

## الكشف عن متبقيات التتراسايكليات في عينات لحوم الفروج في محافظة ريف دمشق – سورية

احمد قويدر\* د. عبد الكريم حلاق\*\*

(الإيداع: 12 كانون الأول 2021، القبول: 17 كانون الثاني 2022)

## الملخص:

أجريت هذه الدراسة للكشف عن متبقيات ثلاث مركبات من مجموعة التتراسايكليات (أوكسي تتراسايكلين، دوكسي سايكلين و كلورتتراسايكلين) تم جمع 24 عينة من عضلات الفروج من أربع مدن منتشرة في محافظة ريف دمشق (دوما، معربا، النبك و الضمير). استخدمت تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) في تحليل متبقيات التتراسايكليات بفصلها على عمود تحليل C18 و استخدام طور متحرك ناتج عن مزج ثلاث محاليل هي الأسيتونتريل و الميثانول و حمض الأوكزاليك بنسبة (30، 10، 60%) و بتدفق 1مل/دقيقة بطول موجة 350 نانو متر وتم الإستخلاص بطريقة التحليل الرسمية (995.09) (AOAC, 1995). دلت النتائج أن هناك 12 عينة من أصل 24 عينة عضلات احتوت على متبقيات للأوكسي تتراسايكلين و الدوكسي سايكلين و ثلاث عينات فقط احتوت على متبقيات للكلور تتراسايكلين و من ضمن العينات الإيجابية كان هناك خمسة عينات احتوت على متبقيات للدوكسي سايكلين أعلى من الحد المسموح به محليا (100 ميكروغرام/كغ) و عينتان فقط كان تركيز متبقيات الأوكسي تتراسايكلين فيها أعلى من الحد المسموح به في حين لم يكن هناك أي عينة احتوت على متبقيات للكلورتتراسايكلين أعلى من الحد المسموح به. الفروقات في تراكيز متبقيات التتراسايكليات المدروسة ما بين مناطق الدراسة الأربعة رغم بعدها الجغرافي عن بعض كانت غير معنوية ( $P>0.05$ ) و لكن هناك كثافة في الإستخدام و عدم الإلتزام بوقت سحب التتراسايكليات.

الكلمات المفتاحية: الدوكسي سايكلين، الأوكسي تتراسايكلين، الكلورتتراسايكلين، متبقيات، فروج.

\* طالب ماجستير صحة عامة في قسم الصحة العامة و الطب الوقائي – كلية الطب البيطري – جامعة حماه.

\*\* مدرس في قسم الصحة العامة و الطب الوقائي – كلية الطب البيطري – جامعة حماه.

## Detection of Tetracycline residues in broiler meat samples in Damascus Countryside Governorate– Syria

Dr. Ahmad Quaider\* Dr. Abdulkarim Hallak\*\*

(Received: 12 December 2021, Accepted: 17 January 2022)

### Abstract:

A total of 24 chicken muscles samples was collected from four cities in Damascus Countryside Governorate (Duma, Maraba, Nabk and Dmer). The samples analyzed for tetracycline residues (oxytetracycline, doxycycline and chlortetracycline). The tetracycline residues were determined by using HPLC technique (according to AOAC method No 995.09, 1995), with following conditions: C`18 column, mobile phase containing: acetonitrile: methanol: oxalic acid (30:10:60), 350 nm wave length, 1 ml\min flow rate. Results showed that 12 samples (from 24 samples) were positive for oxytetracycline and doxycycline residues and three samples are positive for chlortetracycline residues only. doxycycline residues in 5 samples and oxytetracycline residues in tow samples were higher than local MRL (100 µg/kg w.w), but chlortetracycline residues were lower than MRL. The changes in the tetracycline concentrations in the muscles samples is not significant differences ( $P>0.05$ ) for all studied samples. The result showed extensive use of tetracycline compounds and These high levels of antibiotic residues may be attributed to the unpaid attention to the withdrawal period of the antibiotics.

Key words: doxycycline, oxytetracycline, chlortetracycline, residue, broiler

\* Master candidate –Department of public health and preventive medicine– Veterinary faculty – Hama University

\*\* Lecturer in the department of public health and preventive medicine– veterinary faculty – Hama University

تستخدم المضادات الحيوية على نطاق واسع في مجال تربية الدواجن إما بشكل مساحيق أو على شكل سوائل وذلك للمعالجة أو الوقاية من الأمراض البكتيرية التي تنتشر عند الطيور بشكل عام و طيور اللحم (الفروج) بشكل خاص ( Kibruyesfa and Naol., 2017)، و من أوسع المضادات الحيوية استعمالاً و انتشاراً في مجال تربية دجاج اللحم هي التتراسايكلينات و التي تضم العديد من المركبات مثل الدوكسي سايكلين، الاوكسي تتراسايكلين و الكلوروتتراسايكلين (حموية، 2005). تتميز مركبات التتراسايكلينات بطيفها الواسع المضاد للبكتريا الإيجابية و السلبية لصبغة غرام و المسببة للعديد من الأمراض التنفسية و البولية و الهضمية بالإضافة الى ذلك تتميز مركبات هذه المجموعة بسهولة انحلالها بالماء و سهولة امتصاصها من الأمعاء الدقيقة، حيث تتوزع في جميع اعضاء و انسجة الجسم و تطرح بشكل رئيسي عن طريق الكلى، و تطرح أيضاً عن طريق الصفراء و يمكن أن يطرح الجزء غير الممتص عن طريق البراز، إضافة لذلك يمكن أن تطرح عن طريق الحليب (Emea, 1997).

إن الاستخدام المكثف للمضادات الحيوية بشكل عام و التتراسايكلينات بشكل خاص في مجال تربية دجاج اللحم ، بالإضافة الى عدم الاستخدام الصحيح من قبل مربيي الدواجن من خلال استخدام جرعات كبيرة و لفترات طويلة و عدم التقيد بفترة السحب (الفترة الزمنية ما بين اخر جرعة و طرح المادة من الجسم) بسبب الخوف من الخسائر الاقتصادية ( Beyene, 2016)، أدى إلى عواقب كبيرة و آثار سلبية خطيرة على الإنسان بوجه خاص لا سيما أن هذه المجموعة تستخدم في المجالين البيطري و البشري في المعالجة. بهذا المجال أشار الباحث (Nonga et al, 2009) أن 95% من المداجن تسوق الدجاج قبل انتهاء فترة سحب الأدوية بسبب المخاوف من الخسائر الاقتصادية، وأن 70% من العينات التي تم اختبارها كانت إيجابية بالنسبة لمتبقيات الأدوية البيطرية.

ويعتبر وجود متبقيات التتراسايكلينات في لحوم و أعضاء الفروج من أهم الآثار السلبية الخطيرة حيث يمكن أن تصل هذه المتبقيات الدوائية إلى الإنسان عن طريق تناول لحوم و أعضاء الفروج (Tajick and shohreh, 2006) و الذي بدوره يؤدي إلى تنامي و تطور المقاومة الجرثومية (Apata, 2009) إضافة إلى ذلك يمكن أن يكون لها تأثيرات على الأعضاء الداخلية كالكلب و الكلى (Laxminarayan et al., 2013).

أيضاً إن تناول كميات كبيرة من بقايا هذه المركبات عند الأطفال سيؤدي إلى اصفرار الأسنان و العظام و اضطرابات معوية خطيرة (تأثير على ميكروفلورا الأمعاء) و التسمم الخلوي و تأثيرات مناعية خطيرة (Lawal et al, 2015, Keyvan et al., 2020).

ولتقييم مدى أمان المنتجات الحيوانية من جراء وجود بقايا المضادات الحيوية بشكل عام و التتراسايكلينات بشكل خاص فقد تم وضع حدود أمان لكل مضاد حيوي في كل نسيج قابل للاستهلاك البشري سمي الحد الأقصى المسموح به (MRL) وذلك من قبل الإتحاد الأوروبي (EU, 2009) و الكوديكس الدولي (CAC, 2006) إضافة إلى المنظمات الصحية في كل بلد و من ضمنها الجمهورية العربية السورية حيث أن هيئة المواصفات و المقاييس العربية السورية أصدرت مواصفة تحدد الحدود القصوى المسموح بها لكل مركب دوائي (2011\3605)، فمثلاً الحد المسموح به لمركبات التتراسايكلينات (بشكل مفرد) في العضلات عند الفروج هو 100 ميكروغرام/كغ وزن حي حسب المواصفة القياسية السورية المذكورة أعلاه (2011).

وتشير العديد من الدراسات و المسوحات في مختلف البلدان وبخاصة البلدان النامية أن لحوم و أعضاء الفروج تحتوي على متبقيات للتتراسايكلينات، مع وجود نسب خطيرة من العينات التي تحتوي على تراكيز تفوق الحدود المسموح بها (Hussein and Khalil, 2013, Al-Ghamdi et al., 2000, Salehzadeh et al., 2007, Sarker et al., 2018).

بعد استعراض المراجع وجدنا أن دراسة متبقيات التتراسايكلينات في السوق المحلية قليلة نسبياً علماً أن هذه المجموعة المهمة من المضادات الحيوية تستخدم بشكل واسع جداً في المعالجة، حيث كان هناك دراسة للباحث (شريف و آخرون، 2020)

عن دراسة متبقيات الدوكسي سايكليين في عينات كبد الفروج في مدينة اللاذقية و دراسة دكتوراه لنفس الباحث (شريف، 2021) و دراسة للباحث (بلال ، 2018) (رسالة ماجستير) عن متبقيات التتراسايكلينات في لحوم و أعضاء الفروج في محافظة حمص و قد بين هذين الباحثين أن هناك مستويات عالية نسبياً من متبقيات التتراسايكلينات في لحوم و أعضاء الفروج في محافظتي اللاذقية و حمص. و من هنا انطلقنا بهذا البحث للتقصي عن متبقيات ثلاث مركبات من التتراسايكلينات في لحوم الفروج المعد للبيع في أربع مدن متباعدة نسبياً في محافظة ريف دمشق (دوما، معربا، الضمير و النبك).

## 2. هدف الدراسة :

الهدف من هذه الدراسة هو:

1. الكشف عن متبقيات التتراسايكلينات (دوكسي سايكليين، أوكسي تتراسايكلين و كلورتتراسايكلين) في لحوم الفروج المعدة للبيع بقصد الاستهلاك البشري في منطقة ريف دمشق.
2. تحديد مدى صلاحية هذه اللحوم للاستهلاك البشري بمقارنة تراكيز متبقيات التتراسايكلينات بالحدود المسموحة محليا.
3. المواد و الطرق المستخدمة :

الزجاجيات والأدوات المستخدمة: زجاجيات مختلفة و بحجوم مختلفة (انابيب، بياشر، ماصات، بالون معياري)، أنابيب تثقيب بلاستيكية سعة 50 مل و أنابيب بلاستيكية سعة 12مل، أكياس نايلون ذات الية إغلاق، حافظات فليينية – حافظات ثنائية الجدران لحفظ العينات المجموعة من الأسواق.

المواد الكيميائية: تم استخدام مواد كيميائية مخبرية خاصة بالتحليل على جهاز الكروماتوغرافيا السائلة (HPLC grade) من شركات عالمية وهي: أسيتونتريل، ميثانول، حمض الأوكزاليك، حمض الليمون، فوسفات ثنائية الصوديوم الهيدروجينية المائية (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>12H<sub>2</sub>O)، EDTA-2Na، ماء منزوع الشوارد خاص بجهاز الكروماتوغرافيا السائلة ذو ناقلية شبه معدومة، اوكسي تتراسايكلين معياري تركيز 100% صنع شركة سيغما، كلورتتراسايكلين معياري تركيز 100% صنع شركة سيغما، دوكسي سايكليين معياري تركيز 100% صنع شركة سيغما.

الأجهزة: ميزان دقيق طراز (HF-400)، جهاز أمواج فوق صوتية (ultrasonic) طراز (LC 60-H)، مثقلة طراز (KUBOTA 5400)، جهاز مقياس الحموضة طراز (HM-60G)، جهاز رج (vortex) طراز (NX-10)، جهاز طحن عينات طراز ستارميكس، جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) طراز (LC-10) صنع شركة شيمادزو اليابانية، عمود تحليل C18 (25 cm x 4.6 mm, 5 μm) صنع شركة SUPELCO Analytical، خراطيش تنقية C18.

## جمع العينات:

العينات التي تم جمعها (50 غ) هي عضلات فروج (مزيج من 50% صدر +50% فخذ)، حيث تم جمع هذه العينات من أربع مدن من محافظة ريف دمشق و هي (دوما، معربا، الضمير و النبك). عدد العينات التي جمعت كانت 6 عينات عضلات من كل منطقة من المناطق الأربعة بحيث كل عينة هي عبارة عن مزيج من ثلاث عينات. ليكون مجموع العينات من المناطق الاربعة 24 عينة ليتم تحليل مركبات التتراسايكلينات الثلاثة في كل عينة .

بعد جمع العينات تم وضعها في أكياس نايلون مدعمة بألية إغلاق و تم حفظها في حاوية مبردة ثم أرسلت إلى المخبر لتحفظ بالثلاجة بدرجة حرارة -8 مئوية.

## تحضير العينات:

تم استخراج العينات من الثلاجة ثم تم طحن كل عينة بجهاز طحن العينات ليتم مجانستها بشكل جيد ثم أخذ وزن 5 غ من كل عينة لتتم عملية الاستخلاص.

**استخلاص التتراسايكلينات:**

تم اعتماد الطريقة الرسمية للتتراسايكلينات رقم 995.09 (AOAC, 1995) في استخلاص وتحليل التتراسايكلينات و التي تتلخص بالمراحل التالية:

**تحضير المحاليل:****1. محلول الإستخلاص ( McIlvaine buffer-EDTA ) يحضر على الترتيب التالي:****أولاً: تحضير McIlvaine Buffer (pH = 4)**

- تحضير محلول (0.2 M) من فوسفات الصوديوم: يوزن 28.4 غ من  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ويحل في 500 مل ماء مؤين ثم يكمل الحجم الى 1000 مل من الماء المؤين.

- تحضير محلول (0.1 M) من حمض الليمون: يوزن 21 غ من حمض الليمون ويحل في 500 مل ماء مؤين ثم يكمل الحجم الى 1000 مل من الماء المؤين.

- يمزج محلول حمض الليمون (التر) مع 625 مل من محلول  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  في وعاء سعة 2 لتر فنحصل على كمية (1625 مل).

- يعاير ال pH (4) بواسطة محلول HCl (8.5 مل/لتر ماء) أو محلول NaOH (4 غ/لتر ماء).

**ثانياً: تحضير McIlvaine Buffer-EDTA**

- يوزن 60.5 غ من EDTA و يحل في بفر McIlvaine (1625 مل) فيصبح محلول الاستخلاص جاهز .

**2. تحضير محلول الشطف (Methanolic oxalic acid)**

يوزن 1.26 غ من حمض الأوكزاليك و يحل في 300 مل ميثانول ثم يكمل الحجم الى 1000 مل ميثانول.

**طريقة الاستخلاص:**

يوضع 5 غ عينة في أنبوب التثقيل و يضاف 20 مل من محلول الاستخلاص ويغلق الأنبوب بالسدادة ثم يوضع على جهاز الرج لمدة 10 دقائق. بعد ذلك تثقل العينة على سرعة 2500 دورة بالدقيقة لمدة 10 دقائق و يؤخذ الجزء الطافي و يوضع في أنبوب تثقيل آخر سعة 50 مل.

تكرر العملية على الجزء المتبقي بإضافة 20 مل من محلول الاستخلاص و يوضع على جهاز الرج لمدة 5 دقائق ثم تثقل العينة على سرعة 2500 دورة بالدقيقة و يؤخذ الجزء الطافي و يضاف إلى الجزء السابق، أخيراً تكرر العملية نفسها بإضافة 10 مل من محلول الاستخلاص و بعد التثقيل يضاف الجزء الطافي إلى الجزئين السابقين. ترشح كمية الاستخلاص الناتجة بواسطة فلتر ترشيح بعد تبليله بمحلول الاستخلاص للتخلص من أي أجزاء عضوية في محلول العينة.

**تنقية العينة:**

يتم تنقية محلول العينة المستخلصة بواسطة الاستخلاص بالطور الصلب (SPE) والذي هو اختصار للكلمات التالية ( Solid Phase Extraction) حيث أن هذه العملية تطبق باستخدام أعمدة بلاستيكية أو خراطيش بلاستيكية (Cartridge) تحوي مادة التنقية (silica-C18) بجمولة 5 ملغ و سعة 5 مل والغاية منها هي احتجاز التتراسايكلينات في الخرطوشة و التخلص من بقية المواد العضوية، وتتم العملية على النحو التالي: يتم تفعيل خرطوشة التنقية (C18) بتمرير 20 مل ميثانول مخبري ثم 20 مل ماء مؤين على التوالي ويجب أن لا يجف، بعد ذلك يطبق محلول العينة على الخرطوشة بتمريرها ببطء (بتدفق 1-2 مل/دقيقة). ثم يغسل الأنبوب ب 2 مل من محلول الاستخلاص و يمرر بالخرطوشة لضمان عدم بقاء أي أثر متبقي بالأنبوب و بعد ذلك يغسل القمع الموضوع فوق الخرطوشة بواسطة 2 مل محلول استخلاص و يمرر في الخرطوشة. بعد ذلك يغسل الأنبوب و القمع بواسطة 20 مل ماء مؤين و يمرر من خلال الخرطوشة.

يمرر الهواء من خلال الخرطوشة حتى تجف ثم يتم إمرار محلول الشطف وهو ميثانوليك أوكزاليك أسيد والذي يعتبر المادة التي ستخرج التتراسايكلينات المحتجزة في الخرطوشة إن وجدت، حيث يمرر 6 مل من هذا المحلول بسرعة تدفق 1 مل/دقيقة، و يجمع هذا المحلول من نهاية الخرطوشة في بالون سعة 10 مل. بعد ذلك يكمل الحجم الى 10 مل بالماء المؤين وبهذا يصبح مستخلص العينة جاهز للتحليل و الكشف عن التتراسايكلينات بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا السائلة حيث تم تحليل كل من الأوكسي تتراسايكلين، الدوكسي سايكلين و الكلور تتراسايكلين في كل عينة.

#### طريقة التحليل:

تم اتباع طريقة التحليل الرسمية رقم 995.09 (AOAC, 1995) حيث تم استخدام عمود C18 لفصل التتراسايكلينات و باستخدام طور متحرك ناتج عن مزج ثلاث محاليل هي حمض الأوكزاليك و الأسيتونتريل و الميثانول بنسب مزج (10/30/60) على التوالي و بتدفق 1 مل/دقيقة و بدرجة حرارة 40 مئوية و على طول موجة 350 نانومتر.

#### تحضير حمض الأوكزاليك:

يوزن 1.26 غ من حمض الأوكزاليك في 50 مل ماء مؤين و يمدد المحلول إلى 1000 مل بواسطة الماء المؤين.

#### تحضير عينات التثبيت لحساب نسبة الاسترجاع:

تم إضافة 100 ميكروغرام من مزيج التتراسايكلينات إلى ثلاث عينات عضلية مأخوذة من مزارع لم تستخدم أي من التتراسايكلينات في المعالجة أو الوقاية ومن ثم تم تطبيق عملية الإستخلاص بكامل مراحلها.

#### تحضير المحاليل المعيارية للتتراسايكلينات:

تم أخذ وزنة 25 ملغ من الأوكسي تتراسايكلين، الكلور تتراسايكلين و الدوكسي سايكلين كل على حدا و حلها في بالون سعة 25 مل بالطور المتحرك، وبعد ذلك يؤخذ 1 مل من كل مادة معيارية منحلة و توضع في بالون سعة 20 مل و تمزج ومن ثم يكمل الحجم بالطور المتحرك الى 20 مل فيصبح التركيز النهائي 50 ميكروغرام/مل. بعد ذلك يحضر محلول مزيج من المضادات الحيوية الثلاث السابقة بأخذ 1 مل من كل محلول معياري تم تحضيره سابقا و توضع في بالون عياري سعة 20 مل و تمدد بالطور المتحرك.

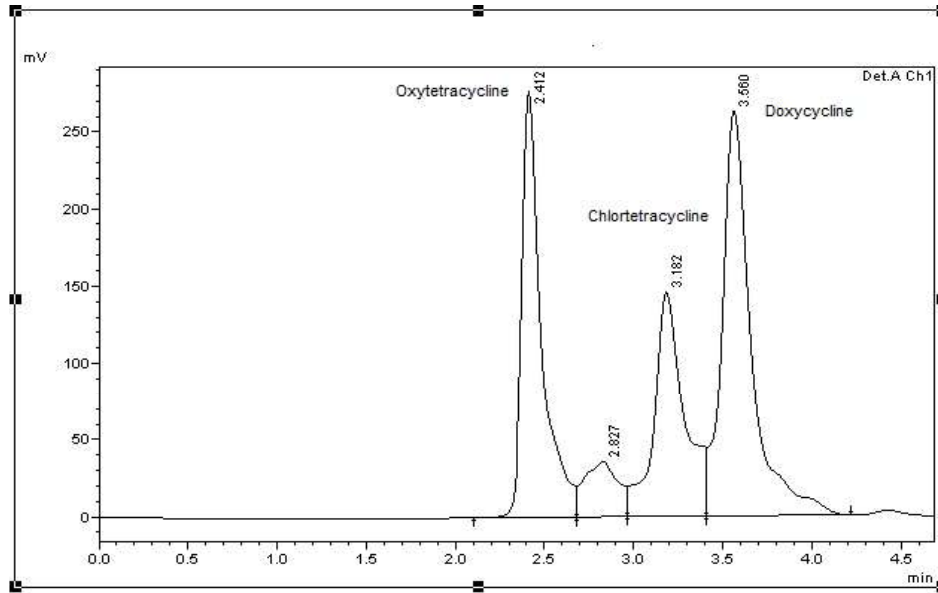
#### 4. معالجة البيانات إحصائياً: تم استخدام برنامج مايكروسوفت إكسل في حساب المتوسطات و الانحرافات المعيارية و

الرسوم البيانية، و تم استخدام برنامج 7 Orign pro في حساب درجة المعنوية عند قيمة  $P=0.05$

#### 5. النتائج:

بعد أن تمت عملية استخلاص التتراسايكلينات من عينات العضلات و استخلاصها من عينات الاسترجاع و تحضير محاليل المواد المعيارية و محلول الطور المتحرك تم بناء طريقة التحليل على جهاز الكروماتوغرافيا السائلة و تشغيل الجهاز بإمرار الطور المتحرك لمدة نصف ساعة حتى يستقر على الشروط التحليلية من تدفق و حرارة و ضغط، بعد ذلك تم حقن المواد المعيارية للمركبات الثلاثة المدروسة كل على حدا على الجهاز لمعرفة زمن احتباس كل مركب وذلك لمعرفة ترتيب المركبات عند حقنها مجتمعة، و من ثم تم حقن مزيج من التتراسايكلينات الثلاث معاً و لعدة مرات (شكل رقم 1) و من ثم تم حساب متوسط مساحة ذروة كل مركب ليتم على أساسها حساب تراكيزها في عينات العضلات.

بعد ذلك تم حقن مستخلص عينات الاسترجاع و لعدة مرات و من ثم تم حساب نسبة الإسترجاع بتطبيق العلاقة التالية: نسبة الإسترجاع = التركيز المحسوب/التركيز المضاف مضروباً في 100.



الشكل رقم (1): المخطط الكروماتوغرافي لمزيج مركبات التتراسايكلينات المعيارية.

بينت النتائج التي حصلنا عليها أن نسبة الاسترجاع كانت للدوكسي سايكلين و الأوكسي تتراسايكلين و الكلوتتراسايكلين هي 99.3، 96.7 و 98.2 % على التوالي و بالتالي يمكن أن تكون طريقة الاستخلاص المتبعة في هذا البحث ذات مصداقية و يمكن اعتمادها لتحليل متبقيات التتراسايكلينات في النسيج العضلي للطيور حيث أنه و بحسب الباحثة (Abu-Raya et al,2013) يمكن قبول نسب استرجاع المضادات الحيوية من الأنسجة الحيوانية إذا كانت ضمن المجال 60-115%.

#### تحليل متبقيات التتراسايكلينات في لحوم الفروج:

##### تركيز متبقيات الأوكسي تتراسايكلين في عينات لحوم الفروج:

يبين الجدول رقم (1) نتائج تركيز متبقيات الأوكسي تتراسايكلين في عينات لحوم الفروج لمناطق الدراسة. حيث لوحظ أنه من أصل 24 عينة عضلات فروج كان هناك 12 عينة (50%) إيجابية احتوت على متبقيات بتركيز مختلفة للأوكسي تتراسايكلين، كان منها عينتان في منطقة دوما و ثلاث عينات في كل من معربا و النبك في حين كان هناك أربع عينات إيجابية من أصل ست عينات في منطقة الضمير.

الجدول رقم ( 1 ): تركيز متبقيات الأوكسي تتراسايكلين (ميكروغرام/كغ وزن رطب) في عينات لحوم الفروج

	دوما	معربا	الضمير	النبك
1	0	4.20	13.30	0
2	35.02	0	8.13	2.30
3	0	13.35	0	0
4	0	0.20	99.60	101.19
5	1.71	0	0	0
6	0	0	102.54	4.65
متوسط العينات الإيجابية	23.55 ± 18.37	6.74± 5.92	52.22 ± 55.89	56.40 ± 36.05
المتوسط العام	14.17± 6.12	5.36 ± 2.96	49.69 ± 37.26	40.78 ± 18.02

تركيز متبقيات الأوكسي تتراسايكلين في جميع العينات الإيجابية تراوح ما بين 0.2 (معربا) إلى 102.54 (الضمير) ميكروغرام/كغ، و بالمجمل فإن أدنى التراكيز لمتبقيات الأوكسي تتراسايكلين وجدت في عينات عضلات الفروج التي تم جمعها من منطقة معربا تلتها عينات منطقة دوما ثم عينات النبك في حين كانت أعلى التراكيز في عينات الضمير .

بحسب متوسط تراكيز متبقيات الأوكسي تتراسايكلين في العينات الإيجابية لوحظ أن أعلى متوسط كان في العينات التي تم جمعها من منطقة الضمير (55.89 ميكروغرام/كغ) و بمتوسط عام بلغ ( 37.26 ميكروغرام/كغ ) في حين كان أدنى متوسط للعينات الإيجابية و للمتوسط العام في عينات منطقة معربا. بالمقارنة مع الحد المسموح به محلياً لمتبقيات الأوكسي تتراسايكلين في عضلات الفروج (100 ميكروغرام/كغ وزن رطب) بحسب المواصفة القياسية السورية (2011/3605) نلاحظ أن تراكيز متبقيات هذا المركب في عينات عضلات الفروج التي تم جمعها من دوما، معربا كان أدنى من الحد المسموح به ولكن كان هناك عينة واحدة في منطقة النبك (101.19 ميكروغرام/كغ) و عينة واحدة في منطقة الضمير (102.54 ميكروغرام/كغ) فاق تركيز متبقيات الأوكسي تتراسايكلين فيها الحد المسموح به و عينة واحدة في منطقة الضمير قاربت الحد المسموح به (99.6 ميكروغرام/كغ) أما بالنسبة لمتوسط العينات الإيجابية و المتوسط العام لعينات المناطق الأربعة فقد كان أدنى من الحد المسموح به.

من خلال النتائج التي حصلنا عليها نلاحظ أن هناك تباين في عدد العينات الإيجابية و السلبية من جهة و تباين واسع في تركيز متبقيات هذا المركب في العينات سواء في المنطقة الواحدة أو ما بين المناطق من جهة أخرى، هذا التباين يمكن أن يكون سببه اختلاف مصادر الفروج الوافد إلى كل منطقة و في المنطقة الواحدة و اختلاف فترات التسويق بعد المعالجة بهذا العقار و وجود عينات بتراكيز عالية نسبياً دليل على عدم الإلتزام بوقت سحب الدواء ووجود عينات سلبية أو منخفضة التركيز لا يفي وجود متبقيات لمضادات حيوية أخرى.

يشير التحليل الإحصائي أن جميع الفروقات في تراكيز متبقيات الأوكسي تتراسايكلين في عينات عضلات الفروج فيما بين المناطق الأربعة التي تم جمع العينات منها غير معنوية ( $p>0.05$ )، و بالنظر إلى قيم الإنحراف المعياري لقيم كل منطقة نلاحظ أنه كبير نسبياً و يفوق قيمة متوسط تراكيز الأوكسي تتراسايكلين سواء متوسط العينات الإيجابية أو المتوسط العام وهذا ناتج عن تباعد القيم حيث يوجد عينات ذات تراكيز منخفضة و عينات ذات تراكيز عالية جداً وهذا يعود على أن عينات اللحوم التي تم جمعها ليست متجانسة أي ليست من مزرعة واحدة و إنما من مزارع مختلفة.



## تركيز متبقيات الدوكسي سايكليين في عينات لحوم الفروج :

يشير الجدول رقم 2 الى تركيز متبقيات الدوكسي سايكليين في عينات عضلات الفروج التي تم جمعها من مناطق الدراسة في محافظة ريف دمشق.

نلاحظ من خلال الجدول رقم (2) أن متبقيات الدوكسي سايكليين في عضلات الفروج قد سلكت نفس المنحى الذي سلخته متبقيات الأوكسي تتراسايكلين من حيث عدد العينات الإيجابية (12 عينة ) و توزع العينات الإيجابية بين مناطق الدراسة الأربعة. ولكن هناك اختلاف في تركيز متبقيات الدوكسي سايكليين مقارنة مع الأوكسي تتراسايكلين.

الجدول رقم (2): تركيز متبقيات الدوكسي سايكليين (ميكروغرام/كغ وزن رطب) في عينات لحوم الفروج

	دوما	معربا	الضمير	النبك
1	0	0	0	105.82
2	114.93	40.58	108.36	0
3	0	0	118.10	10.12
4	0	2.44	0	0
5	9.20	30.78	101.59	24.74
6	0	0	58.81	0
متوسط العينات الإيجابية	74.76 ± 62.07	19.81± 24.47	26.16 ± 96.72	51.55 ± 46.89
المتوسط العام	46.13 ± 20.69	18.40 ± 12.30	53.90± 64.48	41.51 ± 23.45

أيضاً هنا احتلت عينات عضلات الفروج التي تم جمعها من منطقة الضمير أعلى التراكيز لمتبقيات الدوكسي سايكليين حيث تراوح هذا التركيز في العينات الإيجابية ما بين 58.81 و 118.1 ميكروغرام/كغ و أعلى متوسط للعينات الإيجابية (96.72 ميكروغرام/كغ) و للمتوسط العام (64.48 ميكروغرام/كغ).

بالانتقال إلى تركيز متبقيات الدوكسي سايكليين في عينات منطقة النبك نلاحظ أنه تراوح ما بين 10.12 و 105.82 ميكروغرام/كغ و بمتوسط للعينات الإيجابية و المتوسط العام 46.89 و 23.45 ميكروغرام/كغ على التوالي. أما العينتان الإيجابيتان في منطقة دوما فقد كان تركيز متبقيات الدوكسي سايكليين فيها 9.2 و 114.93 ميكروغرام/كغ و ومتوسطها بلغ 62.07 و المتوسط العام 20.69 ميكروغرام/كغ.

أدنى متوسط تركيز لمتبقيات الدوكسي سايكليين كان في عينات عضلات الفروج في منطقة معربا حيث بلغ متوسط المتبقيات في العينات الإيجابية و المتوسط العام 24.47 و 12.30 ميكروغرام/كغ و تراوح تركيز المتبقيات في العينات الإيجابية ما بين 2.44 و 40.58 ميكروغرام/كغ.

من الناحية الصحية لوحظ أن عدد العينات التي فاق تركيز متبقيات الدوكسي سايكليين فيها الحد المسموح به (100 ميكروغرام/كغ) بحسب المواصفة القياسية السورية (2011/2605) قد بلغ 5 عينات من أصل 12 عينة إيجابية (41.67%) توزعت على المناطق بواقع عينة واحدة لكل من دوما (114.93 ميكروغرام/كغ) و النبك (105.82 ميكروغرام/كغ) و ثلاثة عينات من أصل أربع عينات إيجابية في منقطة الضمير اما تركيز المتبقيات في عينات منقطة معربا فقد كانت ادنى من الحد المسموح به (جدول رقم 2).

تشير النتائج إلى أن هناك كثافة في استخدام مركب الدوكسي سايكليين مقارنة مع الأوكسي تترايكليين و خاصة ما قبل التسويق حيث كان تركيز متبقيات هذا المركب عالية نسبياً ولوحظ أيضاً وجود تباين في توزيع العينات الإيجابية ما بين المناطق و تباين في تركيز المتبقيات وهذا أيضاً دليل على أن الطيور قد تم تسويقها من مزارع مختلفة و ليست من مزرعة واحدة حتى في المنطقة الواحدة. أيضاً يدل وجود التراكيز العالية لمتبقيات هذا المركب أن هناك عدم تقييد بوقت السحب و بالتالي التسويق غير الصحي لطيور هذه المزارع.

يشير التحليل الإحصائي أن جميع الفروقات في تركيز متبقيات الدوكسي سايكليين في عينات عضلات الفروج فيما بين المناطق الأربعة التي تم جمع العينات منها غير معنوية ( $p > 0.05$ ).

#### تركيز متبقيات الكلوروتتراسايكليين في عينات لحوم الفروج:

يشير الجدول رقم 3 إلى تركيز متبقيات الكلوروتتراسايكليين في عينات عضلات الفروج في مناطق الدراسة الأربعة في ريف دمشق.

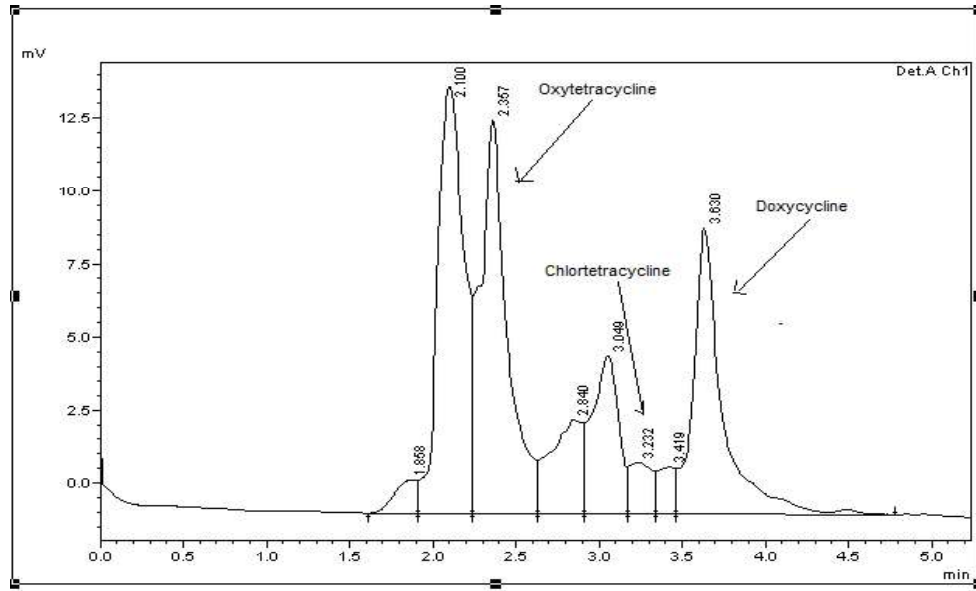
من خلال النتائج التي حصلنا عليها نلاحظ أن نسبة و كثافة استخدام مركب الكلوروتتراسايكليين قليلة جداً و تكاد تكون معدومة بالمقارنة مع مركبي الدوكسي سايكليين و الأوكسي تتراسايكليين حيث لم يتم الكشف عن أي متبقيات لهذا المركب في عينات عضلات الفروج التي تم جمعها من منطقتي دوما و النبك في حين تم الكشف عن تركيز خفيف جداً لمتبقيات هذا المركب في عينة عضلات واحدة فقط (0.25 ميكروغرام/كغ) في منطقة معربا و عينتين فقط في منطقة الضمير بتركيز (0.58 و 1.29 ميكروغرام/كغ).

من الجدير بالذكر ان لم يتم الكشف عن أي متبقيات لمركب الكلوروتتراسايكليين في عينات اللحم العينات لوحده و انما كان متوافق مع وجود متبقيات لكل من الأوكسي تتراسايكليين و الدوكسي سايكليين (شكل رقم 2).

يشير التحليل الإحصائي أن جميع الفروقات في تركيز متبقيات الكلوروتتراسايكليين في عينات عضلات الفروج فيما بين المناطق الأربعة التي تم جمع العينات منها غير معنوية ( $p > 0.05$ ).

الجدول رقم (3): تركيز متبقيات الكلوروتتراسايكليين (ميكروغرام/كغ و وزن رطب) في عينات لحوم الفروج في مناطق الدراسة:

	دوما	معربا	الضمير	النبك	
1	0	0	0	0	
2	0	0.25	0.58	0	
3	0	0	0	0	
4	0	0	0	0	
5	0	0	1.29	0	
6	0	0	0	0	
متوسط العينات الإيجابية	0	$0.00 \pm 0.25$	$0.50 \pm 0.94$	0	
المتوسط العام	0	$0.10 \pm 0.042$	$0.53 \pm 0.312$	0	



الشكل رقم (2): المخطط الكروماتوغرافي لمتبقيات التتراسايكلينات في العينة رقم 2 في مدينة ضمير.

#### 6. المناقشة:

تشير النتائج التي حصلنا عليها أن هناك تفاوت في قيم متبقيات التتراسايكلينات المدروسة في عينات عضلات الفروج التي تم جمعها من أربع مناطق مختلفة في محافظة ريف دمشق. فمن حيث نسبة استخدام التتراسايكلينات الثلاث المدروسة نلاحظ أن نسبة استخدام الكلور تتراسايكلين هي الأدنى و تكاد تكون معدومة حيث كان هناك ثلاث عينات إيجابية فقط في جميع المناطق المدروسة و بتركيز منخفضة جداً، واحدة منها في منطقة معربا (0.25 ميكروغرام/كغ) و اثنتان في منطقة الضمير (0.58 و 1.29 ميكروغرام/كغ)، إن هذه التراكيز الخفيفة التي تم الكشف عنها لمركب الكلور تتراسايكلين في العينات الإيجابية (3 عينات من أصل 24 عينة بنسبة 12.5%) دليل على عدم استخدام هذا المركب عند الفروج في مناطق وزمن الدراسة لأنها لا تتوافق مع التراكيز التي تم الكشف عنها لمركبي الأوكسي تتراسايكلين و الدوكسي سايكلين، ويمكن أن يفسر وجود هذه التراكيز من ناحيتين الأولى أن يكون قد حصل تلوث ما أثناء عملية الإستخلاص و التحليل و أثناء عملية الفصل على الطور الصلب بتقنية الكروماتوغرافيا السائلة وهذا احتمال ضعيف و من ناحية ثانية، قد يكون هناك تراكيز خفيفة لهذا المركب موجودة مسبقاً مع الدوكسي سايكلين أو الأوكسي تتراسايكلين ناجم عن تلوث مستحضر الدوكسي سايكلين أو مستحضر الأوكسي تتراسايكلين أثناء تصنيعهما سواء على شكل مسحوق أو على شكل سائل بمركب الكلور تتراسايكلين أو بقصد الغش.

أما بالنسبة لمركبي الأوكسي تتراسايكلين و الدوكسي سايكلين فقد لوحظ وجود منحنيين، المنحى الأول من حيث عدد العينات الإيجابية لكل مركب حيث لوحظ تساوي في عدد العينات الإيجابية (12 عينة لكل مركب) و المنحى الثاني، لوحظ أن تركيز متبقيات الدوكسي سايكلين في العضلات هي الأعلى مقارنة مع الأوكسي تتراسايكلين وهذا يدل على كثافة استخدام هذا مركب الدوكسي سايكلين أو استخدام جرعات كبيرة و لفترات طويلة او عدم الالتزام بفترات السحب قبل الذبح، و هذا قد يكون دليلاً على أن نسبة استخدامه هي الأكثر عند دجاج اللحم من مركب الأوكسي تتراسايكلين. من ناحية ثانية لوحظ من خلال النتائج أن عدد العينات التي احتوت على تركيز متبقيات للدوكسي سايكلين أعلى من الحد المسموح به (5 عينات) فاق عدد العينات التي احتوت على متبقيات للأوكسي تتراسايكلين (عينتان فقط).

أما من حيث كثافة استخدام التتراسايكلينات تبعاً للمناطق فقد لوحظ أن منطقة الضمير هي الأعلى في استخدام التتراسايكلينات وخاصة الدوكسي سايكلين تلتها منطقتي النبك و معربا و في المرتبة الثالثة حلت منطقة دوما.

تشير النتائج التي حصلنا عليها أن هناك اختلافات في كثافة استخدام التتراسايكلينات بين كل منطقة و أخرى و بين كل مركب و آخر و هناك أيضاً خلل في تسويق الدجاج من حيث عدم التقيد الصارم بوقت سحب الدواء وهذا ربما يكون سببه الجهل أو الخوف من الخسائر الاقتصادية. بهذا الصدد أشار الباحث (Nonga et al,2009) بان 95% من المداجن في تترانيا تسوق الدجاج قبل انتهاء فترة السحب بسبب المخاوف من الخسائر الاقتصادية.

نتائج مماثلة حصل عليها الباحث (رامي ، 2018) في دراسة محلية أجراها للكشف عن متبقيات التتراسايكلينات في لحوم الفروج حيث بين أن هناك تفاوت في استخدام التتراسايكلينات بين كل منقطة و أخرى في محافظة حمص و هناك عدم إلتزام بوقت سحب الدواء وتتوافق نتائجنا مع نتائج هذا الباحث بالنسبة لمركبي الأوكسي تتراسايكلين و الدوكسي سايكلين و تختلف بالنسبة لمتبقيات الكلوريتتراسايكلين حيث بينت نتائجنا باستخدام مكثف له و بوجود عينات احتوت تراكيز متبقيات أعلى من الحد المسموح به. أيضاً تتوافق نتائجنا مع ما بينه الباحث (شريف ، 2021) أن نسبة استخدام الدوكسي سايكلين اختلفت بحسب الفصل و بحسب المنطقة في محافظة اللاذقية وأشار أن 79.2% من العينات المختبرة كانت إيجابية لوجود الدوكسي سايكلين (19 عينة) و 20.8% من العينات المختبرة، ( 5 عينات) لم تسجل فيها أية متبقيات وأن 29.17% من العينات الإجمالية (7 عينات) سجلت قيماً أعلى من الحدود الموصى بعدم تجاوزها.

أيضاً هناك تباينات في تراكيز متبقيات التتراسايكلينات بحسب نتائج الدراسات في بلدان أخرى ففي مصر بينت الباحثة (Abdel-Mohsein et al,2015) أن نسبة العينات الإيجابية (من أصل 94 عينة) التي احتوت على متبقيات أعلى من الحد المسموح به لكل من الأوكسي تتراسايكلين، الدوكسي سايكلين، الكلوريتتراسايكلين و التتراسايكلين هي 12.5 ، 100، 100 و 68.8%. وفي طهران أشار الباحث (Salehzadeh et al,2007) أن 95.55% من عينات العضلات المدروسة احتوت على متبقيات للأوكسي تتراسايكلين و أن 27.77% منها احتوت على تراكيز لهذا المركب أعلى من الحد المسموح به و نتائج مماثلة أشار بها الباحث (Thapa,2021) بدراسة على متبقيات التتراسايكلين و الدوكسي سايكلين في لحم الفروج المباع في مدينة دهران في نيبال حيث وجد أن 57% منها تحوي متبقيات لهذين المركبين.

مما سبق نلاحظ أن كل بلد له خصوصية و لكل منقطة في أي بلد لها أيضاً خصوصية في نسب استخدام التتراسايكلينات عند طيور اللحم ففي بعضها قاربت النسب التي حصلنا عليها في دراستنا و بعضها الآخر فاق بكثير النسب و التراكيز التي حصلنا عليها ولكن بالمجمل يمكن القول أن هناك كثافة في استخدام هذه المجموعة من المضادات الحيوية و ربما يكون هناك أيضاً استخدام طويل الأمد أثناء المعالجة ولفترات طويلة وهذه المؤشرات تدل على عدم التقيد بقواعد الاستخدام الآمن للمضادات الحيوية وخاصة في البلدان النامية (شريف و اخرون، 2020).

#### 7. الاستنتاجات:

1. وجود متبقيات للتتراسايكلينات في 50% من عينات العضلات المدروسة في محافظة ريف دمشق.
2. احتوت ثمانية عينات من عضلات الفروج على تراكيز متبقيات للأوكسي تتراسايكلين و الدوكسي سايكلين فاق الحد المسموح به محلياً.
3. هناك تباين في استخدام التتراسايكلينات بين كل منطقة و أخرى و بين كل مركب و آخر و لكن بالمجمل هناك كثافة في الاستخدام و عدم اتباع القواعد الصحية في التسويق ولا سيما وقت السحب.

#### 8. التوصيات:

1. تكثيف الدراسات على متبقيات التتراسايكلينات و المضادات الحيوية الأخرى لمعرفة مدى انتشارها.

2. التأكيد على ضرورة إجراء مسوحات دورية عن متبقيات الأدوية البيطرية على المستوى الوطني بالتعاون بين المؤسسات البحثية و المجتمعية و ضرورة وضع الحلول المناسبة لترشيد استخدام المضادات الحيوية للحصول على غذاء آمن و سليم للإنسان.

### 9. المراجع:

- 1) بلال، رامي (2018). الكشف عن بعض الثمالات الدوائية في لحوم الفروج في محافظة حمص. رسالة ماجستير- كلية الزراعة- جامعة دمشق.
- 2) شريف. عبد اللطيف، نيسافي. علي، دلا. توفيق و حلاق. عبد الكريم (2020). الكشف عن ثمالات الدوكسي سايكلين و الإنترافلوكساسين في عينات كبد الفروج من محلات بيع الفروج في مدينة اللاذقية 0 سورية. مجلة جامعة حماه. المجلد الثالث، العدد (14)، الصفحة: 135-148.
- 3) شريف، عبد اللطيف (2021). التحري عن وجود ثمالات بعض الصادات الحيوية في منتجات الدواجن المستخدمة في تغذية الإنسان. رسالة دكتوراه - كلية الزراعة - جامعة تشرين.
- 4) حموية، عبد الرزاق. (2005). علم الأدوية و السموم (الجزء الثاني). جامعة البعث، كلية الطب البيطري.
- 5) هيئة المواصفات و المقاييس العربية السورية . (2011). المواصفة القياسية السورية رقم 2011\3605 . الحدود القصوى المسموح بها للأدوية البيطرية في المنتجات الحيوانية.
- 6) Abdel-Mohsein H. S., Mahmoud M. A. M. and Ibrahim A. (2015). Tetracycline Residues in Intensive Broiler Farms in Upper Egypt: Hazards And Risks. Journal of World's Poultry Research 5(3):48-58.
- 7) 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.
- 8) Apata, D.F. (2009) Antibiotic Resistance in Poultry. International Journal of Poultry Science, vol. 8, pp: 404-408.
- 9) 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 , 114, pp: 300 -304.
- 10) AOAC (Association of Official Analytical Chemists) 1995. Official Method 995.09 for Tetracycline. Liquid chromatographic method Journal of AOAC vol. 86, ( 3), 2003 495.
- 11) Beyene T. 2016; Veterinary drug residues in food-animal products: Its risk factors and potential effects on public health. J Vet Sci Technol. Vol. 7, pp:1-7.

- 12) CAC (Codex Alimentarius Commission). (2006). Maximum Residue Limits for Veterinary Drugs in Foods. pp 1-31.
- 13) EMEA. (1997). Committee for veterinary medicinal products. Tetracyclines. MRL/290/97–Final.
- 14) 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.
- 15) Hussein MA, and S Khalil. (2013) Screening of some antibiotics and anabolic steroids residues in broiler fillet marketed in El-Sharkia governorate. Life Sci J , vol. 10 (1), 2111–8
- 16) Kibruyesfa B, Naol H. 2017; Review on antibiotic residues in food of animal origin: Economic and public health impacts. Appl J Hyg. Vol. 6, pp:1–8.
- 17) Keyvan E, Yurdakul O, Demirtas A, Yalcin H and Bilgen N. (2020) Identification of methicillin-resistant staphylococcus aureus in bulk tank milk. Food Sci. Technol. Campinas. Vol. 40 (1), pp: 150–156.
- 18) 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), pp:55– 61.
- 19) Laxminarayan R, Dune A and Chand Wattal. (2013). Antibiotic resistance the need for global solutions. The Lancet Infectious Diseases, Vol 13,(12,) pp: 1001–1003
- 20) Nonga, H.E. M. Mariki, E. D. Karmuribo and R. H. Mdegela. (2009). Assessment of antimicrobial usage and antimicrobial residues in Broiler chickens in Morogoro, Tanzania. Pak. J. Nutr., vol. 8(3), pp: 203–207.
- 21) 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.
- 22) 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 Adv Vet and Animal Research, Vol 5 (2), pp: 140–145.

- 23) Tajick, M.A. and Shohreh, B., (2006). Detection of Antibiotics Residue in Chicken Meat Using TLC. International Journal of Poultry Science. Vol. 5 (7), pp: 611–612.
- 24) Thapa S. (2021). Antibiotic Residues in Broiler Meat Sold in Dharan. Department of Food Technology Central Campus of Technology Institute of Science and Technology Tribhuvan University, Nepal.