



Semnan University



Research Article

Detection and Quantification of Oxytetracycline Residues in Raw Semnan Milk Using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method

Maedeh Alizadeh Nikoo¹, Saeideh Naeimi^{1*} , Ashkan Jebelli Javan², Ali Rassouli³.

Abstract

Tetracyclines are a widely used, broad-spectrum class of antibiotics prescribed to manage mastitis and various diseases in dairy herds. The improper and excessive use of antibiotics, along with failure to observe withdrawal periods, has led to the presence of drug residues in food products of animal origin. The present study aimed to determine the level of oxytetracycline in raw milk consumed in the city of Semnan. This cross-sectional study was conducted during the autumn. Thirty-six samples were collected from a milk platform in the city of Semnan. The samples were then analyzed for oxytetracycline residues using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). The concentration of oxytetracycline isolated in all samples was less than the Maximum Residue Limit (MRL) of 0.1 µg/mL, with the exception of one sample that was above the limit. Given the presence of drug residues in milk found in this study and others, further investigations into the health of products from treated animals for human consumption should be a priority. The prudent use of antimicrobial drugs and adherence to their withdrawal periods can prevent the adverse effects and harm associated with them.

Keywords: Drug Residue, Oxytetracycline, Milk, HPLC, Semnan.

1. Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.
2. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.
3. Department of Comparative Biosciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

*Corresponding author: naeimis@semnan.ac.ir

DOI: [10.22075/jvml.2025.38791.1183](https://doi.org/10.22075/jvml.2025.38791.1183)

Received: 24.08.2025

Revised: 16.10.2025

Accepted: 01.11.2025

How to Cite this Article:

Alizadeh Nikoo, M. , Naeimi, S. , Jebelli Javan, A. and Rassouli, A. (2025). Detection and Quantification of Oxytetracycline Residues in Raw Semnan Milk Using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method. *Journal of Veterinary Laboratory Research*, 17(2), 161-169.

doi: [10.22075/jvml.2025.38791.1183](https://doi.org/10.22075/jvml.2025.38791.1183)





ردیابی و تعیین غلظت بقایای اکسی تتراسایکلین در شیرهای خام سمنان با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع (HPLC)

مآئده علیزاده نیکو^۱، سعیده نعیمی^{۱*} ID، اشکان جبلی جوان^۲، علی رسولی^۳.

خلاصه

تتراسایکلین‌ها جزء آنتی بیوتیک‌های پرکاربرد و با طیف اثر گسترده می‌باشند که برای کنترل ورم پستان و بیماری‌های مختلف در گله‌های گاو شیری تجویز می‌شوند. استفاده نادرست از آنتی بیوتیک‌ها و مصرف بیش از حد و عدم رعایت زمان پرهیز از مصرف، موجب حضور باقی مانده‌های دارویی در مواد غذایی با منشاء دامی شده است. هدف از پژوهش حاضر تعیین میزان اکسی تتراسایکلین در شیرهای خام مصرفی در شهر سمنان است. این مطالعه به صورت مقطعی در طی فصل پاییز انجام شد. ۳۶ نمونه از سکوی شیر شهر سمنان جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌ها با روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد عالی (HPLC)، از نظر وجود باقی‌مانده اکسی تتراسایکلین مورد بررسی قرار گرفتند. میزان اکسی تتراسایکلین جدا شده در همه نمونه‌ها کمتر از ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر (MRL) بود به جز یک نمونه که بالاتر از حد مجاز بدست آمد. با توجه به حضور باقی‌مانده دارویی در شیر در مطالعه حاضر و پژوهش‌های سایرین بررسی‌های بیشتر در ارتباط با سلامتی فرآورده‌های حاصل از حیوانات درمان شده برای استفاده در انسان باید مورد توجه قرار گیرد. با مصرف خردمندانه داروهای ضد میکروب و نیز رعایت زمان‌های پرهیز از مصرف این دارو‌ها از عوارض و زیان‌های ناشی از آن‌ها پیشگیری به عمل می‌آید.

واژه‌های کلیدی: باقی‌مانده دارویی، اکسی تتراسایکلین، شیر، HPLC، سمنان.

۱. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

۲. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

۳. گروه علوم زیستی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: naeimis@semnan.ac.ir

DOI: [10.22075/jvlr.2025.38791.1183](https://doi.org/10.22075/jvlr.2025.38791.1183)

دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۰۲

بازنگری: ۱۴۰۴/۰۷/۲۴

پذیرش: ۱۴۰۴/۰۸/۱۰

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان یکی از مهم‌ترین ابزارهای مبارزه با عفونت‌های باکتریایی، به صورت گسترده در دامداری‌های تولیدکننده‌ی مواد غذایی برای درمان، پیشگیری و کنترل بیماری‌ها، و همچنین به عنوان محرک رشد، استفاده می‌شوند (Mamani et al., 2009). در این میان، تتراسایکلین‌ها به دلیل طیف اثر وسیع خود علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، کاربرد گسترده‌ای در دامپزشکی دارند. اکسی‌تتراسایکلین، در کنار کلرتتراسایکلین و تتراسایکلین، از پرکاربردترین ترکیبات این خانواده در دام‌های شیری است که حضور آن در شیر، می‌تواند مخاطرات بهداشتی را در پی داشته باشد (Abbasi et al., 2007; Pena et al., 2011). استفاده بی‌رویه و نامناسب از این داروها می‌تواند به حضور باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی در محصولات دامی، از جمله شیر، منجر شود که پیامدهای جدی برای سلامت انسان به دنبال دارد. مصرف باقی‌مانده‌های تتراسایکلین می‌تواند عوارض مختلفی نظیر واکنش‌های آلرژیک، اختلال در فلور میکروبی روده، زردی دندان‌ها در کودکان، و در دوزهای بالا، آسیب‌های کبدی و گوارشی ایجاد کند (Cinquina et al., 2003; Nebot et al., 2014; Masawat & Slater., 2007; Saleh et al., 2016). مهم‌تر از آن، مصرف طولانی‌مدت این باقی‌مانده‌ها در مقادیر کم، خطر ایجاد و گسترش مقاومت دارویی را در باکتری‌ها افزایش می‌دهد، که این امر تهدیدی بزرگ برای اثربخشی درمان‌های آنتی‌بیوتیکی در آینده محسوب می‌شود. استفاده از تتراسایکلین‌ها در گاوهای شیری ممکن است سبب ایجاد عوارض جدی ناشی از حضور باقی‌مانده آنتی‌بیوتیکی در شیر شود (Rassouli et al., 2010).

شیر، به عنوان یک ماده غذایی اصلی در رژیم غذایی روزانه، نقش حیاتی در سلامت جامعه ایفا می‌کند (Al Zuheir., 2012). سازمان جهانی بهداشت و سازمان جهانی خواروبار و کشاورزی و اتحادیه اروپا، بالاترین حد باقی‌مانده تتراسایکلین و اکسی‌تتراسایکلین و کلرتتراسایکلین را در شیر، ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم اعلام کردند (Aalipour et al., 2015).

برای تضمین ایمنی شیر، نیاز به روش‌های دقیق و حساس برای ردیابی و اندازه‌گیری باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی وجود دارد. روش‌های غربالگری مانند تکنیک‌های میکروبی و

ایمونوشیمیایی، و همچنین روش‌های تأییدی مانند کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) و کروماتوگرافی مایع-اسپکترومتري جرمی (LC-MS)، به طور گسترده برای این منظور به کار می‌روند (Gaurav et al., 2011; Elizabeta et al., 2014). کروماتوگرافی مایع به همراه اسپکترومتري جرمی (LC-MS)، بیش‌ترین کاربرد را در سنجش تتراسایکلین‌ها دارد (de Faria et al., 2017). با این حال، تکنیک‌های استفاده از سیستم‌های تشخیصی دیگر، مانند فرابنفش و فلورسنت، هم در تجزیه و تحلیل این آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌شود.

با توجه به مصرف گسترده شیر و فرآورده‌های لبنی در ایران و نبود اطلاعات کافی در مورد وضعیت آلودگی شیرهای محلی به باقی‌مانده‌های دارویی در برخی مناطق، انجام مطالعات بومی ضروری است. تاکنون، هیچ مطالعه‌ای به صورت اختصاصی برای ردیابی کمی بقایای اکسی‌تتراسایکلین در شیرهای خام شهر سمنان انجام نشده است. هدف از این پژوهش، تعیین میزان حضور و غلظت باقی‌مانده‌های اکسی‌تتراسایکلین در نمونه‌های شیر خام جمع‌آوری شده از سطح شهر سمنان در طی فصل پاییز است. این تحقیق می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در مورد ایمنی شیر مصرفی در این منطقه فراهم کرده و به سیاست‌گذاران بهداشتی برای اتخاذ تصمیمات مناسب در جهت کنترل استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در دامداری‌ها کمک کند.

مواد و روش کار

مواد و وسایل مورد نیاز:

اکسی‌تتراسایکلین استاندارد به صورت اکسی‌تتراسایکلین هیدروکلراید (MERCK)، سود NaOH ۰/۱٪ (MERCK)، استونیتریل HPLC-grade (MERCK)، سولفات سدیم (MERCK)، اسیدازالیک (MERCK)، متانول (MERCK).

دستگاه HPLC شامل: پمپ مدل Well Chrome K 1001، آشکارساز UV مدل ۲۶۰۰، ستون C₁₈ مدل Eurospher 100 (ابعاد ۴×۳۰۰ میلی‌متر و اندازه ذرات ۵ میکرومتر)، سیستم تزریق خودکار نمونه مدل TRIATHLON، سیستم مخلوط‌کننده حلال مدل ۱۵۰۰ Well Chrome K و سیستم Online Degaser ساخت شرکت Knauer کشور آلمان.

نحوه جمع‌آوری و نگهداری نمونه‌های شیر:

۳۶ نمونه طی مدت سه ماه (سه بار در هفته، هر بار یک نمونه و به میزان ۱۵ سی سی) در فصل پائیز از سکوی شیر شهر سمنان جمع‌آوری شد و تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد آزمایشگاه فارماکولوژی دانشکده دامپزشکی نگهداری شد. لازم به توضیح است که شیر دامداری‌های مختلف در محل سکوی شیر جمع‌آوری می‌شود.

روش آنالیز نمونه‌های شیر:

سنجش ترکیبات موردنظر، شامل مراحل استخراج نمونه و سنجش با دستگاه HPLC می‌باشد قبل از تعیین مقدار اکسی‌تتراسایکلین در نمونه‌های واقعی، ابتدا راه‌اندازی روش HPLC و معتبرسازی آن صورت گرفت. برای این منظور غلظت‌های متفاوت اکسی‌تتراسایکلین برحسب میکروگرم بر میلی‌لیتر (۰، ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰) به یک سی‌سی شیر اضافه گردید (Spike) و مراحل استخراج و کروماتوگرافی، بر روی نمونه‌های دارای مقادیر مشخص اکسی‌تتراسایکلین، انجام شد. سپس ترکیب اکسی‌تتراسایکلین با روش فاز مایع-مایع از شیر جدا شده و نمونه قابل تزریق به دستگاه HPLC فراهم گردید. در مرحله دوم با استفاده از دستگاه HPLC، نمونه‌های استخراج شده آنالیز شدند.

برای تهیه محلول استوک اکسی‌تتراسایکلین ۱۰ میلی‌گرم از این دارو به وسیله آب مقطر دیونیزه به حجم ۱۰ سی‌سی رسانده شد و محلول استوک با غلظت یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر برای آن بدست آمد و در داخل فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. از آنجایی‌که تتراسایکلین‌ها آنتی‌بیوتیک‌هایی ناپایدار هستند و غالباً در حضور نور تغییر رنگ می‌دهند (از رنگ زرد به رنگ قهوه‌ای)، در نتیجه لوله‌های حاوی محلول استوک در داخل فویل آلومینیومی نگهداری شدند (Boatto et al., 1999).

روش استخراج نمونه‌ها:

در لوله آزمایش یک میلی‌لیتر از شیر ریخته شد و سپس به آن ۱۰۰ میکرولیتر محلول سود ۰/۱ درصد اضافه شد. بعد از ورتکس کردن، ۱/۵ میلی‌لیتر استونیتریل به آن اضافه و دوباره عمل ورتکس انجام شد و به مدت پنج دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور سانتیفریوژ صورت گرفت. سپس همه محلول رویی بدست آمده در لوله‌ای تمیز ریخته شد و یک میلی‌لیتر محلول اشباع سولفات سدیم به آن اضافه گردید.

بعد از گذشت چند دقیقه از فاز جدید تشکیل شده ۳۰۰ میکرولیتر برداشته و در اپندورف گذاشته شد و در نهایت ۶۰۰ میکرولیتر از بافر اسیدآگزالیک، به ترکیب اضافه شد.

مشخصات روش کروماتوگرافی مورد استفاده:

فاز متحرک شامل مخلوط استونیتریل- بافر ۰/۱ مولار اسید آگزالیک (با نسبت ۲۰ به ۸۰)، با pH برابر ۷ بود. حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر و ستون مورد استفاده C₁₈ بود. میزان جریان، یک میلی‌لیتر بر دقیقه بود که با دتکتور UV در طول موج ۳۵۵ نانومتر ردیابی شد، همچنین از برنامه نرم‌افزاری Chromgate (Knauer) برای کنترل سیستم و جمع‌آوری اطلاعات استفاده گردید.

منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظت انتخاب شده بر اساس سطح زیر منحنی رسم و محاسبه شد. خطی بودن نتایج حاصل از روش آنالیز که به صورت ضریب تعیین (r^2) ملاحظه می‌شود، بالاتر از ۰/۹۹ بدست آمد. منحنی کالیبراسیون نمونه‌های شیر spike شده برای بدست آوردن غلظت‌های ناشناخته در نمونه‌های واقعی استفاده گردید. بر اساس معادله خط منحنی کالیبراسیون، رابطه خطی $Y = ax + b$ برقرار شد. در این معادله Y نشان دهنده پاسخ دستگاه یا peak area از داروی اکسی‌تتراسایکلین و x نشان دهنده غلظت آن در نمونه است. همچنین a شیب خط و b عرض از مبدأ می‌باشد.

بعد از انجام مراحل استخراج و کروماتوگرافی نمونه‌های شیر، غلظت داروی اکسی‌تتراسایکلین در آن‌ها بر اساس سطح زیر منحنی کروماتوگرام‌های مربوطه و با استفاده از منحنی کالیبراسیون، محاسبه و ثبت گردید.

نتایج

نتایج مربوط به تنظیم و اعتبارسنجی

(Validation) سیستم HPLC

زمان‌های بازداری (Retention Times) برای باقی‌مانده‌های اکسی‌تتراسایکلین ۶ دقیقه به دست آمد. خطی بودن (Linearity) و معادلات منحنی کالیبراسیون اکسی‌تتراسایکلین در محدوده غلظتی ۵۰ تا ۲۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر به صورت $Y = 10.6X + 78.4$ و با ضریب تعیین (r^2) برابر با ۰/۹۹۶ مشاهده شد.

حد تشخیص (LOD) و حد کمی‌سازی (LOQ) برای آنالیز اکسی‌تتراسایکلین به ترتیب ۰/۰۳۳۳۰۱ و ۰/۱۰۷۶۷ ppm تعیین شد. صحت (Precision) روش برای آنالیز

عواقب نامطلوبی برای انسان، از جمله واکنش‌های آلرژیک، اثرات سرطان‌زایی و مقاومت میکروبی شود (Dasenaki et al., 2010; Shalaby et al., 2011).

این نتایج در راستای برخی مطالعات مشابه در سراسر جهان است که به بررسی باقی‌مانده‌های تتراسایکلین در شیر پرداخته‌اند. برای مثال، Kaale و همکاران (۲۰۰۸) در تانزانیا با استفاده از روش HPLC، دو نمونه از ۷۰ نمونه شیر خام را از نظر وجود اکسی‌تتراسایکلین مثبت گزارش کردند. به همین ترتیب، Abbasi و همکاران (۲۰۱۱) در اردبیل، ۲۵/۴ درصد از نمونه‌های شیرهای مورد بررسی (اعم از خام، پاستوریزه و استریلیزه) را آلوده به باقی‌مانده تتراسایکلین یافتند. علاوه بر این، Rassouli و همکاران (۲۰۱۰) در تهران، هفت نمونه از ۹۰ نمونه شیر پاستوریزه را حاوی باقی‌مانده تتراسایکلین دانستند. Dabbagh و Moghaddam و همکاران (۲۰۱۴) نیز در مطالعه‌ای مشابه در تهران، ۸/۹۳ درصد از نمونه‌های شیر پاستوریزه را حاوی باقی‌مانده تتراسایکلین بیش از حد مجاز گزارش کردند. نتایج این پژوهش‌ها، اهمیت نظارت مستمر بر سلامت شیر را در مناطق مختلف ایران و جهان تأیید می‌کند.

در مقایسه، برخی مطالعات دیگر نتایج متفاوتی را نشان می‌دهند. برای مثال، Mamani و همکاران (۲۰۰۹) در برزیل گزارش دادند که غلظت باقی‌مانده تتراسایکلین و سولفانامیدها در شیر گاو، زیر حداکثر حد مجاز (MRL) بوده است. این تفاوت در نتایج می‌تواند به دلیل عوامل مختلفی از جمله تفاوت‌های منطقه‌ای در سیاست‌های دامپزشکی، نوع و میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، و روش‌های نمونه‌برداری و آنالیز باشد.

با این حال، نتایج مطالعه حاضر به این نکته مهم اشاره دارد که از میان ۳۶ نمونه شیر خام بررسی‌شده، تنها یک نمونه حاوی باقی‌مانده اکسی‌تتراسایکلین با غلظتی بالاتر از حداکثر مقدار مجاز (MRL) تعیین‌شده توسط سازمان‌های بین‌المللی (۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم) بود (جدول ۱). این یافته، در مقایسه با مطالعاتی که نرخ‌های شیوع بالاتری را گزارش کرده‌اند (مانند Kimera et al., 2015) در تانزانیا و Kaya & Filazi, 2010 در ترکیه)، حاکی از وضعیت نسبتاً مطلوب و کنترل‌شده باقی‌مانده‌های دارویی در شیرهای خام شهر سمنان است. با وجود این، حتی وجود

اکسی‌تتراسایکلین به صورت ضریب تغییرات (CV%) بین روزها به ترتیب ۳٪ تا ۶٪ گزارش شد.

میزان باقی‌مانده‌های اکسی‌تتراسایکلین در شیر

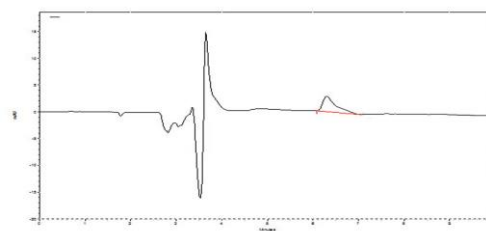
نتایج نشان داد که اکسی‌تتراسایکلین در همه نمونه‌ها کم‌تر از بیش‌ترین حد مجاز باقی‌مانده (MRL) که ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد (Aalipour et al., 2015)، بدست آمد. به جز یک مورد (نمونه شماره ۱۱) که مقدار آن ۱/۰۰۱۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر شد و با توجه به منحنی کالیبراسیون بالاتر از حد مجاز بود. مقادیر باقی‌مانده اکسی‌تتراسایکلین در نمونه‌های شیر در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- مقدار بقایای اکسی‌تتراسایکلین در ۳۶ نمونه شیر جمع‌آوری شده از سکوهای شیر شهر سمنان (میکروگرم بر میلی‌لیتر)

شماره نمونه	غلظت اکسی‌تتراسایکلین
۱-۸	LLQ
۹-۱۰	LLQ
۱۱	۱/۰۰۱۳
۱۲-۲۵	LLQ
۲۶	۰/۰۹
۲۶-۳۰	LLQ
۳۱-۳۶	LLQ

Lower than Limit of Quantification)

(LLQ)؛ کمتر از حد کمی‌سازی روش آنالیز است؛ یعنی غلظت ماده در این نمونه آن‌قدر پایین است که نمی‌توان مقدار دقیق آن را با اطمینان گزارش کرد.



شکل ۱- کروماتوگرام اکسی‌تتراسایکلین در نمونه شیر شماره ۱۱

بحث

مطالعه حاضر با هدف تعیین میزان باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی تتراسایکلین در شیر خام منطقه سمنان انجام شد و نتایج نشان داد که ۲/۸ درصد از نمونه‌های جمع‌آوری شده در فصل پاییز، حاوی اکسی‌تتراسایکلین با غلظتی بالاتر از حد مجاز بودند. این یافته حاکی از یک چالش بالقوه در حوزه سلامت عمومی است، چرا که حضور باقی‌مانده‌های دارویی در محصولات لبنی می‌تواند منجر به

یک نمونه آلوده، بر اهمیت نظارت مستمر و سخت‌گیرانه بر مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در دامداری‌ها تأکید می‌کند.

حضور باقی‌مانده‌های آنتی‌بیوتیکی در شیر، هرچند با شیوع پایین، همچنان یک خطر بالقوه برای سلامت عمومی به شمار می‌رود. اکسی‌تتراسایکلین به عنوان یکی از پرکاربردترین آنتی‌بیوتیک‌ها در دامپزشکی، می‌تواند در صورت ورود به زنجیره غذایی، پیامدهایی نامطلوب از جمله واکنش‌های آلرژیک، اختلال در فلور میکروبی روده، و مهم‌تر از همه، افزایش مقاومت دارویی در باکتری‌ها را به دنبال داشته باشد. با توجه به مصرف روزافزون شیر و فرآورده‌های لبنی، و با هدف تضمین ایمنی و سلامت غذایی، ضروری است که اقدامات پیشگیرانه و نظارتی به صورت جدی‌تری دنبال شوند. به منظور کاهش حداکثری حضور باقی‌مانده‌های دارویی در شیر، پیشنهاد می‌شود:

۱. **آموزش دامداران:** افزایش آگاهی دامداران نسبت به مصرف صحیح و مسئولانه آنتی‌بیوتیک‌ها، رعایت دقیق دوره پرهیز از مصرف (Withdrawal Period) دارو پس از درمان، و استفاده از روش‌های جایگزین برای پیشگیری از بیماری‌ها.

۲. **نظارت و کنترل مستمر:** اجرای برنامه‌های نظارتی منظم و تصادفی برای نمونه‌برداری و آزمایش شیر خام در سطح دامداری‌ها و مراکز جمع‌آوری.

۳. **تدوین و اجرای قوانین سخت‌گیرانه‌تر:** وضع مقررات دقیق‌تر در مورد فروش و توزیع آنتی‌بیوتیک‌ها در دامپزشکی و نظارت بر اجرای آن‌ها.

مطالعه حاضر با وجود ارائه اطلاعات ارزشمند، با محدودیت‌هایی مواجه بود که تفسیر و تعمیم نتایج را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از جمله محدودیت‌های کلیدی این تحقیق می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱. **محدودیت زمانی (فصلی):** نمونه‌برداری تنها در طی فصل پاییز انجام شد. از آنجایی که الگوی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و بروز بیماری‌های دامی ممکن است در فصول مختلف سال متغیر باشد، این محدودیت فصلی می‌تواند تصویری جامع از وضعیت سالانه باقی‌مانده‌ها ارائه ندهد.

۲. **حجم نمونه محدود:** تعداد نمونه‌های شیر خام مورد بررسی (۳۶ نمونه) نسبتاً اندک بوده است. این حجم نمونه کوچک ممکن است قدرت آماری و قابلیت تعمیم‌پذیری نتایج به کل جمعیت دامداری‌های منطقه را کاهش دهد.

۳. **طیف محدود آنالیت‌ها:** پژوهش صرفاً بر روی باقی‌مانده اکسی‌تتراسایکلین تمرکز داشت و سایر آنتی‌بیوتیک‌های پرمصرف در صنعت دامپروری مورد بررسی قرار نگرفتند.

نتیجه‌گیری

این مطالعه به عنوان اولین گام برای بررسی وضعیت باقی‌مانده‌های اکسی‌تتراسایکلین در شیرهای خام شهر سمنان، اطلاعات ارزشمندی را فراهم می‌کند. یافته‌های ما نشان داد که شیوع آلودگی با غلظت‌های فراتر از حد مجاز بسیار پایین (۲/۸٪) است. این امر وضعیت نسبتاً قابل قبولی را در منطقه سمنان نشان می‌دهد، هرچند وجود تنها یک نمونه آلوده نیز بر لزوم حفظ و تقویت نظارت‌های کیفی تأکید می‌کند تا ایمنی مصرف‌کنندگان به طور کامل تضمین شود. تکرار این پژوهش در فصول مختلف سال و بررسی سایر آنتی‌بیوتیک‌های پرمصرف، می‌تواند دیدگاه جامع‌تری نسبت به وضعیت ایمنی شیر در این منطقه ارائه دهد. این اقدامات در نهایت به حفاظت از سلامت مصرف‌کنندگان و ارتقای کیفیت محصولات لبنی کمک خواهند کرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله، از زحمات و حمایت‌های بی‌دریغ کارشناسان و اعضای محترم هیئت علمی گروه‌های علوم پایه و بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان که در طول انجام این پژوهش، راهنمایی‌های ارزشمندی را ارائه دادند، صمیمانه سپاسگزاری می‌شود. همچنین، از آقای دکتر شمس به پاس حمایت‌های علمی و معنوی ایشان کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تعارض منافع

نویسندگان اظهار می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافع مالی یا غیرمالی با سازمان‌ها یا افرادی که ممکن است از نتایج این تحقیق منتفع شوند، ندارند. این پژوهش بدون هیچ‌گونه حمایت مالی خارجی انجام شده و نویسندگان کاملاً به استقلال علمی خود متعهد هستند.

مشارکت های نویسندگان

نعیمی: طراحی مطالعه، مدیریت و آنالیز داده ها، نوشتن پیش نویس
علیزاده: جمع آوری و آنالیز نمونه ها، نوشتن پیش نویس
جلی: مدیریت داده ها، آنالیز، نوشتن پیش نویس
رسولی: مشاوره و راهنمایی در آنالیز نمونه ها
تمام نویسندگان پیش نویس را مطالعه و تایید کرده اند.

منابع مالی

این پژوهش مربوط به پایان نامه دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی بوده و توسط دانشگاه سمنان حمایت مالی شده است.

References

- Aalipour, F., Mirlohi, M., Jalali, M., & Azadbakht, L. (2015). Dietary exposure to tetracycline residues through milk consumption in Iran. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 13(1), 80.
- Abbasi, M. M., Babaei, H., & Ansarin, M. (2011). Simultaneous determination of tetracyclines residues in bovine milk samples by solid phase extraction and HPLC-FL method. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 1(1), 34.
- Al Zuheir, I. M. (2012). Detection of β -lactams and tetracyclines antimicrobial residues in raw dairy milk for human consumption in Palestine. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*, 9(3), 277-279.
- Boatto, G., Pau, A., Palomba, M., Arenare, L., & Cerri, R. (1999). Monitoring of oxytetracycline in ovine milk by high-performance liquid chromatography. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 20(1), 321-326.
- Cinquina, A., Longo, F., Anastasi, G., Giannetti, L., & Cozzani, R. (2003). Validation of a high-performance liquid chromatography method for the determination of oxytetracycline, tetracycline, chlortetracycline and doxycycline in bovine milk and muscle. *Journal of Chromatography A*, 987(1), 227-233.
- Dabbagh Moghaddam, A., Tayebi, L., Falahatpisheh, H., Mahmoudian, M., Kowsari, N., Akbarein, H., & Sabzikar, A. (2014). Evaluation of the tetracycline residues in pasteurized milks distributed in Tehran by HPLC method. *J Army Univ Med Sci*, 11(4), 318-323.
- Dasenaki, M. E., & Thomaidis, N. S. (2010). Multi-residue determination of seventeen sulfonamides and five tetracyclines in fish tissue using a multi-stage LC-ESI-MS/MS approach based on advanced mass spectrometric techniques. *Analytica chimica acta*, 672(1), 93-102.
- de Faria, H. D., Rosa, M. A., Silveira, A. T., & Figueiredo, E. C. (2017). Direct extraction of tetracyclines from bovine milk using restricted access carbon nanotubes in a column switching liquid chromatography system. *Food Chemistry*, 225, 98-106.
- Elizabeta, D. S., Zehra, H. M., Biljana, S. D., Pavle, S., & Risto, U. (2011). Screening of veterinary drug residues in milk from individual farms in Macedonia. *Mac. Vet. Rev*, 34(1), 5-13.
- Gaurav, A., Gill, J. P. S., Aulakh, R. S., & Bedi, J. S. (2014). ELISA based monitoring and analysis of tetracycline residues in cattle milk in various districts of Punjab. *Veterinary World*, 7(1), 26-29.
- Kaale, E., Chambuso, M., & Kitwala, J. (2008). Analysis of residual oxytetracycline in fresh milk using polymer reversed-phase column. *Food chemistry*, 107(3), 1289-1293.
- Kaya, S. E., & Filazi, A. (2010). Determination of antibiotic residues in milk samples. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16(Suppl-A), S31-S35.
- Kimera, Z. I., Mdegela, R. H., Mhaiki, C. J. N., Karimuribo, E. D., Mabiki, F., Nonga, H. E., et al. (2015). Determination of oxytetracycline residues in cattle meat marketed in the Kilosa district, Tanzania. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 82(1), 01-05.
- Mamani, M. C. V., Reyes, F. G. R., & Rath, S. (2009). Multiresidue determination of tetracyclines, sulphonamides and chloramphenicol in bovine milk using HPLC-DAD. *Food Chemistry*, 117(3), 545-552.
- Masawat, P., & Slater, J. M. (2007). The determination of tetracycline residues in food using a disposable screen-printed gold electrode (SPGE). *Sensors and Actuators B Chemical*, 124(1), 127-132.
- Nebot, C., Guarddon, M., Seco, F., Iglesias, A., Miranda, J. M., Franco, C. M., et al. (2014). Monitoring the presence of residues of tetracyclines in baby food samples by HPLC-MS/MS. *Food Control*, 46, 495-501.
- Pena, A., Lino, C. M., Alonso, R., & Barcelo, D. (2007). Determination of tetracycline antibiotic residues in edible swine tissues by liquid chromatography with spectrofluorometric detection and confirmation by mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem*, 55, 4973-4979.
- Rassouli, A., Abdolmaleki, Z., Bokaei, S., Kamkar, A., & Shams, G. R. (2010). A cross-sectional study on oxytetracycline and tetracycline residues in pasteurized milk supplied in tehran by an HPLC method. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 4(1).
- Saleh, S. M. K., Mussaed, A. M., & Al-Hariri, F. M. (2016). Determination of Tetracycline and Oxytetracycline Residues in Honey by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Agricultural Science and Technology B*, 6, 135-139.

Shalaby, A. R., Salama, N. A., Abou-Raya, S. H., Emam, W. H., & Mehaya, F. M. (2011). Validation of HPLC method for determination of tetracycline residues in chicken meat and liver. *Food Chemistry*, 124(4), 1660-1666.