

الكشف عن متبقيات المضادات الحيوية في الاغذية ذات المصدر الحيواني والاعلاف

ضياء حسين عوني محمد* أسماء شهاب أحمد* سهير غني جاسم*
علي فاروق هاشم* ماجد جودة لعبي**

الملخص

تم إجراء هذا المسح للكشف عن حدود تراكيز وجود متبقيات المضادات الحيوية في الأغذية ذات المنشأ الحيواني والأعلاف الحيوانية ومصل الحيوانات في شعبة الصحة العامة وسلامة الاغذية، قسم المختبرات والبحوث البيطرية، دائرة البيطرة. تم التحري عن متبقيات السلفانومايد، الجنتاميسين، التتراسايكلين، الكلوروفينيكول والنيومايسين باستخدام تقنية الاليزا وكانت عدد النماذج الكلية للمسح 200 إنموذج مختلفة، إذ جمعت نماذج اللحوم الحمراء ومصل الأغنام والأبقار من مسالخ الشعلة والدورة ومحافظات كربلاء المقدسة، بابل، واسط والذبح العشوائي واللحوم الحمراء ولحوم الدواجن المستوردة في محافظة بغداد، وبيض المائدة المحلي والمستورد ومصل الدواجن والأعلاف من العينات الواردة الى قسم المختبرات والبحوث.

بينت النتائج بأن معظم النماذج المفحوصة احتوت على نسب متفاوتة من المضادات الحيوية المختبرة جميعها مقارنة بالقيم المسموح بها دولياً، إذ احتوت بعض النماذج على قيم عالية من متبقيات المضادات الحيوية أعلى من القيم المسموح بها، واحتواء بعض نماذج مصل الاغنام والابقار المجزورة خارج المسالخ لمضاد التتراسايكلين فكانت 413.09 ppb في مصل الاغنام، 358.46 ppb لمصل العجول و 358.46 ppb لمصل الدواجن دلالة على عدم التزام المربين لمدة التخلص من الدواء وفي اعلاف الدواجن المجروشة والذي بلغ اعلى قيمة 901.78 ppb وهو اعلى من التركيز المسموح به البالغ 100 ppb بالاضافة الى التركيز العالي في لحوم صدر الدواجن وكبد الدواجن المستورد إذ بينت النتائج لاعلى قيمة هو 360.71 ppb و 127.45 ppb على التوالي اما النماذج المتبقية فكانت ضمن الحدود المسموح بها في الدستور الغذائي.

المقدمة

تمثل الثروة الحيوانية مصدراً أساساً من مصادر الاقتصاد الوطني والأمن الغذائي في العراق ومعظم بلدان العالم حيث ان الاستهلاك البشري للاغذية ذات المنشأ الحيواني أكثر من بقية الاغذية، وتستعمل المضادات الحيوية للمحافظة على الثروة الحيوانية فتستخدم في المجال البيطري لقتل او تثبيط نمو البكتريا (11) وتستخدم في بعض الاحيان بشكل مفرط في مزارع تربية الحيوان ولأغراض مختلفة من علاج او الوقاية من الامراض واحياناً أخرى مضافاً علفياً لتحسين التحويل الغذائي (منشط للنمو) وتكون الجرعة اقل من الجرعة العلاجية ولا يتم فيها تطبيق مدد التخلص من المضادات الحيوية من جسم الحيوان مما قد يؤدي الى وجود بقاياها في المنتجات الحيوانية المختلفة مثل الحليب والبيض واللحوم، كما أشارت الى ذلك في دراسات مختلفة (4، 12) وتبين أن التعرض المستمر للمضادات الحيوية يؤدي إلى مشاكل صحية خطيرة لدى المستهلكين الرئيسيين لتلك المنتجات الحيوانية مثل الحساسية، وانتشار الكائنات الحية الدقيقة المقاومة للمضادات الحيوية وتأثيرات مسرطنة والتأثير المحتمل الضار في الاحياء الدقيقة في الأمعاء (9، 7، 12) لذلك تعد من احد المصادر التي تؤثر في صحة المستهلك (2) وقسم من المضادات تكون ذات

* دائرة البيطرة، وزارة الزراعة، بغداد، العراق.

** كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، بغداد، العراق.

تأثير سمي مثل الكلورومفينيكول الذي يؤدي الى الموت نتيجة لما يسببه من امراض فقر الدم الخبيث وقد ينتج عدد منها اضطرابات في الجهاز الهضمي والسلالة المقاومة البكتيرية (5).

تستعمل المضادات الحيوية للعديد من الأغراض، كما أشار Egorov (2) الى استعمالات طبية او استعمالات غير طبية، وكذلك استعمالاتها لوقاية للحيوانات المنتجة للغذاء وقد أشار العديد من الباحثين الى استخدام المضادات الحيوية كمضافات لأعلاف الحيوانات المنتجة للغذاء، إذ تضاف بكمية محسوبة للحصول على زيادة في اوزان تلك الحيوانات (2) وكذلك استخدام المضادات الحيوية مواداً حافظة للأغذية (8) لما لها من تأثير مثبط او قاتل للجراثيم واستعمل الجنتاميسين في تغطية البيض لزيادة مدة الخزن ومنع التلف (6). وقد حدد الدستور الغذائي التراخيص المسموح تناولها يومياً واعتماداً على وزن الجسم الحي وكما مبين في الجدولين (1، 2).

جدول 1: الكمية المسموح تناولها يومياً اعتماداً على وزن الجسم Acceptable Daily Intake

antimicrobial agent	ADI ppb /body weight	JECFA
TETRACYCLINE	0 – 30	50th JECFA, 1998
GENTAMICIN	0 – 20	50.th JECFA, 1998
SULFADIMIDINE	0 – 50	42nd JECFA, 1994
NEOMYCIN	0 – 60	47th JECFA, 1996

وسعى العديد من الباحثين لاستخدام طرق عديدة للكشف وتحديد تراكيز أنواع المضادات الحيوية المتبقية في أغذية الإنتاج الحيواني ومنها :

1 - الطرق الكيميائية وتعُد من الطرق الدقيقة وذات حساسية عالية ومن الممكن تحديد نوع المضاد الحيوي وتركيزه وهذا يتطلب أجهزة متخصصة وموظفين كفؤين ومدربين بالإضافة الى امكان الكشف على أكثر من مضاد في الأنموذج الواحد حتى في التراكيز القليلة، استشراب السائل عالي الكفاءة HPLC, High Performance Liquid chromatography، استشراب الطبقة الرقيقة TLC, Thin layer chromatography، استشراب غازي GC, Gas chromatography.

2 - الطرق الكيميائية المناعية (Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) وتعُد من الطرق الدقيقة جداً وحساسة في تحديد أنواع وتراكيز المتبقيات .

3 - الطرق المايكروبيولوجية وتعُد من الطرق الشائعة الاستعمال وتستخدم بها انواع مختلفة من الجراثيم للكشف عن المضادات الحيوية، تعتمد هذه الطريقة على أساس حصول تثبيط النمو الجرثومي في الأطباق الزرع المنى عليها نوع من الجراثيم (11) وبأستخدام طرق عديدة وحسب بروتوكولات كل دولة لاجراء هذا الفحص مثلاً في الولايات المتحدة تستخدم طريقتنا FAST و STOP الاتحاد الاوربي طريقة 4Plate and six plate.

المواد وطرائق البحث

جمعت عدد من نماذج منتجات الاغذية ذات المصدر الحيواني (اللحوم الحمراء والكبد والكلبي من اسواق محافظة بغداد والمحافظات (الكوت، بابل وكربلاء المقدسة) المستوردة ولحوم الدواجن المحلية والمستوردة والحليب الخام من منطقتي الفصيالية والذهب الابيض ومصل الاغنام والابقار المجزورة داخل المسالخ الرسمية والمجزورة خارج المسالخ ومصل من بعض نماذج الدواجن البياض واللحم الواردة للمختبر من قبل مربي الدواجن و بيض المائدة المحلي والمستورد وعدد من نماذج اعلاف الدواجن الواردة للمختبر البلت (الحبيبي) والمجروش في اثناء النصف الاول من عام 2013 لغاية شهر شباط 2014 وبلغت عدد النماذج الكلية 200 إنموذج.

أستخدمت تقنية **ELISA** واستخدام العدة نوع **BIOO Maxsignal** التي تعتمد على تفاعل المضاد **ANTIGEN** والجسم المضاد **ANTIBODY** وتمت عملية الاستخلاص وتجفيفه بالنتروجين حسب كل مادة يراد الكشف عليها وحسب ارشادات الجهة المصنعة وتمت قراءة الكثافة الضوئية **Optical Density** بجهاز **ELX800 reader** وعلى طول موجي **450 nm** وتم الحصول على التراكيز في ضوء البرنامج المجهز من الشركة المصنعة علماً إن العدد التشخيصية المستخدمة من منشأ أمريكي ومعتمدة من قبل هيئة الاغذية والدواء الامريكية **FDA**.

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج المسح الميداني للكشف عن متبقيات المضادات الحيوية بأن معظم النماذج المفحوصة تحتوي على نسب متفاوتة من المتبقيات وبعضها خالٍ إلا إن هنالك عدد من النماذج وخصوصاً في اعلاف الدواجن المجروشة كانت نسب المتبقيات عالية بها بالإضافة الى مصول الحيوانات المجزورة بشكل غير رسمي ينسب عالية دلالة على عدم الالتزام بمدّة التخلص من الادوية **withdrawal time** وكما موضحة في الجداول (2-6) مقارنة بقييم المعايير الدولية للدستور الغذائي وكما موضحة في الجدولين آنفاً، إذ تم تأشير ارتفاع تراكيز المضادات الحيوية لبعض المنتجات للحوم واكباد الدواجن المستوردة وكان عدد الفحوص التي أجريت لخمس مضادات حيوية ولكل نوع من المنتجات ذات المنشأ الحيواني ومصل الاغنام والعجول والدواجن واعلاف الدواجن واطهرت النتائج بوجود نسب متفاوتة من متبقيات المضادات الحيوية للنماذج المفحوصة كافة ويوضح جدول (2) يوضح النتائج لتركيز متبقيات النيومايسين فهي ضمن الحدود المسموح بها للنماذج المختبرة، ويوضح جدول (3) لتركيز متبقيات السلفانومايد يوضح وجود نماذج تحتوي على نسب عالية من المتبقيات أعلى من الحدود المسموح بها للنماذج المختبرة، إذ كان التركيز لصدر الدواجن المستورد (**ppb 360.71**) فبلغت نسبة من أعلى قيمة الى الادنى (**16%**) وكبد الدواجن المستورد (**ppb 127.45**) وبلغت نسبة أعلى قيمة الى الادنى (**40%**) واعلاف الدواجن (**ppb 901.78**) وبلغت نسبة من أعلى قيمة الى الادنى (**45%**) في حين ان النسب المسموح بها وحسب الدستور الغذائي (**ppb 100**) وأن نسب وجود نسب عالية من مضاد السلفانومايد في الدواجن بسبب استخدام هذا المضاد في تربية الدواجن للحد من الهلاكات نتيجة الاصابة بتوفويد الدواجن والكوكسيديا (13) وقد سجلت متبقيات السلفوناميد في كندا أثناء المدة من 1991-1992 من خلال فحص 216 عينات لحوم الدواجن (3)، وفيما يخص متبقيات تركيز المضاد الحيوي الجنتاميسين فهي كانت ضمن الحدود المسموح بها كما موضحة في جدول (4)، وقد أظهرت نتائج الكشف على تركيز متبقي المضاد الحيوي الكلورومفنيكول في حليب الابقار الخام (**ppb 33.57**) لإنموذجين والمفروض ان يكون المنتج خالي من متبقيات هذا المضاد الحيوي (جدول 6) ومن ملاحظة النتائج لتراكيز المضادات الحيوية السلفانومايد والتتراسايكليين في مصل الأغنام والأبقار ذات قيم عالية (جدولان 3 و 5) وان تلك الامصال جمعت من الحيوانات المجزورة خارج المجازر بصورة عشوائية.

وان الكشف عن السلفانومايد والتتراسايكليين في هذا المسح راجعاً الى امتصاصها وتوزيعها السريع من الأمعاء، ويكون ظهور متبقيات قليلة من مضادات النيومايسين والجنتاميسين قد بسبب سوء قلة امتصاصها من الجهاز الهضمي وبكميات ضئيلة، ومن هنا فأن وجود السلفوناميد في تركيز أعلى قد تؤدي الى تهديد صحي بسبب سمية السلفوناميدات في تحفيز الغدة الدرقية (13).

جدول 2: تركيز متبقيات التيوميسين في نماذج اللحوم المستوردة والمحلية

النسبة أعلى قيمة الى الأدنى	الحدود المسموح PPb	اقل قيمة ppb	اعلى قيمة ppb	المتوسط ppb	الإنموذج
% 10	500	5.02	30.09	14.51957	لحم عجل محلي
%30	500	9.32	29.17	16.825	لحم عجل مستورد
% 40	10000	4.67	15.43	11.224	كلية عجل محلي
% 40	10000	11.69	33.39	21.11813	كبد عجل مستورد
% 14	500	3.45	33.39	11.22889	لحم غنم محلي
% 7	10000	3,03	30.03	14.92125	كلية غنم
% 9	500	1.20	5.97	2.199524	لحم هندي

جدول 3: تركيز متبقيات السلفانومايد في البيض ولحوم الدواجن المستورد والمحلي وأعلاف الدواجن ومصل الأغنام والأبقار والدواجن

النسبة أعلى قيمة الى الأدنى	الحدود المسموح PPb	الحد الأدنى Ppb	الحد الأقصى Ppb	المتوسط Ppb	النوع
% 20	100	2.011	8.414	4.354583	بيض مائدة مستورد
% 30	100	1.309	5.033	3.02925	بيض مائدة محلي
% 45	100	1.58	127.45	40.595	كبد دجاج مستورد
% 16	100	2.27	360.71	73.45667	صدر دجاج مستورد
% 9	100	3.01	14.3	8.15	صدر دجاج محلي
% 8	100	3.38	14.88	11.232	فخذ دجاج مستورد
%12	100	2.06	21.05	11.555	فخذ دجاج محلي
%13	100	4.19	12.51	7.036	جلد دجاج مستورد
%45	100	101.20	901.78	64.66681	علف دواجن
%30	-	15.5	125.13	58.56667	مصل اغنام
% 30	-	25.76	143.44	35.2225	مصل ابقار
% 18	-	12.14	30.58	10.088	مصل دواجن لاحم

جدول 4: تركيز متبقيات الجنتاميسين في اللحوم الحمراء والمنتجات الثانوية المستوردة والمحلية ومصل الأغنام والأبقار

النسبة أعلى قيمة الى الأدنى	الحدود المسموح PPb	الحد الأدنى Ppb	الحد الأقصى ppb	المتوسط Ppb	الإنموذج
% 13	-----	18.84	35.31	24.69636	مصل أغنام
% 34	-----	43.13	61.45	52.29	مصل أبقار
% 14	100	2.44	29.94	10.31778	لحم عجل محلي
% 25	100	20.5	46.31	36.66	لحم عجل مستورد
% 11	2000	1.01	7.95	5.121667	كبد عجل محلي
% 8	5000	4.87	10.35	7.446667	كلية أغنام محلية
% 4	5000	4.67	5.78	5.306667	كلية أبقار
% 8	100	7.99	12.81	10.05	لحم أغنام
% 8	2000	4.34	8.03	6.053333	كبد أغنام

جدول 5: تركيز متبقيات التتراسايكلين في أللحوم الحمراء ولحوم الدواجن المستوردة والمحلية وحليب الابقار الخام ومصل الاغنام والابقار والدواجن

النموذج	المتوسط ppb	الحد الاقصى ppb	الحد الادنى PPb	الحدود المسموح PPb	نسبة أعلى قيمة الى الادنى
صدر دجاج محلي	17.23075	33.69	1.033	200	33 %
فخذ دجاج محلي	15.965	28.08	5.10	200	18 %
فخذ دجاج مستورد	14.6325	40.7	7.77	200	25 %
لحم عجل محلي	15.97478	70.08	17.10	200	35 %
لحم عجل مستورد	16.03444	60.09	11.09	200	15 %
صدر دجاج مستورد	4.4675	9.35	1.20	200	6 %
مصل اغنام	111.0959	413.09	90.10	-	45 %
مصل ابقار	68.14822	358.46	50.60	-	48 %
مصل دجاج بياض	68.14822	358.46	55.68	-	42 %
مصل دجاج لاحم	5.506	20.21	13.50	-	70 %
لحم غنم محلي	18.43	53.61	6.44	200	-
لحم مفروم مستورد	7.75125	11.18	5.04	200	20 %
حليب ابقار خام	13.63383	47.78	6.90	100	20 %

جدول 6: تركيز متبقيات الكلوروفينيكول في اللحوم الحمراء والدواجن وحليب الأبقار الخام

النموذج	المتوسط Ppb	الحد الاقصى ppb	الحد الادنى PPb	الحدود المسموح PPb	نسبة أعلى قيمة الى الادنى
لحم عجل محلي	0.01238889	0.143	0	Nil	1 %
لحم عجل مستورد	0	0	0	Nil	
لحم محلي اغنام	0	0	0	Nil	
صدر دجاج مستورد	0.02671429	0.147	0	Nil	1 %
صدر دجاج محلي	0.14966667	0.219	0.069	Nil	1 %
فخذ دجاج مستورد	0.02285714	0.16	0	Nil	
حليب ابقار خام	7.5592619	33.57	0	Nil	

التوصيات

1. إنشاء إدارة ومختبر وطني مركزي معني بالكشف عن متبقيات الأدوية البيطرية لتحديد MRL لتحديد الحدود المسموح لها.
2. اجراء المسوح الميدانية المستمرة لمتبقيات الادوية البيطرية ووضع الخطط الكفيلة للحد منها.
3. توعية وتوجيه أصحاب المصلحة (مربي الحيوانات، مصنعي الأغذية) الى مخاطر وجود تلك المتبقيات في الأغذية ذات المنشأ الحيواني على المستهلك.
4. مراقبة المواد المستوردة لمعرفة الشركات التي تستخدم المضادات الحيوية في صناعة الاغذية وحظر الإستيراد منها .

المصادر

- 1- Babapour. A.; L. Azami and J. Fartashmehr (2012). Overview of antibiotic residues in beef and mutton in ardebil, North West of Iran. World Applied Science Journal. 19 (10) 1417-1422.

- 2- Egorov, N.S (1985). **Antibiotic approach 1st. edition Mir publishers, Moscow . Translated from the Russian Alexander Rosinkin.**
- 3- Herenda, D.C. and D.A. Franco (1996). **Poultry diseases and meat hygiene. A color atlas. Iowa State University Press..**
- 4- Hind, A. El Nasri; Adil; M. Salman and Intisar A.M. Osman (2012). **Detection of Antibiotic residues in table eggs using Disc assay and Premi test in Khartoum State, Sudan. U. of K. J. Vet. Med. & Anim. Prod., 3:16-27**
- 5- Lee, H. J.; P. D. Ryu; H. Lee; M. H. Cho and M. H. Lee (2001). **Screening for penicillin plasma residues in cattle by enzyme-linked immune-sorbent assay. Act a Veterinary Brno., 70, 353–358**
- 6- Hock, F. G. (1978). **In Refresher course for veterinarians proceeding. The University of Sydney Agust, 2(39):14-18.**
- 7- Jafari, M.T.; T. Khayamian; V. Shaer and N. Zarei (2007). **Determination of Veterinary Drug Residues in Chicken Meat using Corona Discharge Ion Mobility. Spectrometry Analytica Chimica Act.; 581: 147.**
- 8- Kiser, J.S. (1967). **A perspective on the use of antibiotics in animal feed J. of Animal Sci., 42:1058-1072.**
- 9- Khachatourians G. G. (1998). **Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. CMAJ, 159 (9):1129- 1136.**
- 10- Levy B.S. (1998). **Antimicrobial resistance: bacteria on defence. BMJ; 317: 61212. Pavlov A, Lashev L, Rusev V. Studies on the residue levels of tobramycin in stored poultry products. Trakia J Sci., 3(5); 5 : 20-22.**
- 11- Popelka, P.; J. Nagy; Popelka Pa; S. Marcincák; P. Jevinová and K, Hussein (2003). **Comparison of bsda and premi® test sensitivity to penicillin standard in poultry meat and after administration of amuril. Folia Vet., 7(3) :73-81.**
- 12- Smither, R.; A.F. Lott; R.W. Daiziel and D.C. Ostler (1980). **Antibiotic residue in meat in UK; as assessment of specific tests to detect and identify antibiotic residue J,Hyg. Camb., 85: 395- 369.**
- 13- Saif, YM. (2003). **Disease of poultry. 11th ed. Iowa State University Press. Black well publishing company..**
- 14- **Updated as at the 37th Session of the Codex Alimentarius Commission (July 2014).**

DETECTION OF ANTIBIOTIC RESIDUES IN FOOD ANIMAL SOURCE AND FEED

D. H. A. Mohammed* A. S. Ahmed* S. G. Jassim*
A. F. Hashim* M. J. Laibi**

ABSTRACT

The survey was conducted to detect and identify of antibiotic residues in animal food from animal source products, animal serum and feed, analysis were completed in the Public Health and Food Safety Lab./CVL/Veterinary Directorate.

Antibiotics residues investigated (sulfonamide, gentamycin, tetracycline, chloramphenicol, neomycin) using a ELISA technique, total number of samples were (200), samples collected from (Karbala, Babil, Wassit) and also Baghdad (red meat and serum (sheep, cows) from the local slaughterhouse, imported red & poultry meat, poultry feed received t laboratories and research department .

The results showed that most of the examined sample contained different ratios of antibiotics studied compared to internationally limits including neomycin while other samples contains high residue of tetracycline residue in animal serum which slaughter outside slaughterhouses were (413.09 ppb) in sheep serum, (358.46ppb) calves serum and (358.46ppb) for the poultry serum which indicates that farmer don't obligated with enough of secretion of drug residue, regarding poultry feed a maximum percentage of sulfonamide was 901.78ppb higher than the allowed concentration of 100ppb, meat poultry and poultry imported liver the results showed the highest value was (360.71 ppb) and (127.45ppb) respectively, but the remaining samples that within the limits allowed limits in the Codex.

* Directorate of Animal Resource, Ministry of Agric., Baghdad, Iraq.

** Coll. of Agric.- Univ. of Baghdad, Baghdad, Iraq.