مجله سلامت و محیط زیست، فصلنامه‌ی علمی پژوهشی
انجمن علمی بهداشت محیط ایران
دوره شانزدهم ، شماره اول، بهار ۱۴۰۲، صفحات ۸۵ تا ۹۶

Available online: https://ijhe.tums.ac.ir
مقاله پژوهشی

اثرات تماس طولانی مدت بقایای آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین بر مقاومت در برابر استرس و ترکیبات بیوشیمیایی بدن میگوی پاسفیدغربی

عطیه شریفی[۱]، مسلم دلیری[۱،۲،*]، محمد نیرومند[۱]، سیدعلیرضا سبحانی[۳]، مسلم شریفی‌نیا[۴]

۱- گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
۲- هسته پژوهشی مدیریت شیلات و توسعه پایدار اکوسیستم دریایی، معاونت پژوهش و فناوری، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
۳- گروه آسیب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی هرمزگان، بندرعباس، ایران
۴- پژوهشکده میگو کشور، موسسه تحقیقات و علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بوشهر، ایران

اطلاعات مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۰
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۳/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۰۸
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۳/۲۹

واژگان کلیدی: آلودگی دارویی، آلاینده‌های نوظهور، بوم‌سم‌شناسی، سلامت محیط‌زیست، آبزیان

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
Daliri@hormozgan.ac.ir
moslem.daliri@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: حضور بقایای ترکیبات فعال دارویی (به ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها) در طبیعت، می‌تواند برای سلامت محیط‌زیست و جامعه انسانی بسیار خطرآفرین باشد. تحقیق حاضر با هدف ارزیابی اثرات تماس طولانی‌مدت غلظت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین موجود در محیط پرورشی بر مقاومت در برابر استرس محیطی و ترکیبات بیوشیمیایی در بدن میگوی پاسفید غربی *(P. vannamei)* انجام شد.

روش بررسی: در قالب یک طرح کاملاً تصادفی تعداد ۶۰۰ قطعه میگو با میانگین (± انحراف‌معیار) وزن ۰/۳۷ ± ۹/۲۸ g و طول کل ۱/۷۷ ± ۹/۲۳ cm در چهار تیمار آزمایشی فاقد آلودگی آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین در محیط پرورشی (تیمار کنترل یا ۱) و سه تیمار دیگر با غلظت‌های ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ µg/L آنتی‌بیوتیک موجود در آب (به ترتیب تیمارهای ۲، ۳ و ۴) و در سه تکرار به مدت ۶۰ روز مورد آزمایش قرار گرفتند. در پایان آزمایش، از هر تیمار ۵ نمونه میگو برای آزمایش ترکیبات بیوشیمیایی لاشه (پروتئین، چربی، رطوبت و خاکستر) نمونه‌برداری شد. همچنین تعداد ۱۰ عدد میگو از هر تیمار نیز به‌طور تصادفی انتخاب و در ظروف‌های پلاستیکی با گنجایش ۵۰ L به مدت ۴۸ h تحت استرس شوری ۵۰ ppt قرار گرفتند و در پایان میزان بازماندگی محاسبه شد.

یافته‌ها: نتایج آزمایش ترکیبات بیوشیمیایی بدن نشان داد که مقادیر درصد رطوبت و پروتئین لاشه در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>0/05$). سطح چربی لاشه به طور کلی در تیمارهای تحت آلودگی آنتی‌بیوتیک نسبت به تیمار کنترل افزایش یافت، اما این افزایش فقط برای تیمار ۲ (با مقدار ۵/۵۰±۲۹/۳۰) معنی‌دار بود ($p<0/05$). درصد خاکستر نیز به ترتیب در تیمارهای کنترل و تیمار ۴ کمترین مقدار را داشت که از نظر آماری با مقادیر تیمارهای ۲ و ۳ متفاوت بود ($p<0/05$). بیشترین میزان بازماندگی میگوها تحت شرایط مواجهه با استرس شوری نیز در تیمارهای ۲ و ۳ (با مقدار ۹۵ درصد) و کمترین مقدار نیز در تیمار ۴ (با مقدار ۷۰ درصد) مشاهده شد که به طور کلی با تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری داشتند ($p<0/01$).

نتیجه‌گیری: وجود بقایای آلودگی آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین در دوزهای بالا (حتی در کوتاه مدت) می‌تواند بر میزان مقاومت طبیعی میگو در برابر استرس محیطی تأثیر منفی داشته باشد که این ممکن است به دلیل ایجاد اختلال در سوخت‌وساز ترکیبات پروتئین و چربی در بدن باشد.

Please cite this article as: Sharifi A, Daliri M, Niroumand M, Sobhani SAR, Sharifinia M. Effects of long-term exposure to amoxicillin residues on stress resistance and body compositions of Penaeus vannamei. Iranian Journal of Health and Environment. 2023;16(1):85-96.

Copyright © 2023 Iranian Association of Environmental Health, and Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.20082029.1402.16.1.6.2]

مقدمه

امروزه ترکیبات دارویی به عنوان گروهی از آلاینده‌های نوظهور ((Emerging contaminants (ECs) که طیف وسیعی از مواد شیمیایی با ساختارها، عملکردها و اثرگذاری‌های مختلف هستند (۱-۳) در اکوسیستم‌های آبی به شمار می‌آیند که آلودگی‌های نشأت گرفته از این ترکیبات به یکی از نگرانی‌های جدید و جدی فعالان محیط‌زیست و سازمان‌های حامی سلامت جامعه انسانی تبدیل شده است (۴). منبع اصلی ورود این ریزآلاینده‌های آلی به طبیعت (آب و خاک) فاضلاب تصفیه شده یا نشده است، چرا که فرایندهای متداول تصفیه فاضلاب قادر به حذف همه داروها از پساب آلوده به آنها نیست (۵) و حتی طبق تحقیقات انجام شده خروجی پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب همواره حاوی بقایای ترکیبات دارویی هستند که آنها را مستقیماً در محیط آزاد می‌کنند (۶).

محققین اکوتوکسیکولوژیست (Eco-Toxicologist) در سالیان اخیر به طور مداوم درباره اثرات سوء این نوع آلاینده‌ها بر موجودات آبزی غیرهدف هشدار داده‌اند. برای نمونه گزارش شده است که تماس مداوم موجودات آبزی با بقایای فعال ترکیبات دارویی علی‌الخصوص آنتی‌بیوتیک‌ها (حتی در غلظت‌های بسیار پایین در حد نانوگرم یا میکروگرم) ممکن است منجر به تجمیع ترکیب اصلی (یا متابولیت‌های آنها و یا هر دو) در بافت‌های این موجودات شود و نهایتاً این بر سلامت انسان (به عنوان مصرف‌کننده نهایی در زنجیره غذایی) اثرات نامطلوبی (مانند واکنش‌های آلرژیک) خواهد گذاشت و یا اینکه وجود این ترکیبات به واسطه افزایش جمعیت باکتری‌های مقاوم و حفظ فشار انتخابی روی جمعیت میکروارگانیسم‌ها می‌تواند عملکرد اکوسیستم‌های طبیعی را دچار اختلال کند (۷). از جمله دیگر پیامدهای منفی این آلاینده‌ها اختلال در غدد درون‌ریز ماهیان، تأثیرات منفی بر تکامل جنینی و رشد لاروی (۸)، اختلالات فیزیولوژیک و مورفولوژیک در موجودات به دلیل محدود شدن تکثیر و رشد سلولی (۹) و آسیب به ژنوم (۱۰) است. به عنوان مثال Oliveira و همکاران (۲۰۱۳) (۱۱) با بررسی اثرات آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین بر تخم‌های لقاح یافته و افراد بالغ یک گونه ماهی Zebra با نـام علـمی *Danio rerio* (Hamilton, 1822) بیان می‌کنند که در مرحله جنینی و لاروی اثرات مشاهده شده شامل هچ زودرس، بروز ناهنجاری‌هایی مانند تورم (Edema) و تغییر شکل در باله دمی و رشد غیرطبیعی ماهی‌ها شده اما در بالغین فعالیت‌های طبیعی آنزیمی دچار تغییر و نوسان می‌شود. البته گفته می‌شود که تخلیه پسماند ترکیـبات آنتـی‌بیوتـیک‌ها تا محـدوده ۱۰۰ ng/L می‌تواند بر عملکرد اکوسیستم و همچنین خطر افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در طبیعت تأثیر معنی‌داری نداشته باشد (۱۲).

در میان گروه‌های مختلف محصولات دارویی، آنتی‌بیوتیک‌ها از پرکاربردترین آنها هستند، به طوری که تخمین زده شده است که میزان مصرف سالانه آنتی‌بیوتیک در سراسر جهان بین ۲۰۰-۱۰۰ هزار تن است (۱۳)، در حالی که پژوهش‌ها نشان می‌دهد آنتی‌بیوتیک‌ها پس از مصرف در بدن انسان به طـور کـامـل متابولیز نمی‌شوند و حدود ۹۰-۳۰ درصد آنها پس از دفع بـه صورت فعال باقی می‌مانند. از این رو می‌توان نتیجه گرفت که سالانه حداقل بین ۱۸۰،۰۰۰-۳۰،۰۰۰ ton آنتی‌بیوتیک فعال وارد محیط زیست می‌شود (۱۴). البته این را هم باید خاطر نشان کرد که از آنجا که فقط تعداد معدودی از کشورها میزان مصرف خود را به طور دقیق ثبت و به سازمان بهداشت جهانی گزارش می‌کنند، حتی این آمارها هم واقعی نیست و به احتمال زیاد میزان مصرف بیش از اینها باشد (۱۵). در بین آنتی‌بیوتیک‌ها، آموکسی‌سیلین (AMX) که یک داروی نیمه‌سنتتیک و جزء آنتی‌بیوتیک‌های گروه پنی‌سیلین است، به واسطه اثربخشی در برابر عفونت‌های ناشی از طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی رایج‌ترین و پرمصرف‌ترین آنتی‌بیوتیک در بسیاری از کشورهای جهان است (۱۶، ۱۷). فرمول و جرم مولکولی این آنتی‌بیوتیک $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ و ۳۶۵/۴ g/mol است و برای اولین بار در سال ۱۹۹۸ با نام تجاری آموکسی‌سیلین، آموکسیل و تیموکس به فروش رسید.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1402.16.1.6.2]

تاکنون گزارش‌های مختلفی از اقصی نقاط دنیا درباره ورود بقایای فعال آموکسی‌سیلین به اکوسیستم‌های آبی منتشر شده است (جدول ۱) که میزان ورود این آلاینده به اکوسیستم ساحلی خلیج‌فارس (از طریق تخلیه فاضلاب شهری بندرعباس) تاکنون بیشترین مقدار گزارش شده بوده که از نظر اکولوژیک برای اکوسیستم و جامعه انسانی ریسک بسیار بالایی دارد (۱۸).

جدول ۱- مقادیر گزارش شده بقایای فعال آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین در منابع آبی مختلف در سراسر جهان

کشور/منطقه		منبع آبی	غلظت	مرجع
ایتالیا	تورین	پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب	٤/٧٤	(۱۹)
	پالرمو		۱۲۰/ ۳۵	
انگلیس	مرثایرتدفیل	آب سطحی	٤٩ – ٣٩	(۲۰)
	ریفُرست		١٤٥– ١٩٨	
	ایستیت			
	کاردیف		٦٠ –٥٠	
استرالیا	–	فاضلاب تصفیه نشده	۲۸۰	(۲۱)
	بریزبن	پساب تصفیه‌خانه‌های شهری	۳۰	
اسپانیا	–	آب سطحی	۲۰۰	(۲۲)
		فاضلاب شهری	١٦٧٠	
ایران	بندرعباس	پساب فاضلاب شهری	٤٤٠/٣–٢٣٠ *	(۱۸)

* غلظت گزارش شده در خروجی پساب فاضلاب شهری بندرعباس به دریا بر حسب µg/L است، در حالی که سایر مقادیر بر حسب ng/L است.

طبق گزارشات پیشین فاضلاب شهری بندرعباس تقریباً با حجمی بین L/S ۵۰۰-۷۰۰ به اکوسیستم ساحلی خلیج‌فارس تخلیه می‌شود (۲۳، ۲۴) که با حجم بالای آلودگی بقایای فعال آموکسی‌سیلین در آن می‌تواند سلامت اکوسیستم خلیج‌فارس را به طور جدی تهدید کند. بنابراین، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی نسبی از اثرات بوم‌سم‌شناسی (Ecotoxicology) این نوع از آلودگی بر سلامت موجودات آبزی منطقه طرح‌ریزی شد و برای این منظور گونه میگوی پاسفید غربی با نام علمی *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) به عنوان نمونه جانوری آزمایش انتخاب گردید و ترکیبات بیوشیمیایی لاشه بدن و مقاومت در برابر استرس آن در شرایط تماس طولانی مدت با غلظت‌های مختلف آلودگی مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

_ خصوصیات کلی طرح آزمایش

یک دوره آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به مدت ۶۰ روز (از آذر ماه تا بهمن ۱۴۰۰) طراحی و انجام شد. تعداد ۶۰۰ عدد میگوی پاسفیدغربی (*P. vannamei*) با میانگین وزن ۹/۲۸±۰/۳۷ g و طول کل ۹/۲۳±۱/۷۷ cm به طور تصادفی

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1402.16.1.6.2]

در سه تیمار از غلظت‌های مختلف آلودگی بقایای آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین (۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ µg/L) و یک تیمار کنترل (فاقد آلودگی) ذخیره‌سازی شد و تیمارها در ۳ تکرار آزمایش شدند. در ابتدا محل‌های آزمایش (تعداد ۱۲ تانک ۳۰۰ L) با هیپوکلریت سدیم ضدعفونی و به میزان ۱۸۰ L آبگیری شدند. به دلیل استرس احتمالی وارد شده به میگوها حین انتقال و کاهش میل به غذا، غذادهی و افزودن غلظت‌های مختلف آلودگی آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین به تیمارهای موردنظر بعد از گذشت چهار روز انجام شد (۲۵). برای اینکه تغییرات فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب محیط پرورشی تأثیری بر نتایج آزمایش نداشته باشد، فاکتورهای دما، شوری، اکسیژن محلول و pH آب در طول دوره آزمایش با استفاده از دستگاه مولتی‌متر اندازه‌گیری شد که متوسط مقادیر آنها در جدول ۲ آورده شده است. همچنین هر سه روز یکبار تقریباً ۵۰ تا ۶۰ درصد آب محیط پرورشی از طریق سیفون کردن مواد غذایی خورده نشده، مدفوع و احیاناً پوسته تعویض شد.

جدول ۲- میانگین (± انحراف معیار) پارامترهای فیزیکوشیمیایی آب در طول دوره آزمایش

آماره	فاکتورهای فیزیکوشیمیایی آب			
	دما (°C)	اکسیژن (mg/L)	شوری (ppt)	pH
میانگین (± انحراف معیار)	۳۲/۰±۲/۰	۵/۸±۰/٤	۳٦/۵±۰/۵	۸/۰±۱/۱

در پایان ۶۰ روز آزمایش، تعداد ۵ عدد میگو از هر تانک برای آزمایش بیوشیمیایی لاشه (شامل درصد رطوبت، خاکستر، پروتئین خام و چربی خام) نمونه‌برداری شد و پس از سرکنی و پوست‌کنی در پلاستیک‌های زیپ‌دار قرار داده و لیبل‌گذاری شدند و بلافاصله در فریزر با دمای ۲۰- °C تا زمان انجام آزمایش قرار گرفتند. همچنین از هر تیمار تعداد ۱۰ عدد میگو به‌طور تصادفی انتخاب و در ظرف‌های پلاستیکی با گنجایش ۵۰ L تحت آزمایش تست استرس شوری ۵۰ ppt قرار داده شدند. برای دست‌یابی به شوری مورد نظر، آب شور با افزودن کلریدسدیم (NaCl) در مخازن ذخیره آب شور تامین گردید و به تدریج به تانک‌های هر تیمار اضافه شد. بعد از اینکه شوری به تدریج به ۵۰ ppt رسانده شد، میگوها به مدت ۴۸ h در معرض این شوری قرار گرفتند و در پایان تعداد تلفات میگوها در هر تیمار ثبت شد و درصد بازماندگی (%SR) با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد:

$$SR\% = \frac{\text{تعداد میگوهای زنده در پایان آزمایش}}{\text{تعداد میگوها در شروع آزمایش}} \times 100 \quad (۱)$$

_اندازه‌گیری ترکیبات بیوشیمیایی بدن

برای اندازه‌گیری رطوبت، ابتدا ۱۵ عدد فویل با اندازه‌های تقریباً مساوی تهیه و شماره‌گذاری شدند. سپس از هر تکرار ۵ عدد لاشه میگو (که از قبل سرکنی و پوست‌کنی شده و با سرم فیزیولوژی شستشو داده شده بودند) به صورت جداگانه با استفاده از ترازوی دیجیتال آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۱ g توزین شدند. در ادامه لاشه با قیچی تمیز به قطعات کوچک‌تر تبدیل شد و در فویل‌های مربوطه قرار گرفت و مجدداً وزن نمونه‌ها به همراه فویل اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۴ h داخل آون با دمای ۶۰ °C گذاشته شد تا نمونه‌ها به یک وزن ثابت برسند و برای اندازه‌گیری رطوبت خشک شوند. نمونه‌ها پس از خشک شدن مجدداً توزین شدند و میزان رطوبت (%W) با استفاده از معادله ۲ محاسبه گردید (۲۶):

$$W\% = \frac{n}{m} \times 100 \quad (۲)$$

n: کاهش وزن بر حسب g، m: وزن اولیه نمونه بر حسب g

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1402.16.1.6.2]

برای سنجش خاکستر نیز ۲ g از پودر لاشه میگوها داخل بوته‌چینی‌هایی که از قبل وزن شده بودند، ریخته شد و بوته‌ها در کوره الکتریکی (مدل TPA 13258) با حرارت ۵۵۰ °C به مدت ۴/۵ h حرارت دیدند. در نهایت وزن بوته‌ها پس از سرد شدن مجدداً اندازه‌گیری شد و درصد خاکستر لاشه (A%) با استفاده از معادله ۳ بدست آمد (۲۶):

$$A\% = \frac{(m_2 - m_1)}{m_0} \times 100 \qquad (۳)$$

m_2: وزن بوته و خاکستر بر حسب g، m_1: وزن بوته بر حسب g، m_0: وزن نمونه بر حسب g

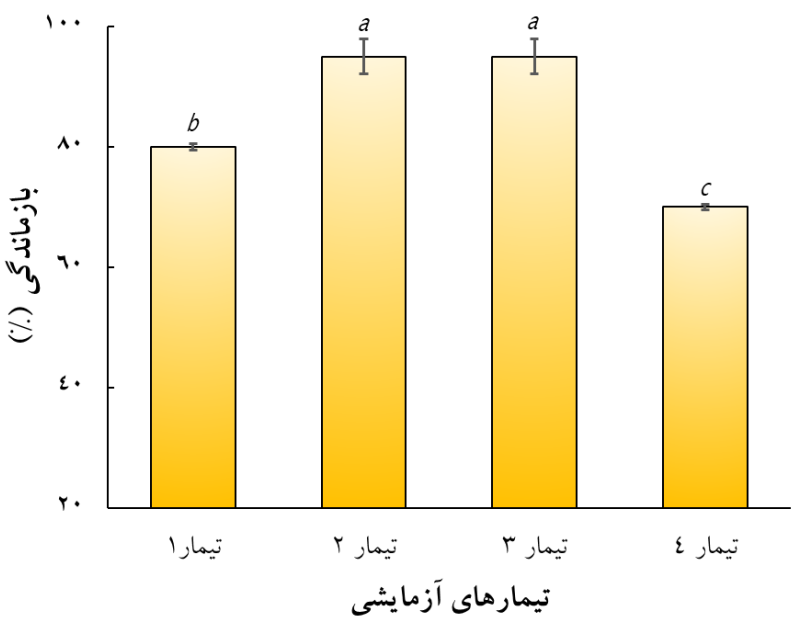
میزان سنجش پروتئین نمونه‌ها به روش کجلدال (۲۶) از طریق دستگاه کجلدال اتوماتیک Kjeltec Analyzer Unit 2300 انجام شد. تعیین میزان چربی نیز به روش سوکسله (۲۶) و دستگاه Soxtec صورت گرفت.

_ تجزیه و تحلیل داده‌ها

در ابتدا برای بررسی نرمالیته داده‌ها و همگنی واریانس‌ها از آزمون‌های آماری Shapiro–Wilk و Levene استفاده شد. در صورت عدم احراز نرمالیته داده‌ها در بررسی‌های اولیه، داده‌ها به ریشه لگاریتمی تبدیل شدند و مجدداً تست نرمالیته اعمال گردید. با توجه به توزیع نرمال داده‌ها، مقایسه میانگین گروه‌ها به کمک آزمون One-Way ANOVA (analysis of variance) و تست تعقیبی Tukey در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. آنالیز داده‌ها به کمک برنامه‌های آماری Excel و SPSS 23 انجام گردید.

یافته‌ها

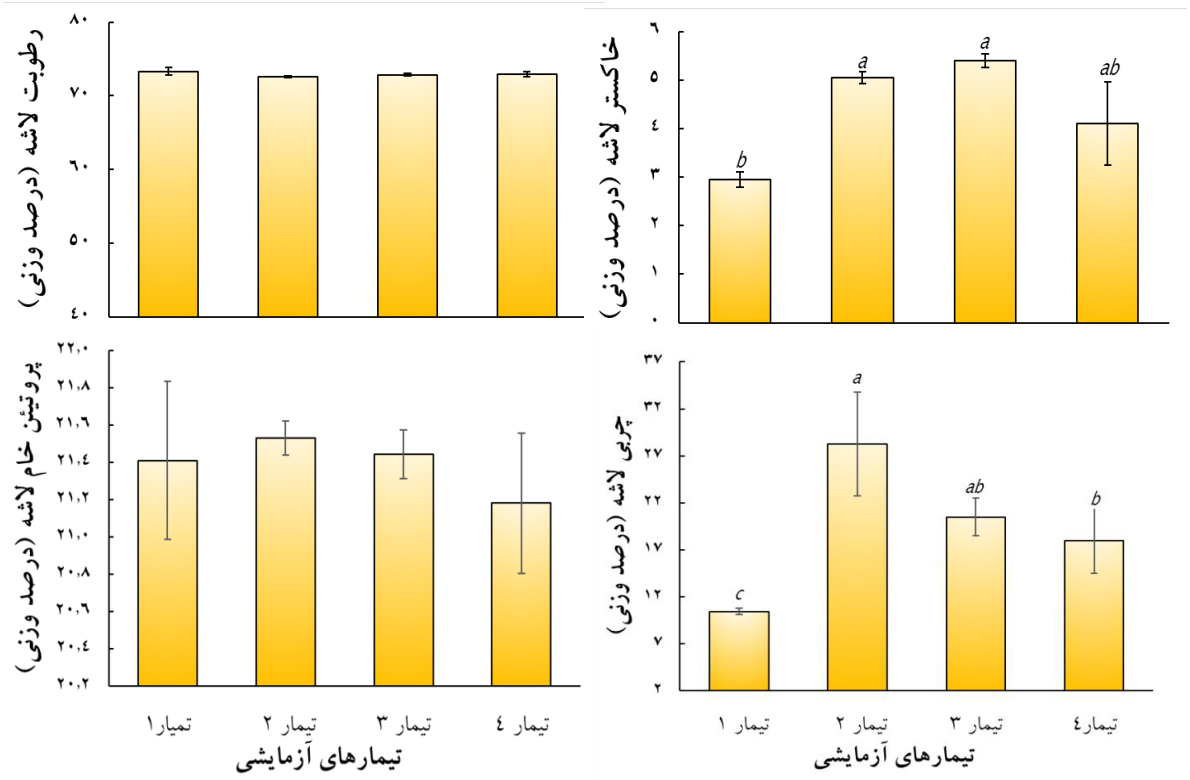
در پایان آزمایش استرس شوری، کمترین درصد بازماندگی میگوها در تیمار ۴ (غلظت ۵۰۰ µg/L) با مقدار ۰/۵±۷۰/۰ و بیشترین مقدار آن در تیمارهای ۲ و ۳ (غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰۰ µg/L) با مقدار ۰/۳±۹۵/۰ مشاهده شد. همانطور که در نمودار ۱ نشان داده شده است درصد بازماندگی میگوها در برابر استرس شوری در تیمارهای مورد بررسی تفاوت معنی‌داری داشت به طوری که تا یک حدی با افزایش دوز آنتی‌بیوتیک در محیط پرورشی میزان مقاومت میگو در برابر استرس افزایش می‌یابد، اما به یکباره مقاومت میگوها حتی نسبت به تیمار کنترل نیز کاهش می‌یابد (p=۰/۰۰ و f=۳۶/۰۰).



نمودار ۱- درصد بازماندگی میگوهای تحت غلظت‌های مختلف آلودگی بقایای آموکسی سیلین (بر حسب µg/L) پس از آزمایش استرس شوری ۵۰ ppt (حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار میان گروه‌های آزمایشی است)

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1402.16.1.6.2]

نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی لاشه میگوهای تحت تیمارهای مختلف آلودگی آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین در نمودار ۲ نیز نشان داده شده است. درصد رطوبت و پروتئین خام لاشه بدن میگوها در تیمارهای مورد آزمایش، اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (p>۰/۰۵) در حالی که بیشترین و کمترین مقدار درصد رطوبت لاشه در تیمارهای ۱ (کنترل) و ۲ (۱۰۰ µg/L) به ترتیب با مقادیر ۰/۵۱±۷۳/۳۱ و ۰/۱۲±۷۲/۵۳ مشاهده شد. اختلاف مقادیر پروتئین خام لاشه میگوهای تحت تیمارهای آزمایشی نیز معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵). در مقابل، پارامتر خاکستر لاشه با میانگین (± انحراف‌معیار) ۰/۱۵±۲/۹۵ درصد کمترین مقدار را در میگوهای تیمار ۱ (کنترل) داشت که اختلاف آن با تیمارهای ۲ (۰/۱۳ ± ۵/۰۵) و ۳ (۰/۱۵ ± ۵/۴۰) معنی‌دار بود (p=۰/۰۲ و f=۶/۰۱). همچنین فاکتور چربی لاشه در میگوهای تحت آلودگی بقایای آنتی‌بیوتیک به طور کلی نسبت به تیمار شاهد افزایش داشت (p=۰/۰۲ و f=۵/۴۳)، به نحوی که بیشترین و کمترین مقادیر به ترتیب با ۵/۵ ± ۲۸/۲۹ و ۳/۰ ± ۱۰/۴۵ درصد در تیمارهای ۲ و کنترل مشاهده شد.



نمودار ۲- ترکیبات بیوشیمیایی لاشه بدن میگوهای تحت آزمایش دوزهای مختلف آلودگی آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین در تحقیق حاضر (حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار میان گروه‌های آزمایشی است)

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1402.16.1.6.2]

بحث

در تحقیق حاضر درصد بازماندگی میگوها تحت تیمارهای مختلف آزمایشی پس از اعمال شرایط استرس شوری در حضور مقادیر ۱۰۰ و ۳۰۰ µg/L بقایای آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین موجود در محیط پرورشی نسبت به تیمار کنترل افزایش داشت، اما با افزایش دوز به ۵۰۰ µg/L میزان بازماندگی حتی کمتر از تیمار کنترل شد. استرس‌های محیطی می‌تواند متابولیسم، سیستم ایمنی، توان تولیدمثلی، پوست‌اندازی و بقای میگوها را تحت تاثیر قرار دهد (۲۷، ۲۸). شوری یکی از مهمترین عوامل غیرزیستی تأثیرگذار بر رشد و بقای جانداران آبزی است و این عامل در اکوسیستم‌های آبی بعنوان عامل محدودکننده بوده و یکی از اصلی‌ترین متغیرهای محیطی است که در تعیین پراکنش بی‌مهرگان نقش مهمی دارد. معمولاً در شوری‌های نامطلوب، بدن میگوی پاسفیدغربی (*P. vannamei*) دچار اختلال در فرایندهای فیزیولوژیک می‌شود که نتیجه آن تضعیف سیستم ایمنی و افزایش حساسیت به عوامل بیماری‌زا است (۲۹). نتایج این تحقیق نشان داد که درصد بازماندگی میگوها در حضور بقایای آنتی‌بیوتیک در محیط پرورشی تا یک حدی (غلظت ۳۰۰ µg/L) به‌طور معنی‌داری (نسبت به تیمار کنترل) افزایش می‌یابد، اما بعد از آن به یکباره کاهش می‌یابد. نتایج به دست آمده تا حدودی با پژوهش‌های مشابه در تطابق است، به طوری که *Gonzalez-ortegon* و همکاران (۲۰۱۳) (۱) اثرات سه ترکیب دارویی دیکلوفناک سدیم، اسید کلوفیبریک و کلوتریمازول را در دماها و شوری‌های مختلف بر رشد و بقا لاروهای میگوی آب لب‌شور *Palaemon serratus* (Pennant, 1777) مورد بررسی قرار دادند و بیان نمودند که کلوتریمازول بر خلاف دیکلوفناک سدیم و اسیدکلوفیبریک بر میزان رشد و بقا لاروها اثرات منفی داشته و حتی این تأثیر تحت استرس اسمزی به شدت تقویت می‌شود. همچنین در تحقیق دیگری اثرات سه سطح از داروهای ایبوپروفن و آموکسی‌سیلین بر دو گونه روتیفر آب شیرین (*Brachionus calyciflorus* و *Brachionus havanaensis*) مورد ارزیابی قرار گرفته که نتایج آن نشان می‌دهد افزایش غلظت این داروها بر بقا و تولیدمثل روتیفرها به طور معنی داری تأثیر منفی داشته و حتی آموکسی‌سیلین در مقایسه با ایبوپروفن اثرات نامطلوب‌تری روی هر دو گونه روتیفر ایجاد کرده است (۳۰). با یک نگاه کلی می توان بیان کرد که در این مطالعه، الگوی پروتئین لاشه با بازماندگی در برابر استرس شوری تقریباً مشابه است. زمانی که آبزی در معرض استرس شوری قرار می‌گیرد سعی می‌کند از طریق برقراری تعادل اسمزی بر این شرایط غلبه کند. استرس اسمزی یک فرایند انرژی خواه است و اولین منبع انرژی برای غلبه بر استرس در آبزیان، پروتئین است. پروتئین نسبت به سایر منابع انرژی (مثل چربی) سریع‌تر وارد چرخه کربس شده و انرژی مورد نیاز برای غلبه بر استرس را فراهم می‌کند (۳۱، ۳۲). بنابراین کمتر بودن میزان پروتئین در تیمار ۴ به واسطه حضور آنتی بیوتیک، شاید دلیل پایین بودن میزان بازماندگی میگوها در برابر استرس شوری باشد. این نتیجه نشان می‌دهد که حضور آنتی‌بیوتیک می‌تواند میزان مقاومت طبیعی میگو در برابر استرس‌های محیطی را تحت تأثیر قرار دهد و در دوزهای بسیار کم و البته مداوم به صورت مقطعی باعث افزایش مقاومت بدن شود، اما در دوزهای بالاتر بر میزان بازماندگی اثرات منفی بگذارد. البته برای تأیید این فرضیه باید آزمایش‌های مشابه دیگری انجام داد و اثر حضور آنتی‌بیوتیک در بازه‌های زمانی مختلف زندگی میگوی پاسفید غربی را سنجید.

نتایج حاصل از آنالیز ترکیبات بیوشیمیایی لاشه میگوهای تحت تیمارهای مختلف آلودگی آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین برای فاکتور درصد رطوبت لاشه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد، اما درخصوص خاکستر تیمارهایی که در معرض آنتی‌بیوتیک قرار گرفته بودند حاوی مقدار خاکستر بیشتری بودند. با توجه به ساختار مولکولی آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین که همانطور که گفته شد فرمول شیمیایی آن $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ است، چنین تصور می‌شود که احتمالاً بالاتر بودن میزان خاکستر (یا همان مواد معدنی) در لاشه میگوهایی که در معرض این آنتی بیوتیک

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1402.16.1.6.2]

قرار گرفته بودند ناشی از تجمع و رسوب آنتی بیوتیک باشد. از طرفی دیگر، ممکن است حضور آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین موجب افزایش سایر مواد معدنی در لاشه میگو نیز شده باشد. درخصوص چربی لاشه نیز میزان چربی تیمارهایی که در معرض آنتی بیوتیک قرار گرفته بودند از تیمار شاهد بالاتر بود. از جمله اثرات جانبی که آموکسی سیلین بر بدن موجودات و انسان دارد سیاه شدن ادرار، زرد شدن پوست، تغییرات در خون و ایجاد مشکلاتی برای کبد است (۳۳)، بنابراین با نگاهی گذرا به این اثرات می‌توان فهمید آموکسی‌سیلین بر عملکرد کبد تأثیر دارد. لذا با توجه به اینکه کلیه مراحل مربوط به متابولیسم چربی در کبد صورت می‌گیرد (۳۱)، نتایج آزمایش حاضر می‌تواند بیانگر این مطلب باشد که حضور آموکسی‌سیلین باعث اختلال در سوخت و ساز چربی‌ها در هپاتوپانکراس و به تبع آن انباشت چربی در لاشه شود. بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که پروتئین به جای چربی برای تولید انرژی می‌سوزد و به میزان مناسب صرف رشد و یا ترمیم بدن نمی‌شود. برای بررسی دقیق این فرضیه نیز می بایست پروفیل اسیدهای چرب لاشه مورد بررسی قرار گیرد و سپس به یک جمع‌بندی مستدل رسید. البته عوامل متعددی از قبیل گونه، سن موجود، نوع جیره و فصول می‌توانند بر ترکیبات بدن میگو اثرگذار باشند. چربی و پروتئین هر دو بعنوان اصلی‌ترین ذخایر مواد غذایی به‌شمار می‌روند. پروتئین مهمترین ترکیب در بافت عضله بدن میگو است و چربی همچنین اصلی‌ترین منبع بدن برای تولید انرژی است (میزان انرژی آن بیش از پروتئین و کربوهیدرات است) (۳۴). در این مطالعه مشاهده گردید که میزان چربی لاشه در تیمار ۴ نسبت به تیمار شاهد بیشتر است اما میزان بازماندگی میگوهای این تیمار در برابر استرس شوری از تیمار شاهد کمتر است، که احتمالاً به این دلیل بوده که چربی انباشته شده در لاشه میگو به هنگام اعمال استرس شوری به طور مناسب صرف تولید انرژی نشده و این امر ممکن است به واسطه تأثیر دوز بالای آنتی بیوتیک باشد. به نظر می‌رسد میزان آلاینده و مدت زمان تماس مزمن موجود زنده با آن از جمله عوامل موثر بر ایجاد تغییر در ترکیبات بدن میگو باشد و پیشنهاد می‌شود در آینده با انجام آزمایش‌هایی با دوره متفاوت و دوزهای آلودگی متغیر به بررسی تأثیر این دو متغیر بر موجودات آبزی بیشتر پرداخته شود. در پایان باید خاطر نشان کرد که در تحقیق حاضر به دلیل محدودیت در منابع مالی، آزمایش‌های سنجش تجمع زیستی بقایای آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین و پروفیل اسیدهای چرب در بدن میگوهای در معرض آلودگی انجام نشد که پیشنهاد می‌شود سایر محققین در پژوهش‌های آتی به این موارد توجه ویژه نمایند.

نتیجه‌گیری

طبق گزارش‌ها به طور مستمر حجم بالایی از بقایای فعال آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین از طریق رهاسازی پساب فاضلاب شهری به اکوسیستم ساحلی و دریایی خلیج‌فارس در حال ورود است (۱۸) که می‌تواند اثرات سوء بسیار جدی بر سلامت اکوسیستم، موجودات آبزی غیرهدف و نهایتاً جامعه انسانی داشته باشد. یافته‌های تحقیق حاضر نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار در میزان چربی و خاکستر لاشه و همچنین کاهش میزان مقاومت در برابر استرس میگوهایی بود که در معرض غلظت آزمایشی بالاتر قرار داشتند. بنابراین نتایج موجود می‌تواند موید این باشد که حضور بقایای آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین در محیط (حتی در غلظت‌های بسیار کم در حد µg/L) بر روند طبیعی بدن میگو تأثیر منفی می‌گذارد که البته شدت این تأثیرات قطعاً تحت تأثیر میزان آلودگی و مدت زمان تماس با آلاینده متفاوت است و نیاز است در این زمینه تحقیقات بیشتری در منطقه خلیج فارس انجام شود.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان کلیه نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند. تحقیق حاضر تأییدیه کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان با کد IR.HUMS.REC.1401.318 را دارد.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-07-16]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1402.16.1.6.2]

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل (بخشی از) پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد با عنوان "بررسی اثرات بوم‌سم‌شناسی بقایای آنتی‌بیوتیک آموکسی‌سیلین بر عملکرد رشد و سیستم ایمنی میگوی پاسفیدغربی" در رشته شیلات-گرایش بوم‌شناسی آبزیان (در سال ۱۴۰۱ و با کد ۱۶۸۹۰) است که با حمایت دانشگاه هرمزگان به اجرا رسیده است.

References

1. González-Ortegón E, Blasco J, Le Vay L, Giménez L. A multiple stressor approach to study the toxicity and sub-lethal effects of pharmaceutical compounds on the larval development of a marine invertebrate. Journal of Hazardous Materials. 2013;263:233-38.
2. Al Qarni H, Collier P, O'Keeffe J, Akunna J. Investigating the removal of some pharmaceutical compounds in hospital wastewater treatment plants operating in Saudi Arabia. Environmental Science and Pollution Research. 2016;23:13003-14.
3. Togola A, Budzinski H. Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples. Journal of Chromatography a. 2008;1177(1):150-58.
4. Kairigo P, Ngumba E, Sundberg L-R, Gachanja A, Tuhkanen T. Contamination of surface water and river sediments by antibiotic and antiretroviral drug cocktails in low and middle-income countries: occurrence, risk and mitigation strategies. Water. 2020;12(5):1376.
5. Kondor AC, Molnár É, Vancsik A, Filep T, Szeberényi J, Szabó L, et al. Occurrence and health risk assessment of pharmaceutically active compounds in riverbank filtrated drinking water. Journal of Water Process Engineering. 2021;41:102039.
6. Kümmerer K. Significance of antibiotics in the environment. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2003;52(1):5-7.
7. Ben Y, Fu C, Hu M, Liu L, Wong MH, Zheng C. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review. Environmental Research. 2019;169:483-93.
8. Dalecka B, Strods M, Cacivkins P, Ziverte E, Rajarao GK, Juhna T. Removal of pharmaceutical compounds from municipal wastewater by bioaugmentation with fungi: an emerging strategy using fluidized bed pelleted bioreactor. Environmental Advances. 2021;5:100086.
9. Pomati F, Castiglioni S, Zuccato E, Fanelli R, Vigetti D, Rossetti C, et al. Effects of a complex mixture of therapeutic drugs at environmental levels on human embryonic cells. Environmental Science & Technology. 2006;40(7):2442-47.
10. Naghdi M, Taheran M, Brar SK, Kermanshahi-Pour A, Verma M, Surampalli RY. Removal of pharmaceutical compounds in water and wastewater using fungal oxidoreductase enzymes. Environmental Pollution. 2018;234:190-213.
11. Oliveira R, McDonough S, Ladewig JC, Soares AM, Nogueira AJ, Domingues I. Effects of oxytetracycline and amoxicillin on development and biomarkers activities of zebrafish (Danio rerio).

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.20082029.1402.16.1.6.2]

Environmental toxicology and Pharmacology. 2013;36(3):903-12.

12. Le Page G, Gunnarsson L, Snape J, Tyler CR. Integrating human and environmental health in antibiotic risk assessment: a critical analysis of protection goals, species sensitivity and antimicrobial resistance. Environment International. 2017;109:155-69.

13. Githinji LJ, Musey MK, Ankumah RO. Evaluation of the fate of ciprofloxacin and amoxicillin in domestic wastewater. Water, Air, & Soil Pollution. 2011;219:191-201.

14. Michael I, Rizzo L, McArdell C, Manaia C, Merlin C, Schwartz T, et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: a review. Water Research. 2013;47(3):957-95.

15. Verlicchi P, Al Aukidy M, Zambello E. Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment—a review. Science of The Total Environment. 2012;429:123-55.

16. Chowdhury J, Mandal TK, Mondal S. Genotoxic impact of emerging contaminant amoxicillin residue on zebra fish (Danio rerio) embryos. Heliyon. 2020;6(11):e05379.

17. Chaba JM, Nomngongo PN. Effective adsorptive removal of amoxicillin from aqueous solutions and wastewater samples using zinc oxide coated carbon nanofiber composite. Emerging Contaminants. 2019;5:143-49.

18. Daliri M, Martinez-Morcillo S, Sharifinia M, Javdan G, Keshavarzifard M. Occurrence and ecological risk assessment of antibiotic residues in urban wastewater discharged into the coastal environment of the Persian Gulf (the case of Bandar Abbas). Environmental Monitoring and Assessment. 2022;194(12):905.

19. Castiglioni S, Bagnati R, Calamari D, Fanelli R, Zuccato E. A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters. Journal of Chromatography A. 2005;1092(2):206-15.

20. Kasprzyk-Hordern B, Dinsdale RM, Guwy AJ. Multi-residue method for the determination of basic/neutral pharmaceuticals and illicit drugs in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography–positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A. 2007;1161(1-2):132-45.

21. Watkinson A, Murby E, Costanzo S. Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: implications for environmental discharge and wastewater recycling. Water Research. 2007;41(18):4164-76.

22. Fatta-Kassinos D, Meric S, Nikolaou A. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2011;399:251-75.

23. Naji A, Azadkhah S, Farahani H, Uddin S, Khan FR. Microplastics in wastewater outlets of Bandar Abbas city (Iran): A potential point source of microplastics into the Persian Gulf. Chemosphere. 2021;262:128039.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.20082029.1402.16.1.6.2]

24. Daliri M, Javdan G, Sharifinia M. Erythromycin residues concentration in urban wastewater discharged into the Persian Gulf marine environment (a case study: Bandar Abbas city). Iranian Journal of Health and Environment. 2021;14(3):399-412.(in Persian)

25. Javahery S, Noori A, Hoseinifar SH. Growth performance, immune response, and digestive enzyme activity in Pacific white shrimp, Penaeus vannamei Boone, 1931, fed dietary microbial lysozyme. Fish & Shellfish Immunology. 2019;92:528-35.

26. Horwitz W. Official methods of analysis of AOAC International. Volume I, agricultural chemicals, contaminants, drugs/edited by William Horwitz: Gaithersburg (Maryland): AOAC International, 1997.; 2010.

27. Moullac Gl, Groumellec Ml, Ansquer D, Froissard S, Levy P. Haematological and phenoloxidase activity changes in the shrimp Penaeus stylirostris in relation with the moult cycle: protection against vibriosis. Fish and Shellfish Immunology (United Kingdom). 1997.

28. Chen J-C, Lin M-N, Ting Y-Y, Lin J-N. Survival, haemolymph osmolality and tissue water of Penaeus chinensis juveniles acclimated to different salinity and temperature levels. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology. 1995;110(3):253-58.

29. Li M, Xin M, Guo C, Lin G, Wu X. New nanomicelle curcumin formulation for ocular delivery: improved stability, solubility, and ocular anti-inflammatory treatment. Drug Development and Industrial Pharmacy. 2017;43(11):1846-57.

30. González-Pérez BK, Sarma S, Nandini S. Effects of selected pharmaceuticals (ibuprofen and amoxicillin) on the demography of Brachionus calyciflorus and Brachionus havanaensis (Rotifera). The Egyptian Journal of Aquatic Research. 2016;42(3):341-47.

31. Halver JE, Hardy RW. Nutrient flow and retention. Fish nutrition: Elsevier; 2003. p. 755-70.

32. Wilson RP, Halver JE. Protein and amino acid requirements of fishes. Annual Review of Nutrition. 1986;6(1):225-44.

33. Gresser U. Amoxicillin-clavulanic acid therapy may be associated with severe side effects-review of the literature. European Journal Of Medical Research. 2001;6(4):139-49.

34. Guillaume J, Kaushik S, Bergot P, Metailler R. Nutrition and feeding of fish and crustaceans: Springer Science & Business Media; 2001.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.20082029.1402.16.1.6.2]

Available online: https://ijhe.tums.ac.ir

Orginal Article

Effects of long-term exposure to amoxicillin residues on stress resistance and body compositions of *Penaeus vannamei*

Atiyeh Sharifi[1], Moslem Daliri[1,2,*], Mohammad Niroumand[1], S. Ali Reza Sobhani[3], Moslem Sharifinia[4]

1- Fisheries Department, Faculty of Marine Sciences and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran
2- Research Department of Fisheries Management and Sustainable Development of Marine Ecosystem, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran
3- Pathology Department, Faculty of Medicine, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran
4- Shrimp Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Bushehr, Iran

ARTICLE INFORMATION:

Received: 11 March 2023
Revised: 23 May 2023
Accepted: 29 May 2023
Published: 19 June 2023

Keywords: Pharmaceutical pollution, Emerging contaminants, Ecotoxicology, Environmental health, Aquatics

***Corresponding Author:**
Daliri@hormozgan.ac.ir
moslem.daliri@yahoo.com

ABSTRACT

Background and Objective: Occurrence of the pharmaceutical active residues (particularly antibiotics) threatens the health of the environment and human society. Therefore, this research aimed to investigate the impacts of the Amoxicillin (AMX) residues on resistance to environmental stress and biochemical compositions of the body in *Penaeus vannamei*.

Materials and Methods: Six-hundred specimens with a mean (±SD) weight and total length of 9.23±1.77 g and 9.28±0.73 cm were randomly experimented in four triplicate treatments, namely T_1(control): without AMX residues in a rearing environment, T_2: 100 µg/L AMX residues concentration in water, T_3: 300 µg/L and T_4: 500 µg/L for 60 days. At the end of the experimental trial, five specimens for biochemical body composition analyses were separately sampled. Ten shrimps from each treatment were also randomly selected and exposed to 50 ppt salinity stress for 48 hours, and then survival rates were computed.

Results: Body composition analyses showed that moisture and protein not differed among the treatments ($p>0.05$), while fat in T_2 (28.29±5.50) was significantly more than in others ($p<0.05$). The lowest values of ash were obtained in T_1 and T_4, and they differed with T_2 and T_3 ($p<0.05$). The highest survival rate of shrimps exposed to salinity stress (50 ppt in 48 h) was observed in T_2 and T_3, in contrast, the lowest value was recorded for T_4 ($p<0.01$).

Conclusion: Findings of the present research indicate that the occurrence of high doses of AMX residues pollution in the rearing water affects the stress resistance of *P. vannamei* which can be due to disruption of protein and fat metabolisms in the shrimp body.

Please cite this article as: Sharifi A, Daliri M, Niroumand M, Sobhani SAR, Sharifinia M. Effects of long-term exposure to amoxicillin residues on stress resistance and body compositions of Penaeus vannamei. Iranian Journal of Health and Environment. 2023;16(1):85-96.

Copyright © 2023 Iranian Association of Environmental Health, and Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Noncommercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from ijhe.tums.ac.ir on 2024-07-16]

[DOR: 20.1001.1.20082029.1402.16.1.6.2]