الكشف عن ثمالات الدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين في عينات كبد الفروج من محلات بيع الفروج في مدينة اللاذقية– سورية

م. عبد اللطيف شريف* أ. د. علي نيصافي ** أ. د. توفيق دلّا*** د. عبد الكريم حلّاق***

(الإيداع: 13 آيلول 2020 ، القبول: 3 تشرين الثاني 2020)

الملـخّص:

هدفت الدراسة الى الكشف عن محتوى كبد الفروج من الصادين الحيويين الدوكسي سايكلين Doxycycline والإنروفلوكساسين Enrofloxacin ومقارنة هذه النتائج مع الحدود القصوى للثمالات (MRLs) المسموح بها محلياً وعالمياً، لتقدير أمان وصلاحية استهلاكه البشري.

تم جمع 96 عينة عشوائية من كبد الفروج من أسواق مدينة اللاذقية خلال عام 2018، وتم استخلاصها وتحليلها على جهاز HPLC باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء في مخابر وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي بدمشق.

حيث بيّنت النتائج ارتفاعاً في مستويات الدوكسي سايكلين في العينات (278.11– 2008.01 µg/kg)، وأظهرت 87.5 % من العينات ايجابيةً لوجود هذا الصاد، وتجاوزت 83.3 % من العينات الإجمالية الحد الأقصى المسموح به من ثمالاته MRL في كبد الفروج.

وبينت النتائج ارتفاعاً في مستويات الإنروفلوكساسين في العينات (86.67– 308.48 µg/kg)، وأظهرت 91.67% من العينات ايجابيةً لوجوده، وتجاوزت 45.8% من العينات الإجمالية الحد الأقصى المسموح به من ثمالاته MRL في كبد الفروج. مما يستدعي ضرورة وجود مراقبة صارمة لمحتوى الصادّات الحيوية في ذبائح الفروج.

وأظهر التحليل الإحصائي لنتائج الدوكسي سايكلين وجود فروق معنوية $P\leq0.05$ عند مقارنة متوسط تركيزه في عينات الربع الثالث بمتوسط تركيزه في عينات باقي الأرباع، وللإنروفلوكساسين عند مقارنة متوسط تركيزه في عينات الربع الثاني بمتوسط تركيزه في عينات باقي الأرباع.

الكلمات المفتاحيّة: بقايا– الدوكسي سايكلين– الإنروفلوكساسين– كبد الفروج

* طالب دكتوراه بقسم الإنتاج الحيواني– كلية الزراعة– جامعة تشرين

** أستاذ في قسم الإنتاج الحيواني– كلية الزراعة بجامعة تشرين– سورية

***أستاذ في قسم الإنتاج الحيواني– كلية الزراعة بجامعة تشرين– سورية.

****مدرس في كلية الطب البيطري – جامعة حماه– سورية .

Detection of Doxycycline and Enrofloxacin residues in broiler liver samples collected from Latakia markets – Syria

Eng.Abdullatif Charif* Prof.Dr.Ali Nisafi Prof.Dr.Tawfik Dalla*** Dr.Abdulkarim Hallak****

(Received: 13 September 2020, Accepted: 3 November 2020)

Abstract:

The study aimed to detect the content of broiler liver from the antibiotics Doxycycline and Enrofloxacin, and to compare results with the maximum residue limits (MRLs) allowed locally and internationally, to assess the safety and validity of its human consumption.

96 random samples of broiler liver were collected from the markets of Latakia during 2018, and they were extracted and analyzed on HPLC device using high-performance liquid chromatography technology in the laboratories of the Ministry of Agriculture in Damascus.

The results showed an increase in Doxycycline levels (278.11- 2008.01 µg/ kg), and 87.5% of the samples was positive for its presence, and 83.3% of the total samples exceeded the MRL in broiler livers. The results also showed an increase in the Enrofloxacin levels (86.67-308.48 µg/ kg), and 91.67% of the samples showed positive results, and 45.8% of the total samples exceeded the MRL in broiler livers. This necessitates strict control over the content of antibiotics in broiler carcasses.

Statistical analysis of the Doxycycline results showed significant differences $P \leq 0.05$ when comparing its mean concentration in the third quarter with the mean of other quarters, and for Enrofloxacin when comparing its mean concentration in the second quarter samples with the mean of other quarters.

Keywords: residues, Doxycycline, Enrofloxacin, broiler liver

*PhD student, Animal Production Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Syria

**Professor in the Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Syria.

***Professor in Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Syria.

****Lecturer in the Faculty of Veterinary Medicine, University of Hama, Syria

1- المقدمة

الصادّات الحيوية **Antibiotics** هي المواد أو المركبات التي تقتل أو تثبط نمو الجراثيم، وتنتمي الصادّات المستخدمة في علاج الحيوانات والإنسان إلى نفس المجموعات في كثير من الأحيان، وتكون لها نفس آلية العمل تجاه الجراثيم، مما يجعل الفرصة مؤاتية لانتقال الجراثيم المقاومة لها إلى الإنسان، أو نشر آليات المقاومة الخاصة بها، فيتسبب ذلك بفقدان الفعالية العلاجية لدى الحيوانات المعالجة ولدى المستهلك لمنتجاتها Diarra and Malouin (2014).

وتشكل لحوم الدواجن بديلاً عن لحوم الأغنام والأبقار نظراً لمواصفاتها الغذائية المتميزة كونها قليلة الدسم وتحتوى على نسبة عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة ومستوى منخفض من الكولسترول، مما جعل منها أغذية وظيفية توفّر المواد النشطة حيويّاً كمشتقّ حمض اللينوليك والفيتامينات والمواد المضادة للأكسدة، إضافة الى طعمها المحبب وسهولة تحضيرها وسعرها المنخفض المناسب لشرائح اجتماعية كبيرة وفقاً للباحث Givens (2009).

وقد رافق تطور صناعة الدواجن زيادة في فرص انتشار الأمراض مما أدى الى استخدام كميات كبيرة ومتنوعة من الأدوية (الصادّات الحيوية) للوقاية والعلاج منها ولزيادة معدلات النمو وتحسين الإنتاج، وتختلف طريقة إعطاء الصادات وحجم جرعاتها تبعاً لمرحلة ونوع الإنتاج، وخطر الإصابة بالأمراض، وتعطى مع الأعلاف أو مع مياه الشرب أو عن طريق الحقن بشكل منفرد كمركب واحد، أو على شكل خليط من مركبات عدّة متنوعة، تتآزر مع بعضها البعض لتصبح أكثر فاعلية ضد مجموعة متنوعة من الأمراض، وقد يؤثر استخدام أحدها في فاعلية الأنواع الأخرى، ويحدث نوع من التضاد فيما بينها Veerapandian وآخرون (2013). إلا أن إعطاء جرعات غير مناسبة منها دون التقيد بفترات السحب Withdrawal Period أدى الى تراكم ثمالات منها في أنسجة ومنتجات الطيور المعالجة، مما تسبب بانخفاض جودة لحومها وعدم صلاحيتها للاستهلاك Mehtabuddin وآخرون (2012)، ويختلف معدل تراكم الثمالات من صادّ الى آخر ومن نسيج إلى آخر إذ بينت الدراسات تركزها في أعضاء الاستقلاب كالكبد و+الاطراح كالكلى بالدرجة الأكبر في حين يكون تراكمها بدرجة أقل في الأنسجة العضلية وفقاً لأبحاث Wijayanti and Rosetyadewi (2011).

يتسبب وجود ثمالات من الصادات الحيوية في لحوم ومنتجات الدواجن بمخاطر كبيرة على صحة المستهلك، وقد وضعت منظمة الصحة العالمية WHO (2015) خطة لمراقبة استخدامها كأحد أوجه الاستراتيجيات المتبعة لمنع حدوث المقاومة الدوائية، فتم حظر استخدام بعضها وتقييد استخدام بعضها الآخر، واعتمد حد أقصى لمستواها في اللحوم والمنتجات الحيوانية Maximum Residues Limits (MRLs) من قبل الاتحاد الأوروبي (EU 37/2010)، ومن قبل هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية (3605/ 2011) لتنظيم محتوى المنتجات الحيوانية منها، واعتمد المستويان (300 و200 µg/kg) كحد أقصى لثمالات الدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين في كبد الدواجن، على التوالي، واعتبرت لحوم الدواجن آمنةً للاستهلاك البشري بعد فترة سحب Withdrawal period (المدة التي يتم التوقف فيها عن إعطاء الصادّات للحيوانات قبل الذبح وتكون كافية لاستنفاذ المركبات داخل لحومها بشكلٍ كافٍ) مدتها تسعة أيام للدوكسي سايكلين Mestorino وآخرون (2018) وخمسة أيام للانروفلوكساسين San Martin وآخرون (2009).

يختلف تركز واستنفاذ ثمالات الصادات الحيوية في اللحوم والمنتجات الحيوانية تبعاً للصاد المستخدم والجرعة الدوائية المعطاة وطريقة إدارتها وكذلك تبعاً للأنواع الحيوانية وقد تتأثر هذه الاختلافات بكمية مياه الشرب المتناولة من قبل الطيور Küng and Wanner (1994).

ويعد **الدوكسي سايكلين Doxycycline** من أكثر صادات مجموعة التتراسكلينات كفاءةً، لامتصاصه السهل من قبل الأمعاء ووصوله الى أعلى مستوى له في المصل بعد أقل من ثلاث ساعات من تناوله، وتأثيره المديد، نظراً لإفرازه البطيء عن طريق الكلى، وهو واسع الطيف مثبط للجراثيم سالبة وموجبة غرام الهوائية واللاهوائية، ومن أكثر الصادّات استعمالاً لعلاج الأمراض

التنفسية والهضمية (كالعصيات القولونية، والسالمونيلا، والتهابات المكورات العنقودية، وميكوبلازما الطيور والمتدثرات) ويعطى مع مياه الشرب، ويتميز بقدرة ذوبان عالية في الدهون وامتصاص كامل وتوزع سريع في الأنسجة ويتسبب وجود ثمالات منه في المنتجات الحيوانية بمخاطر كثيرة على صحة المستهلك كضعف نمو الأجنة وتلطّخ الأسنان لدى الأطفال، واضطرابات في الجهاز الهضمي، والتسمم الخلوي، وتأثيرات مناعية خطرة Lawal وآخرون (2015).

أما الإنروفلوكساسين **Enrofloxacin** فيتبع لمجموعة الفلوروكينولونات، وهو صاد ذو طيفٍ واسع التأثير ضد الجراثيم السالبة والموجبة لغرام، يعطى للدواجن مع مياه الشرب أو الأعلاف لعلاج الالتهابات الهضمية والتنفسية والبولية، ويمتص بشكل سريع وشبه كامل من الجهاز الهضمي، ويتوزع بسرعة في اللحوم ويطرح عن طريق الكلى، ويؤدي تراكمه بمستويات عالية في اللحوم الى العديد من الآثار السلبية على الحيوانات والإنسان كتلف المفاصل الشبابي والتأثير الوظيفي في عمل الكلية والعين والجهاز العصبي المركزي Suto وآخرون (1992). وببعض ردود الأفعال التحسّسية وبانتقال مسببات الأمراض المقاومة للفلوروكينولونات كالـ Campylobacter إلى الإنسان.

وقد أظهرت الكثير من الدراسات تراكماً لثمالات (Residues) الدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين في أنسجة ومنتجات الدواجن بمستويات تفوق في كثير منها الحدود الآمنة، ويبين الجدول (1) بعض هذه الدراسات.

الجدول رقم (1) : بعض الدراسات المرجعية لثمالات الدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين في كبد الفروج

الصاد الحيوي	النسبة المئوية للعينات الايجابية	المرجع	البلد
الدوكسي سايكلين	100% لصاد على الأقل من التتراسكلينات	Al–Ghamdi et al., 2000	السعودية
	% 43	Sarker et al., 2018	بنغلادش
	% 16	Salama et al., 2011	مصر
الإنروفلوكساسين	% 90	Attari et al., 2014	إيران
	% 100	Salehzadeh et al., 2007	إيران
	% 33.31	Sultan, 2014	العراق
	% 78.7	Aslam et al., 2016	الباكستان

2– هدف البحث وأهميته:

– تتسبب ثمالات الصادّات الحيوية بمخاطر صحية كبيرة على الإنسان والحيوان، تتمثل بحدوث السرطانات والطفرات الجينية وأمراض نقي العظام، وبكثير من أشكال الحساسية والاضطرابات، مما ينتج عنه خسائر اقتصادية ناتجة عن ارتفاع كلف الإنتاج، بسبب انخفاض معدلات النمو وارتفاع نسب النفوق، وبأضرار صحية متنوعة على الإنسان، وقد تنتقل إليه سلالات جرثومية مقاومة، يضاف الى ذلك تعذّر تسويق المنتجات المحتوية عليها الى أسواق الكثير من الدول، ويسهم تحديد مدى تراكم الصادّات في اللحوم في ضبط استخدام هذه المركبات، مما يحسن من جودة وصحة الغذاء.

– هدف هذا البحث الى الكشف عن مستويات (الدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين) في عينات عشوائية من كبد الفروج المجمّعة من محلات بيع الفروج في مدينة اللاذقية، وتقييم مدى أمانها للاستهلاك البشري من خلال مقارنة هذه النتائج بالحدود القصوى للثمالات المحددة من قبل هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية.

3– المواد وطرائق البحث

أ– العينات وموقع تنفيذ التجربة: تم جمع عينات عشوائية من كبد الفروج من محلات بيع اللحوم تشمل كامل المساحة الجغرافية لمدينة اللاذقية، للكشف عن محتواها من (الدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين) خلال عام 2018 وفقاً لما يلي:

- 96 عينة من كبد فروج تم جمعها بمعدل ثمان عينات في كل شهر وعلى امتداد العام (8*12=96).
- تم دمج كل أربع عينات من كل شهر مع بعضها البعض لتكون عينة واحدة، وليكون مجموع العينات التي سيتم تحليلها في كل شهر عينتين (بعد تقسيم المدينة جغرافياً الى قطاعين شمال وجنوب الاوتوستراد الواصل بين جامعة تشرين وشارع المغرب العربي وصولاً الى الكورنيش البحري)
- قسّمت السنة لأربع فترات (أرباع) كل منها ثلاثة أشهر، ليكون عدد العينات التي سيتم تحليلها كل ربع ست عينات.

مما يعكس إلى حد كبير الواقع الصحي لكبد الفروج المستهلك في المدينة، وعلى مدى عام كامل يشمل مختلف الظروف البيئية وما يرتبط بها من أمراض تستدعي استخدام الصادّات الحيوية وغيرها من العقاقير خلال فترة التربية.

تم وضع كل عينة (بعد الدمج) في كيس من النايلون مدعم بآلية إغلاق وحفظها في حافظة مبردة، وإرسالها الى المختبر لتحفظ بدرجة حرارة –18 مئوية لحين البدء بعمليات الاستخلاص والتي تمت خلال 48 ساعة من الجمع.

وكان مخطط عمليات التحليل وفقاً لما هو مبيّن في الجدول (2).

الجدول رقم (2): مخطط عمليات التحليل للدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين خلال السنة

الربع	عدد عمليات التحليل للدوكسي سايكلين	عدد عمليات التحليل للإنروفلوكساسين
الأول(ك2– شباط– آذار)	6	6
الثاني(نيسان– أيار– حزيران)	6	6
الثالث(تموز– آب– أيلول)	6	6
الرابع(ت1– ت2– ك1)	6	6
المجموع	24	24
	48	

ب– المواد والأجهزة المستخدمة في التحليل:

جميع المحلّات العضوية والمواد الكيميائية التي استخدمت من انتاج شركة Merck السويسرية وذات نقاوة عالية من الصنف (HPLC– grade) تناسب إجراء هذا النوع من التحاليل، أما المواد المعيارية لكل من الدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين فكانت من انتاج شركة Sigma وبتركيز 100%. واستخدم جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC من انتاج شركة Shimadzu اليابانية ذو الطراز LC20، وتمت عملية الفصل باستخدام العمود الكروماتوغرافي C18 x 25 cm (4.6 mm, 5 µm) من شركة Supelco Analytical، وكانت الأجهزة والمعدات ذات دقة عالية ومن انتاج شركات عالمية معروفة. وأجريت التحاليل في مخابر وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي بدمشق.

ج– استخلاص وتحليل الدوكسي سايكلين: اتبعت الطريقة الرسمية لتحليل التتراسايكلينات رقم 995.09 المعدّة من AOAC (1995) والتي تتلخص بتحضير كل من محلولي الاستخلاص McIlvaine Buffer–EDT والشطف Methanolic oxalic acid، وفق الأصول. وتم إخراج العينة من الثلاجة وطحنها حتى التجانس ثم أخذت منها 5 غ ووضعت في أنبوب التثقيل، أضيف إليها 20 مل من محلول الاستخلاص، وأغلق الأنبوب بالسدادة ثم وضع على جهاز الرج Vortex لمدة 10

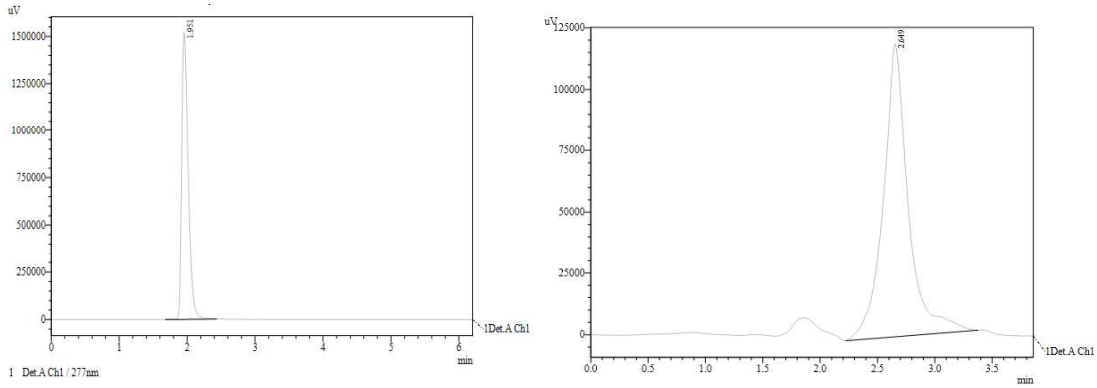
دقائق، بعد ذلك تم تثفيل العينة على سرعة 2500 دورة بالدقيقة لـ 10 دقائق، وأخذ الجزء الطافي منها ووضع في أنبوب نظيف أضيف إليه 20 مل من محلول الاستخلاص، ووضع بعد ذلك على جهاز الرج لـ 5 دقائق وثفّلت العينة على نفس السرعة، وأخذ الجزء الطافي وأضيف الى الجزء السابق، وتم تكرار العملية نفسها بإضافة 10 مل من محلول الاستخلاص، وبعد التثفيل أضيف الجزء الطافي الى الجزأين السابقين، وتم ترشيح المستخلص الناتج بفلتر ترشيح بعد إشباعه بمحلول الاستخلاص للتخلص من أية أجزاء عضوية في محلول العينة.

وتمت 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، بعد ذلك شطفت بمحلول الشطف وهو حمض ميثانوليك أوكزاليك والذي يعتبر 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 وبهذا يصبح مستخلص العينة جاهزاً للتحليل على جهاز HPLC. وتمت عملية الفصل (التحليل) باستخدام عمود C18 وطور متحرك ناتج عن مزج ثلاث محاليل هي (حمض الأوكزاليك والاسيتونتريل والميثانول) بنسب مزج (10/30/60)، على التوالي، وبتدفق 1 مل/دقيقة ودرجة حرارة 40 مئوية وطول موجة 350 نانومتر، وتم تحضير المحلول المعياري للدوكسي سايكلين بتركيز 50 ميكروغرام/مل وفق الأصول التي تعتمدها هذه الطريقة.

د– استخلاص وتحليل الإنروفلوكساسين: اعتمدت طريقة García Ovando وآخرين (2004). والتي تتلخص بتحضير محلول Phosphate Buffer Solution وفق قواعد هذه الطريقة. وتمت عملية الاستخلاص بإخراج العينة من الثلاجة وطحنها بشكل جيد حتى الوصول الى درجة التجانس وأخذ كمية 1 غ منها ووضعها في أنبوب تثفيل سعة 50 مل، أضيف إليها 10 مل من محلول دارئة الفوسفات وتم خلط المزيج بشكل جيد، ثم أضيف إليه 40 مل من الديكلورومیثان ووضع المزيج على جهاز الرج Vortex لـ 5 دقائق، بعد ذلك تم تثفيل العينة على سرعة 4000 دورة في الدقيقة لـ 20 دقيقة، ثم أخذ الجزء الطافي إلى أنبوب نظيف، وأضيف الى الجزء السفلي (العضوي) 30 مل ديكلورميثان، وأعيد الاستخلاص ثانية ويوضع المزيج على المثفّلة لـ 20 دقيقة بسرعة 4000 دورة/ دقيقة، ثم أخذ الجزء الطافي وأضيف إلى الجزء الأول، وتم تبخير المستخلص على جهاز المبخر الدوار بحرارة 30 مئوية وتحت مسرى من غاز النيتروجين، وبعد تمام التبخير تم حل المتبقي بـ 1 مل من الطور المتحرك لتصبح العينة جاهزة للتحليل على جهاز HPLC. وتمت عملية التحليل (الفصل) باستخدام كاشف المصفوفة الضوئية (Photodiode Array) عند طول موجة 278 nm (يمكن للكاشف إجراء مسح طيفي على كامل المجال ويمكن من خلاله قياس الامتصاصية لأربعة أطوال موجية بآنٍ واحدٍ) وتمت العملية عند درجة حرارة فرن العمود 40 مئوية، وتدفق 1 مل/دقيقة واستخدم العمود C18 كطور صلب، أما الطور المتحرك فكان ماء منزوع الشوارد: أسيتونتريل: تري إيثيل أمين (80: 19: 1)، على التوالي، بدرجة حموضة PH= 3 (عن طريق حمض الفوسفور) وتم تحضير المحلول المعياري للإنروفلوكساسين بتركيز 50 ميكروغرام/مل وفق الأصول.

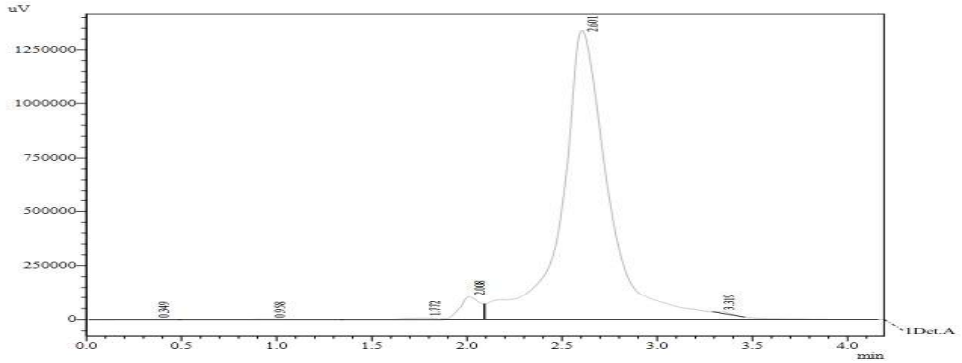
تم التحقق من الطريقة المتبعة في الاستخلاص والتحليل بإضافة 100 ميكروغرام من كل من الدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين، الى كبد فروج مأخوذ من مزارع لم تستخدم فيها أي من مركبات هذه الصادّات (شاهد)، وتم تطبيق عملية الاستخلاص بكامل مراحلها عليها والتحليل لكل مادة، فكانت (Recovery) نسبة الاسترجاع: 95.91 و98.16% للدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين، على التوالي، وهي نسب جيدة تعطي ثقة بطريقة الاستخلاص والتحليل المطبقة، بعد ذلك حقنت كمية من الدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين المعياريين بشكل منفرد لمعرفة زمن الاحتباس لكل منها على حده، ثم حقن مزيج من الصادين معاً بتركيز 50 ميكروغرام/مل لكل منها عدة مرات، وكان زمن الاحتباس للدوكسي سايكلين 2.649

دقيقة، وللانروفلوكساسين 1.951 دقيقة، ويبين المخطط (1) كروماتوغرام المادة المعيارية لكل من الدوكسي سايكلين (الى اليمين) والإنروفلوكساسين (الى اليسار)



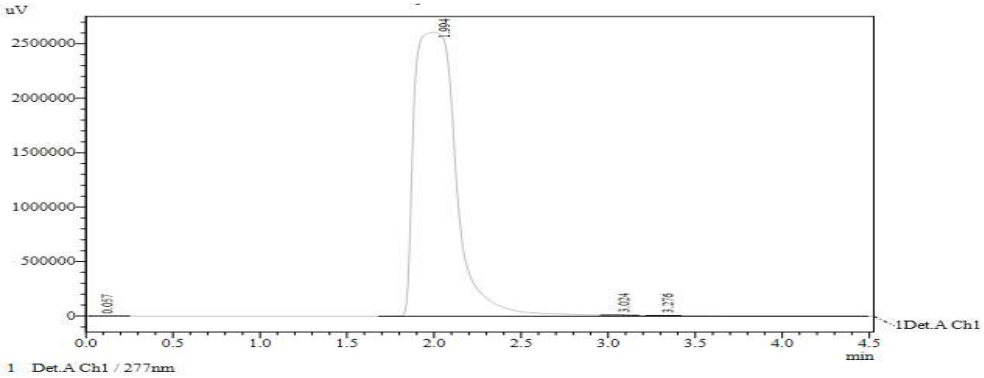
المخطط رقم (1): كروماتوغرام المادة المعيارية للدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين

بينما يبين المخطط (2) كروماتوغرام ثمالات الدوكسي سايكلين في عينة الكبد رقم (13)



المخطط رقم (2): كروماتوغرام ثمالات الدوكسي سايكلين في عينة الكبد رقم (13)

ويبين المخطط (3) كروماتوغرام ثمالات الإنروفلوكساسين في عينة الكبد رقم (10)



المخطط رقم (3): كروماتوغرام ثمالات الإنروفلوكساسين في عينة الكبد رقم (10)

وتم حساب التراكيز في العينات وفق المعادلة التالية:

تركيز المادة في العينة µg/kg = تركيز الستاندرد (المعيار) µg/kg* (مساحة ذروة العينة /مساحة ذروة الستاندرد)* (حجم المستخلص النهائي مل/ وزن العينة غ)

أستخدم في تحليل النتائج برنامج التحليل الإحصائي SPSS 18 (Statistical Program for Social Sciences)، لمقارنة الفروق المعنوية ذات الدلالة الإحصائية LSD بين المتوسطات عند مستوى معنوية 5 %.

4- النتائج والمناقشة:

أولاً: محتوى الدوكسي سايكلين في العينات

تم تقدير محتوى الدوكسي سايكلين في عينات كبد الفروج، وكانت النتائج ايجابية في نسبة كبيرة منها وتجاوزت الحدود القصوى المسموح بها في معظم العينات، والجدول (3) يبين القيم التي تم الحصول عليها.

الجدول رقم (3): نتائج تحليل الدوكسي سايكلين في كبد الفروج (µg/kg)

الربع الأول (1- 2- 3)		الربع الثاني (4- 5- 6)		الربع الثالث (7- 8- 9)		الربع الرابع (10- 11- 12)	
العينة	التركيز µg/kg	العينة	التركيز µg/kg	العينة	التركيز µg/kg	العينة	التركيز µg/kg
1	602.18	7	497.43	13	1068.03	19	608.01
2	532.22	8	688.56	14	445.79	20	350.74
3	1081.65	9	567.84	15	1554.65	21	660.31
4	0	10	578.99	16	**2008.01**	22	1429.03
5	422.03	11	0	17	1518.77	23	950.95
6	0	12	278.11	18	1401.81	24	634.79
المتوسط	439.68^{a}	-	435.15^{a}	-	1332.84^{b}	-	772.30^{a}
الانحراف المعياري	408.42	-	253.14	-	529.40	-	373.99

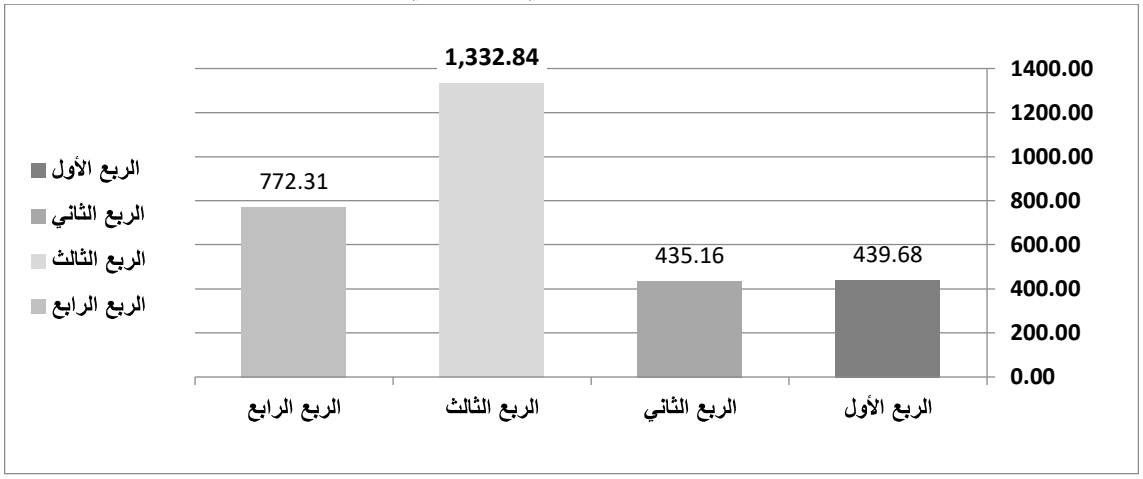
a, b تدل الحروف المختلفة على وجود فروق معنوية $P \leq 0.05$ بين الأرباع

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

يبين الجدول (3) أن 87.5 % من عينات الكبد (21 عينة) كانت ايجابية للدوكسي سايكلين، بينما لم تسجل ثمالات منه في 12.5% من العينات المختبرة (3 عينات)، وتجاوزت 83.3% من العينات (20 عينة) الحدود القصوى المسموح بها من ثمالات الدوكسي سايكلين في الكبد (300 µg/kg). وبذلك تكون عينات الكبد هذه غير صالحة للاستهلاك البشري وفقاً للمواصفة القياسية السورية (2011/3605). وسجلت العينة (16) من عينات الربع الثالث أعلى تركيز له في العينات 2008.01 µg/kg وتجاوزت حدود MRL بأكثر من ستة أضعاف ونصف، تلتها العينة (15) من عينات الربع نفسه 1554.65 µg/kg.

بلغ متوسط تركيز الدوكسي سايكلين في العينات الايجابية له 851.42 µg/kg. ومتوسط تركيزه في إجمالي العينات المختبرة 744.99 µg/kg. وقد تجاوزت المتوسطات المسجلة في جميع الأرباع الحدود القصوى المسموح بها من ثمالاته، وسجّل أعلى متوسط له في الربع الثالث 1332.84 µg/kg متجاوزاً بأربع مرات MRL، وبثلاث مرات المتوسطات المسجلة في الربعين الأول والثاني، ربما يعود ذلك الى حاجة حقيقية لاستخدام هذا الصاد نتيجة لتعرض قطعان الدواجن لبعض الأمراض التي يستدعي علاجها استخدامه، أو توافر ظروف الإصابة بالأمراض فتم استخدامه لأغراض وقائية، أو نتيجة لاستخدام عشوائي غير مناسب وفي جميع الحالات عدم إتباع فترة سحب مناسبة.

كانت جميع العينات المختبرة في الربعين الثالث والرابع ايجابية لوجود الدوكسي سايكلين، في حين لم تسجل عينتان من عينات الربع الأول وعينة واحدة من عينات الربع الثاني أي مستوى من هذا الصاد، ربما يعود ذلك الى عدم استخدام المربين لهذا الصاد خلال مراحل التربية نتيجة لعدم تعرض الفروج للأمراض التي يستدعي علاجها استخدامه، أو استخدام صادات أخرى في العلاج، يضاف الى ذلك احتمالية استخدامه في مراحل التربية الأولى مما سمح بتفكك وتحلل مركباته داخل الأنسجة وبشكل كامل. ويبين المخطط (4) متوسط تركيز الدوكسي سايكلين في عينات الكبد خلال الأرباع.



المخطط رقم (4): متوسط تركيز الدوكسي سايكلين في عينات كبد الفروج خلال الأرباع (µg/kg)

ويشير التحليل الإحصائي الى وجود فروق معنوية $P\leq0.05$ عند مقارنة متوسط نتائج الربع الثالث بمتوسط نتائج باقي الأرباع، في حين لم تسجل فروق معنوية عند مقارنة المتوسط المسجل في الأرباع الأول والثاني والرابع ببعضها البعض، يعزى ذلك ربما لانتشار الأمراض في هذا الربع أكثر من سواه، مما استدعى استخدام كميات أكبر من هذا الصاد في العلاج خلاله دون إتباع أو كفاية فترات السحب المحددة.

وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع دراسات أخرى يتبين أنها تقل عن تلك المسجلة في المملكة العربية السعودية من قبل Al–Ghamdi وآخرون (2000). والتي بينت أن 100% من عينات كبد الفروج كانت ايجابية لبقايا مركب واحد على الأقل من مجموعة التتراسكلينات (من ضمنها الدوكسي سايكلين)، وكان 95.5 % من عينات الكبد هذه ايجابية لمركبين أو أكثر من هذه المركبات، و95.5 % من عينات الكبد الإيجابية هذه بينها مركب واحد على الأقل يزيد عن الحد الأقصى المسموح به، وبقيت هذه المركبات قابلة للكشف كيميائياً بعد الطهي.

وتزيد نتائج هذه الدراسة عن تلك المسجلة في دراسة أجريت في بنغلادش من قبل Sarker وآخرون (2018). والتي أظهرت أن 43% من عينات كبد الفروج احتوت على الدوكسي سايكلين وبينت الدراسة تركز الصادّات في نسيج الكبد بكميات ونسب تفوق ما هي عليه في الأنسجة العضلية.

وتزيد النسبة المئوية للعينات الايجابية للدوكسي سايكلين في هذه الدراسة عن تلك المسجلة في مصر Salama وآخرون (2011). وخلال فترتي بداية الصيف وأوائل الشتاء والتي بلغت 16% من عينات كبد الفروج إلا أن المستويات المسجلة فيها تتجاوز بكثير ما تم التوصل إليه في هذا البحث إذ تراوحت 175– 5260 µg/kg وتجاوزت مستوياته في جميع العينات MRL، وكانت القيم المسجلة في فصل الشتاء أكبر مما هي عليه في فصل الصيف، وكذلك النسب المئوية للعينات الإيجابية، أما في هذه الدراسة فتراوحت تراكيزه 278.11–2008.01 µg/kg ، وتجاوزت 83.3% من العينات الحدود القصوى

المسموح بها وسجلت القيم الأعلى خلال فترة الصيف والخريف اذ يتصف صيف اللاذقية بمناخ حار ورطب تتجاوز فيه الرطوبة الجوية 90% بينما يكون خريفها متقلباً وتنخفض فيه الرطوبة الجوية الى مستويات تقل عن 25% وتتسبب التقلبات الجوية هذه بانتشار كثير من الأمراض التي يستدعي علاجها الاستخدام الواسع للصادات مما يؤدي الى تراكم ثمالات منها في لحوم ومنتجات الطيور المعالجة.

يعود الارتفاع في مستوى ثمالات الدوكسي سايكلين في الأنسجة الى الحاجة الحقيقية له في علاج الأمراض والوقاية منها وقد يكون هذا الاستخدام مبالغاً به وعشوائياً، دون التقيد بفترة السحب اللازمة في ظل قصر الدورة الإنتاجية للفروج اذ تعادل فترة السحب لمركبات هذا الصاد أكثر من 20% من فترة التربية (9 أيام) وحساسية الفروج في الفترة الأخيرة من التربية تكون عالية للكثير من الأمراض التنفسية وغيرها، مما يضطر المربين الى الاستمرار بإعطاء هذا العقار وعدم سحبه إلا قبل فترة قصيرة من التسويق، مما يجعل فترة السحب غير كافية خاصة مع استخدام جرعات عالية.

ثانياً: محتوى الإنروفلوكساسين في العينات

تم تقدير محتوى الإنروفلوكساسين في عينات كبد الفروج، وكانت النتائج ايجابية في نسبة كبيرة منها وتجاوزت الحدود القصوى المسموح بها في معظم العينات، ويبين الجدول (4) القيم التي تم الحصول عليها.

الجدول رقم (4): محتوى الإنروفلوكساسين في عينات كبد الفروج (µg/kg)

الربع الأول (1 –2 –3)		الربع الثاني (4 –5 –6)		الربع الثالث (7 –8 –9)		الربع الرابع (10 –11 –12)	
العينة	التركيز µg/kg	العينة	التركيز µg/kg	العينة	التركيز µg/kg	العينة	التركيز µg/kg
1	165.01	7	208.42	13	175.49	19	202.89
2	300.50	8	194.48	14	139.65	20	200.67
3	277.94	9	0	15	157.53	21	293.00
4	244.11	10	175.82	16	167.32	22	186.94
5	86.67	11	164.19	17	**308.48**	23	264.83
6	298.52	12	0	18	304.53	24	168.35
المتوسط	228.79[a]	–	123.81[b]	–	208.83[a]	–	219.44[a]
الانحراف المعياري	85.93	–	97.10	–	76.60	–	48.50

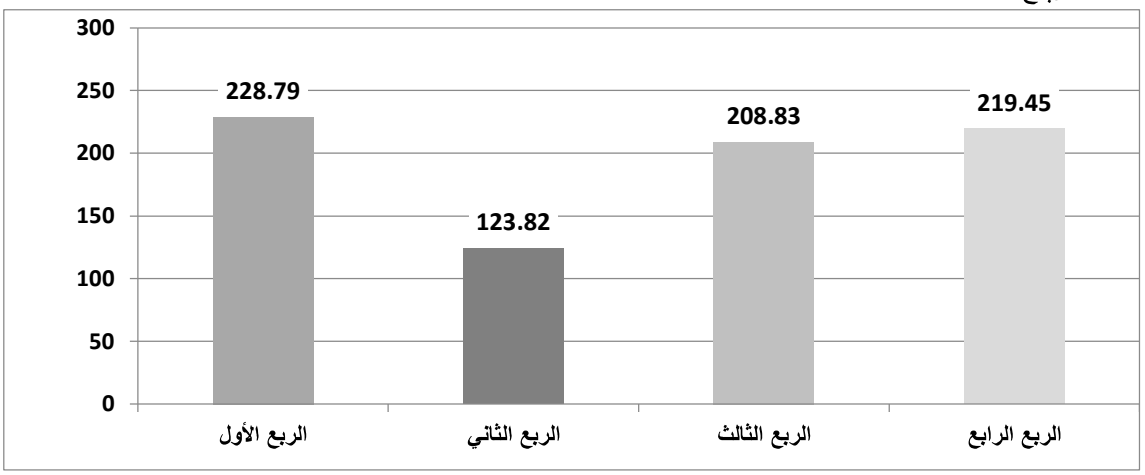
a, b تدل الحروف المختلفة على وجود فروق معنوية $P \leq 0.05$ بين الأرباع

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

يتضح من الجدول (4) أنّ 91.67% من العينات (22 عينة) كانت ايجابية للإنروفلوكساسين في حين لم تسجل ثمالات منه في 8.33 % من العينات (2 عينة). وتجاوزت 45.8% من العينات (11 عينة) الحدود القصوى المسموح بها للثمالات (200 µg/kg)، مما يجعل من هذه العينات غير صالحة للاستهلاك البشري وحققت العينة (17) من عينات الربع الثالث أعلى تركيز لهذا الصادّ 308.48 µg/kg، تلتها العينة (18) من عينات الربع نفسه 304.53 µg/kg.

بلغ متوسط تركيز الإنروفلوكساسين في العينات الايجابية 212.97 µg/kg، والمتوسط الإجمالي لتركيزه في العينات المختبرة 195.22 µg/kg. وكان أعلى المتوسطات قد سجل لعينات الربع الأول وتجاوز الحد الأقصى المسموح به، وكذلك كان

متوسط عينات الربعين الثالث والرابع. ويبين المخطط (5) التالي متوسط تراكيز الإنروفلوكساسين في عينات كبد الفروج خلال الأرباع.



المخطط رقم (5): متوسط تراكيز الإنروفلوكساسين في عينات كبد الفروج خلال الأرباع (µg/kg)

كانت جميع عينات الربع الأول والثالث والرابع ايجابية لثمالات الإنروفلوكساسين، وفقط عينتان من عينات الربع الثاني لم تحتويان على ثمالات منه ويفسر ذلك بعدم الاستخدام العلاجي له في المزارع التي تمت تربية فروج هاتين العينتين فيها لعدم التعرض للأمراض أو استخدام صادات أخرى في العلاج أو أنه استخدم ولكن في مراحل مبكرة.

يشير التحليل الإحصائي لفروق معنوية $P\leq0.05$ عند مقارنة متوسط نتائج الربع الثاني بمتوسط نتائج باقي الأرباع وسجل متوسط تركيز الإنروفلوكساسين في عيناته أدنى قيمة بين المتوسطات، ولم تسجل فروق معنوية عند مقارنة المتوسط المسجل في الأرباع الأول والثالث والرابع ببعضها البعض إذ كانت القيم متقاربة، يعود ذلك الى قلة انتشار الأمراض أو الظروف المناسبة لانتشارها في الربع الثاني مقارنة بباقي الأرباع مما استدعى استخدام كميات أقل من مركبات هذا الصاد.

وبمقارنة هذه النتائج مع دراسات سابقة يتبين أنها أقل من تلك المسجلة في عينات جمعت من أسواق مدينة تبريز الإيرانية من قبل Attari وآخرون (2014). وبينت أن 90 % من عينات كبد الفروج أظهرت ايجابية لوجود الإنروفلوكساسين إلا أن تراكيزه في جميع العينات كانت أقل من MRL. وتتشابه نتائج الدراسة هذه مع تلك المسجلة في إيران من قبل Salehzadeh وآخرون (2007) والتي بينت أن 100% من العينات أظهرت ايجابية لوجود الإنروفلوكساسين، وتجاوزت 13.33 % من العينات الحد الأقصى المسموح به من هذا الصاد وكان متوسط تركيزه في العينات 576.657± 201.908 µg/kg.

وتزيد القيم المسجلة في هذه الدراسة عن تلك التي توصلت إليها دراسة أجريت في العراق من قبل الباحثة Sultan (2014) والتي بينت أن 33.31% من عينات كبد الفروج كانت إيجابية للإنروفلوكساسين وتجاوزت 56.66% منها الحدود القصوى المسموح بها وتراوحت تراكيزه 10–10690 µg/kg لتتجاوز بذلك القيم المسجلة في هذه الدراسة.

وتقل مستويات الإنروفلوكساسين في هذه الدراسة عن تلك المسجلة في الباكستان من قبل Amjad وآخرون (2006) والتي أظهرت وجود ثمالات الإنروفلوكساسين في كبد الدجاج البياض بمستويات 974.23– 1717.16 µg/kg وبمتوسط 1357.15 µg/kg مع الإشارة الى وجود اختلاف في سلوك وحركية الدواء بين الدجاج البياض ودجاج اللحم.

وتقل النتائج عن تلك المسجلة في الباكستان من قبل الباحث Aslam وآخرون (2016). في دراسة بينت أن متوسط تركيز الإنروفلوكساسين في عينات كبد الفروج 527± 84 .µg/kg في حين أظهرت 78.7% من العينات إيجابية لوجود هذا الصادّ وتجاوزت 71.2% من العينات الحدود القصوى الموصى بعدم تجاوزها.

تضمنت هذه الدراسة أنّ 91.67% من عينات كبد الفروج المختبرة كانت ايجابية لوجود الإنروفلوكساسين وتجاوزت 45.8 % من العينات الحدود القصوى لثمالات هذا الصاد MRLs وتراوح تركيزه في العينات 86.67– 308.48 µg/kg وبمتوسط مقداره 212.97 µg/kg. قد يعود انخفاض مستويات هذا الصاد في العينات موضوع البحث مقارنة بتلك التي تناولتها الدراسات السابقة الى كفاية الجرعات المعطاة للعلاج أو الوقاية من الأمراض، أو استخدام صادات أخرى في العلاج تتبع لنفس المجموعة أو لمجموعات دوائية أخرى، ويعود بقاء ثمالات من الإنروفلوكساسين في العينات الى عدم إتاحة الفرصة الكافية لتدهور واستقلاب مركبات هذا الصاد في الأنسجة بالشكل الكافي قبل الذبح.

يعود تركز ثمالات الدوكسي سايكلين والإنروفلوكساسين في نسيج الكبد لدجاج اللحم موضوع الدراسة، الى عدم تقيد والتزام المربين بفترات السحب المناسبة لهذين الصادّين أو أنها غير كافية في ظل استخدام جرعات عالية منهما مع قصر الدورة الإنتاجية لفروج اللحم، وقد يعزى استخدام الجرعات العالية لعدم المعرفة والإدراك بمخاطر بقاء هذه الثمالات في اللحوم، أو قد يكون نتيجة للقلق والخوف من انتشار الأمراض خاصة لدى الطيور بأعمار كبيرة، وما يتسبب به سحب الدواء من نتائج قد تتسبب بنسب نفوق مرتفعة في القطيع، أو بانخفاض كبير في نسبة التحويل الغذائي، وبالتالي خسائر اقتصادية عالية، فيلجأ كثير من المربين لإعطاء جرعات عالية من الصادّات، ولا يشكل ذلك عائقاً أمام التسويق في ظل عدم إخضاع هذه المنتجات الى أي نوع من التحاليل للتأكد من توافقها مع الحدود القصوى للمخلفات.

ويمكن أن تقود الظروف البيئية المختلفة وخاصة لدى الحظائر نصف المغلقة صيفاً والتي تشكل نسبة كبيرة من إجمالي الحظائر في المنطقة، الى زيادة إمكانية تأثر قطعان الدواجن بهذه الظروف، وكذلك إمكانية انتشار العدوى من مزرعة الى أخرى، ما يجعل من استخدام الصادّات الحيوية حاجة حقيقية للحفاظ على سلامة هذه القطعان.

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

يضاف لذلك تأثر تراكم بعض الصادّات في الأنسجة بتراكيز صادات ومضادات جرثومية أخرى، وكذلك سرعة استنفاذ واستقلاب هذه الصادّات. وقد يكون لاحتمال وجود بقايا من الصادات في الأعلاف، أو استخدام السماد الملوث أو تناوله من قبل الدواجن من الفرشة دوراً في وجود ثمالات من هذين العقارين في الأنسجة الحيوانية، والتي تتسبب وان كانت ضمن الحدود الطبيعية بتأثيرات سلبية في صحة المستهلك وتؤدي الى ظهور المقاومة الدوائية عند سلالات جرثومية كثيرة.

5– الاستنتاجات

- وجود ثمالات من الدوكسي سايكلين في (87.5%) من عينات كبد الفروج المدروسة، ومن الإنروفلوكساسين في (91.67%) منها.
- عدم تطبيق فترات السحب المناسبة تسبب بوجود الثمالات في عينات الكبد المختبرة.
- وجود تباين بين العينات في التراكيز المكتشفة فيها ولكل من الصادين المدروسين.
- وجود تباين فصلي في حجم الثمالات المكتشفة للدوكسي سايكلين وفي النسب المئوية للعينات الايجابية لكلا الصادين المدروسين.

6– التوصيات

- استخدام الصادّات الحيوية للأغراض العلاجية فقط وتحت إشراف صحي بيطري
- اعتماد برنامج وطني لإدارة ومراقبة استخدام الصادّات الحيوية تجنباً للاستخدام العشوائي لها
- التقيد بفترات السحب المحددة وتطبيقها بشكل صارم

- تحليل عينات عشوائية وبشكل دوري من منتجات الدواجن قبل طرحها في الأسواق
- تشجيع ودعم انتاج الدواجن العضوية كونها منتجات آمنة وسليمة.
- تطوير بدائل للصادّات الحيوية، تسهم إيجاباً في العمليات الاستقلابية، والتحفيز المناعي، وتقلل من التلوث الجرثومي والإصابة بالأمراض.

6- المراجع العلمية

1. المواصفة القياسية السورية رقم 2011/3605 (هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية). الحدود القصوى لمخلفات الأدوية البيطرية في المنتجات الحيوانية
2. Al-Ghamdi, M.S.; Al-Mustafa, Z.H.; El-Morsy, F.; Al-Faky, A. (2000) Residues of Tetracycline Compounds in Poultry Products in the Eastern Province of Saudi Arabia. Public Health 2000, 114, 300–304.
3. Amjad H, Iqbal J, Naeem M. (2006). Estimation of selected residual antibiotics in muscle, kidney, liver, and egg of layer chicken. Proc Pak Acad Sci 2006; 43:29-37. Pakistan
4. 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.
5. Aslam, B., Kousar, N., Javed, I., Raza, A. (2016). Determination of Enrofloxacin Residues in Commercial Broilers Using High Performance Liquid Chromatography, International Journal of Food 19:11, 2463-2470. Pakistan
6. Attari, V. E., Abbasi, M., Ostadrahimi, A. (2014) Investigation of Enrofloxacin and Chloramphenicol Residues in Broiler Chickens Carcasses Collected from Local Markets of Tabriz, Northwestern Iran. Health Promotion Perspectives. 4(2), 151–157.
7. Diarra, M.S.; Malouin, F. (2014). Antibiotics in Canadian Poultry Productions and Anticipated Alternatives. Frontiers Microbiology 2014, 5, 1–15.
8. 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.
9. García Ovando, H., Gorla, N., Weyers, A., Ugnia, L.; Magnoli, A. (2004) Simultaneous quantification of Ciprofloxacin, Enrofloxacin and Danofloxacin in broiler chicken muscle. Archivos de Medicina Veterinaria, vol. XXXVI, núm. 1, enero, pp. 93-98, Chile
10. Givens, D.I. (2009). Animal nutrition and lipids in animal products and their contribution to human intake and health. Nutrients 1: 71-82. UK.
11. Küng, K., Wanner, M. (1994). Pharmacokinetics of Doxycycline in turkeys and comparison between feed and water medication. Archiv für Geflügelkunde 58, 84–88.

12. Lawal, J.R., Jajere, S.M., Geidam, Y.A. (2015). Antibiotic Residues in Edible Poultry Tissues and Products in Nigeria: A Potential Public Health Hazard. International Journal of Animal and Veterinary Advances 2015, 7(3), 55–61. Nigeria
13. Mehtabuddin, A., Ahmad, T., Nadeem, S., Arshad, J. (2012). Sulfonamide Residues Determination in Commercial Poultry Meat and Eggs. J Anim Plant Sci. 22(2): 473-478.
14. Mestorino, N., Zeinsteger, P., Marchetti, L. (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. Argentina
15. Salama, A., Abou-Raya, H., Shalaby, R., Emam, H. (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. Egypt
16. Salehzadeh, F.; Salehzadeh, A. Rokni, N. Madani, R. Golchinefar, F. (2007). Enrofloxacin Residue in Chicken Tissues from Tehran Slaughterhouses in Iran. Pakistan Journal of Nutrition 2007, 6(4), 409–413. Iran
17. San Martin, B., Cornejo, J., Lapierre, L., Iragüen, D., Pérez, F.(2009) Withdrawal time of four pharmaceutical formulations of Enrofloxacin in poultry according to different maximum residues limits. J Vet Pharmacol Ther. 2010 Jun 1; 33(3):246-51. Chile
18. Sarker, A., Hasan, M., Paul, K., Rashid, Z., Alam, N (2018). Screening of antibiotic residues in chicken meat in Bangladesh by thin layer chromatography. J of Advanced Veterinary and Animal Research ISSN 2311-7710 Vol 5 No 2, Pages 140-145.
19. Sultan I. (2014). Detection of Enrofloxacin in livers of livestock animals obtained from a slaughterhouse in Mosul City. J of Veterinary Science & Technology. 2014; 5(2):1-3.
20. Suto, MJ. Domagala, JM., Roland, GE. (1992). Fluoroquinolones: relationships between structural variations, mammalian cell cytotoxicity, and antimicrobial activity. J Med Chem. 1992; 35:4745–4750. USA
21. Veerapandian, S., Ghadevaru, S., Jayaramachandran, R. (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. 337-342.
22. WHO (World Health Organization) 2015. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. World Health Organization; Geneva, Switzerland.
23. Wijayanti A. D. Rosetyadewi A. W. (2011). The Comparison of Doxycycline Residue in the Meat of Broiler Chickens Administered in Feed and Water. Media Peternakan, December 2011, pp. 175-178. Indonesi