

## الكشف عن الأثر المتبقي للديكلازوريل في لحم و كبد الفروج في محافظة طرطوس باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء

د. غيثا حيدر سليمان \*

(تاريخ الإيداع ٢٠٢٥ / ٤ / ٣٠ - تاريخ النشر ٢٠٢٥ / ٦ / ٢٥)

### □ ملخص □

الديكلازوريل هو مضاد للكوكسيديا من فئة الترايازينونات، يُستخدم للسيطرة على طفيليات الإيميريا (*Eimeria spp*) المسببة لداء الكوكسيديا في الفروج، وفي هذا البحث تم جمع ٨٠ عينة (٤٠ عينة لحم و ٤٠ عينة كبد) من ٤٠ ذبحة فروج من أربع مناطق مختلفة في محافظة طرطوس (دريكيش، الشيخ بدر، صافيتا، بانياس) بواقع ١٠ ذبائح فروج من كل منطقة وذلك من أجل الكشف عن متبقيات الديكلازوريل في لحم وكبد الفروج بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء.

أظهرت النتائج أن ٢٤ عينة سلبية لبقايا الديكلازوريل (بنسبة ٣٠%) و ٥٦ عينة إيجابية بنسبة (٧٠%)، (٢٠ عينة من منطقة drikiش و ١٦ عينات من منطقة الشيخ بدر و ١٢ عينة من منطقة صافيتا و ٨ عينة من منطقة بانياس) من أصل ٨٠ عينة مدروسة

وأن أعلى متوسط لتراكيز الديكلازوريل كان في عينات لحم وكبد الفروج المأخوذة من drikiش ١٩٠,٠٦١ و ٩٥٦,٤٢٦ ميكروغرام/كغ وزن رطب على التوالي، وأقل متوسط تراكيز في عينات اللحم والكبد المأخوذة من منطقة بانياس ٢٤,٥٢٧ و ٢١٧,٤٣ ميكروغرام/كغ وزن رطب على التوالي.

وكانت كل تراكيز الديكلازوريل في عينات الكبد ضمن الحد المسموح به، أما عينات اللحم التي تجاوزت الحد المسموح به عينة واحدة من أصل ٤٠ العدد الكلي لعينات اللحم المدروسة بنسبة ٢,٥%، (وبنسبة ٣,٥% من أصل العينات الإيجابية الـ ٢٨) وذلك حسب لجنة الدستور الغذائي (CAC) التي حددت الحد الأقصى المسموح به (MRL) للديكلازوريل في عضلات الدجاج وهو 500 µg/kg، وفي الكبد 3000 µg/kg.

**كلمات مفاحية:** ديكلازوريل، فروج، الأثر المتبقي، لحم، كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء

## Detection of Diclazuril Residues in Broiler Meat and Liver in Tartous Governorate Using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Dr. Ghiyath H. Soliman\*

(Received 30/4/2025.Accepted 25/6/2025)

### □ABSTRACT □

Diclazuril is a triazinone-class coccidiostat used to control *Eimeria* spp. parasites responsible for coccidiosis in broiler chickens. In this research, 80 samples (40 meat samples and 40 liver samples) were collected from 40 Broiler carcasses in four different regions of Tartous Governorate (Dreikish, Sheikh Badr, Safita, Baniyas)(10 carcasses sampled from each region. The study aimed to detect diclazuril residues in Broiler meat and liver using high-performance liquid chromatography (HPLC). The results showed that 24 samples were negative for diclazuril residues (30%), while 56 samples tested positive (70%). Among the positive samples, 20 were from the Al-Dreikish region, 16 from Sheikh Badr, 12 from Safita, and 8 from Baniyas. The highest mean of diclazuril concentrations was found in Broiler meat and liver samples from Al-Dreikish (190.061 µg/kg and 956.426 µg/kg wet weight, respectively), while the lowest mean concentrations were detected in samples from Baniyas (24.527 µg/kg in meat and 217.43 µg/kg in liver).

All diclazuril concentrations in liver samples were within the permissible limits. However, among the 40 meat samples analyzed, only one exceeded the maximum permissible level (MRL) (2.5% of total meat samples, or 3.57% of the 28 positive samples). This is according to the Codex Alimentarius Commission (CAC), which has set the maximum permissible level for diclazroyl in chicken muscles at 500 µg/kg, and in liver at 3000 µg/kg.

**Keywords:** Diclazuril, broiler, residues, meat, high-performance liquid chromatography

---

\*Assistant Professor in department of family and community medicine – faculty of medicine-tartous university

## ١- المقدمة (Introduction):

يعد استعمال مضادات الطفيليات أمراً شائعاً في تربية الفروج، وذلك لضمان النمو الصحي، والوقاية أو العلاج من الأمراض الطفيلية التي أهمها الإصابة بالكوكسيديا (Coccidiosis) (Said et al; 2019)، وهي شائعة في مجموعات الفروج المرباة على الأرض أكثر من تلك المرباة في أقفاص، تؤدي هذه الإصابة إلى خسائر اقتصادية كبيرة في قطاع الدواجن بسبب زيادة معدلات النفوق، وانخفاض معدلات التحويل الغذائي، وتكاليف العلاج والوقاية، ومن أهم أعراض الإصابة بالكوكسيديا لدى الفروج إسهال مائي أو دموي، وخمول، وانخفاض في النشاط الحركي، وفقدان الشهية وانخفاض استهلاك العلف، وشحوب في العرف والأرجل (فقر دم بسبب النزيف الداخلي)، وانخفاض معدل النمو وضعف الكفاءة التحويلية للعلف (Williams, 1999)، وتشريحياً يلاحظ تقرحات، ونزيف في الأمعاء، وتضخم في الأعور، وضمور في الزغابات المعوية، وتراكم سوائل في الأمعاء (Dalloul and Lillehoj; 2006) مما يستلزم استخدام أنواع معينة من الأدوية مثل مضادات الطفيليات كالتولترازوريل أو الديكلازوريل أو الأمبروليوم (Matus and Boison; 2016). ينتمي الديكلازوريل إلى فئة الترايازينونات التي تضم مركبات مضادة للكوكسيديا من أسيتونتريل البنزين (Stock et al; 2017) صيغته الكيميائية  $C_{17}H_9Cl_3N_4O_2$  ضعيف الذوبان في الماء، لكنه يذوب في المذيبات العضوية مثل ثنائي ميثيل سلفوكسايد، مما يجعله يتراكم في الأنسجة الدهنية والكبد (EMA, 2018)، يستخدم في الوقاية والعلاج من الكوكسيديا في الفروج والرومي والأغنام، ويُضاف إلى علف الدواجن أو إلى مياه الشرب بتركيز 1-2 جزء في المليون (ppm) (Noack et al., 2019) حيث يقلل من معدلات النفوق، ويحسن معدل التحويل الغذائي (FCR) وزيادة الوزن (McDougald et al., 1990) حيث بينت دراسة على الفروج انخفاضاً في حمل الطفيليات بنسبة أكثر من 90% عند استخدامه بجرعة (1 ppm) في العلف (Mathis et al., 2003) والجرعات المفرطة أكثر من (10 ppm) تسبب فقدان شهية، وخمول، ونقص في الوزن، وتأثيرات سمية على الكبد (Kant et al., 2013)، وهو غير مصرح به للاستخدام البشري، والتسمم به يسبب أذيات كبدية وكلوية وغيثان وإسهال (WHO, 2015)، وحددت لجنة الدستور الغذائي لمنظمة الصحة العالمية (WHO) ومنظمة الأغذية والزراعة العالمية (FAO) الحد الأقصى المسموح به (MRL) للديكلازوريل في عضلات الدجاج هو (500 µg/kg)، وفي الكبد (3000 µg/kg) وفي الكلى (2000 µg/kg) (CAC, 2018)، ولم تضم المواصفة القياسية السورية رقم ٣٦٠٣ لعام ٢٠١١ أي حد مسموح به لمركب الديكلازوريل في أنسجة الدواجن (هيئة المواصفات و المقاييس السورية، ٢٠١١)، ووفقاً لـ Codex Alimentarius (2020)، فإن فترة السحب الموصى بها للديكلازوريل في دجاج اللحم هي 10- (14) يوماً قبل الذبح، كما بينت دراسة أن بقايا الديكلازوريل في كبد الدجاج تتجاوز أحياناً الحدود المسموح بها إذا لم تُراعى فترة السحب الدوائي (١٤ يوماً) (Mortier et al; 2005)، والاستخدام المكثف لهذا المركب سواء مع الماء أو العلف يؤدي إلى تراكم بقاياه في اللحوم وتصل إلى المستهلك إذا لم يتم الالتزام بفترة السحب (Basha et al; 2017).

أوضحت دراسة الشنتوري وآخرون (٢٠٢٢) لوجود الديكلازوريل في ٧٢ عينة لحم وكبد وقانصة الفروج من أربع مناطق من دير الزور حيث بينت النتائج المتحصل عليها أن من أصل ٧٢ عينة كان هناك ٤٨ عينة (٦٨,٠٦%) إيجابية لتواجد متبقيات الديكلازوريل. وجميع عينات المنطقة الأولى (عضلات، معدة عضلية،

كبد) كانت إيجابية لتواجد متبقيات الديكلازوريل، كان أعلى تركيز في عينات الكبد (١٩٠٠,٧١ ميكروغرام/كغ وزن حي) وأدنى تركيز في العينات الإيجابية كان عينات المعدة العضلية (١,١٦ ميكروغرام/كغ وزن حي). كما أشار الباحث (Mortier) وزملاؤه (٢٠٠٥) إن بقايا الديكلازوريل في لحم الصدر والفخذ والكبد للفروج كانت ٩٤، ١٣٥ و ٧٢٢ ميكروغرام/كغ وزن رطب على التوالي، وذلك بعد تناولها علف يحوي ديكلازوريل ٧٣٠ ميكروغرام/كغ علف، ولاحظ الباحث وجود بقايا للديكلازوريل في العضلات والكبد بعد تسعة أيام من تناول الديكلازوريل مع العلف. ولاحظ الباحث (Said) وآخرون (٢٠١٩) أن بقايا الديكلازوريل اختفت بعد اليوم الخامس من عينات عضلات وكبد الفروج المعطى جرعة ديكلازوريل (٣,٠ ملغ/كغ) بالفم يوميا لمدة ثلاث أيام متتالية، حيث كان تركيز الديكلازوريل بعد اليوم الأول من نهاية الإغطاء في العضلات والكبد ٧٨٧,٦٧ و ٣٨٥٠ ميكروغرام/كغ وزن رطب وبعد ثلاثة أيام من الإغطاء كان التركيز في العضلات والكبد ٣٩٣,٨١ و ١٨٢٨,٤ ميكروغرام/كغ وزن رطب على التوالي، مما يؤكد ضرورة الالتزام بفترة السحب لمدة أسبوع على الأقل قبل الذبح.

### أهمية البحث:

الاستخدام العشوائي لمضادات الطفيليات ومن ضمنها الديكلازوريل، وعدم الالتزام بفترة السحب قبل ذبح الفروج يؤدي إلى تراكم هذه الأدوية في الأنسجة المختلفة، مما يسبب مخاطر صحية على جودة اللحوم وصحة المستهلك، كاضطرابات هضمية، وتأثيرات سمية محتملة على المدى الطويل، وحدوث السرطانات، والتغير الجيني وأمراض بالدم وأشكال من الحساسية، وغيرها من الأمراض التي تختلف باختلاف الدواء المستخدم، كما أنه ينتج عنه خسائر لدى المربين بسبب انخفاض معدلات النمو، وارتفاع نسب النفوق بسبب الإصابة بالطفيليات المسببة لفقر الدم، وتكرز الأمعاء، والإسهال وكلها تؤدي للنفوق، ومقاومة مضادات الميكروبات (Zhang et al; 2019)، وأثبتت تقنية الكروماتوغرافيا السائلة أنها التقنية الأفضل لفحص وكشف وتحديد متبقيات الأدوية (Cortés-Herrera et al; 2018)

### هدف الدراسة (Objective of the Study):

١. الكشف عن متبقيات الديكلازوريل في عينات لحم وكبد الفروج المأخوذة من مناطق مختلفة من محافظة طرطوس
٢. مقارنة نتائج متبقيات الديكلازوريل بين المناطق المدروسة
٣. مقارنة النتائج مع الحدود القصوى المسموح بها للمتبقيات (MRLs) وفقاً للمعايير الدولية التي حددت الحد الأقصى المسموح في عضلات الدجاج هو ٥٠٠ µg/kg، وفي الكبد ٣٠٠٠ µg/kg

### ٢- مواد وطرائق البحث (Materials and Methods):

أ- جمع وتحضير العينات: تم جمع ٨٠ عينة من اللحم والكبد من ٤٠ ذبيحة فروج من الأسواق المحلية لأربعة مناطق في محافظة طرطوس (صافيتا، بانياس، الشيخ بدر، الدريكيش) بواقع ٢٠ عينة (١٠ عينات لحم و ١٠ عينات كبد) من ١٠ ذبائح فروج من كل منطقة ومرباة في نفس المنطقة، وتم أخذ عينة اللحم بنسبة (٥٠% صدر + ٥٠% فخذ)، وذلك خلال الشهر الأول والثاني من عام ٢٠٢٥، وتم وضعها في أكياس بولي إيثيلين مدعم بألوية إغلاق كتب

عليها اسم العينة والمنطقة، وحفظت بالثلاجة بدرجة حرارة -١٨ درجة مئوية لحين وقت الاستخلاص.

#### ب- المواد والأجهزة المستخدمة: موجودة جميعها في الجدول (١)

• جميع المحالّات العضوية والمواد الكيميائية التي استخدمت كانت من إنتاج شركة (Merck) الألمانية، وذات نقاوة عالية من الصنف (HPLC- grade) تتناسب مع إجراء هكذا تحاليل، أما المواد المعيارية للديكلازوريل من إنتاج شركة (Sigma) وبتركيز ١٠٠%، واستخدم جهاز الكروماتوغرافيا السائلة العالية الأداء HPLC من إنتاج شركة (Shimadzu) اليابانية ذو الطراز LC20 (صورة ١)، وتمت عملية الفصل باستخدام العمود الكروماتوغرافي C 18 (5 µm, 25cm x 4.6 mm) صنع شركة (Supelco Analytical).

• الطور المتحرك أسيتونتريل: أسيتات الأمونيوم (بحوي ٠,٠٢ مول/لتر تترابوتيل أمونيوم هيدروجين سلفات) بنسبة (٥٧/٤٣)، وكانت جميع الأجهزة والمعدات الأخرى التي استخدمت في عمليات الاستخلاص والتحليل ذات دقة عالية.

• تحضير المادة المعيارية: تم حل ١٠ ملغ ديكلازوريل في قليل من الديميتل فورم أميد في بالون عياري سعة ١٠ مل ومن ثم تم إكمال الحجم بنفس المحل. بعد ذلك أخذ ١ مل من المحلول السابق ومُد في ٢٥ مل من الطور المتحرك ليصبح تركيز المادة المعيارية ٤٠ ميكروغرام/مل.

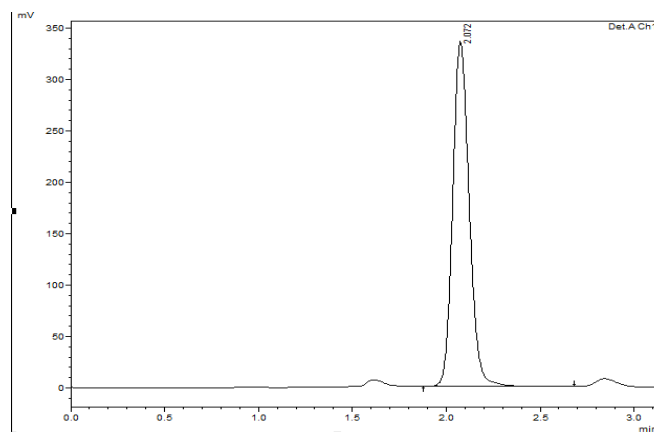
• شروط التحليل على الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء: تمت بحسب الباحث said و زملائه (٢٠١٩):

طول موجة ٢٨٠ نانومتر، التدفق ١ مل/دقيقة، درجة حرارة العمود ٤٠ درجة مئوية، حجم الحقن ٢٠ ميكرو لتر.

• عملية الاستخلاص أخرجت العينات من الثلاجة وبعد ذوبان الجليد، تم سحق ومجانسة كل عينة من كل نسيج، ثم يؤخذ عينة وزن ٥ غ، وتوضع في أنبوب التثقيب، ثم يضاف ٦ غ من سلفات الصوديوم اللامائية، وبعد ذلك يضاف ١٠ مل أسيتونتريل، ويمزج بشكل جيد ثم ترج على جهاز الرجاج لمدة نصف ساعة، ثم تنقل العينة بسرعة ٣٥٠٠ دورة /دقيقة لمدة ١٠ دقائق، ثم يؤخذ الجزء الطافي ويفلتر بورقة ترشيح للتخلص من أي بقايا عضوية، ثم تُبخر العينة على المبخر الدوار (صورة ٢) بدرجة حرارة ٤٠ م إلى تمام الجفاف، ثم حل المتبقي ب ٥ مل من محلول (أسيتونتريل: ماء: حمض النمل بنسبة ٠,١١٥/١٥٠). وبذلك تكون العينة جاهزة للتحليل (Mortier et al; 2005).

• حساب نسبة الاسترجاع: بعد تحميل معايير التحليل الخاص بالديكلازوريل في جهاز الكروماتوغرافيا عالية الأداء حتى الوصول إلى درجة استقرار الجهاز من حيث التدفق والضغط ودرجة الحرارة، تم حقن المادة المعيارية للديكلازوريل عدة مرات (شكل رقم ١) ، ثم حُقن مستخلص عينة التثبيت المضاف لها عمداً ١٠٠ ميكروغرام من الديكلازوريل لعدة مرات، بعدها تم حساب نسبة الاسترجاع بتطبيق العلاقة (نسبة الاسترجاع = تركيز عينة الاسترجاع/ التركيز المضاف × ١٠٠) في العضلات (اللحم) والكبد.

شكل رقم (١): المخطط الكروماتوغرافي للمادة المعيارية للديكلازوريل



بالتالي يمكن الاعتماد على هذه الطريقة لأنها ذات مصداقية في استخلاص بقايا الديكلازوريل من عضلات وكبد الفروج إذ أنه وبحسب (Abu-Raya et al; 2019) و (Qouder and Hallak; 2022) يمكن قبول عملية الاستخلاص إذا كانت نسبة الاسترجاع تتراوح ما بين ٦٠ و ١٠٥%.

الجدول رقم (١): الأجهزة والأدوات والمواد الكيميائية المستخدمة في المخبر ومواصفاتها

اسم المادة الكيميائية	الصيغة الكيميائية	الشركة المصنعة	اسم الأجهزة والأدوات	الشركة المصنعة
أسيتونتريل (Acetonitrile)	$C_2H_3N$	Merck ألمانيا	ميزان دقيق طراز (GR-200)	(AND) اليابانية
ميثانول (Methanol)	$CH_3OH$	Merck ألمانيا	جهاز أمواج فوق صوتية طراز (LC 60- ultrasonic) (H)	(Elma) الألمانية
حمض الخل (Acetic Acid)	$CH_3COOH$	بانرياك ألمانيا	مقلاة طراز (KUBOTA) (5400)	(KUBOTA) اليابانية
هكسان (Hexane)	$C_6H_{14}$	Merck ألمانيا	جهاز مقياس الحموضة طراز (B210)	(ProLine) اليابانية
إيثيل أسيتات (Ethyl Acetate)	$C_4H_8O_2$	بانرياك ألمانيا	جهاز رج (vortex) طراز (REXTOP)	(Heidolph) اليابانية
صوديوم أسيتات (Sodium Acetate)	$C_2H_3NaO_2$	بانرياك ألمانيا	مازج ممغنط (Magnetic) طراز (Stirrers (MR3001)	(Heidolph) اليابانية
حمض الأوكزاليك (Oxalic Acid)	$C_2H_2O_4$	Merck ألمانيا	مُجانس (Homogenizer) طراز (AM 3)	(NISSEI) اليابانية
حمض الليمون (Citric Acid)	$C_6H_8O_7$	بانرياك ألمانيا	جهاز المبخّر الدوار (Rotary) طراز (Evaporator (R-144)	(Buchi) اليابانية

شركة (MN) اليابانية	خرطيش تنقية C18 (Cartridge)	بانرباك ألمانيا	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	فوسفات ثنائي الصوديوم الهيدروجينية
شركة SUPELCO Analytical	عمود تحليل C18 (4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	بانرباك ألمانيا	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2$	EDTA-2Na (Disodium EDTA)
شركة .SUPELCO Analytical	عمود تحليل C8 (4.6 mm, 5 $\mu\text{m}$ )	-	$\text{H}_2\text{O}$	ماء منزوع الشوارد-De Ionized Water)
Shimadzu اليابانية	جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)	ميرك ألمانيا	HCl	حمض كلور الماء (Hydrochloric Acid)
		ميرك ألمانيا	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$	الديميثيل فورم أميد
		ميرك ألمانيا	NaOH	هيدروكسيد الصوديوم (Sodium Hydroxide)
		Sigma ألمانيا	$\text{C}_{17}\text{H}_9\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}_2$	المادة المعيارية للديكلازوريل (Diclazuril)
		ميرك ألمانيا	$\text{Na}_2\text{SO}_4$	سلفات الصوديوم اللامائية
		ميرك ألمانيا	$\text{CH}_3\text{COONH}_4$	أسيتات الأمونيوم



الصورة (٢): المبخر الدوار

الصورة (١): جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء

### ٣- التحليل الإحصائي (Statistical Analysis):

استخدم في التحليل الإحصائي برنامج نظم التحليل الأمريكي (Version 4.0, Statistics)، كما استخدمنا تقنية اختبار التباين وحيد الاتجاه (ANOVA، One Way، Analysis of Variance)، وذلك لمقارنة المتوسطات الحسابية بين مجاميع الدراسة. إن الافتراض في تحليل التباين وحيد الاتجاه يقول إن العينات الممثلة لمجاميع الدراسة هي مختارة عشوائياً ومستقلة عن بعضها البعض (Randomly and Independently) وذات بيانات موزعة طبيعياً Normally Distributed. وتم حساب حد الثقة بالنسبة للوسط الحسابي ٩٥ % Calculating the Confidence Interval for the Mean الأصغري والأعظمي (Petrie and Watson, 1999). لمعرفة دقة النتائج التي حصلنا عليها في اختباراتنا.

#### ٤ - النتائج والمناقشة (Results & Discussion)

تم توضيح البيانات التحليلية لنتائج تراكيز متبقيات الديكلازوريل في عينات اللحم (العضلات) والكبد من مناطق الدراسة مقدراً بالميكروغرام/كغ وزن رطب في الجدول رقم (٢) .

الجدول رقم (٢): البيانات التحليلية لتركيز بقايا الديكلازوريل في عينات اللحم (العضلات) والكبد (٤٠ عينة لكل منهما) من الأسواق المحلية لمناطق الدراسة في محافظة طرطوس (ميكروغرام/كغ وزن رطب )

منطقة الدراسة				نوع العينة	رقم الذبحة
الدريكيش	الشيخ بدر	بانياس	صافيتا		
٢٩,٩٥	٨,١٩	١١,٦٧	٢٠,٣٠	لحم	١
٧١٥,٢١	٨٩,١٣	١٨٧,١٦	٤١١,٣٤	كبد	
١٨,٦٥	٣٩,٧٦	٠	٠	لحم	٢
٣٤٢,٨٧	٨٩٣,٤٥	٠	٠	كبد	
١٩,٣٣	٦٥,٣٤	٧٩,٤٦	٨٣,٧٨	لحم	٣
٢٨٨,٤٣	٧٦٣,٥٢	٦٥٣,٨٧	٨٧٩,٨٧	كبد	
٣٠١,٣٣	١٠٢,٤٧	٠	١٨٧,٣٣	لحم	٤
٢٥٠٣,٤٨	٧٨٤,٨٨	٠	٩٨٩,٣٢	كبد	
١٠٢,٤٤	٣٠٢,٤٤	٠	٠	لحم	٥
١٧٨٣,٧٦	٢٤٥١,٤٧	٠	٠	كبد	
٨٩,٤٨	٣٤,٦٧	٤٩,٥٥	٠	لحم	٦
٦٠٣,٢٣	٤٦٧,١٢	٤٣٨,٥٤	٠	كبد	
٤٠٩,٣٢	٠	١٠٤,٥٩	٣٣,٧٨	لحم	٧
١٤٩٨,٣٣	٠	٨٩٤,٧٣	٤٨٩,٢٢	كبد	
٧٨,٩٩	١١٢,٣٢	٠	٩٨,٣٤	لحم	٨
٥٨٧,٤١	٧٦٥,٩٨	٠	٦٧٣,٥٦	كبد	
٦١٨,٣٤	٣٨٣,٧٦	٠	٠	لحم	٩
٣٤٥,٨٨	١٣٢٠,٥٦	٠	٠	كبد	
٢٣٢,٧٨	٠	٠	١١٤,٧٨	لحم	١٠
٨٩٥,٦٦	٠	٠	١٠٠١,٣٢	كبد	

من خلال البيانات التحليلية المعروضة في الجدول (رقم ٢)، يلاحظ أن ٢٤ عينة سلبية لبقايا الديكلازوريل بنسبة ٣٠% من أصل ٨٠ عينة، و ٥٦ عينة إيجابية بنسبة ٧٠% (١٢ عينة من منطقة صافيتا و ٨ عينة من منطقة بانياس و ١٦ عينة من منطقة الشيخ بدر و ٢٠ عينة من منطقة الدريكيش).

وتراوحت تراكيز الديكلازوريل للعينات المأخوذة من منطقة صافيتا وبانياس والشيخ بدر والدريكيش ما بين (٠ و ١٠٠١,٣٢)، و(٠ و ٨٩٤,٧٣) و(٠ و ٢٤٥١,٤٧) و(٠ و ٢٥٠٣,٤٨) ميكروغرام/كغ وزن رطب على التوالي، وكانت التراكيز المرتفعة في عينات منطقة الدريكيش، ومن ثم الشيخ بدر، وصافيتا، وأقله في بانياس، والسبب لارتفاع التراكيز في منطقة الدريكيش قد يعود لاحتمال عدم تطبيق المربين فترات السحب للديكلازوريل الموصى بها، أو استخدام هذا الدواء بجرعات عالية، مما يزيد احتمال وجود بقايا هذا الدواء

بالأخص لعدم وجود رقابة أو وجود قياس لثمالات (بقايا) مختلف الأدوية البيطرية أثناء التسويق وبعد الذبح لمعرفة مدى مطابقتها للمواصفات القياسية (SASMO, 2011)، والتراكيز الأقل في العينات المأخوذة من منطقة بانياس ربما لقلة استعمال الديكلازوريل في علاج الكوكسيديا واستعمال دواء آخر، أو قلة الإصابة بالكوكسيديا التي تستدعي استخدامه، فالحرارة والرطوبة معتدلة أكثر من باقي مناطق الدراسة وبالتالي قد تكون الأمراض الطفيلية أقل (Weaver and Meijerhof, 1991)، وكذلك تؤثر فصول السنة والعوامل الجوية كالرطوبة المرتفعة والحرارة المنخفضة في انتشار الأمراض الطفيلية لدى الفروج، ففصل الشتاء يؤثر على انتشار الكوكسيديا وكذلك الارتفاع عن سطح البحر مما يغير في الرطوبة الجوية، فالمناطق التي ترتفع أكثر من ٥٠٠ متر عن سطح البحر يزداد فيها الأمراض الطفيلية، وكذلك الرطوبة التي تزيد عن 70% تزيد من احتمالية الإصابة بالكوكسيديا بمعدل ٣-٥ أضعاف (Chapman et al., 2013)، فعينات الدراسة جمعت خلال فصل الشتاء حيث درجة الحرارة منخفضة والرطوبة مرتفعة في منطقة الدريكيش المرتفعة عن سطح البحر أكثر من غيرها من مناطق الدراسة، وهذا يزيد من وجود الأمراض الطفيلية بالأخص الكوكسيديا الذي يستخدم الديكلازوريل في علاجها والوقاية منها، وهذا ما أكدته الدراسات على تأثير الفصل والتغيرات الجوية لانتشار العديد من الأمراض الطفيلية (Ahad et al; 2015)، كما تزداد الرطوبة بشكل كبير في الأيام الأخيرة لتربية الفروج وذلك بسبب زيادة الزرق، ورطوبة الفرشة، وزيادة الأمونيا التي تؤهب لحدوث العديد من الأمراض المعوية (Weaver and Meijerhof, 1991)، وهذا يتطلب استعمال العقاقير الدوائية ومنها الديكلازوريل للوقاية والعلاج من هذه الأمراض.

كما تم استعراض قيم المتوسطات الحسابية والانحرافات المعيارية وحد الثقة الأصغري والأعظمي ٩٥% لتراكيز الديكلازوريل في العينات المدروسة (الجدول ٣) ، وتم مقارنة متوسط تراكيز العينات مع بعضها في مناطق الدراسة بأعمدة بيانية (المخطط ١) .

الجدول رقم (٣): البيانات الإحصائية لتراكيز الديكلازوريل في عينات اللحم والكبد من مناطق الدراسة مقدراً بـ ميكروغرام/كغ وزن رطب

المنطقة وعدد العينات	نوع العينة	متوسط حسابي ± انحراف معياري MEAN ±SD	حد الثقة الأصغري والأعظمي %٩٥ LO95%-UP95%
صافيتا (N=20)	لحم	٦٤,٥٧ *a ± ٥٣,٨٣١	١٠٠,٠٢ -٧,٦٣
	كبد	٤٢٧,١٧*c ± ٤٤٤,٤٦٣	٧٥٠,٠٤ -١٣٨,٨٧
بانياس (N=20)	لحم	٣٩,١٩* a ± ٢٤,٥٢٧	٥٢,٥٦- ٣,٥١-
	كبد	٣٣٠,٤٣* b ± ٢١٧,٤٣	٤٥٣,٨٠ -١٨,٩٤-
الشيخ بدر (N=20)	لحم	132.89*a ± ١٠٤,٨٩٥	199.96-9.82
	كبد	736.69* c ± ٧٥٣,٦١١	1280.6-226.62
دريكيش (N=20)	لحم	200.00* a ± ١٩٠,٠٦١	333.13-46.98
	كبد	737.09* c ± ٩٥٦,٤٢٦	1483.71-429.14

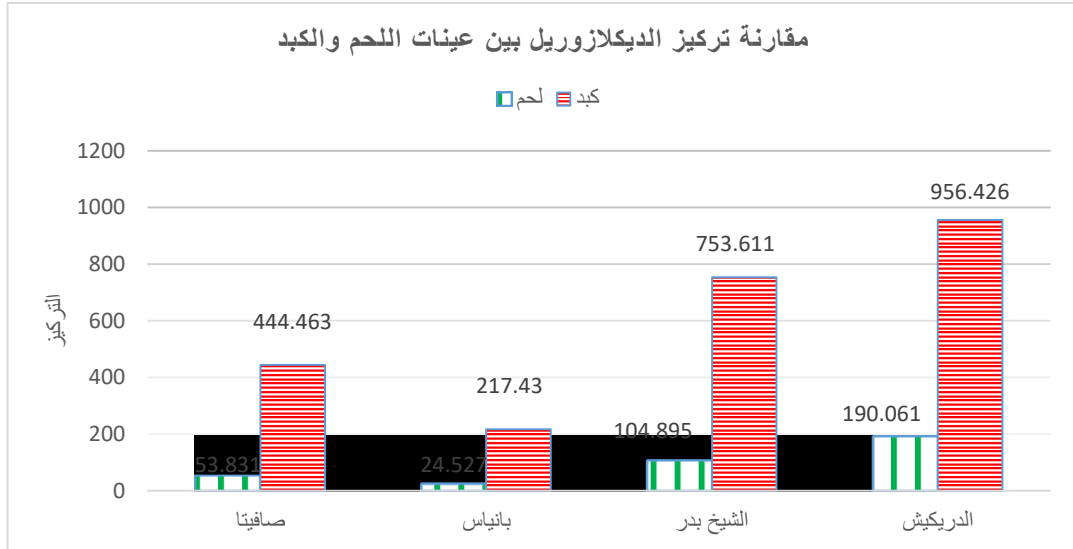
ac\* الفروقات معنوية ما بين عينات لحم وكبد الفروج في منطقة صافيتا والشيخ بدر والدريكيش ( $p < 0.05$ )  
 ab\* الفروقات غير معنوية ما بين عينات لحم وكبد الفروج في منطقة بانياس ( $p > 0.05$ )

يلاحظ من الجدول (رقم ٣) أن أعلى متوسط حسابي لتراكيز الديكلازوريل كان في عينات لحم وكبد الفروج المأخوذة من الدريكيش ١٩٠,٠٦١ و ٩٥٦,٤٢٦ ميكروغرام/كغ وزن رطب على التوالي، وأقل متوسط للتراكيز في عينات اللحم والكبد المأخوذة من منطقة بانياس ٢٤,٥٢٧ و ٢١٧,٤٣ ميكروغرام/كغ وزن رطب على التوالي، قد يعزى لاختلاف جرعة الدواء، والالتزام بفترة سحب الدواء، والظروف المناخية بين مناطق الدراسة (EFSA, 2018)، كما لوحظ أن متوسط تركيز الديكلازوريل في الكبد أعلى من تركيزه في اللحم في كل مناطق الدراسة، وهذا من الممكن أن يعود إلى طبيعة الكبد الدهنية، فالديكلازوريل يتراكم بسهولة في الأنسجة الغنية بالدهون مثل الكبد، حيث يتم تخزينه في الخلايا الكبدية أو الأغشية الخلوية الغنية بالليبيدات الموجودة في الكبد، مما يجعله يتراكم بكثرة في الأنسجة الغنية بالدهون والبروتينات مثل الكبد على عكس العضلات التي تحتوي على نسبة أقل من الدهون، بالإضافة إلى دور الكبد في استقلاب السموم وإفراز الأدوية، حيث يُفرز الدواء في الصفراء ثم يعاد امتصاصه من الأمعاء، مما يطيل بقاءه في الكبد (Johnson et al; 2015).

إحصائياً لوحظ أن الفروقات المعنوية لمتوسط تراكيز بقايا الديكلازوريل ما بين عينات لحم وكبد الفروج في منطقة بانياس غير معنوية ( $P > 0.05$ )، فيما كانت ما بين عينات لحم وكبد الفروج المأخوذة من صافيتا وعينات لحم وكبد الفروج المأخوذة من الشيخ بدر وعينات لحم وكبد الفروج المأخوذة من الدريكيش معنوية ( $P < 0.05$ )، وسجل تفاوتاً ملحوظاً في تراكيز الديكلازوريل لأن الدراسات التي تتعامل مع متغيرات بيولوجية تتميز بطبيعتها بالتقلب الكبير بين العينات، كما هو الحال في دراسات متبقيات الأدوية في الأنسجة الحيوانية (Kirkwood & Sterne; 2003).

كما تم تمثيل متوسط تراكيز الديكلازوريل في العينات المدروسة بأعمدة بيانية، فكان المحتوى الأعلى في عينات الكبد أكثر من اللحم، والتراكيز الأعلى في عينات اللحم والكبد المأخوذة من منطقة الدريكيش، ومن ثم عينات منطقة الشيخ بدر، والمستوى الأدنى في عينات منطقة بانياس (المخطط رقم ١).

المخطط البياني رقم (١): مقارنة بين متوسط تراكيز الديكلازوريل بين عينات اللحم والكبد من مناطق الدراسة مقدراً ب ميكروغرام/كغ وزن رطب



أظهرت النتائج (الجدول ٤) أن العينات الإيجابية لمتبقيات الديكلزوريل ٥٦ عينة (بنسبة ٧٠%) من مجموع العينات المدروسة الـ ٨٠، وكل العينات المأخوذة من منطقة الدريش إيجابية ٢٠ عينة (بنسبة ١٠٠%)، و١٦ عينة (بنسبة ٨٠%) من العينات المأخوذة من الشيخ بدر، و١٢ عينة (بنسبة ٦٠%) من العينات المأخوذة من منطقة صافيتا، و٨ عينات (بنسبة ٤٠%) من العينات المأخوذة من منطقة بانياس، وكانت كل تراكيز عينات الكبد ضمن الحد المسموح به، وهذا من الممكن تفسيره إلى احتمالية وجود التزام بفترات السحب وكذلك لأن امتصاص مركب الديكلزوريل من الأمعاء ضعيف، فالقسم الأكبر منه يطرح مع زرق الطيور (٥٠%) خلال ٢٤ ساعة من الإطعام، وبالمجمل ٨٥-٩٨% تم الكشف عنها بزرق الطيور خلال ١٠ أيام بعد الإطعام، والقسم الممتص ينتشر بسرعة في الدم وأنسجه الجسم، ويطرح بسرعة عن طريق البول وهذا ما أشارت المراجع (طلّة و حلاق، ٢٠٢٢) (Mortier et al; 2005)، أما عينات اللحم التي تجاوزت الحد المسموح به عينة واحدة من أصل ٤٠ العدد الكلي لعينات اللحم المدروسة ( بنسبة ٢,٥% ، وبنسبة ٣,٥٧% من أصل العينات الإيجابية الـ ٢٨) وذلك حسب لجنة الدستور الغذائي (CAC,2018) ، الذي حدد الحد الأقصى المسموح به (MRL) للديكلزوريل في عضلات الدجاج هو 500 µg/kg، وفي الكبد 3000 µg/kg. (جدول رقم 4) ويمكن أن يعود ارتفاع عينة اللحم من أحد الطيور عن الحد المسموح به لاحتمال عدم تطبيق المرابي فترات السحب الموصى بها، أو استخدام هذا الدواء بجرعات عالية، كما أن هناك تبايناً فردياً كبيراً في استقلاب الأدوية بين الطيور حتى تحت نفس ظروف التربية (EFSA, 2018).

الجدول رقم (٤):النسب المئوية للعينات الإيجابية والسلبية، والعينات التي تجاوزت الحد المسموح من متبقيات الديكلزوريل في عينات

اللحم والكبد من مناطق الدراسة حسب لجنة الدستور الغذائي(CAC, 2018)

نوع العينة	صافيتا	الشيخ بدر	بانياس	الدريش	المنطقة العينات
عينات اللحم	٦٠%	٨٠%	٤٠%	١٠٠%	الإيجابية
	٤٠%	٢٠%	٦٠%	٠%	السلبية
	٠	٠	٠	عينة واحدة ٢,٥%	التي تجاوزت الحد المسموح
إجمالي	٦٠%	٨٠%	٤٠%	١٠٠%	الإيجابية

	%٠	%٢٠	%٦٠	%٤٠	السلبية
	٠	٠	٠	٠	التي تجاوزت الحد المسموح

وبمقارنة الدراسة مع دراسات مشابهة أظهرت نتائج هذه الدراسة أن التراكيز الأعلى كانت في الكبد ومن ثم اللحم وهي متوافقة مع دراسة (الشنثوري وآخرون، 2022) حول دراسة متبقيات الديكلازوريل في عضلات وأعضاء الفروج في عدة مناطق بمحافظة دير الزور حيث بينت أن نسبة العينات الإيجابية لوجود الديكلازوريل (٦٨,٠٦%)، والتراكيز الأعلى كانت في الكبد ومن ثم في اللحم، وكان متوسط تراكيز الديكلازوريل في عينات اللحم (٤,٢٥ - ١٠,٦٦) ميكروغرام/كغ وزن حي وفي عينات الكبد (١٥٤,٦٥ - ٦١٢,٥٠) ميكروغرام/كغ وزن حي، وأعلى تركيز كان في عينات الكبد (١٩٠٠,٧١) ميكروغرام/كغ وزن حي.

ومتوافقة مع دراسة (Mortier et al; 2005) الذي لاحظ أن الطيور التي تم تغذيتها على علف يحوي جرعة ديكلازوريل ٧٣٠ملغ/كغ علف كان تركيز متبقياته في الكبد ٧٢٢ وفي العضلات ٩٤ ميكروغرام/كغ وزن حي، ومتوافقة أيضاً مع دراسة (Said et al; 2019) الذي وجد أن التركيز الأعلى في كبد الفروج.

في حين لا تتوافق الدراسة مع نتائج الدراسة التي قام بها (Klanjak-Kudra et al; 2021) بأنه لم يتم العثور عن أي أثر للديكلازوريل في عينات اللحم، وكان هناك فقط عينتان إيجابيتان من عينات الكبد فقط من أصل ٦٠ عينة فروج مدروسة (٣٠ عينة لحم و ٣٠ عينة كبد)، يمكن أن يكون بسبب اختلاف أنماط التربية و نوعية مضاد الطفيليات المستخدم أو الالتزام بزمن السحب.

## ٥- الاستنتاجات (Conclusions):

من الدراسة الحالية نستنتج التالي:

١- أن نسبة العينات الإيجابية لمتبقيات الديكلازوريل ٧٠% من مجموع العينات المدروسة ٨٠، وكل العينات المأخوذة من منطقة الدريكيش إيجابية، و ٨٠% من العينات المأخوذة من منطقة الشيخ بدر، و ٦٠% من العينات المأخوذة من منطقة صافيتا، و ٤٠% من العينات المأخوذة من منطقة بانياس.

٢- كانت كل تراكيز عينات الكبد ضمن الحد المسموح به، أما عينات اللحم التي تجاوزت الحد المسموح به عينة واحدة من أصل ٤٠ العدد الكلي لعينات اللحم المدروسة (بنسبة ٢,٥% ، وبنسبة ٣,٥٧% من أصل العينات الإيجابية الـ ٢٨) وذلك حسب لجنة الدستور الغذائي.

٣- هناك اختلاف بتراكيز ثمالات الديكلازوريل بين عينات الكبد واللحم المأخوذة من مناطق الدراسة المختلفة وكانت التراكيز في الكبد بشكل عام أعلى من التراكيز في اللحم، كما كانت التراكيز الأعلى في العينات المأخوذة من منطقة الدريكيش، دليل استخدام هذا المضاد بكثرة في العلاج، أو الوقاية، أو عدم الالتزام بفترة السحب قبل الذبح مقارنة بباقي مناطق الدراسة التي كانت التراكيز فيها أقل.

## ٦- التوصيات (Recommendations)

١. القيام بالدراسات المحلية للتقصي عن ثملات الديكلازوريل، وبقية مضادات الطفليات، والمضادات الحيوية المستخدمة في تربية الدواجن ومنتجاتها، والحيوانات الأخرى .
٢. زيادة التثقيف الصحي حول مخاطر وجود ثملات المضادات الحيوية في اللحم على الصحة العامة.
٣. عدم الإفراط في تناول لحوم الأعضاء التي لها القدرة على تجميع متبقيات الأدوية مثل الكبد وطهي اللحم بشكل جيد.
٤. تشديد الرقابة البيطرية للإلتزام بفترة سحب الأدوية، وعلى عملية بيعها، واستخدامها، وتشجيع تطوير بدائل طبيعية عن المضادات الحيوية.

## ٦- المراجع العلمية

### المراجع العربية:

١. قنبر، طلة و حلاق، عبد الكريم (٢٠٢٢).دراسة الحركية الدوائية للديكلازوريل بعد إعطاء جرعة علاجية فموية لدجاج اللحم. مجلة جامعة حماه، المجلد ٥ (٢): ١-١٢.
٢. الشنتوري ، غفران و حلاق، عبد الكريم و سليمان، غياث (٢٠٢٤): دراسة متبقيات الديكلازوريل في عضلات وأعضاء الفروج في محافظة دير الزور - سورية. مجلة جامعة حماة المجلد ٧(٣):٢٤-٣٧.
٣. هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية (٢٠١١). المواصفة القياسية السورية رقم ٢٠١١/٣٦٠٥ . الحدود القصوى المسموح بها للأدوية البيطرية في المنتجات الحيوانية.

### المراجع الأجنبية:

1. 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.  
**DOI:** <https://doi.org/10.6227/jfda.2013210110>
2. Ahad S، Tanveer S، Malik TA 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.  
**DOI:** <https://doi.org/10.1007/s12639-014-0424-8>
3. Basha، M. A.، Abd El-Rahman، M. K.، Bebawy، L. I.، & Salem، M. Y. (2017). *Novel potentiometric application for the determination of amprolium HCl in its single and combined dosage form and in chicken liver*. Chinese Chemical Letters، 28(3)، 612-618. **DOI:** <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2016.10.032>
4. Chapman, H. D., Barta, J. R., Blake, D., Gruber, A., Jenkins, M., Smith, N. C., Suo, X., & Tomley, F. M. (2013). *A selective review of advances in coccidiosis research*. *Advances in Parasitology*, \*83\*, 93-171. **DOI:** <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407705-8.00002-1>

5. Clanjak-Kudra E, Alagic D, Smajlovic M, Smajlovic A, Mujezinovic I, Magoda A and Jankovic S. (2021). *Coccidiostats in table eggs, liver and poultry meat on the market in Bosnia and Herzegovina*. IOP Conf. Ser: Earth Environ. Sci. 854 (2021)012016 **URL:** <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/854/1/012016>
6. Codex Alimentarius Commission, FAO/WHO *Food Standards (2018). Maximum Residue Limits (MRLs) and Risk Management Recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods*. CX/MRL 2-2018. pp. 1-46 **URL:** <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/maximum-residue-limits/en/>
7. Cortés -Herrera C, Artavia G, Leiva A, Granados-Chinchilla F (2018). *Liquid Chromatography Analysis of Common Nutritional Components, in Feed and Food*. Foods. 8(1):1. **DOI:** <https://doi.org/10.3390/foods8010001>
8. Dalloul, R. A., & Lillehoj, H. S. (2006). *Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development*. Expert review of vaccines, 5(1), 143-163. **DOI:** <https://doi.org/10.1586/14760584.5.1.143>
9. EMA (2018). "Committee for Veterinary Medicinal Products: Diclazuril Summary Report [https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/diclazuril-summary-report-committee-veterinary-medicinal-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/diclazuril-summary-report-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf)
10. European Food Safety Authority (EFSA). (2018). "Scientific opinion on diclazuril residues". *EFSA Journal*, 16(7), 5312. **DOI:** <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5312>
11. Johnson, A.B., Smith, C.D. and Williams, E.F. (2015) 'Residue studies of diclazuril in chickens: Analysis of liver and muscle tissues', *Veterinary Research Communications*, 39(2), pp. 112-120. **DOI:** <https://doi.org/10.1007/s11150-015-9289-6>
12. Kant, V., Srivastava, A. K., Verma, P. K., Raina, R., & Jamwal, N. (2013). *Toxicity studies of diclazuril in broilers*. *Toxicology Reports*, \*1\*, 230-235. **DOI:** <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2013.11.003>
13. Kirkwood, B. R., & Sterne, J. A. C. (2003). *Essential medical statistics* (2nd ed.). Blackwell Science. ISBN: 978-0-865-42871-3 **DOI:** <https://doi.org/10.1002/9780470756751>
14. Matus, J. L., & Boison, J. O. (2016). *A multi-residue method for 17 anticoccidial drugs and ractopamine in animal tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry*. *Drug testing and analysis*, 8(5-6), 465-476. **DOI:** <https://doi.org/10.1002/dta.1850>
15. McDougald, L. R., Fuller, L., & Mattiello, R. (1990). *A survey of sensitivity to anticoccidial drugs in 60 isolates of coccidia from broiler chickens*. *Poultry Science*, 69(6), 798-801. **DOI:** <https://doi.org/10.3382/ps.0690798>
16. Mortier, L., Daeseleire, E., Huyghebaert, G., Grijspeerdt, K., & Peteghem, C. V. (2005). *Detection of residues of the coccidiostat diclazuril in poultry tissues by liquid chromatography– tandem mass spectrometry after*

- withdrawal of medicated feed*. Journal of agricultural and food chemistry, 53(4), 905-911. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf048539n>
17. Noack, S., Chapman, H. D., & Selzer, P. M. (2019). *Anticoccidial drugs of the livestock industry*. Parasitology Research, 118(7). DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06343-5>
18. Petrie A, Watson P (1999). *Statistics for Veterinary and Animal Science*. Blackwell Science , pp. 114-115, pp. 90-92., pp. 114-115, pp. 90-92.
19. Quaidar A and Hallak A. (2022). *Detection of tetracycline residues in broiler kidney samples in Damascus Countryside Governorate – Syria*. Journal of Hama University – vol.5 (9): 121-142 DOI: <https://doi.org/10.1111/jvp.12450>
20. Said AA, El-Nabtity SM, El-Aziz AMA, Ellassal EI (2019). *Residues of anticoccidial drug (diclazuril) in different broiler tissues by high performance liquid chromatography*. Adv. Anim. Vet. Sci. vol. 7(s2): 19-25. DOI: <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2019/7.s2.19.25>
21. SASMO (Syrian Arab Standards and Metrology Organization). *Syrian Standard 3605/2011 Maximum limits for residues of veterinary drugs in animal products*
22. Stock ML, Elazab ST, Hsu WH (2017). *Review of triazine antiprotozoal drugs used in veterinary medicine*. J. Vet. Pharmacol. Therap. 41(2): 184–194. DOI: <https://doi.org/10.1111/jvp.12450>
23. Weaver D, Meijerhof R(1991). *The effect of different levels of relative humidity and airmovement on litter conditions, ammonia levels, growth, and carcass quality for broiler chickens*. Poultry Science, 1991. 70, 746–755. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.0700746>
24. Williams, R.B. (1999). *"A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's poultry production"*. Poultry Science. DOI: <https://doi.org/10.1093/ps/78.2.287>
25. World Health Organization (WHO). (2015). *Evaluation of certain veterinary drug residues in food: Eightieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. WHO Technical Report Series, 992. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/204410>
26. Zhang M, Qiu J, Li X, Zhang W, Fan J, Zhou H, He L (2019). *Determination of residual enantiomers of diclazuril in chicken edible tissues by high performance liquid chromatography*. J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. 15:1118-1119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.04.042>.