمینه، بهینه و بیشینه به

جدول ۱. میانگین سطوح باقیمانده فلورفنیکل در قزل آلا منطقه سپیدان در مقایسه با استاندارد بین‌المللی.

| P-Value | Df | T | تفاوت میانگین از استاندارد | مرجع استاندارد | حد استاندارد | غلظت میانگین | مزرعه |
|---------|----|----------|----------------------------|----------------------|--------------|--------------|--------------------------|
| | | | | | | | (بر حسب میکروگرم بر گرم) |
| ۰/۰۰۰ | ۵ | -۲۵۵۵/۶۴ | -۰/۴۰۴ | محصولات دارویی اروپا | ۱ | ۰/۵۹۶ | A |
| ۰/۰۰۰ | ۵ | -۱۳۲/۶۷۵ | -۰/۵۳۳ | " | " | ۰/۴۶۷ | B |
| ۰/۰۰۰ | ۷ | -۷۱/۵۳۵ | -۰/۶۳۵ | " | " | ۰/۳۶۵ | C |
| ۰/۰۰۰ | ۷ | -۴۸۰/۷۶۸ | -۰/۳۸۷ | " | " | ۰/۶۱۳ | D |
| ۰/۰۵۲ | ۵ | -۴۸۰/۷۶۸ | -۰/۰۲ | " | " | ۰/۹۸ | E |
| ۰/۰۶۳ | ۵ | -۱۰۲۷/۳۶ | ۰/۱۲ | " | " | ۱/۱۲ | F |
| ۰/۰۷۴ | ۹ | -۹۱/۱۷۲ | -۰/۱۴۷ | " | " | ۰/۸۵۳ | G |
| ۰/۰۰۱ | - | -۵۶/۱۰۲ | -۰/۲۸۷ | " | " | ۰/۷۱۳ | میانگین |



نمودار ۲. مقایسه آماری باقیمانده دارویی در نمونه‌های مربوط به مزارع پرورش ماهی.

نمودار ۱. منحنی استاندارد فلورفنیکل مورد استفاده برای محاسبه غلظت‌های مجهول نمونه‌ها.

میکروگرم بر گرم) می‌باشد. با توجه به این که این آنتی بیوتیک نیمه عمر حذف کوتاه‌تری نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها دارد (۵،۶،۷،۲۰)، پرورش‌دهندگان می‌توانند اطمینان خاطر بیشتری نسبت به مصرف آن داشته باشند. گرچه لازم است از توصیه‌های متخصص بهداشتی بهره گرفته شود تا مشکلاتی نظیر مقاومت دارویی گریبان مزرعه را نگیرد. به ویژه، محاسبه و بکارگیری دوزاژ مصرفی صحیح (حداکثر ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن برای ۱۰ روز متوالی)، افزون بر این که می‌تواند از این رخداد پیشگیری نماید، زمان به نسبت دقیق پاکسازی دارو از بدن ماهی را نشان می‌دهد. برای نمونه دوزاژ اشاره شده نیازمند دست کم ۱۶۵ درجه روز (درجه سلسیوس × زمان بر حسب روز) به عنوان دوره پرهیز از مصرف دارو است تا باقیمانده دارویی در محصول نهایی (ماهیان بازاری) از حدود قابل قبولی برخوردار باشد (۷،۱۷).

بخش دیگری از نتایج نشان می‌دهد که باقیمانده فلورفنیکل در نمونه‌های بدست آمده یکی از مزارع پرورشی از حد استاندارد تجاوز نمود (۱/۱۲ میکروگرم بر گرم). یک علت احتمالی این مسئله را می‌توان در نوع سیستم گردش آب این مزرعه جستجو کرد. به طوری که این مزرعه از سیستم مدار بسته با تعویض آب ۱۰ درصد در هفته استفاده می‌نماید. مطالعه‌ای دیگر که مقایسه‌ای بین نیمه عمر این آنتی بیوتیک در پلاسمای ماهیان پرورش یافته در سیستم‌های مدار بسته (۲۰/۳ ± ۱/۲ ساعت) و جریان‌دار (۱۹/۰ ± ۷/۹ ساعت) انجام داد (۱۱)، تأیید کننده این گمانه است. بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش نیمه عمر فلورفنیکل، ارتباط مستقیمی با باقیمانده این دارو در سیستم‌های مدار بسته داشته باشد. البته این در شرایطی است که پرورش‌دهندگان از دامنه

بحث

بدیهی است که صیانت از سلامت جامعه به عنوان یک مسئولیت اجتماعی بر همگان ضرورت داشته و به طور ویژه تولیدکنندگان خوراک می‌بایست در نیل به این امر، مجدانه بکوشند. در این راستا، پژوهش حاضر به عنوان یک مطالعه پایشی در مورد ماهیان منطقه سپیدان استان فارس که تأمین‌کننده بخش مهمی از ماهیان سردابی بازار شهر شیراز می‌باشد، صورت گرفته است. از نظر اعتبار داده‌های حاصل از سنجش باقیمانده دارویی، لازم به تأکید است که با توجه به ضریب تعیین بالا در منحنی استاندارد، در واقع همبستگی قابل قبولی بین مساحت سطح زیر پیک‌ها با غلظت‌های فلورفنیکل افزوده شده به پلاسمای شاهد وجود داشته است. همچنین انحراف معیار نسبی داده‌های منحنی استاندارد حاکی از دقت بالا در اندازه‌گیری فلورفنیکل توسط دستگاه می‌باشد. بر اساس اندازه‌گیری‌ها، مقادیر فلورفنیکل تجمع یافته در نمونه‌های عضله بین ۰ تا ۱/۳۴ میکروگرم بر گرم بودند که در مقایسه با نتایج Ansari و همکاران در سال ۲۰۱۲ (استان چهارمحال و بختیاری)، از تشابه قابل توجهی برخوردار است (۲). مقایسه مقادیر بدست آمده در مطالعه حاضر با یافته‌های حاصل از سایر نقاط کشور (۱،۴) حاکی از این است که این آنتی بیوتیک مصرف بهینه‌تری در منطقه سپیدان داشته و یا نظارت بیشتری بر مدیریت بهداشتی مزارع این ناحیه انجام شده است.

تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که میانگین باقیمانده فلورفنیکل در ماهیچه ماهیان منطقه سپیدان به طور معنی‌داری کمتر از مقدار استاندارد ارزیابی محصولات دارویی (برابر با ۱

هم‌خوانی دارد (۱۸). مزرعه G در جنوب غربی شهر اردکان واقع شده و آب آن از منبع دیگری تأمین می‌گردد.

به نظر می‌رسد که میزان باقیمانده فلورفنیکل در ماهیانی که روانه بازار می‌شوند به مرز هشدار رسیده است و با این که ممکن است از نظر میانگین در یک منطقه در محدوده استانداردهای غذایی باشد، پیشنهاد می‌شود پایش دوره‌ای در این خصوص توسط نهادهای ذی‌ربط به طور مستمر صورت گیرد تا حقوق مصرف‌کننده به شکل مناسب‌تری استیفاء گردد. باید توجه شود که آنتی‌بیوتیک‌های متنوعی از سوی پرورش دهندگان مصرف می‌شوند که جنبه فصلی پیدا کرده‌اند و برخی از آن‌ها به حالت سوء مصرف رسیده‌اند (نظیر اکسی‌تترا سایکلین)، پس صرف سالم بودن محصول از نظر باقیمانده فلورفنیکل نمی‌توان این یافته‌ها را تسری داد.

سپاسگزاری

بدین وسیله نویسندگان مقاله از جناب آقای دکتر پاشایی مدیر بخش بازاریابی شرکت رویان دارو به خاطر در اختیار قرار دادن استاندارد فلورفنیکل صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

پیشنهادی دوزاژ مورد تأیید سازمان بهداشت غذا و داروی ایالت متحده آمریکا (US.FDA) تخطی نکنند، که نمی‌توان تا این اندازه خوش‌بین بود. به طوری که داده‌های تجربی و مشاهدات میدانی نشان می‌دهند معمولاً مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها پس از دوره درمانی نیز تا زمان ناپدید شدن علائم پاتولوژیک در ماهی توسط پرورش‌دهندگان ادامه می‌یابد و یا دوزاژ مصرفی درست محاسبه نمی‌شود (۴). بنابراین دلایل دیگری که برای اختلاف مقادیر باقیمانده دارویی این مزرعه با سایرین قابل تصور هستند، مصرف بالاتر آنتی‌بیوتیک (دوز یا زمان)، و اختلاف دمای آب مزارع و واکنش فیزیولوژیک بدن ماهی به این عامل محیطی است (۱۰).

مقایسه‌ای که بین باقیمانده دارویی در ماهیان استخرهای مختلف منطقه سپیدان انجام شد نشان داد که باقیمانده دارویی در نمونه‌های مربوط به مزارع E و F به طور معنی‌داری بیشتر از سایر مزارع بوده است. با توجه به این که شماره بندی مزارع از پائین دست (مزرعه A، B و C) به بالادست (مزرعه D، E و F) رودخانه شش پیر انجام شده، احتمالاً عامل دمای آب بر متابولیسم جذب و دفع آنتی‌بیوتیک مؤثر بوده است. به طوری که مزرعه‌های E و F در نزدیکی سرچشمه قرار گرفته‌اند و سردتر بودن آب این مزارع می‌تواند سبب کندتر شدن روند پاکسازی دارو گردد. داده‌های به اشتراک گذاشته شده توسط انستیتوی پژوهشی شرینگ پلاو (Schering-Plough) در مورد اثرات دما و عوامل محیطی بر نیمه عمر فلورفنیکل با این بخش از نتایج و گمانه‌زنی مربوط به آن

References

- Adel, M., Dadar, M., Conti, G.O. (2017). Antibiotics and malachite green residues in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from the Iranian markets: A risk assessment. *Inter J Food Proper*, 20(2), 402-408. <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1163577>
- Ansari, M., Raissy, M., Rahimi, E. (2012). Determination of florfenicol residue in rainbow trout muscles by HPLC in Chaharmahal va Bakhtiari Province, Iran. *Comp Clin Pathol*, 23(1), 61-62. <https://doi.org/10.1007/s00580-012-1570-y>
- Bacanli, M., Nurşen, B. (2019). Importance of Antibiotic Residues in Animal Food. *Food Chem Toxicol*, 125, 462-466. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.01.033> PMID: 30710599
- Barani, A., Fallah, A.A. (2015). Occurrence of tetracyclines, sulfonamides, fluoroquinolones and florfenicol in farmed rainbow trout in Iran. *Food Agr Immunol*, 26(3), 420-429. <https://doi.org/10.1080/09540105.2014.950199>
- Bowser, P.R., Kosoff, R.E., Chen, C.Y., Wooster, G.A., Getchell, R.G., Craig, J.L., Lim, P., Wetzlich, S.E., Craigmill, A.L., Tell, L.A. (2009). Florfenicol residues in Nile tilapia after 10-d oral dosing in feed: effect of fish size. *J Aquat Anim Health*, 21, 14-17. <https://doi.org/10.1577/H08-014.1> PMID: 19485121
- Fadaeifard, F., Rahimi, E., Raissy, M., Faghani, M. (2015). Determination of florfenicol residues in the muscle and liver of cultured rainbow trout in Iran by ELISA. *J Chem Health Risk*, 5(4), 267-272. <https://doi.org/10.22034/JCHR.2015.544116>
- Gaikowski, M.P., Wolf, J.C., Schleis, S.M., Tuomari, D., Endris, R.G. (2013). Safety of florfenicol administered in feed to tilapia (*Oreochromis* sp.). *Toxicol Pathol*, 41, 639-652. <https://doi.org/10.1177/0192623312463986>
- Ghorbani, A. (2015). *Chemistry, Instrumental Analysis (Laboratory methods of spectrophotometry and chromatography)*. (2nd ed.) Ati Negar Publishers, Tehran, Iran. [In Persian]
- Jangaran Nejad, A., Peyghan, R., Najafzadeh Varzi, S., Shahriyari, A. (2017). Florfenicol pharmacokinetics following intravenous and oral administrations and its elimination after oral and bath administrations in common carp (*Cyprinus carpio*). *Vet Res Forum*, 8(4), 327-331. PMID: 29326792 PMID: PMC5756253
- Khosoff, R.E., Chen, C-Y., Wooster, G.A., Getchell, R.G., Bowser, R.P., Clifford, A., Craig, J.L., Lim, P., Wetzlich, S.E., Craigmill, A.L., Tell, L.A. (2009). Florfenicol residues in three species of fish after 10-day oral

- dosing in feed. *J Aquat Anim Health*, 21(1), 8-13. <https://doi.org/10.1577/H08-013.1>
11. Meinertz, J.R., Hess, K.R., Bernardy, J.A., Gaikowski, M.P., Whitsel, M., Endris, R.G. (2014). Florfenicol residues in rainbow trout after oral dosing in recirculating and flow-through culture systems. *J Aquat Anim Health*, 26, 243-250. <https://doi.org/10.1080/08997659.2014.945046>
 12. Network of Aquaculture Centre in Asia-Pacific (NACA). (2001). *Asia Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases*. (1st ed.) FAO Fisheries Technical Paper 402/2, Rome, Italy, p. 46-52.
 13. Pourmolaie, B., Eshraghi, H.R., Haghighi, M., Mortazavi, S.A., Sharif Rohani, M. (2015). Pharmacokinetics of florfenicol administrated to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by oral gavages and medicated feed routes. *Bull Environ Pharmacol Life Sci*, 4(4), 14-17.
 14. Scuka, L. (2005). Florfenicol – Pharmacodynamic, pharmacokinetics and clinical efficacy of oral formulations in domestic animals – A systematic review. *Veterinarski Glasnik*, 59(5-6), 635-654. <https://doi.org/10.2298/VETGL0506635S>
 15. Serrano, P.H. (2005). *Responsible Use of Antibiotics in Aquaculture*. (1st ed.) FAO Fisheries Technical Paper 469, Rome, Italy.
 16. Shiry, N., Shomali, T., Soltanian, S., Akhlaghi, M. (2019). Comparative single- dose pharmacokinetics of orally administered florfenicol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) at health and experimental infection with *Streptococcus iniae* or *Lactococcus garvieae*. *J Vet Pharmacol Therap*, 42, 214–221. <https://doi.org/10.1111/jvp.12736> PMID: 30474150
 17. Shiry, N., Soltanian, S., Shomali, T. (2020). Determination of optimal clinical dosage of orally administered florfenicol in rainbow trout with the experimental Streptococcosis/ Lactococcosis, and tracing of drug residual in their liver and muscles. *Iran Vet J*, 18(1), 49-62. [In Persian] <https://doi.org/10.22055/ivj.2019.160880.2100>
 18. Shiry, N., Soltanian, S., Shomali, T., Salighehzadeh, R. (2020). Effects of oral administration of florfenicol on some hematological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) challenged with streptococcosis/lactococcosis agents. *J Vet Res*, 75(3), 320-327. [In Persian] <https://doi.org/10.22059/JVR.2019.273876.2890>
 19. Soltani, M., Pirali, E., Rasoli, A., Shafiei, S., Kakoolaki, S., Shams, G. (2014). Antibiotic residuals in some farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) of market size in Iran. *Iran J Aquat Anim Health*, 1(1), 71-77.
 20. Treves-Brown, K.M. (2000). *Applied Fish Pharmacology, Aquaculture Series* (volume 3) (1st ed.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, p. 148-153.
 21. Wang, J., MacNeil, J.D., Kay, J.F. (2012). *Chemical Analysis of Antibiotic Residues in Food*. (2nd ed.) A John Wiley & Sons, Inc., Publication, Hoboken NJ, USA, p. 85.



Determination of Florfenicol Residues in Rainbow Trout Reared in Sepidan County, Fars Province, Iran

Nima Shiry^{1,2}, Hossein Ali Shamsaei³, Amin Gholamhosseini¹

¹ Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

² Administration of Khuzestan Province, Iran Fisheries Organization, Abadan, Iran

³ Central Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

doi [10.22059/jvr.2020.304986.3074](https://doi.org/10.22059/jvr.2020.304986.3074)

Received: 20 April 2021, Accepted: 6 July 2021

Abstract

BACKGROUND: Ensuring health quality of an agricultural or food product is of significance for consumers and could be a decisive factor in terms of attracting and maintaining the market for manufacturers.

OBJECTIVES: The present study aimed to determine the residues of florfenicol antimicrobial agent in the edible tissue (muscle) of rainbow trout reared in Sepidan County (Fars Province, Iran).

METHODS: 50 fresh fish were purchased from 7 farms in Sepidan County. The samples from lateral muscle were taken and kept at -18 °C until the residues drug tests were performed. The florfenicol concentration was measured through the high-performance liquid chromatography (HPLC).

RESULTS: The mean of florfenicol residues in fish muscle reared in Sepidan County was significantly less than the drug products evaluation standard value ($P < 0.05$). However, the concentration of this antibiotic sampled from one of the studied farms went beyond from standard value ($1.12 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Of course, this difference was not significant ($P > 0.05$).

CONCLUSIONS: It seemed as though the residue levels of florfenicol in the purchased fish reached alarming levels. Meanwhile, it is possible that their average in an area would be within the range of food standards. Thus, it could be suggested that periodic monitoring be carried out continuously by the relevant institutions to ensure that consumer rights are more adequately met.

Keywords: Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Florfenicol, Drug residues, Public health, Product health

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: nimashiry@yahoo.com Tel/Fax: 071-36138736/071-32286940

How to cite this article:

Shiry, N., Shamsaei, H., Gholamhosseini, A. (2021). Determination of Florfenicol Residues in Rainbow Trout Reared in Sepidan County, Fars Province, Iran. J Vet Res, 76(3), 315-322.
<https://doi.org/10.22059/jvr.2020.304986.3074>

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Averages of the florfenicol residues levels in rainbow trout reared in Sepidan County compared to the international standard.

Chart 1. Standard curve of florfenicol used for calculating the unknown concentrations of the samples.

Chart 2. Statistical comparison between drug residues in the samples related to fish farms.