تقييم ثمالات الإنروفلوكساسين والتولترازوريل في عضلات دجاج التسمين المجمّعة من أسواق مدينة اللاذقية- سورية

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

(تاريخ الإيداع 31 / 8 / 2020. قبل للنشر في 29 / 11 / 2020)

□ ملخّص □

هدفت هذه الدراسة الى تقييم محتوى عضلات صدر وفخذ الفروج من الصادّ الحيوي الإنروفلوكساسين ومن مضاد الكوكسيديا التولترازوريل، ومقارنة النتائج التي تم الحصول عليها، مع الحد الأقصى للثمالات (MRL) المسموح به محلياً وعالمياً، لتقدير مدى أمان الاستهلاك البشري لهذه اللحوم.

جمعت عينات عشوائية من صدر وفخذ الفروج من أسواق مدينة اللاذقية في سورية خلال أشهر عام 2018، وتم استخلاصها وتحليلها باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC.

بيّنت النتائج ارتفاعاً في مستويات كل من الإنروفلوكساسين والتولترازوريل في العينات حيث تراوحت بين (31.05- 175.77) و(9.64- 251.09) µg/kg، على التوالي، واحتوت (79.2 و87.5%) من العينات على ثمالات من هذين الصادّين، وتجاوزت (41.67 و50 %) من العينات الاجمالية الحد الأقصى المسموح به لثمالات الإنروفلوكساسين والتولترازوريل، على التوالي، مما يستدعي ضرورة وجود مراقبة صارمة لمحتوى الصادّات الحيوية في ذبائح الفروج قبل طرحها للاستهلاك البشري.

أظهر التحليل الإحصائي للنتائج عدم وجود فروق معنوية ($P>0.05$) عند مقارنة متوسطات تراكيز الانروفلوكساسين ببعضها البعض خلال الفصول، بينما كانت الفروق معنوية ($P\leq0.05$) عند مقارنة متوسط تركيز التولترازوريل في عينات الربع الثاني بمتوسط تركيزه في عينات باقي الأرباع.

الكلمات المفتاحيّة: ثمالات- الإنروفلوكساسين- التولترازوريل- عضلات الفروج

* **أستاذ - قسم الإنتاج الحيواني- كلية الزراعة -جامعة تشرين- سورية**
** **أستاذ - قسم الإنتاج الحيواني- كلية الزراعة -جامعة تشرين- سورية.**
*** **مدرس - كلية الطب البيطري - جامعة حماه- سورية**
**** **طالب دكتوراه -قسم الإنتاج الحيواني- كلية الزراعة- جامعة تشرين- سورية.**

Evaluation of Enrofloxacin and Toltrazuril residues in broiler muscles collected from Lattakia markets – Syria

Dr. Ali Nisafi[*]
Dr. Tawfik Dalla[**]
Dr. Abdul karim Hallak[***]
Abdullatif Charif[****]

(Received 31 / 8 / 2020. Accepted 29 / 11 /2020)

□ ABSTRACT □

This study aimed to evaluate the content of breast and thigh of broiler muscles from the antibiotic Enrofloxacin and anti-coccidia Toltrazuril, and to compare the results obtained, with the maximum residue limit (MRL) allowed locally and internationally, to assess the safety of human consumption of these meats.Random samples of broilers breasts and thighs were collected from the markets of Latakia during all months of 2018, and were extracted and analyzed in the laboratories of the Ministry of Agriculture in Damascus using the high-performance liquid chromatography technique (HPLC).

The results showed that there were high levels of Enrofloxacin and Toltrazuril in samples, ranging between (31.05 to 175.77) and (9.64- 251.09) µg/ kg, respectively. 79.2 and 87.5% of samples contained residues of them, and 41.67 and 50% of the total samples exceeded the maximum residues limit (MRL) for both Enrofloxacin and Toltrazuril, respectively. The statistical analysis of results showed no significant differences ($P > 0.05$) when comparing the mean concentrations of Enrofloxacin with each other during seasons. While the differences were significant ($P \leq 0.05$) when comparing the mean concentration of Toltrazuril in the second quarter samples with the mean concentration in the remaining quarters.

Keywords: residues, Enrofloxacin, Toltrazuril, broiler muscles

[*]**Professor , Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Syria.**
**** Professor , Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Syria.**
***** Assistant Professor , Faculty of Veterinary Medicine, University Hama, Syria**
****** PhD student, Animal Production Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Syria**

مقدمة

يعتبر انتاج الدواجن من الصناعات الأكثر نمواً في العالم، حيث أدى ارتفاع الاستهلاك العالمي من لحومها الى جعلها أكبر مساهم في صناعة اللحوم، ويعدّ دجاج التسمين (الفروج) أهم مصادرها اذ يشكل ما نسبته 87 % منها (FAO, 2010)، وقد مكّن التطور الحاصل في هذه الصناعة المربين من انتاج فروج بالوزن المطلوب وبعمر أقل من ستة أسابيع وذلك نتيجة لاستنباط السلالات المناسبة لهذا الغرض وتأمين الأعلاف المتوازنة والرعاية الحديثة التي توفر الظروف الملائمة لتحقيق الإنتاج الأمثل، وكذلك استخدام العقاقير البيطرية والصادات الحيوية في مراحل التربية المختلفة.

ومع تطور صناعة الدواجن كثرت الأمراض وازدادت فرص انتشارها، مما قاد الى استخدام كميات كبيرة ومتنوعة من الأدوية والصادات الحيوية في العلاج والوقاية من الانتانات التي تسببها الكائنات الدقيقة الممرضة، إضافة الى امكانية استخدام بعض هذه الصادات في زيادة معدلات النمو وتحسين الإنتاج (Marshal *et al.,* 2011). والى جانب الصادّات الحيوية، تستخدم مضادات الكوكسيديا لعلاج الأمراض المعوية التي تتسبب بها طفيليات الكوكسيديا شائعة الانتشار في قطعان الدواجن المرباة على الأرض، فتم استخدام فئات معينة من الأدوية تسمى حوامل الأيونات Ionophores أو Coccidiostats ونظراً لنشاطها واسع الطيف، واستخداماتها المتعددة ضد الجراثيم الموجبة لغرام، تم تصنيفها في بعض الدراسات على أنها "مضادات حيوية".

ويختلف حجم الجرعات المعطاة تبعاً لمرحلة الإنتاج، وخطر الإصابة بالأمراض، وتعطى مع الأعلاف، أو 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 كبيرة من الأمراض، إلا أن استعمال بعضها قد يؤثر في فاعلية استعمال الأنواع الأخرى، ويحدث نوع من التضاد، اذ تبين أن النشاط المناعي للإنروفلوكساسين مثلاً، قد يخفض من الاستجابة المناعية للقاحات الأخرى (Veerapandian *et al.,* 2013).

ويتسبب الاستعمال المكثف للصادات الحيوية، ببقاء ثمالات منها في أنسجة ومنتجات الطيور المعالجة، مما يشكّل مخاطر كبيرة على صحة الإنسان. وفي محاولة منها لاحتواء هذه المخاطر، وضعت منظمة الصحة العالمية (WHO, 2015) خطة عمل، طالبت فيها بوضع خطط وطنية تتماشى مع إجراءاتها لمراقبة استخدام الصادات كأحد أوجه الاستراتيجيات المتبعة لمنع حدوث المقاومة الدوائية، فتم حظر استعمال بعض هذه الصادات وتقييد استعمال بعضها الآخر، واعتمدت حدود قصوى مسموح بها لمستوى الثمالات في المنتجات الحيوانية (Maximum Residues Limits (MRLs من قبل الاتحاد الأوروبي (EU 37/2010)، وكذلك وضعت هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية المواصفة القياسية السورية رقم (SASMO, 3605/2011)، وكان الحد الأقصى المسموح به لثمالات الانروفلوكساسين والتولترازوريل في عضلات الدواجن في المرجعيتين أعلاه (100 µg/kg)، وتعتبرمنتجات الدواجن آمنة للاستهلاك البشري بعد انقضاء فترة سحب Withdrawal period (مدة التوقف عن إعطاء الصادّات للحيوانات قبل الذبح وتكون كافية لاستنفاذ الثمالات داخل لحومها الى الحد المقبول) مقدارها خمسة أيام للانروفلوكساسين (San Martin *et al.,* 2009)، و 8 أيام للتولترازوريل (Soliman, 2015).

تنتمي الصادّات الحيوية المستخدمة في تربية الفروج إلى نفس الفئات العامة للصادّات المستخدمة من قبل الإنسان، أو قد يكون لها نفس آلية العمل. ويتبع **الإنروفلوكساسين** لمجموعة (Fluroquinolones) وهو صادّ ذو

طيفٍ واسع التأثير، ويعطى للدواجن لأغراض الوقاية والعلاج من الالتهابات الرئوية والتهابات الجهاز الهضمي، والتهابات المسالك البولية، ويتم امتصاصه بسرعة وبشكل شبه كامل من الجهاز الهضمي، ويتوزع في الأنسجة بشكل سريع، ويطرح بصورة رئيسية عن طريق الكلى، ولا تستطيع درجات الحرارة العالية وعمليات الطهي المختلفة، تخفيض المحتوى الكلي له، فيؤثر سلباً في صحة المستهلك (Sattar *et al.,* 2014). ويؤدي تراكم ثمالات منه بمستويات عالية الى العديد من الآثار السامة على الحيوانات والإنسان، كتلف المفاصل الشبابي والتأثير الوظيفي في عمل الكلية والعين والجهاز العصبي المركزي (Suto *et al.,* 1992). وبعض ردود الأفعال التحسّسية وكذلك انتقال مسببات الأمراض المقاومة للفلوروكينولونات كالـ Campylobacter إلى الإنسان (Horie *et al.,* 1992).

أما **التولترازوريل** فهو أحد أهم مضادات الكوكسيديا، يتبع لمجموعة (Triazinetrione) ويعمل على تثبيط إنزيمات الجهاز التنفسي للطفيل، والإنزيمات المشاركة في تخليق البيريميدين، ويستخدم على نطاق واسع للوقاية والعلاج من الطفيليات التي تتسبب بها الكائنات الدقيقة من جنس Eimeria، ويتمتع بفعالية عالية ضد جميع مراحل تطورها في الأمعاء، ولأنواع كثيرة منها:Eimeria Tenella, E Necatrix, E Acervulina, E Maxima، التي تصيب الأنسجة الطلائية المعوية للطيور، وتتسبب بالإسهال والنزف المعوي، ما ينجم عنه انخفاض في الوزن، وفي معدل تحويل الأعلاف، وتراجع في إنتاج البيض، وارتفاع في معدل النفوق (Zhao *et al.,* 2018)، ويعطى مع مياه الشرب بسبب فقدان الطيور المصابة الشهية لتناول الأعلاف، ويتسبب الاستعمال غير الآمن بتراكم ثمالات منه في المنتجات الحيوانية، وبمخاطر جمّة على الصحة، ويؤدي الاستعمال لفترات طويلة إلى تطوير سلالات مقاومة (Abbas *et al.,* 2008) كما وتتسبب التراكيز العالية من التولترازوريل بتهيج للأغشية المخاطية والجهاز التنفسي العلوي لدى الانسان وباضطرابات هضمية وتنفسية مختلفة (EC) No. 1907/2006 .

وتؤثر الظروف البيئية بشكل واضح في صحة ونمو الدواجن لاسيما الرطوبة النسبية والحرارة اذ يؤثر ارتفاعهما في تناول الأعلاف ومعدل زيادة وزن الجسم (Yahav *et al.,* 1995)، وتعتبر الرطوبة الجوية 50– 70% هي الرطوبة المثلى (Winn and Godfrey, 1967) ويؤدي انخفاضها في الاسبوع الأول من عمر الفروج الى ما دون 50% إلى الجفاف (Aviagen, 2009). والضعف الذي يمتد لعمر ستة أسابيع (Jones *et al.,* 2005) وتؤثر الرطوبة النسبية العالية في زيادة رطوبة الفرشة وزيادة تراكيز الأمونيا مما يؤثر سلباً في نمو وصحة الفروج ويكون ذلك أكثر وضوحاً مع درجات الحرارة المرتفعة ويتسبب ذلك بسهولة انتشار العدوى ولأمراض كثيرة (Weaver and Meijerhof 1991). وتلعب الرطوبة أيضاً دوراً مهماً في تطور الفطريات وإنتاج السموم الفطرية (Pilar *et al.*, 2012). وتؤثر الرطوبة النسبية المترافقة مع الحرارة المرتفعة في الجهاز التنفسي وتتسبب بالإجهاد التنفسي وبكثير من الأمراض التنفسية (Berman, 2006) مما يستدعي استخدام المزيد من العقاقير والصادات الحيوية لأغراض الوقاية والعلاج.

وقد شكلت ثمالات الصادات الحيوية في المنتجات الحيوانية هاجساً كبيراً لدى الجهات الصحية، اذ سجل تراكم ثمالات الانروفلوكساسين والتولترازوريل في الأنسجة العضلية للفروج بمستويات فاقت أحياناً الحدود القصوى للثمالات في بلدان كثيرة كايران (Attari *et al.,* 2014)، والبرازيل (Amagon *et al.,* 2017) والبرتغال (Pena *et* al., 2010)، ولاتفيا (Ruskoa *et al.,* 2019)، والصين (Zhaoling *et al.,* 2014)، وايطاليا (Roila *et al.*, 2019) وغيرها

أهمية البحث وأهدافه

تتسبب ثمالات الصادّات الحيوية بمخاطر صحية كبيرة على الانسان والحيوان، تتمثل بحدوث السرطانات والطفرات الجينية وأمراض نقي العظام، وبكثير من أشكال الحساسية والاضطرابات، ما ينتج عنه خسائر اقتصادية كبيرة ناتجة عن ارتفاع كلف الإنتاج، بسبب انخفاض معدلات النمو وارتفاع نسب النفوق، وبأضرار صحية متنوعة على الإنسان، وقد تنتقل اليه أيضاً سلالات جرثومية مقاومة للصادّات الحيوية، يضاف الى ذلك تعذّر تسويق المنتجات الملوثة الى أسواق الكثير من الدول. وتسهم معرفة مدى تراكم الصادّات في اللحوم في ضبط استخدامها، ما يسهم في تحسين صحة الغذاء، وهدف هذا البحث الى تقييم مستويات كل الانروفلوكساسين والتولترازوريل في عينات عشوائية من صدر وفخذ الفروج المجمعة من محلات بيع الفروج في أسواق مدينة اللاذقية، وتقييم مدى أمان استهلاك هذه المنتجات من خلال مقارنة هذه النتائج بالحدود القصوى المسموح بها من هذه الثمالات.

طرائق البحث و مواده

أ– **العينات وموقع تنفيذ التجربة:** جمعت عينات عشوائية من متاجر مختلفة لبيع الفروج شملت كامل المساحة الجغرافية لمدينة اللاذقية، وذلك للكشف عن ثمالات كل من الانروفلوكساسين والتولترازوريل فيها وفقاً لما يلي:

- 96 عينة صدر و96 عينة فخذ فروج تم جمعها خلال عام 2018 بمعدل ثمان عينات من كل نسيج في كل شهر وعلى امتداد العام.
- تم دمج كل أربع عينات صدر مع أربع عينات فخذ من كل شهر مع بعضها البعض لتكون عينة واحدة (50% صدر و50% فخذ) وليكون مجموع العينات التي تم تحليلها في كل شهر عينتين.
- تم تقسيم السنة الى أربع فترات (أرباع) كل منها ثلاثة أشهر، ليكون عدد العينات التي تم تحليلها في كل ربع ست عينات.

بغية اعطاء صورة دقيقة وشاملة الى حد كبير، تعكس واقع لحوم الفروج المستهلكة في المدينة من الناحية الصحية، وعلى مدى عام كامل يشمل مختلف الظروف البيئية وما يرتبط بها من أمراض تستدعي استخدام الصادات الحيوية وغيرها من العقاقير.

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. وكان مخطط تحليل العينات وفقاً لما هو مبين في الجدول (1).

الجدول (1) مخطط عمليات التحليل للانروفلوكساسين والتولترازوريل خلال السنة

الربع	عدد عمليات التحليل للإنروفلوكساسين	عدد عمليات التحليل للتولترازوريل
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

جميع المحلّات العضوية والمواد الكيميائية التي استخدمت في عمليات الاستخلاص والتحليل كانت من انتاج شركة Merck السويسرية وذات نقاوة عالية من الصنف (HPLC- grade) تناسب إجراء هذا النوع من التحاليل، أما المواد المعيارية للانروفلوكساسين والتولترازوريل فكانت من انتاج شركة Sigma وبتركيز 100%، واستخدم جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC من صنع شركة Shimadzu اليابانية ذو الطراز LC20، وتم الفصل على الطور الصلب باستخدام عمود كروماتوغرافي C18 (25 cm x 4.6 mm, 5 µm) صنع شركة Supelco Analytical، وكانت بقية الأجهزة والمعدات من انتاج شركات عالمية معروفة، وقد تم إجراء التحاليل في مخابر وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي بدمشق.

ج- طريقة استخلاص وتحليل الانروفلوكساسين

تم اعتماد طريقة (García Ovando *et al.,* 2004) والتي تتلخص بتحضير محلول دارئة الفوسفات Phosphate Buffer Solution وفق القواعد التي اعتمدتها هذه الطريقة، وتتم عملية الاستخلاص بإخراج العينة من الثلاجة وطحنها (4 عينات فخذ و4 عينات صدر) بشكل جيد حتى الوصول الى درجة التجانس، أخذت كمية 1 غ (50% فخذ+ 50% صدر) من العينة ووضعت في أنبوب تثقيل سعة 50 مل، أضيف اليها 10 مل من محلول دارئة الفوسفات وتم خلط المزيج بشكل جيد، ثم أضيف إليه 40 مل من الديكلوروميثان ووضع المزيج على جهاز الرج Vortex لـ 5 دقائق، بعد ذلك تم تثقيل العينة على سرعة 4000 دورة في الدقيقة لـ 20 دقيقة، ثم أخذ الجزء الطافي إلى أنبوب نظيف، وأضيف الى الجزء السفلي (العضوي) 30 مل ديكلوروميثان، وتم اعادة الاستخلاص ثانية ووضع المزيج على المثقّلة لـ 20 دقيقة بسرعة 4000 دورة/دقيقة، ثم أخذ الجزء الطافي وأضيف إلى الجزء الأول، وتم تبخير المستخلص على جهاز المبخر الدوار عند 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.

تمت عملية التحليل (الفصل) بأستخدم كاشف المصفوفة الضوئية عند طول موجة 278 nm، ودرجة حرارة فرن العمود 40 مئوية، وتدفق 1 مل/دقيقة وتم استخدام 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.

د- طريقة استخلاص وتحليل التولترازوريل

تم اعتماد طريقة Buiarelli وآخرين (2017) في استخلاص التولترازوريل، أخذت 5 غ من عينة مفرومة ومتجانسة بشكل حيد (50% فخذ+ 50% صدر) في أنبوب تثقيل 10 مل، أضيف اليها 5 مل اسيتونتريل، ثم وضعت على الرجّاج لمدة 5 دقائق، ثم على جهاز الخلط الدوامي Vortex لمدة 15 دقيقة، ثفلت بعد ذلك على سرعة 4000 دورة بالدقيقة لمدة 5 دقائق، ثم أخذ الجزء الطافي ومدد بـ 25 مل من الماء المؤين، ثم مرر على عمود الفصل C18 (Cartrage) المهيأ بواسطة 3 مل ميثانول ثم 3 مل ماء، وبعد تمرير العينة غسل الكارتريج بـ 5 مل ماء ثم 5 مل ماء ثم شطف بـ 5 مل ميثانول 5%، ثم بخر بغاز النيتروجين، وحل المتبقي بـ 1 مل اسيتونتريل 70% لتصبح العينة جاهزة للحقن والتحليل على جهاز HPLC وتمت عملية التحليل (الفصل) عند موجة بطول 254 nm، ودرجة حرارة فرن العمود 40 مئوية، وتدفق 1 مل/ دقيقة وكان حجم الحقن: 10 أو 20 ميكرولتر وباستخدام

العمود C18 كطور صلب، أما الطور المتحرك فكان (ماء) 20 : (أسيتونتريل) 80، وتم تحضير المحلول المعياري للتولترازوريل بتركيز 50 ميكروغرام/ مل وفق الأصول.

هـ- التحليل على جهاز HPLC

تم التحقق من الطريقة المتبعة في الاستخلاص والتحليل بإضافة 100 ميكروغرام من الانروفلوكساسين و100 ميكروغرام من التولترازوريل الى عضلات فروج مأخوذة من مزارع لم تستخدم فيها أي من مركبات هذين الصادين، وتم تطبيق عملية الاستخلاص بكامل مراحلها عليها ولكل مادة، فكانت نسبة الاسترجاع Recovery للانروفلوكساسين 97.56%، وللتولترازوريل 94.84%، وهي نسب جيدة تعطي ثقة بطريقة الاستخلاص والتحليل المطبقة.

بعد ذلك تم حقن كمية من الانروفلوكساسين والتولترازوريل المعياريين بشكل منفرد لمعرفة زمن الاحتباس لكل منهما على حده ومن ثم حقن مزيج من المركبين معاً بتركيز 50 ميكروغرام/ مل لكل منهما عدة مرات، فكان زمن الاحتباس للانروفلوكساسين 1.951 دقيقة، وللتولترازوريل 4.114 دقيقة، مع الإشارة الى أن زمن الاحتباس هو الزمن اللازم لخروج المركب من عمود الفصل ووصوله إلى الكاشف حيث لكل مركب زمن بقاء يميزه ومنه يتم التحديد النوعي، أما التحديد الكمي فيتم من خلال مساحة الذروة Peak التي يتم رسمها بواسطة الكاشف.

وتم حساب التراكيز في العينات 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)

و- التحليل الاحصائي

استخدم في التحليل الاحصائي للنتائج البرنامج Statistic Program for Social Sciences (SPSSv18) لمقارنة الفروق المعنوية ذات الدلالة الإحصائية LSD عند مستوى معنوية 5%.

النتائج والمناقشة

أ- محتوى الانروفلوكساسين في العينات

تم تقدير محتوى الانروفلوكساسين في العينات، وكانت النتائج ايجابية في نسبة كبيرة منها وتجاوزت التراكيز الحد الأقصى المسموح به في 41.67 % من العينات، ويبين الجدول (2) القيم التي تم الحصول عليها

جدول (2) نتائج تحليل الانروفلوكساسين في عضلات صدر وفخذ الفروج (µg/kg)

رقم العينة	الربع الأول (1 -2 -3)	الربع الثاني (4 -5 -6)	الربع الثالث (7- 8- 9)	الربع الرابع (10- 11- 12)
1	137.00	72.17	157.54	72.95
2	175.77	159.64	0	37.99
3	119.74	71.66	79.60	150.23
4	124.48	0	0	118.32
5	83.23	0	94.73	105.99

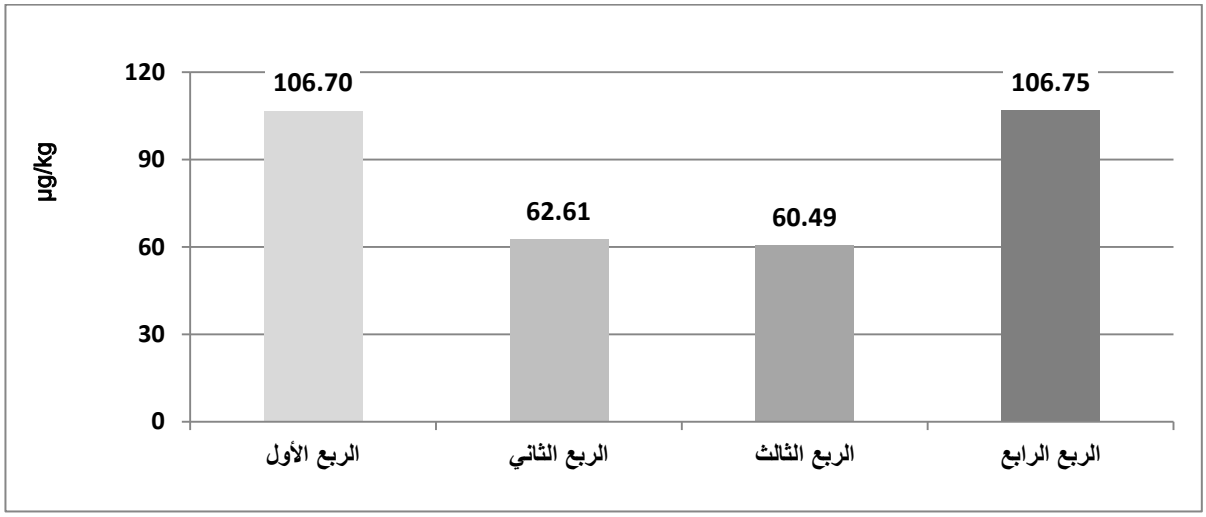
155.01	31.05	72.17	0	6
106.74^{a}	60.48^{a}	62.60^{a}	106.70^{a}	المتوسط
45.22	61.87	59.19	60.18	الانحراف المعياري

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

يتضح من الجدول (2) أن 79.2% من العينات (19 عينة) كانت ايجابية لوجود الإنروفلوكساسين في حين لم تسجل 20.8 % من العينات (5 عينات) أي مستوى منه، وتجاوزت 41.67 % من العينات (10 عينات) الحد الأقصى المسموح به من الانروفلوكساسين في النسيج العضلي للدواجن MRL (100 ميكروغرام/ كغ) وكان معظمها من عينات الربعين الأول والرابع.

حققت العينة (2) من عينات الربع الأول أعلى تركيز له في العينات 175.77 µg/kg، تلتها العينة (2) من عينات الربع الثاني 159.64 µg/kg. ويشير التحليل الإحصائي للنتائج الى عدم وجود فروق معنوية P>0.05 ذات دلالة إحصائية بين قيم متوسطات الإنروفلوكساسين المسجلة في عينات العضلات خلال الأرباع.

كان متوسط تركيز الانروفلوكساسين في العينات التي احتوت على ثمالات منه 106.28 µg/kg، والمتوسط الإجمالي لتركيزه في جميع العينات المختبرة 84.14 µg/kg، وتجاوز متوسط تركيزه في عينات الربعين الأول والرابع الحد الأقصى المسموح به لهذه الثمالات، واحتوت جميع عينات هذين الربعين ثمالات منه باستثناء العينة (6) فقط من عينات الربع الأول، وكانت قيمة المتوسطات في هذين الربعين متقاربةً، ويبين المخطط (1) متوسط تركيز الانروفلوكساسين في عضلات الفروج خلال الأرباع.



المخطط (1) متوسط تركيز الانروفلوكساسين في عضلات الفروج خلال الأرباع

بينما كان متوسط تركيزه في عينات الربعين الثاني والثالث ضمن الحدود الآمنة، وكان متوسطا القيم المسجلة في الربعين الثاني والثالث متقاربين، وجميع القيم المسجلة خلالهما كانت أقل من الحد الأقصى المسموح به باستثناء قيمتين فقط (16.66%)، ولم تسجل أية ثمالات في 4 عينات (33.33%) من اجمالي العينات المختبرة، وكان المتوسط الاجمالي فيهما أقل من MRL.

وبمقارنة النتائج التي تم الحصول عليها مع دراسات سابقة يتبين أن النسبة المئوية للعينات الايجابية لوجود هذا الصاد تقل عن تلك المسجلة في ايران والتي أظهرت 90 % من العينات فيها ايجابية لوجود الانروفلوكساسين، إلا أن مستوياته في جميع العينات كانت أقل من MRL (Attari *et al.,* 2014).

وتزيد القيم المسجلة في هذه الدراسة عن تلك المسجلة في اسطنبول في دراسة أجريت للتحري عن ثمالات الانروفلوكساسين والدانوفلوكساسين ولم تسجل فيها أية قيم تفوق الحد الأقصى المسموح به ولكل من هذين الصادّين، ولم تتجاوز المستويات المسجلة من كل منهما 50 µg/kg (Yıldırım *et al.,* 1996).

وتزيد القيم المسجلة في هذه الدراسة عن تلك التي تم التوصل اليها في في دراسة أجريت في البرازيل والتي لم تسجل فيها أية مستويات تفوق الحد الأقصى المسموح به، لأي صادّ حيوي من الصادات التي شملتها الدراسة بما في ذلك الانروفلوكساسين (Korb *et al.,* 2014).

كذلك تزيد عن النتائج االمسجلة في عينات من النسيج العضلي للفروج والديك الرومي في البرتغال، في دراسة بينت أن 32.8 % و29.7 % من عينات الفروج والديك الرومي، على التوالي، كانت ايجابية للانروفلوكساسين وتراوحت تراكيزه فيهما بين 20.9- 114.2 µg/kg و37.6- 84.1 µg/kg، على التوالي (Pena *et al.,* 2010).

وتقل النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة عن تلك المسجلة في نيجيريا والتي بينت أن جميع العينات المختبرة كانت ايجابية للانروفلوكساسين، وتراوحت تراكيزه فيها بين 235- 881 µg/kg Amagon *et al.,* (2017).

ب- محتوى التولترازوريل في العينات

تم تقدير محتوى التولترازوريل في العينات، وكانت النتائج ايجابية في نسبة كبيرة منها وتجاوزت التراكيز الحد الأقصى المسموح به في 50% من العينات، ويبين الجدول (3) القيم التي تم الحصول عليها

الجدول (3) نتائج تحليل التولترازوريل في نسيج عضلات فخذ وصدر الفروج (µg/kg)

رقم العينة	الربع الأول (1- 2- 3)	الربع الثاني (4- 5- 6)	الربع الثالث (7- 8- 9)	الربع الرابع (10- 11- 12)
1	244.83	146.49	112.49	85.70
2	106.03	143.95	89.47	71.74
3	136.57	148.04	120.26	0
4	9.64	140.39	56.55	0
5	23.61	251.09	154.54	75.61
6	25.79	157.54	0	97.89
المتوسط	91.07^{a}	164.58^{b}	88.88^{a}	55.15^{a}
الانحراف المعياري	90.97	42.76	54.40	43.67

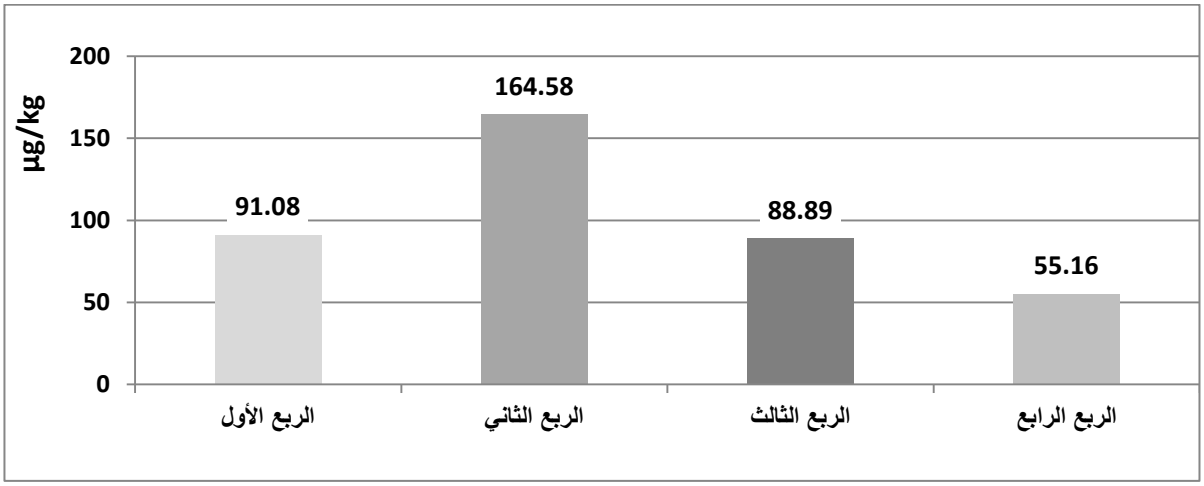
a, b تدل الحروف المختلفة على وجود فروق معنوية $P \leq 0.05$ بين الأرباع

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

يتضح من الجدول (3) أن 87.5 % من العينات المختبرة (21 عينة) كانت ايجابية للتولترازوريل في حين لم تسجل 12.5 % من العينات (3 عينات) أية ثمالات منه، وتجاوزت 50 % من إجمالي العينات (12 عينة) الحد الأقصى المسموح به لثمالات التولترازوريل MRL في الأنسجة العضلية للدواجن(100 µg/kg)، منها جميع عينات الربع الثاني.

حققت العينة (5) من عينات الربع الثاني أعلى تركيز للتولترازوريل في العينات 251.09 µg/kg، تلتها العينة (1) من عينات الربع الأول 244.83 µg/kg، وسجلت القيمة الأدنى له في العينة (4) من عينات الربع الأول وبتركيز بلغ 9.64 µg/kg.

وكان متوسط تركيز هذا الصادّ في العينات التي احتوت على ثمالات منه 114.2 µg/kg والمتوسط الإجمالي لتركيزه في جميع العينات المختبرة 99.93 µg/kg، وتجاوز متوسط تركيز عينات الربع الثاني 164.58 µg/kg الحدد الأقصى المسموح به لثمالات التولترازوريل في النسيج العضلي للدواجن وسجل القيمة الأعلى بين المتوسطات، وكانت مستويات التولترازوريل في العينات المجموعة خلاله تفوق الحد الأقصى المسموح به. ويبين المخطط (2) متوسط تركيز التولترازوريل في عضلات الفروج خلال الأرباع.



المخطط (2) متوسط تركيز التولترازوريل في عضلات الفروج خلال الأرباع

ويشير التحليل الإحصائي للنتائج الى وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) عند مقارنة متوسط مستوى هذا الصاد في الربع الثاني بمتوسط تركيزه في باقي الأرباع، والى عدم وجود فروق معنوية ($P>0.05$) عند مقارنة متوسط تركيزه فيما بين الأرباع الأول والثالث والرابع.

وقد بينت الكثير من الدراسات تراكماً لثمالات مضادات الكوكسيديا في أنسجة ومنتجات الدواجن، وتشير مقارنة نتائج هذه الدراسة بتلك الدراسات الى ازدياد القيم المسجلة فيها عن تلك المسجلة في لاتفيا في دراسة أجريت على الفروج والدجاج البياض وبيض الدجاج والسمان، على مدى 5 أشهر للتحري عن وجود 17 من الصادّات الحيوية والعقاقير، وقد تم التحري في عينتين عن التولترازوريل ومستقلبيه Toltrazuril Sulphone و Toltrazuril Sulphoxide، احتوت العينة الأولى على 7 ± 1.2 µg/kg من التولترازوريل سولفون و0.4 ± 1.9 µg/kg من التولترازوريل، وآثار ضئيلة من تولترازوريل سلفوكساید، واحتوت العينة الثانية على 2.9± 1.4 µg/kg من تولترازوريل سولفون وآثار ضئيلة جداً من التولترازوريل والتولترازوريل سلفوكساید (Ruskoa *et al.,* 2019).

وتزيد نتائج هذه الدراسة عن تلك التي أجريت في الصين من أجل التحديد المتزامن لثمالات التولترازوريل ومستقلبيه تولترازوريل سلفون وتولترازوريل سولفوكساييد، في عضلات وكبد وكلى كل من الفروج والخنزير، اذ تراوحت مستويات التولترازوريل ومستقلبيه في جميع الأنسجة المختبرة بين 10– 37.5 µg/kg (Zhaoling *et al.,* 2014).

وكذلك تزيد عن القيم التي توصلت اليها دراسة أجريت في الصين أيضاً للكشف عن ثمالات كل من الديكلازوريل والتولترازوريل، في الأنسجة العضلية وفي كبد وكلى الفروج والتي كانت مستويات كل من المركبين فيها 0.005 و0.004 ملغ/ كغ، (5 و4 µg/kg) على التوالي (ZuHao *et al.,* 2009). وتزيد عن تلك المسجلة في دراسة أجريت في الصين للكشف عن التولترازوريل ومستقلبيه في عينات الأعلاف والفروج والبيض والتي لم تتجاوز قيمه في جميع العينات المختبرة 2.60 µg/kg (Wang *et al.,* 2019). وتزيد عن تلك المسجلة في ايطاليا في دراسة أجريت للتحري عن ثمالات 11 من مركبات Coccidiostats في الأعلاف والأنسجة الحيوانية والبيض، والتي بينت أن التلوث الغذائي بالمركبات المثبطة لمرض الكوكسيديا في لحوم الدواجن والبيض كان عالياً وأن 34.7% من الأنسجة الحيوانية كانت ايجابية لوجود هذه المضادات وكانت جميعها ضمن الحدود المسموح بها، في حين كانت 16% من عينات البيض ايجابية وتراوحت التراكيز فيها بين 2.4 – 1002 µg/kg (Roila *et al.,* 2019).

ج– المناقشة

يشير وجود النتائج السلبية للانروفلوكساسين في 20.8 % من العينات (5 عينات) وللتولترازوريل في 12.5 % من العينات (3 عينات) الى عدم استعمال المربين لمركبات هذين العقارين نتيجة لعدم تعرض المزارع الى الأمراض التي يستدعي علاجها استخدامهما، أو عدم توافر الشروط الملائمة لانتشار العدوى فيها، أو استخدام صادات أخرى بديلة في العلاج والوقاية، يضاف الى ذلك احتمال أن يكونا قد استخدما في مراحل التربية الأولى ما سمح بتفكك وتحلل مركباتهما داخل الأنسجة وبشكل كامل.

ويعود تركز كل من الانروفلوكساسين والتولترازوريل في الأنسجة العضلية للفروج بمستويات تفوق الحدود المسموح بها الى عدم تقيد المربين بفترات السحب المحددة لهذين الصادّين أو أنها غير كافية في ظل استخدام جرعات عالية منهما مع قصر الدورة الانتاجية لفروج اللحم، قد يكون ذلك نتيجة لعدم المعرفة والإدراك بمخاطر بقاء هذه الثمالات في اللحوم، أو قد يكون نتيجة للقلق والتخوف من انتشار الأمراض خاصة لدى الطيور بأعمار كبيرة، وما قد يتسبب به سحب الدواء من نسب نفوق مرتفعة في القطيع، أو انخفاض في نسبة التحويل الغذائي، وبالتالي خسائر اقتصادية عالية، سيما وأن مدة سحب الانروفلوكساسين تعادل 11% من عمر الفروج، ومدة سحب التولترازوريل تعادل أكثر من 17% منها، مما يجعل المربين يستمرون في إعطائهما حتى فترة قصيرة من التسويق، ولا يشكل ذلك عائقاً في ظل عدم إخضاع لحوم الفروج الى أي نوع من التحاليل للتأكد من توافقها مع الحدود القصوى للثمالات.

ويمكن أن تقود الظروف البيئية المختلفة وخاصة لدى الحظائر نصف المغلقة صيفاً والتي تشكل نسبة كبيرة من حظائر المنطقة، الى زيادة إمكانية تأثر قطعان الدواجن بهذه الظروف، وكذلك إمكانية انتشار العدوى من مزرعة الى أخرى، ما يجعل من استخدام الصادات الحيوية حاجة حقيقية للحفاظ على سلامة هذه القطعان، وقد بينت الدراسات ارتباط انتشار الكثير من الأمراض التي تصيب الدواجن بالظروف البيئية من حرارة ورطوبة (Razmi and Kalideri 2000). وكذلك تؤثر تقلبات درجات الحرارة والرطوبة في هذا الانتشار، وبينت الدراسات اختلافاً في معدل تراكم الصادات الحيوية كثمالات في منتجات الطيور المعالجة بين فترة وأخرى، وأظهرت الثمالات المكتشفة في المنتجات الحيوانية فروقاً معنوية ($P<0.05$) عند مقارنتها ببعضها البعض خلال الفصول (Ahad *et al.,* 2015) اذ يترافق انتشار

الامراض باستخدام الصادات حفاظاً على سلامة وانتاجية هذه القطعان مما يبرر وجود التباين الفصلي في تراكيز هذه الثمالات في العينات موضوع الدراسة.

ويؤثر نمط التربية الأرضية المتبع مقارنة بأساليب التربية الأخرى في توافر العوامل والظروف الملائمة لانتشار وتفشي الكوكسيديا وكثير من الأمراض الأخرى نتيجة لانتقال الطفيليات المسببة للعدوى هذه الى الطيور السليمة من خلال تناولها من مكونات الفرشة، ويشكل تناول الزرق العائد للطيور المصابة العامل الأهم في انتشار العدوى بهذا الطفيل. يضاف الى ذلك تأثر تراكم بعض الصادات في الأنسجة بتراكيز صادات ومضادات جرثومية أخرى، وكذلك سرعة استنفاذ واستقلاب هذه الصادات وارتباط تخلص الجسم من ثمالاتها بثمالات صادات ومركبات أخرى (Vandenberge *et al.,* 2012).

وقد يكون لاحتمال وجود تلوث 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 المسموح بها بتأثيرات سلبية في صحة المستهلك وتؤدي الى حدوث المقاومة الدوائية ولسلالات جرثومية كثيرة، ما يتسبب بفشل علاج كثير من الأمراض لدى الطيور ولدى الانسان عند انتقالها اليه على حد سواء، يضاف الى ذلك لجوء الكثير من المربين ولأسباب اقتصادية، الى استخدام الصادات الحيوية بشكلها النقي الخام والذي تكون المادة الفعالة فيها مرتفعة مقارنة بتلك المصنعة على شكل عقاقير بيطرية مرخصة، وبجرعات غير مناسبة غالباً ماتكون عالية، في ظل توافرها في الأسواق بأسعار منخفضة وعدم مراقبة محتوى المنتجات الحيوانية من هذه المركبات قبل الاستهلاك.

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

- وجود ثمالات من كل من الانروفلوكساسين والتولترازوريل في عينات لحوم الفروج المختبرة تفوق الحد المسموح به وعدم تطبيق فترات السحب المناسبة من قبل المربين تسبب بوجود هذه الثمالات.
- وجود تباين بين العينات في التراكيز المكتشفة فيها وفي النسبة المئوية للعينات الايجابية ولكل من العقارين المدروسين.
- وجود تباين فصلي في حجم الثمالات المكتشفة وفي النسب المئوية للعينات الايجابية ولكلا المركبين موضوع الدراسة، قد يعود الى ضرورات حقيقية لهذا الاستخدام، وقد يعود الى العشوائية في ذلك.

التوصيات

- التوسع في دراسة استعمال وتراكم الصادات الحيوية في الأنسجة الحيوانية وفي الأعلاف وفي مكونات الفرشة واستعمالها ضمن الحدود الدنيا وللأغراض العلاجية فقط، واعتماد برنامج وطني لإدارة ومراقبة ذلك تجنباً للاستخدام العشوائي.
- إتباع فترات السحب المناسبة وتطبيقها بشكل صارم، وتحليل منتجات الدواجن قبل طرحها في الأسواق لجعلها أكثر أماناً للاستهلاك البشري.
- اتخاذ كافة الإجراءات الوقائية لحماية قطعان الدواجن من الأمراض المعدية والتشديد على النظافة والتعقيم الجيد للحظائر قبل البدء بالإنتاج وخلاله وذلك للتخفيف من استخدام الصادات الحيوية

- تشجيع ودعم انتاج الدواجن العضوية كونها منتجات آمنة وسليمة.
- تطوير بدائل للصادّات الحيوية أكثر أماناً تسهم إيجاباً في العمليات الاستقلابية، والتحفيز المناعي، وكبح انتشار الأمراض وتقليل التلوث الجرثومي، وتحسن من كفاءة امتصاص العناصر الغذائية.
- دعم صناعة الدواجن المحلية العامة والخاصة حرصاً على تأمين منتج بمواصفات صحية سليمة.

Reference:

1. (EC) European Commission Regulation Safety Data Sheet No 1907/2006 - Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH)

2. Abbas, R.Z., Iqbal, Z., Sindhu, Z.U., Khan, M.N. (2008). Identification of Cross-Resistance and Multiple Resistances in Eimeria Tenella Field Isolates to Commonly Used Anticoccidials in Pakistan. Journal of Applied Poultry Research 17, 361–368.

3. Ahad, S. Tanveer, S., Malik T.A. (2015) Seasonal impact on the prevalence of coccidian infection in broiler chicks across poultry farms in the Kashmir valley. J Parasit Dis. 2015 Dec; 39(4): 736–740.

4. Amagon, K I., Olayemi, S O., Awodele, O. (2017) Antibiotic use in food animals: Determination of Enrofloxacin residue in chicken tissue. West African Journal of Pharmacy 28 (1) 98-106

5. Attari, V. E., Abbasi, M., Abedimanesh, N., 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.

6. Aviagen. 2009. Ross broiler management manual. [2016-03- 01]. http://www.thepoultrysite.com/downloads/single/94/

7. Berman A. (2006). Extending the potential of evaporative cooling for heat-stress relief. Journal of Dairy Science, 89, 3817–3825.

8. Buiarelli, F., Filippo, D., Riccardi, C., Pomata, D., Giannetti, L. (2017) Liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of synthetic coccidiostats in eggs Separations, 4 (2017), p. 15

9. EU 37/2010. Commission Regulation No 37/2010 of 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.

10. FAO 2010. Agribusiness handbook Poultry meat and eggs. Accessed July 2018. http://www.documentcloud.org/documents/406299-fc39-agribusines shandbook.html

11. García Ovando, H.; Gorla, N.; Weyers, A.; Ugnia, L.; Magnoli, A. (2004) Simultaneous quantification of ciprofloxacin, enrofloxacin and balofloxacin in broiler chicken muscle. Archivos de Medicina Veterinaria, vol. XXXVI, núm. 1, enero, pp. 93-98Chile

12. Horie, M., Saito, K., Nose, N., Nakazawa, H. (1992). Simultaneous determination of quinolone antibacterials in fish and meat by HPLC. J. Food. Hyg. Soc. Japan, 33: 442-448.

13. Jones, T. A., Donnelly, C. A., Stamp, D. M. (2005). Environmental and management factors affecting the welfare of chickens on commercial farms in the United Kingdom and Denmark stocked at five densities. Poultry Science, 84, 1155–1165

14. Korb, A., Nazareno, R., Dalsenter, R., Ciro, A. (2014). Residues Of Enrofloxacin And Ciprofloxacin In Poultry Tissues. Revista De Biologia E Ciências Da Terra Issn 1519-5228. Volume 14 - Número 2 - 2º Semestre.

15. Marshall, B.M.; Levy, S.B. (2011) Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. Clinical Microbiology Reviews 2011, 24(4), 718–733.
16. Pena, A., Silva, L., Pereira, A., Lino, CM. (2010). Determination of fluoroquinolone residues in poultry muscle in Portugal. Anal Bioanal Chem. 397:2615–2621.
17. Pilar Monge M, Magnoli C E, Chiacchiera S M. 2012. Survey of Aspergillus and Fusarium species and their mycotoxins in raw materials and poultry feeds from Córdoba, Argentina. Mycotoxin Research, 28, 111–122.
18. Razmi, G.R., Kalideri, A.G. (2000). Prevalence of subclinical coccidiosis in broiler-chicken farms in the municipality of Mashhad, Khorasan, Iran. Prev Vet Med. 2000;44(3–4):247–253.
19. Roila, R., Branciari, R., Pecorelli, I., Cristofani, E. (2019). Occurrence and Residue Concentration of Coccidiostats in Feed and Food of Animal Origin; Human Exposure Assessment Foods 8, 477; doi:10.3390/ foods 8100477.
20. Ruskoa, J., Jansons, M., Pugajevaa, I., Zacs, D. (2019). Development and optimization of confirmatory liquid chromatography-Orbitrap mass spectrometry method for the determination of 17 anticoccidials in poultry and eggs. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 164 402–412.
21. 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. Jun 1;33(3):246-51.
22. SASMO (Syrian Arab Standards and Metrology Organization) (2011) Syrian Standard No. 3605/2011 Maximum limits for residues of veterinary drugs in animal products
23. Sattar, S., Hassan, M., Islam, K., Alam, M. (2014). Antibiotic Residues in Broiler and Layer Meat in Chittagong District of Bangladesh. Veterinary World 7(9), 738–743.
24. Soliman, A. (2015). Pharmacokinetics and tissue residue of toltrazuril in broiler chickens International Journal of Basic and Applied Sciences 4(3):310 · July 2015
25. 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.
26. Vandenberge, V., Delezie, E., Delahaut P. (2012). Residues of sulfadiazine and doxycycline in broiler liver and muscle tissue due to crosscontamination of feed. Food Addit Contam Part A 2012, 29, 180–188
27. Veerapandian S, Ghadevaru S, and Jayaramachandran R.(2013). Effect of Enrofloxacin on zootechnical performance, behavior and immunohisto pathological response in broiler chicken. Chennai-600 051, Tamil Nadu, India. doi:10.5455/vetworld.2013.337-342.
28. Wang, B., Xie, X., Zhao, X., Xie, K. (2019) Development of an Accelerated Solvent Extraction-Ultra-Performance Liquid Chromatography-Fluorescence Detection Method for Quantitative Analysis of Thiamphenicol, Florfenicol and Florfenicol Amine in Poultry Eggs. Molecules 24, 1830.
29. Weaver, D., Meijerhof. R., (1991). The effect of different levels of relative humidity and air movement on litter conditions, ammonia levels, growth, and carcass quality for broiler chickens. Poultry Science, 70, 746–755.
30. Winn P N, Godfrey E F. 1967. The effect of humidity on growth and feed conversion of broiler chickens. International Journal of Biometeorology, 11, 39–50.

31. World Health Organisation. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2015.
32. Yahav S, Goldfeld S, Plavnik I, Hurwitz S. 1995. Physiological responses of chickens and turkeys to relative humidity during exposure to high ambient temperature. Journal of Thermal Biology, 20, 245–253.
33. Yıldırım, M., Demirel, H., Bakırel, T. (1996). The inves-tigations on the residues of the some fluo-roquinolone antibacterials in chicken meat marketed in Istanbul. İstanbul Üniv Vet Fak Derg 1996; 22(1): 63-7.
34. Zhao, X., Wang, B., Xie, K., Liu, J., Zhang, Y. (2018). Development and comparison of HPLC-MS/MS and UPLCMS/ MS methods for determining eight coccidiostats in beef. J Chromatogr B 1087-1088:98-107.
35. Zhaoling, J., Lifang, Z., Chong, Z. (2014). SPE–UPLC–UV Method for the Determination of Toltrazuril and its Two Metabolite Residues in Chicken and Porcine Tissues. Chromatographia 77, 1705–1712.
36. ZuHao, S., LiangQiang, Z., YunZhan, L., KeZong, Q. (2009) Simultaneous determination of residues of diclazuril and toltrazuril in chicken tissues by high performance liquid chromatography. Chinese Journal of Veterinary Science Vol.29 No.1 pp.79-81, 109 ref.9.