التحري عن متبقيات الامبروليوم في عضلات و أعضاء الفروج في محافظة دير الزور – سورية

غفران الشنتوري* عبد الكريم حلاق ** ، و غياث سليمان***

(الإيداع:14 آيار 2024، القبول: 3 تموز 2024)

الملخص:

نظراً لكثافة استخدام المضادات الحيوية و مضادات الكوكسيديا في مجال تربية و الدواجن و ما ترتب عليه من تاثير على الصحة العامة من خلال انتقال متبقيات هذه الادوية الى غذاء الانسان فقد قمنا بهذه الدراسة و التي كان هدفها اجراء مسح ميداني عن مدى تواجد متبقيات مركب الامبروليوم في عضلات و اعضاء الفروج المسوق في محافظة دير الزور حيث تم جمع 72 عينة من اربع مناطق مختلفة في **المدينة** مقسمة الى 24 عينة من كل عضو او نسيج في كل منطقة بواقع ست عينات لكل عضو من كل منطقة. تم استخلاص متبقيات الامبروليوم من العينات و تحليل المتبقي بتقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء على طول موجة 263 نانومتر و تدفق 1مل بالدقيقة ودرجة حرارة 40 مئوية باستخدام عمود فصل نوع C18 **و طور** متحرك مؤلف من اسيتونتريل بفر الفوسفات 0.05 مولاري (**PH**5) بنسبة مزج (30/70). تشير النتائج انه من اصل 72 عينة تم جمعها من اربعة مناطق مختلفة في محافظة دير الزور كان هناك 61 عينة (84.72%) ابدت ايجابية **لتواجد** متبقيات للامبروليوم، جميع عينات المنطقتين الثانية و الثالثة كانت ايجابية سواءا **أنسجة** عضلية **أو** معدة عضلة **أو** كبد. **أعلى** تركيز لمتبقيات الامبروليوم كانت في الكبد حيث تراوح التركيز ما بين 62.66 و 933.24 ميكروغرام/كغ وزن رطب، كان هناك 14 عينة كبد **تجاوز** تركيز متبقيات الامبروليوم **فيها** الحد المسموح به حسب المواصفة الاوربية. تركيز متبقيات الامبروليوم في المعدة العضلية تراوح ما بين 11.07 و 191.96 ميكورغرام/كغ وزن رطب منها 6 عينات تجاوز تركيز المتبقيات فيها الحد المسموح به. في النسيج العضلي تراوح **التركيز** ما بين 7.08 و 203.03 ميكروغرام/كغ وزن ركب منها عينة ماحة فقط تجاوز تركيز المتبقيات فيها الحد المسموح به حسب المواصفة **الأوربية.** تشير النتائج التي صلمنا عليها الى وجود كثافة في استخدام مركب الامبروليوم في معالجة الكوكسيديا

الكلمات مفتاحية: امبروليوم، فروج، متبقيات، عضلات، اعضاء داخلية

* طالبة ماجستير – قسم الصحة العامة و الطب والوقائي – كلية الطب البيطري – جامعة حماه
** استاذ صحة الحيوان المساعد- قسم الصحة العامة و الطب الوقائي – كلية الطب البيطري – جامعة حماه
*** استاذ صحة اللحوم المساعد- قسم تقانة هندسة الاغذية – كلية الهندسة التقنية – جامعة طرطوس

Study of amprolium residues in the muscles and organs of broiler in Deir Ezzor Governorate – Syria

Ghufran Elshamtouri [*] Abdulkarim Hallak[**] Ghiyath Soliman[***]

(Received: 14 May 2024, Accepted: 3 July 2024)

Abstract:

In view of the extensive use of antibiotics and anticoccidials in the field of poultry farming and the resulting impact on public health through the transfer of residues of these drugs into human food, we conducted this study, the aim of which was to conduct a field survey on the extent of the presence of residues of the amprolium compound in muscles in members of the broilers marketed in Deir Ezzor Governorate. 72 samples were collected from four different areas in the city, divided into 24 samples from each organ or tissue in each area, with six samples for each organ from every region. amprolium residues were extracted from the samples and the remainder was analyzed using high-performance liquid chromatography at a wavelength of 263 nm, a flow rate of 1 ml per minute, and a temperature of 40 degrees Celsius using a C18 type separation column and a mobile length consisting of acetonitrile and phosphate buffer 0.05 M (pH5), Prepared with a mixing ratio of (70/30). Out of 72 samples collected from four different regions in Deir ez-Zor Governorate, there were 61 samples (84.72%) that showed positive for one residual Amprolium in all samples from the second and third regions. It was positive whether muscle tissue, stomach muscle or liver. The highest concentration of Amprolium residues was in the liver, where the concentration ranged between 62.66 and 933.24 micrograms/kg wet weight. There were 14 liver samples whose concentration of Amprolium residues exceeded the permissible limit according to the European standard. The concentration of amprolium residues in the muscle stomach ranged between 11.07 and 191.96 µg/kg wet weight, including 6 samples in which the concentration of the residues exceeded the permissible limit. In muscle tissue, the concentration ranged between 7.08 and 203.03 micrograms/kg weight, of which only a salt sample was taken, in which the concentration of the residues exceeded the permissible limit according to the European standard. The results obtained indicate that there is an intense use of Amprolium in treating coccidiosis,.

Key words: Amrolium, broiler, residues, muscles, internal organs

1. Ases. Prof in the department of public health and preventive medicine– veterinary faculty – University of Hama

2. Master candidate –Department of public health and preventive medicine– Veterinary faculty – University of Hama

3. Ases.Prof in Department of Food Technology Engineering – College of Technical Engineering –University of Tartous.

1. المقدمة :Introduction

كما **أن** مسألة الغذاء نالت في الآونة الأخيرة اهتماماً متزايداً من قبل جميع دول العالم وبرزت بوضوح أهميتها الاقتصادية والاجتماعية، فقد استحوذت مشكلة الأمن الغذائي وسبل تحقيقه على اهتمام وجهود جميع الدول بشكل عام والدول العربية ومنها الجمهورية العربية السورية بشكل خاص لما يشكله العجز الغذائي من عبء اقتصادي يتطلب استيراد المواد الغذائية وخاصة ذات المصدر الحيواني لسد العجز وملء الفجوة الغذائية التي لاتزال في اتساع مضطرد (**شريف، 2021**).

إن الطلب العالي على اللحوم البيضاء قاد مربي الفروج الى تكثيف التربية وهذا ما **أدى** إلى سرعة في انتشار الامراض **و بالتالي** زيادة معدل استخدام المضادات الحيوية و مضادات الكوكسيديا بصورة غير **صحيحة** كاستخدام المواد الاولية في العلاج و عدم الالتزام بفترات سحب الدواء بعد المعالجة و قبل التسويق (شريف، 2021).

تستخدم مضادات الكوكسيديا في مجال صناعة الدواجن على نطاق واسع، و نادراً ما تمر دفعة من طيور اللحم إلا و يستخدم بها احد أنواع مضادات الكوكسيديا، اذ يتعرض الفروج في أعمار مبكرة إلى مرض معوي خطير، تتسبب به أنواع من الطفيليات تسمى الاكريات أو الكوكسيديا (**Said *et al.*, 2019**)، وهي شائعة في قطعان الدواجن المرباة على الأرض، بنسبة اكبر من تلك المرباة في أقفاص، لاسيما دجاج التسمين أو الفروج، وتؤدي الإصابة بهذا الطفيلي إلى تلف شديد في الأمعاء و في كثير من الأحيان **تؤدي للنفوق**، الأمر الذي يستدعي استخدام فئات معينة من الأدوية مثل الديكلازوريل و التولترازوريل و الامبروليوم (Matus and Boison, 2016). قد يؤدي سوء استخدام مضادات الكوكسيديا إلى تطوير سلالات مقاومة من الاوالي، وبالتالي تقليل كفاءة هذه الادوية المستخدمة في علاج الطيور و الحيوانات ، مما يؤدي إلى فشل العلاج، ويؤثر سلبًا على صحة الحيوان مما يقودنا لكثرة الأمراض وقلة الاستجابة للمركبات الدوائية (Laxminarayan ***et al.***, 2013) ناهيك عن احتمالية انتقال هذه المتبقيات الى الانسان بصورة متكررة مع الاغذية والتي يمكن ان تقود الى آثار سلبية على صحة الانسان (Quaider and Hallak, **2022**).

يستخدم الامبروليوم للعلاج و الوقاية من داء الكوكسيديا عند الفروج و البياض و الحبش. للعلاج يعطى **الامبروليوم** مع ماء الشرب بجرعة 120–240 ملغ/لتر ماء او يعطى مع العلف بجرعة 125ملغ/كغ علف لمدة 5–7 ايام. للوقاية من عودة الاصابة يعطى مع ماء الشرب بجرعة 60مغ/لتر ماء لمدة 1–2 اسبوع. تعتمد الجرعة على العمر حيث تتراوح الجرعة ما بين 25 الى 75ملغ/كغ وزن حي عند الفروج و 14–60ملغ/كغ وزن حي عند الحبش (Naimovich, 2021).

تمت الموافقة على ان يكون الامبروليوم **كإضافة** علفية بحسب التشريع الاوربي رقم EEC 524/70 (Emea, 2001) للطيور بجرعة 62–125ملغ/كغ علف و بالمشاركة مع الايثوبابيت (25جزء ابمروليوم: 1.6 جزء ايثوبابيت) للفروج و الحبش . التشريع حرم استخدام الامبروليوم عند دجاج البيض من عمر الاباضة وما بعد و قبل ذبح الطيور بثلاثة ايام (Naimoich, 2021).

في دراسة مسحية قام بها الباحث Manhas **و زملاءه** (2023) للوقوف على حالة متبقيات الامبروليوم في اربع مدن من مقاطعة JMMU في الهند حيث تم جمع 15 عينة من كل عضو (عضلات، كبد و كلى) في كل منطقة و تم تحليل متبقيات الامبروليوم. أشار الباحث ان **نسبة** العينات الايجابية لمتبقيات الامبروليوم في الكبد و الكلى و العضلات في جميع المناطق كانت على التوالي 66.66، 73.33 و 86.66%. نسبة العينات الايجابية لمتبقيات الامبروليوم في المدينة الاولى بالنسبة للكبد و الكلى و العضلات 100، 100 و 90% على التوالي و في المدينة الثانية 90، 85 و 55% على التوالي و في المدينة **الثالثة** 85، 65 و 70% على التوالي اما في المدينة الرابعة 100، 80 و 85% على التوالي.

اعلى تركيز لمتبقيات الامبروليوم كان في عينات الكبد في كل المناطق يليه في عينات الكلى **و أدنى** تركيز كان في عينات العضلات. تركيز متبقيات الامبروليوم في جميع العينات التي تم اختبارها كانت ادنى من الحد المسموح به (1000 ميكروغرام/كغ وزن حي بالنسبة للكبد و الكلى ة 500 ميكروغرام/كغ وزن حي بالنسبة للعضلات).

تركيز متبقيات الامبروليوم في عينات الكبد المختبرة تراوح ما بين **[26–814]** بمتوسط 270.32 في المدينة الاولى و **[0–682.03]** بمتوسط **219.06 في** المدينة الثانية **و من [0–125.34]** بمتوسط **42.09 في** المدينة الثالثة و **[14.26–549.73]** بمتوسط 169.15 ميكروغرام/كغ وزن حي في المدينة الرابعة.

تركيز متبقيات الامبروليوم في عينات العضلات المختبرة تراوح ما بين **[0–315.57]** بمتوسط 71.15 في المدينة الاولى و **[0–39.48]** بمتوسط 3.56 في المدينة الثانية و **[0– 8.92]** بمتوسط 1.69 في **المدينة** الثالثة **و أخيراً [0–40.16]** بمتوسط 12.51 ميكروغرام/كغ وزن حي في المدينة الرابعة.

ونظرا لقلة المراجع التي أجري فيها مسوحات عشوائية للتقصي عن متبقيات الامبروليوم في عضلات **و أعضاء** الفروج التي يتم جمعها من الأسواق (كما في دراستنا) فقد تم التركيز على دراسة متبقيات الامبروليوم في عضلات واعضاء الطيور بعد اعطائها جرعات محددة من هذا المركب و من ثم دراسة متبقياته كما سنرى فيما ياتي:

في دراسة، تم تغذية الصيصان (10 حيوانات لكل مجموعة) بنظام غذائي يحتوي على 150 أو 250 ملغ أمبروليوم / كغ من عمر يوم واحد إلى 8 أسابيع من العمر. عند الذبح، تم تحديد تركيزات البقايا في عينات العضلات والكلى والجلد والدهون (حد الكشف: 10 ميكروغرام/كغ) والكبد (حد الاكتشاف: 20 ميكروغرام/كغ) مع تصحيح استرداد قدره 73 إلى 79% بواسطة طريقة الثيوكروم الفلوري للثيامين. عند فترتي سحب صفر ويومين على التوالي بعد جرعة التغذية البالغة 250 ملغم/كغم، كانت تركيزات المخلفات: 90 ميكروغرام/كغ وأقل من 10 ميكروغرام/كغ في العضلات، 410 ميكروغرام/كغ وأقل من 20 ميكروغرام/كغ في الكبد، 380 ميكروغرام/كغ و40 ميكروجرام/كغ في الكلى و420 ميكروغرام/كغ و20 ميكروغرام/كغ في الجلد+الدهون. في نفس الوقت، بعد جرعة تغذية 150 ملغ/كغ، تم تحديد تركيزات بقايا الأنسجة على النحو التالي: 90 ميكروغرام/كغ وأقل من 10 ميكروغرام/كغ في العضلات، 420 ميكروغرام/كغ وأقل من 20 ميكروغرام/كغ في الكبد، 350 ميكروجرام/كغ وأقل من 10 ميكروجرام/كجم في الكلى و160 ميكروغرام/كغ وأقل من 10 ميكروجرام/كغ في الجلد+الدهون (EMEA, 2001).

في دراسة تم إعطاء أمبروليوم لدجاج التسمين عن طريق مياه الشرب بمعدل 240 ملغ/لتر لمدة 7 أيام تليها جرعة أقل قدرها 60 ملجم/لتر لمدة 14 يومًا. تم قتل مجموعات مكونة من 6 دجاجات بعد مرور 0، 1، 2، 4 و 7 أيام من انتهاء المعاملة. تم تحديد تركيزات الأمبروليوم في الأنسجة باستخدام الطريقة التحليلية الروتينية المقترحة المعتمدة تقنية HPLC مع كاشف الأشعة فوق البنفسجية. بالنسبة للكبد، كانت حدود القياس الكمي والكشف 100 و40 ميكروغرام/كغ، على التوالي. في المجموعة الأولى من الطيور التي تم ذبحها مباشرة بعد انتهاء العلاج، تراوحت تراكيز الأمبروليوم في الكبد من 178 إلى 330 ميكروجرام/كجم (المتوسط 250 ميكروجرام/كجم). وكانت تركيزات الأمبروليوم في جميع الكبد باستثناء واحد في نقاط زمنية لاحقة (أي 114 ميكروغرام/كغ في يوم واحد) أقل من حد الكشف. في الجلد بالإضافة إلى الدهون، كان متوسط تراكيز الأمبروليوم 158 ميكروغرام/كغ في اليوم صفر بعد العلاج وأقل من 100 ميكروغرام/كغ في جميع النقاط الزمنية اللاحقة. في جميع الأوقات، كان متوسط تراكيز الأمبروليوم في الكلى والعضلات أقل من حدود القياس الكمي لكل منهما (أي 200 و100 ميكروغرام/كغ). **(EMEA, 2001)**.

لتقييم فترة أمان متبقيات الامبروليوم في الاعضاء و الانسجة الصالحة للأكل عند البشر يجب مقارنتها بالحدود المسموح بها محليا و عالميا حيث ان المواصفة القياسة السورية رقم 2011/2605 لم تتضمن مركب الامبروليوم وكذلك الامر في الدستور الغذائي (CAC, 2024) ولكن المواصفة الاوربية و الكندية تم ادراج الحد المسموح به لهذا المركب في الانسجة العضلية و الكبد و الكلى بدون ذكر المعدة العضلية حيث كان الحد المسموح به للامبروليوم في كبد و عضلات الطيور بحسب المواصفة الاوربية (EU, 2010) 200 ميكروغرام/كغ وزن حي اما حسب المواصفة الكندية (Health Canada. 2024) فان الحد المسموح به في الكبد و العضلات هو 1000 و 500 ميكورغرام/كغ وزن حي على التوالي.

ونظراً لانعدام الأبحاث التي تناولت إجراء مسح عشوائي لتقييم مدى تواجد متبقيات مركب الامبروليوم في عضلات و أعضاء الفروج في السوق المحلية، تم التركيز في هذه الدراسة على هذا الموضوع للوقوف على مدى تواجد هذه المتبقيات و مدى أمان تناول منتجات الفروج.

2. أهداف البحث Research goals:

١. التقصي عن متبقيات مركب الامبروليوم في لحوم وأعضاء الفروج الداخلية (الكبد، المعدة العضلية) المعد للاستهلاك البشري.

٢. مقارنة متبقيات الامبروليوم التي تم الحصول عليها، مع الحد الأعلى المسموح به محلياً و عالمياً لتقدير مدى أمان استهلاك هذه المنتجات.

3. تقييم مدى الالتزام بفترات السحب لمركب الامبروليوم بعد المعالجة و قبل التسويق.

3. مواد و طرائق البحث Material and methods

مكان سحب العينات و زمانه: تم سحب العينات من أربع مناطق مختلفة في الاسواق المحلية لمدينة دير الزور خلال شهر كانون الثاني و شباط سنة 2024م

مكان إجراء التحاليل: مخبر الكيمياء الحديثة في كلية الطب البيطري لدى جامعة حماه.

جمع العينات:

تم تقسم محافظة دير الزور إلى أربع مناطق وكل منطقة إلى ست قطاعات حيث تم جمع عينات العضلات (50%صدر + 50%فخذ) و الكبد و المعدة العضلية بواقع 3 عينات لكل عضو من كل قطاع و مزجت مع بعضها لتشكل عينة واحدة بحيث يصبح لدينا ستة عينات من كل منطقة وذلك حسب الجدول التالي:

الجدول رقم (1): عدد العينات التي جمعها حسب مناطق الدراسة

العضو	منطقة 1	منطقة 2	منطقة 3	منطقة 4
عضلات	6	6	6	6
كبد	6	6	6	6
معدة عضلية	6	6	6	6

حيث وضعت العينات في اكياس ذات آلية إغلاق مكتوب عليها اسم العينة و القطاع و المنطقة ووضعت الاكياس في حافظة مبردة و حفظت في الثلاجة لحين اجراءات التحليل في المخبر.

معدات و مستلزمات الدراسة: زجاجيات بحجوم مختلفة، أكياس نايلون بآلية إغلاق، حافظات مبردة، خراطيش تنقية C18 (cartrage)، أنابيب تثفيل بلاستيك سعة 50 مل ذات غطاء وانابيب بلاتسيك لوضع المستخلص النهائي سعة 10 مل بغطاء .

المواد الكيميائية: تم استخدام مواد كيميائية من شركات عالمية معروف وهي من النوع المخبري و الخاص باستخدامات الكروماتوغرافيا السائلة وهي اسيتونتريل مخبري، فوسفات البوتاسيوم ثنائية الاهيدروجين، حمض الفوسفور، امبروليوم معياري تركيز 100% صنع شركة سيغما.

تحضير المادة المعيارية:

تم حل 10 ملغ الامبروليوم في قليل من الطور المتحرك في بالون عياري سعة 10 مل و من ثم تم اكمال الحجم بنفس المحل. بعد ذلك تم اخذ 1 مل من المحلول السابق و تم تمديده في 25 مل من الطور المتحرك ليصبح تركيز المادة المعيارية 40 ميكروغام\مل.

تحضير محلول التثبيت لاختبار الاسترجاع بعد الاستخلاص:

تم اخذ 1مل من محلول المادة المعيارية السابق و وتمديدها في 10 مل من الطور المحرك لنحصل على تركيز نهائي 100 ميكروغرام\مل.

الأجهزة والأدوات المستخدمة: ميزان دقيق طراز (HF–400)، جهاز أمواج فوق صوتية (ultrasonic) طراز (Branson)، مثقلة طراز (KUBOTA 5400)، جهاز مقياس الحموضة طراز (HM–60G)، جهاز رج (vortex) طراز (NX–10)، جهاز طحن عينات طراز ستارميكس، مازج ممغنط (Magnetic Stirrers) طراز (MR3001) ، مُجانس (Homogenizer) طراز (AM 3)،مبخّر دوار (Rotary Evaporator) طراز (R–144) صنع شركة (Buchi) اليابانية، خراطيش تنقية (Cartridge) C18، صنع شركة MN، جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) صنع شركة شيمادزو اليابانية والذي يضم (pump Lc10 AD , oven CTO–10Ac, Detector SPD–10AV, manual injector Riodain, SCL–10A, DGU–14A)، عمود تحليل C18(25 cm x 4.6 mm, 5 µm) صنع شركة SUPELCO Analytical.

طريقة الاستخلاص

تم استخلاص الامبروليوم من عينات العضلات و الكبد و المعدة العضلية بحسب طريقة الباحث Monhas و رفاقه (2023) مع بعض التعديلات: حيث تم وزن 5 غ من العينة المطحونة بشكل جيد ووضعها في انبوب تثقيل سعة 50 مل و اضافة 10 مل اسيتونتريل ثم وضعها على جهاز الرج لمدة ربع ساعة ثم يتم التثقيل على سرعة 3500د/د لمدة 10 د و بعدها يؤخذ الجزء الطافي **و يفلتر** ثم يضاف له 1مل ماء مؤين و يتم التبخير على المبخر الدوار وعلى درجة حرارة **40** درجة مئوية ثم يغسل المتبقي ب4 مل ماء مؤين و يمرر على الكارتريج للتنقية (وذلك بعد ان يتم تفعيل الكارتريج بتمرير 5مل ميثانول ثم 5 مل ماء مؤين) ثم يشطف الكارتريج بواسطة بواسطة 5مل اسيتونتريل مرتين و بعدها يتم التخير مرة اخرى و المتبقي يغسل بواسطة 2مل من محلول بفر الفوسفات و الاسيتونتريل بنسبة 1/1 وبذلك تكون العينة جاهزة للتحليل.

شروط التحليل على الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء:

تم تحليل الامبروليوم بحسب طريقة الباحث Monhas و رفاقه (2023) مع بعض التعديلات

العمود المستخدم: C18

التدفق: 1مل/دقيقة

حرارة فرن العمود: 35 درجة مئوية

حجم الحقن: 10 ميكرولتر

طول الموجة: 263 نانومتر

الطور المتحرك: 0.05 مولاري من وقاء الفوسفات (pH 5) : اسيتونتريل (30 : 70)

تحل المادة المعيارية في الطور المتحرك

تثبيت عينات الاسترجاع: تم جمع عينات عضلات و كبد و معدة عضلية من طيور غير معالجة بالامبروليوم حيث تم أخذ 5 غ عينة مطحونة من كل عضو ووضعها في انبوب تثقيل و إضافة 100 ميكروغرام\مل من المحلول العياري

للامبروليوم لكل أنبوب و اجري عليها عملية الاستخلاص كاملة كما ورد سابقا وذلك لحساب نسبة الاسترجاع و التأكد من موثوقية طريقة الاستخلاص المستخدمة.

معادلة حساب تركيز المتبقيات

بحيث F تعني معامل التمديد و std.conc تركيز المادة المعيارية

تحليل البيانات إحصائياً:

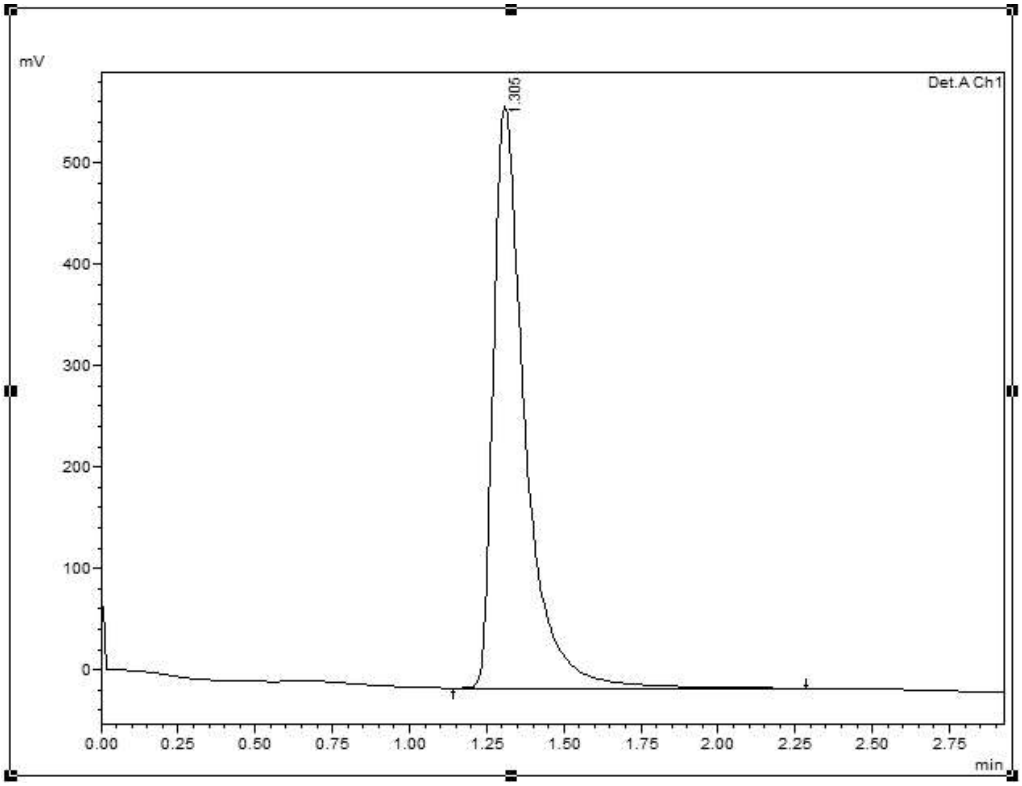
تم استخدام برنامج ميكروسوفت اكسل لحساب المتوسطات و الانحرافات المعيارية و لرسم الاشكال البيانية و تم إجراء تحليل التباين (ANOVA) باستخدام برنامج التحليل الإحصائي origen 8 لمقارنة الفروق المعنوية ذات الدلالة الإحصائية (LSD) عند مستوى معنوية 5%، لمتوسطات القيم المقاسة بين كل منطقة و أخرى.

4. النتائج Results

حساب نسبة الاسترجاع: بعد ان تم تشغيل جهاز الكروماتوغرافيا عالية الاداء و تحميل معايير التحليل الخاص بالامبروليوم و تمرير الطور المتحرك خلال المنظومة لمدة نصف ساعة حتى الوصول إلى درجة استقرار الجهاز من حيث التدفق و الضغط و درجة الحرارة تم حقن المادة المعيارية للامبروليوم عدة مرات (شكل رقم 1) ثم تم حقن مستخلص عينة التبيث المضاف لها عمدا 100 ميكروغرام من الامبروليوم لعدة مرات أيضا. بعدها تم حساب نسبة الاسترجاع بتطبيق العلاقة (نسبة الاسترجاع = تركيز عينة الاسترجاع\التركيز المضاف مضروبا في100) في كل من العضلات و الكبد و المعدة العضلية حسب ما هو مشار اليه في الجدول رقم 2.

الجدول رقم (2): نسب الاسترجاع للامبروليوم من عضلات و اعضاء الطيور المدروسة.

	العضلات	الكبد	المعدة العضلية
نسبة الاسترجاع %	92.6	96.9	95.4



الشكل رقم (1): المخطط الكروماتوغرافي للامبروليوم المعياري

من خلال الجدول رقم (2) نلاحظ تن نسبة الاسترجاع للامبروليوم في الانسجة الثلاث المدروسة كانت جميعها فوق 90% و بذلك تكون عملية الاستخلاص ذات مصداقية و يمكن الاعتماد عليها في استخلاص بقايا الامبروليوم من أنسجة و أعضاء الفروج إذ أنه و بحسب (Abu-Raya et al, 2013) و (Quaider and Hallak, 2022) يمكن قبول عملية الاستخلاص إذا كانت نسبة الاسترجاع تتراوح ما بين 60 و 105%.

متبقيات الامبروليوم في النسيج العضلي للفروج: من خلال الجدول رقم 3 نلاحظ ان جميع عينات عضلات الفروج في المنطقة الثالثة و الربعة كانت ايجابية لوجود متبقيات الامبروليوم في حين كان هناك اربع عينات في المنطقة الاولى و ثلاث عينات في المنطقة الثانية ايجابية لوجود متبقيات الامبروليوم. بالمجمل نلاحظ انه من اصل 24 عينة تم جمعها كان هناك 19 عينة ايجابية لمتبقيات الامبروليوم (79.17%) و خمسة عينات فقط لم يتم الكشف عن متبقيات للامبروليوم فيها (20.83%). ادنى تركيز لمتبقيات الامبروليوم تم الكشف كان 7.08 ميكروغرام/كغ وزن رطب (في المنطقة الاولى) و اعلى تركيز كان 203.03 ميكرغرام/كغ وزن رطب (المنطقة الثالثة).

متوسط العينات الايجابية لمتبقيات الامبروليوم في المناطق الاربعة كان على التوالي: 27.35، 51.76، 135.47 و 64.21 ميكروغرام/طغ وزن رطب في حين كان المتوسط العام في المناطق الاربعة على التوالي 18.23، 25.88، 135.47 و 64.21 ميكروغرام/كغ وزن رطب.

من الناحية الصحية لم تتضمن المواصفة القياسية السورية (2011/3605) الحد الاقصى المسموح به للامبروليوم في عضلات و اعضاء الفروج و لم يتضمن الدستور الغذائي (CAC, 2018) ايضا حدود امنة لهذا المركب و لذلك تم مقارنة النتائج التي تم التوصل اليها مع المواصفة الاوربية (EU, 37/2010) و المواصفة الكندية (VMD, 2021) حيث ان الحدود المسموح بها للامبروليوم بحسب المواصفة الاوربية في كل من العضلات و الكبد كان 200 ميكروغرام/كغ وزن رطب و بحسب المواصفة **الكندية** كان في العضلات و الكبد 500 و 1000 ميكروغرام/كغ وزن رطب على التوالي. بذلك

و بالنظر الى النتائج التي تم التوصل اليها نلاحظ ان عينة واحدة فقط (203.03 ميكروغرام/كغ وزن رطب) من عينات المنطقة الثالثة فاق تركيز متبقيات الامبروليوم الحد المسموح به بحسب المواصفة الاوربية و جميع العينات الباقية تحت الحد المسموح به و أن جميع العينات كانت تحت الحد المسموح به بحسب المواصفة الكندية (500 ميكروغرام/كغ وزن رطب).

الجدول رقم (3): تركيز متبقيات الامبروليوم في عينات عضلات الفروج وفقا لمناطق الدراسة (ميكروغرام\كغ وزن رطب)

	منطقة 1	منطقة 2	منطقة 3	منطقة 4
1	51.37	105.25	99.90	119.39
2	0	0	110.31	112.45
3	0	27.20	186.08	20.48
4	32.63	0	203.03	13.25
5	18.32	22.84	126.22	91.05
6	7.08	0	87.28	42.75
متوسط العينات الايجابية Mean±SD	19.13^{a} ± 27.35	46.37^{a} ± 51.76	47.82^{b} ± 135.47	46.97^{a} ± 66.65
متوسط عام Mean±SD	20.47^{a} ± 18.23	40.79^{a} ± 25.88	47.82^{b} ± 135.47	46.97^{a} ± 66.65

a,b,c,d اختلاف الأحرف ما بين الأعمدة دليل على وجود فروقات معنوية ($p<0.05$)

من الناحية الاحصائية: نلاحظ ان الفروقات في تركيز متبقيات الامبروليوم كانت غير معنوية ($P>0.05$) ما بين عينات المنطقة الاولى و الثانية و ما بين المنطقة الثانية و الرابعة في حين كانت الفروقات ما بين المنطقة الثالثة و بقية المجموعات معنوية ($P<0.05$). في بعض المناطق نلاحظ ان هناك عدم تجانس في تركيز متبقيات الامبروليوم و هذا ما يشير اليه الرقم الكبير و الذي احياناً يكون اكبر من المتوسط الحسابي و هذا ربما يكون دليلاً على ان العينات قادمة من مزارع مختلفة و ليست من نفس المزرعة.

نتائج متبقيات الامبروليوم في المعدة العضلية:

نلاحظ من خلال الجدول رقم (4) أن هناك اربعة عينات فقط سلبية (16.67%) لتواجد متبقيات الامبروليوم في نسيج العضلة المعدية للفروج و 20 عينة ايجابية (83.33) لتواجد متبقيات الامبروليوم فيها بتراكيز مختلفة. ايضا كما هو الحال في النسيج العضلي كانت جميع عينات المنطقتين الثالثة و الرابعة ايجابية لتواجد متبقيات الامبروليوم في حين كان هناك اربعة عينات ايجابية في كل من المنطقتين الاولى و الثانية. تركيز متبقيات الامبروليوم في جميع العينات الايجابية في جميع المناطق تراوح ما بين 11.07 و 291.96 ميكروغرام/كغ وزن رطب. المتوسط العام (ضمنا العينات السلبية) كان في عينات المناطق الاربعة على التوالي 69.36، 75.10، 219.83 و 140.41 ميكروغرام/كغ وزن رطب في حين كان متوسط العينات الايجابية 104.05، 112.65، 219.83 و 140.41 ميكروغرام/كغ وزن رطب على التوالي. من الناحية الصحية لم تتضمن جميع المواصفات الخاصة بالحد الاقصى المسموح به لمتبقيات الامبروليوم حدود مسموحة في المعدة العضلية، ولكن إذا اعتبرناها نسيج عضلي فإن جميع تراكيز متبقيات الامبروليوم في المعدة العضلية كانت تحت الحد المسموح به بحسب المواصفة الكندية (500 ميكروغرام/كغ وزن رطب) (VMD, 2021) و هناك ستة عينات

(30% من اصل العينات الايجابية) احتوت على تراكيز لمتبقيات الامبروليوم أعلى من الحد المسموح به بحسب المواصفة الاوربية (200 ميكروغرام/كغ وزن رطب) (EU, 37/2010).

احصائيا: الفروقات في تركيز متبقيات الامبروليوم ما بين عينات المنطقة الاولى و الثانية و ما بين المنطقة الاولى و الرابعة و ما بين المنطقة الثانية و الرابعة كانت غير معنوية ($P> 0.05$) في حين كانت الفروقات ما بين المنطقة الثالثة و بقية المناطق معنوية ($P< 0.05$) ان الرقم الكبير نسبيا للانحراف المعياري دليل على ان العينات غير متجانسة و ربما تكون من مصادر مختلفة.

الجدول رقم (4): تركيز متبقيات الامبروليوم في عينات المعدة العضلية للفروج وفقا لمناطق الدراسة (ميكروغرام\كغ وزن رطب)

	منطقة 1	منطقة 2	منطقة 3	منطقة 4
1	213.91	292.66	235.89	141.73
2	0	0	211.45	222.75
3	11.07	22.50	232.04	161.97
4	0	60.83	291.96	177.91
5	177.75	0	165.72	40.66
6	13.44	74.59	181.93	137.86
متوسط العينات الايجابية	**104.04 ± 107.02^{a}**	**112.65 ± 122.02^{ab}**	**219.83 ± 44.82^{c}**	**140.41 ± 52.13^{ab}**
متوسط عام	**69.36 ± 98.78^{a}**	**75.10 ± 110.98^{ab}**	**219.83 ± 44.82^{c}**	**140.41 ± 52.13^{a}**

a,b,c,dاختلاف الأحرف ما بين الأعمدة دليل على وجود فروقات معنوية ($p<0.05$)

نتائج متبقيات الامبروليوم في النسيج الكبدي:

تشير النتائج الموجودة في الجدول رقم (5) ان هناك 22 عينة كبد (91.67%) ابدت ايجابية لتواجد متبقيات الامبروليوم في النسيج الكبد و عينتان (عينة في المنطقة الاولى و اخرى في الثانية) فقط (8.33%) لم تحتوي متبقيات لهذا المركب حيث كانت جميع العينات في المنطقتين الثالثة و الرابعة ايجابية لتواجد متبقيات الامبروليوم و خمسة عينات في كل من المنطقتين الاولى و الثانية كانت ايجابية لتواجد متبقيات الامبروليوم فيها. نلاحظ ان عينات المنطقة الثالثة احتوت على اعلى التراكيز لمتبقيات الامبروليوم (شكل رقم2) و ككل تراوح تركيز متبقيات الامبروليوم في جميع العينات الايجابية في المناطق الاربعة 71.72 (المنطقة الاولى) و 933.35 (المنطقة الثالثة) ميكروغرام/كغ وزن رطب. المتوسط العام لمتبقيات الامبروليوم في المناطق الاربعة على التوالي كان 133.77، 267.89، 717.34 و 265.11 ميكروغرام/كغ وزن رطب في حين كان متوسط تركيز متبقيات الامبروليوم في العينات الايجابية على التوالي 160.52، 321.47، 717.34 و 265.11 ميكروغرام/كغ وزن رطب.

ايضا كما هو الحال في النسيج العضلي و المعدة العضلية لم تتضمن المواصفة القياسية السورية و لا الدستور الغذائي اي حدود امنة لمتبقيات الامبروليوم في النسيج الكبد و لكن بحسب المواصفة الكندية نلاحظ ان جميع تراكيز متبقيات الامبروليوم في النسيج الكبدي (1000 ميكرغرام/كغ وزن رطب) كانت ادنى من الحد الاقصى المسموح به، ولكن بحسب

المواصفة الاوربية (EU, 7/2010) فان هناك 13 عينة كبد (59.09%) تجاوز تركيز متبقيات الامبروليوم الحد الاقصى المسموح به (200 ميكروغرام/كغ وزن رطب) موزعة على الشكل التالي: ثلاث عينات في المنطقة الاولى وعينتان في كل من المنطقتين الثانية و الرابعة و جميع عينات (6 عينات) المنطقة الثالثة.

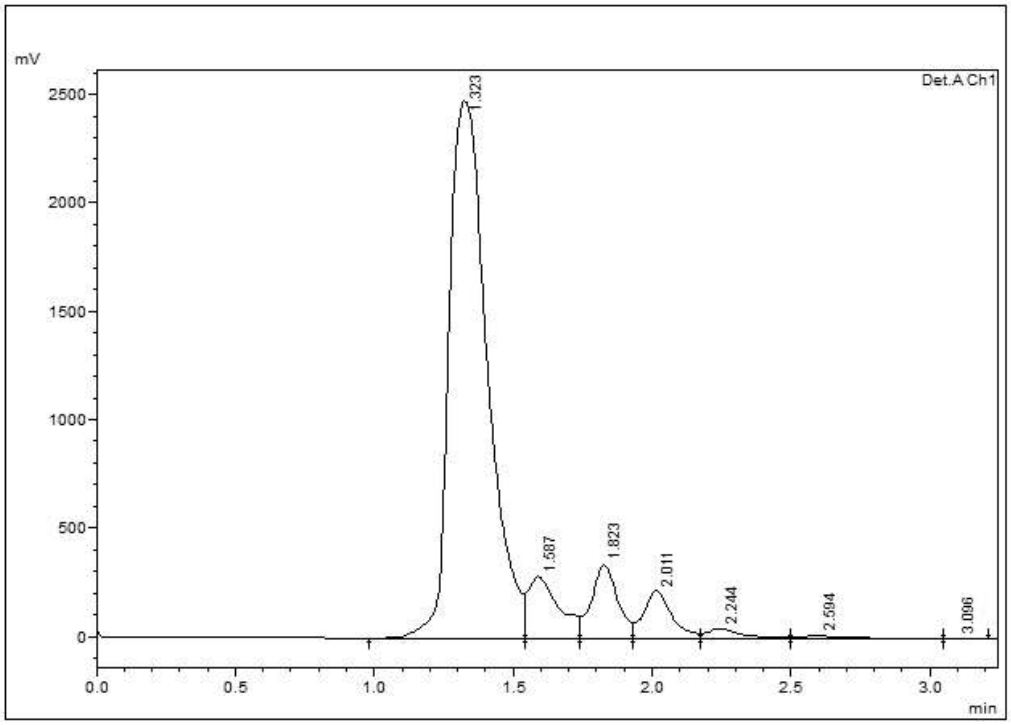
ايضا نلاحظ ان المتوسط العام و متوسط العينات الايجابية كان اعلى من الحد السموح به في المناطق الثانية و الثالثة و الرابعة في حين كان المتوسط العام و متوسط العينات الايجابية في المنطقة الاولى ادنى من الحد المسموح به بحسب المواصفة الاوربية و بالتالي فان معظم عينات الكبد التي تم جمعها من المناطق الاربعة غير صالحة للاستهلاك البشري بحسب المواصفة الاوربية.

الجدول رقم (5): تركيز متبقيات الامبروليوم في عينات كبد للفروج وفقا لمناطق الدراسة (ميكروغرام\كغ وزن رطب)

	منطقة 1	منطقة 2	منطقة 3	منطقة 4
1	67.11	124.19	479.49	229.28
2	0	234.18	676.93	720.42
3	71.72	515.07	774.13	168.70
4	132.33	0	933.35	143.53
5	312.98	62.66	615.38	130.53
6	218.47	671.25	824.74	198.20
متوسط العينات الايجابية	**160.52 ± 104.89^{a}**	**321.47 ± 261.41^{ab}**	**717.34 ± 161.26^{c}**	**265.11 ± 225.94^{abd}**
متوسط عام	**133.47 ± 114.44^{a}**	**267.89 ± 268.13^{ab}**	**717.34 ± 161.26^{c}**	**265.11 ± 225.94^{abd}**

a,b,c,dاختلاف الأحرف ما بين الأعمدة دليل على وجود فروقات معنوية ($p<0.05$)

من الناحية الاحصائية: الفروقات في تركيز متبقيات الامبروليوم ما بين عينات الكبد في مناطق الدراسة كانت معنوية ($P<0.05$) ما بين الاولى و الثالثة و ما بين المنطقة الثانية و الثالثة و مابين الثالثة و الرابعة و كانت الفروقات غير معنوية ما بين المناطق الاخرى ($P>0.05$). نلاحظ ايضا من خلال الجدول السابق ان هناك تشتت في تركيز متبقيات الامبروليوم و هذا ما يشير اليه الانحراف المعيارية الكبير نسبيا و هذا دليل على ان العينات ليست من مصدر واحد.



الشكل رقم (2): المخطط الكروماتوغرافي لمتبقيات الامبروليوم في عينة كبد

5-المناقشة:

تشير النتائج التي تم الحصول عليها كما هو موضح في الجداول (3، 4 و 5) ان هناك كثافة في استخدام الامبروليوم في معالجة الكوكسيديا حيث انه من اصل 72 عينة تم جمعها من اربعة مناطق مختلفة في محافظة دير الزور كان هناك 61 عينة (84.72%) ابدت ايجابية لتواجد متبقيات للامبروليوم، و هناك فقط 11 عينة (15.28%) لم يتم الكشف فيها عن اي متبقي لمركب الامبروليوم. جميع عينات المنطقتين الثالثة و الرابعة كانت ايجابية سواءاً انسجة عضلية او معدة عضلة او كبد. اعلى تركيز لمتبقيات الأمبرليوم كانت في الكبد حيث تراوح التركيز ما بين 62.66 و 933.24 ميكروغرام/كغ وزن رطب كان هناك 14 عينة كبد (63.63%) تجاوز تركيز متبقيات الأمبروليوم الحد المسموح به حسب المواصفة الاوربية (EU, 7/2010). تركيز متبقيات الامبروليوم في المعدة العضلية تراوح ما بين 11.07 و 191.96 ميكروغرام/كغ وزن رطب منها 6 عينات تجاوز تركيز المتبقيات فيها الحد المسموح به. في النسيج العضلي تراوح التركيز ما بين 7.08 و 203.03 ميكروغرام/كغ وزن رطب منها عينة واحدة فقط تجاوز تركيز المتبقيات فيها الحد المسموح به (200 ميكروغرام/كغ وزن رطب) حسب المواصفة الاوربية

تتوافق نتائج هذه الدراسة مع دراسة مسحية قام بها الباحث Manhas ورفاقه (2023) للوقوف على حالة متبقيات الامبروليوم في اربع مدن من مقاطعة JMMU في الهند حيث تم جمع 15 عينة من كل عضو (عضلات، كبد و كلى) في كل منطقة و تم تحليل متبقيات الامبروليوم. اشار الباحث ان نسبة العينات الايجابية لمتبقيات الامبروليوم في الكبد و الكلى و العضلات في جميع المناطق كانت على التوالي 66.66، 73.33 و 86.66%. نسبة العينات الايجابية لمتبقيات الامبروليوم في المدينة الاولى بالنسبة للكبد و الكلى و العضلات 100، 100 و 90% على التوالي و في المدينة الثانية 90، 85 و 55% على التوالي و في المدينة الثالثة 85، 65 و 70% على التوالي اما في المدينة الرابعة 100، 80 و 85% على التوالي.

اعلى تركيز لمتبقيات الامبروليوم كان في عينات الكبد في كل المناطق يليه في عينات الكلى و ادنى تركيز كان في عينات العضلات. تركيز متبقيات الامبروليوم في جميع العينات التي تم اختبارها كانت ادنى من الحد المسموح به (1000 ميكروغرام/كغ وزن حي بالنسبة للكبد و الكلى ة 500 ميكروغرام/كغ وزن حي بالنسبة للعضلات).

تركيز متبقيات الامبروليوم في عينات الكبد المختبرة تراوح ما بين 26–814 بمتوسط 270.32 في المدينة الاولى و صفر–682.03 بمتوسط 219.06في المدينة الثانية و من صفر–125.34 بمتوسط 42.09في المدينة الثالثة و 14.26–549.73 بمتوسط 169.15 ميكروغرام/كغ وزن حي في المدينة الرابعة.

تركيز متبقيات الامبروليوم في عينات العضلات المختبرة تراوح ما بين صفر– 315.57 بمتوسط 71.15 في المدينة الاولى و صفر–39.48 بمتوسط 3.56 في المدينة الثانية و صفر–8.92 بمتوسط 1.69 في المدينة الثالثة و اخير صفر–40.16 بمتوسط 12.51 ميكروغرام/كغ وزن حي في المدينة الرابعة. عدا هذه الدراسة لم نجد مراجع تناولت دراسة متبقيات الامبروليوم في انسجة الطيور ولكن هناك دراسات تجريبية تناولت داسة متبقيات الامبروليوم بعد اعطاء جرعة منه اما عن طريق الماء او عن طريق العلف (EMEA, 2001) و نتائجها كانت قريبة من نتائجنا من حيث ان التركيز الاعلى لمتبقيات الامبروليوم كان في الكبد و الادنى في العضلات و بالمقابل لم نجد اي دراسة تناولت الكشف عن متبقيات الامبروليوم في المعدة العضلية

تدل النتائج التي تم الحصول عليها عن هناك كثافة في استخدم مركب الامبروليوم في معالجة الكوكسيديا و أن هناك عد التزام واضح في فترة سحب الدواء حيث تم تسويق الطيور قبل انقضاء الفترة القانونية.

6–الاستنتاجات

1. معظم العينات التي تم تحليلها (84.72%) كانت ايجابية لمتبقيات الامبروليوم فيها

2. من اصل 61 عينة ايجابية لمتبقيات الامبروليوم كان هناك 21 عينة (34.43%) فاق تركيز متبقيات الامبروليوم الحد الاقصى المسموح به بحسب المواصفة الاوربية منها عينة عضلات واحدة و 6 عينات معدة عضلية و 14 عينة كبد.

3. تم الكشف عن متبقيات الامبروليوم في المعدة العضلية لأول مرة (لا يوجد دراسات سابقة) حيث كانت التراكيز التي تم الكشف عنها ادنى مما هو عليه في الكبد و اعلى مما هو عليه في النسيج العضلي.

4. هناك عدم التزام واضح في فترة سحب الامبروليوم و تم تسويق الطيور بصورة غير قانونية قبل انقضاء فتر السحب.

7–التوصيات

1. تكثيف الدراسات المسحية عن تواجد متبقيات مضادات الكوكسيديا الاخرى و خاصة المستخدمة مع العلف كونها تعطى بشكل مستمر طيلة فترة التربية

2. دراسة متبقيات الامبروليوم و مضادات الكوكسيديا الاخرى عند الطيور الاخرى و خاصة البياض للوقوف على مدى تواجد متبقيات له في البيض

3. توعية المربين و الاطباء البيطريين بضرورة الالتزام بفترات السحب للأدوية لما له من اهمية كبيرة في الصحة العامة

8–المراجع: References

1. شريف، عبد اللطيف (2021). التحري عن وجود ثمالات بعض الصادات الحيوية في منتجات الدواجن المستخدمة في تغذية الإنسان. رسالة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة تشرين.
2. هيئة المواصفات و المقاييس العربية السورية . (2011). المواصفة القياسية السورية رقم 3605\2011 . الحدود القصوى المسموح بها للأدوية البيطرية في المنتجات الحيوانية.

3. Abou-Raya S. H, Shalaby A, Salma N .A, Emam W. H and Mehaya F. M. (2013). Effect of ordinary cooking procedures on tetracycline residues in chicken meat. Journal of Food and Drug Analysis, vol. 21(1), pp: 80-86.
4. CAC (Codex Alimentarius Commission), FAO/WHO Food Standards (2018). Maximum Residue Limits (MRLs) and Risk Management Recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods. CX/MRL 2-2018. pp. 1-46.
5. Clanjak-Kudra E, Alagic D.Smajlovic M, Smajlovic A.Mujezinovic I, Magoda A and Jankovic S. (2021). Coccidiostats in table eggs, liver and poultry meat on the market in Bosnia and Herzegovina. IOP Conf. Ser: Earth Environ. Sci. 854 (2021)012016).
6. EMEA (2001) Amprolium summary report (2). EMEA/MRL/767/00-Final. The European agency for the evaluation of medicinal products, Committee for veterinary medicinal products.
7. EU 37/2010. Commission Regulation No 37/2010 in 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. Official Journal of the European Union L 15/1.
8. FAO. (1995). Residues of some veterinary drugs in animals and foods. Monographs by the forty-fifth meeting of the Joint FAO\WHO Expert committee on food additives.
9. Goetting V., Lee K A and Tell L A. (2011). Pharmacokinetics of veterinary drugs in laying hens and residues in eggs: a review of the literature. J. Vet. Pharmacol. Therap. Doi:10.1111/j. 1365-2885, pp:1-36.
10. Health Canada (2024). List of Maximum Residue Limits (MRLs) for Veterinary Drugs in Foods. Government of Canada.
11. Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., Zaidi, A.K., Wertheim, H.F., Sumpradit, N et al.(2013). Antibiotic resistance-the need for global solutions. Lancet Infect. Dis.,13: 1057-1098.
12. Manhas L, Pankaj N, Verma P and Rahman S. (2023). Status of amprolium residue in poultry meat sold in Jammu region of UT of J. & K. Journal of Veterinary Pharmacology and Toxicology, vol. 22(1): 8-10.
13. Matus and Boison. (2016). A multi-residue method for 17 anticoccidial drugs and ractopamine in animal tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry. Drug Test Analysis, vol. 8: 465-476.
14. Mortier L،Daesleire E, Huyghebaert G, Grijspeerdt K and Van Petegem. (2005). Detection of resues of the anticoccidialdiclazuril in poultry tissues by LC-MS/MA after withdrawal of medicated feed. XVII th European Symposium on the Quality of Poultry Meat Doorwerth, The Netherlands, 23-26 May 2005.

15. Naimovich N and Urakov B. (2021) Results of the Study the Content of Amprolium in Meat, Eggs, Organs and Tissues in Chickens. International Journal on Integrated Education, vol. 4(10): 131-135.
16. Quaider Ahmad and Hallak Abdulkarim (2022). Detection of tetracycline residues in broiler kidney samples in Damascus Countryside Governorate – Syria. Journal of Hama University – vol.5 (9),: 121-142.
17. Said AA, El-Nabtity SM, El-Aziz AMA, Elassal El (2019). Residues of anticoccidial drug (diclazuril) in different broiler tissues by high performance liquid chromatography. Adv. Anim. Vet. Sci. vol. 7(s2): 19-25.
18. Veterinary Medicines Directorate (VMD) . (2021) Maximum residues limits in Great Britain. First published, February 2021.