الكشف عن ثمالات الدوكسي سايكلين والفلورفنيكول في عضلات الفروج من محلات بيع الفروج للمستهلك في مدينة اللاذقية (سورية)

Detection of Doxycycline and Florfenicol residues in broiler muscles from markets that sell broiler to the consumer in Latakia– Syria

م. عبد اللطيف شريف [1] أ. د. علي نيصافي [2] أ. د. توفيق دلّا [2] د. عبد الكريم حلّاق[3]

Abdullatif Charif [1] Dr. Ali Nisafi [2] Dr. Tawfik Dalla[2] Dr. Abdulkarim Hallak[3]

(1) طالب دكتوراه، قسم الانتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة تشرين، سورية.

(1) PhD student, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Syria.

(2) قسم الانتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة تشرين، سورية.

(2) Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Syria.

(3) مديرية الصحة الحيوانية في وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دمشق، سورية.

(2) Animal Health Directorate of the Ministry of Agriculture and Agrarian Reform, Damascus, Syria.

الملخص

يعد لحم الفروج من أهم مصادر اللحوم الشعبية الغنية بالعناصر الغذائية ما يجعل من تلبيته للشروط الصحية أمراً ذا أهمية كبيرة. هدفت الدراسة الى تحديد ثمالات الدوكسي سايكلين (Doxycycline) والفلورفنيكول (Florfenicol) في لحوم الفروج (عضلات الصدر والفخذ) لتقدير أمان الاستهلاك البشري لهذه اللحوم. جمعت 192 عينة عشوائية من عضلات صدر وفخذ الفروج من أسواق مدينة اللاذقية خلال جميع أشهر عام 2018، وتم استخلاصها وتحليلها في مخابر وزارة الزراعة بدمشق باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC). بينت النتائج وجود مستويات عالية من الدوكسي سايكلين تراوحت بين 8.58-433.82 وللفلورفنيكول تراوحت بين 5.4- 965.11 مكغ/كغ، واحتوت 79.2% من العينات ثمالات من الدوكسي سايكلين و62.5 % منها ثمالات من الفلورفنيكول، وتجاوزت 29.17 و37.5 % من العينات الإجمالية الحد الأقصى المسموح به من ثمالات الدوكسي سايكلين والفلورفنيكول، على التوالي. توصي الدراسة بضرورة وجود مراقبة صارمة لمحتوى الصادّات الحيوية في ذبائح الفروج قبل طرحها للاستهلاك البشري.

الكلمات المفتاحيّة: ثمالات- دوكسي سايكلين- فلورفنيكول- عضلات الفروج

Abstract

Broiler meat is one of the most important sources of popular meat rich in nutrients, which makes its compatibility with health conditions of great importance. The study aimed to detect the residues of both Doxycycline and Florfenicol in broiler meat (chest and thigh muscles) to assess the safety of human consumption of these meats. 192 Random samples of broilers breasts and thighs were collected

©2023 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved. **ISSN: 2305-5243; AIF-023 (p: 39 - 50)**

from the markets of Latakia during all months of 2018, and were extracted and analyzed in the laboratories of the Ministry of Agriculture in Damascus using the high-performance liquid chromatography technique (HPLC). The results showed that there were high levels of Doxycycline and Florfenicol in the samples, ranging between 8.58- 433.82 and 5.4- 965.11 µg/kg, and 79.2% of the samples contained residues of Doxycycline and 62.5% of them as residues of Florfenicol. 29.17 And 37.5% of the total samples exceeded the maximum residues limit (MRL) of Doxycycline and Florfenicol, respectively. The study recommends that there should be strict control over the antibiotic content in broiler carcasses before they are put up for human consumption.

Keywords: residues, Doxycycline, Florfenicol, broiler muscles

المقدمة

الصادّات الحيوية Antibiotic هي المواد أو المركبات التي تقتل أو تثبط نمو الجراثيم، وتستعمل في صناعة الدواجن على نطاق واسع للعلاج والوقاية من الإصابات المرضية، وتختلف طريقة إعطائها وحجم جرعاتها تبعاً لمرحلة الإنتاج وخطر الإصابة بالأمراض، فتضاف الى الأعلاف، أو مياه الشرب، أو تعطى عن طريق الحقن، بشكل منفرد كمركب واحد، أو على شكل خليط من مركبات عدّة متنوعة تتآزر مع بعضها البعض لتصبح أكثر فاعلية ضد مجموعة كبيرة من الأمراض، وقد يؤثر استخدام أحدها في فاعلية الأنواع الأخرى، ويحدث شيء من التضاد فيما بينها (Veerapandian وآخرون، 2013).

وتعتبر لحوم الدواجن بديلاً عن اللحوم الحمراء لمواصفاتها الغذائية المتميزة كونها قليلة الدسم وذات نسبة عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة ومستوى منخفض من الكولسترول، ما جعل منها أغذية وظيفية توفّر الكثير من المواد النشطة حيويّاً، إضافة الى طعمها المرغوب وسعرها المناسب لشرائح اجتماعية كبيرة (Givens، 2009). ولتأمين الطلب المتزايد على هذه المنتجات تم استنباط سلالات مهجنة ومحسّنة وراثياً من الدجاج وتأمين الأعلاف المتوازنة والرعاية الحديثة التي توفر الظروف الملائمة وتم إنتاجها ضمن نظم رعاية مكثفة ومثلى وبعمر لا يتجاوز ستة أسابيع، ترافق ذلك مع الاستعمال المكثف لكثير من العقاقير والصادات الحيوية، نتيجةً لفاعليتها العالية في القضاء على عوامل الإصابة بالأمراض (Drew،2011). دون مراعاة لفترة السحب (مدة التوقف عن إعطاء الصادّات قبل الذبح وتكون كافية لاستنفاذ الثمالات داخل اللحوم بشكلٍ كافٍ) أو عدم كفايتها مع استعمال جرعات عالية ما تسبب بزيادة تراكمها في أنسجة الحيوانات المعالجة، وشكّل مخاطر كبيرة على صحة الإنسان قد تكون سمية أو ميكروبيولوجية أو مناعية (Agyare وآخرون، 2018).

تنتمي الصادّات الحيوية المستخدمة لدى الدواجن إلى نفس الفئات العامة لتلك المستخدمة لدى الإنسان، أو أنّ لها نفس طريقة أو آلية العمل، وفي محاولة منها لاحتواء الآثار السلبية لها، وضعت منظمة الصحة العالمية (WHO، 2015) خطة عمل طالبت فيها كل بلد بوضع خطط تتماشى مع إجراءاتها لمراقبة استخدام الصادّات الحيوية كأحد أوجه الاستراتيجيات المتبعة لمنع حدوث المقاومة الدوائية، فتم حظر استعمال بعضها وتقييد استعمال بعضها الآخر، واعتمد حد أقصى لمستوى الثمالات في الأغذية Maximum Residues Limit (MRL) يتوجب التقيد به لضمان غذاء آمن من قبل الاتحاد الأوروبي (EU، 2010/37)، وهيئة المواصفات والمقاييس في سورية (SASMO، 2011/3605) واعتمد المستوى (100 مكغ/كغ) في الاتحاد الأوربي وهيئة المواصفات والمقاييس السورية للدوكسي سايكلين والفلورفنيكول كحد أقصى يتوجب عدم تجاوزه في الأنسجة العضلية للدواجن، وفترة سحب مدتها تسعة أيام للدوكسي سايكلين (Mestorino وآخرون، 2018) وخمسة أيام للفلورفنيكول عند جرعة دوائية 30 ملغ/كغ من وزن الجسم، وسبعة أيام عند جرعة 60 ملغ/كغ (Rasheed وFakhre، 2017).

و**الدوكسي سايكلين (Doxycycline)** صاد حيوي شبه صناعي واسع الطيف مثبط للجراثيم السالبة والموجبة لغرام الهوائية واللاهوائية، يستعمل لعلاج الأمراض التنفسية والهضمية اذ يقوم بتعطيل عملية تخليق بروتين الخلايا الجرثومية (Nguyen، 2014) وهو من أكثر التتراسكلينات كفاءةً لسرعة ذوبانه في الدهون ما يتيح له توافراً بيولوجياً عالياً وتغلغلاً سريعاً في الأنسجة وفترة تخلص أو استنفاذ أطول(Papich وRiviere، 2013). ويتسبب التعرض المستمر له بأضرار كثيرة على الإنسان كزيادة الحساسية للضوء واضطراب الرؤية واعتلال الشبكية والالتهابات الجلدية ومشاكل في الأظافر وضعف المينا (Tooth enamel) عند تعرض الأجنة له في النصف الثاني من الحمل، وتلطخ لون الأسنان لدى البالغين (Tan وآخرون، 2017) وكثير من الاضطرابات الهضمية والعصبية (Lee وآخرون، 2013) إضافة الى المقاومة الدوائية.

أما **الفلورفنيكول (Florfenicol)** فهو صاد حيوي واسع الطيف ضد أنواع مختلفة من الجراثيم السالبة والموجبة لغرام، يمتص بسهولة من الأنسجة وسوائل الجسم بسبب وزنه الجزيئي المنخفض ما يكسبه حركية دوائية متفوقة على كثير من مضادات الجراثيم الأخرى، ينتمي لمجموعة (Amphenicols) ويستعمل لعلاج الأمراض الهضمية والتنفسية وهو نظير هيكلي للتيامفنيكول والكلورامفنيكول تم تطويره بإضافة ذرة فلور (White وآخرون، 2000) ما أكسبه فاعلية أكبر منهما وبجرعات أقل ضد الجراثيم (Paape وآخرون، 1990). ويعمل على تثبيط تخليق البروتين الجرثومي ويختلف عن الكلورامفينيكول بتحقيقه شروط السلامة الصحية ما أدى لاستعماله الواسع لدى الدواجن (Wareham وآخرون، 2002). إلا أن التراكيز العالية منه تتسبب بأضرار كثيرة على صحة الحيوان والإنسان لاسيما سمية الكبد اذ تبين وجود تراكيز عاليه منه في الكبد كونه العضو الرئيس في عمليات استقلاب وإطراح العقاقير من الجسم، وتتسبب هذه التراكيز بتغيرات نسيجية فيه قد تؤثر في الأداء الوظيفي له (Van Dyk وآخرون، 2009).

وأظهرت الكثير من الدراسات وجود ثمالات (Residues) للدوكسي سايكلين في الأنسجة العضلية للفروج بمستويات تفوق في كثير منها الحدود الآمنة، في تركيا (Cetinkaya وآخرون، 2012) اذ أظهرت 6.7% من العينات ايجابية لوجود هذا الصاد. وفي بنغلادش احتوت 26 % من عضلات الصدر و28 % من عضلات الفخذ ثمالات منه (Sarker وآخرون، 2018). وفي الهند أظهرت 14.3% من العينات ايجابية لوجوده (Sahu وSaxena، 2014). بينما احتوت 78.8% من العينات المختبرة على ثمالات منه في لبنان (Jaoudeh وآخرون، 2018) وكذلك احتوت 12% من عينات الصدر و10% من عينات الفخذ ثمالات منه في مصر (Salama وآخرون، 2011). وكذلك بينت الدراسات وجود ثمالات من الفلورفنيكول في عضلات الفروج في الباكستان في 11% من العينات Imran(وآخرون، 2018). وفي دراسة أخرى في 84% منها (Nasim وآخرون، 2016). وتراوحت قيمه بين 0.5- 20 مكغ/كغ في عضلات الفروج في الصين (Zhang وآخرون، 2008). واحتوت 80% من عينات اللحوم على ثمالات منه في الباكستان (Fahim وآخرون، 2018).

هدف البحث الى الكشف عن مستويات الدوكسي سايكلين والفلورفنيكول في عينات عشوائية من لحوم الفروج (دجاج اللحم) المجمّعة من محلات البيع للمستهلك في مدينة اللاذقية، وتقييم مدى أمانها للاستهلاك البشري من خلال مقارنة هذه النتائج بالحد الأقصى للثمالات المحدد من قبل هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية.

مواد البحث وطرائقه

أ-العينات وموقع تنفيذ التجربة

جمعت عينات عشوائية من عضلات الفروج من ذبائح مختلفة من محلات بيع اللحوم من كامل المساحة الجغرافية لمدينة اللاذقية خلال جميع أشهر عام 2018 وفقاً لما يلي:

- 96 عينة صدر و96 عينة فخذ فروج بمعدل ثمان عينات من كل نسيج في كل شهر وعلى امتداد العام
- تم دمج كل أربع عينات صدر مع أربع عينات فخذ من كل شهر مع بعضها البعض لتكون عينة عضلات واحدة (50% صدر و50% فخذ) وليكون عدد العينات التي سيتم تحليلها كل شهر عينتين.
- قسّمت السنة لأربع فترات (أرباع) كل منها ثلاثة أشهر، فيكون عدد العينات التي سيتم تحليلها في كل ربع ست عينات أي 24 عينة خلال العام ولكل صاد.

ما يعطي مؤشراً عن الواقع الصحي للحوم المباعة في أسواق المدينة، على مدى عام كامل يشمل مختلف الظروف البيئية وما يرتبط بها من أمراض تستدعي استخدام الصادّات الحيوية وغيرها من العقاقير، وأن الذبائح التي أخذت منها العينات في أغلبها من انتاج مزارع المحافظة وقد يكون بعضها من انتاج محافظة طرطوس، وتم وضع كل عينة (بعد الدمج) في كيس من النايلون مدعم بآلية إغلاق وحفظها في حافظة مبردة، وإرسالها الى المختبر لتحفظ بحرارة -18 مئوية لحين البدء بعمليات الاستخلاص.

ب-المواد والأجهزة المستخدمة

جميع المحلّات والمواد الكيميائية التي استخدمت في عمليات الاستخلاص والتحليل ذات نقاوة عالية من الصنف (HPLC- grade) تناسب إجراء هذا النوع من التحاليل، وكذلك كانت المواد المعيارية للدوكسي سايكلين وللفلورفنيكول بتركيز 100%. واستخدم جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC الطراز LC20، وتمت عملية الفصل باستخدام العمود C18 ,5 25 cm x 4.6 mm (µm)، وكانت جميع الأجهزة والمعدات المستخدمة ذات دقة عالية وأجريت التحاليل بمخابر مديرية الصحة الحيوانية في وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي بدمشق.

ج-استخلاص وتحليل الدوكسي سايكلين

اتبعت طريقة (AOAC، 1995) وتم تحضير محلولي الاستخلاص McIlvaine Buffer-EDT والشطف Methanolic oxalic acid، وطحن العينة حتى التجانس ثم أخذ منها 5 غ ووضعت في أنبوب التثفيل أضيف اليها 20 مل من محلول الاستخلاص أغلق الأنبوب بالسدادة ووضع على جهاز الرج لمدة 10 دقائق ثم ثفلت العينة على سرعة 2500 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق وأخذ الجزء الطافي ووضع في أنبوب تثفيل آخر سعة 50 مل وكررت العملية على الجزء المتبقي بإضافة 20 مل من محلول الاستخلاص ووضع على جهاز الرج لـ 5 دقائق ثم ثفلت على سرعة 2500 دورة/د وأخذ الجزء الطافي وأضيف الى الجزء السابق، وتم تكرار العملية بإضافة 10 مل من محلول الاستخلاص وبعد التثفيل أضيف الجزء الطافي الى الجزأين السابقين. ورشح المستخلص الناتج بفلتر ترشيح بعد إشباعه بمحلول الاستخلاص للتخلص من أية أجزاء عضوية في محلول العينة.

تمت تنقية مستخلص العينة باستخدام أعمدة فصل بلاستيكية (Cartrage) تحتوي على مادة التنقية (Silica-C18) بعد تنشيطها بتمرير 5 مل ميثانول ثم 5 مل ماء مؤين فيها لاحتجاز الدوكسي سايكلين والتخلص من بقية المواد العضوية ثم مرر الهواء في عمود الفصل وبعد ذلك شطفت بمحلول الشطف وهو حمض ميثانوليك أوكزاليك والذي يعد المادة التي ستخرج الدوكسي سايكلين المحتبسة فيها إن وجدت وذلك بتمرير 6 مل من هذا المحلول عبرها بتدفق 1 مل/دقيقة، وجمع المحلول ببالون سعة 10 مل، ثم أكمل الحجم إلى 10 مل بالماء المؤين ليصبح مستخلص العينة جاهزاً للتحليل على جهاز HPLC. تمت عملية الفصل باستخدام عمود C18 وطور متحرك ناتج عن مزج حمض الأوكزاليك والاسيتونتريل والميثانول (60 و30 و10)، على التوالي، وبتدفق 1 مل/دقيقة ودرجة حرارة 40 مئوية وطول موجة 350 نانومتر، وحضر المحلول المعياري للدوكسي سايكلين بتركيز 50 ميكروغرام/مل.

د-استخلاص وتحليل الفلورفنيكول

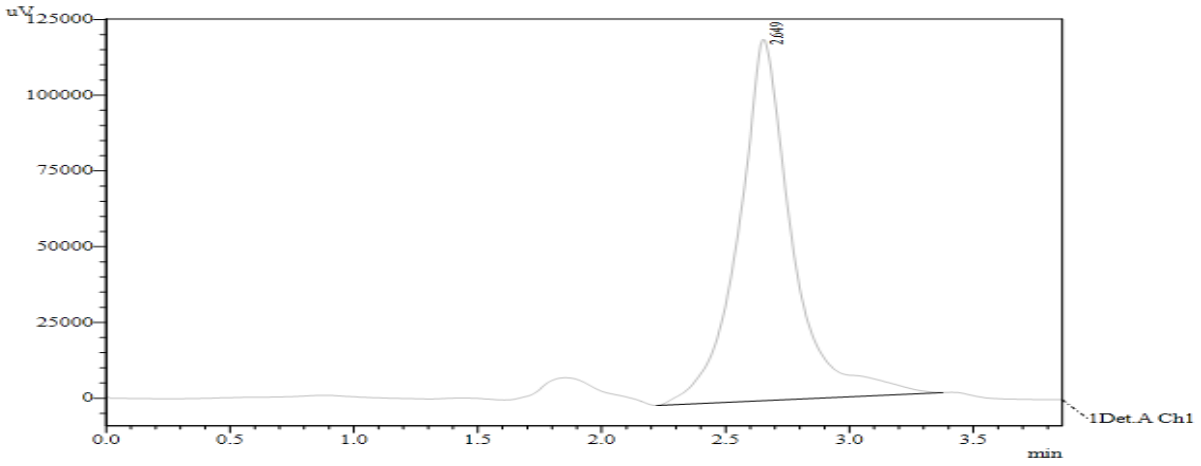
اعتمدت طريقة (Sniegoski آخرون، 2011) فأخذ 5 غ عينة عضلات مطحونة بشكل جيد وضعت في أنبوب تثفيل 50 مل وأضيف اليها 10 مل اثيل أسيتات وتم رجّها بشكل جيد وتثفيلها على سرعة 3500 دورة/دقيقة، أخذت بعد ذلك الطبقة العلوية وتم تبخيرها بغاز النيتروجين، وغسل المتبقي بـ 10 مل ماء مؤين، وأضيف للمحلول 10 مل هكسان لإزالة الدهون مرتين، وتم تمرير الباقي على عمود الفصل المهيأ لذلك بعد تفعيله بتمرير 5 مل ميثانول، ومن ثم 50 مل ماء مؤين من خلاله، ثم مررت العينة وغسل عمود الفصل بـ 6 مل ماء مؤين ثم 30 مل ميثانول 30% وتم شطف العينة بـ 3 مل من الميثانول 60% وتمديدها بـ 5 مل ماء ثم مررت كمية 8 مل من المادة المشطوفة على عمود فصل ثان بعد تفعيله بنفس الطريقة السابقة، وتم شطفها بـ 3 مل ميثانول لتصبح العينة جاهزة للحقن في جهاز HPLC. تمت عملية الفصل (التحليل) باستخدام عمود C18 وطور متحرك ناتج عن مزج ثلاثة محاليل هي الميثانول والماء وحمض الخل (45 و55 و0.1) بتدفق 1 مل/دقيقة، ودرجة حرارة عمود 40 مئوية، وطول موجة 224 نانومتر، وتم تحضير المحلول المعياري للفلورفنيكول تركيز 50 ميكروغرام/مل.

هـ-التحليل على جهاز HPLC

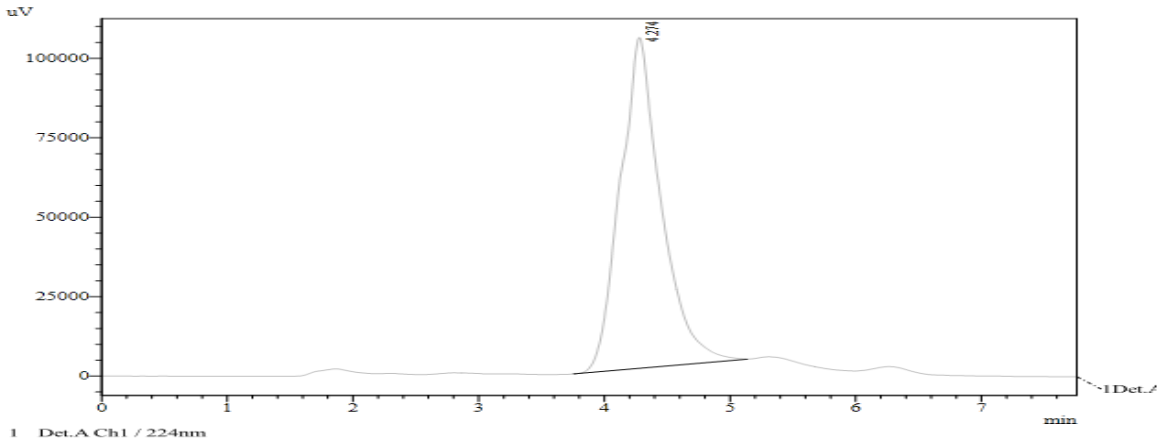
تم التحقق من الطريقة المتبعة بإضافة 100 ميكروغرام من كل من الدوكسي سايكلين والفلورفنيكول، الى لحوم فروج مأخوذة من مزارع لم تستخدم فيها مركبات هذين الصادين (شاهد)، وطبقت عملية الاستخلاص والتحليل بكامل مراحلهما عليها فكانت نسبة الاسترجاع (Recovery) للدوكسي سايكلين 98.09% وللفلورفنيكول 94.29 %، وهي نسب جيدة تعطي ثقة بالطريقة المتبعة، بعد ذلك حقنت كمية 10 مل من الدوكسي سايكلين والفلورفنيكول المعياريين بشكل منفرد في الجهاز (HPLC) لمعرفة زمن الاحتباس لكل منها على حده ثم حقن مزيج من الصادين معاً بتركيز 50 ميكروغرام/مل لكل منها عدة مرات فكان زمن الاحتباس للدوكسي سايكلين 2.649 دقيقة وللفلورفنيكول 4.274 دقيقة. مع الإشارة الى أن زمن الاحتباس هو الزمن اللازم لخروج المركب من عمود الفصل ووصوله إلى الكاشف ولكل مركب زمن بقاء يميزه ومنه يتم التحديد النوعي، أما التحديد الكمي فيتم من خلال مساحة الذروة (Peak) التي يتم رسمها بواسطة الكاشف، وتم حساب التراكيز في العينات وفقاً للمعادلة:

تركيز المادة في العينة (مكغ/كغ)= التركيز في المحلول المعياري (مكغ/كغ)* مساحة ذروة العينة /مساحة ذروة المحلول المعياري) *(حجم المستخلص النهائي مل/ وزن العينة غ).

ويبين الشكل (1) و(2) كروماتوغرام المادة المعيارية للدوكسي سايكلين والفلورفنيكول، على التوالي.

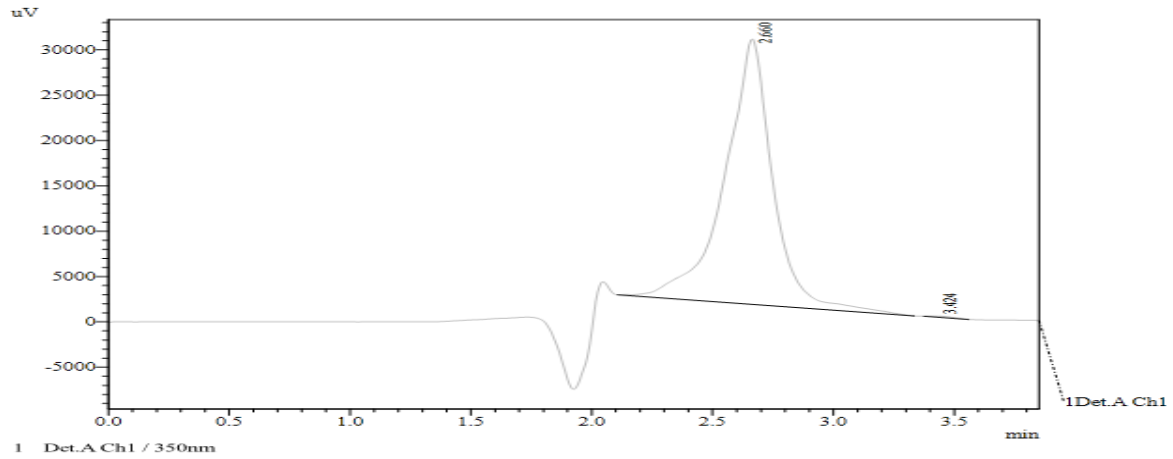


الشكل 1. كروماتوغرام المادة المعيارية للدوكسي سايكلين



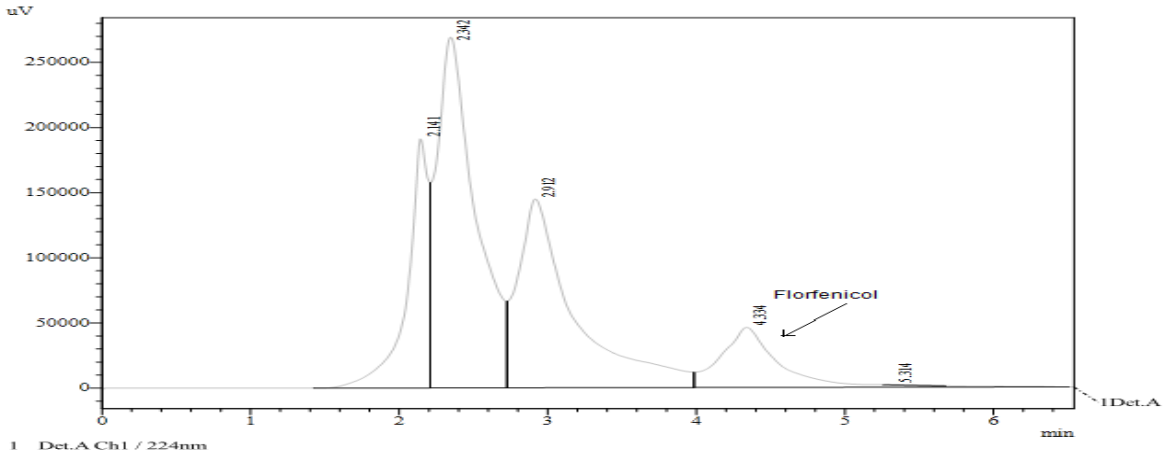
الشكل 2. كروماتوغرام المادة المعيارية للفلورفنيكول

ويبين الشكل (3) كروماتوغرام ثمالات الدوكسي سايكلين في العينة (10) من عينات الربع الثاني



الشكل 3. كروماتوغرام ثمالات الدوكسي سايكلين في عينة العضلات (10)

والشكل (4) يبين كروماتوغرام ثمالات الفلورفنيكول في العينة (16) من عينات الربع الثالث



الشكل 4. كروماتوغرام ثمالات الفلورفنيكول في عينة العضلات (16)

التحليل الإحصائي

استخدم البرنامج Statistic Program for Social Sciences (SPSSv18) لمقارنة الفروق المعنوية ذات الدلالة الإحصائية LSDبين المتوسطات عند مستوى معنوية 5%.

النتائج والمناقشة

أ-نتائج تحليل الدوكسي سايكلين (Doxycycline) في العينات

تم تقدير محتوى الدوكسي سايكلين في العينات وكانت النتائج ايجابية في 79.2% منها ويبين الجدول (1) القيم التي تم الحصول عليها.

الجدول 1. نتائج تحليل الدوكسي سايكلين في عضلات الفروج (مكغ/كغ)

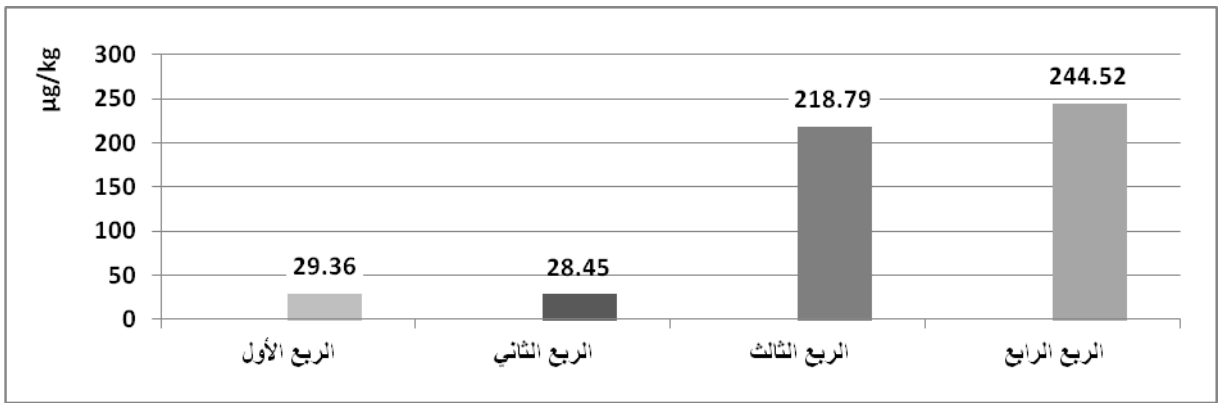
الربع الأول (1- 2- 3)		الربع الثاني (4- 5- 6)		الربع الثالث (7- 8- 9)		الربع الرابع (10- 11- 12)	
العينة	التركيز	العينة	التركيز	العينة	التركيز	العينة	التركيز
1	0	7	93.55	13	80.48	19	85.22
2	34.25	8	0	14	218.59	20	348.93
3	68.93	9	8.58	15	433.19	21	226.29
4	49.86	10	68.54	16	79.06	22	433.82
5	0	11	0	17	78.89	23	281.93
6	23.14	12	0	18	422.51	24	90.91
المتوسط	29.36^{a}	-	28.44^{a}	-	218.78^{b}	-	244.51^{b}
الانحراف المعياري	27.46	-	41.63	-	170.70	-	139.59

a، b تدل الحروف المختلفة على وجود فروق معنوية $P\leq0.05$ بين الأرباع
a، b تدل الحروف المتشابهة على عدم وجود فروق معنوية $P>0.05$ بين الأرباع

يتضح من الجدول (1) أنّ 79.2% من العينات كانت ايجابية للدوكسي سايكلين (19 عينة) بينما لم تسجل ثمالات منه في 20.8% من العينات (5 عينات) وكانت جميعها من عينات الربعين الأول والثاني. تجاوزت 29.17 % من العينات (7 عينات) الحد الأقصى المسموح به (100 مكغ/كغ)، وكانت جميعها من عينات الربعين الثالث والرابع، واحتوت العينة (22) من عينات الربع الرابع أعلى

مستوى منه 433.82 مكغ/كغ، بينما احتوت العينة (9) من عينات الربع الثاني أقل مستوى 8.58 مكغ/كغ في العينات الايجابية. ولم تسجل قيم تفوق الحد الأقصى المسموح به في عينات الربعين الأول والثاني وأظهرت 5 عينات منها سلبية لوجود هذا الصاد.

متوسط تركيز الدوكسي سايكلين في العينات الايجابية 164.56 مكغ/كغ، والمتوسط العام له في جميع العينات المختبرة 130.28 مكغ/كغ، وكان المتوسط المسجل في الربعين الأول والثاني ضمن الحد المسموح به في حين تجاوز متوسط عينات الربعين الثالث والرابع MRL وبأكثر من مرتين، ويبين الشكل (5) متوسط تركيز الدوكسي سايكلين في عينات عضلات الفروج خلال الأرباع.



الشكل 5. متوسط تركيز الدوكسي سايكلين في عينات عضلات الفروج خلال الأرباع (مكغ/كغ)

يشير التحليل الإحصائي الى عدم وجود فروق معنوية عند مقارنة متوسط تركيز الدوكسي سايكلين في عينات الربع الأول بمتوسط تركيزه في عينات الربع الثاني ($P>0.05$). وعند مقارنة متوسط تركيزه في عينات الربع الثالث بمتوسط تركيزه في عينات الربع الرابع بينما سجلت فروق معنوية ($P\leq0.05$) عند مقارنة المتوسطات المسجلة في عينات الربعين الأول والثاني مع متوسطات العينات المسجلة في الربعين الثالث والرابع.

عند مقارنة النتائج هذه مع تلك التي توصل اليها باحثون آخرون، يتبين أنها تتجاوز تلك المسجلة في تركيا (Cetinkaya وآخرون، 2012) والتي بينت وجود الدوكسي سايكلين في 6.7% فقط من العينات بمستويات تراوحت بين 19.9- 35.6 مكغ/كغ. وتلك المسجلة في بنغلادش والتي بينت أن 26% من عضلات الصدر و28% من عضلات الفخذ ايجابية للدوكسي سايكلين (Sarker وآخرون، 2018). وتلك المسجلة في الهند والتي بينت أن 14.3% من عضلات الفروج كانت ايجابية للدوكسي سايكلين وبمستويات تراوحت بين 11.94- 20.66 مكغ/كغ (Sahu وSaxena، 2014).

وتبدو النتائج متقاربة مع دراسة أجريت في لبنان (Jaoudeh وآخرون، 2018) للوقوف على تركيز التتراسكلين في مزيج من عضلات صدر وفخذ الفروج وأظهرت أن 78.8% من العينات كانت ايجابية للتتراسكلين وتجاوزت 33.2% منها MRL وكان المتوسط الإجمالي أعلى من MRL قد يعود تقارب النتائج في الدراستين لتشابه الظروف البيئية وربما مصادر الأدوية والعقاقير المستخدمة، مع الإشارة الى أن التتراسكلين يتبع مجموعة التتراسكلينات إلا أنّ امتصاص وتوزع وتركز الدوكسي سايكلين في اللحوم يتفوق عليه نظراً لطبيعته المحبة للدهون (Papich وRiviere، 2013).

تتوافق النتائج مع دراسات كثيرة في تركز الصادات في لحوم الدواجن خلال فصل الصيف بمعدلات تفوق ما هي عليه في فصل الشتاء (Naeem وRafiq، 2006) و(Kim وآخرون، 2019) لكنها تختلف مع دراسة أجريت في إيران (Tavakoli وآخرون، 2015) وبينت تراكماً للثمالات في فصل الشتاء بنسبة أكبر وكذلك في مصر (Salama وآخرون، 2011) والتي بينت أن 38% من عضلات صدر وفخذ وكبد الفروج كانت ايجابية للدوكسي سايكلين، 12% من عضلات الصدر بمستويات تراوحت بين 199- 5812 مكغ/كغ و10% من عضلات الفخذ بمستويات تراوحت بين 127- 6010 مكغ/كغ وتجاوزت جميع العينات MRL، وأظهر التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين عينات الصدر والفخذ، وكانت الفروق معنوية بين المستويات المسجلة في فصلي الصيف والشتاء وتجاوزت تراكيزه في جميع العينات الايجابية MRL.

ب-نتائج تحليل الفلورفنيكول (Florfenicol) في العينات

تم الكشف عن محتوى الفلورفنيكول في عينات من عضلات دجاج اللحم، وكانت النتائج ايجابية في 62.5 % من العينات ويبين الجدول (2) القيم التي تم الحصول عليها.

الجدول 2. نتائج تحليل الفلورفنيكول في عضلات فخذ وصدر الفروج (مكغ/كغ)

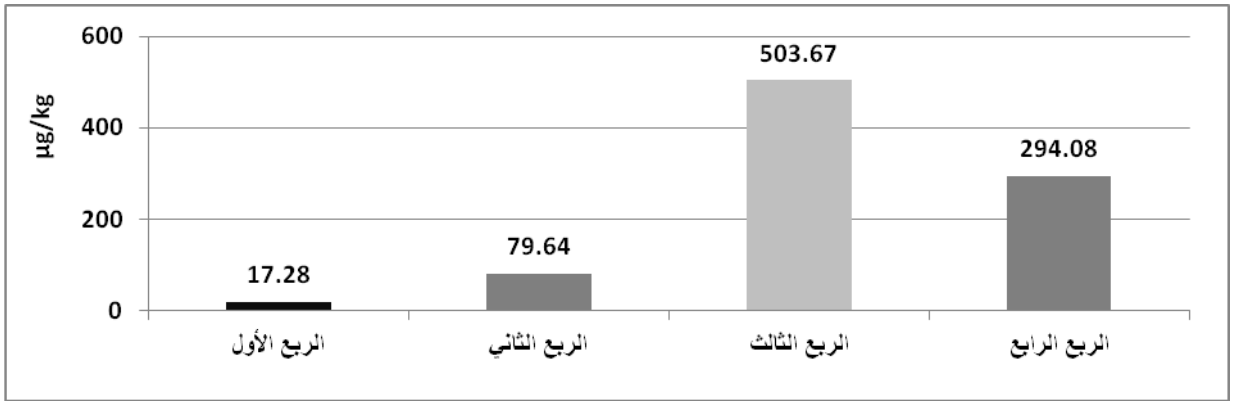
الربع الأول (1- 2- 3)		الربع الثاني (4- 5- 6)		الربع الثالث (7- 8- 9)		الربع الرابع (10- 11- 12)	
العينة	التركيز	العينة	التركيز	العينة	التركيز	العينة	التركيز
1	0	7	89.34	13	719.02	19	866.74
2	0	8	0	14	965.11	20	756.68
3	53.70	9	388.51	15	935.25	21	0
4	0	10	0	16	113.87	22	69.21
5	44.57	11	0	17	186.47	23	0
6	5.40	12	0	18	102.30	24	71.85
المتوسط	17.27^{a}	-	79.64^{a}	-	503.67^{b}	-	294.08^{ab}
الانحراف المعياري	24.93	-	155.47	-	414.54	-	403.69

a، b تدل الحروف المختلفة على وجود فروق معنوية $P\leq0.05$ بين الأرباع

a، b تدل الحروف المتشابهة على عدم وجود فروق معنوية $P>0.05$ بين الأرباع

يتضح من الجدول (2) أنّ 62.5% من العينات (15 عينة) احتوت على ثمالات من الفلورفنيكول، وأن 37.5% (9 عينات) لم تسجل فيها ثمالات، وتجاوزت 37.5% من العينات (9 عينات) الحد الأقصى المسموح به في عضلات الدواجن (100 مكغ/كغ) وكان معظمها من عينات الربع الثالث (جميع العينات) وحققت العينة (14) أعلى تركيز له في العينات (965.11 مكغ/كغ).

بلغ متوسط التراكيز المسجلة في العينات الايجابية 357.87 مكغ/كغ، والمتوسط الإجمالي في جميع العينات 223.67 مكغ/كغ، وتجاوز متوسط عينات الربعين الثالث والرابع الحد الأقصى MRL وكان متوسط التراكيز المسجلة في عينات الربع الثالث أكبر بـ 29 مرة من متوسط تراكيز عينات الربع الأول وبست مرات من متوسط تراكيز عينات الربع الثاني، وأظهرت 7 عينات من أصل 12 عينة محللة في الربعين الأول والثاني (58.3%) سلبية لوجود هذا الصاد، وتجاوزت عينة واحدة فقط منها (8.3 %) MRL. ويبين الشكل (6) متوسط تراكيز الفلورفنيكول في عينات عضلات دجاج اللحم خلال الأرباع.



الشكل 6. متوسط تركيز الفلورفنيكول في عينات عضلات الفروج خلال الأرباع (مكغ/كغ)

يشير التحليل الإحصائي للنتائج الى عدم وجود فروق معنوية عند مقارنة متوسط التراكيز المسجلة في الربع الرابع بتلك المسجلة في باقي الأرباع ($P>0.05$) وكذلك عند مقارنة متوسط الربع الأول بالثاني، والى وجود فروق معنوية ($P\leq0.05$) عند مقارنة متوسط الربع الأول بالثالث والثاني بالثالث.

وبمقارنة النتائج التي تم الحصول عليها بتلك التي توصل اليها باحثون آخرون يتبين أنها تقل عن تلك المسجلة في الباكستان (Nasim وآخرون، 2016) والتي بيّنت احتواء 84% من عينات النسيج العضلي للفروج على ثمالات من الفلورفنيكول وبمتوسط بلغ 311.42± 186.56 مكغ/كغ وتجاوزت 69.3 % من العينات MRL.

ولا تتفق نتائج هذه الدراسة مع دراسة أجريت في تركيا لم تسجل فيها أية بقايا من الفلورفنيكول في عضلات صدر وفخذ الفروج (Tekgül وKok، 2018). وتزيد عن النتائج التي توصلت اليها دراسة أجريت في الباكستان سجلت فيها مستويات منخفضة من الكلورامفنيكول (رغم حظر استخدامه) ومن الفلورفنيكول في 11% من العينات وتراوحت مستويات الفلورفنيكول والفلورفنيكول أمين بين 8.7- 32.8 مكغ/كغ (Imran وآخرون، 2018)، وكذلك تزيد عن تلك المسجلة في الصين 0.5- 20 مكغ/كغ (Zhang وآخرون، 2008). وتقل عن القيم المسجلة في الباكستان (Fahim وآخرون، 2018) في دراسة أجريت على الدجاج البياض بينت احتواء 80% من العينات ثمالات من هذا الصاد وبمتوسط 61.56± 13.19مكغ/كغ وتجاوزت 86.7% من العينات الايجابية فيها MRL.

يعود وجود العينات السلبية للصادين المدروسين الى عدم استعمال مركباتهما في المزارع التي ربيت فيها الطيور التي أخذت منها العينات، أو أنها استعملت في مراحل مبكرة من التربية وبجرعات مدروسة ما سمح باستقلاب مركباتها داخل اللحوم بشكل كامل، ويعود تجاوز الأرقام المحققة للأرقام التي توصلت اليها بعض الدراسات الى احتمال استعمال المربين في تلك الدراسات لصادات حيوية أخرى جنباً الى جنب مع الصادين المدروسين، وقد يعود جزء من هذه الفوارق الى التقيد بالتعليمات الصحية الناظمة لاستعمال الصادات الحيوية وتطبيق الرقابة المشددة على ذلك.

ويعود تجاوز تراكيز الدوكسي سايكلين والفلورفنيكول في العينات للحد الأقصى المسموح به الى عدم تطبيق فترات السحب المحددة أو أنها غير كافية مع استعمال جرعات عالية منهما، سواءً أكان ذلك نتيجة لحاجة حقيقية لهذا الاستعمال أو أنه جاء نتيجة لاستعمال عشوائي نتيجة للقلق والتخوف من انتشار الأمراض خاصة لدى الطيور بأعمار كبيرة وما يتسبب به سحب الدواء من نتائج قد تودي بحياة القطيع في ظل قصر الدورة الإنتاجية للفروج وطول فترات السحب اللازمة اذ تعادل فترة السحب لمركبات الدوكسي سايكلين 20% من فترة التربية (تسعة أيام) وللفلورفنيكول أكثر من 15% من فترة التربية (سبعة أيام) وتكون حساسية الفروج في الفترة الأخيرة من التربية عالية جداً لكثير من الأمراض التنفسية وغيرها، ما يضطر المربين الى الاستمرار بإعطاء الصادات تفادياً للخسائر الاقتصادية وعدم سحبها إلا قبل فترة قصيرة من التسويق، دون أن يشكل ذلك عائقاً أمام التسويق في ظل عدم إخضاع هذه المنتجات لأي نوع من التحاليل للتأكد من توافقها مع الحدود القصوى للثمالات.

ويؤثر نمط التربية الأرضية المتبع في توافر العوامل والظروف الملائمة لانتشار الكثير من الأمراض ويتأثر تراكم بعض الصادات في الأنسجة وكذلك تخلص الجسم منها بتراكيز صادات ومضادات أخرى (Vandenberge وآخرون، 2012). اذ تتسبب مضادات الكوكسيديا بتركيز أعلى من ثمالات الدوكسي سايكلين (El-Gendi وآخرون، 2010). ويؤثر التعرض المستمر للانروفلوكساسين في حجم ثمالات الدوكسي سايكلين في أنسجة الفروج (Gbylik-Sikorska وآخرون، 2016).

ويمكن أن تقود الظروف البيئية المختلفة وخاصة لدى الحظائر نصف المغلقة صيفاً والتي تشكل غالبية الحظائر المنتشرة في المنطقة، الى زيادة إمكانية تأثر الدواجن بهذه الظروف وانتشار العدوى من مزرعة الى أخرى في ظل عدم إتباع الإجراءات الوقائية المناسبة، وقد بينت الدراسات الارتباط الوثيق بين تركز الصادات في الأنسجة والفصل من السنة الذي تمت فيه الدراسة نظراً للتأثير الواضح للظروف البيئية في صحة ونمو الدواجن اذ يؤدي انخفاض الرطوبة النسبية في الأسبوع الأول من عمر الفروج الى ما دون 50% إلى الجفاف والضعف الذي قد يمتد لأسابيع (Aviagen، 2009) وتؤدي الرطوبة النسبية العالية المترافقة مع الحرارة المرتفعة الى الكثير من الأمراض التنفسية (Berman، 2006) ما يستدعي استخدام المزيد من العقاقير لأغراض الوقاية والعلاج، الأمر الذي يبرر وجود التباين الفصلي في تراكيز هذه الثمالات في العينات والتي أظهرت أن المستوى الأعلى للصادين المدروسين قد سجل في العينات التي تم جمعها خلال النصف الثاني من العام مع ارتفاع معدلات الرطوبة الجوية والحرارة خلال الربع الثالث من العام إضافة الى فترات الجفاف التي تتعرض لها المنطقة خلال الربع الرابع.

وقد يكون لاحتمال وجود تلوث في الأعلاف، أو استخدام السماد الملوث أو تناوله من قبل الدواجن من الفرشة دوراً في وجود ثمالات هذين الصادين في اللحوم، والتي تتسبب وان كانت ضمن الحدود الطبيعية بتأثيرات سلبية في صحة المستهلك وتؤدي الى المقاومة الدوائية (Antunes وآخرون، 2003)

يضاف الى ذلك لجوء كثير من المربين ولأسباب اقتصادية، الى استخدام الصادات الحيوية بشكلها النقي الخام والذي تكون المادة الفعالة فيه مرتفعة مقارنة بذلك المصنع على شكل عقاقير بيطرية مرخصة وبجرعات غير مناسبة (عالية غالباً) في ظل توافرها في الأسواق بأسعار منخفضة وعدم مراقبة محتوى المنتجات الحيوانية من هذه المركبات قبل الاستهلاك.

الاستنتاجات والتوصيات

يستنتج من هذه الدراسة وجود ثمالات من الدوكسي سايكلين والفلورفنيكول في عينات لحوم الفروج المختبرة تجاوز قسم منها الحد الأقصى المسموح به، مع ارتفاع مستوى هذه الثمالات في العينات التي تم جمعها في النصف الثاني من العام مقارنة بالمستوى المسجل منها في عينات النصف الأول.

وعليه توصي الدراسة بضرورة إلزام المربين بإتباع فترات السحب المناسبة وتطبيقها بشكل صارم، لضبط محتويات منتجات الدواجن من هذه المركبات، وأخذ عينات من اللحوم للتحليل قبل طرحها في الأسواق، واعتماد برنامج وطني لتنظيم استعمال الصادات الحيوية يزود فيه المربين بأفضل الممارسات العلاجية والوقائية تجنباً للاستخدام العشوائي للصادات والتطبيق الصارم لجميع إجراءات الأمن الحيوي.

المراجع

- Agyare, C., V.E. Boamah, C.N. Zumbi, F.B. Osei. 2018. Antibiotic Use in Poultry Production and Its Effects on Bacterial Resistance. DOI: 10.5772/intechopen.79371.
- Antunes, P., C. Réu, J. Sousa, L. Peixe, N. Pestana. 2003. Incidence of Salmonella from poultry products and their susceptibility to antimicrobial agents. Int. J. Food Microbial. 2003, 82, 97–103.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 1995. Official Method 995.09 for Tetracycline Liquid chromatographic method Journal of AOAC Vol. 86, no. 3, 2003 495.
- Aviagen. 2009. Ross broiler management manual (2016-03- 01). http://www.thepoultrysite.com/downloads/single/94/.
- Berman, A. 2006. Extending the potential of evaporative cooling for heat-stress relief. Journal of Dairy Science, 89, 3817–3825.
- Cetinkaya, F., A. Yibar, A. Ozcan. 2012. Determination of Tetracycline residues in chicken meat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Food Addit Contam Part B 2012; 5(1): 45-9.
- Drew, T.W. 2011. The emergence and evolution of swine viral diseases: to what extent have husbandry systems and global trade contributed to their distribution and diversity? Rev. Sci. Tech. 30: 95– 106.
- El-Gendi A.Y., M. Atef, A.M. Amer. 2010. Pharmacokinetic and tissue distribution of Doxycycline in broiler chickens pretreated with either: Diclazuril or Halofuginon. Food Chem Toxicol 2010, 48, 3209–3214.
- EU 37/2010. European Union. 2010. Regulation (EU) Nº 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. Off. J. L15:1–72.
- Fahim, A., B. Aslam, M. Mohsin, A. Raza. 2018. Estimation of Florfenicol residues in layer meat and egg samples using high performance liquid chromatography. Pak Vet J, 38(3): 329-332.
- Gbylik-Sikorska, M., A. Posyniak, T. Śniegocki, B. Sell1, A. Gajda, G. Tomczyk. 2016. Effect of Doxycycline concentrations in chicken tissues as a consequence of permanent exposure to Enrofloxacin traces in drinking water. J Vet Res 60, 293-299, 2016. DOI:10.1515/jvetres-2016-0045.
- Givens, D.I. 2009. Animal nutrition and lipids in animal products and their contribution to human intake and health. Nutrients 1: 71-82. UK.
- Imran, M., F. Habib, S. Majeed, M. Rahman. 2018. LC-MS/MS-based determination of Chloramphenicol, Thiamphenicol, Florfenicol and Florfenicol amine in poultry meat from Punjab-

Pakistan. Journal Food Additives & Contaminants: Part A Volume 35, 2018 - Issue 8 P. 1530-1542.

- Jaoudeh, A., R. Daou, C. Hilan. 2018. Screening Of Antibiotic Residues In Poultry Muscle In Lebanese Retail Markets. International Journal of Engineering Sciences & Research Technology, 7(11), 102-112.
- Kim, J., H. Park, J. Kim, J.H. Kim, J.I. Jung. 2019. Comparative Analysis of Aero tolerance, Antibiotic Resistance, and Virulence Gene Prevalence in Campylobacter jejuni Isolates from Retail Raw Chicken and Duck Meat in South Korea. Microorganisms 2019, 7, 433.
- Lee T.W., L. Russell, M. Deng, P.R. Gibson. 2013. Association of Doxycycline use with the development of gastroenteritis, irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease in Australians deployed abroad. Intern Med J. 43(8):919–926.
- Mestorino, N., P. Zeinsteger, L. Marchetti. 2018. Tissue depletion of Doxycycline after its oral administration in food producing chicken for fattening. International Journal of Avian & Wildlife Biology, Vol. 3 Issue 3.
- Naeem, M., K.K.S. Rafiq. 2006. Determination of Residues of Quinolones in Poultry Products by High Pressure Liquid Chromatography. Journal of Applied Sciences 6: 373-379.
- Nasim, A., B. Aslam, I. Javed, A. Ali. 2016. Determination of Florfenicol residues in broiler meat and liver samples using RP-HPLC with UV–visible detection. J of science food agriculture DOI 10.1002/jsfa.7220.
- Nguyen, F., A.L. Starosta, S. Arenz, D. Sohmen. 2014. Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. Biol. Chem. 395, 559–575.
- Paape, M.J., R.H. Miller, G. Ziv. 1990. Effects of Florfenicol Chloramphenicol and Thiamphenicol on phagocytosis, chemilumines-cencee, and morphology of bovine polym-erphonuclear neutrophil leucocytes. J. Dairy Sci 7: 1734-1744
- Papich, M.G., J.E. Riviere. 2013. Tetracycline antibiotics. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Wiley-Blackwell, USA. pp. 895–913.
- Rasheed, C.M., N.A. Fakhre. 2017. Derivative Spectrophotometric Determination of Florfenicol in Chicken Samples. ZANCO Journal of Pure and Applied Sciences The official scientific journal of Salahaddin University-Erbil ZJPAS (2017), 29 (6); 49-58
- Sahu, R., P. Saxena. 2014. Antibiotics in Chicken Meat. PML/PR-48/2014 https://www.researchgate.net/publication/266208046
- Salama, A., H. Abou-Raya, R. Shalaby, H. Emam. 2011. Incidence of Tetracycline residues in chicken meat and liver retailed to consumers. Food Additives and Contaminants: Part B Vol. 4, No. 2, June 2011, 88–93.
- Sarker, A., M. Hasan, K. Paul. 2018. Screening of antibiotic residues in chicken meat in Bangladesh by thin layer chromatography. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research ISSN 2311-7710 Vol 5 No 2, Pages 140-145.
- SASMO (Syrian Arab Standards and Metrology Organization). Syrian Standard No. 3605/2011 Maximum limits for residues of veterinary drugs in animal products
- Sniegoski, T., A. Posyniak, J. Zmudzki. 2011. Determination of Thiamphenicol and Florfenicol in the chicken kidneys and liver by liquid chromatography-mass spectrometry. Bul Vet Inst Pulawy vol. 55, 749-753.

- Tan, K.R., S.J. Henderson, J. Williamson, R.W. Ferguson. 2017. Long-term health outcomes among returned Peace Corps volunteers after malaria prophylaxis, 1995-2014. Travel Med Infect Dis. 2017; 17:50–55.
- Tavakoli, H.R., M.S.S. Firouzabadi, S. Afsharfarnia. 2015. Detecting antibiotic residues by HPLC method in chicken and calves meat in diet of a military center in Tehran. Acta Med. Mediterr. 31, 1427–1433.
- Tekgül, Y., F. Kok. 2018. Screening of Tetracycline and Florfenicol antibiotic residues in broiler meat using Elisa and confirmation by liquid chromatography/ tandem mass spectrometry. GIDA 43 (3): 403-412
- Van Dyk, JC., MJ. Marchand, NJ. Smit, GM. Pieterse. 2009. A histology-based fish health assessment of four commercially and ecologically important species from the Okavango Delta panhandle, Botswana. African Journal of Aquatic Science 34(3): 273–282.
- Vandenberge, V., E. Delezie, P. Delahaut. 2012. Residues of Sulfadiazine and Doxycycline in broiler liver and muscle tissue due to cross contamination of feed. Food Addit Contam Part A 29, 180–188.
- Veerapandian, S., S. Ghadevaru, R. Jayaramachandran. 2013. Effect of Enrofloxacin on zootechnical performance behavior and immuno histopathological response in broiler chicken. Chennai-600 051, Tamil Nadu, India. Doi:10.5455/vetworld. 2013.337-342.
- Wareham, D.W., P. Wilson. 2002 Chloramphenicol in the 21st century Hosp Med 2002; 63:157-161.
- White, D.G., C. Hudson, G. Maurer. 2000. Characterization of Chloramphenicol and Florfenicol Resistance in Escherichia coli Associated with Bovine Diarrhea. J of clinical microbiology, Dec. 2000, p. 4593–4598 Vol. 38, No. 12 American Society for Microbiology.
- WHO (World Health Organization). 2015. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. World Health Organization; Geneva, Switzerland.
- Zhang, S., Z. Liu, X. Guo, J.J. Shen. 2008. Simultaneous determination and confirmation of Chloramphenicol, Thiamphenicol, Florfenicol and Florfenicol amine in chicken muscle by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Analyt Technol Biomed Life Sci. 15;875(2):399-404.

N° Ref: 1006