

*3<sup>rd</sup> Scientific Conference - College of Veterinary Medicine - University of Tikrit 2,3 May 2016*

***Proceedings of the 3<sup>rd</sup> Scientific Conference  
College of Veterinary Medicine - University of Tikrit***



***Under the Motto***

***" The Role of Veterinary Medicine in the Promotion of the  
Economic Reality of Our Beloved Iraq "***

***For a period of 2 and 3 May , 2016***

## **Conference Chief**

**Assist. Prof. Dr. Nihad A. Jaffer**

## **The Scientific Committee**

<b>Prof. Dr. Ayad Hameed Ebraheem</b>	<b>Chairman</b>
<b>Assist. Prof. Dr. omamia I. Mahmood</b>	<b>Member</b>
<b>Assist. Prof. Dr. Salah S. Salih</b>	<b>Member</b>
<b>Assist. Prof. Dr. Yaser A.M. Sulaiman</b>	<b>Member</b>
<b>Assist. Prof. Buthina A. Abdullah</b>	<b>Member</b>
<b>Dr. Idrees K. Thamer</b>	<b>Member</b>
<b>Dr. Bader K. Hameed</b>	<b>Member</b>
<b>Dr. Siham A. Wadi</b>	<b>Member</b>
<b>Dr. saad T. Rasheed</b>	<b>Member</b>
<b>Dr. Mwaffuk H. ALI</b>	<b>Member</b>
<b>Dr. Hala M. Majeed</b>	<b>Member</b>
<b>Dr. Maythem A. Ismaeel</b>	<b>Member</b>

## **Organizing Committee**

<b>Dr. Ahmed S. M. Al-Janabi</b>	<b>Chairman</b>
<b>Dr. Ziyad T. O. Al-doori</b>	<b>Member</b>
<b>Dr. Bashar S. Noomi</b>	<b>Member</b>
<b>Lect. Khalid A. Hadi</b>	<b>Member</b>
<b>Lect. Dakheel H. Hadree</b>	<b>Member</b>
<b>Assist. Lect. Sana'a Saud Ahmed</b>	<b>Member</b>
<b>Assist. Lect. Hassan Hadi Khorsheed</b>	<b>Member</b>
<b>Assist. Lect. Ahmed A. Sultan</b>	<b>Member</b>
<b>Assist. Lect. Ali K. Jaleel</b>	<b>Member</b>
<b>Assist. Lect. Nawar A. Jassaim</b>	<b>Member</b>
<b>Assist. Lect. Montaser M. Helal</b>	<b>Member</b>
<b>Assist. Lect. Abdul-Jabar M. Hussein</b>	<b>Member</b>

## **Technical Committee**

<b>Assist. Lect. Ali H. Awad</b>	<b>Chairman</b>
<b>Assist. Lect. Saad Sabar Nasief</b>	<b>Member</b>
<b>Mr. Nadher A. Iltaeif</b>	<b>Member</b>
<b>Mrs. Saba H. Rasheed</b>	<b>Member</b>

### **Conference goal**

- [1 ] To support applied researches that form a basic provider to develop the scientific process in the country.
- [2 ] To revival of the livestock by focusing on applied scientific research in simulation of livestock problems and find the right solution to them.
- [3 ] To find the ways that contribute to prevent the spreading of epidemic diseases in our country.
- [4 ] Highlight the vital role of veterinarian in keeping and maintaining livestock.
- [5 ] The role of veterinarian in food control and educational technology in reducing pollution and environmental protection

### **Conference Topics**

- [1 ] Public health and Zoonosis diseases
- [2 ] Poultry diseases.
- [3 ] Veterinary Surgery and Obstetrics
- [4 ] Veterinary Microbiology and Parasitology
- [5 ] Basic Science (Physiology and Anatomy and Biochemistry).
- [6 ] Internal Medicine and veterinary Pharmaceutical

## The Contents

1-	<b>The Influence of Lycopene on Interleukin-6, Tumor Necrosis Factor -<math>\alpha</math> , Alanine Aminotransferase, Aspartate Aminotransferase Levels In Streptozotocin -Induced Diabetic Rabbits</b>	
	<i>Entedhar R. Sarhat , Siham A. Wadi , Saba K. Ibrahim.....</i>	1
2-	<b>Effects of <u>Morus alba</u> leaves extracts on sperm count and testicular weight in experimentally streptozotocin induced diabetes male rats.</b>	
	<i>Omar, S. I. Al-Janabi , Amer hakem , Maher ahmed.....</i>	6
3-	<b>EVALUATION OF TWO LOCAL ISOLATED INFECTIOUS BURSAL DISEASE VIRUS WITH COMMERCIAL VACCINAL STRAINS IN BROILER</b>	
	<i>Salah M. Hassan , Mohammed K. Shakor.....</i>	11
4-	<b>Effect of three general anesthetic protocols on hematological parameters in goats</b>	
	<i>Raffal A. Omar , Omar Khalid Aziz , Abeer Ahmed Majeed.....</i>	18
5-	<b>Efficacy and histopathological study of bile salts against hydatidosis comparing with antigen B in experimentally infected mice.</b>	
	<i>Inam Faleh , Layla Hashim , Hawraa M. Murad.....</i>	24
6-	<b>Experimental study for induction of the skin burns in the local breed rabbits followed by topical application of sesame oil (Optical histology and histopathology)</b>	
	<i>Ayad Hameed Ebraheem , Bader Khatlan Hameed , Idrees Khalaf Thamer , Zeena Ebraheem , Fatima Emaad.....</i>	31
7-	<b>Experimental Study of Effect of Ginger Ethanolic extract on Oxidative Stress in Alloxan Induced-Diabetic Rabbits</b>	
	<i>Entedhar R. Sarhat , Buthyna A. Abdullah , Siham A. Wadi.....</i>	35
8-	<b>Detection of bovine viral diarrhoea-mucosal (BVD –MD) virus using Elisa in Iraqi sheep</b>	
	<i>Khawlah Moh Imran Al-Rubayie.....</i>	39
9-	<b>Development and feeding value of new protein meals from insect larvae and pupae for aquaculture fish, Rainbow Trout, <i>Oncorhynchus mykiss</i> (wallbaum)</b>	
	<i>B.A. Khan, L.M. Al-Ani<sup>1</sup>, R. Beck , L. A. Goonewardene , W. Hirsche , A. Suleiman.....</i>	42
10-	<b>Some antibiotics susceptibility of bacteria isolated from the genital system of Awassi ewes In Baghdad</b>	
	<i>Leqaa majeed Aziz Al-Qasi , Maysam Najhi Ahmed.....</i>	48
11-	<b>Comparative study between the effect of local and systemic antibiotic on the wound healing of the rabbit</b>	
	<i>Montaser Mohamed helal.....</i>	53
12-	<b>Antifungal and Antibacterial activity of Fig Fruit Latexes from two Ficus species Plants</b>	
	<i>Noor Maath Ahmed.....</i>	57
13-	<b>Effect of adding different levels of rosemary powdered in some physiological and antioxidant traits for Japanese quail females under oxidative stress condition</b>	
	<i>Ahmed T. Taha , Mohammed M. Hussein.....</i>	61
14-	<b>Isolation of diverse enterobacterial species from sheep diseases in salah-Din City, Iraq.</b>	
	<i>Hala Mohammed Majeed, Sana'a sauod Ahmed.....</i>	67
15-	<b>The EFFECT OF OVERDOSE INTAKE OF IRON ON THE HISTOLOGICAL PICTURE OF TESTES OF ADULT RABBITS</b>	
	<i>Hassan Hadi Khorsheed.....</i>	71
16-	<b>The effect of aqueous extract of different parts (head, body and total antigen) of tick <i>Boophilus annulatus</i> on some biochemical parameters (Total protein, albumin and globulin) in the serum of local Rabbits</b>	
	<i>A.I.A.AL-Jumaily.....</i>	75

17-	<b>Histopathological effects resulting from attempts of immunization by serum and lymphatic cells of mice spleen</b>	
	<i>Ashraf Jamal Mahmoud Zangana , Shurooq Hameed Majeed Al-nassiri.....</i>	79
18-	<b>Comparison between bacteremia in burned and nonburned patients</b>	
	<i>Suham Shakoor Obaid , Qanat Mahmmod Atiyea , Shaimaa Mustafa Qattal.....</i>	85
19-	<b>ANATOMICAL AND HISTOLOGICAL STUDY OF THYMUS GLAND IN THE LOCAL BREED OF TURKEY “<i>Meleagris gallopavo</i>” IN IRAQ</b>	
	<i>Hanaa Kareem Ali.....</i>	93
20-	<b>The Effect of Obesity on Leptin and Some Biochemical Parameters in Salah Al-din Governorate</b>	
	<i>Marwa Abdul Salam Kader.....</i>	98
21-	<b>Histological Study of Lower Respiratory System on Cats (<i>Felis Catus Domesticus. L</i>)</b>	
	<i>Rabab Abd Alameer Nasser , Shakir Mahmood Mirhish.....</i>	102
22-	<b>study of chemical composition and Microbial Contamination of local sheep carcass</b>	
	<i>Zahid I. Mohammed, Raad Jabbar Hammadi, Maisaa G. Taher.....</i>	109
23-	<b>Anatomical and topographical study on human neonate spinal cord</b>	
	<i>Sami Ibrahim Abdullah , Abdul-Jabbar J. Mahdi , Abdul-Kareem S. Mahood.....</i>	113
24-	<b>A new cell line in <i>Cryptosporidium spp. in vitro</i> culturing</b>	
	<i>Hiro M. Obiad , Tawfiq I.Al-Alousi , Abdulla H.Al-Jboori.....</i>	118

## The Influence of Lycopene on Interleukin-6, Tumor Necrosis Factor - $\alpha$ , Alanine Aminotransferase, Aspartate Aminotransferase Levels In Stereptozytocin -Induced Diabetic Rabbits

Entedhar R. Sarhat<sup>1</sup>, Siham A. Wadi<sup>2</sup>, Saba K. Ibrahim<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dentistry College , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

<sup>2</sup> Collage of veterinary medicine , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

### Abstract

**Background and Aims:** Hyperglycemia increases inflammation in diabetes mellitus . The aim of this study is to evaluate the effect of lycopene on Interleukin-6 (IL-6), Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) Alanine Aminotransferase (ALT), Aspartate Aminotransferase, levels in diabetic rabbits.

**Materials and Method:** A total of (25) rabbits of both sexes weighing between 150-260 g were completely randomized in four groups comprising 5 rabbits each. Diabetes was induced by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (35 mg/kg) fed with high fat diet. Animals in group 3,4 which were respectively administered 10 and 20 mg/kg body weight of lycopene for 4 weeks.

**Results:** Results showed that lycopene administration at all doses significantly ( $P < 0.05$ ) decreased the fasting blood glucose, GOT, and TNF- $\alpha$  levels compared to diabetic control group. Consistent significant increases ( $p < 0.05$ ) were noticed in the level of IL-6, GPT, in diabetic rabbits treated with lycopene compared with diabetic control group.

**Conclusion:** This study showed that lycopene can significantly reduce glucose, GOT, and TNF- $\alpha$  and increase IL-6, GPT streptozotocin induced diabetic rabbits. The results of this study indicate that lycopene is an effective nutritional component to alleviate and/or prevent the complications of diabetes, and these findings can be used as a basis for future studies.

**Key words:** lycopene, Streptozotocin, inflammation, diabetes mellitus

### Introduction

Diabetes is a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia arising from defects in insulin secretion, insulin action, or both [1], It is associated with disturbances in carbohydrate, protein and fat metabolism which occur secondary to hypoinsulinemia [2], also it is capable of reproducing the hepatic toxic features, increasing the alanine aminotransferase, (ALT, GPT), aspartate aminotransferase (AST, GOT) levels in serum, thus, being useful as hepatic biomarkers [3]. Interleukin-6 (IL-6) is a sensitive marker of physiological inflammation subclinical related to insulin resistance, and hyperglycemia, elevated levels of IL-6 and C-Reactive Protein (CRP) can predict the development of diabetes mellitus type 2 which producing IL-6 in assortment of tissues such as endothelial cells and adipocytes [4].

Streptozotocin (STZ) is a naturally occurring compound that induce experimental diabetes in rodents as it causes destruction of the pancreatic beta cells, and decreases the response of serum glucose to insulin, even though the numbers of insulin receptors in a cell are increased. STZ inhibits the synthesis of DNA in both bacterial and mammalian cells [5-7].

Lycopene is the pigment responsible for the red color, which can be found in high concentration in tomato products, red grapefruits, and watermelons [7]. It is highly lipophilic and is most commonly situated within cell membranes and other lipid components. It is consequently predictable that in the lipophilic environment, lycopene will have maximum ROS scavenging effects. The study of role of lycopene in human health and nutrition is very much complicated because the main dietary source of lycopene (i.e.,

tomatoes) consisting primarily of all-trans isomers, but blood, and plasma contain comparatively higher condensation of cis-isomers [8]. The cooking of tomatoes by heating convert the trans lycopene to a range of its cis-isomers which are viewed as being more bioavailable due to their higher solubility and much better absorption from the lumen of intestine than trans isomer [9].

### Materials and methods

#### Experimental animals

The experimental study was carried out on 20 adult rabbits (about 1.5-2.1 kg), during the period from June 2014 to May 2015. The animals were divided into 4 groups each group consists of 5 animals:

**Group 1 (G1):** healthy control rabbits.

**Group 2 (G2):** diabetic rabbits

**Group 3 (G3):** diabetic rabbits received lycopene 10 mg/kg.

**Group 4 (G4):** diabetic rabbits received lycopene 20 mg/kg.

All administrations were given orally once daily for four weeks.

#### Induction of diabetes mellitus

The rabbits were fed with HFD ad libitum for a period of 2 weeks and then injected with single dose of STZ (35 mg/kg, i.p.) except group 1. after 7 days of injection, the fasting blood glucose levels were estimated; the rabbits were considered as diabetic rabbits if they had serum glucose levels  $\geq 200$  mg/dL [10].

#### Lycopene preparation

Tomato oleoresin was mixed with maize oil and stored at 48 °C in the dark, then the mixture was stirred for 20 min in a water-bath at 48 °C before

being fed to the animals. Stability of lycopene was monitored at 450 nm, and confirmed by diode-array spectra. Lycopene was steady in the mixture for 9 weeks at 20C [11].

Thirty (30) mg lycopene in a gelatinous was reconstituted in olive oil to suitable working concentration as designated by Ogundeji *et al* [12], with some adjustments to obtain the anticipated doses used in the study.

Serum glucose concentration was estimated by glucose oxidase [13]. IL-6, and TNF- $\alpha$  levels were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). AST and ALT were determined according to the methods of Trinder *et al.* [13], and Sacks *et al.* [14] respectively.

### Results

Results obtained showed that STZ administration significantly increased ( $P < 0.05$ ) fasting blood glucose concentration from (283.40 $\pm$ 7.19a mg/dL) to (100.00 $\pm$ 2.37 mg/dL). Treatment of diabetic animals with the graded doses of lycopene (10 and 20 mg/kg body weight) significantly ( $P < 0.05$ ) decreased the blood glucose level steadily to (247.00 $\pm$ 5.41b mg/dL), (246.00 $\pm$ 8.79b mg/dL) respectively, after 4 week when compared with corresponding diabetic untreated group (Figure 1).

Results obtained indicated that the serum IL-6 levels decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in the diabetic control rabbits to (28.97 $\pm$ 0.73pg/mL) following streptozotocin treatment from (36.02 $\pm$ 0.79 pg/mL) in normal control when compared. Following oral administration of lycopene (10 and 20 mg/kg body weight), the levels of IL-6 was significantly ( $P < 0.05$ ) elevated to (34.05 $\pm$ 0.85pg/mL) and (34.83 $\pm$ 1.24pg/mL) respectively in diabetic animals when compared to diabetic control group (Figure 2).

The GOT level of untreated diabetic rabbits were significantly higher (48.06 $\pm$ 1.27, IU/L) ( $P < 0.05$ ) than those of the normal control rabbits (38.16 $\pm$ 1.17, IU/L). After 4 weeks of the lycopene extract treatment with doses of 10 and 20 mg kg<sup>-1</sup> lycopene, level were significantly decreased to (46.40 $\pm$ 1.07, IU/L), (43.50 $\pm$ 1.14, IU/L) as compared to diabetic control rabbits (Figure 3).

The GPT level showed a significantly ( $P < 0.05$ ) lowered in streptozotocin-induced diabetic animals that were not treated to (10.36 $\pm$ 0.44, IU/L) when compared with normal control rabbits that recorded (16.00 $\pm$ 0.70, IU/L). On treatment with the graded doses of lycopene (10 and 20 mg/kg body weight) there was a significant ( $P < 0.05$ ) increase on GPT level to (13.11 $\pm$ 0.51, IU/L) and (16.16 $\pm$ 0.55, IU/L) when compared with diabetic untreated rabbits (Figure 4).

The TNF- $\alpha$  level of untreated diabetic rabbits were significantly higher (38.42 $\pm$ 0.52, pg/ml) ( $P < 0.05$ ) than those of the normal control rabbits (20.08 $\pm$ 0.51 pg/ml). After 4 weeks of the lycopene extract treatment with doses of 10 and 20 mg kg<sup>-1</sup> lycopene, TNF- $\alpha$  level were significantly decreased to

(32.04 $\pm$ 1.08, pg/ml), (34.03 $\pm$ 0.93 pg/ml) when compared to diabetic control rabbits (Figure 5).

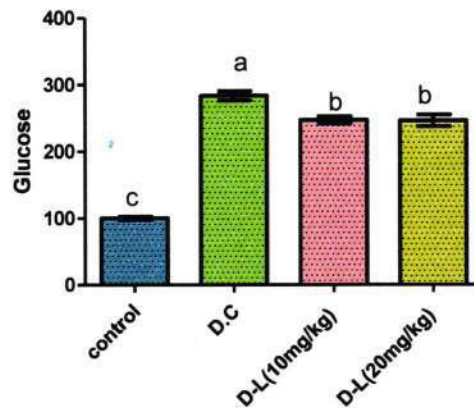


Fig-1: Effect of Lycopene on serum glucose (mg/dL) levels in diabetic rabbits.

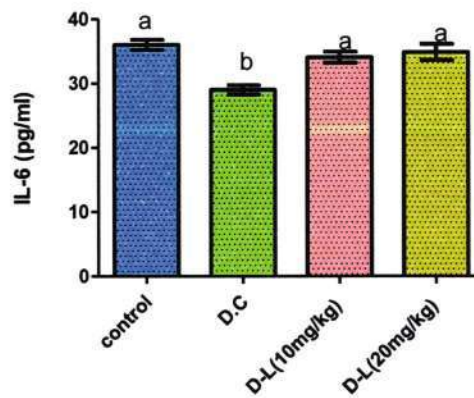


Fig-2: Effect of Lycopene on serum IL-6 levels in diabetic rabbits.

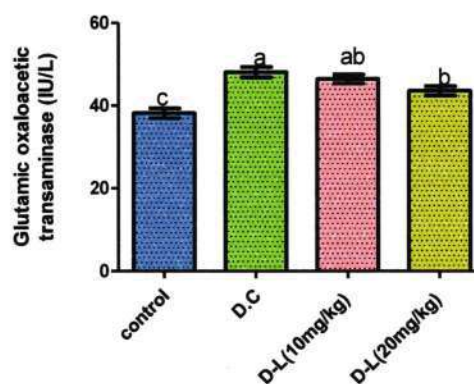


Fig-3: Effect of Lycopene on serum GOT levels in diabetic rabbits.

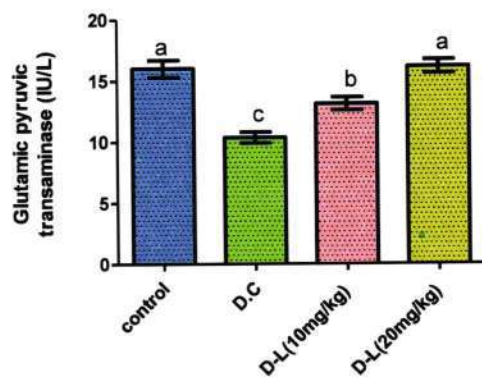


Fig-4: Effect of Lycopene on serum GPT levels in diabetic rabbits.

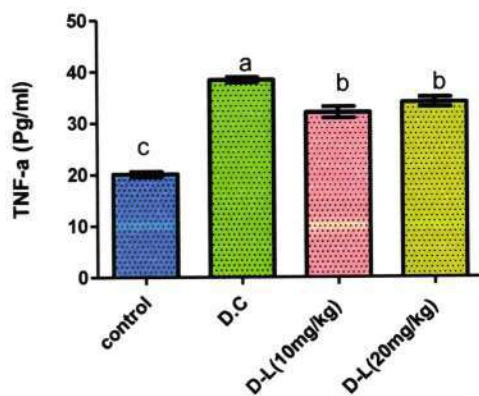


Fig-5: Effect of Lycopene on serum TNF-α levels in diabetic rabbits.

### Discussion

Lycopene known to inhibit cytokine production by defeating ROS motivated NF-κ activation [15-17]. Moreover, lycopene has been found to stimulate the production of anti-inflammatory cytokines such as IL-10, which controls the inflammation and also inhibits the production of proinflammatory cytokines including tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), IL-6, and IL-8 which increase the inflammatory response [18]. Significant decreased levels of IL-6 were experiential in mice with adipose tissue inflammation when treated with lycopene [19]. Lycopene can reduce the expression of inflammatory cytokines and inverse the loss activity of antioxidant enzymes caused by inflammation, either by injecting with lipopolysaccharide or by exposure to iron [20,21]. A placebo-controlled, double-blind, crossover study on healthy human volunteers revealed that 5.7 mg of lycopene for 26 days effectively reduced inflammation and discourage the production of TNF-κ [21].

Our result showed that administration of lycopene can significantly increase serum IL-6 level in STZ -

induced rabbits, Our findings is in the line with Ojha et al. [22]. reported that reducing blood glucose can decline pro-inflammatory cytokines such as IL-6 in STZ-induced rats. In this study, the level of IL-6 in the diabetic rats with kefir was significantly lower than in diabetic control rats.

TNF-α can cause an insulin-resistant state, characterized by an impaired ability of insulin to upset hepatic glucose production and to stimulate peripheral glucose uptake [23]. Also, TNF-α is implicated to raise circulating level of FFA, and thus indirectly contributes to the cause insulin resistance [24]. Furthermore, Moreover, TNF-α overlaps with insulin, referring to a assortment of cells producing non-insulin-dependent, mainly creating a state of insulin resistance[25].

In the present study, demonstrated that the lycopene extract administration managed to reduce serum TNF in diabetic rabbits. This finding disagreement with Pierine *et al.* [26]. who stated that plasma TNF-α did not decrease with lycopene treatment (6 weeks). In a study on diabetic rats with similar timing to ours, 4 weeks of supplementation with lycopene was not able to reduce the levels of TNF-α. [27]. Markovits *et al.* [28], who found that no decrease in plasma levels of TNF-α with administration of lycopene in obese individuals' and indicated that the circulating levels of TNF-α are derived from other organs that are also affected by obesity, which might not respond as well to lycopene treatment as the kidney[26].

In diabetes, some authors have indicated increases in AST and ALT reflects active liver damage in the many diabetic patients [29], and moreover liver was necrotized in STZ-induced diabetic rats [30].

In current study an increase in the activities of AST, and ALT in serum might be mainly due to the leakage of these enzymes from the liver cytosol into the blood stream [31]. Injury to the hepatocytes alters their transport function and membrane permeability, leading to leakage of enzymes from the cells. For it, the marked release of AST and ALT from liver cytosol into circulation refers to the extensive damage of hepatic tissue membranes during diabetes [32]. Lycopene significantly restores the changes of enzyme activities (AST, ALT,) due to its antioxidant effect and its ability to act as a radical scavenger, thereby protecting membrane permeability. Some studies also reported that lycopene was able to reduce the toxicity in liver cells [33].

### Conclusion:

It is concluded that using lycopene should be considered in the treatment of diabetic complications and hyperglycemia. Lycopene supplementation can be beneficial for humans in order to reduce the harmful effects of diabetes, such as decreased serum glucose, GPT, and TNF-α and increasing IL-6 level.

## References

- [1]. American Diabetes Association (2012): Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*; 35: S64-S71.
- [2]. Schmatz R, Perreira LB, Stefanello N, Mazzanti C, Spanevello R, Gutierrez J, Bagatini M, Martins CC, Abdalla FH, da Daci Silva Serres J, Zanini D, Vieira JM, Cardoso AM, Schetinger MR, Morsch VM (2012). Effects of resveratrol on biomarkers of oxidative stress and on the activity of delta aminolevulinic acid dehydratase in liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochimie*. 94:374-383.
- [3]. Mori DM, Baviera AM, De Oliveira RLT, Vendramini RC, Brunetti IL, Pepato MT: (2003). Temporal response pattern of biochemical analytes in experimental diabetes. *Biotechnol Appl Biochem*. 38:183-191.
- [4]. Sunarti, Nurliyani, Agatha Swasti Ayuning Tyas, Scolastika Dita Kristian Prasetyastuti. (2015) THE INFLUENCE OF GOAT MILK AND SOYBEAN MILK KEFIR ON IL-6 AND CRP LEVELS IN DIABETIC RATS *Romanian Journal of Diabetes Nutrition & Metabolic Diseases*. 22 ( 3 ).
- [5]. Sharma VK. (2009). Streptozotocin: an experimental tool in diabetes and Alzheimer's Disease'. *Int J Pharm Res Development*. 2(1):1-7.
- [6]. Raza H, John A. (2012) Streptozotocin-induced cytotoxicity, oxidative stress and mitochondrial dysfunction in human hepatoma HepG2 cells. *Int J Mol Sci*. 13(5):5751-67.
- [7]. Maria Alessandra Gammone, Graziano Riccioni and Nicolantonio D'Orazio (2015). Carotenoids: potential allies of cardiovascular health? *Food & Nutrition Research*. 59: 26762.
- [8]. Campbell, J.K.; Engelmann, N.J.; Lila, M.A. and Erdman, J. (2007). Phytoene, phytofluene and lycopene from tomato powder differentially accumulate in tissues of male Fisher 344 rats. *Nutr. Res*. 27:794-801.
- [9]. Sahir Sultan Alvi, Irfan A. Ansari and M. Salman Khan. (2015). Pleiotropic role of lycopene in protecting various risk factors mediated atherosclerosis. *Annals of Phytomedicine*. 4(1): 54-60.
- [10]. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. (2005) Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res*. 52:313-320.
- [11]. Renata de Azevedo Melo Luvizotto, Andre F. Nascimento, Erika Imaizumi, Damiana T. Pierine, Sandro J. Conde, Camila R. Correa, Kyung-Jin Yeum and Ana Lucia A. Ferreira. (2013). Lycopene supplementation modulates plasma concentrations and epididymal adipose tissue mRNA of leptin, resistin and IL-6 in diet-induced obese rats. *British Journal of Nutrition*. 1 - 7
- [12]. Ogundeji T, Ayo JO, Aluwong T, Mohammed A. (2013) Behavioral and haematological studies on effects of lycopene in Wistar rats subjected to psychological stress. *Journal of Neuroscience and Behavioral Health*. 5(2):30-35.
- [13]. Trinder R: (1969). Determination of glucose in blood using glucose with alternative oxygen acceptor. *Ann Clin Biochem*. 6:27-27.
- [14]. Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrot M: (2002). Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. *Clin Chem*. 48:436-472.
- [15]. Armoza, A.; Haim, Y.; Basiri, A.; Wolak, T. and Paran, E. (2012) Tomato extract and the carotenoids lycopene and lutein improve endothelial function and attenuate inflammatory NF- $\kappa$ B signaling in endothelial cells. *J. Hypertens*. 31:521-529.
- [16]. Bai, S.K.; Lee, S.J.; Na, H.J.; Ha, K.S.; Han, J.A.; Lee, H.; Kwon, Y.G.; Chung, C.K. and Kim, Y.M. (2005).  $\beta$ -carotene inhibits inflammatory gene expression in lipopolysaccharide-stimulated macrophages by suppressing redox-based NF- $\kappa$ B activation. *Exp. Mol. Med*. 37:323-334
- [17]. Kim, J.H.; Na, H.J.; Kim, C.K.; Kim, J.Y.; Ha, K.S.; Lee, H.; Chung, H.T.; Kwon, H.J.; Kwon, Y.G. and Kim, Y.M. (2008). The non-provitamin A carotenoid, lutein, inhibits NF- $\kappa$ B-dependent gene expression through redox-based regulation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Pten/Akt and NF- $\kappa$ B-inducing kinase pathways: role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in NF- $\kappa$ B activation. *Free Radic. Biol. Med*. 45: 885-896.
- [18]. Feng, D.; Ling, W.H. and Duan, R.D. (2010) Lycopene suppresses LPS-induced NO and IL-6 production by inhibiting the activation of ERK, p38 MAPK, and NF- $\kappa$ B in macrophages. *Inflammation Research*. 59(2):115-121.
- [19]. Gouranton, E.; Thabuis, C. and Riollet. (2011). Lycopene inhibits proinflammatory cytokine and chemokine expression in adipose tissue. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 22(7):642-648.
- [20]. Reifen, R.; Nissenkorn, A.; Matas, Z. and Bujanover, Y. (2004). 5-ASA and lycopene decrease the oxidative stress and inflammation induced by iron in rats with colitis. *J. Gastroenterol*. 39:514-9.
- [21]. Riso, P.; Visioli, F.; Grande, S.; Guarnieri, S. and Gardana, C. (2006). Effect of a tomato-based drink on markers of inflammation, immunomodulation, and oxidative stress. *J. Agr. Food Chem*. 54(7):2563-2566.
- [22]. Ojha S, Alkaabi J, Amir N et al. (2014). Withania coagulans fruit extract reduces oxidative stress and inflammation in kidneys of streptozotocin-induced diabetic rats. *Oxid Med and Cell Longev*.: 201436.
- [23]. Lang CA, Naryshkin S, Schneider DL, Mills BJ and Lindeman RD.: (1992). Low blood glutathione levels in healthy aging adults. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 120(5): 720- 725.
- [24]. Ryden, M.; Dicker, A.; van Harmelen, V.; Hauner, H.; Brunberg, M. and Perbeck, L. (2002)

Mapping of early signaling events in tumor necrosis factor-alpha-mediated lipolysis in human fat cells. *J. Biol. Chem.* 277: 1085–1091.

[25].Del Aguila, L. F.; Claffey, K. P. and Kirwan, J.P. (1999). TNF-alpha impairs insulin signaling and insulin stimulation of glucose uptake in C2C12 muscle cells. *Am. J. Physiol.* 27(6): 849-855.

[26].Pierine, DT, Navarro MEL, Minatel IO, Luvizotto RAM, Nascimento AF, Ferreira ALA, Yeum K-J and Corrêa CR (2014). Lycopene supplementation reduces TNF- $\alpha$  via RAGE in the kidney of obese rats. *Nutrition & Diabetes*.1 – 6.

[27].Yegin SC, Yur F, Ceylan E.(2013). Effect of lycopene application in rats with experimental diabetes using lipoprotein, paraoxonase and cytokines. *J Membr Biol*.246:621–626.

[28].Markovits N, Ben Amotz A, Levy Y.(2009). The effect of tomato-derived lycopene on low carotenoids and enhanced systemic inflammation and oxidation in severe obesity. *Isr Med Assoc J*.11: 598–601.

[29].Elisa J, Daisy P, Ignacimuthu S, Duraipandiyar V. (2009). Antidiabetic and antilipidemic effect of eremanthin from *Costus speciosus* (Koen.) Sm., in STZ-induced diabetic rats. *Chem Biol Interact.* 182: 67–72

[30].Ohaeri OC. (2001).Effect of garlic oil on the levels of various enzymes in the serum and tissue of streptozotocin diabetic rats. *Biosci Rep*.21:19–24

[31].Navarro CM, Montilla PM, Martin A, Jimenez J, Utrilla PM (1993). Free radicals scavenger and antihepatotoxic activity of *Rosmarinus tomentosus*. *Planta Med.* 59:312–314

[32].Harris EH.(2005) Elevated liver function tests in type 2 diabetes. *Clin Diabetes.* 23:115–119

[33].Floreani, A., Baragiotta, A., Martines, D., Naccarato, R. and D'odorico, A.: (2000). Plasma antioxidant levels in chronic cholestatic liver diseases. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 14 (3): 353-358.

## تأثير لايكوبين على المستويات انتر لوكين -6, عامل نخر الورم ، ألنين أمينو ترانسفيريز ، واسبارتيت أمينو ترانسفيريز في الارانب المحدث بها السكري بواسطة الستريوتوزوتوسين

انتظار رفعت سرحدات<sup>1</sup> ، سهام عجمي وادي<sup>2</sup> ، صبا خير الدين ابراهيم<sup>2</sup>

<sup>1</sup>كلية طب الاسنان ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

<sup>2</sup>كلية الطب البيطري ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### الملخص

فرط سكر الدم يزيد من الالتهاب في مرض السكري. والهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثير مستخلص لايكوبين الطماطة على المستويات انتر لوكين IL-6 عامل نخر الورم، (TNF- $\alpha$ ) ، ألنين أمينو ترانسفيريز (ALT)، واسبارتيت أمينو ترانسفيريز ، في الارانب المحدث بها السكري. المواد والطريقة: ما مجموعه (20) أرانب كلتا الأجناس تُرَبُّ بين 1,5-2,1غم قسمت الى اربع تشمل كل مجموعة 5 أرانبٍ محدث بها السكري بحقن جرعة واحدة من 35غم/ كيلوغرام الستريوتوزوتوسين غُدَى بالحمية السميئة العالية. حيوانات في مجموعة 3,4 التي أعولجت ب 10 و 20 ملغم / كيلوغرام وزن جسم كيلوغرام من لايكوبين لمدة 4 أسابيع. أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً في مستوى الكلوكرز TNF- $\alpha$ , AST عند استخدام خلاصة لايكوبين الطماطة بتركيز 10 و 20 ملغم/كغم من وزن الجسم ولمدة 4 اسبوع مقارنة مع مجموعة السيطرة. بينما اظهرت نتائج ارتفاعاً معنوياً في معدلات IL-6 و ALT عند استخدام خلاصة لايكوبين الطماطة مقارنة مع مجموعة السيطرة. اثبتت هذه الدراسة بأن لايكوبين يُمكن أن يُخفَض مستوى TNF- $\alpha$  بشكل ملحوظ، وزيادة IL-6 و ALT ، في الارانب المحدث بها السكري. إن نتائج هذه الدراسة تُشير بأن لايكوبين مكوّن مغذّي فعّال لتخفيف و/ أو يَمْنَع تعقيدات مرض السكر، وهذه النتائج يُمكن أن تُستعمل كقاعدة للدراسات المستقبلية.

## Effects of Morus alba leaves extracts on sperm count and testicular weight in experimentally streptozotocin induced diabetes male rats.

Omar, S. I. Al-Janabi<sup>1\*</sup>, Amer hakem<sup>2</sup>, Maher ahmed<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pharmacology Department Faculty of Medicine, Anbar University, Iraq.

<sup>2</sup> Pharmacology Department Faculty of Veterinary Medicine, Anbar University Iraq

<sup>3</sup> Food sciences Department Faculty of Agriculture, Anbar University.Iraq

\* E-mail:- [dr.osin1981@gmail.com](mailto:dr.osin1981@gmail.com) / [omar\\_81msc@yahoo.com](mailto:omar_81msc@yahoo.com)

### Abstract

This study aims to investigate the effects of Morus alba leaves extracts (ethanol hydro-alcohol 60%) on (sperm count and testicular weight) in experimentally streptozotocin induced diabetes in male rats. Fourty adult male albino rats weighting (150 -200 g) were used and divided into 4 experimental groups, 10 rats in each group: The first group was served as control group. The remaining groups were injected intra pretonial by streptozotocin (STZ) at 45 mg/kg b.wt to induce diabetes. The second diabetic group was received as control diabetic group. The third diabetic group was treated with Cidophage (500 mg/kg, orally). While, the fourth diabetic groups were treated with Morus alba leaves extracts (600 mg/kg b.w orally). All treatment were given daily for successive 30 days. After end treatments all rats were sacrificed and parameters were measured. The obtained results demonstrated the use of Morus alba leaves extracts improve of sperm count and testicular weight of diabetic rats. Hydro-alcoholic extract 60% of Morus alba leave could improve the sperm count and testicular weight of diabetes male rats.

**Keywords:** medicinal plants, sperm count, testicular weight, Morus alba leave extracts.

### Introduction:-

Diabetes is a chronic disease characterized by high levels in blood glucose and abnormal metabolism of carbohydrates, proteins, and fat associated with a relative or absolute insufficiency of insulin secretion and with numerous degrees of insulin resistance. Such alterations result in increased blood glucose, which causes long-term complications in many organs [1]. Despite important progress in the management of diabetes using synthetic drugs, many traditional plant treatments are still being used throughout the world. Plants are valued in indigenous systems of medicine for the treatment of various diseases [2]. Medicinal plants provide a good source of oral hypoglycemic compounds for the development of new pharmaceutical leads in addition to dietary supplements to existing therapies [3]. Some of the plants that are being used for the treatment of diabetes have received scientific or medicinal scrutiny and even the World Health Organization's expert committee on diabetes recommends that this area warrants further attention [4].

Leaves and shoots from the mulberry tree possess several medicinal properties, including hypoglycemic, hypotensive, and diuretic effects [5]. Mulberry root bark or leave extracts were shown to possess hypoglycemic effects in animal models [6].

The extract of Morus alba leaves promoted significant hypolipidemic activity in experimental animals [7].

Anthocyanin components from Morus alba fruits were isolated and identified through [8] to study their antioxidant effect. The authors reported that, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside are of valuable importance as antioxidants, Mulberroside A is the major stilbene glycoside of Morus alba and it showed inhibitory effect against FeSO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced lipid

peroxidation in microsomes of rat, also found that the Mulberroside A have scavenging effects on DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical [9].

The Mulberry fruits increase the strength of the antioxidant protecting system and diminish the damaging of the oxidative substances in red blood cells (RBCs) of the experimentally induced diabetes in rats [10]. The aim of the present study was to clarify the effect of Morus alba leave extracts on Sperm count and testicular weight.

### Material and Methods

#### 1- Materials

Streptozotocin (STZ) was purchased from Sigma Company (USA), Cidophage was obtained from CID Company (Egypt), NaCl 0.9%, sodium citrate, citric acid, ethyl alcohol. 95% were purchased from El-Gomhoria Company.

#### Morus alba leave extracts :-

Morus alba Leaves were collected, cleaned, washed with tap water, dried and stored in dry atmosphere. The alcoholic extract of Morus alba leaves was suspended in distilled water according to the method of [11] by the use of soxhlet apparatus, and orally administrated of Morus alba leave 600 mg/kg b.wt [12], by stomach tube daily for 30 days.

**Cidophage** (Metformin hydrochloride 500mg) CID Company (CID, Giza, Egypt) and it was administrated orally by stomach tube in a dose 500 mg/kg b.w [13].

#### Induction of diabetes:

Induction of diabetes was done by using streptozotocin (STZ) at 45mg/kg b.wt in rats according to [14].

#### Experimental Animals:

A total of fourty (40) adult healthy males rats with age ranged between 8-10 weeks, and their weight

ranged between (150-200) grams, were used in this study. Animals were left for one week to acclimatize the place. Animals were kept in cage in a controlled environment, maintained under a 20-25°C and light period of 12 hours daily and (50-70)% humidity. Rats provided with standard diet and water ad-libitum. The animals were housed in plastic cage. Care was taken to avoid any unnecessary stress. The cages were cleaned twice a week.

**Experimental design:-**

After one week period of acclimatization in cages condition, rats were divided into 4 groups (each of 10 rats) as follows :

**Group I:** (control clinically healthy)treated with 0.2 ml distilled water orally.

**Group II:** diabetic non -treated (45 mg/ kg b.wt. STZ) intra peritonea [14].

**Group III:** diabetic treated with 500 mg/kg b.wt. *Cidophage* orally / day by stomach tube for 30 days [13].

**Group IV:** diabetic treated with 600mg/kg b.wt. *Morus alba* leaves extract orally daily for 30 days [12].

**Sampling:-**

**Preparation of epididymal tail sperm suspension.**

After the end of the experiment, animals were weighed by a sensitive balance then anesthetized by diethyl ether.

Abdominal cavity was opened, testes and epididymus excised and soaked in physiological normal saline and cleared from attached fat and connective tissue. Testis were weighed by a sensitive balance. The tail of the left epididymus was taken and immersed in one ml of physiological normal saline at 37°C in a watch glass, then the tail was cut by microsurgical scissors, to perform the following examination on sperm characters [15].

**2- Methods**

**A- Determination of Sperm concentration.**

Sperm count was done according to [15]. By using Hemocytometer (Neubauer Type).

The Hemocytometer sides were filled with 5µl of a sperm suspension and covered by cover slide; the sperms were counted in twenty-five small squares of

the chamber. Estimation of sperm was made according to the following formula:

**Sperm concentration = Number of sperm X 10000**

**B- Determination of testicular weight to body weight ratio: -**

After treating period, animals were weighed, anesthetized by diethyl ether. Testis were removed and weighed by sensitive balance after being cleaned from the accessory connective and adipose tissues. Testicular weight to body weight ratio was calculated as in the following equation:

**Testicular wt-to-body wt ratio = (Wt. of testis (gm) / Wt. of animal (gm) X 100.**

**Statistical Analysis:**

Data were subjected to statistical analysis using statistical software program (SPSS for Windows, version 18, USA). Means and standard error for each variable were estimated. Differences between means of different groups were carried out using one way ANOVA with Duncan multiple comparison tests. Dissimilar superscript letters in the same column show a significance (P<0.05) [16].

**Results**

**1. Effect of *Morus alba* leaves extracts on sperm counts:-**

It was observed clearly from table (1) that sperm counts was significantly decreased (P<0.05) in diabetic group (1375000 ± 72168) in comparison with the control group (2375000± 505799) after treatment. Meanwhile sperm counts was significantly increased (P<0.05) in diabetic treated groups with 1987500 ± 408439 (*Cidophage*) 3362500 ± 262500 (*Morus alba* leave hydro-alcoholic extract) in comparison with control diabetic group.

**2. Effect of *Morus alba* leaves extracts on Testicular weight:-**

It was observed clearly from Table (1) that Testicular weight was significantly decreased (P<0.05) in diabetic group (0.4340 ± 0.6) in comparison with the control group (0.7760±0.4) after treatment. Meanwhile Testicular weight was significantly increased (P<0.05) in diabetic treated groups with 0.4230 ± 0.10 (*Cidophage*) 0.6183± 0.06 (*Morus alba* leave hydro-alcoholic extract) in comparison with control diabetic group.

**Table (1): Determination of serum Sperm count and Testicular weight in diabetes and non diabetic rats. (Mean ± SE) (n=10)**

No.	Group parameters	Sperm count (gm)	Testicular weight
1-	G1 (Control given 0.2ml normal saline)	2375000± 505799	0.7760 ± 0.4
2-	G2 (Diabetic by 45 mg/kg b. wt. STZ)	1375000 ± 72168	0.4340 ± 0.6
3-	G3 (Diabetic treated with <i>Cidophage</i> at 500 mg/kg b. wt.)	1987500 ± 408439	0.4230 ± 0.10
4-	G5 (Diabetic treated with alcoholic extract of <i>Morus alba</i> leaves at 600 mg/kg b. wt.)	3362500 ± 262500	0.6183 ± 0.06

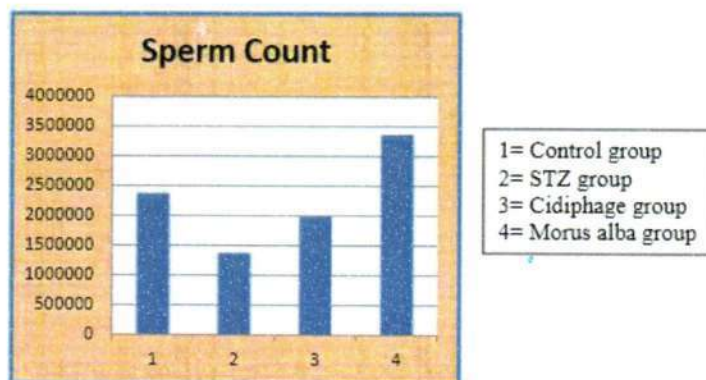


Fig. (1): Determination of sperm count in diabetes and non diabetic rats. (Mean ± SE) (n=10).

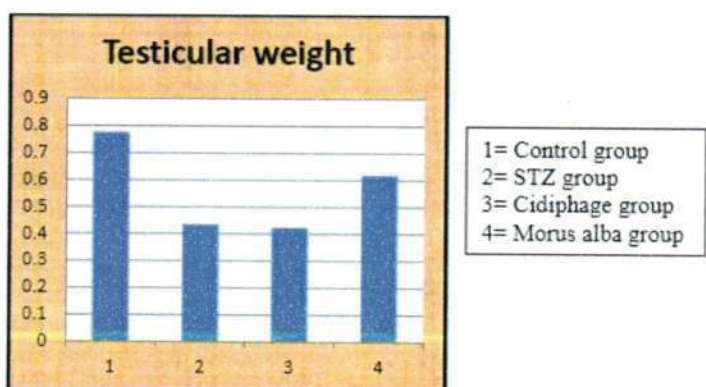


Fig. (2): Determination of testicular weight in diabetes and non diabetic rats. (Mean ± SE) (n=10).

## Discussion

### - Effects of *Morus alba* leaves extracts on Sperm count and Testicular weight:-

In the present study result recorded significant increase in sperm count and testicular weight of all treated groups in comparing with STZ untreated negative control. This finding is supported with the data obtained by [17] explained that the *Morus alba* is rich in polyphenolic compounds especially the flavonoids and among the flavonoids quercetin 3-(6-malonylglucoside) is most significant for antioxidant potential of mulberry plant that lead to improving effects. The *Morus alba* leaves containing higher amount of quercetin which is responsible for reduction of oxidation process in vivo and in vitro [18].

The ethanolic extract of *Morus alba* leaves contains oxyresveratrol and 5,7-dihydroxycoumarin 7-methyl ether which scavenge superoxide and have antioxidant potential effects [19]. Mulberroside A is a major stilbene glycoside of *Morus alba* and It showed inhibitory effects against FeSO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced lipid per oxidation in microsomes of rat and also found that Mulberroside A have scavenging effect on DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical [9]. The anthocyanin is present in mulberry extract and it is a natural colorant constituent for the plant, anthocyanins showed antioxidant activity by scavenging the peroxy radicals in trapping reaction [20]. Mulberry plants contains many active

compounds which acts as an antioxidant like polyphenols, carotenoids and vitamin A, C, E. They found that these compounds increase the body's antioxidant status and regulate Low-density lipoprotein (LDL) oxidation through different mechanisms [21]

A complication of chronic Diabetes mellitus causes the decreasing of LH, FSH and testosterone levels [22]. FSH, LH and testosterone has an important role in spermatogenesis process [23]. If the amount of these hormones reduces, it will disturb the process of spermatogenesis, and the final consequence will be followed by the decreasing of germ cell numbers as well as testicular weight [24].

Approximately fifteen polyhydroxylated alkaloids have been isolated from the leaves of mulberry, one of which is 1-Deoxynojirimycin (DNJ), which has potency to decrease blood glucose by inhibiting alpha-glucosidase [23]. This enzyme catalyzes the hydrolysis of bonds in maltose to produce two molecules of glucose [25]. Leaves and roots extract of mulberry contain 0.24% DNJ compounds [26]. Mulberry leaves also contain several chemical compounds such as ecdysterone [27] and scopoletin [26] which also contribute for the decreasing of blood glucose. In addition, mulberry leaves also contain folic acid and zinc that are able to increase the number of sperm cells in men with infertility experience [27].

mulberry leaves are able to repair tissue damage due to their antioxidant content. One of antioxidant content of mulberry leaves is vitamin C [28]. The role of ascorbic acid (vitamin C) for diabetes is as aldose reductase enzyme inhibitor [25]. thus reducing the use of equivalent reduced. The willingness of the reducing equivalent is useful for the conversion of oxidized glutathione disulfide (GSSG) to reduced glutathione (GSH). It can further prevent the buildup of sorbitol in tissues [29].

The increase in weight of testes of treated group with *Morus alba* compared to STZ group this happens because the number of spermatogenic cells in the testes also increased. This is consistent with the statement of [23] that the rich content of spermatogenic cells in the seminiferous tubules in the testes can also increase the weight of the testis itself although testicular weight was also influenced by other factors. Testes weight is not only influenced by

#### References

- [1] Goodman HM. (2003): Basic Medical Endocrinology, 3rd ed. Academic Press. San Di.
- [2] Arise RO, Malomo SO, and Adebayo JO., (2009): Effects of aqueous extract of Eucalyptus globulus on lipid peroxidation and selected enzymes of rat liver. J Med Plant Res 3: 77-81.
- [3] Bailey LJ, and Day C. (1989): Traditional plant medicine as treatment for diabetes. Diab Care 12: 553-564.
- [4] World Health Organization. (1980): WHO expert committee on diabetes mellitus, technical reports series. World Health Organization. Geneva.
- [5] Chen, FJ, Nakashima, N, and Kimura, I., (1995): Hypoglycemic activity and mechanisms of extracts from mulberry leaves (folium mori) and cortex mori radiceis in streptozotocin-induced diabetic mice. Yakugaku Zasshi 115: 476-482.
- [6] Singab AN, El-Beshbishy HA, Yonekawa M et al. (2005): Hypoglycemic effect of Egyptian *Morus alba* root bark extract: effect on diabetes and lipid peroxidation of streptozotocin-induced diabetic rats. J Ethnopharmacol 100: 333-8.
- [7] Mohammadi J, and Naik PR. (2008): Evaluation of hypoglycemic effect of *Morus alba* in an animal model. Indian J Pharmacol 40: 15-18.
- [8] Chen P. N., Chu S. C., Chiou H. L., Kuo W. H., Chiang C. L. and Hsieh Y. S., (2006): Mulberry anthocyanins cyanidin 3-rutinoside and cyaniding 3-glucoside exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line, Cancer Letter 235: 248-259.
- [9] Chung, K.O., Kim, B.Y. Lee, M.H. Kim, Y.R. Chung H.Y. and Park, J.H., (2003): *In-vitro* and *in-vivo* anti-inflammatory effect of oxyresveratrol from *Morus alba* L. J. Pharm. Pharmacol., 55: 1695-1700.
- [10] Hong J.H., Ahn J.M., Park S.W., and Rhee S.J. (2004): The effects of mulberry fruit on the antioxidative defense systems and oxidative stress in the erythrocytes of streptozotocin-induced diabetic rats. Nutrit. SC. 7: 127-132.

the presence of germ cells and seminiferous tubule diameter, testis weight was also affected by connective tissue and smooth muscle cells [27]. This network serves to support the process of spermatogenesis is done by the testes. So not only gained weight testicular tubules but also supported by a network of connective tissue and blood vessels. The increasing of the testes weight in diabetic rats after mulberry leaves infusion is due to folic acid and zinc in mulberry leaves that finally support the increasing the number of spermatogenic cells [24].

#### Conclusion

The obtained results showed the use of *Morus alba* leaves extracts improved of sperm count and testicular of diabetic rats. Moreover, *Morus alba* leaves extracts are capable of improving the impaired above parameters and minimized the side effects of STZ diabetic animals.

- [11] Harborne, J.B., (1984): Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis. Chaman and Hall, 2<sup>nd</sup> ed., New York, P: 288.
- [12] Jamshid M. and Prakash R. (2012): The histopathologic effects of *Morus alba* leaf extract on the pancreas of diabetic rats. Turk J. Biol., 36:211-216
- [13] Pagano, G., Tagliaferro, V., Carta, Q., Caselle, M.T., Bozzo, C., Vitelli, F., Trovati, M. and Cocuzza, E. (1983): Metformin reduces insulinrequirement in Type 1 (insulin-dependent) diabetes. Diabetologia, 24 (5),351-354.
- [14] El-Seifi, S.; Abdel- Moneim, A. and Badir, N. (1993): The effect of *Ambrosia maritima* and *Cleome droserifolia* on serum insulin and glucose concentrations in diabetic rats. J. Egypt. Ger. Soc. Zool., 12(A): 305-328.
- [15] Sakamoto, J. and Hashimoto, K. (1986). Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice. Effect on fertility and sperm morphology. Arch. Toxicol., 95: 201-205.
- [16] Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. (1981): Statistical Methods. 7th Ed. The Iowa State University, Ames, Iowa, USA.
- [17] Butt, M.S., Nazir, A., Sultan M.T., and Schroen, K., (2008): *Morus alba* L. nature's functional tonic. Trends Food Sci. Technol., 19: 505-512.
- [18] Iqbal, S., U. Younas, Sirajuddin K.W. Chan, R.A. Sarfraz and M.K. Uddin, (2012): Proximate composition and antioxidant potential of leaves from three varieties of mulberry (*Morus* sp.): A comparative study. Int. J. Mol. Sci., 13: 6651-6664
- [19] Oh, H., E.K. Ko, J.Y. Jun, M.H. Oh and S.U. Park, (2002): Hepatoprotective and free radical scavenging activities of preflavonoids, Coumarin and stilbene from *Morus alba*. Planta. Med., 68: 932-934. DOI: 10.1055/s-2002-34930.

- [20] Rossetto, M., Vanzani, P. Lunelli, M. Scarpa, M. Mattivi F. and Rigo, A., (2007): Peroxyl radical trapping activity of anthocyanins and generation of free radical intermediates. *Free Radic. Res.*, 41: 854–859.
- [21] Andallu B, Vinay Kumar AV, and Varadacharyulu N, (2009): Lipid abnormalities in streptozotocin - diabetes: Amelioration by *Morusindica L. cvSuguna* leaves. *Int J Diabetes Dev. Ctries.* 29(3):123-128.
- [22] Banu, S. Jabir, N. R., Manjunath, N. C., Khan, M. S., Ashraf, G. M., Kamal, M. A., and Tabrez, S., (2014): "Reduction of postprandial hyperglycemia by mulberry tea in type-2 diabetes patients," *Saudi J. Biol. Sci.*, pp. 2–6, May.
- [23] Zhang, Y. Ren, C. Lu, G. Mu, Z. Cui, W. Gao, H. and Wang, Y. (2014a): "Anti-diabetic effect of mulberry leaf polysaccharide by inhibiting pancreatic islet cell apoptosis and ameliorating insulin secretory capacity in diabetic rats.," *Int. Immunopharmacol.*, vol. 22, no. 1, pp. 248–57, Sep.
- [24] Zhang, Y.; Ren, C.; Lu, G.; Cui, W.; Mu, Z.; Gao, H. and Wang, Y., (2014b): "Purification, characterization and anti-diabetic activity of a polysaccharide from mulberry leaf," *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, Oct.
- [25] Naowaboot, J., Pannangpetch, P., Kukongviriyapan, V., Kukongviriyapan, U., Nakmareong, S. and Itharat, A. (2015): "Mulberry leaf extract restores arterial pressure in streptozotocin-induced chronic diabetic rats.," *Nutr. Res.*, vol. 29, no. 8, pp. 602– 8, Aug. 2009. 17 J. *Appl. Environ. Biol. Sci.*, 5(5)14-18,
- [26] Ou-yang, Z. Cao, X. Wei, Y. Zhang, W.-W.-Q. Zhao, M. and Duan, J. (2013): "Pharmacokinetic study of rutin and quercetin in rats after oral administration of total flavones of mulberry leaf extract," *Rev. Bras. Farmacogn.*, vol. 23, no. 5, pp. 776– 782, Sep.
- [27] Sugimoto, M. Arai, H. Tamura, Y. Murayama, T. Khaengkhan, P. Nishio, T.; Ono, K. Ariyasu, H. Akamizu, T. Ueda, Y. Kita, T. Harada, S. Kamei, K. and Yokode, M. (2009): "Mulberry leaf ameliorates the expression profile of adipocytokines by inhibiting oxidative stress in white adipose tissue in db/db mice.," *Atherosclerosis*, vol. 204, no. 2, pp. 388–94, Jun.
- [28] Li, Y.-G. Ji, D.-F. Zhong, S. Lv, Z.-Q. Lin, T.-B. Chen, S. and Hu, G.-Y. (2011): "Hybrid of 1-deoxynojirimycin and polysaccharide from mulberry leaves treat diabetes mellitus by activating PDX-1/insulin-1 signaling pathway and regulating the expression of glucokinase, phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucose-6-phosphatase in alloxan-induced diabetic mice.," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 134, no. 3, pp. 961–70, Apr. 2011.
- [29] Jeszka-Skowron, M. Flaczyk, E. Jeszka, J. Krejpcio, Z. Król, E. and Buchowski, M. S. (2014): "Mulberry leaf extract intake reduces hyperglycaemia in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats fed high-fat diet," *J. Funct. Foods*, vol. 8, pp. 9–17, May 2014.

## تأثير مستخلص اوراق التوت على عدد النطف ووزن الخصى في ذكور الجرذان

### المصابة تجريبيا بالسكري

عمر سالم ابراهيم الجنابي<sup>1</sup>، عامر حكيم جواد<sup>2</sup>، ماهر احمد عيد<sup>3</sup>

<sup>1</sup> قسم الأدوية، كلية الطب، جامعة الانبار، الرمادي، العراق

<sup>2</sup> قسم الادوية، كلية طب البيطري، جامعة بغداد، بغداد، العراق

<sup>3</sup> قسم علوم الاغذية، كلية الزراعة، جامعة الانبار، الرمادي، العراق

\* E-mail:- [dr.osin1981@gmail.com](mailto:dr.osin1981@gmail.com) / [omar\\_81msc@yahoo.com](mailto:omar_81msc@yahoo.com)

### المخلص

الهدف من هذه الدراسة: تهدف هذه الدراسة الى معرفة تأثير كل من مستخلص اوراق التوت (ethanolic hydro-alcohol 60 %) على عدد النطف و وزن الخصى في ذكور الجرذان المصابة تجريبيا بداء السكري باستعمال مادة سترينوزوتيسين (STZ). استخدم في هذه التجربة اربعين من ذكور الجرذان البيض وزنها يتراوح ما بين (150-200غم) وتم تقسيمها الى اربع مجاميع (لكل مجموعة 10جرذان) : تركت المجموعة الأولى كمجموعة سيطرة. تم حقن المجاميع المتبقية (بالغشاء البريتوني) بمادة سترينوزوتيسين (STZ) بجرعة 45 ملغم / كغم من وزن الجسم لإحداث مرض السكري. المجموعة الثانية اعتبرت مجموعة سيطرة ومصابة بالسكري. عولجت مجموعة السكري الثالثة بدواء السيدوفاج (500 ملغم / كغم، فمويًا). بينما تم علاج المجموعة الرابعة مستخلص ورق التوت بجرعة 600 ملغم / كغم من وزن الجسم. استمرت فترة العلاج يوميًا لمدة 30 يوما متتالية. بعد نهاية فترة العلاج تم قتل جميع حيوانات التجربة وتم قياس وزن الخصى وعدد الحيامن. النتائج : أظهرت النتائج أن استخدام مستخلص ورق التوت أدى إلى تحسين واضح في وزن الخصى وعدد الحيامن. الاستنتاجات: المستخلص المائي الكحولية لاوراق التوت أدى إلى تحسين في وزن الخصى وعدد الحيامن في ذكور الجرذان.

## EVALUATION OF TWO LOCAL ISOLATED INFECTIOUS BURSAL DISEASE VIRUS WITH COMMERCIAL VACCINAL STRAINS IN BROILER

Salah M. Hassan , Mohammed K. Shakor

Department of Pathology and Poultry Diseases, College of Veterinary Medicine, University of Baghdad, Iraq

[Sm.hassan04@gmail.com](mailto:Sm.hassan04@gmail.com)

[dr.mohamad.khorshed@yahoo.com](mailto:dr.mohamad.khorshed@yahoo.com)

### Abstract

This study was conducted to evaluate the best vaccination program by using commercial vaccinal strains (IBDL and E228) and two local isolated strains (first experiment groups were vaccinated at 14 days) while (second experiment groups were vaccinated at 21 days). Five hundred broiler chicks (Ross-308) from AL-Anwar hatchery/Tikrit province were divided randomly into five groups each group (n= 50) chicks in each experimental groups and treated as follow:-

Group 1: Vaccinated with Commercially IBD (Ceva- IBDL Hungary strain  $EID_{50} 10^{2.3}$ ) in drinking water. Group 2: Vaccinated with Commercially IBD (Intervet E228IBD strain  $EID_{50} 10^2$ ) in drinking water. Group 3: Vaccinated with Local IBD isolated strain (CH IBD 2013 M1 Baghdad  $EID_{50} 10^{7.3}$ ) vaccine in drinking water. Group 4: Vaccinated with Local IBD isolated strain (CH IBD 2013 M2 Tikrit  $EID_{50} 10^{5.4}$ ) in drinking water. Group 5: (control group) was not vaccinated without any vaccine.

Blood samples were collected in both experiments from the jugular vein at 1, 7, 14, 21, 28, 35 and 40 days to determine the antibody titer against IBDV by ELISA, tissue samples were also taken from the bursa for Quantitative Real-time (RT)-PCR (viral load) at 2 and 4 days post vaccination.

The results of two experiment above revealed that G3 showed a high significant differences ( $P<0.05$ ) in protection against IBD isolate (CH IBD 2013 M1 Baghdad  $EID_{50} 10^{7.3}$ ) compared with other groups. The ELISA results of serum analysis showed significant increase ( $P<0.05$ ) in antibody titer against IBDV especially in second experiment when vaccinated at day 21 that revealed low maternal immunity. On the other hand, RNA copies of the IBDV in the bursal tissues determined by quantitative Real - time reverse transcriptase PCR (RT-qPCR) showed increase viral load in second experiment in comparison with first group that showed decrease RNA copies due to neutralization with maternal immunity.

**Key word:** infectious bursal disease, isolate, broilers, ELISA, viral load.

### Introduction

Poultry has key contributions to global livestock production. Reproductive traits, a short productive lifespan, production of eggs and worldwide distribution, favour the use of poultry as a major source of animal protein. A good health status is necessary to maintain production and feed conversion efficacy (FCE). Infectious bursal disease (IBD), have a negative impact on poultry health and production. Understanding the pathogenesis and the immune mechanism of protection against infectious diseases is an important prerequisite of disease control and prevention [1].

IBD is a highly contagious and acute viral disease that characterized by destruction of lymphoid cells in the bursa of fabricius causing severe immunosuppression [1]. IBDV belongs to the genus Avibirnavirus of the family Birnaviridae. Two distinct serotypes of the virus have been recognized. Serotype 1 viruses are pathogenic to chickens while serotype 2 viruses are nonpathogenic. Serotype 1 has been divided into several groups on the basis of antigenic variation and virulence: classical strains, variant strains, and very virulent strains [2]. Classic IBDV strains cause bursal damage and lymphoid necrosis resulting into 20–30% mortality [3]. In the mid-1980s very virulent (vv) IBDV strains emerged and caused devastating outbreaks resulting in 30% and 60–70% mortality in broiler and layers,

respectively, then spread to Middle East, Asia, Africa and South America [3,4]. In Iraq, Hassan remarks that an IBDV variants and vvIBDV isolates were emerged in all of poultry sectors; broilers, broiler breeders, layers and general poultry stocks, and all these isolates were blamed for causing high mortalities ranging 20-58%[5]. Currently, it is believed that IBDV will cooperate with cases of high mortality rates of commercial broiler flocks, hence, there is an immediate need to take over research on local isolates of IBDV, evidence of circulating variant IBDV strains was isolated from flocks vaccinated using classical IBDV vaccines [6]. Additionally, Reverse transcription and polymerase chain reaction (RT-PCR) methods are applied in many laboratories of the world for the detection and identification of IBDV[7]. The aim of the present study was to apply RTPCR for rapid detection of infectious bursal disease virus in experimentally tissues of vaccinated and infected chickens. The immune response following vaccination as well as protection was evaluated.

### Materials and Methods

Five hundred (500) broiler chicks (Ross-308) from AL-Anwar hatchery/Tikrit province were divided randomly into two experiments (groups), two hundred fifty 250 for each. In every experiment, chicks were divided into five groups each group contains 50 chicks and treated as follow:

**First experiment: at 14 days old were vaccinated with:** - Group 1: Commercially IBD (Ceva- IBDL Hungary strain EID<sub>50</sub> 10<sup>2</sup>) vaccine in drinking water. Group 2: Commercially IBD (Intervet E228IBD strain EID<sub>50</sub> 10<sup>2.2</sup>) vaccine in drinking water. While Group 3: were vaccinated with local isolate IBD (CH IBD 2013 M1 Baghdad EID<sub>50</sub> 10<sup>7.3</sup>) vaccine in drinking water. Group 4: using local isolate IBD (CH IBD 2013 M2 Tikrit EID<sub>50</sub> 10<sup>5.4</sup>) vaccine in drinking and Group 5: (control group) was not vaccinated without any vaccine.

**Second experiment at 21 days old:** - Group 1: Commercially IBD (Ceva- IBDL Hungary strain EID<sub>50</sub> 10<sup>2</sup>) vaccines were used in drinking water. While Group 2: Commercially IBD (Intervet E228IBD strain EID<sub>50</sub> 10<sup>2.2</sup>) vaccine in drinking. Vaccinated with Group 3: local isolate IBD (CH IBD 2013 M1 Baghdad EID<sub>50</sub> 10<sup>7.3</sup>) vaccine in drinking water. Group 4: were vaccinated with local isolate IBD (CH IBD 2013 M2 Tikrit EID<sub>50</sub> 10<sup>5.4</sup>) vaccine in drinking water and Group 5: (control group) was not vaccinated without any vaccine.

The experiments were carried out at local poultry farm in Tikrit; the experiments were carried out in a private poultry house 45m× 10m. After cleaning and disinfection, fumigation, feeders and waters utensils also were cleaned and disinfected. The bedding (litter) was added to all rooms and other factors like temperature, lighting and ventilation were controlled according to Allan [8]. The serum samples were taken to determine the antibody titre against infectious bursal disease by ELISA test accordance to [9]. Morbidity (white diarrhea and ruffled feathers) and/or mortality were recorded [10]. Two and four days post vaccination, bursal samples were aseptically collected. Supernatants of the organs were prepared for viral isolation as well as for RT-qPCR according to the Annex III of the Council Directive [11]. The Statistical Analysis System- SAS was used to clarify the effect of different factors in study parameters [12]. Least significant difference – LSD and Duncan multiple range tests were used to significantly compare between means in this study [13].

## Results and Discussion

The result of 10 serum samples out of 250 three-day old chicks (before division into groups) for assessment of maternal immunity against IBD revealed high level; the mean value was (14686.9±151.9) which evaluated by ELISA test. At (21, 28, 35 and 40) days old the results of the current study reflected the presence of significant differences at level (P<0.05) among all groups in Ab titre against IBD. The Mabs titers at the age of 7 and 14 days showed no significant difference (P<0.05) between all groups. However, all Mabs titers in the five groups were considered protective, against IBD. In the first experiment at (21, 28, 35 and 40) days old chicks, The Abs titers in all groups increase significantly (P<0.05) from day 21 to day 40, specially, the fourth group (G4) (table 1).

However, comparing the Abs titers between G1, G2, G3, G4 and G5 at (21, 28, 35 and 40) days showed that G4 (M2 strain) had the highest Abs mean among the vaccinated groups in all periods ranging from (5317.4 ± 362.9 to 12985.8 ± 322.2). Whereas, the lowest antibody titre was given by G1 and G2 (2488.2±158.9 to 7833.2±221.1) (2159±102.1 to 6143.2±214.7) respectively, as compared with the control group which did not record any immune response in this period (Table 1). In the second experiment at 21 days there were no significant difference (P<0.05) between all groups. While at (28, 35 and 40) days old, The Abs titers in all groups increased significantly (P<0.05) from 28 to day 40, specially, in the fourth group (G4). However, comparing the Abs titers between G1, G2, G3, G4 and G5 at (28, 35 and 40) days showed that G4 (M2 strain) had the highest Abs mean among the vaccinated groups in all period ranging from (8078.8±290.5 to 22785.8±324.8). Whereas, the lowest antibody titre were given by G1 and G2 (3185.8±88.8 to 10033.2±94.7) (2860.2±134.2 to 9143.2±660.5) respectively, as compared with the control group which did not record any immune response in this period (Table 2).

**Table 1 Antibody titre (ELISA means ± SE) of broiler chicken vaccinated with different IBD isolates at 14 days old.**

Groups	7 days	14 days*	21 days	28 days	35 days	40 days
G1	6912±251.9 A b	3157.2±139.5 A c	2488.2±158.9 C d	3203.6±113.1 C c	6510.4±294.4 D b	7833.2±221.1 D a
G2	7061±213.9 A a	3735.6±180.6 A d	2159±102.1 C f	2851.4±215.8 C e	4913±184.5 C c	6143.2±214.7 C b
G3	7030.2±370.6 A c	3436.4±662.1 A d	3970.6±321.7 B d	6721.4±329.5 B c	9804±217.2 B b	11094.6±294.7 B a
G4	7039.2±365.6 A d	3508.2±268.7 A f	5317.4±362.9 A e	8474.8±326.4 A c	11746.6±232.2 A b	12985.8±322.2 A a
G5	6829.8±319 A a	3368.8±213.2 A b	1044±28.9 D c	357.8±60.3 D d	0±0 E d	0±0 E d

Means having different big letters (in columns) and small letters (in rows) are at significant difference (P<0.05).

**Table 2 Antibody titre (ELISA means  $\pm$  SE) of broiler chicken vaccinated with different IBD isolate at 21 days old.**

Groups	7 days	14 days	21 days*	28 days	35 days	40 days
G1	6211.6 $\pm$ 185.7 A c	2893.2 $\pm$ 107.1 A d	1166 $\pm$ 76.3 A e	3185.8 $\pm$ 88.8 C d	8308.2 $\pm$ 276.1 C b	10033.2 $\pm$ 94.7 C a
G2	6469.2 $\pm$ 173.3 A b	2679.6 $\pm$ 170.6 A c	982 $\pm$ 44 A d	2360.2 $\pm$ 134.2 D c	6167 $\pm$ 353.4 D b	9143.2 $\pm$ 660.5 D a
G3	6133.6 $\pm$ 131.8 A c	2948.8 $\pm$ 186.3 A d	987.6 $\pm$ 74.8 A e	6618.2 $\pm$ 348.7 B c	16494.2 $\pm$ 200.6 B b	19294.6 $\pm$ 322.6 B a
G4	5966.8 $\pm$ 126.1 A d	2942.6 $\pm$ 253.3 A e	999 $\pm$ 78.4 A f	8078.8 $\pm$ 290.5 A c	18901.8 $\pm$ 364.6 A b	22785.8 $\pm$ 324.8 A a
G5	6355.6 $\pm$ 226.8 A a	2899.2 $\pm$ 86.4 A b	1019.2 $\pm$ 41.7 A c	191.8 $\pm$ 14.6 F d	0 $\pm$ 0 E d	0 $\pm$ 0 E d

Means having different big letters (in columns) and small letters (in rows) are at significant difference ( $P < 0.05$ ).

The important question revealed in this study was to the role of maternal anti-IBDV antibodies in protecting the progeny chicks from IBDV infection at earlier ages. For this purpose, a group of broiler breeder hens were selected with a known history of hyper immunization against IBD vaccine. The first experiment was conducted to estimate the role of anti-IBDV antibodies in the progeny chicks from this breeder flock, this level were last to 7 days of age and then declined subsequently. By the day 28 of age, the antibody levels in the experimental chicks were almost equal to the negative control chicks and by day 35, the antibody levels had completely declined. Ahmed and Akhter, [14], confirm that the reasons for such declines may with several folds were the proteolytic degradation of antibodies or neutralization due to naturally occurring/persisting IBDV perhaps would be the foremost reason. These results agree with Kenzevic *et al.*, who mentioned that the progeny antibodies persisted up to 6 weeks of age [15]; Rosales *et al.*, reported an IBDV infection at 15th day of age in the presence of maternal antibodies [16]. Lasher and Shane, clarify that there is a high maternal derived antibody (MDA) which means that parents (chicks) either were previously vaccinated by oily vaccine or were infected [17]. This gives chicks' good protection from early challenge caused by classical serotype which belongs to the first type I. The IgM-bearing B lymphocytes were the probable target cells of IBDV. This was subsequently verified in a study on normal lymphocytes of chickens which are responsible for the development of the humoral antibody response [18].

In the late stage of development of the reproductive tract of the hens, some of the lymphocytes localize in the lamina propria of the oviduct and in the stroma of the ovary. Antibodies produced locally in these organs usually constitute an insignificant proportion of the transferred antibody to the eggs compared with the circulating antibodies in the blood [19].

The increase in immune response against IBD post vaccination at 14 days is lower than the immune response after post vaccination at 21 days, this is may be due to the neutralization with Mabs at 14 days compared to 21 days post vaccination these results agree with Baxendale whom confirmed that early vaccination with IBD induced lower antibodies

production due to Mabs neutralization in comparison with vaccination at 18-21 days [20]. Vaccination at declined the Mabs induction high immune response and stimulated more memory cell. The most effective vaccines for chickens, with maternal antibodies are live vaccines [21,22]. The live virus replication stimulates the immunogenic response more than killed viruses and antibody titers will be higher, virulent IBD vaccine induced significantly higher antibody levels than the vaccine with intermediate strain vaccines (E- 228 and BUR-706) similar findings have been reported by Jackwood *et al.*, [23]. Although, all vaccines in this study contained live virus strains, but IBD isolates, being virulent type, are considered to be more invasive, replicative and immunogenic than E-228 and IBDL. Consequently, these provided strong antigenic stimulus to the birds resulting in corresponding higher antibody titers. These findings are in line with that of Giambrone and Clay [24] and Gregorio [25] who agree with my results. On the other hand, vaccines containing more virulent (hot) strains usually end up in irreversible damages [23].

This means the vaccinated groups at 14 and 21 days by different vaccines produced an initial immune response during the initial vaccination, and then stimulate the secondary immune response during the second and third vaccination because of the memory cells that are important for the secondary immune response [26,27], as the memory cells had been created depending on Follicular Dendritic Cells (FDC) existing in bursa of fabricia (BF) which works on hunting the antibodies as immune complex shape and then return this immune complex on the surface of these cells for a long time. This immune complex plays the decisive role in developing the memory cells type B [28].

The results of present study explained presence significant difference at level ( $P < 0.05$ ) between vaccinated (G1, G2, G3 and G4) groups and unvaccinated (G5) groups regarding to the number of RNA copies in samples collected from bursa of samples for each at (2 and 4) days post vaccination, The post vaccinal (PV) viral load at 2 and 4 days (table 3) showed high significant difference ( $P < 0.05$ ) between the 5 groups at 2 days, G4 showed the highest viral load (1245.4 $\pm$ 39.1) while the lowest

replication was recorded in G1 and G2 (652.4±26.9), (473.2±26.2) respectively and G5 had undetected viral load value. At 4 days PV, the same trends were recorded in all vaccinated 4 groups with significantly higher ( $P<0.05$ ) viral load in compare within control group and between the 4 groups. However, G4 (M2 strain) level in the first place followed by G3 (M1 strain), G1 (IBDL strain) and G2 (E228 strain) respectively table 3.

**Table 3 Distribution of viral load (RT-PCR, means ± SE) of the bursal broiler chickens vaccinated with different IBD vaccine at 14 days of age.**

Groups	Post vaccination at 14 day old	
	2 days	4 days
G1	652.4±26.9 C	824±38.9 C
G2	473.2±26.2 D	684±39.3 D
G3	1079.4±48.1 B	1577.6±37.7 B
G4	1245.4±39.1 A	1925.2±45 A
G5	0±0 E	0±0 E
LSD	95.46	106.29

Number of samples=5. The different capital letters refer to significant differences between different columns ( $P<0.05$ )

The results of the viral load in bursal tissue post vaccination at 21 days old are summarized in (Table 4). The (PV) viral load at 2 and 4 days showed high significant difference ( $P<0.05$ ) between the five groups at 2 days, G4 showed the highest viral load (1925.4±71.9 high replication) while the lowest replication were recorded in G1 and G2 (802.2±32.9), (604.2±40.4) respectively and G5 had undetected viral load value.

At 4 days PV the same trends were recorded in the 4 groups with significantly higher ( $P<0.05$ ) viral load within control group (G5) and between the 4 vaccinal groups. However, G4 (M2 strain) rank in the first place (2358.8±41.6) followed by G3 (M1 strain), G1 (IBDL strain) and G2 (E228 strain) respectively table4.

**Table 4 Distribution of viral load (RT-PCR, means ± SE) of the bursal broiler chickens vaccinated with different IBD vaccine at 21 days of age.**

Groups	Post vaccination at 21 day old	
	2 days	4 days
G1	802.2±32.9 C	1056.2±28.1 C
G2	604.2±40.4 D	815±25 D
G3	1499.4±35.8 B	1959.6±32 B
G4	1925.4±71.9 A	2358.8±41.6 A
G5	0±0 E	0±0 E
LSD	126.11	85.03

Number of samples=5. The different capital letters refer to significant differences between different columns ( $P<0.05$ )

The results of viral load in two experiments explained the replication of the virulent and vaccinal strains of the IBDV in bursal tissues. To our knowledge, this is the first report characterizing Iraqi field isolate M1 and M2 2013, previously classified in a VP2 variant genotype. The results of this study were surprising because of the marked hot strains exhibited in Iraqi IBDV variant isolate. After vaccination with these

isolate, birds in the vaccinated group developed classical signs to IBDV infection in the same intensity as the other vaccinal strain groups and non vaccinated group. The same relationship was seen in necropsy examinations of these birds. Thus, other hypothesis for the low vaccine protection elicited by the IBDL and E228 attenuated strain to the bursal tissues in this study, could be related to the fact that Iraqi isolate M2 2013 has relevant differences in its amino acid sequence of VP2 glycoprotein with regard to vaccinal strains. Therefore, the degree of cross-protection tends to decrease as decreasing the extent of the identity of the amino acid sequences of VP2 glycoprotein from two different strains of IBDV [29]. The increment RNA copies number at 2 and 4 day in both experiments return to replication the vaccinal and isolates virus in bursal tissue especially vaccination at 21 in the second experiment, these finding agreed with Lin *et al.*, [30], whom reported that preferentially replicates of IBDV in IgM B cells, which enter after binding to cellular receptors, some of which have been identified, and induces host cell apoptosis, with both VP2 and VP5 playing a role in both binding and apoptosis, VP2 forms a subviral particle, which binds to heat shock protein 90 (HSP90). Other host molecules, including p53 binding protein (TP53BP1), stathmin (STMN1), and chondroitin sulfate, are also targets for VP2 [31]. Also agreement with Delgui *et al.*, [32]. Who found increase in IBDV viral copy 2 day in bursal collected sample after vaccination at 21 day old chicks and reach the peak at 4 days after vaccination.

The results of protection levels induced by different IBD vaccines and isolates in chickens reared under commercial condition are summarized in Table 1. In first experiment did not record any morbidity and mortality. The results of protection level in second experiment are summarized in table 2 revealed that G4 (M2 strain) and G3 (M1 strain) have the highest ( $P<0.05$ ) morbidity rate than G1 (IBDL strain), G2 (E228 strain) and the control group (G5) that did not recorded any clinical signs. Comparing the mortality rate between the 5 groups revealed that G4 had significantly ( $P<0.05$ ) higher rate (26%) compared with G3 (12%), but did not recorded any bird death in other groups (table 5).

**Table 5 Total morbidity and mortality of broiler chickens vaccinated with different IBD vaccine at 21 days of age**

Groups	Morbidity %	Mortality %
G1	0 C	0 C
G2	0 C	0 C
G3	22 (44) B	6 (12) B
G4	34 (68) A	13 (26) A
G5	0 C	0 C

Number of chicks groups= 50

( ) = Number of chicks showing clinical sig or death

The results of present study revealed no morbidity and mortality that explained the role of high level of

Mabs to neutralized the IBDV vaccinal and isolates post vaccination at 14 days old chicks these finding agree with Rautenschlein *et al.*, [33], The reason for that is probably due to neutralization of the live vaccine by the maternally derived antibody till 17th day of age. The level of maternally-derived antibodies decreased with the progress of age, which was insufficient to neutralize the vaccine. The mortality after challenge at the 1st day (4%) and 17 th day (20%) of age suggested that too early vaccination with this vaccine reduced the protective effect of maternal antibodies significantly. Kouwenhoven and van den Bos, [34]; Aricibasi *et al.*, [35], whom reported that maternally derived antibody (MDA)

#### Reference

1. Banda, A. Villegas, P. and El-Attrache, J. (2003). Molecular characterization of infectious bursal disease virus from commercial poultry in the United States and Latin America. *Avian Dis.*, 47:87-95,
2. Ziernberg, K., H. Nieper, T. P. Van Den Berg, C. D. Ezeokoli, M. Voss, H. Muller (2000). The VP2 variable region of African and German isolates of infectious bursal disease virus: comparison with very virulent, "classical" virulent, and attenuated tissue culture-adapted strains. *Arch. Virol.* 145, 113-125.
3. Müller, H.; Islam M. R. and Raue, R. (2003). Research on infectious bursal disease: the past, the present and the future. *Vet Microbiol.*, 97: 153-165.
4. Abdel-Alim, G.A. *et al.* (2003). Characterization of Egyptian field strains of infectious bursal disease virus. *Avian Diseases*, v.47, p.1452-1457,.
5. Hassan, S.M. (1998). Pathology and immunology of some infectious bursal disease virus isolates from vaccinated chicken flocks in Iraq. PhD dissertation. College of veterinary medicine. University of Mosul. Mosul, Iraq..
6. Metwally, M.A.; Sabry, M.Z.; Samy, A.M.; Omar, M.M.; Yousif A.A. and Reda, I.M. (2003). Direct detection of variant infectious bursal disease virus in vaccinated Egyptian broiler flocks using antigen-capture ELISA. *Vet. Med. J. Giza*, 51: 105-119.
7. Tiwari, A.K.; Kataria, R.S.; Indervesh,; Prasad, N. and Gupta, R. (2003). Differentiation of infectious bursal disease viruses by restriction enzyme analysis of RT-PCR amplified VP1 gene sequence. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 26: 47-53.
8. Allan, W.H.J.E. Lancaster and B.T oth (1978). Newcastle disease vaccines their production and use .FAO Animal Production and Health series No.10.FAO,Rome,Italy.
9. Barman, N.N.; Roychoudhury, P. and Dutta, T.C. (2003). Double antibody sandwich ELISA for detection of infectious bursal disease virus. *Indian Vet. J.* 80: 1209-1211.
10. Eterradosi, N. and Y. M. Saif. (2008). Infectious Bursal Disease. In Y. M. Saif, A. M. Fadly, J. R. Glisson, L. R. McDougald, L. K. Nolan, and D. E. Swayne (eds.). *Diseases of Poultry*, 12th ed. Blackwell Publishing Professional: Ames, IA, 185-208.
11. Kataria, R.S., A.K. Tiwari, S.K. Bandyopadhyay, J.M. Kataria and G. Butchaiah, (1998). Detection of infectious bursal disease virus of poultry in clinical samples by RT-PCR. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 45: 315-322
12. SAS. (2012). Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
13. Duncan, D. B.(1955). Multiple Rang and Multiple F-test. *Biometrics.* 11: 4-42.
14. Ahmed, Z. and S. Akhter,(2003). Role of maternal antibodies in protection against infectious bursal disease in commercial broilers. *Int. J. Poult. Sci.*, 2: 251-255.
15. Knezevic N, Sekler M, Velijovic IJ, Kozlina B, Rodic J. (1987). First experiences with poulvac R bursine-2 vaccine against Gumboro disease. In: Proceeding of the 8<sup>o</sup> Yugoslav Symposium on Poultry Production;; Sokobanja. Yugoslavia.
16. Rosales, A. G., Villegas, P. Lukert, P. D. Brown J. and Fletcher, O. J. (1989). Immunosuppressive potential and pathogenesis of a recent isolate of IBDV in commercial broiler chickens. *Av. Dis.*, 33: 724-728.
17. Lasher HN and Shane SM (1994). Infectious bursal disease. *World's Poultry Science Journal* 50:133-166.
18. D. J. Jackwood, "Viral Competition and Maternal Immunity Influence the Clinical Disease Caused by Very Virulent Infectious Bursal Disease Virus," *Avian Dis.* 55, 398-406 (2011).
19. Sharma JM. Immunity and Immunosuppressive Diseases of Poultry, (2003). Convention notes American Assocaition of Veterinary Medicine/World Veterinary Poultry Association
20. Baxendale, W. (2002). Birnaviridae. In: Jordan, F., Pattison, M., Alexander, D., and Faragher, T. (edn). *Poultry Diseases*, 5th Edition, W.B. Saunders. London, pp. 320-324
21. Boudaoud, A. and Alloui, N. (2008). Evaluation of the safety of live attenuated vaccine viruses against infectious bursal disease (Gumboro disease) in

- conventional broiler chicks. *Revue scientifique et technique*, 27: 793-802.
22. Samanta, A.; Niyogi, D.; Ganguly, S.; Singh, Y. D. and Pal. F. (S.2011). Study on Immunosuppressive effect of vaccination against infectious bursal disease. *Indian Journal of Veterinary Pathology*, 35: 227- 229.
23. Jackwood, DJ, Sommer-Wagner SE, Stoute ST, Woolcock PR, Crossley BM, Hietala SK, Charlton BR. Characteristics of a very virulent infectious bursal disease virus from California. *Avian Diseases*. 53 (4): 592-600. 2009.
24. Giambone, J. J. and R. P. Clay. (1985). Evaluation of the immunogenicity, stability, pathogenicity and immunodepressive potential of four commercial live IBDV. *Poultry Science*, 65: 1287-1290.
25. Gregorio, R. (1994). Control program and assessment of immunity in broilers and broiler breeders. *World Poultry Magazine*, pp: 21-23.
26. Palya, V. (1991). Preparation and control of Gumboro disease Vaccine. In: Manual for the production of Merk's disease, Gumboro, disease and inactivation Newcastle disease vaccines. FAO. Animal production and Health Paper89, Food and Agriculture Organization, Rome, PP. 47-62.
27. Rateliffe, M. J. H.; Paramithiotis, E.; Coumidids, A.; Sayegh, C.; Demaries, S.; Martinez, O. And Jackson, K. A. (1996). The Bursa of fabricius and its role in avian. B. Lymphocyte Development. In: *Poultry Immunology*. Eds. By Davison, T. F.; Morris, T. R. And Payne, L. N. 1st. Ed.; Oxford, U. K. PP. 11-30.
28. Daral J. Jackwood, Beate M. Crossley, Simone T. Stoute, Susan Sommer-Wagner, and Bruce R. Charlton. Diversity of Genome segment B from Infectious Bursal Disease Viruses in the United States. *Avian diseases*. 56(1) 165-172. 2012.
29. Van leerdam, A. A., and E. Van dam. (2012). Alteration of amino acids in VP2 of very virulent IBDV results in tissue culture adaptation and attenuation in chickens. *Journal of General Virology* 83:121-129.
30. Lin, T. W.; Lo, C. W.; Lai, S. Y.; Fan, R. J.; Lo, C. J.; Chou, Y. M.; Thiruvengadam, R.; Wang, A. H. and Wang, M. Y. (2007). Chicken heat shock protein 90 is a component of the putative cellular receptor complex of infectious bursal disease virus. *J Virol* 81, 8730-8741.
31. Gao, Y. L.; Liu, W.; Gao, H. L.; Qi, X. L.; Lin, H.; Wang, X. and Shen, R. (2011). Effective inhibition of infectious bursal disease virus replication in vitro by DNA vector-based RNA interference. *Antiviral Res* 79, 87-93.
32. Delgui, L.; On˜ a, A.; Gutie´rrez, S.; Luque, D.; Navarro, A.; Casto, J. R. and Rodrigue˜z, J. F. (2008). The capsid protein of infectious bursal disease virus contains a functional  $\alpha 4\beta 1$  integrin ligand motif. *Virology* 386, 360-372.
33. Rautenschlein, S.; Kraemer, C.; Montiel, E.; Vanmarcke, J. and Haase, C. (2007). Bilateral effects of vaccination against infectious bursal disease and Newcastle in specific pathogen-free layers and commercial broiler chickens. *Avian Dis.*, 51(1):14-20.
34. Kouwenhoven, B. and van den Bos, J. (1994). Control of very virulent infectious bursal disease (Gumboro Disease) in the Netherlands with more virulent vaccines. Proceedings of the International symposium on infectious bursal disease and chicken infectious anaemia. Rauischholzhausen, Germany; pp 262-271.
35. Aricibasi, M.; Jung, A.; Dan Heller, E. and Rautenschlein, S., (2010). Differences in genetic background influence the induction of innate and acquired immune responses in chickens depending on the virulence of the infecting infectious bursal disease virus (IBDV) strain. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 135, 79-92.
36. Gao L, Qi X, Li K, Gao H, Gao Y, Qin L, Wang Y, Wang X. (2011). Development of a tailored vaccine against challenge with very virulent infectious bursal disease virus of chickens using reverse genetics. *Vaccine*. ;29:5550-5557.
37. Dr J J (Sjaak) de Wit and William Baxendale. (2004). The infectious bursal disease. Website [www.gumboro.com](http://www.gumboro.com). © Intervet 2004.

## تقييم لعزلتين محليتين لفايروس التهاب جريب فابريشيا المعدي بالمقارنة مع عتر اللقاحات التجارية في فروج اللحم

صلاح مهدي حسن ، محمد خورشيد شكور البياتي

قسم علم الأمراض وأمراض الدواجن ، كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد ، العراق

[Sm.salah.40@gmail.com](mailto:Sm.salah.40@gmail.com)

[dr.mohamad.khorshed@yahoo.com](mailto:dr.mohamad.khorshed@yahoo.com)

### الملخص

أجريت الدراسة الحالية لتقييم أفضل برنامج لقاحي باستخدام السلالات القاحية التجارية (IBDL و E228) وعزلتين محليتين من خلال تجربتين (التجربة الأولى استخدام اللقاح بعمر 14 يوم والتجربة الثانية بعمر 21 يوم). 500 فرخة من الدجاج اللاحم (روس-308) من مفسس الاثوار/ محافظة تكريت قُسمت عشوائيا الى خمس مجموعات لكل من التجريتين ويواقع 50 فرخة لكل مجموعة وعوملت على النحو التالي: المجموعة 1: لقحت باللقاح التهاب جراب فابريشيا المعدية من سلالة (Ceva- IBDL Hungary strain EID<sub>50</sub> 10<sup>2.2</sup>) في ماء الشرب. المجموعة 2: لقحت بلقاح التهاب جراب فابريشيا المعدية من سلالة (intervet E228IBD strain EID<sub>50</sub> 10<sup>2.2</sup>) في ماء الشرب. اما المجموعة 3: فقد لقحت بلقاح التهاب جراب فابريشيا المعدية من العزلة المحلية (CH IBD 2013 M1 Baghdad EID<sub>50</sub> 10<sup>7.3</sup>) في ماء الشرب. المجموعة 4: لقحت باللقاح التهاب جراب فابريشيا المعدية من العزلة المحلية (IBD (CH IBD 2013 M2 Tikrit EID<sub>50</sub> 10<sup>5.4</sup>) في ماء الشرب. المجموعة الخامسة: اعتبرت مجموعة سيطرة.

للتجريتين (الأولى والثانية) اخذت عينات الدم من الوريد الوداجي بالاعمار 7، 14، 21، 28، 35 و 40 يوما لتحديد معيار الاجسام المضادة ضد IBDV، تم أخذ عينات الأنسجة أيضا من جراب فابريشيا لتحديد كمية الفايروس في النسيج بواسطة RT-PCR (الحمل الفيروسي) في الايام 2 و 4 أيام بعد التلقيح.

نتائج التجريتين اعلاه كشفت أن المجموعة الثالثة أظهر اختلافا معنوية عاليا جدا ( $P < 0.05$ ) في الوقاية ضد مرض التهاب فابريشيا المعدي (IBD) (CH IBD 2013 M1 Baghdad EID<sub>50</sub> 10<sup>7.3</sup>) مقارنة مع المجموعات الأخرى. نتائج الاليزا اظهرت زيادة معنوية ( $P < 0.05$ ) في معيار الاجسام المناعية المضادة ضد IBDV خصوصا في التجربة الثانية عند التلقيح في يوم 21 التي ترافقت مع انخفاض المناعة الامية. من ناحية أخرى، نسخ الحامض النووي RNA من IBDV في انسجة جراب فابريشيا والذي حدد بواسطة PCR (RT- qPCR) أظهر زيادة في الحمل الفيروسي في التجربة الثانية بالمقارنة مع المجموعة الاولى التي اظهرت انخفاض نسخ RNA بسبب تعادلها مع المناعة الامية.

## Effect of three general anesthetic protocols on hematological parameters in goats

Raffal A. Omar , Omar Khalid Aziz , Abeer Ahmed Majeed

Veterinary Medicine College , Baghdad University , Baghdad , Iraq

raffal\_omar@yahoo.com

### Abstract

**Objective:** To evaluate the effect of three (3) regimens of general anesthesia in local breed goats on hematological parameters . to investigate the best protocol of them.

**Animals** Eighteen healthy adult goats weighing (27. 50 ± 0.682kg), aged (1.989 ± 0.135 years).

**Study design and Methods** Goats were divided randomly into three equal groups each group include six goats undergo pre-experiment preparation. All the groups premedicated with (0.5 mg/ kg) Diazepam intravenously (IV), ten minutes later the induction for first group was done by (3 mg /kg B.Wt) Propofol intravenously, the induction of the second group was done by (2 mg/kg B.Wt) Ketamine Hcl intravenously, while the induction agent of the third group was done by (3mg/kg B.Wt) Thiopental sodium intravenously. After intubation with suitable endotracheal tube, maintenance of the three groups was done by (1.3 - 1.5) % isoflurane and nitrous oxide: Oxygen at dose 2:1 ratio. All the three groups undergoing the measurement of the following parameters Changes in blood picture (RBCs, WBCs, Hb and PCV) and blood glucose level; The complete randomized design (CRD) within SAS program were used for statistical analysis as relevant with a significance level set at  $p < 0.05$ .

**Results:** the results of this study showed that the All the three has no effect on R.BCs counts and PCV, MCH and MCHC while D-PIN cause decrease in W.B.Cs counts in comparison with the other two groups. Both D-PIN and D-TIN groups caused obvious decrease in Hb level in comparison with KIN group.

**Conclusions:** All the three protocols were safe and caused no hazard effect on the animals.

### Introduction:

Anesthetics are among the most potent and rapidly acting drugs in common clinical use, and one of the greatest advances of medicine allowing complicated surgeries to be performed safely [1]. In veterinary practice, intravenous anaesthetic drugs are commonly used as induction agents to facilitate endotracheal intubation, whilst inhalation anaesthetic agents form the foundation for maintenance of general anaesthesia [2]. Goats are gaining acceptance as an established model for biomedical research and for surgical training and teaching. They are used in medical, orthopedic, psychological, chemotherapeutic, and physiologic research [3] In addition to that, goats may be a better animal model for inhaled anesthetic pharmacokinetics in people [4].

Generally, goats can be particularly sensitive to stress and pain, therefore, it is important to perform procedures under adequate sedation with adequate analgesia [5]. Sheep and goats are the poor relations where general anesthesia is concerned. However, equipment used for small animals is suitable for these species and, with attention to the special requirements of ruminants, sheep and goats can be anaesthetized successfully [6].

**Aims of the study** To evaluate the effect of three (3) regimens of general anesthesia in local breed goats on hematological parameters . to investigate the best protocol of them.

### Materials and Methods

#### Experimental Animals

This study was carried out using eighteen healthy local breed bucks weighing (27. 50 ± 0.682kg) and aged (1.989 ± 0.135 years). The animals were housed in the animal farm of the College of Veterinary

Medicine, University of Baghdad, and maintained in individual kennels under normal environment including climate, management and feeding. Food and water were withheld (18 - 24) hrs. before each experiment, the animals were shifted to the hall where the experiment was carried out for acclimatization [7]. After premedication and induction, intubation was done by using regular endotracheal tube, which was introduced with the help of stainless steel probe.

#### Experimental design and Protocols

Eighteen local breed bucks were used in this experiment and divided randomly into three groups (six bucks of each) and were treated as following:-

##### Protocol I (D-PIN):

In this group the goats were premedicated with diazepam at dose of (0.5 mg/kg B. Wt.) intravenously then induction with propofol at dose of (3mg/kg B.Wt) intravenously [8-10] and after that maintenance was done by using Isoflurane at dose of 1.3% - 1.5% [5,11] and Nitrous Oxide: Oxygen at dose supplemented with 2:1 ratio of nitrous oxide to oxygen for anesthesia maintenance [12 ; 13].

##### Protocol II (D-KIN):

In this group the goats were premedicated with diazepam at dose of (0.5 mg/kg B.W.) intravenously [14] then induction with ketamine at dose of (2mg/kg B.W) intravenously [15, 6, 16] after that maintenance was done by using Isoflurane at dose of 1.3% - 1.5% [11, 5], and Nitrous Oxide: Oxygen at dose supplemented with 2:1 ratio of nitrous oxide to oxygen for anesthesia maintenance [12; 13].

##### 3.5.3 Protocol III (D-TIN):

In this group, the goats were premedicated with diazepam at dose of (0.5 mg/kg B.Wt.) intravenously

[14] then induction with Thiopental at dose of (3mg/kg B.Wt) intravenously [17] after that maintenance was done by using Isoflurane at dose of 1.3% - 1.5% [11, 5], and Nitrous Oxide : Oxygen at dose supplemented with 2:1 ratio of nitrous oxide to oxygen for anesthesia maintenance [12, 13].

**Hematological Parameters:**

Two milliliters of blood were collected from the jugular vein in which were kept in a glass tube containing Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA) as anticoagulant; these samples were used for hematological examination. Hematological tests were done within two hours after collection. By using Count 60 VET apparatus, most of the blood parameters were analyzed which include: PCV; Hb; R.BCs; W.BCs; MCH and MCHC. While blood sugar level was measured by using Accu-Check.

**Statistical analysis**

The Statistical Analysis System- SAS [18] was used for determination the effect of different factors in study parameters. In this study, least significant difference (LSD) test was used to differentiate the significant differences between means.

**Results and discussion**

The choice of anaesthetic technique and drug must be appropriate to the clinical situation. Sometimes, general anaesthesia is necessary because it offers rapid induction, reliability, controllability and reproducibility [19].

Economic considerations and the limited number of anesthetics and analgesics licensed for use in small ruminants may dictate the use of a technique. Inhalational anesthesia is seldom feasible and economically justified, except when the economic value of the animal is high [20]. However, some procedures, with economic justifications, are better performed under general anesthesia, and with certain precautions, general anesthesia can be carried out safely without complications [21].

**Effect on hematology:**

**Value of packed cell volume (PCV):**

Table (1) illustrated the values of PCV. Results indicated non significant differences among the three groups during all anesthetic periods i.e. showed no significant differences among them at these period lasted from zero time to 60 minutes. There were non significant differences within propofol, ketamine and thiopental groups from the period lasted from zero to 60 minutes.

**Table (1) Shows the effect of the treatments on the PCV (%).**

Time (minutes)	Mean ± SE of PCV(%)			LSD value
	PROPOFOL	KETAMIN	THIOPENTAL	
0	46.17 ± 2.10 Aa	43.33 ± 1.54 Aa	44.00 ± 0.52 Aa	4.628 NS
10	44.33 ± 2.88 Aa	46.33 ± 2.78 Aa	40.67 ± 2.67 Aa	8.382 NS
20	43.83 ± 2.71 Aa	47.17 ± 2.15 Aa	43.00 ± 2.62 Aa	7.557 NS
30	43.83 ± 2.90 Aa	49.00 ± 3.99 Aa	40.83 ± 2.21 Aa	9.413 NS
40	44.83 ± 2.18 Aa	49.67 ± 3.29 Aa	42.67 ± 4.03 Aa	9.821 NS
50	44.67 ± 3.09 Aa	44.83 ± 1.83A a	46.33 ± 1.76 Aa	6.972 NS
60	46.50 ± 2.94 Aa	44.33 ± 1.28 Aa	46.83 ± 2.23 Aa	6.797 NS
LSD value	7.788 NS	7.405 NS	7.153 NS	----

\* (P<0.05).

NS=No significance. Different capital letters revealed a significant difference at the level of (P<0.05) among groups. Different small letters revealed a significant difference at the level of (P<0.05) within group.

**Hb value:**

Data fixed in table (2) and denoted a significant decrease in Hb concentration starting from zero to 30 minutes. The highest value (10.76±0.85 g/dl) recorded in ketamine group at 10 minutes post-

injection. While the lowest value (7.48±0.29 g/dl) was recorded in thiopental group at 50 minutes although it was not significant when comparing with other groups.

**Table (2) Shows the effect of the treatments on the Hb (g/dl).**

Time (minutes)	Mean ± SE of Hb (g/dl)			LSD value
	Group I D-PIN	Group II D-KIN	Group III D-TIN	
0	9.12 ± 0.38 B a	9.60 ± 0.18 ABa	10.35 ± 0.36 Aa	0.976 *
10	8.32 ± 0.68 B a	10.76 ± 0.85 Aa	9.06 ± 0.70 ABab	2.262 *
20	8.48 ± 0.66 B a	10.48 ± 0.64 A a	7.73 ± 0.47 Bc	1.807 *
30	8.20 ± 0.47 B a	10.02 ± 0.52 A a	7.35 ± 0.52 Bbc	1.519 *
40	9.05 ± 1.26 A a	10.35 ± 0.27 Aa	7.88 ± 0.59Abc	2.472 NS
50	9.95 ± 1.96 A a	9.95 ± 0.51 Aa	7.48 ± 0.29 Ac	3.570 NS
60	8.85 ± 1.13 A a	10.30 ± 0.61 A a	8.15 ± 0.41Abc	2.346 NS
LSD value	3.071 NS	1.590 NS	1.426 *	----

\* (P<0.05).

NS=No significance. Different capital letters revealed a significant difference at the level of (P<0.05) among groups. Different small letters revealed a significant difference at the level of (P<0.05) within group.

At 10 minute ketamine group recorded a significant ( $p < 0.05$ ) increase in comparison with propofol ( $10.76 \pm 0.85; 8.32 \pm 0.68$  g/dl). While this increase was not significant difference with thiopental group ( $9.06 \pm 0.70$  g/dl). At 20 and 30 minutes ketamine was increase significant in comparison with other 2 groups ( $10.48 \pm 0.64; 10.02 \pm 0.52$  g/dl). While doth propofol and thiopental groups were not significantly increased from 40 minutes period lasted for 60 minutes and there were non-significant difference among the three groups. There were non-significant differences within propofol, ketamine groups from the period lasted from zero to 60 minutes. While the Hb concentration of thiopental group decreased significantly ( $p < 0.05$ ) at 20 minutes ( $7.73 \pm 0.47$ g/dl) in comparison with zero and 10 minutes ( $10.35 \pm 0.36; 9.06 \pm 0.70$  g/dl) periods but this concentration was non-significant at 30 to 60 minutes .

The hemoglobin from a defunct red cell is also broken down. the (protein) globin fraction is lysed into its component amino acids which join the general body amino acid pool, either being restructured into new proteins as needed , or being deaminated with the amino residue excreted as urea and the carbohydrate residue entering the fuel metabolism pathways. The haem fraction loses its iron atom, which is not excreted but is recycled into a new

hemoglobin molecule. The remaining part of the haem complex becomes bilirubin [22].

**RBCs counts:**

All groups showed non significant differences in RBCs counts from 10 minutes till 60 minutes. But at zero time there was a significant ( $p < 0.05$ ) decrease with propofol only ( $0.786 \pm 0.10; 1.28 \pm 0.09; 1.49 \pm 0.09$  minute). There were non significant differences within propofol, and ketamin groups from the period lasted from zero to 60 minutes. while thiopental group showed a significant ( $p < 0.05$ ) decrease in RBCs counts at the period lasted from 10 to 60 minutes ( $0.823 \pm 0.10$ ) in comparison with zero time ( $1.49 \pm 0.09$ ), as shown in table (3).

Normally, production and destruction of red cells are kept in balance. The hormone responsible for the regulation of the rate of erythropoiesis is a glycoprotein, called erythropoietin (EP). The fundamental stimulus to EP production is tissue hypoxia, and so the concentration in plasma is related to the ratio of oxygen supply to oxygen demand. Erythropoietin affects red cell production in four ways which include: (a) More stem cells differentiate to red cell precursors,(b) Stages of red cell development are speeded up; (c) Transit time out of bone marrow is reduced and (d) immature red cells are released [22].

**Table (3) Shows the effect of the treatments on the RBC count ( $10^{12}/L$ ).**

Time (minutes)	Mean $\pm$ SE of RBC count ( $10^{12}/L$ )			LSD value
	Group I D-PIN	Group II D-KIN	Group III D-TIN	
0	$0.786 \pm 0.10$ Ba	$1.28 \pm 0.09$ Aa	$1.49 \pm 0.09$ Aa	0.297 *
10	$0.635 \pm 0.14$ Aa	$1.003 \pm 0.27$ Aa	$0.963 \pm 0.17$ Ab	0.616 NS
20	$0.708 \pm 0.15$ Aa	$1.11 \pm 0.22$ Aa	$0.825 \pm 0.15$ Ab	0.540 NS
30	$0.775 \pm 0.19$ Aa	$1.06 \pm 0.21$ Aa	$0.765 \pm 0.12$ Ab	0.535 NS
40	$0.800 \pm 0.16$ Aa	$1.07 \pm 0.17$ Aa	$0.825 \pm 0.13$ Ab	0.484 NS
50	$1.025 \pm 0.26$ Aa	$0.982 \pm 0.16$ Aa	$0.823 \pm 0.09$ Ab	0.570 NS
60	$20.11 \pm 3.96$ Aa	$1.07 \pm 0.19$ Aa	$0.823 \pm 0.10$ Ab	0.448 NS
LSD value	0.499 NS	0.564 NS	0.368 *	---

\* ( $P < 0.05$ ).

NS=No significance. Different capital letters revealed a significant difference at the level of ( $P < 0.05$ ) among groups. Different small letters revealed a significant difference at the level of ( $P < 0.05$ ) within group.

**MCH**

No significant differences were appeared within each

group or among the three groups as shown in (table 4).

**Table (4) Shows the effect of the treatments on the MCH value**

Time (minutes)	Mean $\pm$ SE of MCH			LSD value
	Group I D-PIN	Group II D-KIN	Group III D-TIN	
0	$125.4 \pm 13.8$ Aa	$121.3 \pm 21.0$ Aa	$98.9 \pm 11.6$ Aa	48.082 <sup>NS</sup>
10	$136.8 \pm 26.2$ Aa	$119.8 \pm 30.1$ Aa	$95.2 \pm 10.2$ Aa	71.707 <sup>NS</sup>
20	$139.1 \pm 26.9$ Aa	$122.3 \pm 28.8$ Aa	$109.7 \pm 18.6$ Aa	75.815 <sup>NS</sup>
30	$142.8 \pm 28.8$ Aa	$116.7 \pm 25.8$ Aa	$109.3 \pm 18.3$ Aa	74.452 <sup>NS</sup>
40	$135.9 \pm 26.3$ Aa	$117.5 \pm 22.7$ Aa	$102.4 \pm 16.1$ Aa	66.554 <sup>NS</sup>
50	$130.9 \pm 25.5$ Aa	$116.7 \pm 24.2$ Aa	$95.10 \pm 3.86$ Aa	61.539 <sup>NS</sup>
60	$136.6 \pm 23.1$ Aa	$107.2 \pm 18.2$ Aa	$99.6 \pm 14.2$ Aa	56.835 <sup>NS</sup>
LSD	71.184 <sup>NS</sup>	70.936 <sup>NS</sup>	40.483 <sup>NS</sup>	

\* ( $P < 0.05$ ).

NS=No significance. Different capital letters revealed a significant difference at the level of ( $P < 0.05$ ) among groups. Different small letters revealed a significant difference at the level of ( $P < 0.05$ ) within group.

**MCHC**

No significant differences were appeared within each

group or among the three groups as shown in table (5).

**Table (5) Shows the effect of the treatments on the MCHC value**

Time (minutes)	Mean ± SE of MCHC			LSD value
	Group I D-PIN	Group II D-KIN	Group III D-TIN	
0	407.7±54.8Aa	400.6±81.0Aa	416.8±29.1Aa	177.56 <sup>NS</sup>
10	469.3±79.4Aa	388±112Aa	382.6±50.5Aa	254.42 <sup>NS</sup>
20	462.8±83.4Aa	402±101Aa	369.1±53.0Aa	246.08 <sup>NS</sup>
30	485.6±93.8Aa	376.1±90.3Aa	401.1±46.7Aa	240.73 <sup>NS</sup>
40	449.9±76.6Aa	385.7 ±82.8Aa	374.1±48.3Aa	213.6 <sup>NS</sup>
50	430.2±76.1Aa	351.4± 91.5Aa	333.8±21.6Aa	210.5 <sup>NS</sup>
60	468.1±74.3Aa	388.4±89.7Aa	380.1±45.5Aa	217.58 <sup>NS</sup>
LSD	223.02 <sup>NS</sup>	267.46 <sup>NS</sup>	124.88 <sup>NS</sup>	

\* (P<0.05).

NS=No significance. Different capital letters revealed a significant difference at the level of (P<0.05) among groups. Different small letters revealed a significant difference at the level of (P<0.05) within group.

The primary red cell measurement which gives a basic assessment of the size of the (circulating) erythron is the packed cell volume (PCV) or haematocrit .

Morphology of the red cells is mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) values, which are both calculated parameters in veterinary hematology .Young animals tend to have rather smaller red cells than adults. An abnormally high MCHC is not possible as such, there is no such thing as a hyperchromic red cell. When there is an increased demand for red cells (e.g. hemorrhage, oxygen starvation) production is increased firstly by allowing younger forms (reticulocytes, normoblasts) to enter

the circulation, and secondly by allowing the maturation stages to merge and skip so that erythropoiesis speeds up.

**WBCs counts:**

Ketamine recorded significantly (p < 0.05) higher number of WBCs at 20 minutes (20.43±2.63) compared with both the propofol and thiopental (12.00±0.54;13.00±1.82) at the same time minute respectively. On another hand absence of significant differences between propofol and thiopental groups. There were no significance differences among all groups from zero to 20 minute. There were non-significant differences within propofol, ketamine and thiopental groups from zero to 60 minutes . as shown in table (6).

**Table (6) Shows the effect of the treatments on the WBC counts (10<sup>9</sup>/ L)**

Time (minutes)	Mean ± SE of WBC count (10 <sup>9</sup> / L)			LSD value
	Group I D-PIN	Group II D-KIN	Group III D-TIN	
0	14.02 ± 0.89Aa	20.11 ± 3.96 Aa	15.85 ± 2.39Aa	8.215 NS
10	12.02 ± 0.95Aa	17.70 ± 3.76Aa	15.90 ± 3.04Aa	8.586 NS
20	12.00 ± 0.54Ba	20.43 ± 2.63Aa	13.00 ± 1.82Ba	5.656 *
30	12.48 ± 0.75Ba	18.96 ± 1.91Aa	11.53 ± 2.29Ba	5.365 *
40	13.45 ± 2.04Ba	20.02 ± 2.66Aa	11.01 ± 1'.22Ba	6.221 *
50	14.90 ± 1.82ABa	19.20 ± 3.14Aa	10.05 ± 1.25Ba	6.701 *
60	13.35 ± 1.65ABa	19.70 ± 3.33 Aa	12.40 ± 1.67Ba	7.102 *
LSD value	3.889 NS	8.991 NS	5.890 NS	---

\* (P<0.05).

NS=No significance. Different capital letters revealed a significant difference at the level of (P<0.05) among groups. Different small letters revealed a significant difference at the level of (P<0.05) within group.

**4.12 Level of sugar:**

Glucose is the major substrate that sustains normal brain function. When the brain glucose concentration approaches zero, glucose transport across the blood–brain barrier becomes rate limiting for metabolism during, for example, increased metabolic activity and hypoglycemia [23].

Blood sugar was significantly (p < 0.05) the highest in thiopental group at all periods in comparison with the other two group. Its major level (145.76 17.20 mg/dl) was appeared at 20 minutes. There were significant (p < 0.05) differences between thiopental, ketamine and propofol and reached (125.00 12.7;

85.76 6.55; 86.33 3.40 mg/dl) respectively at the end of experiment, and lasted from 10 minutes till 60 minutes (125.00±11.10 mg/dl). While at zero time there was no significant effect in comparison with propofol (76.17±1.19; 72.33±1.14 mg/dl). Although there was non increase in the blood sugar level within PIN and TIN groups but it could be a sign of stress [24]. Ketamine group showed significant (p < 0.05) differences within group at 10 to 20 to 30 minutes in comparison with zero time but such differences were non-significant at period lasted from 40 to 60 minutes in comparison with zero to 10 to 20 and 30 minutes **table( 7).**

**Table (7) shows the effect of the treatments on the level of sugar.**

Time (minutes)	Mean ± SE of Sugar test (mg/dl)			LSD value
	Group I D-PIN	Group II D-KIN	Group III D-TIN	
0	72.33 ± 1.14ABb	71.17 ± 1.78Bb	76.17 ± 1.19 Ab	4.227 *
10	90.83 ± 5.71Ba	99.16 ± 7.40Ba	125.00 ± 11.10 Aa	25.260 *
20	89.67 ± 5.04Ba	97.33 ± 10.3Ba	145.67 ± 17.20Aa	36.052 *
30	89.17 ± 4.31 Ba	94.17 ± 8.80 Ba	135.00 ± 13.55Aa	29.107 *
40	88.50 ± 4.24Ba	90.00 ± 7.64Bab	129.83 ± 13.01Aa	27.274 *
50	86.00 ± 3.41Ba	86.00 ± 6.72Bab	127.00 ± 11.45Aa	23.862 *
60	86.33 ± 3.40Ba	85.67 ± 6.55Bab	125.00 ± 12.07Aa	24.626 *
LSD value	11.849 NS	21.420 *	35.171 NS	----

\*(P<0.05).

NS=No significance. Different capital letters revealed a significant difference at the level of (P<0.05) among groups. Different small letters revealed a significant difference at the level of (P<0.05) within group.

### References

- [1] Erasso, D. M. (2011). Differential Effects of Isoflurane and Propofol Anesthesia on Neurogenesis in Young and Aged Rats. PhD thesis. College of Medicine - University of South Florida.
- [2] Dzikiti, T. B. (2013). Intravenous anaesthesia in goats: A review. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*; 84(1): 1- 8.
- [3] Fulton, L.K., Clarke, M.S. and Farris, H.E., (1994), 'The goat as a model for biomedical research and teaching', Institute for Laboratory Animal Research 36:21–29.
- [4] Soares, J.H.N.; Fukushima, F.B.; Hodges, F.B.J., and Liu, H. (2012). Solubility of Haloether Anesthetics in Human and Animal Blood. *Anesthesiology.* ; 117(1): 48–55.
- [5] Caulkett, N., (2003), 'Anaesthesia of ruminants', *Large Animal Veterinary Rounds* 3(2).
- [6] Tayllor, P.M., (1991), 'Anaesthesia in sheep and goats', In *Practice* 13, 31–36. <http://dx.doi.org/10.1136/inpract.13.1.31>.
- [7] Doherty, T. and Valverde, A.(2006). *Manual of equine anesthesia & analgesia*, Blackwell Publishing Ltd., Pp:130-134.
- [8] Buttle, H., Mowlem A., and Mews, A. (1986) Disbudding and dehorning of goats. In *practice*. JANUARY 1991 *Anaesthesia In sheep and goats In Practice* 8, 63-65.
- [9] Bertens A P M G, Booiij L H D J, Flecknell P A, Lagerweij E (1993) Anaesthesia, analgesia and euthanasia. In van Zutphen L F M, Baumans V, Beynen A C (eds) *Principles of laboratory animal science* (1st edn). Elsevier, Amsterdam: 267–298.
- [10] Hellebrekers, L.J., de Boer, E.J., van Zuylen, M.A., and Vosmeer, H. (1997). A comparison between medetomidine-ketamine and medetomidine-propofol anesthesia in rabbits. *Lab. Anim. (Lond.)* 31: 58–69.
- [11] Papich, M.G.(2011). *Saunders Handbook of Veterinary Drugs (small and large animals)*, 3rd ed. Elsevier; Saunders.USA.Pp.825.
- [12] Flecknell, P. (2005). Clinical experience with NSAIDs in Macaques. *Lab. Primate Newsl.* 44(1), 4.
- [13] Hayama, S.,Terazawa, F., Suzuk, M., et al. (2006). Immobilization with a single dose of ketamine hydrochloride and a combination of xylazine hydrochlorideketamine hydrochloride, and antagonism by yohimbine hydrochloride in the Japanese monkey (*Macaca fuscata*). *Primates* 30(1), 75–79.
- [14] Ghurashi, M.A.H., Seri, H.I., Bakheit, A.H., Ashwag, E.A.M., Abakar, J.A,(2009) Evaluation of Ketamine/diazepam Anaesthesia for Performing Surgery in Desert Goats under Field Condition *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2): 455-459, 2009 ISSN 1991-8178.
- [15] Ewing, K. K. (1990). Anesthesia techniques in sheep and goats. Pp. 759-778 in *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, Volume 6(3), M. Smith, ed. Philadelphia: W. B. Saunders.
- [16] Nigel Caulkett, (2003). *Anesthesia of ruminants*. Western. College of Veterinary Medicine Department of Large Animal Clinical Sciences 52 Campus Drive University of Saskatchewan Saskatoon, Saskatchewan 3(2): 1-5.
- [17] Prassinis, N.N.,Galatos, A.D., and Raptopoulos, D. (2005). A comparison of propofol, thiopental or ketamine as induction agents in goats. *Vet. Anaesth. Analg.* 32: 289–296.
- [18] SAS. 2010. *Statistical Analysis System, User's Guide*. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.
- [19] Erol, D.D., and Kaya, C. (2012).Evaluation of Intubating Dose of Rocuronium and Propofol-Ketamine Association for Rapid Sequence Induction of General Anaesthesia for Caesarean Section in Extremely Urgent Settings. *Gynecol Obstetric.2* (1):1-4.
- [20] Galatos, A. D. (2011). Anesthesia and Analgesia in Sheep and Goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 27(1): 47 - 59.
- [21] Lee, H.T.; Kim, M.; Jan, M., and Emala, C.E. (2006). Anti-inflammatory and antinecrotic effects of the volatile anesthetic sevoflurane in kidney proximal tubule cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*; 291: F67–F78.
- [22] Keer, M. G. (2001). *Veterinary laboratory medicine: Clinical biochemistry and hematology* (Chapter 1), 2nd edition. Blackwell Science Ltd. P (4-10).

[23] Choi, I-Y; Lee, S-P.; Kim, S-G., and Gruetter R. (2001). In Vivo Measurements of Brain Glucose Transport Using the Reversible Michaelis-Menten Model and Simultaneous Measurements of Cerebral Blood Flow Changes During Hypoglycemia. Journal

of Cerebral Blood Flow and Metabolism ; 21: 653-663.

[24] Kumar, V.; Singh, S.; Kumar, A.; Singh, J. and Peshin, P.K. (2011). Evaluation of propofol as an anesthetic in buffalo calves (*Bubalus bubalis*). Haryana Vet. 50:15-18.

## دراسة مقارنة لتأثير ثلاثة بروتوكولات للتخدير العام على الصورة الدموية في الماعز

رفل عبد الدائم عمر ، عمر خالد عزيز ، عبير احمد مجيد

فرع الجراحة والتوليد ، كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد ، بغداد ، العراق

### الملخص

**الهدف:** لغرض تقييم تأثير ثلاثة (3) برامج تخدير عامة على الصورة الدموية في المعز المحلي والتحقق لإيجاد أفضل بروتوكول منهم واكثرهم امانا.

**حيوانات التجربة:** ثمانية عشر معز محلي بوزن  $(0.682 \pm 27.50)$  كغم وبمعر  $(0.135 \pm 1.989)$  سنة تم استخدامها في هذه التجربة. **تصميم التجربة والطرق المتبعة:** قسمت المعز عشوائيا الى ثلاثة مجاميع متساوية ضمت كل مجموعة ستة حيوانات خضعت جميعها للتحضيرات المسبقة ما قبل اجراء التجربة. حقنت جميع حيوانات المجاميع الثلاثة وريديا بالدايزيام بجرعة 0.5 ملغم / كغم كعلاج تمهيدي بعد مرور عشرة دقائق تم الاحداث في المجموعة الأولى باستخدام البروبوفول وجرعة 3 ملغ/ كغم وريديا في حين تم الاحداث في المجموعة الثانية بحقن الكيتامين وريديا وجرعة 2 ملغم/ كغم في حين تم الاحداث في المجموعة الثالثة بحقن الثايوبنتال صوديوم وريديا بجرعة 3 ملغم/ كغم ، وبعد ان تم ادخال أنبوب الرغامي تمت الادامة في المجاميع الثلاثة عن طريق التخدير الاستنشاق باستخدام الايزوفلورين (1.3 - 1.5)% و أوكسيد النايتروجين والاكسجين بنسبة 1:2. اعتمدت المعايير الآتية التغيير في الصورة الدموية (عدد كريات الدم الحمراء، عدد كريات الدم البيضاء، مستوى هيموغلوبين الدم، حجم كريات الدم المرصوفة)، ومستوى سكر الدم، استخدم تصميم التجربة العشوائي الكامل ضمن برنامج التحليل الاحصائي SAS لغرض تحليل نتائج التجربة احصائيا عند مستوى معنوية  $p < 0.05$ .

**النتائج:** لم تظهر المجاميع الثلاثة اختلافات مهمة احصائيا فيما يخص عدد كريات الدم الحمراء وحجم كريات الدم المرصوفة ومعدل الهيموغلوبين الكروي ومعدل تركيز الهيموغلوبين الكروي. في حين اثرت مجموعة البروبوفول على اعداد كريات الدم البيضاء وسببت هبوطا لها مقارنة بالمجموعتين الاخريتين. كلا مجموعتي البروبوفول والثايوبنتال صوديوم سببت هبوطا واضحا وملحوظا في مستوى الهيموغلوبين مقارنة بمجموعة الكيتامين.

**الاستنتاجات واهميتها السريرية:** كانت المجاميع الثلاثة جميعها امنة ولم تسبب أي تأثير مؤذي على الحيوانات.

## Efficacy and histopathological study of bile salts against hydatidosis comparing with antigen B in experimentally infected mice.

Inam Faleh<sup>1</sup>, Layla Hashim<sup>1</sup>, Hawraa M. Murad<sup>2</sup>

<sup>1</sup> college of veterinary medicine, Baghdad University, Baghdad, Iraq

<sup>2</sup> college of veterinary medicine, Al Qassim Green University, Baghdad, Iraq

Email:howraa\_alhussain@yahoo.com

### Abstract

The present study was carried out to investigate some immunopathological effects of bovine bile salts and antigen (AgB) of hydatid cyst fluid on the immune response against hydatid cyst infection in mice. In order to achieve this goal Antigen B of hydatid cyst fluid was prepared from fertile sheep hydatid cyst according to oral method by using the (Ion Exchange Chromatography), thirty white mice of both sexes that aged 4-8weeks were divided randomly into four groups as below:

The 1<sup>st</sup> group of 10 mice were used for oral immunization with 0.3ml that contained 2mg/ml of bile salt with 14 days intervals, The 2<sup>nd</sup> group of 10 mice were immunized subcutaneously(s/c) with Antigen B of hydatid cyst fluid -with 0.3ml AgB that contained 3.1mg/ml of protein concentration by two doses with 14days intervals.

The 3<sup>rd</sup> group of 10 mice was inoculated intraperitoneally with 1ml that contained 2000 protoscolices and served as control positive, 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> groups were challenged intraperitoneally with 2000 protoscolices (psc), then post mortem examination was made after 3months post challenged and specimens of visceral organs were fixed with 10% formalin for the histopathological studies.

Severe histopathological lesions were recorded in the control positive group that characterized by the development of fertile hydatid cyst structure in the liver parenchyma with abscess formation in the liver, spleen and kidney amyloidosis, while the main histopathological findings in the immunized groups revealed multiple and focal MNCs infiltration with lymphoid hyperplasia mainly in the bile salts immunized groups together with granulomatous inflammation reaction that seen mainly in the liver and kidney as well as brain perivascular cuffing. In conclusion the treated animals with oral administration of bile salts induced potential, protective immune response against experimental murine hydatidosis in comparison with E.g AgB that were immunized intragastrically by oral gavage with 0.3 ml (2mg/ml) of bovine bile salts.

**Keyword:** *Echinococcus granulosus*, Bile salts, Mice.

### Introduction

Echinococcosis / hydatidosis a worldwide zoonotic infection, disease that affects humans and livestock, the causative agent of cystic hydatid disease is *Echinococcus granulosus* (CHD)(metacestode stage) [1,2]. Exposure to infection occurs accidentally by rupture of cysts or rupture during surgery of cysts may result in an important medical problem[3]. *Echinococcus granulosus* enhances both humoral and cellular responses in it's intermediate host [4,5]. Humoral responses will result in the production of immunoglobulins, which are important for the diagnosis of patients [6, 7, 8, 9, 10]. However, cellular responses also will take place on the infected host which are important criteria for the prevention of the disease [11, 12]. In particular, Th1 cell activation seems to be more related to protective immunity, while Th2 cell activation is linked to the susceptibility to the disease [13]. Bile acids are conjugated with taurine or glycine in the liver, forming bile salts. Primary bile acids are those synthesized by the liver. Secondary bile acids result from bacterial actions in the colon. The main function of bile acids is to facilitate the formation of micelles, which promotes digestion and absorption of dietary fat [14]. EgAgB was described for first time according (15). Eg Ag B is the main important Ag of HCF that is used for immunodiagnosis of cystic *Echinococcus* and mice immunized s/c with Eg Ag B secrete a high level of (IFN- $\gamma$ ), while high level of

(IL-4) production has been observed in the mice that immunized with crude sheep hydatid fluid (CSHF) or protoscolices homogenate (16).

**Aim of study:** There were very little attempts in veterinary researches in Iraq to use bovine bile salts as a protective trail against experimental cystic hydatidosis in the laboratory so the main aims of this study were to induce protective immunity against experimental secondary hydatidosis by treatment with bile salts compounds and compared by other vaccination approaches.

### Materials and Methods

#### Experimental design:

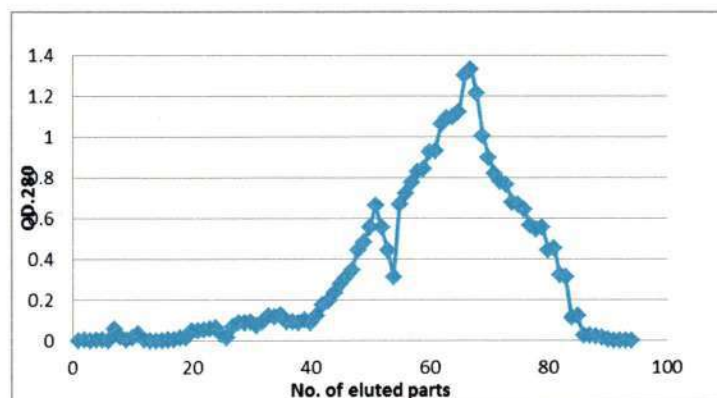
1. The first group (10) mice were immunized orally with (0.3 ml) containing (2mg /ml) of bile salt for two doses with 14 days intervals (first immunization at day 0 and followed by booster immunizations at the second (day 14) ).
2. The second group (10)mice immunized orally with (0.3ml) containing(3.1mg /ml)of bile salte for two doses with 14 days intervals (first immunization at day 0 and followed by booster immunizations at the second (day 14).
3. The third group (10 mice) were inoculated with 0.2 ml of sterile PBS as a control group ,then these 3 groups were infected with hydatid cysts after 2 weeks from adaptation (were injected with (1ml/mouse)challenged dose) containing 2000 protoscolices PCS intraperitoneally.

**Results and discussion:**

**Result of precipitation and purification test of EgAgB by SDS- page electrophoresis**

The result of precipitation of AgB by 50% saturated ammonium sulfate revealed a clear increase in the protein agglutination activity of the precipitated protein, (McVie *et al.*,1997) Which confirmed that the hydatid cyst fluid from sheep cysts contained host proteins including immunoglobulin but these proteins were removed from the fluid during the procedures of

isolation of AgB. The results of the precipitated protein of ion exchange column chromatography revealed the emergence of two peaks were eluted at part 53 was for the first peak and at eluted part 66 was for the second peak figure (1). The agglutination activity was exhibited only in the second peak as effectiveness which has a concentration of protein (3.1mg/ml) and the concentration of sodium chloride that was necessary for protein elution from the ion exchange column chromatography was 1M.

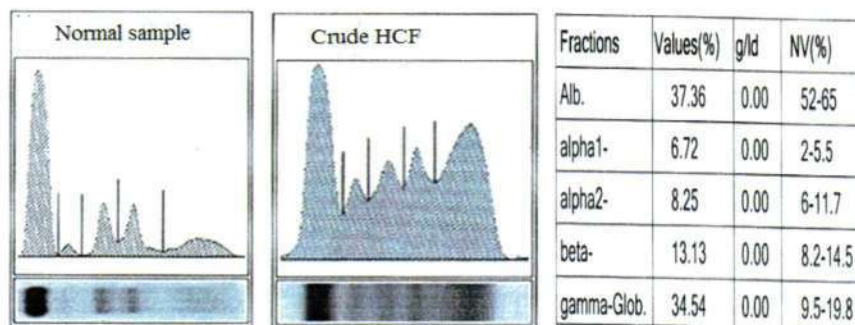


**Figure (1): Ion exchange chromatography by using the column (2x40) cm Fibrinous Cellulose(CF11) for purification of AgB of hydatid cyst fluid and was eluted with phosphate buffer saline (PH 6.8) with salt bridge NaCl 1M+phosphate buffer saline the flow rate (0.5mL /min)at(3mL/tube)**

Many researchers reported that the use of saturated ammonium sulphate for the precipitation was sufficient to precipitate the protein in the crude of the hydatid cyst fluid and this method and considered as the first stage for the protein purification(17) Where protein concentration process that used in the stage of the purification was necessary to get rid of the largest possible protein for the water to get more concentrated protein solutions as well as to achieve a degree of purity by eliminating some resident proteins (18).

Ion exchange chromatography (CM-Cellulose) as a

second stage of AgB purification was used by many researchers where the use of the ionic average such as (2) M phosphate puffer saline including (0.3) M sodium chloride and PH (6.8) was strongly reduced the interference (19). The result of the current study showed that the poly acrylamide gel electrophoresis exhibited the presence several depositional packages of crud hydatid cyst fluid as show in the (figure 3). While the existence of a single depositional package of purified antigen B (AgB) is show in the figure (2) and the molecular weight of purified Antigen B (AgB) was equal to (65) KD.



**Figure (2): Single depositional package of purified antigen B (AgB)**

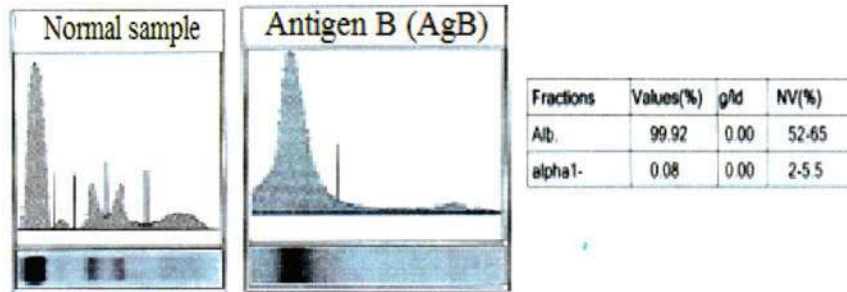


Figure (3): several depositional packages of crude hydatid cyst fluid

The above results were in agreement with (20) who reported that the molecular weight of the purified electrophoresis gave double packages and their molecular weights were (47) and (20)KD, and the result was similar to the findings of (21) who said that electrophoresis poly a acrylamide gel, (%12.5)SDS to estimate the molecular weight of the antigen B(AgB) as it was equal to (67)KD and deposite alone package. In contrast the estimation of molecular weight of antigen B (AgB) was depending on the techniques used and the extent of the purity of the antigen B (AgB) as noted by (22) by using the gel filtration gel sephadax G-200 were the molecular weight of the antigen B (AgB) was (400) KD while (23) found that the molecular weight of antigen B (AgB) was (120)KD using sedimentation equilibrium. It had been demonstrated that AgB was encoded by at least five main gene clusters, EgAgB1-5, and the isoforms of related proteins varied from 44–81% in amino acid sequence. The diverse researches got diverse outcomes by AgB for the diagnosis of CE could be attributed to the differences in nature and quality of prepared antigen (24).

#### Histopathological changes

##### Histopathological changes Immunized group with (2mg/ml) of bile salts

No clear pathological changes were observed in liver parenchyma of this group except showing granulomatous lesion in liver parenchyma consist mainly of mononuclear cells with pigmented laden macrophage (figure4) The main splenic histopathological showing severe dilation and congestion of splenic blood vessels. While the predominant pulmonary lesion was showing perivascular MNCs aggregation with WBC appearance in dilated pulmonary vessels .In addition to evidence of neutrophil presence in lumen of congested pulmonary blood vessels (figure5). Also the result showed MNCs infiltration in intestinal submucosa associated with slight desquamation of epithelial lining intestinal villi. Microscopic pictures of renal tissue showed cellular swelling of tubular epithelial lining with perivascular and periglomerular MNCs infiltration (figure6) also the results showed slight cerebral edema.

##### Histopathological changes of Immunized group with (3.1mg/ml) of AgB

In liver an observed MNCs aggregation mainly in portal area was accompanied with slight vacuolation of hepatic parenchymal tissue (fig:7) while The histological picture of pulmonary tissue showed thickening of interstitial tissue of lung, the presence of eosinophilic edematous substance in the alveolar spaces accompanied with MNCs infiltration mainly seen around blood vessels and in the interstitial tissue(fig:8). The microscopically finding showed moderate to severe perivascular MNCs aggregation in the renal parenchyma accompanied with the observation of neutrophils in the lumen of blood vessels(fig:10). The characteristic intestinal lesion revealed moderate sub epithelial MNCs infiltration that consisted mainly of macrophage and plasma cell together with slight goblet cell hyperplasia(fig:11) in addition to Microscopically appearance of the brain in this group showed clear MNCs perivascular cuffing with slight blood vessel congestion (fig: 50).

##### Non immunized infected animals(control group)

The characteristic microscopical finding in the liver of infected non immunized animal, presence of multiple hydatid cyst with all 3 layers (germinated, laminated and adventia) with appearance of protoscolexes in the lumen of Some cyst(figure10) ,also the result showed sever vacuolar necrotic changes with vacuolation in liver parenchyma associated with aggregation of MNCs result information of granulates like lesion. The pulmonary tissue showed sever distruction in the epithelial lining bronchus and bronchules with focal aggregation of hemosiderin laden macrophage in the pulmonary tissue fig:(11).In addition to the development of granulates like lesion seen in pulmonary tissue.Focal lymphocytic aggregation seen between degenerated renal tubules with evidence of tubular necrosis while other section showed severe vacuolation of renal epithelial lining with sever blood vessel congestion. The predominant splenic lesion characterized by showing lymphoid depletion of white pulp with diffuse amyloid like substances deposition fig.(12).

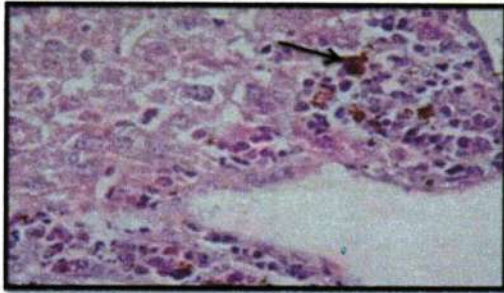


Fig.(4):The liver of immunized group with (2mg/ml)of bovine bile salts showing granulomatous lesion in liver parenchyma consist mainly of MNCs with pigmented laden macrophage → (H&E stain40x).

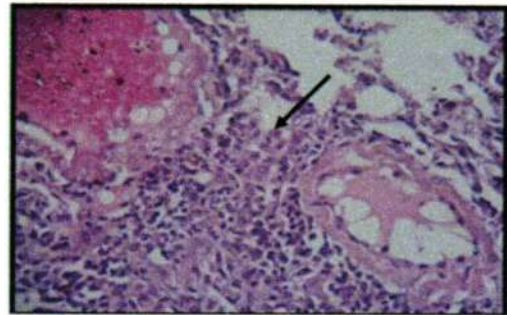


Fig:(8).The lung of immunized group with (3.1mg/ml)of AgB showing focal aggregation of lymphocytes in the interstitial connective tissue → (H&E stain40x).

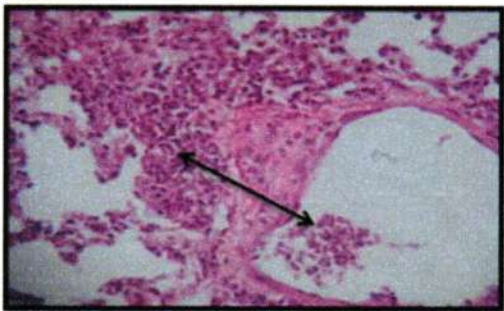


Fig.(5):The lung of immunized group with (2mg/ml)of bovine bile salts showing perivascular MNCs aggregation with WBC appearance in dilated pulmonary vessels ↔ (H&E stain40x).

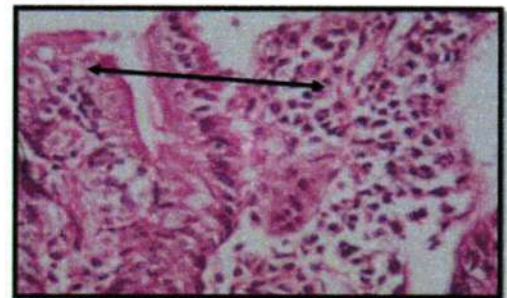


Fig.(9):The intestine of immunized group with (3.1mg/ml)of AgB showing subepithelial MNCs infiltration consist mainly of macrophages and plasma cells together with slight goblet cells hyperplasia ↔ (H&E stain40x)

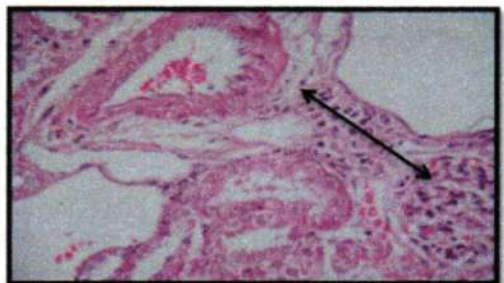
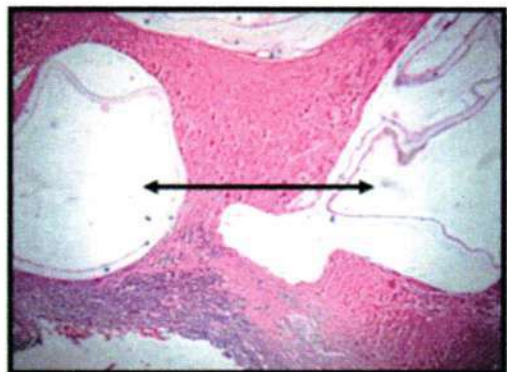


Fig.(6):The kidney of immunized group with (2mg/ml)of bovine bile salts showing perivascular and periglomerular MNCs infiltration. ↔ (H&E stain 40x).



Fig(10).The in liver of non-immunized infected mice at 3month post challenge showing appearance of multiple hydatid cyst in liver parenchyma ↔ (H&E stain10x).

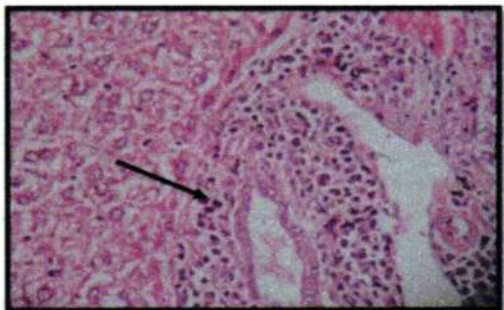


Fig:(7):The liver of immunized group with (3.1mg/ml)of AgB showing perivascular aggregation of lymphocytes → (H&E stain40x).

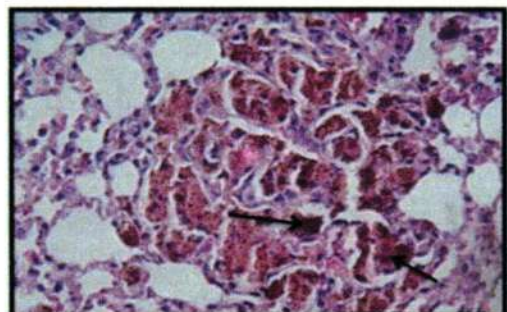
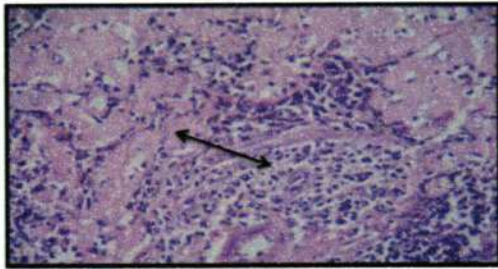


Fig:(11).The lung of non-immunized infected mice showing focal aggregation of hemosiderin laden macrophage → (H&Estain40x)



**Fig:(12): The spleen of non-immunized infected mice at 3months post challenge showing lymphoid depletion of white pulp with diffuse amyloid like substances deposition ↔ (H&E stain40x).**

According to the above histopathological results of this group mainly histopathological findings in the spleen tissue could be related directly to the function of the spleen as a secondary lymphoid organ in which the recognition and presentation of non-self-antigens occurs (25). Also observed that the PSCs were non-specific mitogens that lead to proliferation of T and B lymphocytes, although this effect was not related to the cyst development (26). So the increase in size of the white pulp mainly in immunized animals with (2mg/ml) bile salts was related to an increase in defense cells and cell proliferation. This finding was in agreement with the results of (26) who reported that the white pulp increased in size when the concentration of bile increase in the serum. On the other hand the increase in the number of megakaryocytes, which produce platelets that had antibody receptors, was paralleled to the increase in antibodies (27). These effects were increased as the dose was increased, especially in high bile salts

#### References

1. Monteiro M.K Mateus B. C, [...], and Henrique B. F, 2012: *Echinococcus granulosus* Antigen B Structure: Subunit Composition and Oligomeric States . PLOS Negl Trop. DIS.6(3):e1551
2. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review, 2009: Int J Infect Dis;13:125–133.
3. Mansourian S, Sadjjadi SM, Hosseini SV, Barzin Z, Mehrabani D, Tanideh N, et al. Evaluation of different chemical agents on the germinative layer of sheep hydatid cyst after implantation to peritoneal cavity of Balb/c,2009: J Invest Surg; 22:183-7
4. Mamuti W, Yamasaki H, Sako Y, Nakaya K, Nakao M, Lightowlers M W, et al. Usefulness of hydatid cyst fluid of *Echinococcus granulosus* developed in mice with secondary infection for serodiagnosis of cystic echinococcosis in humans, 2002:Clin Diagn Lab Immunol.; 9:573-6.
5. Lightowlers MW, Heath DD. Immunity and vaccine control of *Echinococcus granulosus* infection in animal intermediate hosts, 2004: Parasitologia; 46:27-31.
6. Taherkhani H, Rogan MT. Preparation of Semi-purified laminated layer of hydatid cyst for diagnosis of infection, 200:Arch Razi Ins; 52-61
7. Craig PS, McManus DP, Lightowlers MW, Chabalgoity JA, Garcia HH, Gavidia CM. Prevention

and control of cystic echinococcosis,2007: Lancet Infect Dis.; 7:385-94.

concentration (2mg/ml). The current result for the concentrations of AgB (3.1mg/ml) showed that appearance of lymphoid hyperplasia in the spleen (BALT) showed hyperplastic changes as a result to its persist stimulated by this Ag especially 3months P.I that revealed a good immune response following PSC infection which act as a mitogen stimulate lymphoid cell(28). Thickening of interstitial tissue of lung in the immunized of AgB group mainly at 3.1mg/ml and fibrin deposition with the developed edema into alveolar tissue could be attributed to vascular leakage due to subsequent increase blood capillary permeability effect which was due to nitric oxide NO (28). Above histological examination exposed metacestodal tissue in all liver section. The cysts showed that the tissue was contained very small cysts with considerably thick wall and its germinal layer was covered by laminated layer and the cyst contains little amount of cyst fluid with protoscolices appeared in cyst lumen (fertile cysts). Manifestation of liver necrosis and abscess formation were observed mainly in central portion. The necrosis was thought to be due to the thrombosis of the vessels in this area (29). Also the studies referred to the appearance of amyloidosis in the liver and spleen due to immunoglobuline deposition in these organs and this result was in agreement with (30) and this result agreement with (31),also they showed appearance of secondary amyloidosis in the spleen and liver occur in the chronic bacterial infection like T.B. salmonella, brucella and hydatid cyst.

8. Sadjjadi SM, Abidi H, Sarkari B, Izadpanah A, Kazemian S. Evaluation of enzyme linked immunosorbent assay, utilizing native antigen B for serodiagnosis of human hydatidosis,2007: Iran J Immunol.; 4:167-2.
9. Sadjjadi SM, Sedaghat F, Hosseini SV, Sarkari B. Serum antigen and antibody detection in echinococcosis: application in serodiagnosis of human hydatidosis, 2009: Korean J Parasitol. 47:153-7.
10. Rahimi H R , Sarkari B. , Mohammadzadeh T., Sadjjadi SM . Immune Responses to Antigens of in vitro Reared *Echinococcus granulosus* Adult Worms in Balb/c Mice,2011: Iran. J. Immunol. 8 (4): 236-243
11. Heath DD, Jensen O, Lightowlers MW. Progress in control of hydatidosis using vaccination--a review of formulation and delivery of the vaccine and recommendations for practical use in control programmes, 2003: Acta Trop. 85:133-43.
12. Paykari H, Heath DD, Dalimi AH, Karimi GHR, Motamedi GHR. Experimental vaccination of sheep against hydatid cyst using EG95 recombinant vaccine,2009: Arch Razi Ins. 63:29-34.

13. Gottstein B. *Echinococcus spp.* and echinococcosis, 2010: Gottstein Acta veterinaria Scandinavica. 52:S55.
14. Hofmann AF, Hagey LR, Krasowski MD ,2010: "Bile salts of vertebrates: structural variation and possible evolutionary significance". *J. Lipid Res.* 51 (2): 226–46.
15. Oriol, R.; Williams, J.F.; Pérez, E.s and iM. V. and Oriol C (1971). Purification of lipoprotein antigens of *Echinococcus granulosus* from sheep hydatid fluid. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, (20): 569–574.
16. Fiorucci S, Mencarelli A, Palladino G, Cipriani S, 2009: "Bile-acid-activated receptors: targeting TGR5 and farnesoid-X-receptor in lipid and glucose disorders". *Trends Pharmacol. Sci.* 30 (11): 570–80.
17. McVie, A.; Ersfeld, K.; Rogan, M.T.and Craig, P.S. (1997). Expression and immunological characterization of *Echinococcus granulosus* recombinant antigen B for IgG4 subclass detection in human cystic echinococcosis. *Acta Trop.*, 67: 19–35.
18. Rahimi, H.; Sadjjadi, S.M. and Sarkari, B.(2011).Performance of Antigen B Isolated from Different Hosts and Cyst Locations in Diagnosis of Cystic Echinococcosis. *Iran. J. Parasitol.*, 6(1): 12–19.
19. Sbihi, y.; Janssen, D. and Osuna, A. (1997). Specific recognition of hydatid cyst antigens by serum IgG, IgE, and IgA using western blot. Instituto de Biotecnología, Universidad de Granada, Spain. *Journ. of Clinic. Lab. Anal.*11(3):154-7.
20. AL-Kaisy, R.W. (1996). Boron-neutron therapy of hydatidosis in white mice. Ph. D Thesis the College of science Baghdad- University.
21. Piantelli, M.; Pozzuoli, R. Arru, B. and Musiani, P. (1977). *Echinococcus granulosus* Identification of subunit of the major antigens. *J. Immunol.*119:1382-1386.
22. Pouzzuli, R.; Piantelli, M.; Arru, B. and Musiani, P. (1975). Isolation of the most immunoreactive antigens of *Echinococcus granulosus* : From sheep hydatid fluid. *J. Immunol.*,115:1459-1463.
23. Orriol, C.and Oriol, R. (1975). Physicochemical properties of a lipoprotein antigen of *Echinococcus granulosus* *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 24:96-100.
24. Mamuti, W.; Sako, Y. and Nakao, M. (2006). "Recent advances in characterization of *Echinococcus* antigen B," *Parasitology International*, vol. 55, supplement. 1: 57–62.
25. Rogan, M.T. (1998).T-cell activity associated with secondary infections and implanted cysts of *Echinococcus granulosus* in BALB/c mice. *Parasite Immunol.*, 20: 527-33.
26. Al-Kuraishi, A.; El-Hashimi, W.; Mushrif, E.; and Ad'hiah, A. (2009). Histopathological Changes of Hydatidosis in the Liver and Spleen of Albino Mice: Dose Effect Changes. *Iraqi J. Comm. Med.*, JAN. (1)
27. Hanada, K.; Kumagai, K.; Yasuda, S.; Miura, Y.; Kawano, M.; Fukasawa, M. and Nishijima, M. (2003). Molecular machinery for non-vesicular trafficking of ceramide. *Nature.* ,426:803–809.
28. Al-malki, J.E. (2012). Immunopathological study of The Effect of *Fasciola hepatica* Antigens and Hydatid Fluid Antigens on Hydatid Cysts development in Mice. M. Sc Thesis in veterinary medicine, collages of Baghdad University, Iraq.
29. Salim, (2009). Histopathological study of liver tissue in infected sheep with Echinococcosis Dept. Biology/College of Science/Al-Mustansirya University.
30. Al-Dehami, A.E. (2005). A study of immunological and pathological aspect of protoscolices antigens none the infection if hydatid cyst in mice. M. Sc Thesis in veterinary medicine collages of Baghdad University, Iraq.
31. Mac Sween, R. N. M. AND Whaley, K.(1992). "Muir's text book of pathology." 13<sup>th</sup> ed Edward Arnold.P.P.283.

## فعالية ودراسة نسيجية امراضية لاملاح الصفراء ضد الاكياس المائية مقارنة مع المستضد B في الفئران المصابة تجريبيا

انعام بدر<sup>1</sup> ، ليلى هاشم<sup>1</sup> ، حوراء محمود مراد<sup>2</sup>

<sup>1</sup>كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد ، بغداد ، العراق

<sup>2</sup>كلية الطب البيطري ، جامعة القاسم الخضراء

### المخلص

اجريت الدراسة الحالية لمعرفة فعالية وكفاءة أملاح الصفراء البقرية ضد الاصابة التجريبية للأكياس العذرية في الفئران من حيث دراسة التأثيرات المرضية والاستجابة المناعية مقارنة بمستضد المشوكات الحبيبية ولتنفيذ هذا الهدف تم تحضير المستضد المعزول من سائل الاكياس العذرية الخصبة المعزولة من الاغنام بأستخدام تقنية ( Ion exchange chromatography ) وحضر تبعا لطريقة (Oriah et al).

ولاتمام اجراء هذه الدراسة اخذت 30 فأربيض من كلا الجنسين وأعمار من (4-6) اسابيع وتم تقسيمها بشكل عشوائي الى ثلاث مجاميع كلاتي: المجموعة الاولى متكونة من 10 فئران تم تحصينها فمويا ب 0,3 مل من املاح الصفراء بتركيز 2ملغم/مل وتم اعادة التحصين بعد 14 يوم وبنفس الجرعة والتركيز .

المجموعة الثانية 10 فئران تم تحصينها تحت الجلد ب 0,3مل من مستضد المشوكة الحبيبية 3,1 ملغم /مل من البروتين وتم اعادة التحصين بعد 14 يوم وبنفس الجرعة والتركيز. المجموعة الرئيسة الثالثة 10 فئران حقنت بجرعة 0,3 في الخلب بسائل المحلول الفسلجي ثم حقنت الفئران المجاميع الاولى والثانية وكذلك المجموعة الثالثة بجرعة التحدي الحاوية على 2000رؤيس حيوي وبعد ثلاثة اشهر من اعطاء جرعة التحدي قتلت فئران مجاميع التجربة واخذت عينات من الاعضاء الداخلية للفحص المرضي العياني والنسجي. نسيجيا سجلت مجموعة السيطرة الموجبة افات نسيجية شديدة تميزت بنمو الاكياس العذرية في الكبد مصحوبة بتغيرات نخرية شديدة مع تكون الخراج وترسب مادة النشوانية في الكبد والطحال والكلى. تميزت الافات المرضية في المجاميع الممنعه بارتشاح الخلايا الوحيدة النواة في الاعضاء الداخلية مع تكون الافات الورمية الحبيبية في البعض الاخر فضلا عن فرط التنسج اللمفي ولا سيما في الطحال والتكفف الوعائي في الاعضاء الداخلية ولا سيما الدماغ والكلى والرئة.

**الكلمات المفتاحية:** المشوكة الحبيبية, املاح الصفراء , فئران.

## Experimental study for induction of the skin burns in the local breed rabbits followed by topical application of sesame oil (Optical histology and histopathology)

Ayad Hameed Ebraheem , Bader Khatlan Hameed , Idrees Khalaf Thamer , Zeena Ebraheem , Fatima Emaad

Department of Anatomy and Histology , College of Veterinary Medicine , Tikrit University , Tikrit , Iraq

### Abstract:

Twenty local breed rabbits were used in this experiment, divided into two group A control, B treated animals. The whole animals were exposed to burn by application of flame by metal probe on the dorsum of animals after shaving the area. Group A were left 5 weeks without treatment, Group B treated by sesame oil along 5 weeks to compare the efficacy of this oil for improving the healing of burn in comparison with control without treatment. The results were indicated healing with sesame oil better than control and this was reflected by approximating of the edges the of burned skin after 3 weeks and the inflammatory cells at the site of burn was disappeared after 14 day of topical application of the sesame oil and the presence of epithelization and subcutaneous collagenaization at the site of burn lesion after 5 weeks of application in comparison with control group A. which the process of the healing was poorer than treated one .

### Introduction

Several studies have been done to evaluate the efficacy of different medical and surgical interventions in severe burns such as control burns (1). The oil of sesame was more effective in healing of excision and burn wounds than incision wound (2). Farideh (3) Reported the effect of using topical sesame oil for severe corneal alkali burn in rabbits, they demonstrated that topical sesame oil seem have beneficial effects on alkali –injured corneas, it delays corneal perforation in rabbits compared to control group. Hsu etal (4) showed that daily sesame oil supplement attenuates oxidative stress-associated renal injury by reducing oxygen free radicals and lipid per oxidation in gentamycin-treated rat .Other study by Sotnikova etal(5) found that sesame oil have beneficial effect on oxidative stress-induced biochemical change in arthritis. To control secondary infection used broad spectrum antibiotic (penicillin) which is capable of inhibiting the life processes of organisms Sharma et al (6) rabbit after induction of experimental burn for five weeks of treatment .

### Objectives

- 1- To induce burning in the skin of the rabbit for the second degree for ten seconds
- 2- To demonstrate the reaction at the site of the burn under light microscope at the days of healing
- 3- To investigate the efficacy of application of the sesame oil on the skin lesion after burning the dorsal /back areas of it.
- 4-To compare the healing process between the control group, and the treated one with topical sesame oil grossly and microscopically

### Materials and methods:

#### Experimental animals:

Mature rabbits (local breed) were used. the average weight were 0.75-1kg.They were collected for 1 month for acclimation. They were divided into two group (10 animals for each one),group A control while group B treated animals. The skin of all animals were shaved and then burned (second degree) with flame by using metal prob. Group B treated by

sesame oil mixed with antibiotic along the time of experiment(5 week).

#### Induction of burns:

The skin in the back of all animals were shaved mechanically and sterilized by iodine solution 1% , Then the shaved skin was burned with metal prob. The whole rabbits were housed separately under sterile condition.

#### Topical application of treatment:

The experimental group was treated twice daily by treatment materials. sesame oil mixed with penicillin (100,000I.U with 10 ml sesame oil), the sesame oil was product by Hemani & Alemad. and the control group was left without any application on skin burning lesions .

The animals were killed, (2) rabbits per week by intensive dose of chloroform and a segments of skin from the site of burn were taken and processed histologically for examination under the light microscope Luna (7).

#### Results:

The whole animals after burn of its skin at the dorsal area shown redness and swollen immediately post application of flamed metal prob. Restless and excitation of animals were associated with depression of appetite continued for 12 hours later. The group B was continued for treatment with sesame oil for next 5 weeks (every 12 hours). showed that the redness and the swelling became regressed immediately after the beginning the sesame oil application and the edges of the burn became regular instead of the zigzag like which appeared firstly. The microscopical examination of this group was indicating at the seventh day post skin burn , the presence of the inflammatory cells and blood vessels congestion with the observation of the necrotic cells, this case was continued until seven days and after that , the examination revealed to presence of the collagen bundles and fibroblasts with the formation of the new blood vessels empty from blood, these events were noted in the subcutaneous and hypodermis regions.

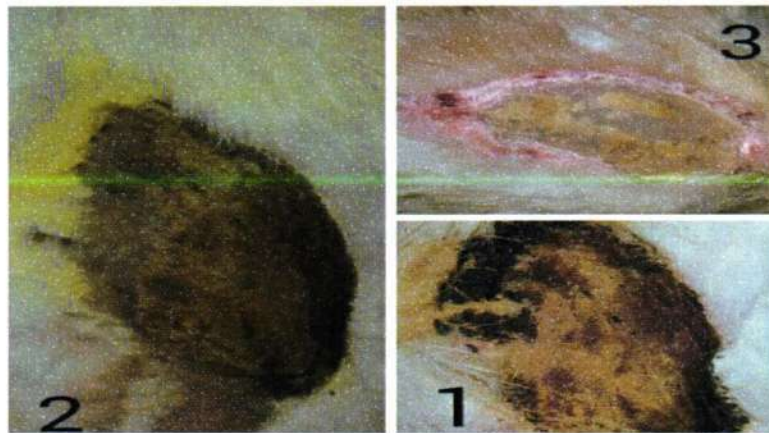
After fourteenth days ,epithelial bud was formed above to the hypodermis which was continued to be form and at the day 21 of the experiment , the whole skin lesion was covered by the epidermis and this growing continued with presence of the blood in the new blood vessels formation .

The control A group had same events of the inflammatory process for the seven days next to the application of the treatment and the edges of the burn became shrinkage grossly , the skin was continued as a darken as a remnant of the burn. The microscopical examination revealed that the area was edematous

and infiltrated by a mass of RBC and WBC, also the necrotic cells were accumulated around the borders of the lesion. The examination of the skin at the end of the experiment demonstrated that still there inflammatory cells and density of collagen bundles with scanty of the presence of epithelial cells over the hypodermis. These sequences of the skin healing were delayed and at the end of the experiment there was still inflammatory cells, infiltration of lymphocytes, and the collagen bundles were focused at the site of the lesion, covered by discontinuation of the epidermis of stratified squamous epithelium.

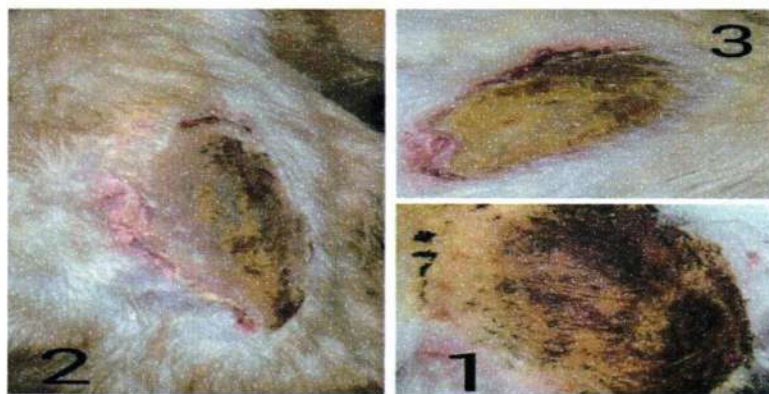
**Table 1:Effect of topical application of treatment on the induced skin burn wound of rabbit**

Average of the wound area(cm <sup>2</sup> )length by width.					
Experiment time(weeks).ist .w.	2 <sup>nd</sup> w.	3 <sup>rd</sup> w.	4 <sup>th</sup> .w.	5 <sup>th</sup> .w.	
Experiment group	2	2	2	2	2
Control group A	6x3	6x3	6x3	5.9x2.9	5.8x2.7
Treated group B	6x3	5.9x2.8	5.9x2.8	5 x2.5	3x2



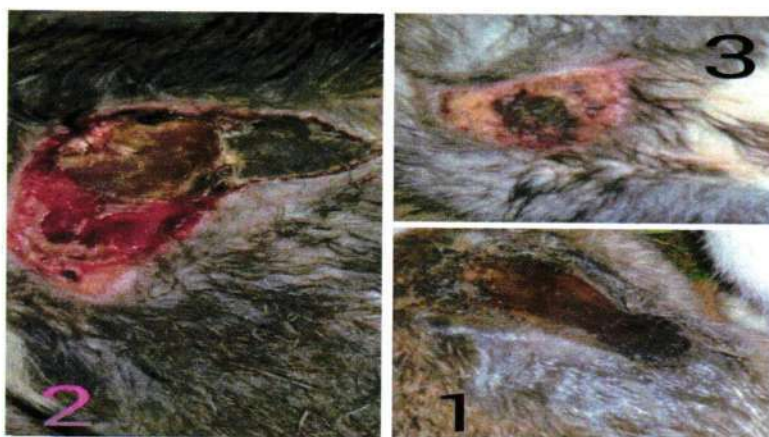
**Figure:(1) of control group**

- 1.1<sup>st</sup> day showing burned area of skin with irregular edge.
- 2.15<sup>th</sup>day showing some roughness burned area and black colored with regular edges.
- 3.Thirty day showing improved area of skin(healing) and surrounded by thickened edges.



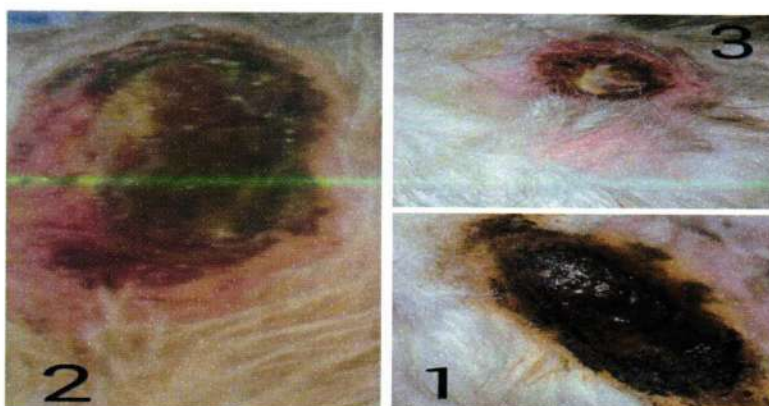
**Figure(2) Treated group**

- 1.1<sup>st</sup>day the burning of skin was irregular edges.
- 2.15<sup>th</sup> day irregular edges of the burn of skin was associated with crack.
- 3.Thirty day burned skin associated with same feature of 15 day



**Figure(3) treated group**

- 1.1<sup>st</sup> day demonstrating several blackish burned skin.
- 2.15<sup>th</sup> day the area of burned skin surrounded by irregular edge & hair.
3. Thirty day prominent healing of skin with whitish color was noted.



**Figure: (4) Treated group**

1. 1<sup>st</sup> day black color of burned skin.
2. 15<sup>th</sup> day healing is obvious regular edge and whitish color of skin.
3. Thirty day regular edge of skin associated with hair growing.

### Discussion

The present study was undertaken to evaluate the effect of sesame oil on burn skin healing which experimentally induced in rabbits. The result of the present study involved the use of sesame oil in folklore medicine for treatment burns.

Much of biological activity of sesame oil used as analgesic, antipyretic and i-inflammatory activities in experimental animal models Saleem (8) The multi therapeutic action of sesame oil especially antimicrobial activity and improvement of healing support our result reported here which indicated that topical application of such oil had antimicrobial activity.

The sesame oil which applied topically in the study was to promoting the breaking strength, wound contraction and period of epithlization in burn. Collagenation wound contraction and epithelization are crucial phases of wound healing. The phase of inflammation, microphasia, fibroplasia and collage nation are intimately interlinked. Sesame oil contain proteins which may stimulated the dermal fibroblasts

for synthesis of collagen bundle (8). The application penicillin is antibiotic was to prevent any secondary infection at the skin of burn and its dose was 100,000 I.U dose for 7 days.

Also the beneficial effect of the use of sesame oil might be related to their antioxident action, anti-inflammatory effect and increase collagen synthesis (3).The using of oil so gained popularity as ingredient in topical skin care which supported by the result the present study.

### Conclusions

The present study was indicated that the induced burn in the skin of rabbit could be enhanced for healing under the application of sesame oil as topical treatment for 5 weeks in comparison with control burned skin of same species of animal without treatment which delayed significantly.

The microscopically examination of the treated group demonstrated also that the sesame oil enhanced the formation of the collagen bundles from fibroblasts and epithelial covering the epidermis from the basal layer of the stratified epithelium .

## References

- 1.Scuta GL, Cantor L, and Weiss JS, (2011). Basic and Clinical Science Course: external diseases and cornea. Singapore: American Academy of Ophthalmology. 355-8.
2. Kotade K. and Mohammed A. (2008). Wound Healing Activity Of Sesamum Indicum, Ind. j Exp. Biol.
- 3-Farideh, S.MD. (2012). Topical Sesame Oil for Severe Corneal Burn in Rabbits, Irani. J. Ophth. Vol. 24.(4)..
- 4-Hsu, D., Liu ,C and LiY, H (2010). Protective effect daily sesame oil supplement an gentamicin induced renal injury in rat. Shock .33(1):88-92.
- 5-Sotnikova R, Ponist S and Navarova ,J (2009). Effects of sesame oil in the model of adjuvant arthritis. Neuro. Endoc.; 30Suppl 1:22.
- 6-Sharma SK, Singh L and Singh S (2013). Comparative Study between Penicillin and Ampicillin. Sch. J. App. Med. Sci.
- 7-Luna,L.G.(1968).Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology.3<sup>rd</sup> edition. McGraw Hill- Book .N.Y.
- 8-Saleem, T.S. MBasha, S.D, Mahesh, G, and Rmni,P(2011).Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activity of dairy sesame oil Exp. Anim. Mod. Pharmac.,2, 172.

## دراسة تجريبية لآحداث حروق الجلد في سلالة الارانب المحلية باستخدام التطبيق السطحي لزيت السمسم (رؤيا عيانية ، نسيجية ونسجية مرضية)

اياد حميد ابراهيم ، بدر ختلان حميد ، ادريس خلف ثامر ، زينة ابراهيم ، فاطمة عماد

فرع التشريخ والانسجة ، كلية الطب البيطري ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### الملخص

عشرون أرنب محلي استخدم في هذه التجربة قسمت إلى مجموعتين مجموعة A سيطرة، ومجموعة B (تجربة/معالجة). كل الحيوانات تعرضت لحرق الجلد في منطقة الظهر باستخدام اللهب وبواسطة مجس معدني بعد إجراء حلاقة للمنطقة المعرضة للحرق. مجموعة A تركت لمدة 5 أسابيع بدون علاج، مجموعة B عولجت بزيت السمسم لمدة 5 أسابيع لمقارنة تأثير هذا الزيت في علاج وتحسين شفاء الحرق في الجلد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. بينت النتائج سرعة التئام الجلد المحروق باستخدام زيت السمسم انعكس ذلك من خلال اقتراب حافتي الجلد المحروق بعد 3 أسابيع وأكثر اقتراباً أو شفاءً مع نمو الشعر في منطقة الظهر كان في الأسبوع الخامس مقارنة مع مجموعة السيطرة.

## Experimental Study of Effect of Ginger Ethanolic extract on Oxidative Stress in Alloxan Induced-Diabetic Rabbits

Entedhar R. Sarhat<sup>1</sup>, Buthyna A. Abdullah<sup>2</sup>, Siham A. Wadi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dentistry College, University of Tikrit, Tikrit, Iraq

<sup>2</sup>Collage of Veterinary Medicine, University of Tikrit, Tikrit, Iraq

### Abstract:

The present study evaluated the effect of ginger on blood glucose and oxidative stress status in alloxan induced diabetic rabbits. Forty eight (control), group II (diabetic control) and group III, and IIV (diabetic rabbits) treated with ginger ethanolic extract as a single daily does. 250mg/kg, 500mg/kg body weight of extraction dissolve in 1 cc DW orally for 6weeks respectively. Treatment with ginger significantly reduced ( $p<0.05$ ) the level of glucose, and MDA, while significantly increased ( $p<0.05$ ) levels of the GSH,GPX when compared with the control group. The results indicate that ginger in addition to being anti-hyperglycemic is effective in reducing oxidative stress in diabetes.

### Introduction

Diabetes is a heterogonous group of syndromes characterized by an elevation of fasting blood glucose caused by a relative or absolute deficiency in insulin[1]. In line with the above[2]. Define diabetes as a group of metabolic disease characterized by hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion, insulin action or both. Diabetic is associated with number of complications including ketoacidosis, recurrent infection weight loss, cardiovascular disease, diabetic neuropathy, diabetic nephropathy and diabetic retinopathy. The oxidative stress which is associated with diabetes mellitus might play an important role in the initiation and progression of diabetic complications. Free radicals trigger cataract, one of the degenerative manifestations of diabetes[3]. Patients with diabetes have decreased antioxidant defenses with lower levels of antioxidants such as vitamin C and E or reduced activities of antioxidant enzyme such as catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase[4].

In recent years interest has increased in using natural products for pharmacological purposes, as form of complementary or replacement therapy. particularly in the case of diabetes ,published reports show that numerous extracts obtained from plants are effective in reducing glycaemia, causing fewer side effects and with lower cost than usual anti diabetic agents[5-8].The majority of the plants that are used in popular medicine for treatment of diabetes have been shown to possess biologically active chemical constituents (alkaloids, carbohydrates, cumarins, flavonoids, terpenoids, phenolic substances and other constituents) that can be used as new hypoglycemiant agents[6-9].

Ginger (*Zingiber Officinale* L, Family Zingiberaceae) is a monocotyledonous plant with a fleshy rhizome, which is the medicinal part. Earlier studies have reported the pharmacological effects of ginger rhizomes includes anti-diabetic, antimicrobial. antipyretic. antiulcer, cariotonic, antihypertensive antihyperlipidamic. antioxidant and anti-inflammation properties[10-12].

### Material and methods

#### Experimental animals

Forty eight(48)health adult rabbits of age ranged (6-12 months)and their body weight ranged (1.5-2)kg obtained from local market of Baghdad city. Animals were divided into 4 groups 12 in each groups, and housed in steel cages (1.250 m length, 0.5m width, and 0.5 m high), 6 animals placed in each cage in a suitable condition room (22-25)C° with 10 /14 hours light /dark water and diet were given freely. Animals were adapted to the conditions, for 14 days before the experiment.

#### Induction of diabetes

This was done by injection of alloxan tetra hydrate at a dose of 180 mg/kg body weight IV in marginal ear vein [13]. After injection, rabbits had free access to food and water, and given a 10% glucose solution to drink overnight to counter hypoglycemic shock.

#### Experimental Design

After induction and confirmation of diabetics, rabbits randomly divided into 4 groups containing 12 rabbits. each group received different treatment twice daily for 6 weeks as following :-

**Group I:-** Healthy control rabbits

**Group II:-** diabetic control (rabbit were diabetic without treatment were used as negative control.

**Group III:-** Diabetic rabbits treated with ginger ethanolic extract as a single daily dose 250mg/kg body weight of extraction dissolve in 1 cc DW orally for 6 week.

**Group IV:-** Diabetic rabbit treated with ginger ethanolic extract as a single daily dose. 500mg/kg body weight of extraction dissolve in 1ccDW orally for 6 week.

#### Ginger Ethanolic Extraction :-

The official (ginger)was collected from market of Baghdad, Which dried and powdered according to (Bhandri method) [14]. Two kilogram of air-dried rhizomes of the herb was milled into fine powder mechanically and extracted in cold percolation with 95% ethanol for 24h. The extract was recovered and 95% ethanol was further added to the ginger powder and the extraction was continued. This process was repeated three times. the three extraction were pooled

together combined, filtered and the filtered was concentrated to dryness under reduced. Pressure in a rotary evaporator. The resulting ethanolic extract was air dried. finally give 80 grams of dark brown, gelatinous extract of ginger dried rhizomes ,without any further purification ,the crude ethanolic extract was used for the experimental .dose equivalent to 200 mg of the crude drugs/kg body weight .was calculated and suspended in 2% v/v .

#### Blood samples

At the end of experiment, blood samples were collected by ear and vein of the rabbits from (250 rabbits) and the sera prepared through centrifuging at 2500 ×g for 15 minutes at 30C°.

#### Biochemical analysis

The samples were collected from fasting rabbits were used to determine the fasting blood glucose measured by enzymatic method[15]. Erythrocyte glutathione peroxidase (GSH-Px) were measured by using commercially available kits according to the manufacturer's protocol (Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute, Nanjing, China)[16]. Reduced glutathione reductase content was determined according to the method followed by[17]. Malondialdehyde (MDA) was assayed according to the method of Ohkawa. [18]. The reactions to form thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) depend on condensation of two molecules of MDA to generate a reddish chromogen that absorbs light at 532 nm wave length. Superoxide dismutase activity in erythrocyte was determined by using a modified photochemical nitro-blue tetrazolium (NBT) method utilizing sodium cyanide as peroxidase inhibitor [19].

#### Statistical Analysis

Statically analysis was done using the ANOVA and test for comparison of data in the control group with the experimental groups. The results were expressed as mean ±S.E.M (standard error of mean) P-value less than 0.05 were considered signification and are written in the parentheses.

#### Result

Table (1) showed that the glucose activity is significantly increase in alloxan diabetic rabbit  $p < 0.05$  compared with the control rabbit. after treatment with 250 mg of ginger a significant decrease in glucose level was observed compared with control group which indicated a positive correlation effect of ginger intake, level of glucose was significant reduced  $p < 0.05$  in alloxan diabetic rabbit receiving 500mgof ginger compared with the level of control group.

Table (2,3,)showed that the GSH,GPX activity were significantly decreased in alloxan diabetic rabbit  $< 0.05$  compared with control rabbit. After treatment with 250 mg of ginger a significant increase in GSH, GPX level were observed compared with control group which indicated positive correlation effect of ginger intake. The level of GSH.GPX were significantly increased  $< 0.05$  in alloxan diabetic

rabbit receiving 500mgof ginger compared with the level of control group.

Table (4,5) obtained that the MDA, and SOD activity were significantly increased in alloxan diabetic rabbit ( $p < 0.05$ ) compare with the control rabbit. after treatment with 250 mg of ginger a significant decrease in MDA, and SOD level were observed compared with control group which indicated a positive correlation effect of ginger intake, level of MDA, and SOD were significant reduced  $p < 0.05$  in alloxan diabetic rabbit receiving 500mgof ginger compared with the level of control group.

**Table 1:- Effect of administration ginger extract on glucose level in healthy and diabetic rabbits.**

Group	Glucose (mm/L)
Non-Diabetic Rabbits	3±0.15
Non Treated Diabetic Rabbits	9±1.21
Diabetic Rabbits +250 extract	5±0.43
Diabetic +500 extract	4±0.33

**Table 2:-Effect of administration ginger extract on GSH level in healthy and diabetic rabbits**

Group	GSH (µMol/L)
Non-Diabetic Rabbits	15.7±2.91
Non Treated Diabetic Rabbits	7.5±1.511
Diabetic Rabbits +250 extract	11±1.73
Diabetic +500 extract	13.2±2

**Table3:-Effect of administration ginger extract on GPX level in healthy and diabetic rabbits**

Group	GPX (unit\mg)
Non-Diabetic Rabbits	7.5±0.79
Non Treated Diabetic Rabbits	5.2±0.82
Diabetic Rabbits +250 extract	6.1±0.92
Diabetic +500 extract	6.8±0.74

**Table4:-Effect of administration ginger extract on MDA level in healthy and diabetic rabbits**

Group	MDA (µmol/L)
Non-Diabetic Rabbits	1.53±0.255
Non Treated Diabetic Rabbits	3.90±0.114
Diabetic Rabbits +250 extract	2.36±1.54
Diabetic +500mg extract	1.96±0.193

**Table5:-Effect of administration ginger extract on SOD level in healthy and diabetic rabbit**

Group	SOD (mmol/L)
Non-Diabetic Rabbits	25.4±0.66
Non Treated Diabetic Rabbits	7.2±0.59
Diabetic Rabbits +250 extract	18.4±0.86
Diabetic +500mg extract	19.8±0.43

## Discussion

Intravenous injection of alloxan rapidly damage the  $\beta$  cells of the islets of Langerhans in pancreas. destruction of pancreas beta cells by alloxan may result from reaction with glutathione or other sulfhydryl group of protein which would inactivate essential enzyme or coenzyme of the cell. Alloxan injection may also result in generation of free radicals which cause breaking of DNA strands of beta cells. Alloxan has also been shown to inactive  $Ca^{+2}$  and calmodulin dependent protein kinase the activity of this enzyme was related insulin secretion [20,21]. the result in table (1) demonstrated that the level of serum glucose of alloxan induced diabetic rabbit where higher than the normal range before the treatment while significantly decreased after receiving ginger daily for 6 week.in this study low level of GSH was also absorbed in the tissue of alloxan diabetic rabbit as compared to the control group which indicated increase utilization due to oxidative stress. Administration ginger extract elevated the level GSH in the tissue. there are significant increase in the diabetic group compare to the untreated diabetic group.

Glutathione (GSH) is a sulfhydryl (SH) antioxidant, antitoxin and enzyme cofactor. Glutathione is ubiquitous in animals, plants and microorganisms [22,23]. The reducing power of GSH is a measure of

## References

- [1] Champe, PC, RA. Harvey and D.R. Ferrier. 2008. Lippincott, Illustrated Reviews; Biochemistry .New Delhi Wolters KulwerPvt Ltd:338-339.
- [2] Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, 2002. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus Diabetes Care 25:5-20.
- [3] Ozmen, D.,B. Ozmen, E. Erkin, N. Gunner, S. Habif and O. Baynder, 2000. Lens superoxide dismutase and catalase activities in diabetic cataract Turkish J. Endocrinology and Metabolism, 1: 1-4.
- [4] Ramakrishna, V. and R. Jaikhan, 2008. Oxidative stress in non-insulin dependent diabetes mellitus (NADDM) patients. Acta Diabetologia, 45(1):41-46.
- [5] Pushparaj, P., Tan, C.H., Tan, B.K.H, 2000. Effects of Averrhoa Bilimbi leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin diabetic rats. J. Ethnopharmacol 72,-69-76.
- [6]. Gupta R,K. Kesari , A.N. Murthy .P.S., Chandra. R. Tandon, V, Watal, G, 2005. Hypoglycemic and anti-diabetic effect of ethanolic extract of leaves of Annonaseguamosa L.in experimental animals. j Ethnopharmacol 99,75-81.
- [7] Lee,M.S,Sohn,C.B.2009.Anti-diabetic activities of ethanol extracts from persimmon leaves. J. Korean Soc Appl. Biol. Chem52,96-97.
- [8] Sohn E. Kimj, Kim C.S. Kim .Y.s. Jang D.S, Kim J.S 2010 Extract of the aerial parts of aster korainsis reduced development of diabetic nephropathy via its free radical scavenging, electron -donating and sulfhydryl donating capacity. Reducing power is also the key to multiple action of GSH at the molecule, cellular and tissue level and to its effectiveness as a system protestant against oxidative and free radical damage which is the case in diabetic mellitus[24]. depletion of hepatic GSH and increased lipid peroxidation are characteristic of diabetics[25]. Previous studies reported that hyperglycemia polyol pathway consumes NADPH which is necessary for GPX redox cycle, GPX is a selenium containing antioxidant which plays crucial role in scavenging toxic free radicals by using GSH as a substrate. decrease GPX activity in diabetic rabbit is probably due to insufficiency of GSH[26]. Malondialdehyde (MDA) : dienconjugation (DC) and thiobarbitic acid reactive species (TBARS)are widely as indicators of lipid peroxidation, DC is a measure of early events of lipid peroxidation reaction where TBARS measure end product of lipid peroxidation (MDA) that is a goal market of cell membrane damage following ROS production during stress [27]. elevated levels of lipid peroxidation product in serum of diabetic subjects and rats have been shown in several studies, higher level of MDA is associated with decreased of antioxidant activity and increased oxidative stress[28-30].
- [9] Negri, G. 2005. Diabetic melito Plant prinicipiosativo nature hipoglimaintes Rev Bars Cienc Farm 41,121-142.
- [10] Afzal M, Al-Hadidi D. Menon, M, Pesek, J and Dharni. M.S. 2001. Ginger an ethnomedical, chemical and pharmacology review drug metabolic, drug interact 18:159-190.
- [11] Jiang H. Xie Z, Koo, H.J. McLughlin S.P. Timmermann, B,N, and Gang D.R. 2006. Metabolic profiling and phylogenetic analysis of medicinal Zingiber species tools for authentication of ginger phytochemistry67:1673-1685.
- [12] Mallikarjuna, K, Sahitya Chetan, P. Sathyavelu Reddy, K and Rajender W. 2008.Ethanol toxicity rehabilitation of hepatic antioxidant defense system with dietary ginger Fitoterapia 79:174-178.
- [13] Subra,A. Push, P., and Rrajaseck, K. 1996. Effect of Artemisia pallens wall on blood glucose levels in normal and aaoxan induced diabetic rats. J.Ethno,50: 13-17.
- [14] Bhadari U., Kanojia R. and Pillai K.K.2005: Effect of ethanolic extract of ginger officinale on dyslipidaemia in diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology., 97, 227-230.
- [15] Trinder, P. 1969. Enzymatic determination of glucose. Ann. Clin. Biochem. 6,24.
- [16] Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Haeman, D.G, and Hoekstra, w.G.

Selenium: Biochemical rolws as a component of glutathione peroxidase. Science., 179: 588-590.

[17] Beutler, E. and Kelly, B.M. 1963. The effect of sodium nitrite on RBC glutathione. *Experientia.*, 19: 96-97.

[18] Ohkawa, H., ohishi, N. & Yagi, K. 1979. Assay of lipid peroxides in animal tissues by the thiobarbituric acid reaction, *Analytical biochemistry*, 95:551-358.

[19] Aebi H. 1974. *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press.674-84.

[20] Bishop, M.: vonlaufen, J.D. & Fody, E.P. 1985. *Clinical chemistry principles procedures correlations*. B. Lippincott Company. London.

[21] Shimran, K.A. 2003. Lipid profile investigation in patients with chronic renal faure and diabetic patients undergoing renal dialysis. Diploma Thesis. College of medical and health technology. Commission of Technical of Institutes.

[22] Kosower, N.S. and EM Kosower, 1976. The glutathione status of cells. *Int. Rev. Cytology*, 54: 109-156.

[23] Meister, A., 1976. Glutathione metabolism and transport. In: Nygaard of simic.

[24] Meister, A., 1994. Mini review: Glutathione – ascorbic acid antioxidant system in animals. *J. Biochem.*, 169: 9397-9400.

[25] Mukherjee, B., Mukherjee and M. Chattrjee, 1994. Lipid peroxidation, glutathione level and

changes in glutathione- related enzymes activities in streptozocin-induced diabetes rats. *Immunol. Cell Bio.*, 109-114.

[26] Rajasekaran, S., Sivagnanam, K.. and Subramanin, S. 2005. Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozocin-induced diabetes rats. *Pharmacol. Rep.*, 57:90-96.

[27] Vasankari T, Ku U and Heinonen O. 1995. Measurement of serum Lipid peroxidation during exercise using three different methods. Diene conjugation, thiobarbituric acid reactivity substances and fluorescent chromolipids, *Clin Chim Acta*. 234:63-69.

[28] Domingues C, Ruiz E, Gussing EM and Carra-Scosa A. 1998. Oxidative stress at onset and early stages of type I diabetes in children and adolescents diabetes care; 12(10):1736-1742.

[29] Marr G. Cotrneo P, Pitocco D, Manto A, Dileo mas, Rnotolo V, Caputo S. Giardino B, Ghirlanda G and Santini SA. 2002. Early Oxidative stress and reduced antioxidant defence in patients with uncomplicated type I diabetes mellitus. *Diabetes care*; 25:370-375.

[30] Shahin U Unlu M, Ozguner F. Stucu R, Akkaga A and Deilbas N.2001. Lipid peroxidation and glutathione peroxidase in chronic obstructive disease. Prognostic value of malondialdehyde. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol*;12(1): 59-68.

## تأثير مستخلص الزنجبيل الكحولي على الإجهاد التأكسدي في الأرناب المصابة بالسكري المحدث بواسطة الالوكسان

انتظار رفعت سرحدات<sup>1</sup> ، بثينة عبد الحميد عبد الله<sup>2</sup> ، سهام عجمي وادي<sup>2</sup>

<sup>1</sup>كلية طب الاسنان ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

<sup>2</sup>كلية الطب البيطري ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### الملخص

في الدراسة الحالية تم تقييم تأثير الزنجبيل على سكر الدم وحالة التاكسد في الأرناب التي احدث بها السكري بواسطة الالوكسان تم اجراء الدراسة على ثمان وأربعين ارناب (مجموعة السيطرة)، المجموعة الثانية احدث بها السكري وتركت بدون علاج (السيطرة السالبة) والمجموعة الثالثة و الرابعة أحدث بها السكري ثم عولجت بالزنجبيل و بتركيز 250 ملغم/كغم و 500 ملغم/كغم على التوالي من وزن الجسم على شكل جرعة مفردة يومية ولمدة ستة أسابيع اعتمدت طريقته التقييم على قياس الأنزيمات المضادة للتأكسد في مصل الدم ودرجه السيطرة على مستوى الكلوكوز في الدم. أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً في مستوى السكر و مالون ثنائي الديهايد، عند استخدام خلاصة الزنجبيل بينما اظهرت ارتفاعاً معنوياً في مستويات الجلوتاثيون و GPX بالمقارنة مع مجموعة المراقبة. وتشير النتائج إلى أن الزنجبيل، بالإضافة إلى كونه مضاداً لفرط سكر الدم انه فعال في الحد من الإجهاد التأكسدي في مرض السكري.

## Detection of bovine viral diarrhoea-mucosal (BVD –MD) virus using Elisa in Iraqi sheep

Khawlah Moh Imran Al-Rubayie

Dep. of internal and preventive vet. med, College of Vet. Med., Baghdad University, Baghdad, Iraq

### Abstract

The aim of the study detection of BVDV for the (270) sera samples were collected from Iraqi sheep examined by ELISA kits to detect (BVDV) antibody, the results showed 58 positive samples with (21.48%) of total samples. The positive in ratios in ram (21,25%), while in females (ewes) were positive from total 190 females were examined, in a rate of (21.57%)

The result above indicated the presence of (BVD-MD) virus in sheep which considered as a causative agent specific to bovine appeared to be transmitted to sheep from infected bovine (PI) and causing a disease in (ovine). There is no significant difference between male and female.

**Keyword:** Bovine Viral Diarrhoea, Border Disease, mucosal disease, Elisa, IRAQ, Sheep.

**The aim of the study:** was to evaluate the status of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection sheep in Iraq using Enzyme linked Immunosorbent Assay for the detection of specific antibodies of (BVDV).

### Introduction

Bovine viral diarrhoea virus (BVDV) is an RNA virus consist of two types, bovine viral diarrhoea virus type 1 (BVDV1) and bovine viral diarrhoea type 2 (BVDV2), Each type composed of two genotype cytopathic (cp) and non cytopathic (ncp); the serious one is the (ncp) genotype. (BVDV), border disease virus (BDV), and classical swine fever virus (CSFV) huge cholera (HCV) belong to the genus *Pestivirus* within the family *Flaviviridae*. (1)

(BVDV), (BDV), (CSFV), (HCV) these viruses are typically isolated from primary host species, but are capable of infecting other species. (2)

The 4 recognized *Pestivirus* species, BVDV type I, BVDV type II, BDV, and CSFV are genomically and antigenically very similar to each other (3). Bovine viral diarrhoea-Mucosal disease (BVD-MD) is a viral disease, it primarily affects cows, also can affect other ruminants like (sheep, goats, buffaloes, camels and wild ruminants). (4)(5) The transmission method in cattle has been primarily by ingestion or inhalation of the virus. The virus can be found in all body fluids (respiratory and oral secretions, urine, milk, semen and feces). Also can be transmitted from cow to fetus via transplacental. (6)

BVDV is a significant pathogen caused huge economic loss, associated with gastrointestinal, respiratory and reproductive disease (intrauterine infection); causing multiple clinical forms of infection that vary from mild subclinical to fatal mucosal disease. (7)

Pregnant female infected with (ncp) non cytopathic biotype at early stage of gestation lead to birth of persistently infected (PI) kids, fatal infection with (BVDV) may lead to immunotolerant kids to BVDV with an

inapparent persistent infection (PI) which are serving as source of infection by shedding large quantity of virus lifelong with various body excretion, PI animals are difficult to identify because of their normal appearance(8). PI females of reproduction age are source of horizontal transmission of BVD and resulting in PI calves (9). If such animals are infected by the second biotype (cytopathic virus (cp) of similar virus they may catch mucosal disease (MD) which may lead to death, this disease is caused by combination of

cytopathic(cp) and noncytopathic (ncp) biotypes of virus. BVDV usually causes early embryonic death, respiratory disease, diarrhoea, congenital malformation, reproductive failures, lameness, immunosuppression and (MD) mucosal disease. (10),(11)

Animals affected often have (bloody) diarrhoea, mucosal lesions in the mouth and ulcerations of the muzzle, nose, rim of the hoof and in the interdigital cleft. The disease is fatal; animals are not generally expected to live longer than two to three weeks, although there are always exceptions. (12)

Bovine viral diarrhoea (BVD) is one of the most important diseases of cattle responsible for major economic losses due to its immunosuppressive but it does not affect human (10)

ELISA test use to detect viral RNA antibody, it becomes a popular screening method for detection of BVDV(13)

### Materials and methods

A total of 270 sera samples collected from jugular vein of local Iraqi sheep randomly from area around Baghdad city (al-shulla, Abu-grab and Al-Fudaiyia). the sera samples were stored at 20°C until used.

ELISA kits: antibody IELISA kits purchased from Belgium BIO-X diagnostics.

Method: ELISA procedure for antibody diagnosis of BVDV were performed according to instruction of the manufacturing company.

### Results and discussion

ELISA antibody test was carried on totally (270) sera samples from sheep (58) samples were positive with (21, 48%) (Table1).

All sera samples were randomly collected from 90 sheep from each field area around Baghdad (Al-Shula, Abu-grab, and Al-Fudalia) the positive sera samples were (16) with (5, 92%), (14) with (5, 18%) and (28) with (10, 37%) in each field respectively (Table1).

Markedly significant regional differences between (Abu-grab and Al-Fudhaliyah) region in positive serological percentage from (5, 18%-10, 37%) respectively this may be due to mixed animal management in field between different species so the transmit from (PI) infected calves to the sheep in same field this will agree with (BAZ.T.I in Egypt), who confirmed presence of antibodies to BVDV in sheep (14), and Frolick, et al

whom mentioned that (BVDV) can transmit between species (15)

The results of this study demonstrate that BVDV can be transmitted under natural conditions from PI cattle to sheep.

Table (2) showed that (80) males (rams) of total animals of the study were tested, and (17) of the were positive by Elisa antibody test in rate of (12.25%) of total males, while 41 females were positive with Elisa antibody test in rate of (21,57%) from total (190) females were examined and there were no significant difference between male and females

**Table (1) Bovine viral diarrhoea antibody detection by Elisa according to area around Baghdad in sheep**

Area	No. of samples	Positive	Percentage
Al-Shula	90	16 C	5.92%
Abu- ghraib	90	14 C	5.18%
Al-Fudalyia	90	28 B	10.37%
Total	270	58 A	21,48 %

Different letters in columns men significant difference  $P < 0,05$

## References

- 1- Fauquet, C. M. Mayo, M.A., Maniloff, J. Desselberger, U. Ball, L.A.(2005): Virus Taxonomy. Eight Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, Hongkong, p. 992.
- 2- Fulton, RW. Downing, MM. Hagstad, HV. (1982): Prevalence of bovine herpesvirus-1, bovine viral diarrhoea, parainfluenza- 3, bovine adenoviruses- 3 and -7, and goat respiratory syncytial viral antibodies in goats. *Am J Vet Res* 43:1454–
- 3- Ames, TR. (2005): Hosts. In: Bovine viral diarrhoea virus: diagnosis, management, and control, ed. Goyal SM, Ridpath JF, pp. 171–175. Blackwell Publishing, Ames, Iowa.
- 4- Carlsson, U. (1991): Border disease in sheep caused by transmission of virus from cattle persistently infected with bovine virus diarrhoea virus. *Vet Rec*, 128,145-147.
- 5- Depner, K. Hubschle, O.J.B. Liess, B. (1991): BVD-virus infection in goats - experimental studies on transplacental transmissibility of the virus and its effect on reproduction. *Arch Virol Suppl*, 3, 253-256.
- 6- Kozasa T. Tajima, M. Yasutomi, I. Sano, K. Ohashi, K. Onuma, M. (2005): Relationship of bovine viral diarrhoea virus persistent infection to incidence of diseases on dairy farms based on bulk tank milk test by RT-PCR. *Vet Microbiol*, 106, 41-47.
- 7- Saa, LR. Perea, A. García-Bocanegra, I. Arenas, AJ. Jara, D V. Ramos, R. Carbonero, A. (2012): Seroprevalence and risk factors associated with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in non-vaccinated dairy and dual purpose cattle herds in Ecuador. *Tropical Animal Health and Production*, 44: 645–649.

**Table (2) Bovine viral diarrhoea antibody detection by Elisa according to the sex in area around Baghdad in sheep**

Sex	No	Positive	Percentage
Male	80	17	21,25%
Female	190	41	21,57%

In Iraq (BVDV) in cow was isolated by Alrodhan, N. (16). In buffaloes (BVDV) was prove in Iraq using Elisa by (Al-Rubayie, Khawlah, M.I and Saleem A. Hasso(2014)(17). Also proved in buffaloes by using PCR by (Al-Rubayie Khawlah. M.I (2009) (18).

## Conclusion

According to the recent results (BVD) virus can spread between domestic ruminants bovine and ovine, the virus can transmit to sheep from (PI) infected animals which are the main sours of infection of (BVDV)

## Recommendation

Polymerase chain reaction (PCR) is recommended test together with Antigen - enzyme-linked immunosorbent assay to diagnose (BVDV), in addition may be Skin biopsy with immunohistochemis, (IHC) – antigen detection. It is very necessary to spread between species in breeding, to prevent the transmission of the disease.

- 8- Moennig, V. Liess, B.(1995): Pathogenesis of intrauterine infections with bovine viral diarrhoea virus. *Vet Clin NorthAm Food Anim Pract*, 11, 477-487.
- 9- Houe, H. (2003): Economic impact of BVDV infection in dairies. *Biologicals*, 31, 137-143.
- 10 Gunn, G.J. (2005): Saatkamp H.W., Humphry R.W., Statt A.W.: Assessing economic and social pressure for the control of bovine viral diarrhoea virus. *Prev Vet Med*, 72, 149-162.
- 11 Gardiner, A.C., (1980): The distribution and significance of border disease viral antigen in infected lambs and fetuses. *J. Comp. Path.*, 90: 513-518.
- 12 Rodninga, SP. Givensb, MD. Marleyb, MSD. Zhangb, Y. Riddellb, KP. Galikb, PK. Hathcockb, TL. Gardb, JA. Prevattc, JW. Owsleya, WF. (2012): Reproductive and economic impact following controlled introduction of cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus into a naive group of heifers. *Theriogenology*, 78: 1508–1516.
- 13 Niskanen R.:(1993), Relationship between the levels of antibodies to bovine viral diarrhoea virus in bulk tank milk and the prevalence of cows exposed to the virus. *Vet Rec*, 133, 341-344.
- 14 BAZ, T. I. (1992): Bovine virus diarrhoea-mucosal disease and Border disease in Egypt (*Rev. sa. tech. Off. int. Epiz.*, 11 (3), 867-872.
- 15 Frolich, K. Thiede, S. Kozikowski, T. Jakob, W. (2002): A review of mutual transmission of important infectious diseases between livestock and wildlife in Europe. *Ann NY, Acad, Sci*, 969:4–13.
- 16 Alrodan, MA. (2005): Bovine viral diarrhoea virus isolation and partial characterization, PhD theses, Coll, Vet Ned. Uni. Bagh.

17 Al-Rubayie Khawlah, M.I. Saleem, A. Hasso (2014): Detection of border disease in ovine using ELISA in Iraq *Int.J.Curr. Microbiol. App.Sci* 3(3): 1051-1055

18 Al-Rubayie Khawlah, M.I. (2009): Detection of bovine viral diarrhea mucosal disease (BVD-MD) in buffaloes using polymerase chain reaction (PCR) (2009)

## التحري عن وجود مرض الاسهال الفيروسي البقري باستخدام اختبار المقايسة المرتبطة بالانزيم

### المناعي (الايلازا) في الاغنام العراقية

خولة موح عمران الربيعي

كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد ، بغداد ، العراق

#### الملخص

اجريت هذه الدراسة لتقييم مرض الاسهال البقري الفيروسي في الاغنام العراقية باستخدام تقنية الايلازا للكشف عن الاجسام المناعية المضادة. جمعت (270) عينة مصل من الضأن المحلية تم فحصها بعدة الايلازا (ELISA) لتحديد الاجسام المضادة الى مرض الاسهال البقري الفيروسي (BVDV). أظهرت النتائج ان 58 عينة مصل كانت موجبة بنسبة (21.48%) في مجموع عينات الاغنام الكلي. من مجموع (80) عينة مصل كانت من الذكور (الكباش) اظهرت 17 كبشا نتيجة ايجابية بفحص الايلازا (ELISA) وبنسبة 21.25% من المجموع الكلي للكباش. بينما اظهرت (41) عينة مصل من الإناث (النعايج). نتيجة ايجابية لفحص اعداد (BVDV) باختبار الايلازا من المجموع الكلي للنعايج (190) وبنسبة (21.27%). تشير النتائج لوجود فيروس (BVD-MD) في الاغنام وهو الفيروس المسبب لمرض الاسهال البقري (BVDV) الخاص بالابقار. عليه فان الفيروس يمكن ان ينتقل من الاغنام الى الابقار مباشرة وبوجود الابقار المصابة (PI) والتي يمكن ان تسبب المرض في الاغنام. لم يكن هنالك فرق معنوي في نسبة الاصابة بين الذكور والاناث.

## Development and feeding value of new protein meals from insect larvae and pupae for aquaculture fish, Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (wallbaum)

B.A. Khan, L.M. Al-Ani<sup>1</sup>, R. Beck<sup>2</sup>, L. A. Goonewardene<sup>2</sup>, W. Hirsche<sup>3</sup>, A. Suleiman<sup>2</sup>

<sup>1</sup> College of Science, Anbar University

<sup>2</sup> Alberta Agriculture Food and Rural Development, 204, 7000-113 Street, Edmonton, Alberta, Canada T6H 5T6

<sup>3</sup> Aquaculture Section, Agriculture Center, Bag 3014, Lethbridge, Alberta, Canada T1J 4C7

### Abstract

Growth, feed efficiency and feed intake of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed meals prepared from dried larvae and pupae (crude protein 58%) of the house fly (*Musca domestica*) were compared to those fed commercial trout grower feed containing fish meal (crude protein 53%) as a source of protein. Replacement of 50% commercial feed with 50% larvae meal resulted in similar (11.8 g/d) ( $P < 0.05$ ) growth performance over the 50 day experimental period. However the substitution of commercial feed diet with 100% larval and pupal meal protein sources resulted in 57 to 80% decrease ( $P < 0.01$ ) in the growth rate of the rainbow trout possibly due to lower digestible energy (2.61 and 2.54 Mcal kg<sup>-1</sup>, respectively) content of the larval and pupal meals, compared to 3.62 Mcal kg<sup>-1</sup> for the commercial feed. We concluded that incorporation of insect larvae at 50% level in commercial feed results in compare productive response of the rainbow trout.

**Key words:** insect larvae, Insect pupae, fish feed rainbow trout.

**Abbreviations:** AAFRD, Alberta agriculture, Food and Rural Development, ADF, Acid detergent fibre; CP, Crude protein; DO, Dissolved oxygen; FCR, Food conversion Ratio; FL, Fly larvae; FP, Fly pupae, GLM, General linear model; SAS, statistical analysis system; SGR, Specific growth rate; TDN, Total dissolved Nitrogen; TDP, total dissolved phosphorus; TG, Trout Grower; TKN, Total kjeldahl nitrogen; TN, Total Nitrogen; TSS, Total suspended solids.

### Introduction

Fresh Fish farming is new and growing industry in Alberta, Canada. However the industry is strongly dependent on imported fish meal products as protein source for fish. Fish feed may contribute to 50-70% of the total fish production (1). Due to high cost (0.35\$-0.04\$/kg) of fish meal, a supply of less expensive locally produced feed containing adequate protein, energy and mineral levels would be an advantage for the fish farming industry in Alberta. The nutritional composition of common housefly (*Musca domestica*) larvae and pupae meal is reported in terms of proximate analysis (2) showed both larvae and pupae meal had high amino acid TTDs. The TTD values of the crude fat and crude fibre were determined at 94% and 62%, respectively, for the housefly larvae, and at 98% and 58%, respectively, for the housefly pupae. *M. domestica* larvae meal can therefore be regarded as a good-quality protein source suitable for animal feed.

The organic waste can be recycled into protein meal to produce an inexpensive feed [3]. Animal excrement has been used to grow insects which were then fed to chickens [4] turkey [5] swine [6] fish [7] and shrimp [8]. The insects in various stages of development are an excellent alternate source for protein for animals [9]. The large quantities of insect protein can be produced from mechanically mixed animal waste using the common house fly *Musca Domestica* [10]. The insect protein produced was used from chicken manure using the soldier fly *Hermetia illucens* L, larvae and concluded that insect protein can be substituted for fish meal in the diets of channel catfish (*Ictalurus punctatus* Rafinque) and blue tilapia (*Oreochromis aureus* Steindachner) [7].

Between 10-20% of by-products of seed cleaning plants in Alberta, processing estimated 518,000 tonnes of grain each year, are screening hulls and dust. While screenings have some commercial value in animal feeding, the dust and hulls are a by-product of with a high disposal cost (\$40.00 tonne) (AAFRD, unpublished). Oat hulls contain enough nutrients for the fly larvae to complete their life cycle (Khan, unpublished). However there is no data on potential of converting oat hulls, low crude protein, to an insect feed rich in protein for use as protein source in aquaculture feeds.

The aim of this experiment was to investigate the production of fish feed from oat hulls using the house fly larvae and pupae. This study determined the nutrient adequacy of oat hulls to support the growth of the house fly larvae and pupae for producing insect meals. It was also the aim of this study to evaluate these two insect protein meals as fish feeds by comparing the performance of rainbow trout fingerlings fed the larval and pupal protein meals with commercial trout grower.

### Materials and Methods

The house fly larvae (FL) and pupae (FP) were grown on oat hulls at the Animal Industry Division Laboratory in Edmonton, Alberta, Canada. The oat hulls growing medium was prepared in plastic bus-pans measuring 18 x 40 x 52 cm. One and half liters of water was added to 3 litres (800 g) of oat hulls, and mixed thoroughly. Five thousand house fly eggs (0.25 ml suspension of eggs, prepared in 10 ml water) were seeded directly on the oat hulls growing medium. The bus pans were then covered with pillow cases and tied with rubber bands to prevent the escape of larvae

from the medium. The larvae and pupae were incubated at 25°C and 60 ± 5% relative humidity. The larvae were fully grown after about five days of incubation and were then extracted from the growing medium using a photo of separation technique. Two 10 x 48 x 60 cm wooden trays stacked on top of each other were used for harvesting larvae. The top tray had a hardware cloth bottom (8 mm mesh) equipped with fluorescent light. The growing medium with the larvae was placed in the top tray and the light was left on for eight hours. As the larvae are negatively phototrophic, they avoided the light and crawled through the bottom screen of the top tray and dropped into collecting tray at the bottom which had a solid base. The larvae were first freeze killed and then oven dried at 60° C for 48 hours and stored at room temperature until used for the study. Some of the larvae were allowed to pupate and on the eighth day pupae were separated from the medium to fill the bus-pans. The pupae floated to the top and most of the soaked oat hull medium settled to the bottom. Floating pupae were collected from the water surface with a metal screen strainer. The flotation technique was repeated with fresh water once or twice until all plant material was separated and removed from the pupae. Pupae also freeze killed and oven dried in a manner similar to that used for larvae.

Nutrient composition of Trout Grower (TG), fly larva, and fly pupae were determined by Association of Official Analytical Chemist methods for crude protein, calcium, phosphorus acid detergent fiber and for fat (11). Amino acid composition of the larval and pupal feed was determined using High Performance Liquid Chromatographic technique described by 12 and 13. The digestible energy (Mcal/kg DM) of each diet was calculated using the percent ADF of feed in the equation [95.30-1.49 CF%=95030-1.92 ADF %]( Energy Prediction Equation for Concentrate Mixes, Penn State Forage Testing Service Formulas). The fish feeding studies were conducted at the aquaculture facility of the Lethbridge Community College, Lethbridge, Alberta, Canada. A total of 300 trout fingerlings with mean weight of 2.53 ± 0.75 g and a mean length of 61.59 ± 5.47 mm were randomly allocated to 20 Plexiglas aquaria measuring 46 x 46 x 46 cm, with a holding capacity of 90 L of water, at 15 fingerlings per aquarium. Five dietary treatments were assigned to the aquaria, at four aquaria per diet. The five diets were trout grower commercial feed (TG), 100% house fly larvae (FL), 100% house fly

Pupae (FP), combination 50% FL and 50% TG (FL+TG) and combination 50% FP and 50% TG (FP+TG). The nutrient composition of the three main ingredients used to make five diets given in Table 1.

Water temperature was maintained at 17-21°C. The rainbow trout fingerlings were weighed and length measured at the beginning and the end of the feeding trial which lasted 50 days. The fish were fed three times a day daily approximately 4% of body weight. Total feed intake was measured as the total daily feed provided over 50% period. Feed and fecal waste was collected three times weekly. Waste from each tank was siphoned through 100 mesh filter paper. Suspended particulate matter in the filtrate was allowed to stand for 2 hr prior to each of three repeated decanting and filtering procedures. The total collected waste was transferred to 125 ml ceramic dish for oven drying at 105°C for 12 hr. Dry weights were subtracted from weights and divided by the number of days the waste was in the aquarium to obtain the amount of waste produced daily. Total feed provided, minus the accumulated waste, was divided by the total weight gain for each population to obtain an estimate feed conversion ratio.

Water quality characteristics measured: dissolved oxygen, temperature, PH, Potassium, Sulphate, nitrite, nitrate, ammonium ion, phosphate, total dissolved nitrogen, total dissolved phosphorus and dissolved phosphorus and total suspended solids (Table 4).

Data was analyzed by the General Linear model of the Statistical Analysis system. At the end of the study fish body weight and total gain were analyzed with aquarium and diet as independent variables and the start weight included as covariant. Fish length at the end of the feeding period and the change in length were analyzed with aquarium and diet as independent variables and starting fish length as a covariant. Feed intake and feed gain were analyzed to determine differences between diets using GLM procedure (14). Water quality measurements were analyzed on an aquarium basis with main effects of the diet and time (4, 26, and 45 d) and the interaction between diet and time. A student Newman-Keuls test was used to separate the means [14].

## Results

Chemical analysis of the fly larvae, fly pupae and the commercial trout grower diets are shown in Table 1. The protein contents of the larval and pupal meals were higher (56% and 60%) than the trout grower (53.5%) which contained fish meal as its protein source. The fat content of the fly pupae was similar (20.2%) to the trout grower commercial feed (19.4%), but the fly larval fat content was lower (16.9%) than both in comparison. The calcium content of FL (0.65%) and FP (0.40%) were lower than TG (2.33%). The ADF in FL (24.3%) and FP (25.6%) was higher than the commercial feed TG (3.7%).

**Table 1. Nutrient contents of trout feed used in formulating five test diets for rainbow trout and Growth medium used in rearing insects.**

Feed		Protein %	Fat/Oil %	Calcium %	Phosphorus %	ADF %	Moisture %
Insect diet	FL	56.4	16.9	0.65	1.87	24.3	3.00
	FP	60.2	20.2	0.40	1.00	25.6	4.00
Commercial diet	TG	53.5	19.4	2.33	1.67	3.67	6.45
Insect Growth Medium	Oat Hulls	4.10	1.60	0.10	0.13	37.18	6.50

FL=Fly larva, FP=Fly pupa, TG=Trout grower

ADF= Acid Detergent Fiber (No correction for chitin, a non-protein N)

The amino acid composition of insect meals and essential amino acid requirements of salmonids are compared in Table 2. Except for tryptophan, all eight essential amino acid requirement for Salmonids, as per (13) Tacon recommendations, are found in the larval and pupal diet in adequate amounts (15). In addition to these essential amino acids, the larval and pupal diets were rich in eight other amino acids, including alanine, aspartic acid, cysteine, glutamine, glycine, lysine, proline and serine (Table 2).

Growth performance, feed consumed waste produced by the trout fed experimental diets are shown in Table 3. Performance of fingerlings, change in length, weight gain and feed to gain on the TG diet comparable to that of the TG+FL diet suggesting that the fly larval meal is suitable when substituted for 50% TG. The lowest weight gain (6.9 g/d) and the lowest growth in length occurred in fingerlings fed the fly pupae meal alone.

**Table 2. Amino acid composition of fly larva, fly pupa, fish ration and essential nutrient requirements of salmonids.**

Amino acid	Fly larva	Fly pupa	Fish ration	Requirements
Alanine	3.45	2.49	NL**	NL**
*Arginine	2.99	2.99	4.02	2.37
Aspartic acid	5.36	5.07	NL**	NL**
Cysteine	0.47	0.46	0.75	0.38
Glutamine	8.30	6.60	NL**	NL**
Glycine	2.53	2.52	4.42	NL**
*Histidine	1.84	1.93	1.34	1.00
*Isoleucine	2.17	2.11	2.72	2.81
*Leucine	3.56	3.37	4.36	2.81
Lysine	3.82	3.11	4.53	3.25
*Methionine	1.36	1.74	1.68	1.06
*Phenyl alanine	4.07	2.86	2.28	1.60
Proline	2.31	1.95	NL**	NL**
Serine	2.31	1.89	3.06	NL**
*Threonine	2.36	2.03	2.75	1.77
*Tryptophan	NA***	NA***	NL**	0.33
*Thyrosine	3.57	2.80	1.83	1.27
*Valine	2.98	2.80	3.02	1.82

There was no difference in waste generated by feeding the TG or FL feed. Pupae meal generated the

most waste of all diets and the least amount of waste was produced by FL+TG (Table 3).

**Table 3. Weight gain, feed utilization, waste and mortality of trout fed experimental diets.**

Diet	Weight (g) Start	Weight (g) End	50-d Gain (g)	Length (mm) Start	Length (mm) End	50-d Change (mm)	Condition Factor (K)	Feed Intake	Feed Gain	Waste (g)	Mortality
TG	2.50	14.5 <sup>a</sup>	12.0 <sup>a</sup>	61.1	106.3 <sup>d</sup>	44.7 <sup>a</sup>	1.20	259.0 <sup>a</sup>	1.4 <sup>d</sup>	0.32	0
FL	2.60	12.2 <sup>c</sup>	9.6 <sup>c</sup>	61.4	95.0 <sup>b</sup>	33.4 <sup>b</sup>	1.42	257.4 <sup>ab</sup>	1.8 <sup>b</sup>	0.36	9.0
FP	2.40	9.4 <sup>d</sup>	6.9 <sup>d</sup>	61.2	89.3 <sup>c</sup>	27.7 <sup>c</sup>	1.31	219.1 <sup>d</sup>	2.1 <sup>a</sup>	0.50	10.0
FL+TG	2.70	14.3 <sup>d</sup>	11.8 <sup>a</sup>	62.8	104.2 <sup>d</sup>	42.6 <sup>a</sup>	1.26	254.7 <sup>b</sup>	1.5 <sup>d</sup>	0.26	0
FP+TG	2.50	12.9 <sup>b</sup>	10.4 <sup>b</sup>	61.5	101.1 <sup>a</sup>	39.5 <sup>a</sup>	1.24	247.9 <sup>c</sup>	1.6 <sup>b</sup>	0.43	1.6
SEM	0.09	0.22	0.22	0.65	1.67	1.68		0.99	0.03	0.01	

TG=trout grower, FL=Fly larva, FP=Fly pupa.

a,b,c,d=Different letters within the columns denotes significance (P<0.05).

SEM=Standard error of the mean.

Fingerling mortality rates of 9 and 10% were recorded in FL and FP aquaria. There were no mortalities in TG and FL +TG aquaria. Changes in the water quality characteristics by diet and by sampling time period during the experimental period are shown in Table 4 and 5, respectively. Water quality parameters such as pH, Sulphate, nitrite, nitrate, ammonium and total kjeldahl nitrogen were

not affected by different diets (Table 4). However, the mean totals for potassium, phosphate, total dissolved phosphorus and total suspended solids were different for different diets. Phosphate levels in water were higher in all insect diet compared to the TG. About 50% less suspended solids were found in the pupal diet tanks indicating cleaner water.

**Table 4. Changes in water quality characteristics by diet**

Diet	PH	K	SO4	NO2 mg/l	NO3 mg/l	NH4 mg/l	PO4 mg/l	TDN mg/l	TDP mg/l	TSS mg/l
TG	8.15	0.02 <sup>b</sup>	1.5	0.063	0.11	2.16	0.15 <sup>c</sup>	3.10	0.27 <sup>d</sup>	7.18 <sup>ab</sup>
FL	8.15	0.03 <sup>a</sup>	1.5	0.058	0.11	2.45	0.29 <sup>ab</sup>	3.39	0.38 <sup>b</sup>	8.21 <sup>ab</sup>
FP	8.16	0.02 <sup>b</sup>	1.5	0.064	0.11	2.12	0.28 <sup>ab</sup>	3.07	0.37 <sup>c</sup>	4.33 <sup>b</sup>
FL+TG	8.16	0.02 <sup>a</sup>	1.5	0.067	0.11	2.31	0.30 <sup>a</sup>	3.31	0.44 <sup>a</sup>	9.61 <sup>a</sup>
FP+TG	8.18	0.02 <sup>b</sup>	1.5	0.075	0.11	2.10	0.26 <sup>b</sup>	3.10	0.35 <sup>bc</sup>	7.78 <sup>ab</sup>
SEM	0.017	0.002	0.015	0.005	0.001	0.038	0.010	0.084	0.014	1.06

TG=Trout grower, FP=Fly pupa, FL=Fly larva TDN= Total dissolved nitrogen, TDP= Total dissolved phosphorus, TSS=Total dissolved solids

<sup>A,b,c</sup>=Different letters within the columns denotes significance (p<0.05)

SEM= Standard error of the mean.

About 50% less suspended solids were found in the pupal diet tanks indicating cleaner water. Total dissolved nitrogen (TDN), dissolved phosphorus

(TDP) and suspended solids (TSS) progressively increased over days 5, 26, and 44 (Table 5)

**Table 5. Changes in water quality characteristics by sampling day**

Day	PH	K%	SO4%	NO2 mg/l	NO3 mg/l	NH4 mg/l	PO4 mg/l	TDN mg/l	TDP mg/l	TSS mg/l
5	8.31 <sup>a</sup>	0.026 <sup>a</sup>	1.72 <sup>a</sup>	0.04 <sup>c</sup>	0.170 <sup>a</sup>	221 <sup>b</sup>	0.20 <sup>a</sup>	2.45 <sup>b</sup>	0.22 <sup>b</sup>	4.38 <sup>a</sup>
26	8.09 <sup>b</sup>	0.018 <sup>b</sup>	1.40 <sup>b</sup>	0.05 <sup>b</sup>	0.054 <sup>c</sup>	243 <sup>a</sup>	0.30 <sup>b</sup>	3.31 <sup>c</sup>	0.40 <sup>a</sup>	7.76 <sup>b</sup>
44	8.09 <sup>b</sup>	0.017 <sup>b</sup>	1.38 <sup>b</sup>	0.10 <sup>a</sup>	0.100 <sup>b</sup>	204 <sup>c</sup>	0.28 <sup>c</sup>	3.81 <sup>a</sup>	0.43 <sup>a</sup>	10.12 <sup>c</sup>
SEM	0.013	0.0012	0.011	0.004	0.001	0.030	0.008	0.065	0.011	0.821

TDN=Total dissolved nitrogen. TDP=total dissolved phosphorus. TSS=Total dissolved solids

<sup>A,b,c,d</sup> = Different letters within the columns denotes significance.

SEM=Standard error of the mean.

## Discussion

Historically, the aquaculture industries have relied on fish meals as the primary source of protein. Globally, this amount to between 6.3 and 7.4 million tonnes annually [16]. Although many of the species harvested for fish meal have not been considered suitable for the human consumption. There is an expectation that, as other fish meal and oil production will find their way into the fish food markets. Presently, fish meals and oils are also used in extensively in dairy, poultry, pig and pet food industries. However the development of alternate protein sources, particularly from large volumes of waste cereal grain by products, could provide opportunities for the development and production of formulated fish feeds and protein feeds for other livestock in regions far removed from sources where fish is available for fish meal production. [17] demonstrated the dietary value of house fly pupae as a poultry starter. The pupae were produced from the bio-degradation of poultry manure Chick growth over a seven week period was comparable when fish, meat, bone meal (control) where replaced with fly pupae in the diet [18].

The study shown that house fly larvae are capable of converting oat hulls, into high quality insect feed for

aquaculture fish. Although the percentage of fats and oils in the fly larvae (16.9%) are comparable to the trout grower(19.4%), further studies to determine the relative profile of fatty acids in the insect larvae and pupae may provide useful information relative to fish requirements. The house fly larvae were grown on oat hulls medium would make a good feed supplement providing high amounts of available and digestible energy, protein for turkey poultry [5].

The equivalent 50-d rate of weight gain fish fed 100% TG and 50% TG and 50% FL is equal or superior to results of other studies. [19] reported Specific Growth Rates(SGR) defined as  $\log e$  final body-weight(g) -  $\log e$  initial body weight(g)/ time X 100 of 2.84(%/d) and food conversion ratios of 1:4:1 for rainbow trout( initial wt.=3.5 g) cultured on fish meal rations at 16-27° [19]. In this study , SGR of 3.70(%/d) and FCR of 1.5 was determined for fish of similar size( initial wt.=2.7 g) when cultured at 17° C using 50% TG and 50% FL, whereas fish fed the 100 % TG ration had SGR of 3.5(%/d) and FCR of 1.4 (Table3). The poor growth performance of fish on the FL diet was largely due to low preference selection. However the substitution of commercial feed with 100% larval and pupal meals resulted in only 57 and 80% of the growth rate of the rainbow trout possibly

due to the lower digestible energy (2.61 and 2.51 Mcal kg<sup>-1</sup> respectively) content of larval and pupal meals, compared to 3.62 Mcal kg<sup>-1</sup> for the commercial food. In altered form such as "insect meal" the pupae could provide appropriate nutritional requirement for trout. The growth performance of juvenile turbot (*Psetta maxima*) was decreased with increased dietary pre-pupae meal of the Black Soldier fly as a result of decreased diet acceptability and feed intake [20]. Reduced palatability has been reported with regard to poor feed intake and is often discussed when substantial amounts of fish meal in diet are replaced [21, 22].

[8] have shown a partial substitution of formulated feed by the aquatic insect *Trichocorixa* sp. can contribute to the nutritional requirements of shrimp and could be used as complementary natural food, without negative effects on the production and physiological responses of (*L. Vannamei*) or the post mortem quality of shrimp; however the total substitution of formulated feed by insects is not recommendable.

## References

1. Hidingstam, J. (1989). Special needs of the fish feed industry in Canada. Special symposium on Aquaculture and Canadian feed industry in the twenty fifth annual nutritional conference for feed manufactures, Department of nutritional science, University of Guelph, Ontario 54pp.
2. Pieterse, E. and Pretorius, Q. (2013). Nutritional evaluation of dried larvae and pupae meal of the housefly (*Musca domestica*) using chemical- and broiler-based biological assays. *Animal Production Science*
3. Edwards, P. (1980). A review of recycling organic wastes into fish, with emphasis on the Tropics. *Aquaculture* 21: 261-279.
4. Calvert C.C., N. O. Morgan and R. D. Martin. (1970). House Fly Larvae: Biodegradation of Hen Excreta to Useful Products. *Pout. Sci.* 49:588-589.
5. Zuidhof M.J., C.L Molnar, F.M Morley, T.L Wray, F.E Robinson, B.A Khan, L Al-Ani L.A Goonewardene. (2003) Nutritive value of house fly (*Musca domestica*) larvae as a feed supplement for turkey poults. *Animal Feed Science and Technology* 105 (2003) 225-230
6. Newton GL, Booram CV, Barker RW, Hale OM. (1977). Dried *Hermetia illucens* larvae meal as a supplement for swine. *Journal of Animal Science* 44, 395-400.
7. Bondari, K. and Sheppard, D. C. (1987). Soldier fly, *Hermetia illucens* L., larvae as feed for channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), and blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner). *Aquaculture Research* 18: 209-220.
8. Martinez-Cordova L.R., Campana-torres, A., Villarreal-Cdmenares, H., Ezquerro-Brauer, J.M., Martinez-Porchas, M. and Cortes-Jacinto, E. (2013).

## Conclusion

Replacement of 50% commercial feed with 50% larval meal produced similar growth performance over the 50 day experimental period. These results would suggest that fly larvae that have been cultured on oat hulls could effectively replace the 50% of the commercial trout feed. The fish in this study appeared to tolerate the high proportion of acid detergent fibre in the insect based protein meals. Inclusion of insect meal portion as partial replacement in a grower feed to make a new commercial product for aquaculture fish appears to have potential and may require further investigation.

## Acknowledgement

This project was supported by the Animal Industry Funds of the Alberta Agriculture Food and Rural Development. Insects' meal produced at the O.S Longman Laboratory Facility in Edmonton and fish feeding trials were conducted at the Aquaculture Centre of the Community College, Lethbridge and we thank Dr. D Craig Sheppard, Associate Professor of the University of Georgia for his critical review of the manuscript.

Evaluation of partial and total replacement of formulated feed by live insects, *Trichocorixa* Sp. (Heteroptera: Corixidae) on the productive and nutritional response, and postharvest quality of shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931). *Aquaculture Nutrition* 19: 218-226.

9. Bondari, K. and D. C. Sheppard. (1981). Soldier fly larvae as feed in commercial fish production. *Aquaculture* 24: 103-109.
10. Morgan, N.O. and Eby, H.J. (1975). Fly protein production from mechanically mixed animal wastes. *Israel J. Entomol.* 10: 73-81.
11. Helrich, K. (1990). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists.: 15th ed., Arlington, VA, USA.
12. Cohen SA, Michaud DP. (1993). Synthesis of a fluorescent derivatizing reagent, 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate, and its application for the analysis of hydrolysate amino acids via high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 211:279-87.
13. Cohen, S. and K. Deantonis. (1994). Applications of amino acid analysis with 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate. Analysis of feed grains, intravenous solutions and glycoproteins. *J. Chromatogr.* 661: 25-34.
14. SAS Institute. (1992). SAS/STAT User's Guide, Version 6, 4th ed. SAS Institute, Cary, NC.
15. Tacon, A.G.J. (1990). Standard methods for the nutrition of farmed fish and shrimp; 1990-with the permission of Argent Laboratories, Inc.
16. Pike, I.H. (1998). Future supplies of fish meal oil: quality requirements for aquaculture, with particular references to shrimp. *International Aqua Feed Directory and Buyer's Guide, 1997/98.*

17. Teotia, J.S. and B.F. Miller. (1974). Nutritive content of house fly pupae and manure residue. Br. Poul. Sci. 15: 177-182.
18. Calvert CC, Martin RD, Morgan NO. (1969). House fly pupae as food for poultry. *Journal of Economic Entomology* 62, 938-939.
19. Tacon, A.G.J. and C.B. Cowey, (1985) Protein and amino acid requirements. In Fish energetic: new perspectives, edited by P. Tytler and P. Calow. Croom Helm, (Publishers) Ltd., London and Sydney, pp. 155-183
20. Espe, M., Lemme, A., Petri, A., El-Mowafi, A. (2007). Assessment of lysine requirement for maximal protein accretion in Atlantic salmon using plant protein diets. *Aquaculture* 263: 168-178.
21. Nagel, F., Slawski, H., Adem, H., Tressel, R.P., Wysujack, K., Schulz, C., (2012). Albumin and globulin rapeseed protein fractions as fish meal alternative in diets fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.). *Aquaculture* 354-355, 121-127.
22. Nagel, F., von Dannwitz, A., Tusche, K., Kroeckel, S., van Bussel, C.G.J., Schlachter, M., Adem, H., Tressel, R.-P., Schulz, C., (2012). Nutritional evaluation of rapeseed protein isolate as fish meal substitute for juvenile turbot (*Psetta maxima* L.) - impact on growth performance, body composition, nutrient digestibility and blood physiology. *Aquaculture* 357: 357-364.

## القيمة التغذوية لعليقة مطورة من عذارى ويرقات الذباب المنزلي لتغذية اسماك التروت

### *Oncorhynchus mykiss*

ب. ا. خان<sup>1</sup>، لؤي العاني<sup>1</sup>، ر. بيك<sup>2</sup>، ل. كونوردين<sup>2</sup>، و. هيرشي<sup>3</sup>، أ. سليمان<sup>2</sup>

<sup>1</sup>كلية العلوم، جامعة الانبار، الرمادي، العراق

<sup>2</sup>زراعة البرتا، ادمتتون

<sup>3</sup>زراعة البرتا، ليشيرج

### الملخص

النمو وكفاءة التغذية وتناول الغذاء لأسماك التروت *Oncorhynchus mykiss* المغذى على عليقة محضرة من يرقات وعذارى الذباب المنزلي *Musca domestica* ونسبة بروتين 58% تمت مقارنتها مع عليقة الاسماك التجارية ونسبة بروتين 53% . تم احلال 50% من العليقة التجارية بعليقة محضرة من يرقات وعذارى الذباب المنزلي وغذيت الاسماك لمدة 50 يوم والتي اعطت نفس كفاءة الاداء في النمو (11.8% غم / يوم) وبمستوى معنوية اقل من 0.05. الا انه ابدال العليقة التجارية بنسبة 100% بوجبة من عليقة يرقات وعذارى الذباب المنزلي تسبب في انخفاض النمو بحدود 57 - 80% وبمستوى معنوية اقل من 0.01. هذا ربما راجع الى انخفاض الطاقة لمحتوى اليرقات (2.54 - 2.61) مقارنة بالعليقة التجارية والتي تكون 3.62 ومن هذا نستنتج ان احلال 50% من عليقة الاسماك التجارية بعليقة من عذارى ويرقات الذباب المنزلي يعطي نتائج ممتازة .

## Some antibiotics susceptibility of bacteria isolated from the genital system of Awassi ewes In Baghdad

Leqaa majeed Aziz Al-Qasi , Maysam Najj Ahmed  
College of Veterinary , Al-Fallujah University , Al-Fallujah , Iraq

### Abstract

The aims of this study were to investigate genital bacterial infections of ewes in Baghdad city. For this purpose 84 vaginal and uterus samples were taken from 21 ewes. The result refer to that only 11 samples gave negative bacterial growth, while the other 73 samples showed growth of more than one species of bacteria on different media. The bacterial population in vagina (54.8%) higher than in uterus (45.2%). The results of study showed that the isolates were *Staphylococcus aureus* (35.6%), *Escherichia coli* (27.4%), *Pseudomonas aeruginosa* (12.3%), *Streptococcus spp.* (9.6%), *Klebsiella spp.* (8.2%) and *Proteus vulgaris* (6.9%). The *S. aureus* and *E. coli* were the most common type bacterial isolates. The antibiotics susceptibility test reveal that *S. aureus* was highly resistance to Amoxicillin, Penicillin (100%) and whereas low resistance to Rifampicin and Vancomycin (33% and 0%) . *E. coli* showed sensitivity to Vancomycin (10%) and Ciprofloxacin (20%); while was resistance to Amoxicillin (98%) and (95%) Penicillin. *P. vulgaris* was more sensitivity to Ciprofloxacin and Cefotaxime (0%) but resistance to Amoxicillin, Penicillin and Tetracycline (97%, 95% and 91% respectively). The other species included *P. aeruginosa* and *Klebsiella spp.* were resist to Amoxicillin and penicillin in ratio between 96% -100% while they were sensitivity to Ciprofloxacin in 2% - 8.6 %. *Streptococcus spp.* showed sensitivity to Ciprofloxacin (6%) but resistance against Streptomycin and Tetracyclin (100% and 93% respectively).

In this study, Bacteria could producing pathogenicity in genital tract of ewes is likely to be high in Baghdad. therapeutic use of these antimicrobial agents will help to reduce infectious. So, the present experiments were conducted to isolation and identification of bacteria from uterus and vaginal of the genital system in awassi ewes and the susceptibility to different types of antibiotics.

### introduction

The sheep come in the second level after cows in terms of economic importance among farm animals, as it is one of the most important sources of animal protein in the dam part of the need for people to food through saving of milk (5%) and meat (40%), as well as wool (50%) and leather (40%), so it has been established stations for breeding of sheep and goats in many Arab countries, especially the Middle East, including Iraq (1). The importance of studying such microorganisms is related to diseases caused by them due to reduction of the immunity of the reproductive system, especially during the early postpartum period (2).

Reproductive efficiency in the sheep is particularly important because of the seasonal nature of breeding and the relatively small number of lambs produced per ewe per year. There are many diseases are classified as specific and non-specific, cause problems in the reproductive system in the sheep. Some of them cause infertility or reduce productivity with clinical signs which may include genital tract discharge or not. Abortion and infertility can result from infection or from non-infectious causes (3).

A variety of bacteria have been isolated from female genitalia in ewes including *E. coli*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Proteus* and *Bacillus* (3) and the researcher (4) have been isolate *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus Spp.*, *Proteus*, *Micrococcus Staphylococcus epidermid* and *Pseudomonas* from the ewe genital tract. These bacteria may cause genital infection that usually leads to reproductive failure in ewes (5).

Bacteria that cause metritis have been considered as uterine pathogens, potential uterine pathogens or

opportunistic contaminant bacteria which could affect ovarian activity (6). These bacteria include *Arcanobacterium pyogenes*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* and *Bacillus spp.* (7). Studies have also been carried out to investigate the susceptibility to antibiotics for bacteria responsible for infection of the genital system in domestic animals (8, 9).

Hence, the present study was conducted to isolation and identification of bacteria from uterus and vaginal of the genital system in postpartum ewes and the susceptibility to different types of antibiotics.

### Materials and methods

#### Samples

Eighty-four uterus and vaginal swabs were collected from twenty-one postpartum ewes during the period from 2014-2015.

Samples were taken by swabs from the uterus during the first week postpartum and from the vagina during the all period of puriperum, also the swabs of uterus collected by lapratomy during the last three weeks of postpartum.

Each swabs were cultured immediately or stored in a transport media until cultured.

The experimental animal were free from cleared clinical signs except three ewes appeared with signs of bacterial infection diagnosed through the color and smell of uterus fluids.

#### Bacteriological materials and methods and reagent.

In this study used different types of media including: blood agar, Nutrient agar, MacConkey agar, Brain

heart infusion agar and Eosin methylene blue agar for identification of *Escherichia coli*. Media were prepared according to manufacturer's instructions.

#### Inoculation of culture

Uterus and vaginal swabs were used to inoculate the cultures media and the material was streaked with a bacteriological loop for 5 dilutions of the inoculums. These plates were incubated in aerobically at 37°C for 24 hours and after incubation period the findings were recorded.

#### Identification of bacteria

The bacteria isolates identified according to colony morphological and biochemical characters and gram stain. The biochemical tests include: catalase, oxidase, IMVC test (indol production, methyl red, vogas-proskauer and citrate utilization), TSI (triple sugar iron), coagulase test, urease production, gelatine liquefaction, hemolysis test on sheep blood agar and different carbohydrates utilization. The isolation and identification of bacteria was done by using analysis to the methods of (10).

#### Antibiotics susceptibility

Antimicrobial susceptibility tests of the isolates on antibiotics was determined by the disc diffusion technique on Muller Hinton agar using method of Bauer *et al.*(11). Sterile swabs were used to inoculate the suspension by streaking on the prepared and dried Mueller Hinton agar plate evenly. It was then allowed to stay for 3-5 minutes. Sterile forceps were used to place the antimicrobial discs on the inoculated plates. The plate was incubated at 37°C for 18-24 hours. The diameter of each zone of inhibition was measured in

millimeters using a meter rule on the underside of the plate. The zone diameter of each isolate was compared with National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS) 2010 (12). Results were recorded as susceptible, intermediate susceptible or resistant, based on the zone size of each antimicrobial disc used.

#### Results and discussion

From the 84 samples collected, there were only 11 samples gave negative bacterial growth, while the other 73 samples showed growth of more than one species of bacteria on different media. The prevalence of vaginal isolates were (40 / 42) 95% from total positive specimens while uterus isolates were (33 / 42) 78.5% Table (1).

**Table (1): Numbers of vaginal and uterus swabs of ewes which gave positive results for bacterial inoculation on different media**

Animals	Total No. of specimens	Positive specimens	Prevalence
Vaginal of ewes	42	40	95%
Uterus of ewes	42	33	78.5%
<b>Total</b>	<b>84</b>	<b>73</b>	

Results showed there were six genera of aerobic bacteria were identified which include *Staphylococcus aureus* 35.6%, *Escherichia coli* 27.4%, *Pseudomonas aeruginosa* 12.3%, *Streptococcus spp.* 9.6%, *Klebsiella spp.* 8.2% and *Proteus vulgaris* 6.9%. Table (2).

**Table (2): Bacterial species which isolated from ewes vaginal and uterus swabs and its Percentage**

Bacterial species	Uterus		Vagina		Total	
	No.	Percentage (%)	No.	Percentage (%)	No.	Percentage (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	36.4%	14	35%	26	35.6%
<i>Escherichia coli</i>	9	27.3%	11	27.5%	20	27.4%
<i>Streptococcus spp.</i>	3	9.1%	4	10%	7	9.6%
<i>Klebsiella spp.</i>	3	9.1%	3	7.5%	6	8.2%
<i>Proteus vulgaris</i>	2	6%	3	7.5%	5	6.9%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	12.1%	5	12.5%	9	12.3%
<b>Total</b>	<b>33</b>	<b>100%</b>	<b>40</b>	<b>100</b>	<b>73</b>	<b>100%</b>

The study inducted that there were several bacterial types presented in the uterus and vaginal of ewes which can reduce reproductive efficiency. The incidence and consequences of genital tract infections are documented far more extensively for dairy ruminant (13). However, (14) demonstrated that, gram positive bacteria were the most frequently recovered in infected female genital tract. The differences may be attributed to different case history such as previous parturition or bad hygienic condition (15).

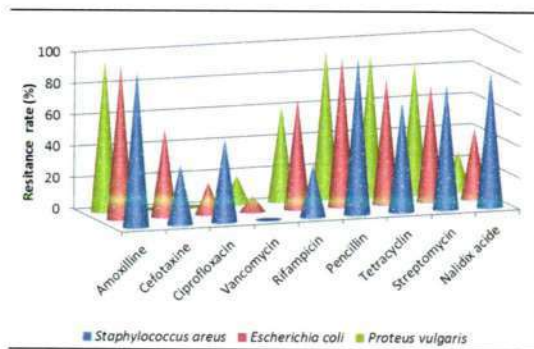
In addition that the vaginal bacteria may get access into the uterus during the peripartum period leading to metritis and endometritis that reduction in the reproductive capacities of ewes (16). Also the genital tract and its defense mechanisms, determent the bacterial infections, therefore; the genital tract become suitable medium for growth bacteria (17). The studies indicated that the ovaries activities have important effected on resistance of genital tract against bacterial

infection. That defense mechanism increased through increase of estrogen hormone, and decreased through increase of progesterone level, so the activity of ovaries could related to invasion of bacteria in genital tract (18).

The results of study showed that bacterial isolates which collected from vaginal and uterus of ewes (table 2) included 6 species of bacterial distributed between vaginal and uterus tract of ewes, these species include *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus spp.*, *Klebsiella spp.* and *Proteus vulgaris*. These results agreement with (18,19), who are reported that the *Staphylococcus aureus* was more bacteria presence in ewes and also agree with (20) which recorded that the *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *lebsiella spp* were the most common genital bacterial isolates observed in ewes who is reported that the *Staphylococcus aureus* was more bacteria presence in ewes.

The antibiotics susceptibility test showed that *S. aureus* was highly resistance to Amoxicillin, Penicillin (100%) and whereas low resistance against Rifampicin and Vancomycin (33% and 0%) . *E.coli* showed sensitivity to Vancomycin (10%) and Ciprofloxacin (20%) while was less sensitivity to Amoxicillin (98%) and (95%) against Penicillin. Also *P. vulgaris* was more sensitivity to Ciprofloxacin and Cefotaxime (0%) but more resistance to Amoxicillin, Penicillin and Tetracycline (97%, 95% and 91% respectively). Figure (1). The other species included *P. aeruginosa* and *Klebsiella* spp. were resist against Amoxicillin and penicillin in ratio between 96% -100% while they were sensitivity to Ciprofloxacin in 2% - 8.6 % . *Streptococcus* spp. showed sensitivity to Ciprofoxacin (6%) but resistance against Streptomycin and Tetracyclin (100% and 93% respectively). Figure (2).

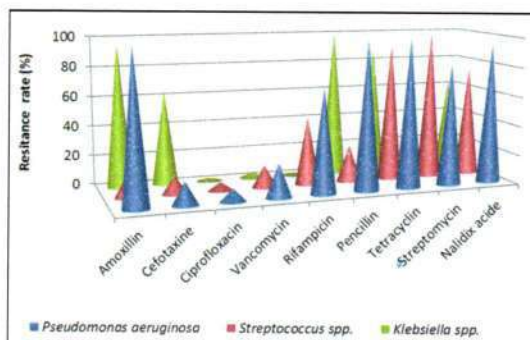
The presence of 11 negative culture may that indicate to these animals have high uterine immune defense (UID) that other experimental animals.



**Figure(1): Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Proteus vulgaris***

## Reference

1. Azawi, O. I. and Al-Mola, M. K.(2010). Effect of season and mating system in Awassi ewes superovulated with FSH on fertilization rate and embryo recovery. Iraq J. of Vet. Scien. , 24(2):75-79.
2. Al-Dahash, S.Y. & Fathalla M.A. (2000). Veterinary Obstetrics. 2nd ed. Book House for Printing and Publishing. Al-Mousl University. PP: 29-31.
3. El-Arabi A. A., Taylor D. J., Logue D. N. and Benothman M. (2013). Isolation and Identification of Bacterial Flora from Reproductive Tracts of Normal Ewes in Glasgow. J Vet Adv, 3(10): 275-280.
4. Al-Zubaidi S. F, Hasson S. O, Ajeel H. H. (2013). Isolation and identification of microflora species at different levels of the ewe genital tract. Journal of Agriculture and veterinary Science, 6(3): 54-57.
5. Shallali A.A; Hussein A. M; Salih, M.M; and Dafalla E. A. (2001). A preliminary report on bacteria isolated from the female genital tract of Sudanese sheep and goats. The Sudan J. Vet.Res. (17): 55-63.
6. Williams, E. J. , Fischer, D. P. , Noakes, D. E. , England, G.C.W., Rycroft, A., Dobson, H., Sheldon, I. M. (2007). The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the



**Figure (2): Antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus* spp. and *Klebsiella* spp.**

these results agreed with (20) who was record to there was an increasing antimicrobial resistance in staphylococcal infection in animals, which is complicating empirical selection of antimicrobial agent in veterinary practice. Also (21) showed that complications of antimicrobial resistance are continuously evolving, in relation to factors such as the site of isolation, sex, age and species of the animal. The (22) indicated that most of bacterial species were sensitivity in high levels to vancomycin these results agreement with present study.

most of bacterial isolates were fully resistance to Amoxicillin and penicillin because that imputed to production of beta-lactamase enzymes which coded by genetic limitations held on plasmids, chromosome or transposons.

The (23) observed that the broad using of antibiotics and iteration the same antibiotic for long time to treated some of diseases lead to appearing of resistance phenomenon against these antibiotics and appearing of high tolerance strains for these antibiotics.

postpartum dairy cow. Theriogenology 68(4): 549-559.

7. Burfeind, O., Bruins, M., Bos, A., Sannmann, I., Voigtsberger, R. and Heuwieser, W. (2014). Diagnosis of acute puerperal metritis by electronic nose device analysis of vaginal discharge in dairy cows. Theriogenology Volume 82, Issue 1, Pages 64-70.
8. Udhayavel, S., Malmarugan, S., Palanisamy, K., and Rajeswar, J. (2013). Antibioqram pattern of bacteria causing endometritis in cows, Vet World 6(2): 100-102.
9. Mshelia, G. D., Okpaje, G., Voltaire, Y. A. S. and Egwu, G. O. (2014). Comparative studies on genital infections and antimicrobial susceptibility patterns of isolates from camels (*Camelus dromedarius*) and cows (*Bos indicus*) in Maiduguri, north-eastern Nigeria. Springer Plus, 3:91.
10. Sneath P.A., Mair N.S., Sharp M.E. and Hott J. G. (1986). Bergey's Manual of systematic Bacteriology. William and Wilkinis, USA.
11. Bauer AW; Kirby WM; Sherris JC; Jurck M. (1996). Antibiotic susceptibility testing by a standard single disc method. American Journal Clinical Pathology 451:493-496.

12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS). (2010). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing : Seventeenth informational supplement.
13. Leotides L., Fthenakis G., Amiridis G., and Saratsis (2000). A matched case – control study of factors associated with retention of fetal membranes in dairy ewes in Southern Greece. *Prev. Vet. Med.* 44:113-120.
14. Bruno P.; Hugo L; Ariel D.; Ana C.; Gabriel M; Felipe Z.; Jeferson F.; Walter L. (2013). Progestin-impregnated intravaginal sponges for estrus induction and synchronization influences on goats vaginal flora and antimicrobial susceptibility. *Animal Reproduction Science* 142. 71-74.
15. Noakes D. E., T. J. Parkin-on and G. C. W. England. (2009). eds. *Veterinary reproduction and obstetrics*. 9th ed. China: Elsevier Limited.
16. Levison W. and Jawetz E. (1994). *Medical microbiology and immunology*. 3<sup>rd</sup> edition. Prentice-Hall Int. Inc., Englewood cliffs, New Jersey-USA. Pp 20-23.
17. Hussain A. and Daniel R. (1992). Phagocytosis by uterine fluid and blood neutrophile and haematological changes in postpartum cows following normal and abnormal parturition. *Theriogenology*, 37:1253-1267.
18. Al-Delemi D. (2005). The normal bacterial flora in the vaginal cavity of Iraqi cows, sheeps, goats and camels during the luteal phase. *Al-Qadisiya J.Vet.Sci.* Vol 4 No.(1): 23-29.
19. Al-Hamedawi, T., Khammas, D. and Al-Ubaidi, A. (2002). Effect of estrus synchronization on vaginal flora and subsequent fertility in ewe. *Iraqi J. Vet. Sci.*, 16:1:73-79.
20. Mshelia GD.; Bilal VT.; Mainal VA.; Okon K.; Mamza SA.; Peter ID. and Egwu GO. (2014). Microbiological studies on genital infections in slaughtered ewes from tropical arid zone of Nigeria. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*. 12(1): 18-22.
21. Hoesktra KA. and Paulton RJ. (2002). Clinical prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus intermedius* in dogs. *J.App. Micro.*, 93(3): 406-413.
22. Stephan , J ; Korn und pramod , M. and Shah Frankfurt , M.” *In vitro* activity of linezolid against *Staphylococcus* spp. Compared to other antibiotics.” *Chemother J.* 11 : 87-9 . 2002.
23. David L.; Paterson, W.; Gottberg, A.V.; Casellas, J.M.; and *et al.*(2001). Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended spectrum BLactamase. *J.Clin.Microb.*,39:2206-2212.

## حساسية الجراثيم المعزولة من الجهاز التناسلي للتعاج العواسي لبعض المضادات الحيوية في بغداد

لقاء مجيد عزيز ، ميسم ناجي احمد

كلية الطب البيطري ، جامعة الفلوجة ، الفلوجة ، العراق

### الملخص

اهداف هذه الدراسة هو التحري عن الاصابات الجرثومية في الجهاز التناسلي للتعاج في مدينة بغداد. ولهذا الغرض اخذت 84 عينة مهبلية ورحمية من 21 نعجة عواسية. اشارت النتائج ان 11 عينة فقط اعطت نمو جرثومي سلبي، بينما 73 عينة اعطت نمواً لأكثر من نوع بكتيري واحد في مختلف الاوساط الزرعية.

اظهرت النتائج ان مجموع الانواع البكتيرية المعزولة من المهبل (54.8%) اكثر من مجموع الانواع المعزولة من الرحم (45.2%). كما اظهرت نتائج الدراسة ان نسب انواع البكتيريا المعزولة كانت *Staphylococcus aureus* (35.6%), *Escherichia coli* (27.4%), *Pseudomonas aeruginosa* (12.3%), *Streptococcus spp.* (9.6%), *Klebsiella spp.* (8.2%) و *Proteus vulgaris* (6.9%). ومن الواضح ان نسبة بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* اكثرها شيوعاً ضمن البكتيريا المعزولة.

اما اختبار الحساسية ضد انواع مختلفة من المضادات الحيوية فكانت بكتريا *S. aureus* عالية المقاومة ضد المضادات Amoxicillin, Penicillin (100%) بينما كانت اقل مقاومة ضد Rifampicin and Vancomycin (33% و 0%). بكتريا *E. coli* اظهرت حساسية ضد المضاد Vancomycin (10%) والمضاد Ciprofloxaine (20%) بينما كانت مقاومة للمضادات Amoxicillin (98%) و Penicillin (95%). وايضاً *P. vulgaris* كانت قليلة الحساسية ضد المضادات Ciprofloxacin و Cefotaxime (0%) وكانت مقاومة ضد المضادات Tetracycline (97%)، (95% و 91% على التوالي). الانواع البكتيرية الاخرى تضمنت *P. aeruginosa* و *Klebsiella spp.* Amoxicillin و Penicillin بنسب تراوحت بين 96% - 100% بينما كانت حساسة ضد Ciprofloxacin بنسبة بين 8.6% - 2%. *Streptococcus spp.* اظهرت حساسية ضد المضاد Ciprofoxacin (6%) ومقاومة ضد المضادات Streptomycin و Tetracyclin بنسبة (100% و 93% على التوالي).

في هذه الدراسة، ان مجموعة الجراثيم التي عزلت ممكن ان تتسبب في امراضية المناطق التناسلية للتعاج والذي قد يكون على مستوى عالي في محافظة بغداد. ان استخدام المضادات الحيوية يساعد في اختزال المحتوى الميكروبي وبالتالي تقليل الاصابة. لذا فان الهدف من هذه الدراسة هو عزل وتشخيص البكتيريا المتواجدة في مهبل و رحم التعاج العواسية واجراء اختبار الحساسية ضد انواع مختلفة من المضادات الحيوية.

## Comparative study between the effect of local and systemic antibiotic on the wound healing of the rabbit

Montaser Mohamed helal

Department of study , vet. Med. College , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

E.mail: Montaser.helal@yahoo.com

### Abstract

This study included the knowledge of the best ways to understand the stages of wound healing visual contact in the skin of adult rabbits. we used (15) Rabbit by three groups each group (5) rabbits (control + group local antibiotic + systemic antibiotic) and we using Tetracycline antibiotic in this study. We see complete healing of wounds rate in the group treated with systemic antibiotic lasted (3) days, while the group treated with local antibiotic drained (4) days compared with the control group, which drained (6) days. The study also addressed the preview of cells that full the space between the edges of the surgical wound and the scar tissue over the edges of the wound. we found the proportion of cells and scar that full the space in the group was treated with systemic antibiotic least when compared to the group which treated with local antibiotic, which recorded a rate of scar tissue less than a third group control group which left without any antibiotic. During the study found that the use of systemic antibiotics is better than local antibiotic use by the speed of wound healing and hide scars on the skin.

**Key word:** wound heeling, local antibiotic, systemic antibiotic.

### Introduction

The wound healing is a complicated, interactive integrative process that commences right after injury invading cellular and chemotaxis activity [1, 2].The wound is a physical bodily injury and characterized by disruption of the normal continuity of body structures. Wounding may cause injury in superficial cutaneous structures and reach to structures underlying the skin [3].The tolerance of injury was a varies with tissue type. Therapeutic considerations are based on the type of skin wound and often determine the amount of tissue damage [4, 5].The present research is to study and emphasize on the results which ,achieved by the previous studies to study the effect of the antibiotic of the healing , the rapid of healing and formation of scar tissue on the wound).

### Wound healing

Wound healing is a complex physiological process that is dependent on a number of inter-related factors. Wound assessment and treatment should be based on an understanding of normal tissue repair and factors affecting the process[6].

The process of wound healing All tissues in the body are capable of healing by one of two mechanisms: regeneration or repair[7]. Regeneration is the replacement of damaged tissues by identical cells and is more limited than repair[8]. In humans, complete regeneration occurs in a limited number of cells for example, epithelial, liver and nerve cells. The main healing mechanism is repair where damaged tissue is replaced by connective tissue which then forms a scar. Wound healing can be defined as the physiology by which the body replaces and restores function to damaged tissues.[9]. Local conditions for good wound healing the provision of a supportive microenvironment at the wound surface is of the utmost importance when trying to maximise a wound's healing potential[10,11]. Maintaining a controlled set of local conditions that is able to

sustain the complex cellular activity occurring in wound healing should be the primary aim of wound management. In simple terms the process of wound healing can be divided into four dynamic phases: vascular response, inflammatory response, proliferation and maturation. There is considerable overlap between these phases, and the time needed by an individual to progress to the next phase of healing depends on various factors.[3,4] Careful assessment should help to identify each stage of wound healing. This is important as treatment objectives may differ as each phase of healing progresses. Inappropriate wound management often occurs due to the practitioner's inability to differentiate between normal and abnormal characteristics associated with wound healing.[12].The vascular response any trauma to the skin which penetrates the dermis will result in bleeding. The damaged ends of blood vessels immediately constrict to minimize blood loss[13,14]. The exposure of blood to the air helps to initiate the clotting process which is accelerated due to platelet aggregation. A blood clot is produced by a complex chain reaction called the coagulation cascade. This is characterized by the formation of a fibrin mesh which temporarily closes the wound and gradually dries out to become a scab. At this stage, wounds usually produce large amounts of blood and serous fluid, which help to cleanse the wound of surface contaminants[15].The inflammatory response tissue damage and the activation of clotting factors during the vascular phase stimulates the release of inflammatory mediators such as prostaglandins and histamine from cells such as mast cells. These mediators cause blood vessels adjacent to the injured area to become more permeable and to vasodilation[16]. This inflammatory response can be detected by the presence of localized heat, swelling, erythema, discomfort and functional disturbance. Although the clinical signs are similar, inflammation

should not be confused with wound infection. The classic signs of inflammation are due to increased blood flow to the area and the accumulation of fluid in the soft tissues. Wound exudate is produced during this stage of healing due to the increased permeability of the capillary membranes[17]. Exudate contains proteins and a variety of nutrients, growth factors and enzymes which facilitate healing. It also has antimicrobial properties. Exudate production, which is most prolific during the inflammatory phase of healing, bathes the wound with nutrients and actively cleanses the wound surface. It also acts as a growth medium for phagocytic cells. However, excessive exudate production can cause skin sensitivities and tissue maceration. Neutrophils are the first type of white blood cell to be attracted into the wound, usually arriving within a few hours of injury[18]. These phagocytic cells have a short life span but provide initial protection against micro-organisms as they engulf and digest foreign bodies. After 2-3 days macrophages become the predominant leucocyte in the wound bed. Their function at this stage is to cleanse the wound[18]. Macrophages are present throughout all stages of the healing process, producing a variety of substances that regulate healing including growth factors, prostaglandins and complement factors (complex proteins). Patients who are immunosuppressed are often unable to produce a typical inflammatory response, so may fail to activate the normal healing process. Slough formation is common during the inflammatory stage and occurs when a collection of dead cellular debris accumulates on the wound surface. It may be creamy yellow due to the large amounts of leucocytes present. Chronic wounds may develop areas of fibrous tissue covering the wound base. This often combines with slough, making it harder to remove[19]. Formation of new tissue in the wound bed will not occur until the macrophages have stimulated the proliferative phase by the release of growth factors and the wound bed has been sufficiently cleansed by the inflammatory process[19]. Macrophages are responsible for control

#### Materials and methods

15 rabbits weighing about 1.5-2 kg. were divided to three groups each group contain (5) animals the first one were treated by tetracycline systemic injection (0.25 Kg/B.W) (Alsharq company, Syria), the second group were treated with tetracycline local ointment and the third group control without any addition. during one week period. The animals were fed a standard laboratory diet and had access to drinking water. The animals were given combination of ketamine (10 mg/kg B.W.) and xylazine (5 mg/kg B.W.) intramuscularly injected to anesthesia the animals. The incision made in the skin of all groups animals about (3) cm long full thickness. The incisions were performed under aseptic conditions on the back of rabbits and then suturing by 4 simple sutures. The rabbits were scarified by ether

inhalation, and removed of skin wound from the body after 5 day of all groups.

#### Results

During the post surgery period, the animals remained healthy, without clinical evidence of infection. The first group in (fig 1) .



(Fig.1)

The healing is very clear and scar tissue is small the period which need to leave the suture is about 3 day and the margin of the wound is disappear.



(Fig.2)

The second group in (fig.2) the healing is happened with scar tissue clear and the wound line is appear in the picture the period which need to leave the suture is about 4 day



(Fig.3)

The third group in (fig.3) the margin of the wound is appear and scar tissue is clear the period which need to leave the suture is about 6 day.

## Discussion

The inflammatory response is initiated very soon after the trauma on wound event, Its the first phase of the wound healing. During this response the wound and surrounding tissues become inflamed and cells, [6]. In addition, the cell surface binding edges of wound have to myofibril contraction, also present of fibroblasts other cells [7]. Based on these precedents it is reasonable to propose that fibrin specific interact and the effect of the tetracycline of the proses of healing [15,17, 19]. this studies evaluated the outside visual only and comparative between the local and systemic antibiotic of the proses of healing [9, 10,11].

## References

1. Cristiano Susin, Tiago Fiorini, Jaebum Lee, Jamie A. De Stefano, Douglas P. Dickinson and Ulf M. E. Wikesjö. (2015) Wound healing following surgical and regenerative periodontal therapy. *Periodontology*.issue-1,83-98.
2. Debby Hwang and Michael Sonick. 2015. Guided Bone Regeneration: Concepts and Materials. Implant Site Development, **98**,153-178.
3. A.K. Shreehari, H.S. Darekar and R. Borthakur. (2015) A comparative analysis of root surface biomodification with ethylene diamine tetra acetic acid and tetracycline hydrochloride: An in vitro scanning electron microscopic study. *Medical Journal Armed Forces India*.**101**,45-48.
4. A Monje, AR Kramp, E Criado, F Suárez-López del Amo, C Garaicoa-Pazmiño, J Gargallo-Albiol and H-L Wang. (2015) Effect of periodontal dressing on non-surgical periodontal treatment outcomes: a systematic review. *International Journal of Dental Hygiene*, n/a-n/a.**103**, 417-420.
5. Maria Lúcia R de Rezende, Pedro T.G. Coesta, Rodrigo C. de Oliveira, Samira Salmeron, Adriana C.P. Sant'Ana, Carla A. Damante, Sebastião L.A. Gregghi and Alberto Consolaro. (2014) Bone Demineralization With Citric Acid Enhances Adhesion and Spreading of Preosteoblasts. *Journal of Periodontology* **86**:1, 146-154.
6. Massimo de Sanctis and Marco Clementini. (2014) Flap approaches in plastic periodontal and implant surgery: critical elements in design and execution. *Journal of Clinical Periodontology*.issue-**15**,108-122.
7. Hidetoshi Shimauchi, Eiji Nemoto, Hiroshi Ishihata and Masatsugu Shimomura. (2013) Possible functional scaffolds for periodontal regeneration. *Japanese Dental Science Review* **49**, 118-130.
8. Jaeri Lee, Jung-Chul Park, Ui-Won Jung, Seong-Ho Choi, Kyoo-Sung Cho, Yoo-Kyoung Park and Chang-Sung Kim. (2014) Improvement in periodontal healing after periodontal surgery supported by nutritional supplement drinks. *Journal of Periodontal & Implant Science* **44**, 109.
9. Johan A. J. Keestra, Wim Coucke and Marc Quirynen. (2013) One-stage full-mouth disinfection combined with a periodontal dressing: a randomized controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, n/a-n/a.**92**, 111-114.
10. Ahmed Y. Gamal and Vincent J. Iacono. (2013) Enhancing Guided Tissue Regeneration of Periodontal Defects by Using a Novel Perforated Barrier Membrane. *Journal of Periodontology* **84**:7, 905-913.
11. Daniela Leal Zandim, Fábio Renato Manzolli Leite, Vanessa Camila Silva, Beatriz Maria Valério Lopes, Luiz Carlos Spolidorio and José Eduardo Cezar Sampaio. (2013) Wound healing of dehiscence defects following different root conditioning modalities: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Investigations* **17**, 1585-1593.
12. Roberto Farina, Anna Simonelli, Alessandro Rizzi, Mattia Pramstraller, Alessandro Cucchi and Leonardo Trombelli. (2013) Early postoperative healing following buccal single flap approach to access intraosseous periodontal defects. *Clinical Oral Investigations* **17**, 1573-1583.
13. Young-Taek Kim, Ulf M.E. Wikesjö, Ui-Won Jung, Jung-Seok Lee, Tae-Gyun Kim and Chong-Kwan Kim. (2013) Comparison Between a  $\beta$ -Tricalcium Phosphate and an Absorbable Collagen Sponge Carrier Technology for rhGDF-5–Stimulated Periodontal Wound Healing/Regeneration. *Journal of Periodontology* **84**:6, 812-820.
14. Sujeet Vinayak Khiste, V. Ranganath and Ashish Sham Nichani. (2013) Evaluation of tensile strength of surgical synthetic absorbable suture materials: an in vitro study. *Journal of Periodontal & Implant Science* **43**, 130-132.
15. Shlomo Matalon, Avital Kozlovsky, Anda Kfir, Shifra Levartovsky, Yardena Mazor and Hagay Slutzky. (2013) The effect of commonly used sutures on inflammation inducing pathogens – An in vitro study. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* **56**,123-125.
16. K.S. Hassan, A.S. Alagl and A. Abdel-Hady. (2012) Torus mandibularis bone chips combined with platelet rich plasma gel for treatment of intrabony osseous defects: clinical and radiographic evaluation. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **41**, 1519-1526.
17. AM Genovesi, M Ricci, O Marchisio and U Covani. (2012) Periodontal dressing may influence

the clinical outcome of non-surgical periodontal treatment: a split-mouth study. *International Journal of Dental Hygiene*. issue-4, 284-289.

18. Richard Koop, Joe Merheb and Marc Quirynen. (2012) Periodontal Regeneration With Enamel Matrix Derivative in Reconstructive Periodontal Therapy: A Systematic Review. *Journal of Periodontology* 83:6, 707-720.

19. Daniele Cardaropoli, Lorenzo Tamagnone, Alessandro Roffredo and Lorena kGaveglia. (2012) Treatment of Gingival Recession Defects Using Coronally Advanced Flap With a Porcine Collagen Matrix Compared to Coronally Advanced Flap With Connective Tissue Graft: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology* 83:3, 321-328.

## دراسة مقارنة بين تأثير المضاد الموضعي و الجهازى على شفاء الجروح فى الارانب

منتصر محمد هلال

قسم الدراسات ، كلية الطب البيطرى ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### الملخص

تضمنت هذه الدراسة معرفة افضل الطرق لفهم مراحل شفاء الجروح عيانيا فى جلد الارانب البالغة. اذ تم استخدام (15) ارنب بواقع ثلاث مجاميع تكونت كل مجموعة من (5) ارنب ( سيطرة + مجموعة مضاد حيوي موضعي +مضاد جهازى) وتم استخدام مضاد التتراسايكلين فى هذه الدراسة. اذ لوحظ ان معدل الشفاء التام للجروح فى المجموعة التى عولجت باستخدام المضاد الحيوي الجهازى استغرقت (3) ايام فى حين ان المجموعة التى عولجت باستخدام المضاد الحيوي الموضعي استغرقت (4) ايام بالمقارنة مع مجموعة السيطرة التى استغرقت بدورها (6) ايام. كما تناولت الدراسة معاينة الخلايا التى شغلت الفراغ الحاصل نتيجة الشق الجراحي بين حافتي الجرح وكذلك نسبة ظهور الندب فوق حافتي الجرح. اذ تبين ان نسبة الندب والخلايا التى شغلت الفراغ فى المجموعة الاولى التى عولجت بالمضاد الحيوي الجهازى كانت الاقل اذا ما قورنت بالمجموعتين الثانية التى عولجت بالمضاد الحيوي الموضعي التى سجلت نسبة ندوب بدورها اقل من المجموعة الثالثة مجموعة السيطرة التى تركت من غير اي مضاد حيوي. تبين من خلال الدراسة ان استخدام المضاد الحيوي الجهازى افضل من استخدام الموضعي من خلال سرعة التئام الجرح واخفاء الندوب الظاهرة على الجلد.

الكلمات المفتاحية: التئام الجروح، مضاد حيوي موضعي، مضاد حيوي جهازى

## Antifungal and Antibacterial activity of Fig Fruit Latexes from two Ficus species Plants

Noor Maath Ahmed

Department of Biology , College of Science , Tikrit University , Tikrit , Iraq

### Abstract

This study evaluate the antimicrobial effect of the fig latex (*Ficus carica* and *Ficus elastica*) against some pathogenic bacteria, such as (*Escherichia coli* stool patient, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli* UTI and *Serratia spp.*, *Aeromonas hydrophila*, and *Proteus mirabilis*), and yeasts (*Candida tropicalis*, *Candida albicans*, *Candida sojae*, *Candida kefyr*, *Candida cruzi*, and *Cryptococcus neoformans*) these samples obtained from the laboratory of fungi and bacteriology from Baghdad University / College of Science / Department of biotechnology. The results obtained showed that the *Ficus carica* latex has exhibited more antibacterial activity than *Ficus elastica*. While both *Salmonella spp* and *Escherichia coli* stool patient were being more sensitive than other pathogenic bacteria in this study, and also antifungal activity of *Ficus carica* latex was more inhibition effect than *Ficus elastica* m using agar well diffusion method for determination of inhibitory zone diameter, also both *Candida tropicalis* and *Candida albicans* were recorded the higher inhibition zone (30mm, 25mm) respectively than other yeasts (*Candida sojae*, *Candida kefyr*, *Candida cruzi*, and *Cryptococcus neoformans*). The study concluded that fig fruit latex have antimicrobial activity against some pathogenic bacteria especial Enteric bacteria and some yeast species *Candida*, *Cryptococcus*.

**Keywords:** Antifungal activity, antibacterial activity, latex, *Ficus carica*, *Ficus elastica*.

### Introduction

Ficus, the fig genus constituted of the largest genera of medicinal plants over 800 species of woody plants, trees, shrubs, vines epiphytic and hemi epiphytic in the family Moraceae, various parts of the plant like bark, leaves, tender shoots, fruits, seeds and latex are medicinally important [1],[2]. The fig species of greatest commercial importance is *Ficus carica* L. (common fig), belongs to the family Moraceae which is one of the oldest fruits in the world [1]. Other species of Ficus are *Ficus elastic* L. called rubber bush, rubber plant or India rubber bush[3], possesses antimicrobial activity ( antibacterial and antifungi), and also anti-inflammatory activity of skin diseases [4].

Some active constituents found in *Ficus carica* latex include natural furocoumarins, phytosteroids, 18 fatty acids and certain amino acids, phytosterol, polyunsaturated fatty acids and phenolic acids [5,6]. *F.carica* latex exerted powerful anti-antibacterial properties against several species of bacteria, and some fungi [7], also the latex of *F. elastica* has been analyzed for its phytochemicals as an intermediate energy source [8], but *F. elastic* latices did not have any antiviral activity [9].

This study was aimed to present an overview of latex extracts against some pathogenic bacteria and yeasts in this plant that are the causative agents of bacterial infections and important fungi.

### Materials and Methods

This study was carried out in May / 2015 in the laboratories of Biotechnology Department–College of Science / Baghdad University.

#### Samples collection:

#### Plant material and extraction

*Ficus carica* and *Ficus elastic* fruits were collected in May / 2015 from the home garden in Baghdad were

sterilized using membrane was confirmed sterilizer plant classification by Dr. Ali AL-Moussawi / Baghdad University/ College of Science / Department of Biology .

This fig fruit was cut open from its top, then slightly squeezed to collect a few drops of latex in a sterile tube then stored at (-30°C) until further use.

And then sterilized latexes through a sterile filter paper size of 0.45 µm and then used antibacterial and antifungal samples.

#### Microbial strains:

Microorganisms (Bacteria and yeasts) samples were obtained from culture collection in the laboratory of fungi and bacteriology from Baghdad University/ College of Science/Department of biotechnology, and then Diagnostic by VITEK® System.

VITEK device is used to diagnose types of bacterial isolates and yeasts after ascertained mediated biochemical initial tests, as well as determine the minimum inhibitory concentrations (MIC), and the impact of bacterial and fungal antigens, and the device is made from Cassette and card holder Reagent cards containing (64) hole each one represents a material foundation or the center to conduct the test, and nd plastic pipes as well as device Densi Chek and the unity of the introduction of information and taking them out as It is shown in the figure(1).

Determine the diagnosis Identification Level object level: comparing and taxonomic characteristics of the device is determined diagnosis object through his experiences map level, be given to the possibility of the object relative confidence level, for example, if the probability ratio of 96-99% is at the excellent level of confidence. (2014Biomerieux),

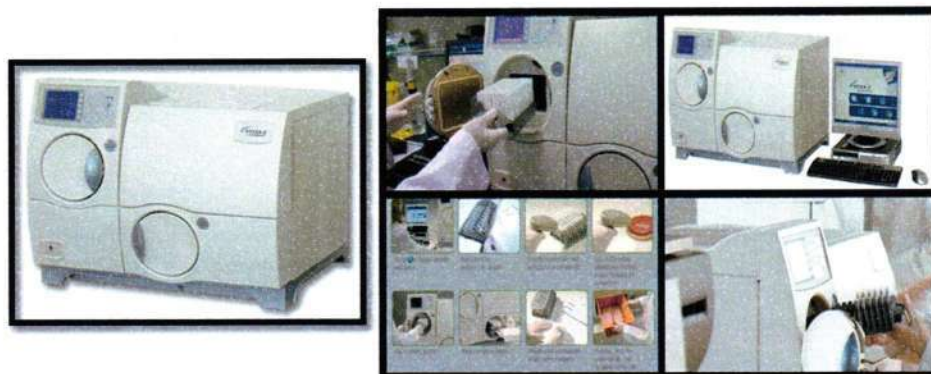


Figure (1) : (Biomérieux, 2014) VITEK® device

We used in this study two opportunists pathogenic yeasts (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida cruzi*, *Candida kefyr*, *Candida sojae* and *Cryptococcus neoformans*). And The test pathogenic bacteria used in this study included, two gram positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*) and seven gram negative bacteria (*Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Serratia spp.*, and *Aeromonas hydrophila*)

#### Antimicrobial assay

##### Well diffusion method

Mueller-Hinton agar (MH) and Sabouraud Dextrose agar (SDA) medium were respectively used for bacteria and fungi growth. Microbial cultures, freshly

grown at 37°C/30°C were appropriately diluted with sterile normal saline solution to obtain the cell suspension at 10<sup>5</sup> CFU: ml. To evaluate Antimicrobial activity, an agar well diffusion method was used as described by [10]. The organisms were spread on MH and SD agar plates by cotton swab. Wells of 6 mm diameter were punched into the agar medium and filled with 100 µl of fig latex. The plates were incubated for 24 h at 37°C for bacteria and 72 h at 30°C for yeasts. Antimicrobial activity was evaluated by measuring the inhibition zone diameter against the test organisms.

#### Results and discussion

The results of antimicrobial activity (antibacterial and antifungal activity) of latex of fig fruit are indicated in table (1).

Table (1): It showed that the latex of *F. carica* and *F. elastica* fruit inhibition zone against the pathogenic bacteria and yeasts

Strain No.	Bacterial spp and yeast spp.	Inhibition zone (mm) of <i>F. carica</i>	Inhibition zone (mm) of <i>F. elastica</i>
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10±0.00	10± 0.23
2	<i>Staphylococcus aureus 1</i>	14± 0.23	33± 0.40
3	<i>Staphylococcus aureus 2</i>	19± 0.10	25± 0.23
4	<i>Staphylococcus aureus 3</i>	15± 0.23	12± 0.22
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29± 0.11	10± 0.11
6	<i>Aeromonas hydrophila</i>	7± 0.02	8± 0.11
7	<i>Proteus mirabilis</i>	6± 0.02	9± 0.00
8	<i>E. coli UTI pat.</i>	20± 0.01	12± 0.43
9	<i>E. coli standard</i>	20± 0.34	15± 0.45
10	<i>E. coli PBR 322</i>	15± 0.23	10± 0.34
11	<i>E. coli stool pat.</i>	28± 0.11	26± 0.45
12	<i>E. coli stool pat.</i>	30± 0.23	30± 0.14
13	<i>E. coli Amp (re) Tel (re)</i>	12± 0.22	19± 0.22
14	<i>Streptococcus pyogenes</i>	20± 0.11	22± 0.00
15	<i>Salmonella spp.</i>	30± 0.77	20± 0.00
16	<i>Klebsiella spp.</i>	22± 0.45	25± 0.76
17	<i>Klebsiella pneumonia</i>	20± 0.76	12± 0.22
18	<i>Serratia spp.</i>	19± 0.43	22± 0.23
19	<i>Candida albicans</i>	25± 0.45	26± 0.12
20	<i>Candida tropicalis</i>	30±0.23	25± 0.67
21	<i>Candida cruzi</i>	14± 0.20	17± 0.00
22	<i>Candida kefyr</i>	19± 0.23	12± 0.22
23	<i>Candida albicans</i>	22± 0.34	17± 0.23
24	<i>Candida tropicalis</i>	19± 0.23	12± 0.12
25	<i>Candida sojae</i>	22± 0.12	19± 0.00
26	<i>Cryptococcus neoformans</i>	12± 0.34	10± 0.00

It showed that the latex of *F. carica* fruit exhibited strong activity against the gram negative bacteria *Escherichia coli* stool patient and *Salmonella spp.* (30 mm in diameter as inhibition zone), as compared with *F. elastica* latexes was recorded against *Staphylococcus aureus* as higher inhibition zone diameter (30mm) while gram negative bacteria *Escherichia coli* stool patient was recorded (30mm), the next bacteria were sensitive to the *F. carica* latex *Pseudomonas aeruginosa* (29 mm in diameter as inhibition zone), *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli* UTI and *Serratia spp* which recorded (22 mm, 20 mm, 19mm) respectively, but these bacteria, *Aeromonas hydrophila*, and *Proteus mirabilis* appeared to be less sensitive to the *F. carica* latex, the inhibition zone were (7 mm , 6 mm) respectively.

While it showed moderate activity against gram positive bacteria *Streptococcus pyogenes* was recorded 20 mm in diameter and *Staphylococcus aureus* (19 mm in diameter as inhibition zone).

*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* stool pat were the most sensitive to the latex of *F. elastica*, while the bacteria *Escherichia coli* stool pat, *Klebsiella spp*, *Streptococcus pyogenes* and *Salmonella spp* were recorded (26mm, 25mm, 22mm, 20mm) respectively, but *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* and *Aeromonas hydrophila* were recorded inhibition zone diameter (12mm, 10 mm, 10 mm, 9 mm, 8mm) respectively.

These results revealed that a latex extract of fig had inhibition of the growth of all bacterial species used in this study. They indicated that the latex of fig fruit was high against gram positive bacteria as compared with gram negative bacteria [7]. From the same table different inhibitory effects can be observed the latex of *F. carica* exhibit more inhibitory effect than *Ficus*

#### References

- 1- Epharaim P.L.;Helena .M. P.; Alison. D. P. and Robert. A. N. (2008).*Ficus spp.*(fig) : Ethnobotany and potential as anti-cancer and anti-inflammatory agents, J. of Ethnopharmacology. 119(2), pg : 195-213.
- 2- Jander, EA. and Machado, KC. (2008). Evolutionary ecology of figs and their associates: Recent progress and outstanding puzzles. *Ann Rev Evol. Syst.*, 39:439-458.
- 3- Zhengyi, Wu/Raven, Peter H./Deyuan, Hong. 2013. *Flora of China*.
- 4- Ogunwande IA, Flamini G, Adefuye AE, Lawal NO, Moradeyo S, Avoseh NO. Chemical compositions of *Casuarinaequisetifolia* L., *Eucalyptus torelliana* L. and *Ficuselastica* Roxb. exHornem cultivated in Nigeria. *South African Journal of Botany*. 2011;77:645-649
- 5- Rubnov S, Kashman Y, Rabinowitz R, Schlesinger M, Mechoulam R. (2001). Suppressors of cancer cell proliferation from fig (*Ficus carica*) resin: isolation and structure elucidation. *J Nat Prod.*, 64:993-996.

elastic which may be to the difference in the amount of active inhibitory compounds excreted by each plant.

On the other hand, the antifungal activity of latex extract of fig showed a high inhibitory effect against all yeast strains. It was recorded inhibition zone diameter ranged from 30 mm to 12 mm with fig latex of *F. carica*, as compared with *F. elastica* latex it was recorded inhibition zone diameter ranged from 25 mm to 10 mm. The highest inhibition zone diameter was recorded against *Candida tropicalis* (30mm), while it was recorded with *F. elastica* ( 25mm in diameter as inhibition zone), and *Candida albicans*, *Candida sojae*, *Candida kefir* which recorded (25 mm, 22 mm,19 mm) respectively while the lowest inhibition zone diameter was recorded against *Candida cruzi*, and *Cryptococcus neoformans*( 14mm , 12mm ) with *F. carica* latex , as compared with *F. elastica* latex the yeasts *Candida albicans* the

highest value for *Candida albicans* (26 mm) , and *Cryptococcus neoformans* also the lowest value (10mm) . The results in table 1 showed that latex of *F. carica* was more active than of *F. elastica* for the yeasts. So compared with Rashid and Mahdi [11] showed that The latex fig ( *Ficus carica*) showed higher activity against these bacteria *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* , were recorded (15 mm IZD) for each of them, but *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* seemed to be resistant which showed (11 mm, 10 mm IZD), and the fungi *Aspergillus niger* (18 mm IZD) , *Candida albicans* (16 mm IZD), *Fusarium oxysporum* (17 mm IZD).

This study was indicated that fig latex extracts have antimicrobial activity against some pathogenic infections.

- 6- Canal JR, Torres MD, Romero A, Perez C. (2001). A Chloro- form extract obtained from a decoction of *Ficus carica* leaves improves the cholesterolaemic status of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Acta Physiol Hung*, 87:71-6.
- 7- Mi-Ran Jeong<sup>1</sup>, Hye-Young Kim<sup>2</sup> and Jeong-Dan Cha. (2009). Antimicrobial Activity of Methanol Extract from *Ficus carica* Leaves Against Oral Bacteria *Journal of Bacteriology and Virology*. 39(2): 97 – 102.
- 8- Augustus, G.D.P.S., Seiler, G.J., 2011. *Ficus elastica* – the Indian rubber tree – an underutilized promising multi-use species. *Biomass Bioenergy* 35, 3247–3250.
- 9- Mahmoud SYM, Gad-Rab SMF, Hussein N, Shoreit AAM (2010). Antiviral activity of latex from *Ficus nitida* against plant viruses. *Global J. Biotechnol. Biochem*. 5:198–205.
- 10- Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sherris, J. C. and Tenckhoff, M. (1966). "Antibiotic

susceptibility testing by a standardized single disc method." AM. J. Clin. Pathol., 45: 149-158.  
11- Rashid, K.I. and Mahdi, N.M. (2014). Antimicrobial activity of fig (*Ficus carica* Linn.) leaf

extract as compared with latex extract against selected bacteria and fungi. J. of Babylon University / Pure and Applied Sciences. 22.(5) : 1620-1626.

## الفعالية المضادة للفطريات والبكتيريا لحليب التين لنوعين من نبات التين

نور معاذ احمد

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### الملخص

تقدم هذه الدراسة تقدير تأثير المضادات المايكروبية لحليب التين (*Ficus elastica* ، *Ficus carica*) ضد بعض انواع البكتيريا المرضية (*Escherichia coli stool pat* , *Salmonella spp*, *Staphylococcus aureus* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Klebsiella spp.* , ) (*Candida* والخمائر *Escherichia coli UTI and Seratia spp*, *Aeromonas hydrophila*, and *Proteus mirabilis*) *tropicalis* , *Candida albicans*, *Candida sojae* , *Candida kefir* , *Candida cruzi* , , and *Cryptococcus neoformans*). هذه العينات التي تم الحصول عليها من المختبر من الفطريات والجراثيم من جامعة بغداد / كلية العلوم / قسم التكنولوجيا الحيوية. وقد أظهرت النتائج المتحصل عليها ان *Ficus carica* ابدى فعالية عالية كمضاد بكتيري اكثر من *Ficus elastica* ، حيث ان كلا البكتيريا *Salmonella spp* و *Escherichia coli stool pat* كانا اكثر حساسية من الانواع البكتيرية الاخرى في هذه الدراسة. وكذلك ابدى *Ficus carica* فعالية عالية كمضاد للخمائر اكثر من *Ficus elastica* باستخدام طريقة الحفر في الاكار لتحديد قطر المنطقة المثبطة ، اذ سجل الخمائر *Candida tropicalis* و *Candida albicans* أعلى تثبيط (30mm ، 25mm) على التوالي اعلى من الانواع الاخرى من الخمائر. ونستنتج من الدراسة ان حليب فاكهة التين لها فعالية مضادة للمايكروبات ضد بعض أنواع البكتيريا خصوصاً التي البكتيريا المعوية وبعض أنواع الخميرة المبيضات *Candida* و *Cryptococcus* .

**الكلمات المفتاحية:** فعالية المضاد الفطري ، فعالية المضاد البكتيري ، حليب التين ، التين الشائع ، التين الزغبي.

## Effect of adding different levels of rosemary powdered in some physiological and antioxidant traits for Japanese quail females under oxidative stress condition

Ahmed T. Taha , Mohammed M. Hussein

Department of Animal Resources , College of agriculture , Tikrit University , Tikrit , Iraq

[Dr.att76@Gmail.com](mailto:Dr.att76@Gmail.com)

### Abstract

This study was investigate the influence of different levels of powdered leaves of rosemary supplementation (2, 4 gm / kg diet) with or without oxidative stress inducing by hydrogen peroxide. On physiological and antioxidant traits of Japanese, quail females. (180) bird (20) week old randomly divided into six group. With three replicates per group, each replicate constitutes (10) bird as follows:

Group 1 (T1): Feed with standard diet and normal water. Group 2 (T2): Treatment of the hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) concentration (0.5%) in the drinking water. Group 3 (T3): a standard diet + powder rosemary leaf concentration (2 gm / kg diet). Group 4 (T4): a standard diet + powder rosemary leaf concentration (2gm / kg diet) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration (0.5%) in the drinking water. Group 5 (T5): a standard diet + powder rosemary leaf concentration (4gm / kg diet). Group 6 (T6): a standard diet + powder rosemary leaf concentration (4gm / kg diet) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration (0.5 %) in the drinking water.

There were significantly increasing in albumin, glucose, cholesterol, uric acid, GOT and GPT concentration with adding H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to drinking water but adding rosemary act reverse that.

Treatments with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> leads to significantly increasing in Malondialdehyde (MDA) level accompanied by significant decreasing of Glutathione (GSH) level for Serum, Liver and Magnum tissue. Whenever (T3) lead to increasing (GSH) level and decreasing (MDA) level in same organs.

We conclude from our study the rosemary can act as antioxidant when adding in Japanese quail diets.

### Introduction

Reactive oxygen species (ROS) are highly reactive ions and "free radicals"(chemicals containing atoms with an unpaired electron in its outer orbit) involving oxygen molecules. "Free radicals" are present that do not contain oxygen, but ROS refers to free radicals containing oxygen molecules [1, 2]. That's have short lived, unstable and react with other molecules to achieve stability. Source of ROS's Byproduct of cellular respiration (presence of redox cycling compounds).Synthesized by enzyme systems - phagocytic cells, neutrophils and macrophage (NADPH oxidase, myeloperoxidases). Exposure to ionizing radiation Smoking, herbicides, pesticides, fried foods, etc.ROS s production from Chain reaction, a free radical steals an electron from a nearby compound forming a new free radical .Free radicals may steal electrons from cellular structures or molecules. By normal cellular respiration - electron transport system-often oxygen is the terminal electron acceptor in the cell mitochondria [3].

Free radicals generated by normal processes do become harmful if inadequate anti-oxidant defenses are present. A balance between production and removal/inactivation is required.

When free radicals are present in excess of the defense mechanism's ability to control them is when damage may occur [4] and [3]. Anti-oxidants - compounds which will provide electrons to free radicals to neutralize them. The compounds are able to accommodate the loss of an electron without becoming reactive. Anti-oxidants: Vitamin E, SOD, catalase, glutathione peroxidase, Vitamin C, beta-carotene, and coenzyme Q [5].

*Rosemarinus officinalis* L. an evergreen perennial

aromatic shrub belonging to the family *Labiatae*, commonly called Rosemary, native to the north and south coasts of the Mediterranean Sea and is a common household plant [6]. Rosemary is commonly used as a spice and flavoring agent in food processing [7]. Rosemary composed of dried leaves and flowers constitutes a particularly interesting source of biologically active phytochemicals as it contains a variety of phenolic compounds including carnosol, carnosic acid, rosmanol, 7-methyl-epirosmanol, isorosmanol, rosmadial and caffeic acid, with substantial *in vitro* antioxidant activity [8 , 9] Among the herbal extracts reported to have antioxidant activity, rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) is one of the most widely commercialized plant extracts; it is used as a culinary herb for flavoring and as an antioxidant in processed foods and cosmetics [10]. The present study designed to evaluate the effects of rosemary in some blood biochemical treats and to determining ability to act as antioxidant material for Japanese quail females exposed to oxidative stress induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

### Material and Methods

This study conducted in the poultry farm College of Agriculture / Tikrit University during the period from 20/November/2012 to 17/December /2013. Aiming investigated influence adding different levels of rosemary leaves powdered on some physiology traits and antioxidant status in Japanese quail female reared under experimental oxidative stress condition induced by hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

A total of 180 bird of Japanese quail female at twenty week of old were randomly allocated into six treatments groups each containing 30 bird into three

replicates( 10 birds / replicate) , the birds housed in cages (80 \*40\*50 cm) and distributed as flowing :

T1: Control group feed with standard diet and normal water.

T2: The birds feeding with standard diet, but adding (0.5%) of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to the drinking water.

T3: The birds feeding with standard diet + (2gm/kg diet) rosemary leaves powdered and normal water.

T4: The birds feeding with standard diet + (2gm/kg diet) rosemary leaves powdered and adding (0.5%) of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to the drinking water.

T5: The birds feeding with standard diet + (4gm/kg diet) rosemary leaves powdered and normal water.

T6: The birds feeding with standard diet + (4gm/kg diet) rosemary leaves powdered and adding (0.5%) of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to the drinking water.

The quails received a basal diet [maize and soya bean based 19.87% protein; 2904 kcal /kg metabolisable energy (ME)], formulated to meet the[11] requirements of all nutrients including vitamins and minerals .The content of the basal diet is presented in Table(1).

At the 56<sup>th</sup> day of the study, 4 quails from each subgroup were randomly selected and decapitated. During the euthanasia, blood samples collected into non-heparinized tubes. Serum obtained from tubes by centrifugation at 3000 rpm for 10 min at 4°C. to measuring blood biochemical treats (total protein concentration; albumin concentration; cholesterol concentration ;uric acid concentration, those test complete with using (kit) producing from (Biolabo SA); GOT enzyme activity and GPT enzyme activity test complete with using (kit) producing from (Randox Laboratories LTD) ,Globulin concentration was measured by using flowing formula [12].

Globulin concentration = Total protein concentration - Albumin concentration

Antioxidant and lipid peroxidation status:

#### In blood serum:

Used method of Thiobarbituric acid interaction to determining molondialdehyde (MDA) level [13] to measuring lipid peroxidation in blood serum. Glutathion concentration in blood serum determining by method of [14].

#### In liver and magnum tissues:

The liver and magnum were removed from quails following euthanasia and homogenized to determining antioxidant status by measuring glutathione concentration (GSH) by method [15] and MDA concentration by [16].

#### Statistical analyses:

Statistical analyses was performed using the completely randomized design (CRD). Duncan's Multiple Range Test was employed for identifying the significant differences among the different treatments by using statistical analysis software [17].

**Table 1. Ingredients and chemical composition of the basal diet.**

Ingredient	%
Corn, grain	56
Wheat	3
Soybean meal	29
Vitamin mineral premix*	5
Di calcium phosphate	4.7
Salt	0.3
Sun flour oil	2
Total	100%
Calculated chemical composition	
Metabolisable energy kcal/kg diets	2904
Protein%	19.87%
Ca	2.06%
P	0.36%
L Lysine	1.12%
Methionine	0.47%
Methionine +cysteine	0.78

\* applied the following per kilogram of diet: 3.000.000 IU vitamin A,1.200.000 IU vitamin D3, 0.36 g vitamin E, 1 mg vitamin K, 3 mg vitamin B1, 4 mg vitamin B2, 3 mg vitamin B6, 0.003 mg vitamin B12, 10 mg pantethonic acid, 20 mg niacin, 40 mg folic acid, 1 g choline, 0.3 mgbiotin, 6 mg Cu, 300 mg I, 100 mg Fe, 0.2 mg Se, 60 mg Mn, 50 mg Zn.b Metabolisable energy content of diets was estimated using the equation of Carpenter and Clegg

## Results and Discussion

We noted from table (2) no significant differences in total protein and globulin concentration among all study treatments, whenever appear significantly decreasing in serum albumin concentration of 6<sup>th</sup> treatment compared with 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> and 5<sup>th</sup> treatments.

With respect to serum cholesterol note significantly superiority (P≤ 0.05) of the second and fourth treatment compared to third and fifth treatment that dealt birds in basic ration plus (2and 4 g rosemary / kg feed), while there were no significant differences between the treatments compared control group.

As can be seen from the table(2) significant increase (P≤ 0.05) in glucose concentration of the second treatment (treatment of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) while we find a significant decrease (P≤ 0.05) for the third and fifth treatments with the use of rosemary leaves powder at concentration (2and 4 g / kg feed ), respectively, the fourth treatment was able to return the status of the stressful bird to case approach of the natural state, while we find that the sixth treatment (4 g / kg feed + water with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) recorded significantly superior (P≤ 0.05) compared to the control ,third and fifth treatments

The significantly decline (P≤ 0.05) in serum glucose concentration in third and fifth treatment may be due to rosemary ability to stimulate insulin secretion from beta cells in the pancreas, and thus helps to reduce glucose level in blood [18]. Or that combines with glucose in blood and turn it into a composite non-absorbable [19] . we can conclude that treatment stressful birds with (2 g Rosemary / kg feed) was able to re stressful birds to case approach the normal

state, while we find treatment with high concentration (4 g / kg feed) can not the performance the same role, The third treatment which addressed (2 g/kg feed) from rosemary leaves powder significantly reduced ( $P \leq 0.05$ ) uric acid concentration compared to the second, fourth and sixth treatment, and notes that the second treatment (oxidative stress) had the highest concentration of uric acid.

The rise uric acid concentration may reflect the amount of crash protein for the purpose of processing glucose from non-Carbohydrate sources [20], which is usually associated with a rise in the adrenal cortex is responsible for bringing cases of stress hormones [21].

using rosemary leaves powder act significantly decrease ( $P \leq 0.05$ ) in uric acid concentration and this attributed with plants ability to improve the

antioxidants status as indicated in table (3), which may have an impact on metabolic processes in the body, including reducing dependence on the production of glucose from non-Carbohydrate sources (such as fats and proteins).

The oxidative stress is entry point to many abnormal situations experienced by a bird of stressful situations: (disease, high production of eggs, temperature, climate, nutrition, medicines, vaccines and other) and the ability of the plant to reduce the concentration of uric acid in serum may be due high content of phenolic compounds [22] such as monoterpenes (eteric olis), diterpene phenols (carnosic acid, carnosol, rosmanol, epirosmanol, isorosmanol and methyl carnosate), phenolic acids, (rosmarinic acid), flavonols, and triterpene acids (ursolic acid, oleanolic acid and butilinic acid).

**Table (2): Effect of adding different levels of rosemary leaves powder on some blood serum bio- chemical traits for Japanese quail females under oxidative stress condition**

Treatment	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Traits						
Total protein Gm/100ml	5.97±0.38	6.70±0.10	5.77±0.18	6.42±0.62	6.14±0.38	5.96±0.57
Albumin Gm/100ml	2.63±0.13 a	3.28±0.27a	2.94±0.06ab	2.75±0.11ab	3.10±0.31a	2.29±0.29b
Globulin Gm/100ml	3.34±0.38	3.42±0.32	2.83±0.22	3.76±0.51	3.03±0.67	3.67±0.28
Glucose (mg/100 ml)	126.2±1.51c	146.3±2.1 a	109.6±2.2 e	129.3±1.6bc	114.5±0.8d	132±0.8b
Cholesterol(mg/100ml)	227.4±1.3ab	255.0±2.0 a	200.5±1.2 b	263.4±2.6 a	204.0±1.3 b	228.5±4.8ab
Uric acid (mg/100 ml)	3.31±0.39ab	6.84±0.62 a	5.15±0.21 b	6.58±0.30 a	6.03±0.28ab	6.87±0.38a
GOT (IU/L)	92.3±1.8 bc	111.3±1.2 a	84.0 ±2.3d	95.3±1.4 b	88.0±1.5cd	106.3±2.4a
GPT (IU/L)	39.6±0.8 c	47.3±1.4 a	35.6±0.8 d	43.6±1.2 b	40.3±0.8 c	44.6±0.8 ab

The difference litter with same raw refers to significantly differences ( $p \leq 0.05$ )

T1: Control group T2: The birds feeding with standard diet+ (0.5%) of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to the drinking water. T3: The birds feeding with standard diet + (2gm/kg diet) rosemary leaves powdered and normal water. T4: The birds feeding with standard diet + (2gm/kg diet) rosemary leaves powdered and adding (0.5%) of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to the drinking water. T5: The birds feeding with standard diet + (4gm/kg diet) rosemary leaves powdered and normal water. T6: The birds feeding with standard diet + (4gm/kg diet) rosemary leaves powdered and adding (0.5%) of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to the drinking water.

and this material may be worked in two directions the first: to improve the functions of digestion and thus provide raw materials allow the birds the opportunity to adoption of them and do not need to use alternative sources such as protein and fat, while the second trend has worked materials to provide protection to the cell membranes

The second and sixth treatment caused a significantly superior ( $P \leq 0.05$ ) in GOT and GPT enzymes activity comparison with control, third, fourth and fifth treatments, while outweigh the fourth treatment on the third and fifth treatment, there were no significant differences between T4 and T1, neither between T5 and T1, while we find that the third treatment have registered a significant decrease ( $P \leq 0.05$ ) compared with control group with regard to GOT and GPT enzymes activity.

Al-Qattan [23] referred to possibility of use GOT and GPT enzymes activity as indicators to oxidative stress in chickens, [21] noted significantly increasing in these enzymes activity when exposed broiler breeder

mails to experimental oxidative stress induced by hydrogen peroxide, [24] noted significantly decreasing of these enzymes activity with use of rosemary leaves powder in Japanese quail males diet. The reducing GOT and GPT enzyme activity with using of rosemary leaves powder may be due to its ability to improve antioxidants status in the body as seen from table (3) by increasing GSH and reducing MDA levels in serum, liver and magnum tissues, and have this action to provide protection to the body's cells from oxidative stress and damage, the increase of these enzymes activity are associated with the body's cells damage[25].

From table (3) Notes effect of adding different levels of rosemary leaves powder on antioxidants status of Japanese quail female exposed to oxidative stress, we note that the addition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to drinking water of the second treatment led to significant increasing ( $P \leq 0.05$ ) in MDA level in serum ,liver and magnum tissues compared to another treatments, this rise in MDA level may be due to the ability of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to

induce a state of oxidative stress through oral administration as it works to raise the partial pressure of oxygen in the stomach, which works to raise the partial pressure of oxygen in the tissues [26]. many research Indicated to increased oxidation levels with increasing organism activity and its organs [14], such as liver and magnum is very active members, so is susceptible to oxidative stress but adding rosemary leaves powdered with (2 g/kg feed) and (4 g/ kg feed) improve antioxidants status by reducing MDA

concentration in serum, liver and magnum's tissue, that refers rosemary ability to act as antioxidant because its contain of biologically active phytochemicals [24].

About GSH concentration we find that treatment with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> have tended to significant decreasing in serum, liver and magnum tissues GSH concentration, whenever noted significantly increasing in GSH concentration with T3,T5 compared with T2 and T1.

**Table (3): Effect of adding different levels of rosemary leaves powder on antioxidant status for Japanese quail females exposed to oxidative stress condition**

Treatment	T1	T2	T3	T4	T5	T6
MDA/ serum (micromole/moll )	329.6±3.1 b	352.6±4.0 a	310.3±4.9 c	330.3±2.0 b	327.3±3.4 b	335.±2.9 b
MDA/ liver (micromole/gm )	239.0±2.6 c	262.0±2.8 a	221.3±3.2 d	252.3±3.8ab	225.3±4.0 d	242.3±4.3bc
MDA /magnum (micromole/gm )	91.0±2.3 ab	98.0±1.7 a	81.6±2.6 c	88.3±3.8 bc	87.3±2.6 bc	86.6±2.6 bc
GSH / serum (micromole/moll )	2.70±0.11ab	2.42±0.17b	3.10±0.11a	2.80±0.15ab	2.90±0.14 a	2.76±0.12ab
GSH/ liver (micromole/gm )	0.85±0.01 b	0.75±0.01 c	0.92±0.01a	0.80±0.01bc	0.83±0.01b	0.78±0.01c
GSH /magnum (micromole/gm )	0.71±0.01a	0.66±0.01b	0.74±0.01 a	0.71±0.01a	0.72±0.01a	0.72±0.02 a

The different litter with same raw refers to significantly differences (p≤0.05)

T1: Control group T2: The birds feeding with standard diet+ (0.5%) of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to the drinking water. T3: The birds feeding with standard diet + (2gm/kg diet) rosemary leaves powdered and normal water. T4: The birds feeding with standard diet + (2gm/kg diet) rosemary leaves powdered and adding (0.5%) of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to the drinking water. T5: The birds feeding with standard diet + (4gm/kg diet) rosemary leaves powdered and normal water. T6: The birds feeding with standard diet + (4gm/kg diet) rosemary leaves powdered and adding (0.5%) of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to the drinking water.

[27] stated that every 1% size of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> equivalent to 3.3 volume of oxygen, so it is all one ml with 0.5% of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> given by mouth leads to generation 1.65 ml of molecular oxygen in tissue interactions and this leads to the depletion of GSH liver, suggesting that these changes reflect the intolerance liver tissue harmed induced oxidative stress, the increase MDA concentration refers to lipid peroxidation liver tissue and compatibility between the low concentration of GSH and high concentration of MDA in the liver tissue of laying hens treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.5%) can be

interpreted depending on important role of GSH liver in regulation of oxidation and reduction, and low level in the liver tissue is an indication of increased harm oxidative [28], or perhaps the oxidative stress in Japanese quail birds stimulating Fatty acyl CoA oxidase enzyme, which activates oxidation β-oxidation of fatty acids, leading to increased internal production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [29], or that oxidative stress resulted to number of changes in antioxidant enzymes [30].

#### References

- 1- Trush, M.A and T.W. Kensler .1991. An overview of the relationship between oxidative stress and chemical carcinogenesis. *Free Radic Biol Med.* 10(3-4):201-9.
- 2- Rice-Evans, C. and R. Burdon.1993. Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Prog Lipid Res.* 32(1):71-110.
- 3- Fridovich, I. 1978. The biology of oxygen radicals. *Science (Wash. DC).*20 1:875-880.
- 4- McCord, J. M. 1985. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med.* 312:159-163.
- 5- Lee, J.H., C.W. Son, M.Y. Kim, M.H. Kim, H.R. Kim, E.S. Kwak, S. Kim and M.R. Kim, 2009. Red beet (*Beta vulgaris* L.) leaf supplementation improves antioxidant status in C57BL/6J mice fed high fat high cholesterol diet. *Nutr. Res. Pract.*, 3: 114-121.
- 6- Al-Sereiti, M.R., K.M. Abu-Amer, and P. Sen, 1999. Pharmacology of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and Its Therapeutic Potentials.

- Indian Journal of Experimental Biology*, 37, 124-130.
- 7- Saito, Y., A. Shiga, Y. Yoshida, T. Furuhashi, Y. Fujita, and E.Niki, 2004. Effects of Novel Gaseous Antioxidative System Containing a Rosemary Extract on the Oxidation Induced by Nitrogen Dioxide and Ultraviolet Radiation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68, 781-786.
- 8- El Deeb, K.S. 1993. Investigation of Tannin in Some Labiatae Species. *Bulletin of Faculty of Pharmacy*, 31, 237-241.
- 9- Herrero, M., M. Plaza, A. Cifuentes, and E. Ibanez, 2010. Green Processes for the Extraction of Bioactives from Rosemary: Chemical and Functional Characterization via Ultra-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and *in-Vitro* Assays. *Journal of Chromatography*, 1217, 2512-2520.
- 10- Zheng, W. and S.Y. Wang 2001. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49,

- 5165-5170.
- 11- NRC National Research Council .1994. Nutrient requirements of poultry.9 th ed. Washinhton (DC): National Academy Press.
- 12- Bishop, M.L .,L. Janet and P. Edward. 2000.*Clinical chemistry 4therd. Unitelstate of America.*
- 13- Guidet B, Shah SV. 1989. Enhanced in vivo H2O2 generation by rat kidney in glycerol-induced renal failiure. *Am J Physiol.* Sep; 257(3 Pt 2):F440–F445
- 14- Moron, M. S.; J. W. Depierre and B. Mennervik, 1979. Levels of glutathione glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rat's lung and liver *Biochem Biophs. Acta* 582: 67-78.
- 15- Moron, M. S., J. W. Depierre and B. Mennervik.1979. Levels of glutathione glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in rats lung and liver *Biochem Biophs. Acta* 582: 67-78.
- 16- Gilbert, H. S., D. D. Stump and E. F. Roth. 1984. A method to correct for errors caused by generation of interfering compounds during erythrocyte lipid peroxidation analyt. *Biochem* , 137: 282- 286.
- 17- SAS, 2005. SAS / STAT Useres Guide for personal computers, Release8.00. SAS. Institute Inc., Cary, NC, USA.
- 18- Bakirel, T., U.Bakirel, O.U. Keles, S.G. Ulgen and H.Yardibi. 2008. *In vivo* assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 64-73.
- 19- Al-Jamal, A. and T. Alqadi, 2011.Effects of Rosemary(*Rosmarinus officinalis*) on Lipid Profile of Diabetic Rats.*Jordan J. of Bio. Sci.*4 (4):199-204.
- 20- Sturkie, P. D. 1986. *Avian Physiology*, Fourth edition. Sipnger – verlag New York Berlin Heidelberg Tokyo. 1 – 505.
- 21- Taha A.T. 2008.The Role of Vitamins A, C and Fenugreek Seeds in Lowering Oxidative Stress Effect on Physiological and Reproductive Performance of Males Broiler Breeder. Ph. D. Thesis College of Agriculture and Forestry/University of Mosul/Iraq.
- 22- Leung A.Y. and S. Foster .1996. Encyclopedia of common natural ingredients used in foods, drugs and cosmetics. 2nd Ed. New York: JohnWiley & Sons. pp. 446-448.
- 23- Al-Qattan M.M. 2006. Effect of Using Some Antioxidants on Production Performance and Some Physiological Characters in Laying Hens. Ph. D. Thesis College of Agriculture and Forestry/ University of Mosul/Iraq.
- 24- Aldualymi, O.A. 2013. Effect of Using Rosemary powder in some physiological and histological treats for Japanese quail male. M.Sc. Thesis. College of Agriculture University of Tikrit /Iraq.
- 25- Fulton, B.; A. J. Wagstaff. and D. Mctavish. 1995. Trlmetrexate. A review of its pharmaco dynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in the treatment of pnemoncystis carinii pneumonia. *Drugs.* 49; 563-576.
- 26- Loven, D. P. and L. W. Oberley. 1985. Free radicals,insulin action and diabetes. In: *Superoxide dismutase and disease state.* Oberley L. W, and Boca Ratan. FL, CRC: 151 – 190.
- 27- Dickson, K. F and E. M. Caravati.1994. Hydrogen peroxide exposure–325 exposures reported to a regional poison control center. *Clin Toxicol*, 32: 705 – 714.
- 28- McLennan, S. V., S. Heffernan, L. Wright, and C. Rac. 1991. Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. *Diabetes*, 40: 344 – 348.
- 29- Osumi, J. and T. Hashimoto. 1978. Acyl. CoA oxidase of rat liver: A new enzyme for fatty acid oxidation *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 83: 479 – 485.
- 30- Wohaieb, S. A. and D. V. Godin. 1987. Starvation – related changes in free radical tissue defense mechanisms in the rat. *Diabetes*. 36: 169 – 173.

## تأثير استخدام مستويات مختلفة من أكليل الجبل في بعض الصفات الفسلجية ومضادات الاكسدة لإنتاج طائر السمان تحت ظروف الإجهاد التأكسدي

احمد طابيس طه ، محمد محمود حسين

قسم الإنتاج الحيواني ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

[Dr.att76@gmail.com](mailto:Dr.att76@gmail.com)

### الملخص

أجريت هذه الدراسة في حقل دواجن كلية الزراعة / جامعة تكريت للمدة من 2012/11/20 ولغاية 2013/1/15 وهدفت إلى دراسة تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق أوراق نبات أكليل الجبل إلى العليقة في بعض الصفات الفسلجية وحالة مضادات الاكسدة لإنتاج طائر السلوى المحلي (*Coturnix Coturnix*) تحت ظروف الإجهاد التأكسدي وأستخدم في هذه الدراسة (180) أنثى من طائر السلوى المحلي بعمر (20) أسبوعاً قُسمت على ست معاملات بثلاثة مكررات وبواقع (10) أنثى لكل مكرر ، وقد جرى معاملتها وفقاً لما يأتي:

المعاملة الاولى : أعطيت عليقة قياسية (عليقة سيطرة). المعاملة الثانية : معاملة بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (0.5 %) في ماء الشرب. المعاملة الثالثة : عليقة قياسية مضاف إليها مسحوق أوراق نبات أكليل الجبل بتركيز (2 غم / كغم علف). المعاملة الرابعة : عليقة قياسية مضاف إليها مسحوق أوراق نبات أكليل الجبل بتركيز (2 غم / كغم علف) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> بتركيز (0.5 %) في ماء الشرب. المعاملة الخامسة : عليقة قياسية مضاف إليها مسحوق أوراق نبات أكليل الجبل بتركيز (4 غم / كغم علف). المعاملة السادسة : عليقة قياسية مضاف إليها مسحوق أوراق نبات أكليل الجبل بتركيز (4 غم / كغم علف) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> بتركيز (0.5 %) في ماء الشرب. وأشارت نتائج الدراسة الى ما يأتي : أدت المعاملة باستخدام H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> إلى ارتفاع معنوي في تركيز البروتين الكلي والابومين والكلوبولين ، وكان لمسحوق أوراق نبات أكليل الجبل بتركيز (2 غم / كغم علف) أثر خافض لتركيز حامض البوليك.

لوحظ ارتفاع معنوي في تركيز كل من الكلوكون وانزيمي GOT و GPT في مصل دم مجموعة الطيور المعاملة بـ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> في حين كانت نتائج المعاملة باستخدام مسحوق أوراق أكليل الجبل عكس ذلك، أدت المعاملة بـ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> إلى ارتفاع معنوي في مستوى MDA رافقه انخفاض معنوي في مستوى GSH في مصل الدم ونسجي الكبد والمعظم. أدت المعاملة بمسحوق أوراق أكليل الجبل بتركيز (2 غم / كغم علف) إلى تحسين حالة مضادات الأكسدة من خلال خفض قيمة MDA ورفع قيمة GSH في مصل الدم ونسجي الكبد والمعظم. نستنتج من هذه الدراسة إمكانية استعمال نبات اكليل الجبل كمادة مضادة للأكسدة عند اضافتها الى علائق طائر السمان.

**الكلمات المفتاحية:** اكليل الجبل ، السمان ، صفات فسلجية ، مضادات الاكسدة ، اجهاد تأكسدي

## Isolation of diverse enterobacterial species from sheep diseases in salah-Din City, Iraq.

Hala Mohammed Majeed, Sana a sauod Ahmed

Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine, University of Tikrit, Tikrit, Iraq.

### Abstract

Sheep disease is economically important problem because several agent may be involved in the etiology of it. The aims of this present study was conducted to throw light on bacterial infection the sheep in salah din province .from 1524 examined sheep,61.1%(n=931) were found to be isolated bacteria seropositive and 38.91% (n=593) were found to be isolated bacteria seronegative .nine hundred thirty one samples of blood (37.6%), feces (30.3%), milk (24.5%) and Wool(7.6%). Were examined. The isolated bacterial were Ecoli 402(43.17%) which was the most predominant bacterial isolate. other bacteria isolated were Salmonella 207(22.23%), klebsiella spp isolated 172(18.47%) and proteus spp 150(16.11%) .the antimicrobial susceptibility of isolated bacteria was done to determine its susceptibility.

### Introduction

The economical production of sheep for market depends mainly upon breeding, environment, and nutrition. The prevention of disease, although superficially an entity, is intimately associated with these three factors.[1]

Appearance of the diseases can be slight and serious degree of clinical symptom that usually leads to death of the animal. every variant of diseases reduces or prevents raw material productivity of farm animals, and increases the loss of economic benefit. Only a healthy livestock is capable of producing animal products under optimal productive conditions[2].

The aim of sheep breeding and keeping is the economical production of animal products. Only healthy animals are suitable for this reason. Healthy sheep have a good constitution, long and useful lifetime, appropriate live weight characteristics concerning its species/gender, have good fodder eating capacity and grazing habits, and they are disease and parasite resistant. Depending on their species, female (milch-ewe/ewe) sheep have the ability for oestrus and conception in less seasonal or seasonal period of time. The rams have continuous mating temper (libidó sexualis), and covering/fertilizing ability[3].

Possible diseases of sheep are various enough similarly to other animals. According to their category they are, bacterial diseases ( Clostridial. spp, Brucellosis, *Chlamydia.* spp, Leptospirosis, Campylobacteriosis, *Salmonella.* spp, *Corynebacterium pseudotuberculosis* and *E. Coli*), viral diseases(FMD, Bluetongue, Rift Valley Fever and Rabies diseases of complex etiology), parasitic diseases (Cryptosporidiosis, Coccidiosis, *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia* sp, *Nematodirus* spp., *Moniezia* sp, *Paralaphostrongylus tenuis*, deer worm and brain worm. Diseases) caused by fungal toxins, traffic of material and deficiency diseases, medical diseases, intoxications, genital diseases and disease of the limb[4].

In common with other farm animals, sheep suffer from a wide range of diseases such as lameness, mastitis, sheep scab, watery mouth and toxoplasmosis. Many sheep suffer from pneumonia and hypothermia during the winter when exposed to harsh weather conditions, particularly in upland areas. More intensive farming means lambs are weaned earlier, fed on milk substitute/feed concentrates and housed indoors. This has led to increasing disease problems. Infectious diseases account for around 60% of lamb losses. Many of these losses could be reduced by better flock security, an effective disease control programme, and good husbandry [5]. Vaccination and dipping may be used to prevent some diseases. Sheep dipping was made compulsory twice a year in 1985 but made non-compulsory again in 1992. Sheep dips contain toxic organophosphates which are believed to be responsible for a high incidence of severe illness in farmers. Sheep dip products safeguard sheep from pests like scab, blowfly, ticks and lice. The Groundwater Protection Code investigates sheep dipping as a priority because it has caused serious environmental damage in the past. The active ingredients of dip are generally highly toxic to aquatic life. Regulations require that before disposing, or tipping[6].

### Materials and Methods

#### 1-Study design and methodology:-

The study design used was cross-sectional study and it was carried out from 1/1/2013 to 13/12/2013. the methods employed in this study include: healthy and clinical ; confirmatory diagnosis was made by using cultural examination, Grams staining and different biochemical tests, and Antimicrobial sensitivity tests done for all isolates.

#### 2-Animals:

This study was carried out on 1524 sheep from different localities, 931 of them were suffering from bacterial diseases and 593sheeps were not infected with bacterial diseases. Table (1).

**Table(1) distribution of bacterial causes among different localities.**

	localities.	No.of examined sheep	No. of infected sheep	No. of non infected sheep
1	Tikurit	210	155	55
2	Shrkat	193	149	44
3	Dour	223	138	85
4	Dus-karmatto	146	65	81
5	Bajee	173	109	64
6	Theloauo	205	149	56
7	Balid	146	76	70
8	Sumarria	228	90	38
	Total	1524	931	593
	%	100%	61.1%	38.91%

### 3. Clinical examination:

All animals were subjected to through clinical examination including general health condition and body temperature, pulse, respiration, character of mucous membranes, auscultation of chest and abdomen according to[7].

#### 1-Fecal samples:

Rectal swabs were taken from sheep by sterile cotton swabs and transported to laboratory as soon as possible in sterile nutrient broth that incubated at 37 C for at least 24-28 hours to increasing chances of isolation.

#### 2-Milk sample

milk samples were collected by a standard milk sampling technique as described by [12]. To reduce contamination of the teat ends during sample collection, the near teats were sampled first, followed by the far ones. Approximately 10 ml of milk samples were collected into sterile test tube after discarding the first three milking streams.

#### 3-Blood samples:-

Blood was collected and recorded directly from the jugular vein in sterile plain vacutainer-tubes and individual animal data (age, sex, breed, body condition, and disease history) were also collected.

#### 4-Wool sample:-

Wool sample taken in the field and collected by swabbing from neck, flank and brisk then transport to the Laboratory microbiology and storage at 4c until further analysis.

#### 4- Bacteriological examination

samples (blood, milk, feces and wool) from lambs were cultivated aerobically and an aerobically and bacterial isolates were subjected to characterization by studying their morphological, cultural, and biochemical characteristics as well as their motility according to[8].

#### 5-Anti-biogram test:

The sensitivity of isolated bacteria to different antibiotics was carried-out using the disc diffusion technique according to [9].

### Results

#### Prevalence of bacterial diseases among sheeps:-

As shown in Table (2) from 1524 examined sheep 931 showed to bacterial diseases (61.1%). The highest prevalence was(77.2%) in Sharked, followed by (73.8%) in Tikurit, followed by (72.7%) in Theloauo, followed by(63%) in Bajee, followed by (61.9% in)Dour, followed by(52.1%) in Balid, While the Lowest percentage observed in Dus-karmato and Sumarria (44.4%), (31.3%) respectively.

**Table(2) prevalence of bacterial diseases according to samples type.**

	Locality	No of Examined sheeps	No of examined samples				Total	%
			Blood	Feces	Milk	Wool		
1	Sharked	193	70	30	38	11	149	77.2
2	Tikurit	210	53	51	31	20	155	73.8
3	Theloauo	205	65	56	28	---	149	72.7
4	Bajee	173	37	27	30	15	109	72.7
5	Dour	223	48	37	53	---	138	61.9
6	Balid	146	37	16	23	---	76	52.1
7	Dus-karmato	146	13	27	2	23	65	44.5
8	Sumarria	228	27	29	32	2	90	31.3
	Total	1524	350(37.6%)	282(30.3%)	228(24.5%)	71(7.6%)	931	

#### Bacteria isolated from sheeps:-

Table (3) showed that the bacteriological examination of 931 (Blood, Milk, Feces and Wool) samples showed: isolation of E.coil from 402 cases(43.2%) which was the most predominant bacterial isolate.

then Salmonella from 207 cases(22.23%). Klbsiella pneumonia isolated from 150 cases(16.11%),proteus vulgaris isolated from 128 cases (13.7%) and Klbsiella oxytoxa and proteus mirabilis were isolated from 22 cases(2.4%) (Tab.3).

**Table (3) distribution of bacterial isolates among different Localities.**

Localities.	Salmonella spp	E.coil	Klbsiella pneumonia	Klbsiella oxytoca	proteus vulgaris	proteus mirabilis
Sharked	44	76	12	----	17	----
Tikurit	24	58	58	----	15	----
Theloauo	28	56	43	14	8	----
Bajee	29	54	6	----	20	----
Dour	47	62	7	----	----	22
Balid	12	36	6	8	14	----
Dus-karmato	16	17	13	----	19	----
Sumarria	7	43	5	----	35	----
Total	207	402	150	22	128	22

**Antimicrobial sensitivity test:-**

The antimicrobial sensitivity of isolated bacteria show that most *Ecoli* isolates were highly sensitive to chloramphenicol, marbofloxacin, sulfa trimethoprim ,gentamycin, and Cefatoxime, But most of them were resistant to streptomycin, neomycin, tetracycline and amoxicillin. *Salmonella species*, *proteus vulgaris*, *klebseilla puenmonia* and were highly sensitive to

chloramphenicol and marbofloxacin and resistant to sulfa trimethoprim, gentamycin, Cefatoxime, streptomycin, neomycin, tetracycline and amoxicillin. *Klebsiella oxytoca* isolates were highly sensitive to Cefatoxime and amoxicillin while resistant to other. and finally *proteus mirbilis* were highly sensitive to tetracycline and sulfa trimethoprim and resistant to other antibiotic.

**Table(4) antimicrobial sensitivity tests on the bacterial isolates.**

Bacteria isolates	Gentamycin	Cefatoxime	Amoxicillin	Tetracycline	Choloramphen	Trmeth/sulfa	Marbofloxacin	Neomycin	Streptomycin
<i>Ecoli</i>	++	++	-	-	+++	+++	+++	+	+
<i>Salmonella Spp</i>	+	+	-	-	+++	+++	++	-	-
<i>proteus vulgaris</i>	+	+	-	-	+++	+++	+++	-	-
<i>klebseilla pneumonia</i>	+	+	-	-	+++	+++	+++	-	-
<i>proteus mirbilis</i>	-	-	-	+++	-	+++	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	+++	-	-	-	-	-	-

**Discussion**

Bacterial diseases is an important problem in old and young domestic animals although its etiology is not well understood since several agents may be involved concurrently. Moreover, many of these agents are capable of infecting the host without inducing the clinical illness [10].

Table 1 showed that, 1524 samples from 931 sample give positive bacterial isolation (61.1%) while 593 samples were negative (38.91%). Lower percentages of negative samples were recorded by [11] who found that multi factorial which causes sheep diseases like viral diseases, diseases of complex etiology, parasitic diseases, diseases caused by fungal toxins, traffic of material and deficiency diseases, medical diseases, intoxications, genital diseases and disease of the limb[4].

Table(2) shows the prevalence of bacterial diseases in sheep's which was 61.1%.The highest prevalence was observed in Sharked (77.2%) and the lowest prevalence was observed in Sumarria (31.3%) the variance in prevalence of bacterial diseases because to the animals may acquire the infection through food

of animal origin and pastures contaminated with infective slurry or improperly treated fertilizer .the organism may be introduced in the herd via contaminated feed, stuffs, for mites, birds or nematodes stresses such as transport, starvation ,parturition over crowding in communal grazing-Land, holding yards and deactivated latent infection and favors rapid spread of the disease [2].

The bacteriological examination from sheep showing that *Escherichia coli* was present in (402) samples (43.2%), *Salmonella* in 207 samples (22.23%), *klebsiella puenmonia* in 150 samples (16.11%), *proteus vulgaris* in 128 samples (13.7%), *Klbsiella oxytoca* and *proteus mirabilis* in 22 samples (2.4%). Nearly similar bacteria were isolated by [13] from sheep samples. *E. coli* and *Salmonella spp* were the most common bacterial isolated from sheep were recorded by[14].

The antibiogram of isolated bacteria show that most *E. coli* isolates were highly sensitive to chloramphenicol, marbofloxacin, Cefatoxime, gentamycin, and sulfa trimethoprim But most of them

were resistant to streptomycin, neomycin, tetracycline and amoxicillin. Salmonella species, *proteus vulgaris*, *klebsiella pneumonia* were highly sensitive to chloramphenicol and marbofloxacin. In similar studies were recorded by(13). *Klebsiella oxytoca* isolates were highly sensitive to Cefatoxime and

#### Referance

- 1-Hopkins, Fred, W. Gill, and M. Powell.2008. Foot Rot in Sheep. University of Tennessee Extension AS-B-300.
- 2-Scharko, Patty.2008. Sheep Health Management Tips. University of Kentucky Extension.
- 3-Lynn, P. Terry, H. Patty, S.2013 Common Diseases and Health Problems in Sheep and Goats, Purdue University Cooperative Extension Service, West Lafayette, IN 47907,pp:1-90.
- 4-Jordan, R.M.2014. Sheep diseases, The University of Minnesota is an equal opportunity educator and employer.pp:1-12.
- 5-Ewbank, R., Kim-Madslie, F. and Hart.C.B.2013. Animal welfare fact sheets, Applied Animal Behaviour Science. 87, 135-141.
- 6- Kent, J.E., Molony, V. and Graham, J. 2001. The effect of different bloodless castrators and different tail docking methods on the responses of lambs to the combined burdizzo rubber ring method of castration. The Veterinary Journal. 162, 250-254
- 7-Kelly, W.R. 1984. Veterinary Clinical Diagnosis. 3<sup>rd</sup> ed. Baillere, Tindall, London.
- 8-Quinn,J.P. Markey, B.K. Carter, M.E. Donnly, W.J. Leonard, F.C. Maguire, D. 2002.Veterinary Micro-iology and Microbial dis-eases." 2<sup>nd</sup> ed. Pp.84-96.
- 9-Lennette, E. H., Barlows, A., Hausler, W. J.,Truant, J. P. 1980. Manual of clinical microbiology, 3<sup>rd</sup> ed.
- 10-Akeila,M. A. Ellakany, H. F. Sedik, M. E. El-Bahr, H. M. 2013. Characterization and Plasmid

amoxicillin while resistant to other In similar studies were recorded by[15]. and finally *proteus mirabilis* were highly sensitive to tetracycline and sulfa trimethoprim and resistant to other antibiotic In similar studies were recorded by[16].

Profiling of Salmonella Enteritidis Isolated from Broiler Chickens. AJVS, 39 (1): 105-111.

11-Bentounsia, B. Meradib, S., Cabaretc, J. 2012.Towards finding effective indicators (diarrhea and anaemia scores and weight gains) for the implementation of targeted selective treatment against the gastro-intestinal nematodes in sheep in a steppic environment.Vet. Parasitol. 187: 275– 279.

12-Lughano,K.Dominic,K.(1996).Diseases of small Ruminants Ahand book common diseases of sheep and goats in sub-saharan Africa,over seasdevelopment administration Animal Health Programme .pp:25-59. 13-Mohammad, N. Alaa, A. Omar, H. Hammouda, A. Nabil, M. Bakeer, N. 2015 Epidemiological, Clinical and Bacteriological Studies on Bacterial Sheep at Behera Province, Egypt Alexandria Journal of Veterinary Sciences 2014, 43: 8-16

14- yimer, M. Gezhagne, M. Biruk, T and Dinaol, A. 2015. Areview on major bacterial causes of sheep diseases and its diagnostic method of veterinary Medicine and Animal Health. Vol. 7(5) pp: 173-185.

15- Rong, D. Po-Ren, H. Shan, C. Chang, etal .,1997. Bacteremia Due to *Klebsiella oxytoca*: Clinical Features of Patients and Antimicrobial Susceptibilities of the Isolates Clinical Infectious Diseases, vol.24(2)pp:1217–22

16-Jim, M. and Robert, B.2006. The Genera *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella* Prokaryotes (2006) 6:245–269.

## عزل عدد من الانواع الجرثومية المعوية من الاغنام في محافظة صلاح الدين – العراق

حلا محمد مجيد المرسومي ، سناء سعود احمد

فرع الاحياء المجهرية ، كلية الطب البيطري ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### الملخص

اجريت هذه الدراسة لغرض تسليط الضوء على العدوى البكتيرية بالجراثيم المعوية للأغنام في محافظه صلاح الدين. تم فحص 1524 رأس غنم مفحوص، و وجد ان 61.1% (n=931) كانت موجبه لعزلات البكتريه و 38.91% (n=593) كانت سالبه لعزلات البكتريه. تم فحص عينة دم 350 (37.6%)، براز 282 (30.3%)، حليب 228 (24.5%) و صوف 71 (7.6%). من العزلات البكتريه السائدة العزل هي بكتريا Ecoli 402 (43.17%)، والعزلات البكتريه الاخرى كانت السالمونيا 207 (22.23%) و *Klebsiella spp* كانت 172 (18.47%) و 150 (16.11%) كانت *Proteus spp*. اجرته اختبار فحص الحساسيه للجراثيم المعزولة لتحديد حساسيتها للمضادات الحياتية.

## The EFFECT OF OVERDOSE INTAKE OF IRON ON THE HISTOLOGICAL PICTURE OF TESTES OF ADULT RABBITS

Hassan Hadi Khorsheed

Department of Pathology, College of Veterinary Medicine, Tikrit University, Tikrit, Iraq

### Abstract

Sixteen adult Rabbits New Zealand were used, divided into two groups. The first group (control) included 8 Rabbits, while the second group were 8 Rabbits injected Intramuscular IM, 2.5ml/B.W iron every 4 day for one month duration in the muscle of thigh to demonstrate the toxic effect of iron on the male genital organ (testes). The histological changes of testis showed decrease in number of germ cells in seminiferous tubules in comparison with control group adhesion of seminiferous tubules, disorganization of germ epithelium and irregularity of spermatogenesis.

### Introduction

Iron is a component of several metals, proteins and plays crucial role in vital biochemical activities, such as oxygen sensing and transport, electron transfer and catalysis [1]. According to the world health organization of the united nations WHO, iron deficiency anemia is one of the most common nutritional deficiencies in the world. It can be caused by low dietary iron, poor iron absorption or excessive blood loss [2].

Iron toxicity is rare and consuming large quantity of alcohol may increase the absorption of iron. Hemochromatosis is a genetic disorder, lead to local damage of the gastrointestinal tract mucosa which allow unregulated absorption lead to toxic levels, while the clearance of iron only excreted through blood loss reported that excess iron will built up in tissues and organs [3]. An over dose supplement, can cause toxicity in adult and children. Toxicity is mostly dependent on iron-induced free radical reaction and oxidative damage, in that iron is thought to play a role in carcinogenesis through the generation of oxygen free radicals [4]. Evidence suggested that transitional metals in particular iron react with hydrogen peroxide in cell nuclei leading to DNA damage [5]. Continuous iron intake may contribute to generation of free radicals and oxidation of cell components, an example is hepatocellular damage [6]. Testicular functions like liver cells are particularly vulnerable to such kind of injury and mostly mediated by reactive oxygen species (ROS) in consequence to iron overload. Oxidative damage here can either affect sperm cells or influence spermatogenic process which could change sperm functions. ROS can also activate transcription factors as nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) which up regulates the transcription of adhesion molecules, cytokines and enzymes as collective factors, mostly contributing to inflammatory response [7]. Therefore, the present study aimed to illustrate the effect of prolonged intake of iron on to induce oxidative stress, testicular injuries in experimental Rabbits.

### Materials and methods

#### Experimental animals

Sixteen New Zealand, White adult male rabbits averaging weighing (3.3-5) kg were put in cage under control of water, diet, light duration (12 hour light-12

hour dark). These animals were divided into 2 groups (8 animals for each group), control group was given orally distilled water and experimental group was administered with injection (IM) 2.5ml/ b.w for 4 days of iron and for one month.

The animals were sacrificed at the one day after the last dose under intensive dose of chloroform. Testis of the animals were rapidly removed and dissected to obtain tissue samples for histological examination. Blocks of tissues were immediately fixed in 10% neutral buffered formalin, dehydrated with graded series of ethyl alcohol and embedded in paraffin. Sections of 5 micrometers were cut and stained with eosin and hematoxylin according to [8]. Photomicrographs of the slides were taken using digital camera attached to light microscope. The whole photomicrographs were compared with those of testis of control group.

### Results

Administration of iron 2.5ml \b.w for 4 weeks to the male rabbits was associated with some changes included:

#### A-The clinical signs:-

1. Weakness of the animal
2. Shrinkage of the testis
3. Pigmentation of the nose and forelimbs and hind limbs
4. Paralysis of rabbit except the mouth

**B-Histological Observations:** Testicular tissue of the control group showed seminiferous tubules with normal germ cell population layer thickness with a normal arranged pattern up to mature spermatid (Fig.1). while the other group which the seminiferous tubules of testes showed a decrease in thickness of germ cell layer, adhesion of seminiferous tubule (Fig.2). while in (Fig.3) showed disorganization of germ epithelium. irregular of spermatogenesis and necrosis of Leydig cells in the interstitial connective tissue( fig, 2,3,4)

### Discussion

Although, iron is the most essential elements in most biological systems, yet it is a toxic to cells in excessive amounts. The results obtained in the present study showed a testis lesions, such lesions were reported in rat's liver under iron-sorbitol overload reported by Ozguner, Sayin and Apple

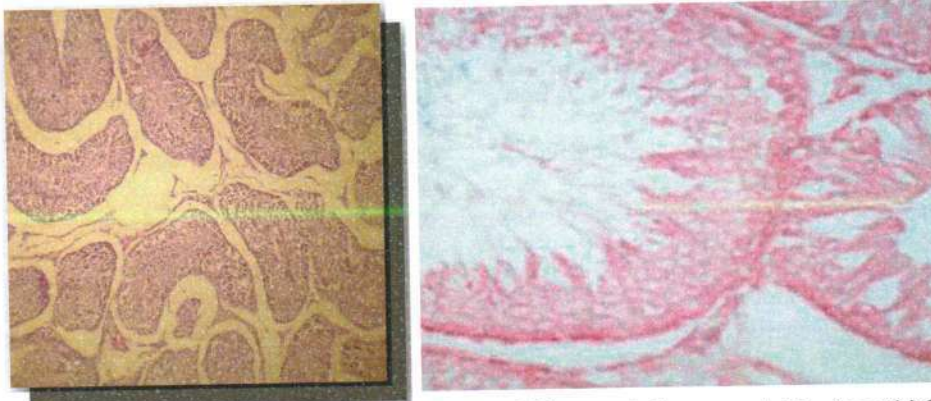
(2002) found that iron was accumulated in liver, spleen, testis and kidney where it causes tissue damages [9]. Testicular functions like liver cells are particularly vulnerable to such kinds of injury and mostly mediated by reactive oxygen species (ROS) in consequence to iron overload. Oxidative damage here can either affect sperm cells or influence spermatogenic process which could change sperm functions. ROS can also activate transcription factors as nuclear factor-kappa B (NF-kB) which up regulates the transcription of adhesion molecules, cytokines and enzymes as collective factors, mostly contributing to inflammatory response[7]. in vitro investigation indicate that an iron overdose can lead to oxidative DNA damage in testis and epididymal sperm. Another in vitro study on hydroxyl radical induced DNA damage in human sperm by incubation with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and FeSO<sub>2</sub> showed a similar tendency

[10], that oxidative DNA modification are induced by iron in vitro is supported by studies on Leydig cell showing strand break [11].

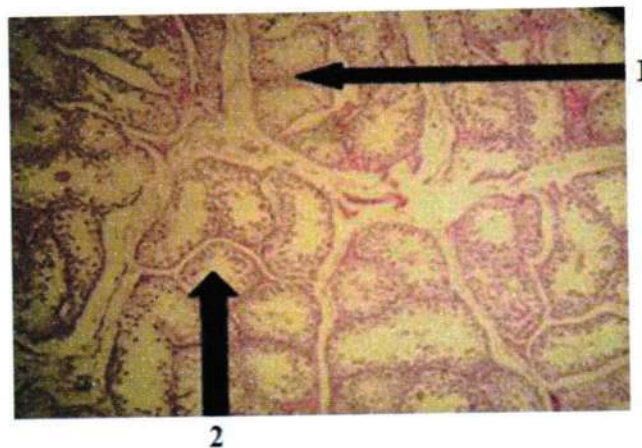
Iron toxicity is largely due to catalytic activity of iron sufficient to yield hydroxyl radicals (OH<sup>•</sup>) from superoxide (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), collectively known as reactive oxygen intermediates (ROIs) [12], reported that excess iron manifested in almost all tissues but the majority is deposited in reticulo-endothelial macrophages in spleen, liver, and bone marrow and in parenchymal tissues primarily in hepatocytes and endocrine glands.

The most acceptable theory in that is the oxidative damage caused by free radicals leading to necrosis which may be promoted by increasing intracellular free iron which induce organs damage [13].

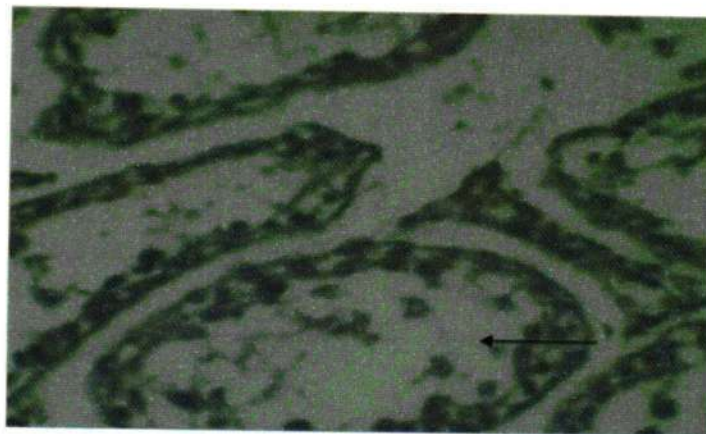
The present results supported previous reports mentioned elsewhere.



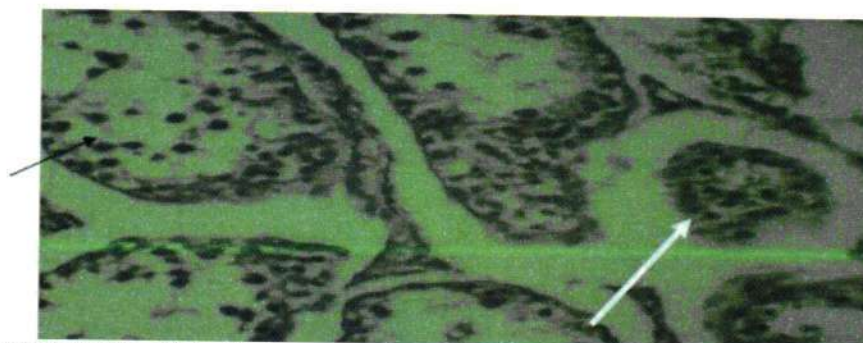
Fig(1). control group of the Rabbit testis shows Normal seminiferous tubules, separated by interstitial tissue with normal spermatogenesis (x10 , H&E).



Fig(2). Testis of rabbit treated with iron showing: 1. Adhesion of seminiferous tubule. 2. decrease in thickness of germ cell layer, (X10 H&E)



Fig(3). Testis of rabbit treated with iron group shows disorganization of germ epithelium affecting on spermatogenesis (X20 , H&E)



Fig(4). Testis rabbit treated with iron group irregular of spermatogenesis (arrow black). necrosis of Leydig cells (white) (X20 ,H&E).

#### References

1. Aisen, P., Enns, C. and Wessling, Resnick, M.(2001): Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism *int. j. Biochem cell boil* 33 (940-959).
2. Juurlink, D., N. Tenentain, M., Koren, G. and Redelmeier, D.A. (2003): Iron poisoning in young children associated with birth of a sitling *CMAJ* 168, 12,1539-1542.
3. Darma, S.R. Hayashi, P.H.(2005): Acute Liver Failure to iron over dose in adult, *Southern Medical journal* vol. 98, 2. 241-244.
4. Weinberg E. D. (1989): Cellular regulation of Iron assimilation. *The Quarterly Rev. Bio.* 64 (3) 261-268.
5. Meneghini, R. (1997): Iron homeostasis, Oxidative stress and DNA damage *Free radi. Biol. and Med.* 23 (5)783-792.
6. Papanikolaou, G. and Pantapoulos, K. (2005): Iron metabolism and toxicity. *Toxicol. Appli. Pharmac.* 202(2), 199-211.
7. Richard, A., Johnson, A.C. and Hanson, S. (2005): Parenteral iron compounds sensitize mice to injury-initiated TNF- $\alpha$  mRNA production and TNF- $\alpha$  release. *Amer. J. Phys.. Ren. Physio*, 57(2), F290 - F297.
8. Jon, D. and Alan, S. *Theory and Practice of histological Techniques.* 2ndedition. Chichill Livinstone, 1989; (606-608).
9. Ozguner, Mand Sayin, N(2002): Histological changes in rat liver after chronic iron – sortiol overload *J. Ankara. Med. Sch.* 24. No2949-54).
10. C.S. Chen H.T. Chao R.L. Pan and Y.H.(1997): hydroxyl radical –induce decline in motility and increase in lipid peroxidation and DNA modification in human sperm biochemistry and motility *molecular biology international*, 43.291-303.
11. T. Koizum. Z.G.Li and Tatsumoto (1992): DNA damaging activity of cadmium in Leydig cell, a target cell population for cadmium carcinogenesis in the rat testis *toxicology Letters* 63,211-220.
12. Hallwell, B. and Gutterdige, J.M.(1990): Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease an overview. *Methoid Enzymol* 186, 1-85.
13. Tavill, AS. and Qudri, AM. (2004) Alchool and Iron in semen, *Liver Dis.* 24 (3) 318-325.

## تأثير تناول جرعة عالية من الحديد على الصورة النسجية للخصى في الارانب البالغة

حسان هادي خورشيد

قسم علم الأمراض ، كلية الطب البيطري ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### الملخص

استخدمت ستة أرانب نيوزلندية بالغة قسمت الى مجموعتين المجموعة الاولى ثلاث أرانب وهي مجموعة السيطرة والمجموعة الثانية ثلاث ارانب حقنت في عضلات الفخذ بجرعة 2.5 مل اوزن الجسم من الحديد كل اربعة ايام لمدة شهر لملاحظة التأثير السمي للحديد في الارانب البالغة على الاعضاء التناسلية الذكرية (الخصى) حيث لوحظ تغيرات نسيجية عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة ولوحظ نقص في عدد الخلايا الجرثومية في النبيبات الملفوفة المنوية والتصاق في تلك النبيبات وعدم التناسق في مراحل تكوين النطف.

## The effect of aqueous extract of different parts (head, body and total antigen) of tick *Boophilus annulatus* on some biochemical parameters (Total protein, albumin and globulin) in the serum of local Rabbits

A.I.A.AL-Jumaily

College of Veterinary Medicine , University of Fallujah , Fallujah , Iraq

### Abstract

This study was conducted to investigate the effect of oral administration of aqueous extract from different parts (head, body and whole) of ticks of the species *Boophilus annulatus* in local rabbits to evaluate the total serum protein, albumin and globulin concentration.

The result showed significant increase of total protein in all groups of rabbits which administration the antigens of head, body and whole of ticks antigens compare with control group. Whereas the result showed a significant increase in the Albumin concentration in group body antigen compare with control and group that given head antigen. while there is no significant difference between the group that given body extract and group that given a whole antigen in the albumin concentration. Also this study showed a significant increase in globulin concentration in group that given whole antigen and group that given head antigen compare with control, and group that given whole antigen compare with group that given body antigen.

### Introduction

Ticks have great veterinary importance compared with other ectoparasites. Ticks consume large quantities of host blood during their prolonged attachment period (7-14 days), which may be extended depending on the tick species and unique host association. (1), Ticks are obligate hematophagous ectoparasites of vertebrate hosts. They transmit viral, bacterial and protozoal diseases. In many regions of the world, ticks are the most important vectors of life threatening diseases of human and animals (2). The bovine tick, *Boophilus annulatus* is a bloodsucking ectoparasite that causes severe production losses in the bovine industry. The average tick burden causes an annual weight loss of 0.7 kg/tick. With the huge number of ticks infesting cattle and other livestock animals, the subsequent effect on beef production is a reduction of hundreds of millions of kilograms Peruear (1) and transmitting pathogens to other animal species such as *Babesia bigemina*, *B. bovis* and *Anaplasma marginale* in West and Central Africa, Asia and certain parts of Southern Europe (2).

A successful host-parasite relationship is in a balance between limiting the host defense and the ability of the parasite to modulate, evade or restrict the host response and could enhance the ability of the tick to obtain a blood meal and facilitate pathogen transmission (3)

External parasitic infestation by *B. annulatus* causes severe health problems in livestock that may be accompanied by a decrease in some blood biochemical parameters, blood trace elements and mineral level (4) Changes in some hematological parameters (erythrocyte count, mean cell volume, hematocrit, hemoglobin concentration, leukocyte counts, serum albumin and globulin concentration, total serum protein) in animals with ticks infestation were reported (5) .While concentration of serum globulins increased in infested Guinea pigs with hard tick (Ixodidae) (6).

The aim of this study was to assess the effect of oral administration of aqueous extract from different parts of *Boophilus annulatus* on the level of total serum protein, albumin and globulin concentration in serum of rabbits.

### Materials and Methods

This study was conducted on 32 healthy local rabbits, weighting from 1500-2000 g, Animal, were housed in separated cages under controlled condition of temperature  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . The standard laboratory feed given to the control and experimental groups of animals that contained the same quantity of daily calories and protein. The aqueous extract from different parts of ticks were prepared according to (7).

### Experimental design

- The exposed parts of ticks were immersed in phosphate buffer saline (PBS) pH 7.2 to make suspension.
- Animals were uniformly divided into 4 groups. Each group consisted of 8 animals. First group serves as control dosage with 0.1ml from phosphate buffer saline while the second group dosage with 0.1ml from head extract suspension ,third group dosage with 0.1ml from body extract suspension and fourth group dosage with 0.1ml from whole tick extract suspension.
- Collection of blood samples: the blood samples were collected by cardiac puncture technique after 21 days. Five ml blood from each rabbit was collected in plain test-tubes, serum was separated from blood and kept immediately in refrigerator at  $4^\circ\text{C}$ .
- Total protein and albumin were measured by color metric by using spectrophotometer according to (8), using (Biolabo kits) while the globulin was determined mathematically by subtraction of serum albumin from serum total proteins level .

### Statistical Analysis

The data obtained were expressed as Means and Standard Error (SE) and subjected to statistical

analysis using one-way analysis of variance ( $P < 0.05$ ) (ANOVA) (9).

### Results and discussion

The results in table (1) showed a significant increase ( $p < 0.05$ ) of total protein ( $7.70 \pm 1.05$ ,  $9.13 \pm 0.64$ ,  $9.13 \pm 0.64$ ) in all experimental groups (head, body and whole) respectively antigens compare with control group ( $5.38 \pm 0.44$ ).

**Table (1): The effect of administration tick extraction (head, total and body) on serum total protein, albumin and globulin of local rabbit**

Parameters	Head	Total	Body	Control
Total protein (g/l)	$7.70 \pm 1.05$ A	$9.42 \pm 0.55$ A	$9.13 \pm 0.64$ A	$5.38 \pm 0.44$ B
Albumin (g/l)	$3.65 \pm 0.69$ BC	$4.70 \pm 0.56$ AB	$5.80 \pm 0.19$ A	$3.03 \pm 0.38$ C
globulin (g/l)	$4.05 \pm 0.50$ AB	$5.07 \pm 0.44$ A	$3.33 \pm 0.51$ BC	$2.34 \pm 0.13$ C

The different litters refer to significant differences between different groups ( $P < 0.05$ )

The level of total protein is affected by various factors such as age, sex, species, breed, season, disease and its duration (e.g. hepatic, renal and infection with different parasites), body hydration, nutritional and physiological status in livestock (10). In the current study there were highly significant increases in total protein in all groups which may be due to increase in release releasing of tissue specific enzymes and other intracellular proteins secondary to cell membrane disruption caused by parasite (11). The result are agreement with (12) that reported elevated in the level of total serum protein, albumin and globulin in immunized rabbits against *Hyalomma anatolicum anatolicum* ticks.

Similar result was recorded by (13) who found higher total protein and globulin level after a day 21 in experimental tick infected goats. Also the result was supported by (14) (15) and (16) in buffaloes, cattle and sheep respectively.

Synthesis of immunoglobulin in response to infestation may have also contributed to the observed increases in protein concentration (17)

These high protein and albumin concentrations in

### References

- 1-Amr, E.; ElHakim; Yasser, E.; Shahein ; Amira, M. K.; Aboueilla; Mohamed, E. and Selim. 2007. Purification and characterization of two larval glycoproteins from the cattle tick, *Boophilus annulatus*. J. Vet. Sci., 8(2):175-180.
- 2-Nikpay, A.; Nabian, S.; Rahbari, S.; Shayan , P. and Alidadi, N. 2008. Detection of Humoral Immune Response of Calves to *Boophilus annulatus* by ELISA. Ira. J. Parasitol., 3(1):26-30.
- 3-Wikel, S.K.; Ramachandra, R.N. and Bergman, D.K. 1994. Tick-induced modulation of the host immune response. Parasitol. J., 24(1): 59-66.
- 4-Aatish, H. U.; Sindhu, Z.; Iqbal, Z.; Jabbar A. and Tasawar, Z. 2007. Prevalence of sheep mange in district Dera Ghazi Khan Pakistan and associated

tissues may indicate increased protein synthesis due to increased protein demand due to infection and or symptom of cytolysis as the infection progressed. (18) This results demonstrated increase in serum albumin concentration in group body antigen ( $5.80 \pm 0.19$ ) compare with control ( $3.03 \pm 0.38$ ) and group head antigen ( $3.65 \pm 0.69$ ), may be due to the secretion of other hormones like (glucocorticoids, thyroxin) increases during pregnancy as well, as a consequence of increased sex hormone secretion, which in turn intensifies metabolic events in the organism (19) Glucocorticoids improve the mobilization of extra hepatic proteins and transport of amino acids to liver cells (20, 21).

In the present study increased serum globulins in group whole antigen ( $5.07 \pm 0.44$ ) and group head antigen ( $4.05 \pm 0.50$ ) compare with control ( $3.03 \pm 0.38$ ) and group whole antigen compare with group body antigen ( $3.33 \pm 0.51$ ) may be explained by stimulation of immune system against the toxic metabolites secreted by ticks. (15 and 22) or by chronic inflammation (23). This results were similar to the (24) that reported hyperglobulinaemia in infested camels with hard tick which could be explained on the basis of the chronic nature of the disease. Elevation in globulin due to enhanced antibody secretion in response to infection would no doubt have contributed immensely to the observed hyperproteinaemia (11).

Mustafa (25) observed significant increasing in the level of globulin in infested sheep with hard tick (Ixodidae). Similar result was recorded by Rechav and Dauth (26) Rechav et al. (27) and Rechav (28) whose found an increase in the level of the globulins in the serum of the rabbits, laboratory animals and cattle respectively and this may by indicates the development of acquired humeral immune responses to *Rhipicephalus* tick, white Springell et al. (29) found that infested animals had apparently lost their ability to adequately replace haemoglobin and plasma albumin, but globulin synthesis was increased presumably because of an immunological response.

hematological, biochemical disturbances. Int. J. Agric. Biol., 9: 917-920.

5-Rechav, Y.; Dauth, J.; Varma, M. G.; Clarke, F. C.; Els, D. A.; Heller-Haupt, A. and Dreyer, M. J. 1989. Changes in the concentration of globulins in naive Guinea pigs during feeding by the immature stages of *Rhipicephalus evertsi evertsi* (Acari: Ixodidae). J. Med. Entomol., 26: 247-251.

6-Otter, A.; Twomey, D. F.; Crawshaw, T. R. and Bates, P. 2003. Anaemia and mortality in calves infested with the long-nosed sucking louse *Linognathus vituli*. Vet. Rec., 153: 176- 179.

7. Nikpay, A.; Nabian, S.; Rahbari, S.; Shayan, P. and Alidadi, N. (2008). Detection of Humoral Immune Response of Calves to *Boophilus annulatus* by ELISA. Iranian J Parasitol., 3(1) : 26-30.

- 8-Tietz, N.W. 1999. Text book of clinical chemistry, 3<sup>rd</sup> Ed. C. A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders, 477-530.
- 9-Snedecor, G.W. and Cochran, W. G. (1989). statistical Methods. 7th ed. The State University press American, Iowa.
- 10-Mojabi, A. 2000. Veterinary clinical biochemistry in farisi, 2nd ed. Noorbakhsh prees, Tehran, 149:444-453.
- 11-Orhue, N. E. J. ; Nwanze, E. A. C. and Okafor A. 2005. Serum total protein, albumin and globulin levels in *Trypanosoma brucei* infected rabbits: Effect of orally administered *Scoparia dulcis* African. J. Bio., 4 (10):1152-1155.
- 12-Mohammad, A.A. K., Ihsan, K. Z. and Bahzad, H. S. 2015 A trial on immunization of rabbits against *Hyalomma anatolicana tolicum* ticks. infestation Int. J. of M.R. and Phar. Sc; 2 (8): 2394-9414.
- 13-Arvind, K.V.; Vihan and Sharma H.N. 2010 Haematological and Biochemical effects of tick Infestation in Common Indian Goat ADV. in BIOR., 1 (1): 164 -169.
- 14-Basu, A. K., De, S. K., Sanyal, A. K. 1989. Incidence of ticks (Acari: Ixodidae) associated with cattle and buffaloes in West Bengal. environment and Ecology. 7: 784-786.
- 15-Bock, R. E., Blight, G. W., Kingston, T. G., De vos, A. J. 1997. Survey of cattle producers in *Boophilus microplus* endemic areas of queen land to determine attitudes to the control and vaccination against ticks fever. Aus. Vet. J., 72 (3): 88-92.
- 16-Adejinmi, J. O., Sadiq, N.A., Fashanu, S. O., Lasisi, O. T. and Ekundayo, S. 2004. Studies on the blood parasites of sheep in Ibadan, Nigeria. Af. J. of Biom. R; 7:41-43.
- 17-Anosa, V.O. 1988. Haematological and biochemical changes in human and animal trypanosomiasis. R. Elev. M. Vet. ;41:65-78.
- 18-Doumas, B.T.; Watson, W. and Biggs, H.G. 1971. Albumin standards and the measurement serum albumin with bromocresol green. Clin. Chim. ;31:87-96.
- 19-Swenson, M. J. 1993. Dukes Physiology of Domestic Animals, 11th ed., Cornell Univ. Press. Itaca and London. 41-43.
- 20- Kaneko, J. J., Harvey, J. W. and Bruss M. L. 1997. Clinical biochemistry of domestic animals, 5th ed., Academic Press. San Diego. 890 - 891.
- 21-Habeeb, S.M.; Kandil, O.M. and El-Namaky, A.H; 2009. Evaluation of Fractionated Proteins extracted from different Stages of *Hyalomma dromedarii* (Acari: Ixodidae) as a control agent against female ticks. Global Vet., 3 (2): 125-131
- 22- Hussein, H. A.; Abd-EL-Salam, M. N. and Karram, M. H. 2008. Mite and tick infestation in cattle: haemogram and some biochemical parameters. SCVM. J. 1:161-170.
- 23- Tyson, K.; Elkins, C.; Patterson, H.; Fikrig, E. and de Silva, A. 2007. Biochemical and functional characterization of Salp20, an *Ixodes scapularis* tick salivary protein that inhibits the complement pathway. Insect Mol. Biol; 16: 469-479.
- 24-Mohamed, T. and Al-Sobayil, F. 2014. The effect of tick infestation on the serum concentrations of the cardiac biomarker troponin I, acid-base balance and haematobiochemical profiles in camels (*Camelus dromedarius*). Trop An. Heal. Prod. 46:139-144.
- 25-Mustafa, B. H. S. 2013. Level of zinc and some blood phenomena in sheep infested naturally with hard tick (Ixodidae) in Sulaimani province-Iraq Al-Anbar J. Vet. Sci., 6 (1): 32-38.
- 26-Rechav, Y. and Dauth, J.; 1987. Development of resistance in rabbits to immature stages of the tick, *Rhipicephalus appendiculatus* (Acari: Ixodidae). Med. Vet. Ento. ;1:177-183.
- 27-Rechav, Y.; Clarke, F.C.; Els, D.A. and Dauth, J. 1991. Development of resistance in laboratory animals to adults of the tick *Rhipicephalus evertsi evertsi*. Med. Vet. Ento. 5(1):29-34.
- 28-Rechav, Y. 1987. Resistance of Brahman and Hereford cattle to African ticks with reference to serum gamma globulin levels and blood composition, Experimental and applied Acarology. 3(3):219-32.
- 29-Springell, P.H.; OKelly, J.C. and Seebeck, R.M. 1971. Alternations in the host metabolism by the specific and anorectic effects of the cattle tick (*Boophilus microplus*). III. Metabolic implications of blood volume, body water and carcass composition changes. Aust. J. biol. Sci., 24: 1033-1045.

تأثير تجريع المستخلص المائي لأجزاء مختلفة (الراس والجسم والمستنضد الكلي) من قراد جنس *Boophilus annulatus* على بعض الصفات الكيموحيوية (البروتين الكلي، الالبومين والكلوبيولين)

في الارانب المحلية

أيوب ابراهيم علي

كلية الطب البيطري ، جامعة الفلوجة ، الفلوجة ، العراق

الملخص

صممت هذه الدراسة لمعرفة تأثيرالتجريع الفموي لمستخلص مائي لأجزاء مختلفة (الراس والجسم والمستنضد الكلي) للقراد جنس *Boophilus annulatus* على بعض الصفات الكيموحيوية (البروتين الكلي، الالبومين والكلوبيولين) في مصل دم الارانب المحلية. اظهرت النتائج ارتفاعا معنويا في معدل البروتين الكلي في كل المجموعات التي اعطيت (الراس والجسم والمستنضد الكلي) مقارنة بمجموعة السيطرة. وكذلك بينت النتائج وجود زيادة معنوية في تركيز الالبومين في المجموعة المعاملة بمستنضد الجسم مقارنة بمجموعة السيطرة والمعاملة بمستنضد الراس بينما لم يلاحظ وجد فروقات معنوية في تراكيز الالبومين بين معاملات مستنضد الجسم والمستنضد الكلي. كما وبينت الدراسة وجود زيادة معنوية في تراكيز الكلوبيولين في معاملات المستنضد الكلي ومستنضد الراس مقارنة بالسيطرة. والمستنضد الكلي مقارنة بمستنضد الجسم.

## Histopathological effects resulting from attempts of immunization by serum and lymphatic cells of mice spleen

Ashraf Jamal Mahmoud Zangana , Shurooq Hameed Majeed Al-nassiri

Department of Biology , College of Education for women , Tikrit University , Tikrit , Iraq

### Abstract

The present study confined for the impact of muscular immunization to white mice (Balb / c) with serum and cell lymphoma from spleen immunized mice with different antigens (mature eggs, live larvae, liquid hatch eggs were studied and extract adult worm) of *Toxocara canis* , against infection by the larvae of *Toxocara cati* in the case of hetero infection and against the larvae of *Toxocara canis* in similar infection case. The histological sections for members of infected organs mice observed in stomach the presence of gastric mucosal epithelium blocks and alienation cellular in the mucosal layer in the cavity and degeneration and crash infectious cytoplasm of cells in the core plate, and infiltration of lymphocytes in serosa layer. And in intestine villi were degenerated with alienation other, with infiltration of cell between the mucous glands and gatherings focus. in Liver appeared the degeneration of a broad and sharp cells, many of Kuffer cells appeared and lymphocyte infiltration around some central veins were detected. interstitial tissue of lung contained focal lymphocytes and clusters of these cells on some of blood vessels with bleeding alveolitis. The white pulp of the spleen contained of lymphocytes. Infiltration. kidney cortex was containing atrophied glomeruli and disintegration of many epithelial cells.

**Key words:** immunization, Toxocariasis, histopathology.

### Introduction

The worms *Toxocara canis* and *Toxocara cati* are common worms among human and the cats and dogs (1) and are widespread on a global level which forming a dangerous effect on human humidity spicily where infect children between the ages of 4-10 years (2).

Human and other animals become infected when taking mature eggs, These eggs hatch for larvae in the small intestine and then penetrate the lining of the intestine and transmitted by blood or lymph, and wandering larvae in different organs of the body, causing visceral larva migrans (VLM) and sometimes ocular larva migrans (OLM), and access to the retina and the brain is one of the most serious complications in the case of human infection (3).

Woodruff *et al.*, (4) said that, the arrival to retina and the brain is one of the most serious complications in the case of human infection, and also demonstrated that increasing amounts of antibodies type IgG was after three weeks from experimentally cats infection. Soulsby (5) explained the emergence of pathological effects due to parasite migration and adhesion layers of textile and movement of a member of another contrast inflammatory response is gathered occur and infiltration of inflammatory cells .

Mahmoud (6) showed histological changes in organs of infected mice by *Toxocara canis* such as Hemolysis of RBC in the blood vessels in tissue of the spleen ,lung , intestine ,stomach and infiltration of lymphocytes in the liver, lung, kidney, and disintegration of muscle fiber attacks and flayed the epithelial cells of the gut .

The aim of the present study was to explain the histopathological effects in infected mice by *Toxocara canis* after immunized it by serum injection and lymphocytes of spleen.

### Materials and methods

1-gathering worms: Bulk been hunting cats and dogs mediated by gunshot or poisoning substance

(stryqnine), and isolated the small intestine and examined its contents, then collected worms from infected animals, diagnosed by (7).

2-lap & extract and eggs: eggs extracted by the way (8).

3-hatched eggs and larvae get: depending on the way (9) have been hatched eggs.

4-extracting larvae: method was used (10) for it.

5- larvae culturing: method was used by (11) and the media used as antigen of excretory – secretory materials.

6- preparation the antigens of extract worms *T. canis*: attended the antigens by the way (12).

7-serum and cells immunized: method is used (13).

8-design experience:

Group A: included 48 mouse was given serum of immunized mice intravenous immunization dose by mature eggs and live larvae and hatching liquid eggs and extract worm antigens of *T. canis* .

Group B: 48 mouse were given immunization doses of *T. canis* in the order above in the first set, except that the doses were immunized mice was spleen cells. After 24-hour were given a half groups of challenge dose 1000 mature egg of *T. cati* (in hetero infection) and the other half was given a challenge dose 1000 mature egg of *T. canis* (in similar infection) and after 10 days giving the challenge dose and killed and explained mice larvae were counted.

9-histological section: method was used cardines to technique by (14) in the preparation of histological slides, and then used Harris Haematoxylin and Eosin Yellow stain to show proper histological slides.

### Results and Discussion

The results showed the presence of pathological and macroscopic changes in the organ of infected animals, and showed the histological section for members of infected organs mice as the followings:

1. stomach: presence of gastric mucosal epithelium with cellular desquamations in the mucosal layer in

the stomach cavity and It was also noted degeneration and crash of cytoplasm of these cells in the core plate (figure1). And the disintegration of the connective tissue and of smooth muscle fiber of the stomach also noted, and appeared some small blood vessels empty of blood, it was with infiltration of lymphocytes in serosa layer (figure 2).

2. intestine: The surface of the villi were degenerated with a number of epithelial cells lining the villi was slouched, and also emerged number of large gaps in the mucosal cells lining the glands of the intestinal mucosa associated with infiltration of lymphocytes between the mucous glands and gatherings focus small lymph when the rules of the intestinal mucosa (figure 3,4).

3. Liver: hepatocytes were degenerated, the most of cytoplasm was foamy appearance and its nuclei decomposed or even free with Many of Kuffer cells appeared the presence of a lymphocyte infiltration around some central veins were detected (figure 5,6).

4. lung: Interstitial connective tissue contained focal lymphocyte aggregation and the blood vessels with the emergence of a bloody congestion and

hemorrhage of red blood cells in the interstitial tissue between of the wall of within alveoli (figure 7).

5. Spleen: appeared its white pulp with some groupings of lymphocytes (figure 8).

6. Kidney: The cortex was containing glomeruli in the case of atrophy and disintegration of many cells in the cavity tubules (figure 9).

Mustafa (15) said that Nematodes cause inflammation of the intestine specially to the outer layer (mucosa), and characterized by the present of chronic inflammatory cells in different proportions in the intestinal parasite classes as a foreign body needs to defense by the body seen in the form of infiltration of inflammatory cells, Yacob *et. al.* (16) explained the occurrence of degeneration due to the presence of the parasite and fragmented cells which appeared corroded and devoid of any of the original features. Soulsby (5) showed that the Hyperplasia case had to important cases that reflect the pathological effects caused by infestation This is consistent with the findings of the Woodruff (4).

#### Acknowledgement

thank Professor Dr. Ayad Hamid Ibrahim to read the histopathological slides .

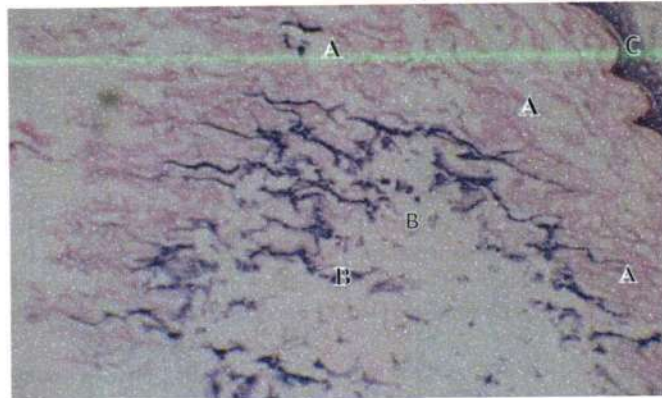


figure (1): The stomach: A: stomach cavity filled with mucous B: Epithelial cell surface of stomach cavity C: crash stomach cells in the core plate (H & E 400X).

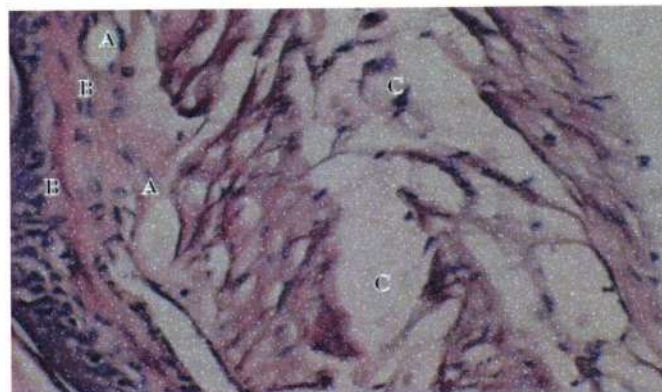


figure (2): The stomach: A: some small blood vessels appeared empty from blood B: infiltration of lymphocytes in serosa layer C: loosening and atrophy of smooth muscle fibers (H & E 400X).

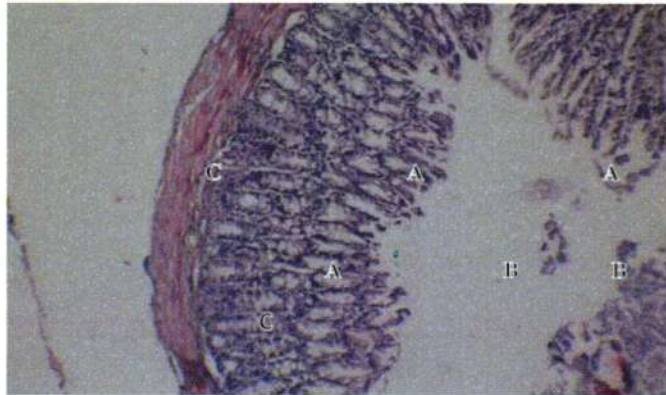


figure (3): The intestines showing : A: destention of epithelial cells of the intestinal villi B: alienation villi in intestinal cavity C: infiltration of lymphocyte between the intestinal villi and glands (H & E 40X).

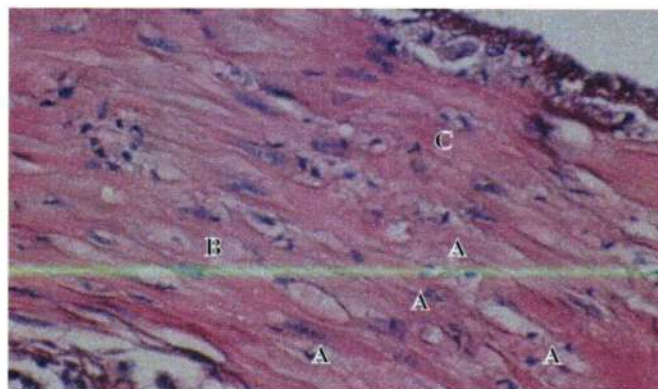


figure (4): The intestinal tissue: A: epithelial cells of the intestinal villi with destination B: infiltration of lymphocytes between muscle fibers C: infiltration lymphocyte cells in serosa layer (H & E 400X).

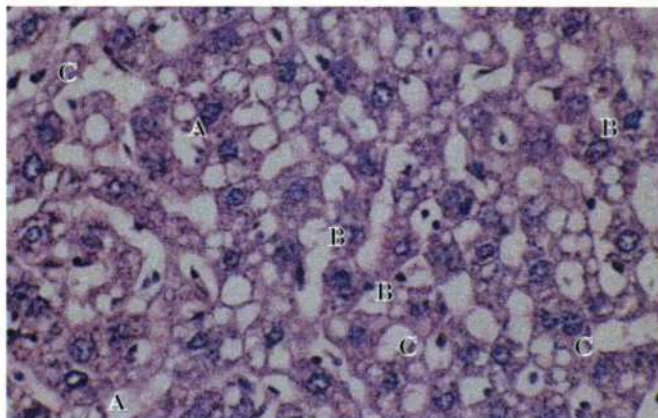


figure (5): The liver: A: degeneration of liver cells B: foamy appearance of cytoplasm of hepatic cells C: vessels blood with kuffer cells (H & E 400X).

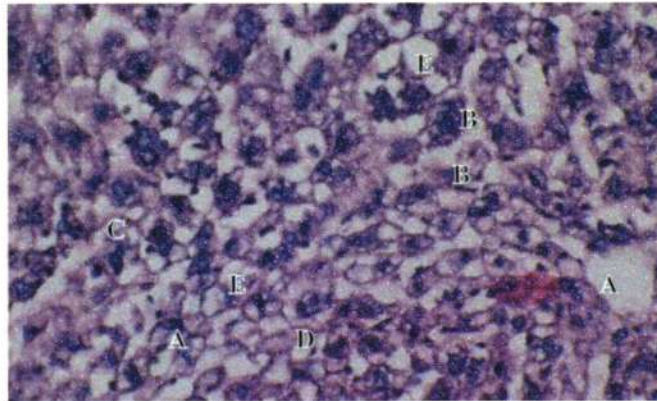


figure (6): The liver: A: atrophy of liver cell B: degeneration of hepatic cells C: infiltration of lymphocytes around central vein E: blood vessels (H & E 400X).

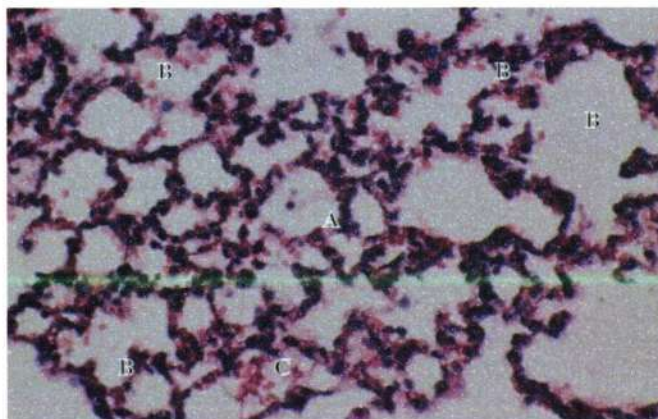


figure (7): The lung: A: infiltration of lymphocytes B: Red blood cells within the alveoli cavities C: hemolysis blood vessel of the interstitial tissue (H & E 200X).

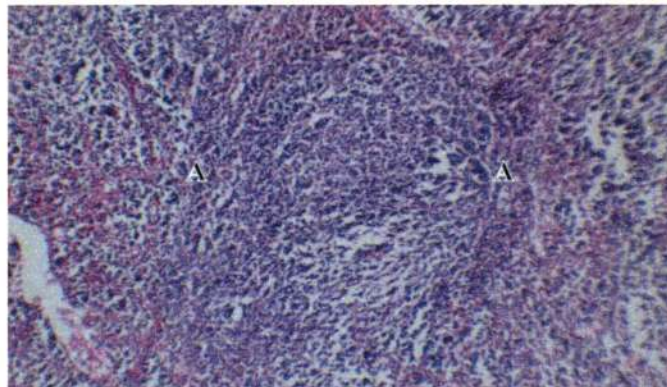


figure (8): The spleen : A: lymphocytes in white pulp (H & E 200X).

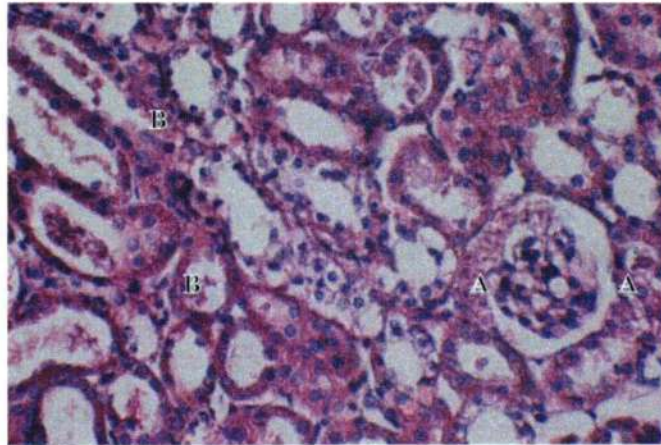


figure (9): The kidney: A: atrophy of glomerulus B: cellular epithelial disintegration in proximal and distal convoluted tubules (H & E 200X).

### References

- 1- Gortari, C.; Cazou, C. & Hours, R. (2007). Nematophagous fungi of *Toxocara canis* eggs in a public place of La Plata, Argentina, Rev. Iberoam. Micol., 24:24-28.
- 2- Machado, A. B. (2003). Visceral larva migrants: Case report. Anais Brasileiros de Dermatologia. 78: 215-219.
- 3- Gillespie, S. H.; Bidwell, D.; Voller, A.; Robertson, B. D.; & Maizels, R. M. (1993). Diagnosis of human toxocariasis by Antigen capture enzyme linked immunosorbent assay. J. Clin. Pathol., 46:551-554.
- 4- Woodruff, A. W.; Savigny, D. H. & Jacob, D. A. (1978). Study of toxocaral infection in dog breeder. Brit. Med. J., 2: 1747-1748.
- 5- Soulsby, E. J. (1982). Helminths, Arthropods and protozoa of domesticated animals. 7<sup>th</sup> ed., Bailliere Tindall, London. p 150-155.
- 6- Mahmoud, A. J. (2014). The prevalence of Toxocariasis in Salah al-Din province with an immune attempt in laboratory mice Balb / c. thesis, College of education, Univ. of Tikrit.
- 7- Yamaguti, S. (1961). Systema Helminthum. 1<sup>st</sup> ed., Chancery Lane, London: 679pp.
- 8- Fairbarin, D. (1957). Physiological hatching of *A. lumbricoides*. Experiment and techniques in parasitology free man and Co., San Francisco. pp: 20-23.
- 9- Sprent, J. F.A. (1950). (on the toxic and Allergic manifestation caused by tissues and fluid of *Ascaris*. Effect of different chemical fractions on worm – free infected and sensitized guinea – pig). Journal of infections disease, 84:146-158.
- 10- Cleeland, R. and Laurence, K. A. (1961). In Vitro cultivation of *Ascaris lumbricoides* var suum. Larvae. J. of parasitol., 48 (1): 35-38.
- 11- Al-Kubaissi, A. B. (1992). Study of resistance of white mice Balb / c with *T.cati*, *T. leonine* infection. M. Sc., Thesis Univ. of Baghdad.
- 12- Al-Kubaissi, A. B.; Al-Ani, I. A. & Dawod, I. S. (2005). Efficiency white mice (Balb / c) immunization with somatic antigen of *T.canis* and *T. leonine* to resist infection with *T. cati*, *T.leonine* worm. Al-anbar J. of Agr. Sci., 3 (1): 251-256.
- 13- Al-Gumaily, S.K. (1990). Study of the efficiency of vaccination with different antigens from *T.cati*, *T. leonine*. M. Sc., Thesis Univ. of Baghdad.
- 14- Bancroft, J. D. & Stevens, A. (1982). Theory and practice of Histological Techniques. 2<sup>nd</sup> ed. Churchill Livingstone, Inc., New York, pp: 662.
- 15- Mustafa, F. A. (1999). Pathological effects of *Paradilepis delachauxi* (Fuhrman, 1909) (Cestode: Dilepididae) in alimentary canal of the *Phalacrocorax pygmaeus* in Basrah, Iraq. J. Basrah by tissue Researches, 20 (part 1): 23-26.
- 16- Yacob, H. T.; Avele, T.; Fikru, R. & Basu, A. K. (2007). Gastrointestinal nematodes in dogs from Deber Zeit, Ethiopia. Vet. Parasitol., 148(2): 144-148.

## التأثيرات النسجية المرضية الناتجة من محاولات التمنيع بمصل والخلايا المفاوية لطحال الفئران

أشرف جمال محمود زنكنة ، شروق حميد مجيد الناصري

قسم علوم الحياة ، كلية التربية للبنات ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### الملخص

أجريت الدراسة الحالية لغرض معرفة التأثيرات النسجية المرضية الناتجة من تأثير التمنيع العضلي للفئران البيض (Balb/c) بمصل والخلايا المفاوية لطحال الفئران الممنعة بمستضدات مختلفة (البيوض الناضجة، البرقات الحية، سائل قفس البيوض، مسخلص الدودة البالغة) لديدان السهمية الكلبية *Toxocara canis* لمقاومة الخمج بيرقات السهمية القطية *Toxocara cati* في حالة الخمج المغاير وضد يرقات السهمية الكلبية في حالة الخمج المماثل. المقاطع النسجية للعديد من أعضاء الحيوانات المصابة أظهرت امتلاء تجويف المعدة بالكتل المخاطية وانسلاخ خلوي في الطبقة المخاطية في تجويف المعدة وتحطم الخلايا المعدية في الصفيحة الأساسية، والعديد من الاوعية الدموية ظهرت خالية من الدم وأرتشاح الخلايا المفاوية في الطبقة تحت المخاطية. وفي الأمعاء لوحظ تحطم خلايا وزغابات الأمعاء وانسلاخ العديد منها مع ارتشاح خلوي لمفي عند قواعد الزغابات وقواعد الغدد المعوية، ظهر في الكبد تنكس حاد وواسع لخلايا الكبد وخلايا كوفر ظهرت في الجيبانيات الدموية والخلايا المفاوية مرتشحة حول بعض الجيبانيات الدموية. تخلل الانسجة الرئوية ارتشاح خلوي لمفي مع وجود كريات الدم الحمراء داخل تجاويف الانساخ مع نزف دموي للنسيج الخلالي للرئة. ظهر في اللب الأبيض للطحال تجمعات من الخلايا المفاوية. احتوت قشرة الكلية على ضمور للكبيبة وتنكس العديد من الخلايا.

الكلمات الدالة: التمنيع ، داء السهميات ، التأثيرات النسجية.

## Comparison between bacteremia in burned and nonburned patients

Suham Shakoor Obaid<sup>1</sup>, Qanat Mahmmod Atiyea<sup>2</sup>, Shaimaa Mustafa Qattal<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Biology Department, College of Science, Kirkuk University, Kirkuk, Iraq

<sup>2</sup> Biology Department-College of Science-Tikrit University, Tikrit, Iraq

<sup>3</sup> Medical laboratory techniques department, Technical college, Northern technical university, Kirkuk, Iraq

### Abstract

In this study (186) samples of bacteremia (Burns and Non burns) included (81) samples were positive and (105) samples were negative. The patients age of (1-10) years are the more number and frequency of patients while the patients age (41-50) years were the lowest number and frequency of patients. The large number of bacteremia in age (1d-30d), while the less number of bacteremia in age (41-50) years. There were 24 patients with bacteremia (12) male ;(12) female which represents the large number of bacteremia according to gender and age, and the smallest number of them is (2) in age (41-50) years. *Staphylococcus aureus* is the largest number of identified bacteria that isolated from blood samples, then *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. The isolates in this study were studied in their ability of Resistance (R) or Sensitive (S) or Intermediate (I) against Imipenem, Ceftazidime, Cefotaxone, Cefotaxime, Cefixime, Cefalothine, Gentamicine, Pipracilline, Ampicilline, Ticarcillin, Ciprofloxacin and Amoxicilline +Clavulanic acid (AMC). The conclusion's in presents study indicates females higher than males as well as the age (1-10) years from other ages, but Bacteremia (+) alternated in different ages.

### Introduction

Bacteremia is one of the most important causes of mortality and morbidity in burnwards and major reason of death.

A major problem in many parts of the world is a Burn injury, as it is not only associated with delayed wound healing and scar formation, but may also lead to sepsis related morbidity and mortality [1].

Several reasons make burns victim predisposed to infections, such as Necrotic tissues presence, widen of burn area, Inability of blood to reach the affected environment, Immunocompromising effect of burn wounds and moist area in wound (which is susceptible for proliferation and colonization) [2,3,4]. The microorganisms can originate from the patient's own skin (hair follicles and sweat glands), gut and respiratory flora (endogenous), as well as from contact with health care personnel and environment (exogenous) [5]. Invasion of microorganisms into the tissue layers below the dermis lead to bacteremia, sepsis and multiple organ dysfunctions. Bloodstream infection and the subsequent development of sepsis are among the most common infection complications occurring in burn patients in the intensive care unit [6]. Bacteremia and infection can release toxins into the blood that leads to sepsis and cause systemic inflammatory response [7]. Thermal destruction of the skin barrier and concomitant depression of local and systemic host cellular and humoral immune responses are pivotal factors contributing to infectious complications in patients with severe burns [8,9,10]. The burn wound surface (in deep partial-thickness and in all full-thickness burns) is a protein-rich environment consisting of avascular necrotic tissue (eschar) that provides a favorable niche for microbial colonization and proliferation [9,11].

Gram-positive bacteria that survive the thermal insult, such as *Staphylococci* located deep within sweat glands and hair follicles, heavily colonize the wound

surface within the first 48 hours unless topical antimicrobial agents are used. [9,11] These wounds are subsequently colonized with other microbes including Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria & yeasts derived from the host's normal gastrointestinal and upper respiratory flora and/or from the hospital environment or that are transferred via a health care worker's hands [10,11,12,13].

### Materials and methods

#### 1\_Study Population:

One hundred and eighty six blood samples were collected from patients (infants/adults) under aseptically conditions. Admitted to Azadi teaching hospital in Kirkuk City from the period of (30/1/2014) to (1/7/2015), where (84) male and (102) female, the age was from 1 day \_98 years.

#### 2-Sample collection:

In all cases blood was obtained by peripheral vein puncture. At least 1 ml of blood was used from children under one year age, 2 ml from children above 1 year and 5 ml for adult patients. The blood samples were inoculated into culture bottle contained brain heart infusion (9, 18, 45 ml) respectively then transferred immediately to the laboratory to incubate it at 37 C for 2-7 days [14].

#### 3-Identification

After the incubation period, the signs of growth appeared in the blood culture e.g.; gas production, turbidity, hemolysis and flocculation. 0.1 ml was taken from the blood culture then subcultured on media blood agar, chocolate agar put in candle jar for recovering of microaerophilic bacteria, other 3 plates put directly incubated at 37 C for 24 hours. The colonies identified depending on microscopic and biochemical tests [15,16,17].

#### 4-Antibiotic sensitivity

Antibiotic sensitivity was performed on Mueller-Hinton agar according to Kirby-Bauer disc diffusion method [18]. Sensitivity was read after incubation for

24 hours at 37 C. Isolates were regarded as sensitive or resistant according to NCCLS criteria [19].

**Results and Discussion**

In This study we are focus the light on the studying the patients with Bacteremia (Burned & Non burned) and comparison between them of the age and gender,

we are observed the female higher than the male because of the nature of work and as many as currency which will be the reason of burns it was not correlated with [20] They showed that the females less than males whereas agreement with [21,22,23,24]. As in the Table(1) & (2).

**Table(1): Blood culture results and proportion of bacteremia**

Cultured result	Male	Female	Total
	No.%	No.%	No.%
Positive	34 (40,47%)	47 (46,07%)	81 (43,24%)
Negative	50(59,52%)	55(53,92%)	105(56,45%)
Total	84(45,16%)	102(54,83%)	186

**Table(2): cultured result according to gender and type of patients**

Cultured result	Total NO.	Burned patients		Non- burned patients	
		Male No. %	Female No. %	Male No. %	Female No. %
Positive	81(43,54%)	3 (37,5%)	13 (80%)	31 (40%)	34 (40,22%)
Negative	105(56,45%)	5(62,5%)	2(13,33%)	45(59,21%)	53(60,91%)
Total	186	8(4,30%)	15(8,06%)	76(40,86%)	87(46,77%)

When comparison the age we are observed that the age (1-10) years was 45 (24,19%) the highest number of patients because of being this period represent the activity of the child and his movements contact with the environment without knowlege of its dangerous of its dangerous which correlated with [25] followed

by age (1 d-30 d) 36(19,35%) because of the weakness of the immunity system in this age. thus (2-11)m was 24 (12,90% ) then graduated in the other ages in smaller number to limit above of (60)years , it was not correlated (20) as in Table (3).

**Table(3):Total number and frequency of patints according to gender, age and type of patients**

Patients age	Total NO.	Burned patients		Non- burned patients		Total NO.	
		Male No. %	Female No. %	Male No. %	Female No. %	Male No. %	Female No. %
1d-30d	36(19,35%)	0	0	19(25%)	17(19,54%)	19(22,61%)	17(16,66%)
2 -11m	24(12,90%)	1(12,5%)	0	9(11,84%)	14(16,09%)	10(11,90%)	14(13,72)
1-10 y	45(24,19%)	5(62,5%)	1(6,66%)	21(11,29%)	18(20,68%)	26(30,95%)	19(18,62%)
11-20y	23(12,36%)	2(25%)	9(60%)	6(7,89%)	6(6,89%)	8(9,52%)	15(14,70%)
21-30 y	14(7,52%)	0	4(26,66%)	6(7,89%)	4(4,59%)	6(7,14%)	8(7,84%)
31-40y	10(5,37%)	0	1(6,66%)	4(5,26%)	5(5,74%)	4(4,76%)	6(5,88%)
41-50y	8(4,30%)	0	0	1(1,13%)	7(8,04%)	1(1,19%)	7(6,86%)
51-60y	11(5,91%)	0	0	5(6,57%)	6(6,89%)	5(5,95%)	6(5,88%)
Above 60y	15(8,06%)	0	0	5(6,57%)	10(11,49%)	5(5,95%)	10(9,80%)
Total	186	8(4,30%)	15(8,06%)	76(40,86%)	87(46,77%)	84(45,16%)	102(54,83%)

We were notice bacteremia was (+) according to age and gender ,the highest percentage was 24 (29,6%) for children in age (1d-30d) infants because of thesnot maturity for the immunity system and followed by 17(20,9%) for cheldren in age (1-10 y) because of the contineous movement of human beings in this stage of age (more dangerous) then age(11-20y)12(14,8%) which followed by bacteremia (+) in age(2-11 m) 9(11,1%) in all this states the(Non burned patients) were the largest number of the

Burned patients except of age (11-20 y) this results were correlated with [20]. The Burns were deep and dagerous because of diffeult work of this people in this period of age,at last bacteria reach to the Blood stream to cause Bacteremia ,it was not correlated with [23] and [20]. The role of different bacterial species in burn pathology varies from mere colonization, interference with healing and grafting, to invasion of the blood stream with subsequent septicemia, local tissue sepsis and death [26]...as in Table(4).

Table (4): Distribution of bacteremia (+ ve) according to gender and age

Patients age	Total NO.	Burned patients		Non- burned patients		Total NO.	
		Male No. %	Female No. %	Male No. %	Female No. %	Male No. %	Female No. %
1d-30d	24(29.6%)	0	0	12(50%)	12(50%)	12(50%)	12(50%)
2 -11m	9(11.1)	0	0	3(33.3%)	6(66.6%)	3(33.3%)	6(66.6%)
1-10	17(20.9%)	3(17.6%)	1(33.3%)	7(41.1%)	6(35.2%)	10(58.8%)	7(41.1%)
11-20	12(14.8%)	0	6(50%)	3(25%)	3(25%)	3(25%)	9(75%)
21-30	7(8.6%)	0	3(42.8%)	3(42.8%)	1(14.2%)	3(42.8%)	4(57.1%)
31-40	4(4.9%)	0	2(50%)	1(25%)	1(25%)	1(25%)	3(75%)
41-50	2(2.4%)	0	0	1(50%)	1(50%)	1(50%)	1(50%)
51-60	3(3.7%)	0	0	1(33.3%)	2(66.6%)	1(33.3%)	2(66.6%)
Above 60	3(3.7%)	0	0	0	3	0	3(100%)
<b>Total</b>	<b>81</b>	<b>3(3.7%)</b>	<b>12(14.8%)</b>	<b>31(38.2%)</b>	<b>35(43.2%)</b>	<b>34(41.9%)</b>	<b>47(58%)</b>

The high number and percentage of bacteria was *Staph.Spp* 42 (50.6%) because it was being the normal flora then become opportunistic in the acute infection because of being those patients were immunocompromised individuals, followed by *E.coli* 11( 13,25%) which represent the distinct pathogen of

skin and bacteremia then *P.aeruginosa* 7(8.43%) then *Staph.aureus* was 6 (7.22%) were main pathogens of of burns and wounds and it was the basis of bacteremia,where as the other genera occurrence in the smaller number, This results were not correlated with [20,27,28,29].as in the Table(5).

Table(5): Number and percentage of identified bacteria isolated from blood samples

Bacterial name	Patients no. (81)		Burned (16)		Non-burned (65)	
	NO.	%	Male No. %	Female No. %	Male No. %	Female No. %
1. <i>Staphylococcus aureus SA</i>	6(7.22%)		--	--	2(33.3%)	4(66.6%)
2. <i>Staphylococcus ssp.* SS</i>	42(50.6%)		--	3(7.14%)	19(45.2%)	20(47.6)
3. <i>Enterococcus faecalis</i>	1(1.20%)		--	--	--	1(100%)
4. <i>Streptococcus ssp.**</i>	4(4.81%)		--	--	1(25%)	3(75%)
5. <i>Escherichia coli E</i>	11(13.25%)		--	3(27.2%)	3(27.3%)	5(45%)
6. <i>Serratia marcescens SM</i>	1(1.20%)		1(100%)	--	--	--
7. <i>Klebsiella pneumoniae Kp</i>	4(4.81%)		--	2(50%)	2(50%)	--
8. <i>Klebsiella terrigena Kt</i>	1(1.20%)		--	1(100%)	--	--
9. <i>Citrobacter freundii CF</i>	1(1.20%)		--	1(100%)	--	--
10. <i>Pasteurella pneumotropica PP</i>	1(1.20%)		--	--	1(100%)	--
11. <i>Pseudomonas aeruginosa P</i>	7(8.43%)		2(28.5%)	3(42%)	1(14.2%)	1(14.1%)
12. <i>Acinetobacter baumani A</i>	3(3.61%)		--	2(66.6%)	1(33.3%)	--
13. <i>Moraxella catarrhalis M</i>	1(1.20%)		--	--	1(100%)	--
14. Total bacterial number	83***		3(3.6%)	15(18%)	31(37.34%)	34(40.9%)

\* Coagulase -ve, \*\* alpha streptococci, \*\*\* 2 patient infected with two pathogens

On the other hand the results of antibiotic showed *E.coli* was Resistance (R) for all usage antibiotic because of being own the transfer plasmids of the genes by conjugation where as the *Citrobacter freundii* was sensitive (S) for all of them this result

correlated with[23]. But *P.aeruginosa* was Resistance (R) for the majority of the usage antibiotic because this bacteria was own distinct genetic properties(we will mentioed it cosequently) which agreed with [27,24], but disagreed with[30].as in the Table (6).

Table (6): Results of Antibiotic sensitivity for *E.coli* & *Citrobacter freundii*

Antibiotics symbol and cocentration	Bacterial name: <i>E. coli</i> and <i>Citrobacter freundii</i>											
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	CF
Imipenem IPM(10)	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
Ceftazidime CAZ(30)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Ceftriaxone CRO (30)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Cefotaxime CTX(30) or CTR	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Cefixime CFM(5)	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Cephalothin KF OR CEP	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Gentamicin GM(10)	I	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S
Pipracillin PI (100)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Amoxicillin + Clavulanic acid AMC	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Ampicillin AMP (10)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Ticarcillin TIC(75)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Ciprofloxacin CIP(5)	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S

as well as, *Pasteurella pneumotropica* was Resistance (R) for the majority of antibiotic. While *Acinetobacter bauranti* was alternated between

sensitive and Resistance for the usage antibiotic in our study which correlated with [31]. as in the Table (7).

Table (7): Results of Antibiotic sensitivity for *P.aeruginosa* & , *Pasteurella pneumotropica*, *Acinetobacter baumani*, *Moraxella catarrhalis*

Antibiotics symbol and concentration	Bacterial name: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pasteurella pneumotropica</i> , <i>Acinetobacter baumani</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i>											
	PI	P2	P3	P4	P5	P6	P7	PP8	A1	A2	A3	MC
Imipenem IPM(10)	S	S	S	R	S	R	S	R	R	R	S	S
Ceftazidime CAZ(30)	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S
Cefixime CFM(5)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
Tobramycin TOB (10)	R	R	S	R	S	R	R	S	I	R	S	S
Amikacin AK (30)									I	R	S	S
Pipracillin PI (100)	R	R	R	R	R	R	R	R				S
Amoxicillin + Clavulanic acid AMC	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Penicillin P								R	R	R	R	R
Ciprofloxacin CIP(5)	R	R	S	S	S	R	S	S	I	S	S	S

While *Klebsiella* was Resistance(R) except one of the isolates was Sensitive(S). as in the Table (8).

Table (8): Results of Antibiotic sensitivity for *Klebsiella* & *Serratia*

Antibiotics symbol and cocentration	Bacterial name, <i>klebsiella</i> , and <i>serratia</i>				
	Kp1	Kp2	Kp3	Kt	Sm4
Imipenem IPM(10)	S	R	R	R	R
Ceftazidime CAZ(30)	S	R	R	R	R
Ceftriaxone CRO (30)	S	R	R	R	R
Cefotaxime CTX(30)	S	R	R	R	R
Cefixime CFM(5)	S	R	R	R	R
Cephalothin KF	S	R	R	R	R
Gentamicin GM(10)	S	R	R	R	R
Amoxicillin + Clavulanic acid AMC	R	R	R	R	R
Ciprofloxacin CIP(5)	S	S	R	R	R

In such this case the reason of some bacterial isolates was Resistant(R) to antibiotics may be due to development new resistant genes or by mutation through previously exposure to these antibiotics.. and this acorrelated with [27]. *Staph. spp* and number of isolates of *Staph.aureus* was alternate between Resistance (R) and Sensitive(S) as well as for *E.faecalis* which was not correlated with [23] were all the isolated *Staphylococcus aureus* and Coagulase negative *Staphylococci* were susceptible to Vancomycin and all the isolates of *Staphylococcus*

*aureus* except one were Resistant (R) for Oxacillin (Methicillin) which correlated with [32]. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is also called oxacillin resistant *S. aureus* (ORSA) which has long been associated as a major agent of nosocomial infection and is a prominent reason for higher morbidity and mortality in burn patients causing a variety of infections such as bacteremia, pneumonia, septic arthritis, endocarditis, and surgical site infections [33,34]. as in the Table(9),(10),(11) and (12).

Table (9): Antibiotic sensitivity of *Staph. aureus*

Antibiotics symbol and coccentration	Bacterial name, staph sp.									
	SS 1	SS 2	SS3	SS 4	SS 5	SS 6	SS 7	SS 8	SS 9	SS 10
Gentamicin GM(10)	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
Erythromycin E (15)	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R
Tetracycline TC or TE(20)	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R
Penicillin	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R
Ciprofloxacin CIP(5)	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
Vancomycin VA (30)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Oxacillin OX	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Clindamycin CD	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S

Table (10): Antibiotic sensitivity of *Staph. aureus*

Antibiotics symbol and coccentration	Bacterial name: <i>staph. spp.</i>													
	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24
Gentamicin GM(10)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
Erythromycin E(15)	S	S	S	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S
Tetracycline TC (20)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R
Penicillin	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
Ciprofloxacin CIP(5)	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Vancomycin VA (30)	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S
Oxacillin OX	R	S	S	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R
Clindamycin CD	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S

Table (11): Antibiotic sensitivity of *Staph. aureus*

Antibiotics symbol and coccentration	Bacterial name: <i>staph. spp.</i>													
	S25	S26	S27	S28	S29	S30	S31	S32	S33	S34	S35	S36	S37	S38
Gentamicin GM(10)	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
Erythromycin E(15)	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	R	R
Tetracycline TC (20)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Penicillin	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R
Ciprofloxacin CIP(5)	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	R
Vancomycin VA (30)	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
Oxacillin OX	S	R	S	R	I	R	S	R	R	R	R	R	S	R
Clindamycin CD	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S

Table (12): Antibiotic sensitivity of *Staph. aureus*

Antibiotics symbol and coccentration	Bacterial name: <i>staph. spp.</i> and <i>staph. Aureus</i>											
	S39	S40	S41	S42	S43	SA 1	SA 2	SA 3	SA 4	SA 5	SA 6	
Gentamicin GM(10)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
Erythromycin E(15)	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	
Tetracycline TC (20)	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	
Penicillin	R	R	R		R	R	R	R	R	R	R	
Ciprofloxacin CIP(5)	S	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	
Vancomycin VA (30)	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	
Oxacillin OX	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	
Clindamycin CD	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	

The spread of MRSA has an enormous impact on patients as well as in the country because it dramatically increases the health-care expenditure [35]. Infection of burn wound patients with MRSA and pathogen causes higher morbidity and mortality which may contribute death in about three fourths of the burn wound infected patients [23,36]. Burn wound infections in some countries become of more concern due to lower socioeconomic status and tropical weather that intensify the occurrence and spread of various pathogens. Due to imprudent uses and suboptimal doses of antibiotics, common

pathogenic microorganism develops antimicrobial resistance against commonly used drugs. It increases the burden of patient as well as national cost in the health care sectors which was in agreement with the findings of [37] as they reported 28% frequency of MRSA in hospitalized burn patients. Methicillin resistant *S. aureus* can spread from one patient to another patient during their nursing, and the hospital personnel may promote the transmission [38]. All the Gram negative bacterial isolates were Resistance and sensitive to Imipenem, Ciprofloxacin then followed by Piperacillin + Tazobactam and ceftazidime. In

most cases, patients initially take antibiotic without consulting an expert. As a result microorganisms get suboptimal pressure at which they are not killed conversely, they acquire their ability to withstand the antibiotic pressure and emerge as antibiotic resistant strain. [38,39]. There are three mechanisms of antibiotics resistance including: reduced uptake or decreased cell permeability, production of modifying enzymes, or alterations at the ribosomal binding sites [40] All this results doesnot correlated with [41] were majority of them isolats were Sensitive(S) and the rest(most few) were Resistance (R). Still, management of burn patients remains a specialized burn units and challenge with respect to availability of dedicated as well as increasing drug resistance [26]. In our studying we were found that *S.viridans*

### References

- 1- American Burn Association. 2000. Burn incidence and treatment in the US: 2000 fact sheet. <http://www.ameriburn.org>.
- 2- Chong SJ, Song C, Tan TW, Kusumawijaja G, Chew KY. Multi-variate analysis of burns patients in the Singapore General Hospital Burns Centre (2003-2005). *Burns* 2009; 35(2): 215-20.
- 3-Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Mandell, Douglas, and Bennett's (2010) principles and practice of infectious diseases. 7th ed. London, UK: Churchill Livingstone/Elsevier; 2010.
- 4-Bang RL, Gang RK, Sanyal SC, Mokaddas E, Ebrahim MK (1998) Burn septicaemia: an analysis of 79 patients. *Burns* 1998; 24(4): 354-61.
- 5- Church D, Elsayed S, Reid O, Winston B, Lindsay R (2006). Burn Wound Infections. *CLIN MICROBIOL REV* 19: 403-434.
- 6-Santucci S G, Gobara S, Santos C R, Fontana C, Levin A S (2003). Infections in a burn intensive care unit: experience of seven years. *J HOSP INFECT* 53: 6-13.
- 7-Forner L, Larsen T, Kilian M, Holmstrup P (2006). Incidence of bacteremia after chewing, tooth brushing and scaling in individuals with periodontal inflammation. *J CLIN PERIODONTOL* 33: 401-407.
- 8-Alexander, J. W. 1990. Mechanism of immunologic suppression in burn Injury. *J. Trauma* 30:S70-S75.
- 9-Hansbrough, J. F., T. O. Field, Jr., M. A. Gadd, and C. Soderberg. 1987. Immune response modulation after burn injury: T cells and antibodies. *J. Burn Care Rehabil.* 8:509-512
- 10-Lederer, J. A., M. L. Rodrick, and J. A. Mannick. 1999. The effects of injury on the adaptive immune response. *Shock* 11: 153-159.
- 11-Erol, S., U. Altoparlak, M. N. Akcay, F. Celebi, and M. Parlak. 2004. Changes of microbial flora and wound colonization in burned patients. *Burns* 30: 357-361 .
- 12-Manson, W. L., H. J. Klasen, E. W. Sauer, and A. Olieman. 1992. Selective intestinal decontamination for prevention of wound colonization in severely burned patients: a retrospective analysis. *Burns* 18: 98 - 102.
- 13-Altoparlak, U., S. Erol, M. N. Akcay, F. Celebi, and A. Kadanali. 2004. The time-related changes of antimicrobial resistance patterns and predominant bacterial profiles of burn wounds and body flora of burned patients. *Burns* 30: 660-664.
- 14-Bauchou, H.; Tylleskar, T.; Kaddu- Mulindwna, H. And Tumwine, K. (2006). Bacteremia among severely malnourished children infected and uninfected with the human immunodeficiency virus- in Kampala, Uganda. *BMC infect.Dis.-6*: 160-167.
- 15-Baron, E. J. and Finegold, S. M. Microbiology encountered in Urinary tract. *Baily and scots microbiology .9<sup>th</sup> ed.* Mosby. Company. USA, 1994.
- 16-Collee, J.S.; Fraster, A.G.; Mrmion, B.P. & Simmons, A. Mackie & McCartney partical medical microbiology. 20<sup>th</sup>ed. Vol.1. Churchill livingstone. London. 1996.
- 17-Mac Faddin, J. F. Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3<sup>rd</sup> ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2000.
- 18-Bauer, A. W.; Kirby, W.M.; Sherris, J. S.; Turk, M. (1996). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. J. Clin. Path.* 45: 493-496.
- 19-NCCLS, performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Test. NCCLS document M2-A7. Wayne, PA. 2000.
- 20- Ghai, S., Sachdeva, A., Mahajan, R., Dogra, S., Soodan, S. and Mahajan, B. (2015) Bacteriological and Antibiotic Susceptibility Profile of Aerobic Burn Wound Isolates at a Tertiary Care Institute in Northern India." *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, vol. 3, no. 4 (2015): 95-100. doi: 10.12691/jaem-3-4-1.
- 21-Sawhney, N., Shinu, P. and Singh, V. A. (2015) Bacteriological Profile and Antibiotic Susceptibility Pattern of Neonatal Septicaemia in a Tertiary Care Hospital. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* (2015) 4(10): 977-984.

22. Uma Chaudhary, N., Madhu Sharma, M., Singh Griwan, V. K. (2007) Methicillin resistant Staphylococcus aureus infection / colonization at the burn care unit of a medical school in India. *J Infect Dis Antimicrob agents.*; 24: 29-32.
- 23- Rao, S. R., Lakshmi, L. J., Pavani, S., Kawle, V. and Prakash, S. J. (2014) Bacteriological profile, antibiogram of burn wound isolates and detection of mrsa and esbl production at tertiary care hospital, hyderabad .*Word J. PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES* :3(10) pp: 1691 – 1698.
- 24- Anvarinejad, M., Japoni, A., Razaatpour, N., Mardaneh, J., Abbasi, P., Shahidi, M. A. And Dehyadegari, M. A. (2014) Burn Alipour, E. Patients Infected With Metallo-Beta-Lactamase-Producing Pseudomonas aeruginosa: Multidrug - Resistant Strains. *Arch Trauma Res.* 2014 June; 3(2): e18182. Published online 2014 June 1. Research Article *Arch Trauma Res.* 2014 June; 3(2): e18182.
- 25- Melake, N. A., Eissaa, N. A., Keshk, T. F. And Sleem, A. S. (2016) Prevalence of multidrug-resistant bacteria isolated from patients with burn infection. [Downloaded free from <http://www.mmj.eg.net> on Monday, February 15, 2016, IP: 185.135.68.30] .
- 26 Microbiological aspects of burns at mount vernon hospital, UK Nakhla, L.S., Sanders, R., Department of Microbiology, Mount Vernon Hospital, Northwood, Middlesex, UK, Regional Plastic and Bums Unit, Mount Vernon Hospital, Northwood, Middlesex, UK. Accepted 15 February 1991. Available online 11 May 2005.
- 27-Mohammed, A. A.-A., Muheel, M. H., Mujbel, F. A-H. (2014) Microbial drug resistance and potential immune response by IL7 and IL10 in burn patients with septic and death cases. *International J . of Advanced Research* :2 (4) PP:286-292.
- 28-Saleh, P. and Noshad, H. (2014) Bacteremia in burned patients admitted to Sina Hospital, Tabriz, Iran. *J Anal Res Clin Med*, 2014, 2(4), 211-6. DOI: 10.5812/atr.18182 Published online 2014 June 1. Research Article.
- 29- Bahar, M. A., Manafi, A., Bouduhi, N., Karimi, H., Hormazdi, M., Esfandi, S., Sabet, S. A. And Kabir, A. (2008) Assessment of burn wound infection by swab and biopsy culture: a comparative study. *Med. J. of the Islamic Republic of Iran*.22(2):pp.80-85.
- 30-Nagma, F. S., Prabhu, N., Jeevitha, T., Rithik, R. and Uma, A (2014) Nosocomial bacteremia caused by pseudomonas aeruginosa: sensitive to antibiotics and risk factors. *Pharmacophore* 2014, Vol. 5 (1), 69-76.
- 31-Chiang, T., Pastagia, M. and Huang, D. B (2014) Bacteremia Caused by Acinetobact baumannii: Epidemiologic Features Antimicrobial Susceptibility, and Outcomes. This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>.
- Copyright © 4 March. 2014 by authors and Scientific Research Publishing Inc.
- 32-Islam, Md. Sh., Ahmed, M. F. and Rahman, S. R. (2013) Incidence of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus in Burn Patients Admitted to Burn Unit, Dhaka Medical College Hospital, Bangladesh. *Advances in Microbiology*, 2013, 3, 498-503. <http://dx.doi.org/10.4236/aim.2013.36066> Published Online October 2013. (<http://www.scirp.org/journal/aim>).
- 33- Enright, M. C. Robinson, D. A. Randle, G. Feil, E. J. Grundmann, H. and Spratt, B. G. "The Evolutionary History of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 99, No. 11, 2002, pp. 7687-7692. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.122108599>.
- 34- Moran, G. J. Krishnadasan, A. Gorwitz, R. J. Fo- sheim, G. E. McDougal, L. K. Carey R. B. and Talan, D. A. "Methicillin-Resistant S. aureus Infections among Pa- tients in the Emergency Department," *The New England Journal of Medicine*, Vol. 355, No. 7, 2006, pp. 666-674. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa055356>.
- 35- Capitano, B. Leshem, O. A. Nightingale, C. H. and Nicolau, D. P. "Cost Effect of Managing Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in a Long-Term Care Facility," *Journal of the American Geriatrics Society*, Vol. 51, No. 1, 2003, pp. 10-16. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1601-5215.2002.51003.x> .
- 36- Tenover, F. C. "Mechanisms of Anti Microbial Resis- tance in Bacteria," *The American Journal of Medicine*, Vol. 119, No. 6, 2006, pp. S3-S10.
- 37- Afroz, S. Kobayashi, N. Nagashima, S. Alam, M. M. Hossain, A. B. Rahman, M. A. Islam, M. R. Lutfor, A. B. Muazzam, N. Khan, M. A. Paul, S. K. Shamsuzzaman, A. K. Mahmud, M. C. Musa, A. K. and Hossain, M. A. "Genetic Characterization of Staphylococcus aureus Isolates Carry- ing Pantone-Valentine Leukocidin Genes in Bangladesh," *Japanese Journal of Infectious Diseases*, Vol. 61, No. 5, 2008, pp. 393-396.
- 38- Seguin, J. C. Walker, R. D. Caron, J. P. Kloos, W. E. George, C. G. Hollis, R. J. Jones, R. N. and Pfaller, M. A. "Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Outbreak in a Veterinary Teaching Hospital: Potential Human-to- Animal Transmission," *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 37, No. 5, 1999, pp. 1459-1463.
- 39- Lee, J. H. "Methicillin (Oxacillin)-Resistant Staphylo- coccus aureus Strains Isolated from Major Food Animals and Their Potential Transmission to Humans," *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 69, No. 11, 2003, pp. 6489-6494. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.69.11.6489-6494.2003>
- 40-Lundström W, Fewkes N M, Mackall C L (2012). IL-7 in human health and disease. *J Seminars in Immunology* 24: 218-224.

41-Chalise, P.R., Shrestha, S., Sherpa, K. Nepal, U, Battachan, C.L. and Bhattacharya, S.K.(2008) Epidemiological and bacteriological profile of burn

patients at Nepal Medical College Teaching Hospital. Nepal Med Coll J 2008; 10(4): 233-237.

## المقارنة بين تجرثم الدم بين المرضى المحروقين وغير المحروقين

سهام شكور عبيد<sup>1</sup>، قناة محمود عطيه<sup>2</sup>، شيماء مصطفى قتال<sup>3</sup>

<sup>1</sup>قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة كركوك، كركوك، العراق

<sup>2</sup>قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة تكريت، تكريت، العراق

<sup>3</sup>قسم التقنيات المختبرية الطبية، الكلية التقنية، الجامعة التقنية الشمالية، كركوك، العراق

### الملخص

في هذه الدراسة (186) عينة من تجرثم الدم (المرضى المحروقين وغير المحروقين) تتضمن (81) عينة كانت موجبه و(105) عينة كانت سالبيه. المرضى بعمر (1-10) سنوات كان هو الرقم الاكبر والاكثر تكرارا. بينما المرضى بعمر (41-50) سنة كانوا هم الاقل رقما وتكرارا بين المرضى. الرقم الاكبر لتجرثم الدم (+) وجد في عمر (1-30) يوما، بينما الرقم الاقل لتجرثم الدم (+) كان في عمر (41\_50) سنة. هنالك 24 مريض مصابين بتجرثم الدم وهم (24) من ضمنهم (12) من الذكور و(12) من الاناث، حيث كان الاناث هم الاكثر عند المقارنة حسب الجنس والعمر. ان بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* هي الاكبر عددا بين البكتريا المشخصة والمعزولة من الدم. ثم بكتريا *Serratia marscens* وتلتها بكتريا الزوائف الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*. ان العزلات في هذه البحث درست على اساس قابليتها على المقاومة او الحساسية وغيرها ضد كلا من المضادات

Imipenem, Ceftazidime, Cefotraxone, Cefotaxime, Cifixime, Cefalothine, Gentamicine, Pipracilline, Ampicilline, Ticaracillin, Ciprofloxacin and Amoxicilline +Clavulanic acid (AMC).

## ANATOMICAL AND HISTOLOGICAL STUDY OF THYMUS GLAND IN THE LOCAL BREED OF TURKEY "*Meleagris gallopavo*" IN IRAQ

Hanaa Kareem Ali

Dept. of anatomy and histology, College of veterinary Medicine, University of Diyala , Diyala , Iraq.

E-mail : hkareem1976@yahoo.com

### Abstract

Thymus gland in turkey bird and its distinctive anatomical and histological features were highlighted with paying special attention to the anatomical location, shape, boundaries and the blood supply as well as the histological structure in the Iraqi local breed turkey (*Meleagris gallopavo*). Ten healthy birds from the local breed of Turkey were taken and divided into two equal groups: five birds for anatomical study and five birds for histological study. The gross description including the shape, color, location and blood supply as well as the histological structure of thymus gland were recorded. The anatomical results showed that thymus gland in turkey located along either side of the neck, lying close to the jugular vein, common carotid artery and the brachial plexus and in contact with thyroid gland in the base of the neck at the thoracic inlet on each sides of the body, it consisted of a long chain on each side having (6-8) lobes with whitish-yellowish to pinkish color and irregular to flattened shape. Thymus gland in turkey was supplied with blood by direct and indirect branches of the following arteries: the cranial thyroid, the caudal thyroid and the ascending esophageal arteries which almost derived from the common carotid artery. Histologically the gland consisted of numerous lobes and covered by connective tissue capsule which sent numerous septa and divided it into lobules, each lobule was organized into outer darkly stained cortex and inner lightly stained medulla, cortex was enriched with densely packed lymphocytes with small size and darkly stained while medulla was consisted of many epithelial cells and appeared lightly stained because it occupied by large size lymphocytes with acidophilic cytoplasm. The epithelial reticular cells might be arranged together with the lymphocytes to form the Hassal's corpuscles.

**Key words:** Turkey thymus gland, Anatomical study of thymus, Histological structure of thymus, Blood supply of thymus, *Meleagris gallopavo*.

### Introduction

Turkey bird which known commonly as wild turkey is a large bird in the genus *Meleagris*, species *gallopavo*, the farmers of north and south America the first who interesting and breeding it. [1], It consider as one of the sources of the production of meat, egg and feather and these productions play a big role in the economics of animal worth in the world. [2]. All the vertebrates except the cyclostomes possess thymus gland which derives its name from the resemblance of its lobes in human beings to a leaf of the thyme plant. [3,4]. In neonatal, young and adult mammals the thymus is a single, bi-lobed mass located in the root of the neck, occasionally the two lobes united to form a single organ and sometimes separated by an intermediate lobe. [5,6]. Thymus of reptiles and birds have a series of large nodes along the neck. the thymus in birds regarded immunologically as a primary or central lymphoid organ and its presence are essential for the development of peripheral lymphoid tissues and its associated adaptive immune functions an important factor that separates higher vertebrates from the rest of the animal phyla. [7,8 ,9,10,11 ,12,13,14]. It also provides a specific microenvironment for multiplication and differentiation of cells into the immunologically competent effector cells [15]. During chicken embryonic development the various reticular- epithelial cells and humoral factors, that make up the thymic microenvironment, process T-cell precursors [16,17,18,19].

### Materials and Methods

This study was carried out in a total number of (10) apparently healthy Turkey birds of both sexes and different ages ranging between (9–16) months were divided into two equal groups: five birds for anatomical study and five birds for histological study. All the birds in the two groups were sacrificed by anesthesia by using high dose of xylazine (25 mg/Kg. B.W) in the wing vein (Fig.1) and left for (2-4 min.) to complete anesthesia, then immediately the position, shape and color were recorded also latex and carmine stain used to coloring the arterial blood supply for the anatomical study. While in the histological study immediately after anesthesia the birds, the specimens were collected from turkey birds and washed by normal saline and mopped with blotting paper then fixed in 10% neutral buffered formaldehyde solution and were dehydrated in the series of ascending grade of alcohol followed by clearing in three changes in xylene and the tissues then were infiltrated in two changes of melted paraffin in the oven, then tissues were embedded in paraffin and finally the sections cut at 5-6 $\mu$  thickness by using a rotary microtome. After cutting, the sections were put on clean slides by using an adhesive (egg albumin) and were dried in a hot air oven[20,21]. The sections were stained with Hematoxylin and Eosin (H&E), PAS and Masson Trichrome stains, then the stained slides were examined by using light microscope with different adjustment powers (4x; 10x; 20x; 40x; 100x) [22,15].

## Results and Discussions

**Anatomical results:** Gross morphological studies in the Iraqi local breed of Turkey "*Meleagris gallopavo*" showed that thymus gland located along either side of the neck, lying close to the jugular vein, common carotid artery and the brachial plexus in the base of the neck at the thoracic inlet on each sides of the body, having two long chains of thymic lobes, each chain consisted of numerous lobes ranged from (6-8) in number (Fig.2), so there is a similarity in the position with [23] in quail; [9, 10, 24] in chicken, [25] in turkey, [15] in Aseel chicken, although other species of birds possess different numbers of lobes as mentioned by [26] that there were 13 thymic lobes in Guinea Fowl or it ranged from 2-11 lobes on right side and 1-8 on left side in fowls *Gallus gallus domesticus* [27] or five lobes in ducklings [22] or it ranged from 7-9 lobes on right side and 6-8 on left side in Aseel chicken [15]. The color of thymus gland ranged from yellowish to pinkish color and the shape of the lobes of thymus was varied from irregular to flattened shape although the lobulation wasn't clearly distinct (Fig.3), this observation is agree with [24] in chicken, [25] in turkey; [22] in ducklings and [15] in Aseel chicken. The caudal part of thymus gland lie in contact with thyroid gland on each side of the base of the neck (Fig.3), this result is the same description mentioned by [28, 29, 9] in chicken; [30] in quail; [14] in toloests, [25, 31] in turkey; [32] in ostrich.

**Blood Supply:** Thymus gland in the Iraqi local breed of Turkey was supplied with blood by direct and indirect branches of the following arteries: the cranial thyroid, the caudal thyroid and the ascending esophageal arteries which almost derived from the common carotid artery in both right and left sides of the neck (Fig.4,5) this result is similar to the previous finding mentioned in other domestic fowls by [27, 33, 34, 35] in chicken.

**Histological results:** The current work indicated that the thymus gland of the turkey was large, lobulated and consisted of numerous lobes and was covered by connective tissue capsule composed mainly of collagen and fine reticular fibers. Numerous connective tissue septa extended from the capsule and divided it into lobules, these septa contained the thymic blood vessels (Fig.6), this result was in agreement with [36] in ostrich; [22] in ducklings; [37] in chickens. Each lobule was organized into two parts: outer darkly stained cortex and inner lightly stained medulla, the cortex was dark in staining and located in the peripheral part of the lobules while the medulla was appeared light in staining and located in the central core of the lobules (Fig.7). Both of these components were formed from a framework of scattered epithelial reticular cells and their reticular fibers. The parenchyma of cortex was enriched with densely packed lymphocytes which was small in size with darkly stained, central basophilic nuclei. The medulla was typically consisted of many epithelial cells and appeared lightly stained because it occupied

by large size lymphocytes with centrally located nuclei and acidophilic cytoplasm (Fig.8), these results were parallel to that mentioned by [10,24] in chicken; [36] in ostrich; [38,22] in ducklings; [19,37,15] in Aseel chicken. The epithelial reticular cells were numerous and characterized by distinct cell boundaries and faint basophilic cytoplasm and central to may be eccentric nuclei, the small lymphocytes were few in medulla in comparison to that of the cortex. The epithelial reticular cells might be arranged together with the lymphocytes to form the Hassall's corpuscle which was characterized by degenerated structurless, hyalinized center and peripheral concentric arranged epithelial-reticular cells (Fig.9), this result was in agreement with [10,36] in ostrich; [37] in chickens; [15] in Aseel chicken, but disagree with [19] in chickens who mentioned that no Hassall's corpuscles were observed.



Fig. (1): Photograph showed: Iraqi local breed of turkey (*Meleagris gallopavo*) was sacrificed by euthanasia by using high dose of xylazine in the wing vein

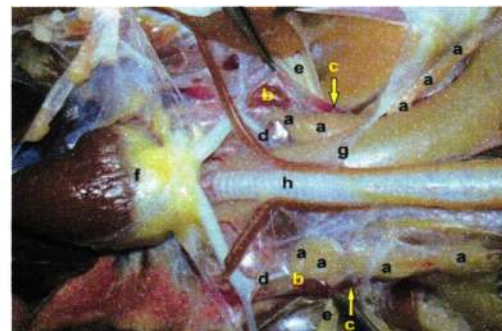


Fig.(2): Photograph showed: a- Thymic lobes of Thymus gland b- Thyroid gland c- Jugular vein d- Common carotid artery e- Brachial plexus f- Heart g- Esophagus h- Trachea

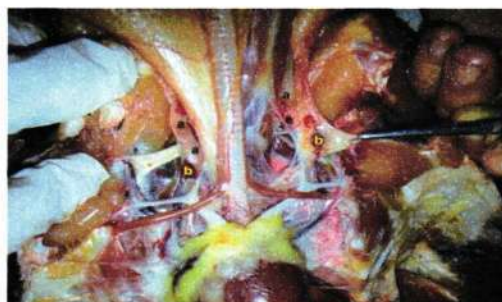


Fig.(3): Photograph showed: The color of a- thymus gland ranged from yellowish to pinkish color, the caudal part of thymus lie in contact with b- thyroid gland at the base of the neck on each side of the body

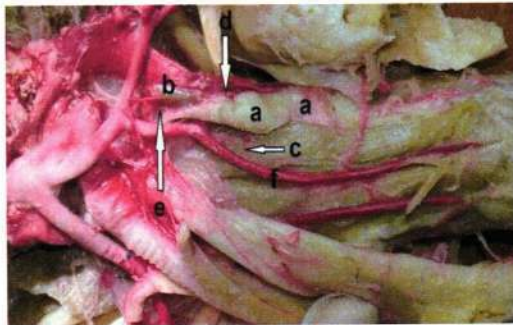


Fig.(4): Photograph showed: a- Thymus gland b- Thyroid gland c- Direct branch of the common carotid artery d- Cranial thyroid artery e- Caudal thyroid artery f- Common carotid artery

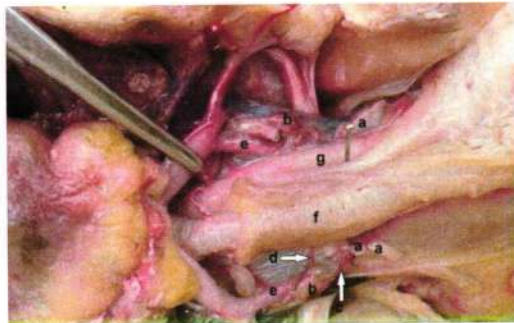


Fig.(5): Photograph showed: a- Thymus gland b- Thyroid gland c- Cranial thyroid artery d- Ascending esophageal artery e- Common carotid artery f- Trachea g- Esophagus.

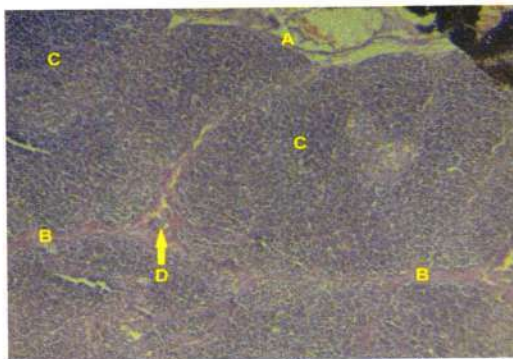


Fig.(6): Histological section of thymus gland showed: A- Connective tissue capsule B- Connective tissue septa C- Thymic Lobules D- blood vessel inside the connective tissue septa (H & E stain, 10 X).

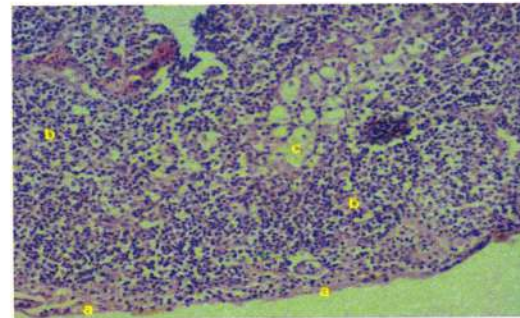


Fig.(7): Histological section of thymus gland showed: a- Capsule b- Outer darkly stained cortex c- Inner lightly stained medulla (H & E stain, 20 X).

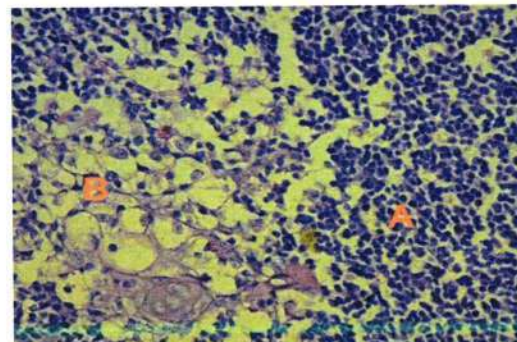


Fig.(8): Histological section of thymus gland showed: A- cortex densely packed of small lymphocytes B- medulla lightly stained epithelial cells occupying large size lymphocytes (H & E stain, 40 X).

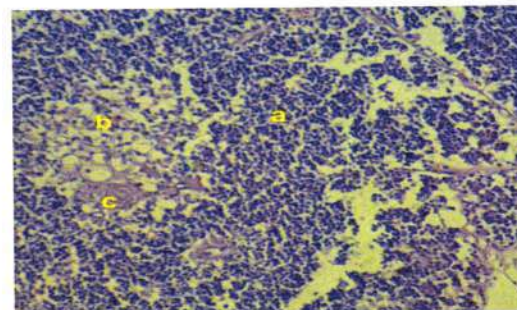


Fig.(9): Histological section of thymus gland showed: a- cortex b- medulla c- Hassal's corpuscle (H & E stain, 20 X).

### References

- 1- Suraj, A. A. and A. A. Suhas. (2009). Female Reproductive Physiology of Chicken. Poultry Line., 30-32.
- 2- Mohammadpour, A. A., A. Zanimoghdam, and A. M. Heidari. (2012). Comparative histomorphometrical study of genital tract in adult laying hen and duck. Veterinary Research Forum., 3(1): 27-30.
- 3- Schrier, J.E. and H.L. Hamilton. (1952). An experimental study of the origin of the parathyroid and thymus glands in the chicks. *J. Exp. Zool.*, 119: 165 - 187.
- 4- Hammond, W.S. (1954). Origin of thymus in chick embryo. *J. Morph.*, 95: 501-521.
- 5- Kent, G.C. (1978). Comparative Anatomy of Vertebrates. 4th ed., The C.V. Mosby Company, Saint Louis.
- 6- McMinn, R.M.H., R.T. Hutchings. (1988). A colour atlas of human anatomy. London: Wolfe Medical Publications Ltd.
- 7- Cooper, M.D., A. Peterson and R.A. Good. (1965). Indication of the thymic and bursal lymphoid system of the chicken. *Nature*, 205:143-6.

- 8- **Clawson, C.C., M.D. Cooper and R.A. Good (1967)**. Lymphocyte fine structure in the bursa of Fabricius, the thymus and the germinal centers. *Lab. Invest.*, 16: 407 - 421.
- 9- **Hodges, R. D. (1974)**. The Histology of The Fowl. Academic Press INC. New York. U.S.A. PP: 440-458.
- 10- **Kendall, M.D. (1980)**: Avian thymus glands: A review. *Dev. Comp. Immunol*, 4 : 191-209.
- 11- **Le Douarin, N.M., F. Dieterlen-Lievre and P.D. Oliver. (1984)**. Ontogeny of primary lymphoid organs and lymphoid stem cells. *Am. J. Anat.*; 170: 261-99.
- 12- **Cooper, M.D., C.L.H Chen, R.P. Bucy and C.B. Thompson. (1991)**. Avian, T cell ontogeny. *Adv. Immunol.*; 50: 87-117.
- 13- **Glick, B. (1994)**. The Bursa of Fabricius: the evolution of a discovery. *Poultry Sci.*;73: 979-83.
- 14- **Bowden, T.J., P.Cook and J.H.W.M. Rombout. (2005)**. Development and function of the thymus in teleosts. *Fish & Shellfish Immunology*. 19: 413-427.
- 15- **Haseeb, A., M.G. Shah, J.A. Gandahi, G.M. Lochi, M. S. Khan, M. Faisal, F.A. Kiani, R.A. mangi and S.K. Oad. (2014)**. Histo-morphological Study on Thymus of Aseel chicken. *J. Agric. Food. Tech.*, 4(2):1-5.
- 16- **Aita, M. (1992)**. Regulation of cellular immunology: general aspects of the function of the thymic microenvironment. In: Wegmann RJ and Wegmann MA eds. *Recent Adv. in Cell Mol. Biol.*; 1: 1-10. Peeters Press, Leuven.
- 17- **Boyd, R.L., T.J. Wilson, A.G. Bean, H.A. Ward and M.E. Gershwin. (1992)**. Phenotypic characterization of chicken thymic stromal elements. *Devel Immunol.*; 2: 51-66.
- 18- **Aita M., A.M. Mazzone, F. Gabrielli, A. Evangelista and S. Brenna. (1995)**. Identification of cells secreting a thymostimulin-like substance and examination of some hystoenzymatic pathways in aging avian primary lymphatic organs: I. Thymus. *Eur. J. Histochem.*; 39:289-300.
- 19- **Aita, M. and N. Romano. (2006)**. Effects of partial decerebration and hypophyseal allograft in the thymus of chicken embryos: thymostimulin localization and enzymatic activities. *European Journal of Histochemistry*. 50 (1) :69-78.
- 20- **Bancroft, J.D. and A. Stevens. (1982)**. "Theory and Practice of Histological Techniques". 2<sup>nd</sup> Ed. Churchill Livingstone Elsevier. Edinburgh. London. Melbourne and New York.
- 21- **Bancroft, J. D., S. K. Suvarna, and C. Layton. (2013)**. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 7<sup>th</sup> Ed. Churchill Livingstone Elsevier. Edinburgh. London. Melbourne and New York. Pp:106 – 118.
- 22- **Sultana, N., M. Z. I. Khan, M. A. Wares and M. A. Masum. (2011)**. Histomorphological study of the major lymphoid tissues in indigenous ducklings of Bangladesh. *Bangl. J. Vet. Med.*9(1): 53 – 58.
- 23- **Fitzgerald, T.C. (1969)**. The Coturnix Quail – Anatomy and Histology, The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- 24- **King, A. S. and J. McLelland. (1984)**. *Birds: Their Structure and Function*. 2<sup>nd</sup> edition. Bailliere Tindall. Philadelphia. 1<sup>st</sup> Anne's Road, Eastbourne, England. PP: 200-208.
- 25- **Muthukumaran, C., A. Kumaravel, K. Balasundaram and S. Paramasivan. (2011)**. Gross Anatomical Studies On The Thymus Gland In Turkeys (*Meleagris gallopavo*). *Tamilnadu J. Veterinary and Animal Sciences*. 7 (1): 6-11.
- 26- **Onyeanus, B.I, J.C. Onyeanus, A. N. Emma, C.D. Ezeokoli. (1994)**. The thymus of the guinea fowl from the eighteenth day of incubation until maturity. *Anat Histol Embryol*. 23 (4):320-329.
- 27- **Santana M.I. , P.P. Bombonato, L.V. Araújo , A.P.F. Castello and T.B. Escanhoela. (2008)**. Irrigation of thymus in Paraiso Pedres lineage (*Gallus gallus domesticus*) birds. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*.60(2): 307-314.
- 28- **Panigrahi D.,G. L. Waxler and V. H. Mallman. (1971)**. The Thymus in the Chicken and its Anatomical Relationship to the Thyroid|The Journal of Immunology. 107 (1): 289-292.
- 29- **Koch, T. (1973)**. Endocrine Glands. In *Anatomy of the chicken and domestic birds*. Edited by Skold, B.H. and Derries, L. The Iowa state , university press. Amer, Iowa. pp.152.
- 30- **Seifert, R. and B. Christ. (1990)**. On the differentiation and origin of myoid cells in the avian thymus. *Anat Embryol*. 181: 287-298.
- 31- **Ali, H.K. (2014)**. Anatomical and Histological Study of Thyroid, Parathyroid and Ultimobranchial Glands in Local Breed Turkey "Meleagris gallopavo". Master Thesis, University of Baghdad. pp. 34.
- 32- **SONG, H. , K. PENG, S. LI , Y. WANG , L. WEI and L. TANG. (2012)**. Morphological characterization of the immune organs in ostrich chicks. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*. 36(2): 89-100.
- 33- **LIMA, E.M.M., M.O.BRAVO, A.R. C. B. VIANNA, F.O.C. SILVA, R.S. SEVERINO, S. S. DRUMMOND and M. I.S. SANTANA. (2009)**. Suprimento vascular arterial do timo em aves (*Gallus gallus domesticus*) da linhagem Master Gris Cou Plumé. *Biotemas*. 22(3) : 171-176.
- 34- **Vianna, A.R.D.C.B., F.A.C.De Melo, M.I.S. Santana, H.G. Benedicto, F.O.C. Silva, R.S. Severino, and E.M.M. De Lima. (2012)**. Macroscopic morphology and arterial vascular supply of thymus in fowls (*Gallus gallus domesticus*) of Red Bro Cou Nu lineage. *Acta. Scientiarum. Biological Sciences Maringá*. 34(4): 457-462.
- 35- **Yan, Z. X., L. WeiCheng, L. ZiSen, Y. HaiKuo, F. XiaoLong, Z. Fan and D. XianBai. (2013)**. A preliminary study of thymus microcirculation in chicken. *Journal of South China Agricultural University* . 34 ( 3): 416-421.

36-El-Zoghby, I.M.A and H.F Attia. (2007). Fine structure of the thymus gland in ostrich (Struthio camelus L). The 31th Scientific Conference of the Egyptian Society of Histology and Cytology.  
37-Treesh S.A., A.O. Buker and N.S. Khair. (2014). Histological, histochemical and immunohistochemical studies on thymus of chicken.

International Journal of Histology and Cytology 1(11): 103-111.

38-Leena C., R.V. Prasad, K. Kakade and K.V. Jamuna. (2008). HISTOLOGY AND AGE RELATED INVOLUTARY CHANGES OF THE THYMUS OF GIRIRAJA BIRDS (Gallus domesticus ). J. Vet. Anim.Sci. 39: 40-43.

## دراسة تشريحية ونسجية للغدة الزعترية في السلالة العراقية المحلية للديك الرومي

هناء كريم علي

فرع التشريح والانسجة ، كلية الطب البيطري ، جامعة ديالى ، ديالى ، العراق

### المخلص

ألقي الضوء على الغدة الزعترية للديك الرومي وسماتها التشريحية والنسجية المميزة مع إيلاء اهتمام خاص للموقع التشريحي ، الشكل والحدود والمدد الدموي ، فضلا عن التركيب النسيجي في السلالة العراقية المحلية من الديك الرومي. عشرة طيور من السلالة المحلية للديك الرومي من كلا الجنسين أخذت خالية من الأمراض، قسمت الى مجموعتين متساويتين بواقع خمسة للدراسة التشريحية وخمسة للدراسة النسيجية. سجل الوصف العياني والذي يشتمل على الشكل واللون والموقع التشريحي والتجهيز الدموي اضافة الى التركيب النسيجي للغدة وأظهرت النتائج التشريحية أن الغدة الزعترية في الديك الرومي تقع على طول جانبي الرقبة، قريبة من الوريد الوداجي والشريان السباتي العام والضفيرة العضدية العصبية ، وعلى اتصال بالغدة الدرقية عند قاعدة الرقبة في مدخل الصدر، وتتألف من سلسلة طويلة على كل جانب مؤلفة من 6-8 فصوص ذات لون ابيض مصفر الى وردي ، مفلطحة أو غير منتظمة الشكل . وتزود الغدة بالدم من خلال فروع مباشرة وغير مباشرة متفرعة من الشرايين التالية: الشريان الدرقي القحفي أو الأمامي، الشريان الدرقي الخلفي أو الظهرى والشريان المريئي، المشتقة في الغالب من الشريان السباتي العام. تتكون الغدة نسيجيا من عدد من الفصوص وتكون محاطة بمحفظة من النسيج الضام تمتد منها حواجز الى متن الغدة تقسمها الى عدد من الفصيصات ، يتكون كل فصيص من جزء خارجي داكن اللون يسمى القشرة وجزء داخلي فاتح اللون يسمى اللب. تتميز القشرة بكثافة الخلايا للمفاوية التي تكون صغيرة الحجم وداكنة اللون ، اما اللب فهو يحتوي على العديد من الخلايا الظهارية ويظهر اللب بلون فاتح بسبب احتوائه على الخلايا للمفاوية ذات الحجم الكبير والهوليوي الحامضي الفاتح اللون. الخلايا الظهارية الشبكية ربما تتجمع مع بعضها ومع الخلايا للمفاوية لتكون التراكيب المسماة بمحفظة هاسال.

**الكلمات المفتاحية:** الغدة الزعترية للديك الرومي ، دراسة تشريحية للغدة الزعترية ، التركيب النسيجي للغدة الزعترية ، المدد الدموي للغدة الزعترية.

## The Effect of Obesity on Leptin and Some Biochemical Parameters in Salah Al-din Governorate

Marwa Abdul Salam Kader

Department of Biology, Science College, Tikrit University, Tikrit, Iraq

### Abstract

This study was designed in order to estimate the effect of obesity on leptin concentration and some biochemical parameters of obese individuals in Salah Al-din government. The study involved (40) blood samples which divided into two groups: group one: healthy individuals (BMI from 19.0 to 24.9 kg/m<sup>2</sup>, n=(20)) as control group and group two: samples from obese as BMI  $\geq 30.0$  kg/m<sup>2</sup> n=(20). Obtained from healthy and obese individuals from both genders. The results of this study showed a significant increase in leptin concentrations ( $P \leq 0.05$ ) in obese group in comparison with control group; and there was a significant increase in the activity of Aspartate amino transferase (AST), Alanine amino transferase (ALT) and also in the concentrations of lipid profile: Cholesterol, Triglyceride, Low density lipoprotein-cho (LDL) and Very low density lipoprotein-cho (VLDL) of obese group in comparison with control group. While there no significant differences in a concentration of High density lipoprotein-cho (HDL) of obese group in comparison with control group.

### Introduction

Obesity is one of the main public health problems in the world, being considered as a disease which worries due to social, psychological and metabolic problems [1]; obesity is measured by body mass index (BMI) which is a measure of weight adjusted for height It is calculated as weight in kilograms divided by the square of height in meters and it is the most commonly used measure for assessing obesity in adults [2]; obesity classification according to BMI can be summarized in the following table [3]:

Table (1) : obesity classification according to BMI

Categories	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	Obesity class
Underweight	<18.5	
Normal	18.5 to 24.9	
Overweight	25.0 to 29.9	
Obesity	30.0 to 34.9	I
	35.0 to 39.9	II
Extreme obesity	$\geq 40$	II

Obesity is linked to the development of morbidities that may even lead to death., by which individuals with body mass index (BMI) above 40 m / kg<sup>2</sup> are considered obese grade 3, severe or morbid, in this degree, the risk of developing cardiovascular diseases increase, diabetes, some cancers, high blood pressure, breathing difficulties, disorders on the locomotor system and dyslipidemia [4;5].

Leptin is an adipocytes-secreted hormone of mammals. It is a 167 amino acid protein hormone with important effects in regulating body weight and metabolism. Leptin is a cytokine hormone that is derived from the adipose tissue and expressed in the hypothalamus. Leptin or Obesity protein seems to play a role in regulating energy intake and expenditure [6]. Leptin is a 16Kda protein coded by the obesity gene. The structure of Leptin as a protein found in the helical cytokine family. It consists of four alpha helices that exhibit an up-up-down-down folding pattern arranged in a left-hand twisted bundle[7]. Through activation of its receptor in the hypothalamus, leptin able to modulate energy

expenditure and food intake when binding to the long leptin receptor isoform (LEPRb) activates cytokine like signal transduction via the Janus kinase/signal transducer and activator of transcription (JAK/STAT) pathway. In humans, leptin deficiency due to a mutation in the leptin gene is associated with early onset obesity [8;9]. Binding of leptin to its target neurons, which are expressed in the hypothalamus, brain stem and other brain regions, inhibits feeding and stimulates energy expenditure. Leptin thus functions as the afferent signal in a negative feedback loop that maintains a stable level of body fat reserves. Leptin deficient mice (ob/ob) and humans are obese and hyperphagic[10].

Alanine transaminase (ALT) and Aspartate transaminase (AST) mainly found in the liver; and AST/ALT ratio are commonly measured clinically as biomarkers for liver health by which any chronic raising of liver enzymes is indicator of liver dysfunction [11].

### Materials and Methods

#### 1. Individuals and Blood collection :

This study was carried out from the beginig of September 2015 to the end of February 2016 ,which involved (40) blood samples , (20) blood samples from control group of both ganders with normal body weight , and (20) blood samples from obese group of both ganders.

Blood samples were collected from external laboratories in Tikrit citiy; then (5ml) of blood serum was prepared from venous blood which obtained from the study individuals by using disposable syringe and clean dry plain tubes without any anticoagulants , after that left at room temperature (20-25°C) to coagulate , then centrifuged (4000 rpm / min.) for ten minutes in order to get serum without any hemolysis.

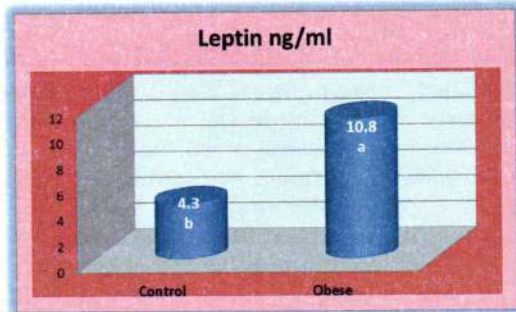
#### 2.Determiation of Parameters

Leptin was determined by using its kit from (mybioscourse) company (USA) of ELISA technique[13], Lipid profile (Cholesterol,

Triglyceride, LDL, VLDL) and the activity of enzymes Aspartate amino transferase (AST), Alanine amino transferase (ALT) were determined by using Their kits from biolabo company (Franse). [14].

### Results and Discussion

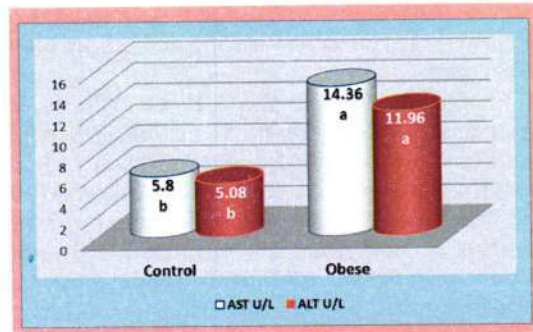
The results of this study showed in [Figer1] significant increase ( $P \leq 0.05$ ) in leptin concentrations of obese group ( $10.8 \pm 4.19$ ) in comparison with control group ( $4.3 \pm 1.2$ ).



Figur (1): Concentrations of leptin Hormone (ng/ml) in the study groups

Leptin level of obese group increased in this study may be due to its proportion to adipose tissue mass which increased in obesity[15]; additionally leptin resistance may occur in obesity, which mean target tissues and organs including CNS are not responding to leptin action as an anorectic hormone and its elevated levels in the obese individuals, this occurs due to several mechanisms including impaired leptin transport across the blood–brain barrier, impairment of leptin receptor function and signaling. Furthermore leptin itself may play an important role in the development of resistance to its own effects, so called leptin-induced leptin resistance ; thus chronically raised leptin levels which characterize obesity decrease the transport of leptin into the CNS and sensitivity to stimulatory  $\beta$  receptors, while lower density and sensitivity to inhibitory  $\alpha 2$  receptors ; and all these factors combined together may explain the altered lipid profile level in individuals with obesity [16;17].

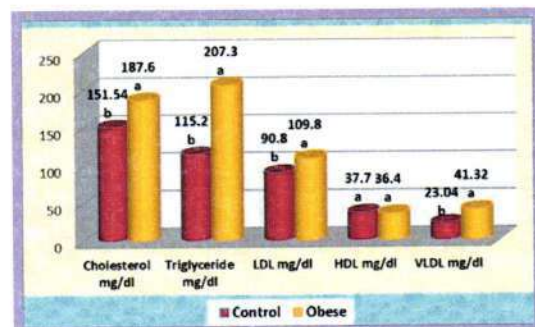
The results in Figer (2) showed a significant increase ( $P \leq 0.05$ ) in the activity of: Aspartate amino transferase (AST) ( $14.36 \pm 1.89$ ), Alanine amino transferase (ALT) ( $11.96 \pm 0.87$ ) in obese group in comparison with control group Aspartate amino transferase (AST) ( $5.8 \pm 0.49$ ) and Alanine amino transferase (ALT) ( $5.08 \pm 0.19$ ).



Figur (2): Levels of (AST) , (ALT) enzymes (U/L) in the study groups.

Liver enzymes (alanine aminotransferase –ALT- and aspartate aminotransferase –AST-) were increased significantly due to the fact that liver disease of metabolic origin is associated with obesity indicated by raising of liver enzymes which highly associated with increased visceral fat; thus liver fat accumulation is largely dependent on recirculating free fatty acids (FFAs) from the adipose tissue pool , noticed that the visceral adipose tissue has greater lipolytic potential, and the release of FFA from visceral fat depots directly go into the portal circulation as one of hepatic injury mechanisms which lead to increased levels of hepatic enzymes (alanine aminotransferase –ALT- and aspartate aminotransferase –AST-) [18].

The results in Figer (3) showed a significant increase ( $P \leq 0.05$ ) in lipid profile components Cholesterol ( $187.6 \pm 11.98$ ), Triglyceride ( $207.3 \pm 32.36$ ), LDL ( $109.8 \pm 19.5$ ), VLDL ( $41.32 \pm 6.18$ ) in obese group in comparison with control group Cholesterol ( $151.54 \pm 9.4$ ), Triglyceride ( $115.2 \pm 20.06$ ), LDL ( $90.8 \pm 8.58$ ), VLDL ( $23.04 \pm 4.16$  ). While no significant difference was reported of HDL concentration in obese group ( $36.4 \pm 3.44$ ) in comparison with control group ( $37.7 \pm 3.89$ ).



Figur (3): Levels of lipid profile components (Cholesterol, Triglyceride, LDL, VLDL) in the study groups.

The results of lipids in this study were in agreement with other studies such as the studies of Tayrab et al. (2014) [19], Chadha et al. (2006) [20], and Choi et al. (2002)[21], this was due to the elevation of plasma free fatty acids (FFA) levels in obese subjects because of the enlarged and stressed adipose tissue which releases more FFA, and also FFA clearance

may be reduced in obesity; additionally once FFA elevated, FFA will inhibit insulin antilipolytic action

#### References

1. **Fonseca-Junior S. J., Sá C. G. A. de Bustamante, Rodrigues P. A. F., Oliveira A. J., and Fernandes – Filho J.** (2013). Physical Exercise And Morbid Obesity: A Systematic Review. *ABCD Arq Bras Cir Dig Review*; 26 (Suplemento 1): 67-73.
2. **Must A. and Anderson S.** (2006). Body mass index in children and adolescents: considerations for population-based applications. *International Journal of Obesity* ,30, 590–594.
3. **Aronne L. J.** (2002). Classification of Obesity and Assessment of Obesity-Related Health Risks. *Obesity Research* Vol. 10 Suppl. 2.
4. **Livhits M., Mercado C., Yermilov I., Parikh Ja., Dutson E., Mehran A., Ko C., and Gibbons M.** (2010). Behavioral factors associated with successful weight loss after gastric bypass. *Am Surg*;76(10): 1139-42.
5. **Swinburn B., Caterson I., Seidell J. and James W.** (2004). Diet, nutrition and the prevention of excess weight gain and obesity. *Public Health Nutrition*: 7(1A), 123–146.
6. **AL-Jumaily E. F. and Zgaer S. H.** (2014). A Review: “Leptin Structure and Mechanism Actions”. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.*, Vol 3 (5): 185-192.
7. **Denver R. J., Bonett R. M., Boorse G. C.** (2011). Evolution of Leptin Structure and Function. *Neuroendocrinology*;94:21–38.
8. **Farooqi I. S. and O’ Rahilly S.** (2014). 20 Years Of Leptin Human disorders of leptin action. *Journal of Endocrinology* ; 223, T63–T70.
9. **Kelesidis T., Kelesidis I., Chou S., and Mantzoros C.S.** (2010). Narrative Review: The Role of Leptin in Human Physiology: Emerging Clinical Applications. *Ann Intern Med.* ;19; 152(2): 93–100.
10. **Knight Z. A., Hannan K. S., Greenberg M. L., Friedman J.M.** (2010). Hyperleptinemia Is Required for the Development of Leptin Resistance. *PLoS ONE*; Volume 5; Issue 6; e11376.
11. **Hashemi J. M.** (2014). Hibiscus Sabdariffa Calyx Extract Alleviate Hepatotoxicity Induced by Carbon Tetrachloride on Male Albino Rats. *Nature and Science* 2014;12(6) : 111-120.
12. **Kesavachandran C.N., Bihari V. and Mathur N.** (2012). The normal range of body mass index with high body fat percentage among male residents of Lucknow city in north India. *Indian J Med Res.*;135, pp 72-77.
13. **Berg, J.; Tymoczko J.; Stryer L.** (2006). *Biochemistry*. W.H. Freeman. pp. 656–660.
14. **Maffei M.** Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Medicine* 1: 1155-1161 (1995).
15. **Al Maskari M. Y. and Alnaqdy A.A.** (2006). Correlation between Serum Leptin Levels, Body Mass Index and Obesity in Omanis. *Sultan Qaboos University Medical Journal* ;Vol 6, No. 2.
16. **Barbaria N. F., Paseka R. C., Malarkeya E. B., Yazdia S. M. Z., McNaira A. D., Lewisa W. R., Nagyb T. R., Kestersonc R. A., and Yoder B. K.** (2013). Leptin resistance is a secondary consequence of theobesity in ciliopathy mutant mice. *PNAS* | May 7, 2013 | vol. 110 | no. 19 : 7796–7801.
17. **Mishra N., Sharma M. K., Chandrasekhar M., Suresh M., Prasad S. V. and Kondam A.** (2012). Central Obesity And Lipid Profile In North Indian Males. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* ; vol.3, issue 3: 291-294.
18. **Marchesini G., Moscatiello S., Di Domizio S., and Forlani G.** (2008). Obesity-Associated Liver Disease. *J Clin Endocrinol Metab.*, 93(11):S74–S80.
19. **Tayrab E., Mohamed A. T., rahim H. M. A.** (2014). Serum lipid profile of obese and overweight Sudanese over 60 years. *IJAPBC–Vol. 3(4): 867-871.*
20. **Chadha W. C. D., Singh W. C. G., Kharbanda G. C. P., Vasdev W. C. V., Vsm A. C. R. G. A.** (2006). Anthropometric correlation of lipid profile in healthy aviators. *Ind J Aerospace Med* 50 (2) : 32-37.
21. **Choi J. W., Pai S. H., and Kim S. K.** (2002). Associations Between Total Body Fat and Serum Lipid Concentrations in Obese Human Adolescents. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, vol. 32, no. 3 : 271-278.
22. **Boden G.** (2011). Obesity, Insulin Resistance and Free Fatty Acids. *Curr Opin Endocrinol Diabetes* *Obes.* 2011 April ; 18(2): 139–143.
23. **Karpe F., Dickmann J. R., and Frayn K. N.** (2011). Fatty Acids, Obesity, and Insulin Resistance: Time for a Reevaluation. *Diabetes*, Vol. 60 : 2441-2449.

## تأثير البدانة في مستوى هرمون اللبتين وبعض المتغيرات الكيموحيوية في محافظة صلاح الدين

مرؤة عيد السلام قأدر

قسم علوم الحياة , كلية العلوم , جامعة تكريت , تكريت , العراق

### المخلص

جرى تصميم هذا البحث لمعرفة تأثير البدانة على تركيز هرمون اللبتين (Leptin) وبعض المتغيرات الكيموحيوية لدى بعض الأشخاص البدناء في محافظة صلاح الدين , وشملت الدراسة (40) عينة دم من اشخاص اصحاء وبدناء من كلا الجنسين وقسمت الى مجموعتين: المجموعة الاولى: افراد اصحاء بوزن طبيعي (معامل كتلة الجسم من 19.0 الى 24.9 كغم/م<sup>2</sup>, العدد=20) كمجموعة سيطرة , المجموعة الثانية : عينات من بدناء (معامل كتلة الجسم  $\leq 30.0$  كغم/م<sup>2</sup>, العدد=20), ولقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع تركيز هرمون اللبتين معنويا ( $P \leq 0.05$ ) في مجموعة البدناء مقارنة بمجموعة السيطرة وكذلك ارتفاع الفعالية الأنزيمية للانزيمات ناقل امين الاسبارتيت (Aspartate amino transferase (AST) وناقل امين الالنين Alanine amino transferase (ALT) وكذلك مستويات مرتسم الدهون (Lipid profile) الكولسترول (Cholesterol) والدهون الثلاثية (Triglyceride) والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة للكوليسترول (LDL) والبروتينات الدهنية واطئة الكثافة جدا للكوليسترول (VLDL) التي اظهرت ارتفاعا معنويا ( $P \leq 0.05$ ) في مجموعة البدناء مقارنة مع مجموعة السيطرة , بينما مستوى البروتينات الدهنية عالية الكثافة للكوليسترول (HDL) لم يظهر اي تغير معنوي في مجموعة البدناء مقارنة مع مجموعة السيطرة.

## Histological Study of Lower Respiratory System on Cats (*Felis Catus Domesticus. L*)

Rabab Abd Alameer Nasser<sup>1</sup>, Shakir Mahmood Mirhish<sup>2</sup>

<sup>1</sup> College of Veterinary Medicine, Diyala University, Diyala, Iraq

<sup>2</sup> Department of Anatomy and Histology, College of Veterinary Medicine, Baghdad University, Baghdad, Iraq

E-mail : hkareem1976@yahoo.com

The present study was designated to demonstrate the histological features of Lower Respiratory System in Cats. The histological specimens of the trachea, bronchi and lungs were stained with haematoxyline and eosin, alcian blue at a pH (2.5), Periodic Acid-Schiff (PAS), Van Gisons and Masson Trichrom stains. The microscopic results of the trachea demonstrated incomplete hyaline cartilaginous ring like c-shape and it had four types of cells were identified in cross section of mucosa (pseudostratified columnar ciliated with goblet cells), then the sub mucosal glands which separated from the underlying hyaline cartilage. The ends of hyaline cartilage were attached by smooth muscle called tracheal muscle. the sub mucosal glands located internally to the trachealis muscle, the sub mucosa present tubulo-acinar shape and composed of mixed secretory cells (serous and few mucus), they were greater in the ventral aspect and less in the dorsal aspect of the trachea. The lung was surrounded by a thin layer of flattened cuboidal mesothelium cell called pleura, the bronchus divided to primary and secondary bronchus which lead to the tertiary bronchus continuously reach to the terminal bronchioles which opening into the respiratory bronchioles, and finally connected to the alveolar duct and then alveolar sac compose of the alveoli which consist of the three types of cells: type I was the predominate cell: squamous cell, responsible for gaseous exchange, while type II cell was the source of pulmonary surfactant and macrophage or dust cell.

**Key Words:** Microscopic feature of lower respiratory system, Trachea, Lung, Cat, (*Felis Catus Domesticus. L*).

### Introduction

The feline respiratory system serves a dual purpose it is not only a system of replacing carbon dioxide in the body with oxygen, but also the singular cooling system that the animal has unlike humans, cats have sweat gland in their feet and cannot sweat to maintain body temperatures. In order to reduce the body temperature, cats must breathe harder for a faster exchange of warm air with the cooler air out side. The respiratory system of cats is almost similar to human inhaled air enters the body through the nostrils and the mouth, and moves through a complex setup of cavities and tubes (1). The respiratory organs also play an important function like phonation, faction, body temperature regulation, Production and removal of many substance like histamine and etc. (2,3)

### Materials and Methods

This study was carried out in a total number of twenty four healthy adult of Iraqi local breed of cats of both sexes (male and female), were collected from Diyala Governorate weighting range between (2600-5000)g aging (10- 50 months) determined by their dental formula were anaesthetized with intra muscular doses of xylazine doses 10mg/kg B.W. with Ketamin (15 mg/kg. B.W. and opened the common carotid artery, to bleed until death, then removal of the trachea and lung from the thoracic cavity immediately. The samples were taken after death from all lobes of each lung and trachea. These samples were collected and fixed in 10% neutral buffered formalin and left for 72 hours.

### Results and Discussions

The microscopic results of the current work indicated that the trachea of cat as the wall of the hollow organs composed of four tunica: (fig. 1)

1- Tunica Mucosa: which composed of three layers: a- Epithelium b- Lamina propria c- Muscularis Mucosa

2- tunica Submucosa:

3- Tunica Muscularis:

4- Tunica Adventitia, these results were in agreement with (3,4,5) in sheep and hamster.

**The epithelium** of the trachea in cats was pseudo stratified ciliated columnar epithelia with goblet cells lied on basement membrane (fig. 1) which composed of four types of cells. The major secretory cells was mucous cell. All these cells rested on the basement membrane. The nuclei of these cells however were disposed at different levels. The description of the morphology and distribution of the four distinct cell types are differ as following:

1- Goblet cell: The cell is flask shape mucous cell, the height was varied, with flattened compressed nucleus occupied a portion of cytoplasm, (fig 1) which contain the granules of secretory mucigen. The goblet cell was positive alcian blue at PH 2.5 (fig.2) stained strongly acid mucopolysaccharides (carboxylate + sulphate type). This result in cat same as the result reported in Yak. (6)

2- Ciliated cells were specialized to transport secretions in the airway. This cells were more common in lower respiratory (trachea, bronchus).

3- Basal cells were small, triangular to rectangular cells with small nucleus surrounded by a margin of very dense cytoplasm lie on basement membrane.

4- Intermediate cells were ciliated, small amount from goblet cell with spherical nucleus (fig. 1). This result of epithelium in cat support research in sheep reported by(4).

**The muscularis mucosa:** This layer composed from very few smooth muscle bundles (fig 1).

**Tunica Sub Mucosa:** which contain the glands which located between the muscle and the epithelium were tubulo-acinar composed of serous secretory cell and few mucus glands (fig. 3). This result in the cats was the same as the result in yak ,In angora goat; (In the goat supports a similar observation in sheep (6,7,8)

The trachea of the cat contained few or no glands internally of the centers of the cartilaginous rings, but they were abundant between rings. The glands greater in the ventral aspect and less in the dorsal aspect of the trachea (fig4). The acini were found predominately between muscle and epithelium (fig 3). This result same as the result reported in most mammal (8) and different from in rabbit the trachea there is no gland.(9)

**The tracheal muscles** attached on the external side of the cartilaginous ring. This result similar the result stated in mammals.(8)

**Tunica Adventitia:** The sub mucosa merges with perichondrium of the underlying Hyaline cartilage ring as here, with the dense fibro elastic between the cartilage ring. Hyaline cartilage shown in( fig. 3) two zones are evident on Inner zone narrow, pale stained peripheral zone which merges with adjacent support by a large mass of cartilage matrix while the cells of each cluster are separated by only a thin layer of matrix (fig. 4). This result of the cat similar most species (3) , in hamster (5), in angora goat.(7)

**Bronchus:** Divided two or more bronchus include primary ,secondary ,and tertiary bronchus ,

**The primary and secondary bronchus:** Was similar to that at the trachea but differs in several details as follows:

a- The epithelium of primary bronchi were pseudo stratified columnar ciliated epithelium which were folded, less tall and contain fewer goblet cells. stained by (Van Gison) stain (fig 6).

b- Lamina propria was more dense with large quantity of elastin in its more superficial layer it was separated from the sub mucosa by a layer of smooth muscle which become progressively more prominent in smaller air way (fig 6). This air way's smooth muscles varied and become shorten in case .

**Tertiary (segmental) bronchus:** The present study of the tertiary bronchus in cat elucidate that its structure was progressively change to resemble more closely to that of large bronchioles. The mucosa was folded, is now tall columnar with little pseudo stratified epithelium with goblet cell and ciliated cell very little non ciliated cell (fig. 7). These results were agree with Mariassy and Plopper) in sheep,(4) in Syrian golden (5). The lamina propria was thin elastic and completely enclosed by smooth muscle. This

arrangement of smooth muscle permits contraction of the bronchi in both length and diameter during expiration, mucosa glands were rarely seen in Bronchiole.

**The bronchioles of cat:** It had less cartilaginous support, and have no cartilage support and sub mucosal glands (fig.7). Thus mucosa highly folded simple columnar ciliated epithelium in type. Generally, the bronchioles epithelium in cat consists of:

a - Ciliated cells: were tall cuboidal contain the nuclei occupied large placed of cytoplasm which stain in Masson Trichrome dya.

b- Clara cells (non -ciliated cell): tall-dome-shaped, tall columnar, had a light-staining cytoplasm, large centrally nucleus (fig.7)

Lamina propira composed of elastic fibers and the smooth muscle forms a complete ring and there was no adventitia. The smooth which composed of bundles a arranged in various orientation which effectively to controls resistance to air flow within the lung (fig.7).

#### **The bronchioles including the following results**

**The terminal bronchioles:** The terminal bronchioles which subdivided in two or more respiratory bronchioles linkage ring between. The conducting airways and respiratory airways and these enclosed with the pulmonary arterioles (fig 8) during its passage in lung parenchyma. The mucosa of terminal bronchioles was folded satellite lumen and lined by simple low columnar epithelium with no goblet cells and two types cells ciliated and non-ciliated cells. The lamina propria and smooth muscle continuous with sub mucosa.

The sub mucosa: thin layer of smooth muscles cells and fibers . The mucosal glands and cartilage were lacking. The terminal bronchioles in the cats appear to be similar to that seen in most mammalian species including Angora goat (7), adult goat (10) Macaque monkey (11), but the terminal bronchioles in laboratory animals (mice, rat, gerbil, hamster and rabbit) were short and open directly into several alveolar ductless in guinea pig (12) and in laboratory animals (mice, rat, gerbil, hamster and rabbit)(13).

#### **Respiratory bronchioles and lung parenchyma:**

The first portions of respiratory airway the end of terminal bronchioles divided into two or more respiratory bronchioles (fig 9) which lined by simple cuboidal epithelium. This type of cells had no cilia in cells (Clara cells). Thin layer of smooth muscle cells and in addition to collagen fibers can be see (fig. 3,6). The respiratory bronchioles in cats terminated into several alveolar ducts. The alveolar ducts lead into alveolar sac, each comprising several alveoli. This result in cat the same as the most mammalian species such as show on most animals (3), in goat (7).

The respiratory bronchioles of cats different from results in guinea pig (12) and the common laboratory mammals (13), the respiratory bronchioles were

rudimentary or absent in laboratory rat. Surface epithelium: this epithelium lining to each alveolar and consisted of two types of cells, most of the alveolar surface area was covered by large squamous cells called type I pneumocytes, these cells characterized by flattened irregular shape cells with high density stained nuclei which characterized by these cells very similar in cytoplasm constituents thin sheets of peripheral cytoplasm extending a way from the nucleus like () (fig. 9). Pulmonary alveolar type I cells were a part of thin tissue bounding that limited of the alveoli in the lung and separated in haled air

from blood in the capillaries. These results in cats were the same as the result reported by research (Davis *et al* (12) Guinea pig (14) ; In adult rat (15) and in caprin Lung (16).

Type II pneumocyte: a second epithelial cell type known as the type II pneumocytes, these cells were rounded in shape and thus they were less than type I pneumocyte. Type II pneumocytes secrete a surface active material called surfactant which reduce the surface tension within the alveoli, prevent alveolar collapse during expiration. fig (10).

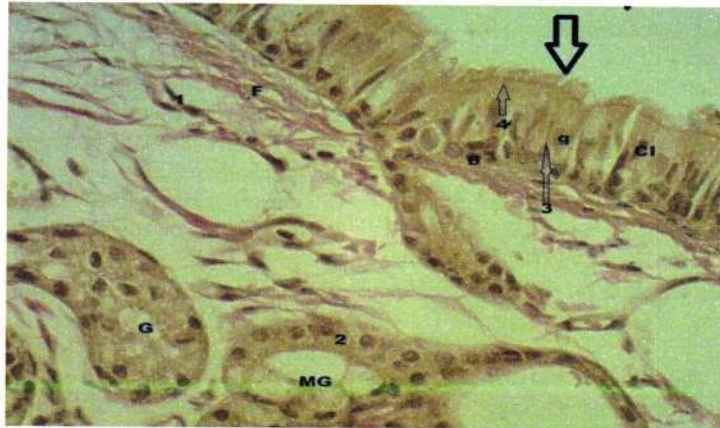


Fig.(1): Histological section illustrates the tracheal epithelium, lamina propria, submucosa in cats 1-arrow cilia g=goblet cells. Ci=ciliated cells. B=basal cells. F=collagen fibers. MG=mucous glands. 1-fibroblast 2-demilunes 3=intermediate cells 3-basal bodies. G= gland. (van Gieson stain x100)

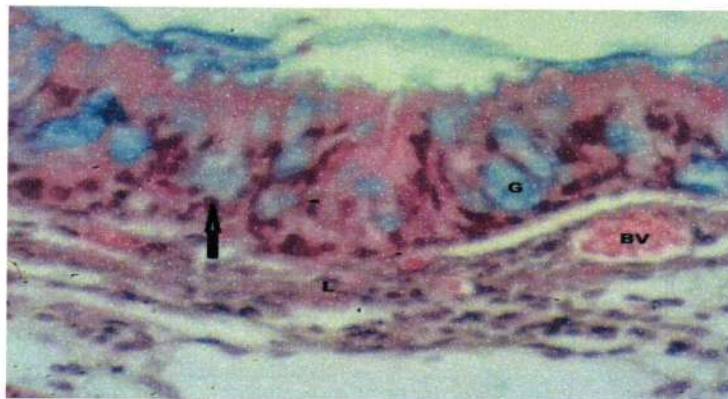


Fig.(2): Histological section illustrates the tracheal epithelium, G= goblet cells (acid reaction) blue, the arrow goblet cells its flask shape , BV=blood vessels , L=lamina propria. See the lymphatic cell (Alcian blue stain at PH 2.5 x400).

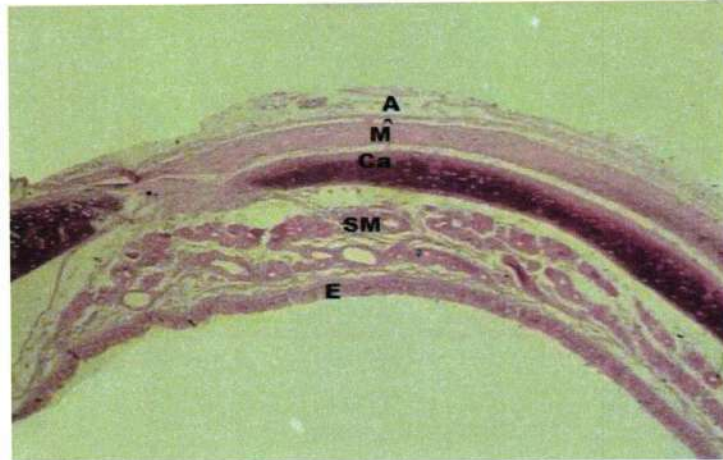


Fig.(3): Histological section illustrates the tracheal gland of cats highly density in ventral wall. E=pseudo stratified columnar ciliated epithelium with goblet cells. SM= Sub mucosa=submucosa glands Ca= hyline cartilage. M= trachealis muscle (externally) A=adeditia. (H&E stain x200).

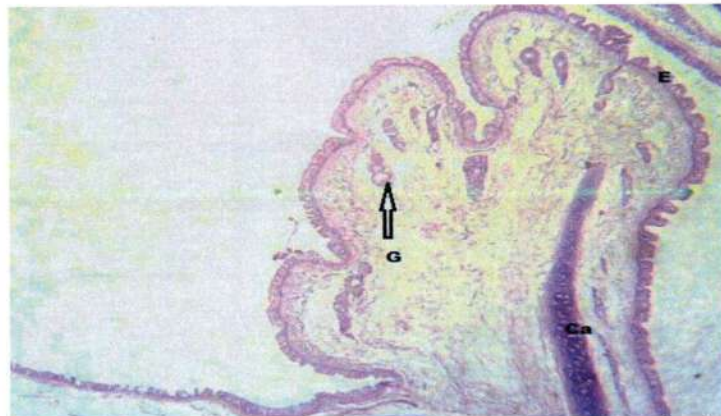


Fig.(4): Histological section illustrates the tracheal glands of cats are lower density in dorsal wall. E=epithelium. Ca=cartilage. G=gland. (E&H stain x200)

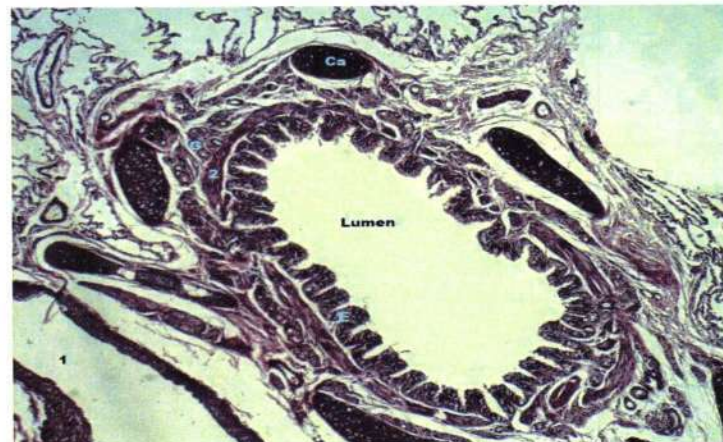


Fig.(5): Histological section illustrates the primary bronchi within lung. The positive reaction with Lumen of bronchi. E=epithelium (PAS stain x200).



Fig.(6): Histological section illustrates the primary bronchi within lung. E= pseudo stratified columnar ciliated epithelium. G= goblet cells. LP= lamina propria. Ci= cilia. (Van Gison stain x1000).

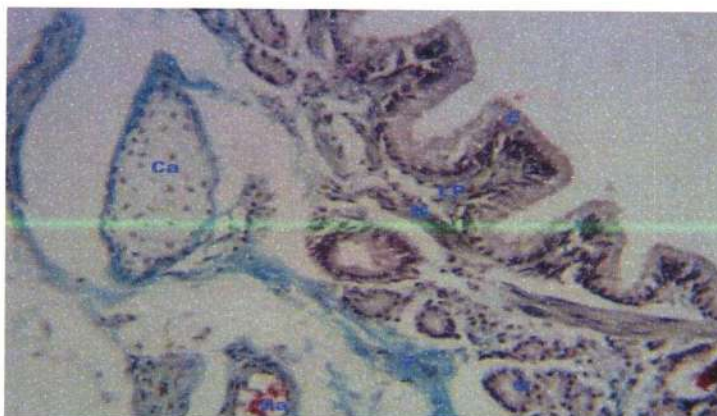


Fig.(7): Histological section of the tertiary bronchi illustrates the mucosa, sub mucosa, Muscularis Mucosa E=pseudo stratified low columnar ciliated. Lamina propria= collagen +elastic fibers. (masson trichrom stain x400).

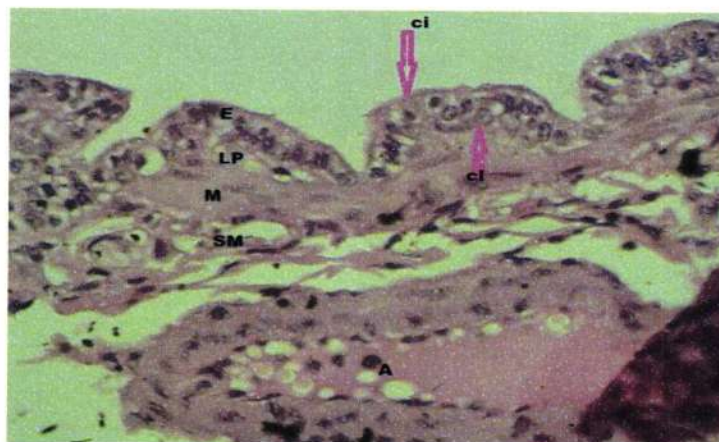


Fig.(8): Histological section of parenchyma illustrates the terminal bronchiole, respiratory A= arteriole, M =muscularis mucosa ci= clara cell . (H&E stain x400).

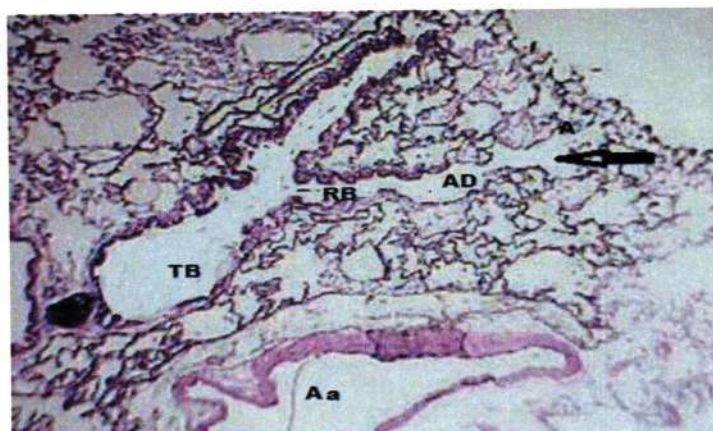


Fig.(9): Histological section illustrates the TB=Terminal bronchiole. RB=respiratory bronchiole. AD=alveolar duct. (arrow) AS=alveolar sac opening in alveolar. Aa=arteriole (PAS stain x200).

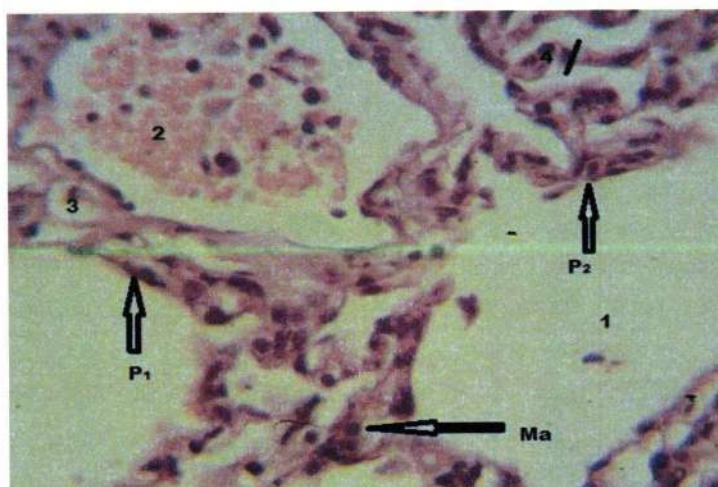


Figure (10): photomicroscope of the cat (*Felis catus*) pulmonary alveolar (E&H stain x400) illustrates: P1=type I cell (squamous cell). P2=type II cell. Ma=dust cell (macrophage). 1= alveolar sac. 2=alveolar septum. 3=pulmonary arterioles.

#### Refrances

- 1- Thompson, T. (2011). The cat respiratory system. [Htp://www.peteducation.com/article.cfm?cls=1&and\\_ea\\_t=1348-articleid=352](http://www.peteducation.com/article.cfm?cls=1&and_ea_t=1348-articleid=352)
- 2- Boba, M.A. and Choudhary, A.R. (2008). Histomorphology of pulmonary alveoli of goat (*capra hircus*). *Vet. World*. 1(10): 312-313.
- 3- Samuelson, D.A (2007). Text book of veterinary histology. Saunders Elsevier. PP. 231-244.
- 4- Mariassy, A.T. and Plopper, C.G. (1983). Tracheobronchial epithelium of the sheep: Quantitative light microscopic study of epithelial cell abundance and distribution. *Ana. Rec.* 205: 263-275.
- 5- Kennedy, A.R. Desrosiers, A., Terzaghi, M. and Little, J.B (1978). Morphometric and histological analysis of the lung of syrain golden hamsters. *J. Anat.* 125(3): 527-553.
- 6- Yang, B., Sjiu, Y.U., Yan C. Junfeng HE, Xin Hua, Jin and Wang, R.U. (2010). Histochemical and ultra-structural observation of respiratory epithelium and gland in yak (*Bos grunniens*). *Ana. Rec.* 293: 1259-1269
- 7- Habib, R.S. and Mahammed F.S. (2010). Histomorphological and radiological study of trachea and lungs of angora goat (*capra ibex*) M.Sc. thesis, Veterinary Medicine Collage, University of Duhok.
- 8- Choi, H.K, Finkbeiner, W.E. and Widdicombe, J.H. (2001). A comparative study of mammalin Tracheal mucous gland. *J. Ana.* 197: 361-372.
- 9- Tower, B, (1953). The muscle-cartilage relationship in the extra pulmonary bronchi. *J. Anat.* 87(4): 337-344.
- 10- Kahwa, C.KB and Purton, M. (1996). Technical note histological and histochemical study of epithelial lining of the respiratory tract in adult goats. *Sm. Rumin. Rese.* 20: 181-186.
- 11- Tyler, W.S. (1983). Comparative subgross anatomy lungs, pleuras, inter lobular septa and distal airway. *Am. Rev. Respir. Dis.* 128: S32-S36.
- 12- Davis ML, Lewandowski J. and Dodson R.F (1984). Morphology and ultra structure at the distal airway epithelium in the guinea pig. *Anat. Rec.* 209: 509-522.

13- Bal, H.S and Ghoshal, N.G (1988). Morphology of the terminal bronchiolar region of common laboratory mammals. Lab. Ann. 22: 76-82

14- Chang, L.Y., Mercer, R.R and Crapo, J.D. (1986). Differential distribution of brush cells in the rat lung. Ana. Rec, 216(1): 49-54.

15- Weller, N.K. and Karnovsky, M.J. (1986). Isolation of pulmonary alveolar type I cells from adult rat. Am. J. Patho. 124: 448-856.

16- Atwall, O.S. (1988). Ultra structural study of the Alveolar-capillary membrane and the tubular endoplasmic reticulum in alveolar type I cell of the caprine lung. Am. Jour. Ana. 182: 42-58.

## دراسة نسيجية للجهاز التنفسي السفلي في القطط

رياب عبد الأمير ناصر الصالحي<sup>1</sup> ، شاكر محمود مرهش<sup>2</sup>

<sup>1</sup>كلية الطب البيطري ، جامعة ديالى ، ديالى ، العراق

<sup>2</sup>كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد ، بغداد ، العراق

### الملخص

خصصت الدراسة الحالية لإظهار الصفات النسيجية المميزة للجهاز التنفسي السفلي في القطط. العينات النسيجية من القصبة الهوائية و الرغامى والقصبات الهوائية والرئتين تم معاملتها باستخدام صبغات الهيماتوكسيلين، فان كيزن، شيف فوق الأيودين و ثلاثية الكروم. أظهرت النتائج المجهرية المأخوذة من المقطع العرضي للرغامى ان خلايا ظهارة الرغامى تشمل (الخلايا الكاسية، والخلايا العمودية المهذبة، والخلايا القاعدية) ثم الطبقة تحت المخاطية التي تتفصل عن الطبقة التي تحتها وهي الغضروف الزجاجي كذلك ان نهايات الغضروف الزجاجي تتصل بعضلات ملساء تدعى العضلات الرغامية التي تربط حافتي الغضروف الخارجية للغضروف مع بعضها ، وملاحظة الغدد الرغامية التي تقع إلى الجهة الداخلية للعضلة الرغامية في المنطقة تحت المخاطية وهي من نوع الغدد البسيطة النيبية العنبية ذات الإفراز المختلط (مصلي ومخاطي) وتتركز بكثافة عالية في الجهة البطنية لرغامى، بينما كانت أقل منها في الجهة الظهرية. أما الرئتين فإنها تحاط بطبقة رقيقة من الخلايا الميزنكيمية تسمى غشاء الجنب. أما القصبة الهوائية فهي تنقسم إلى قصيبات هوائية أولية وثانوية إلى أن تنتهي بالقصببات النهائية التي تؤدي إلى القصببات التنفسية وأخيراً بالحويصلات الرئوية حيث تتشكل الوحدة التنفسية التي يحدث فيها التبادل الغازي. والحويصلة الهوائية تتألف نسيجياً من ثلاث أنواع من الخلايا التنفسية النوع السائد نوع I خلايا حرشفية مسؤولة عن التبادل ونوع الخلايا II فهي خلايا إفرازية تفرز مادة السيرفاكتن الذي يمنع وهط الرئة. والنوع الثالث الخلايا الغبارية (الملتصقة).

الكلمات المفتاحية: الصفات المجهرية للجهاز التنفسي السفلي ، الرغامى ، الرئة ، القطط

## study of chemical composition and Microbial Contamination of local sheep carcass

Zahid I. Mohammed<sup>1</sup>, Raad Jabbar Hammadi<sup>1</sup>, Maisaa G. Taher<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Public health, College of Veterinary Medicine, University of Diyala, Diyala, Iraq

<sup>2</sup>Department of Pathology, College of Medicine, University of Diyala, Diyala, Iraq.

E-mail: zahidma1977@yahoo.com

### Abstract

The microbial contamination of local sheep carcasses was inspected in Baghdad city abattoir. A total of 216 samples were collected from 36 carcasses for identification of the microbial isolates and total plate count of these organisms. Samples were taken from the site of Thigh, shoulder in both sites of carcass, meat between ribs and meat of back. Each sample was divided into three replicates, and determine the chemical compositions of meat. Meat extraction samples were cultured in different diagnostic and nutrient cultures to detect bacterial contamination which represented mainly of Coliform, *Staphylococcus*, *Salmonella* and total counts of bacteria. The presence of bacteria in meat at slaughterhouse indicated that unhygienic processing of meat. The results showed differences among carcass cuts in total plate count and *Staphylococcus* count without significantly. while count of coliform bacteria showed significantly lowest in meat between Ribs samples ( $3.65 \pm 0.49 \log^{10}$  cfu/mg). The average bacterial count in the meat was less than of the normal range of Central Organization for Standardization and Quality Control. *Salmonella* bacteria showed negative results in all samples. The results showed significant differences in ratio of protein, fat, ash and PH after 24 hours in different cuts of carcasses.

### Introduction

In recent years, Iraqi local markets were invaded by various food stuff from different known and unknown origins regardless whether such food valid for human consumption or not. Also, the lack of proper requirements of transporting, storing and marketing of such food may result in contamination of the food with various physical, chemical and biological contaminants that may form serious health threats particularly of those imported products.

In Iraq, animals slaughtered manually, therefor it contaminated by different types of microorganisms bacteria from soil or from contaminated land with other animals wastes[1].

[2] registered increase in total bacterial counts at skinning points than those at washing points. workers clothes, dirty hands and abattoir equipment may act as sources of carcasses contamination.

It can be said generally that the total value of sheep (lamb) carcass with slaughterhouse weight depends on the weight of individual carcass cuts and their composition, that is, the shares of muscle, fatty and bone tissue [3, 4].

Many factors which influence carcass characteristics can influence significantly its composition too.[5, 6] emphasize breed (genotype), feeding, sex, body weight at slaughter and individual carcass part as the most prominent factors that influence the composition of lamb carcass.

### Materials and methods

**Meat samples:** A total of 216 samples were collected From 36 carcasses of local sheep from Baghdad abattoir during November to April. Samples were taken from six different sites included thigh and shoulder in both sides, meat between ribs and meat of back. Each sample was divided into three replicates.

**Microbial cultures:** All samples were cultured in Nutrient Broth, and on to MacConkey's, Blood and

mannitol salt agars for the growth of microorganisms. All plates were examined visually after incubation for 24 hrs. at 37 °C for typical colony types and morphological characteristics associated with each growth medium. The total bacterial count of the isolated microorganisms was done according to the method of [7].

**Chemical composition:** For determination of the chemical composition of meat (moisture, crude protein, crude fat and ash) of the cuts, a sample of approximately 50 g was taken from each cut, and for determination of the chemical composition. The samples were kept at -20°C until analysis for chemical composition. Meat acidity was determined by using the PH meter.

Moisture, CP, fat (ether extract), and ash were determined by Kjeldhal, Soxhlet, oven drying and burning the sample in an electric furnace [8]. All tests were carried out in Public Health and Food Safety Laboratory (PHFSL)/ Central Veterinary Laboratory and Research(CVL)/ Veterinary Directorate/ Ministry of Agriculture in Baghdad.

**Statistical analysis:** The data were analyzed by using The one-way analysis of variance (ANOVA). Paired t-test and unpaired t- test were applied to compared among the means [9].

### Result and discussion

The present study focused on microbial contamination of meat in slaughters under normal conditions without any processing, also the composition of meat in different cuts of carcass.

The high level of contamination following evisceration may be due to Leaked the contents of the digestive tract or when separation of the anal sphincter with rectum results in contamination of the carcasses as well as always The workers use low quantity of water to wash the carcasses and the same

water is used again for washing hands, knives and even the offal [10].

From table 1 we see Coliform, *Staphylococcus* and total counts of bacteria gave positive results due to high contamination of slaughter Shops with different type of microorganisms which attached to animal bodies during slaughter and cleaning [11].

Bacterial count showed insignificant ( $p \geq 0.05$ ) differences among different cuts of carcass in Total plate count and count of Staph, while meat between

ribs showed significantly ( $p \leq 0.05$ ) lower ( $3.65 \pm 0.49$ ) in coli form bacterial count than other cuts of carcass. that disagreement with [11] whom referred to high content of microbial flora may be belonged to high content of fat in carcass cuts. As well as meat of right shoulder were significantly ( $P \leq 0.05$ ) higher count than all other groups. *Salmonella* bacteria showed negative results in all samples (table 1) this agreement with [12].

**Table: (1) Bacterial count (CFU/mg) in meat of different cuts of carcass (means  $\pm$  SE)**

Organs	Total plate count $\times \log^{10}$	Staph $\times \log^{10}$	Coliform $\times \log^{10}$	Salmonella
R.Th.	5.04+0.56	4.11+0.52	3.97+0.70 bc	0
L.Th.	5.88+1.38	4.03+0.64	3.75+0.21 c	0
R.Sh.	5.53+1.40	3.56+0.81	4.89+0.07 a	0
L.Sh.	5.23+1.73	4.31+0.30	4.69+0.12 ab	0
M.R.	6.49+1.06	3.85+0.80	3.65+0.49 c	0
M.B.	5.80+0.70	4.19+0.31	3.96+0.37 bc	0
LSD	1.84	0.8006	0.8696	0

Different letter vertically denote significant differences ( $P \leq 0.05$ ) among groups mean.

R.Th. = Right Thigh, L.Th.= Left Thigh, R.Sh. = Right Shoulder, L.Sh.= Left Shoulder, M.R.= Meat between Ribs, M.B.= Meat of Back

**Chemical composition of meat:-**

The meat chemical composition was significantly ( $P \leq 0.05$ ) differs among cuts of carcasses in meat ash %, protein % and fat % in addition of pH value after microbial tests (Table 2). However, there were no significant differences between cuts in moisture % of meat in all cuts of carcasses.

[13] determined significant differences in shares of

individual tissues in carcasses of local lambs slaughtered at higher body weights (20, 30 and 40 kg).

Table (2) indicated that there was a significant decrease ( $P \leq 0.05$ ) in the fat% value in meat of back in comparison with other cuts while significantly ( $P \leq 0.05$ ) higher in meat of left thigh with mean values were ( $4.25 \pm 0.66$ ) and ( $5.13 \pm 0.18$ ) respectively.

**Table :2 chemical composition of meat in different cuts of carcass (means $\pm$ SE)**

Organs	Moisture %	Protein %	Fat %	Ash %	PH after slaughter	PH after 24 hr
R.Th.	67.03+0.65	27.10+0.85 C	4.76+0.65 ab	1.06+0.28 a	7.5+0.34	5.38+0.18 ab
L.Th.	67.20+3.20	27.40+0.78 Bc	5.13+0.18 a	0.63+0.43 b	7.83+0.54	5.76+0.22 ab
R.Sh.	66.43+0.65	28.23+0.49 A	4.73+0.59 ab	1.16+0.23 a	7.33+0.40	5.22+0.13 b
L.Sh.	67.21+1.31	27.60+0.56 Abc	4.83+0.17 ab	1.10+0.35 a	7.50+0.31	5.33+0.18 ab
M.R.	67.13+2.48	27.83+0.23 Ab	4.46+0.56 b	1.30+0.17 a	8.00+0.44	5.98+0.32 a
M.B.	67.13+4.93	27.16+0.40 Bc	4.25+0.66 b	1.03+0.26 a	7.33+0.47	5.36+0.27 ab
LSD	3.1712	0.7042	0.6086	0.3573	1.236	0.6618

Different letter vertically denote significant differences ( $P \leq 0.05$ ) among groups mean.

Data revealed lowest value in protein percentage for right thigh in comparison to other cuts while there

was significantly ( $P \leq 0.05$ ) increase in the protein % value of meat for the right shoulders as compared

with other cuts with mean values were (27.10+0.85) and (28.23+0.49) respectively.

On the other hand the meat of left thigh had a significantly ( $P \leq 0.05$ ) lower ash % than the other cuts with mean value was (0.63+0.43).

Many researches indicate that genotype (breed) has a significant influence to the share of individual carcass cuts and their composition [14,15,16]. [17] determined significant differences in shares of individual carcass cuts of lambs of local breed. Meat between ribs also revealed significant higher ( $P \leq 0.05$ ) pH value

#### References

1. **Fayad, H.A. and Naji S.A. (1989).** Poultry products technology, Agricultural faculty, University of Baghdad.
2. **Glimour, A.; Murry, K.A. and Madden, R.I. (2004).** Determination of the principal points of products contamination during beef carcass dressing process in Northern Ireland. *J. of Food Protection.* 67(7):1494-6.
3. **Farrell, T.C. and Hopkins, D.L. (2007).** A Hedonic Model of Lamb Carcass Attributes. *Australasian Agribusiness Review* 15:108-119.
4. **Oramari, R.A.; Alkass, J.E. and Mahmud, K.I. (2014).** A Comparative Study on Growth, Carcass Traits and Tissue Distribution of Awassi and Hamdani Lambs. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 4: 36-43.
5. **Perez, P.; Maino, M.; Tomic, G.; Mardones, E. and Pokniak, J. (2002).** Carcass characteristics and meat quality of Suffolk Down suckling lambs. *Small Ruminant Res.* 44: 233-240.
6. **Mioč, B.; Pavić, V. and Sušić, V. (2007).** *Ovčarstvo. Hrvatska mljekarska udruga. Zagreb, 2007.*
7. **Miles, A.A. and Misra, S.S. (1938).** The estimation of bactericidal power of the blood. *1. Hyg. (Lond.)* 38:732.
8. **AOAC, (1975).** Association of official analytical chemists, official methods of analysis. 12th. Edn., Washington DC., PP: 129-136.
9. **SAS, (2000).** SAS/STAT Users Guide for personal computer. Release 6.12. SAS Institute, Inc., Cary, N-C., USA.
10. **Abdalla, M.A.; Siunan S.E. and Alian, Y.Y.H.A. (2009).** Microbial Contamination of Sheep Carcasses at Modern Slaughter house in Khartoum State. *sud. J. Vet. Sci. Anim. Husb. Vol.* 48(1&2).
11. **Haleem, A. M.; Al-bakri, S. A. and Al-Hiyaly, S. A. K. (2013).** Determination of Microbial Content in Poultry Meat in Local Iraqi Markets. *Journal of Microbiology Research* 2013, 3(6): 205-207.
12. **Abid Ali, S.A.; jawd, A.A. and Mahdi, S. (2013).** The Bacteria Contamination of Red Local and Imported Meat. *Iraqi journal of science.* vol.54(2):249 – 254.
13. **Abdullah, Y.A. and Qudsieh, R.I. (2008).** Carcass characteristics of Awassi ram lambs slaughtered at different weights. *Livest. Prod. Sci.* 117: 165–175.
14. **Migueluez, E.; Zumalacarguei, J.M.; Osorio, M.T.; Beteta, O. and Mateo, J. (2006).** Carcass characteristics of suckling lambs protected by the PGI "Lechazo de Castilla y Leon" European quality label: Effect of breed, sex and carcass weight. *Meat Sci.* 73: 82-89.
15. **Perez, P.; Maino, M.; Morales, M.S.; Kobrich, C.; Bardon, C. and Pokniak, J. (2007).** Gender and slaughter weight effects on carcass quality traits of suckling lambs from four different genotypes. *Small Ruminant Res.* 70: 124-130.
16. **Peraza-Mercado, G.; Jaramillo-Lopez, E. and Alarcon-Rojo, A.D. (2010).** Breed effect upon Carcass characteristics and Meat Quality of Pelibuey and Polypay x Rambouillet lambs. *Am. Eurasian J. Agric. Envi-ron. Sci.* 8: 508-513.
17. **Macit, M.; Esenbuga, N. and Karaoglu, M. (2002).** Growth performance and carcass characteristics of Awassi, Morkaraman and Tushin lambs grazed on pasture and supported with concentrate. *Small Ruminant Res.* 44: 241-246.
18. **Lawrie, R.A. (1998).** *Lawrie's meat science.* 6th. Edn., Cambridge, England, Woodhead Publishing Ltd., PP: 11-30.

## دراسة التركيب الكيميائي والتلوث الميكروبي في ذبائح الاغنام المحلية

زاهد اسماعيل محمد<sup>1</sup> ، رعد جبار حمادي<sup>1</sup> ، ميساء غني ظاهر<sup>2</sup>

<sup>1</sup> فرع الصحة العامة ، كلية الطب البيطري ، جامعة نينوى ، نينوى ، العراق

<sup>2</sup> فرع الامراض ، كلية الطب ، جامعة نينوى ، نينوى ، العراق

### المخلص

اجريت الدراسة لغرض التحري عن الملوثات البكتيرية في لحوم ذبائح الاغنام المحلية في مسالخ مدينة بغداد. وجمعت ما مجموعه (216) عينة من (36) ذبيحة لتحديد العزلات والعدد الاجمالي من هذه الكائنات تم أخذ العينات من الفخذين والكتفين واللحوم بين الضلوع ولحم الظهر. ثم قسمت كل عينة إلى ثلاثة مكررات، وتم تحديد التراكم الكيميائي في اللحوم.

زرعت مستخلصات عينات اللحوم في الاوساط التفرقية والمغذية المختلفة للكشف عن التلوث البكتيري الذي يتمثل أساسا من بكتريا القولون، المكورات العنقودية والسالمونيلا وجمالي أعداد البكتريا. وجود البكتريا في اللحوم يشير إلى أن التعامل مع الذبائح يجري بطريقة غير صحية داخل المسالخ.

وأظهرت النتائج وجود فروق في اعداد البكتريا الإجمالية واعداد المكورات العنقودية بين أجزاء الذبيحة المدروسة ولكن لم ترقى الى مستوى المعنوية. في حين سجلت اعداد البكتريا القولونية اقل ما يكون وبصورة معنوية في عينات اللحم بين الأضلاع  $(3.65+0.49 \log^{10} \text{ cfu/mg})$ . مقارنة بأجزاء الجسم الاخرى. وكان متوسط عدد البكتريا في اللحوم أقل من المعدلات الطبيعية المسجلة لدى الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية. وأظهرت بكتريا السالمونيلا نتائج سلبية في جميع العينات. كما أظهرت النتائج وجود فروق معنوية في نسب البروتين، الدهن، الرماد ودرجة الحموضة بعد 24 ساعة في الاجزاء المختلفة للذبيحة.

## Anatomical and topographical study on human neonate spinal cord

Sami Ibrahim Abdullah , Abdul-Jabbar J. Mahdi , Abdul-Kareem S. Mahood

College of Medicine , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

### Abstract

The anatomical features of the human neonate spinal cord have been investigated.

In this study, twenty of neonate cadavers were collected from the Forensic Medicine Unit of Kirkuk and Tikrit Teaching Hospital between October (2012) to December (2013) on twenty Iraqi males neonate cadavers with age ranging from 0-28 days to study the anatomical features of the neonate spinal cord.

The dissection and performs of laminectomy of the cadaver, the anatomical study revealed that the cord covered by three meninges from external to internal included dura, arachnoid and pia matters, which extends from inferior aspect of foramina magnum to the sacral region. After cut up the dura and arachnoid, the tubular and cylindrical neonate spinal cord was observed with whitish to yellowish color, extending from the lower border of foramina magnum and terminates mostly at level of third lumbar vertebrae (L3) and others ends at the level of (L4).

The spinal cord length was 16.25 cm and divided into four different segments, the cervical cord forms (38.9)cm, thoracic part (78.7)cm, the lumbar part (26.5)cm and the sacral part (18.4)cm. The external surface of cord was consisted of the origin, of anterior and posterior nerve rootlets, present of the anterior median fissure and posterior median sulcus extends through the length of neonate spinal cord, the anterior spinal artery existing inside the anterior median fissure. Moreover, the external surface of spinal cord grossly not uniform it has two swelling called cervical and lumbosacral enlargements as well as the transverse and vertical dimensions were differ between the four segments.

The aim of the present study was to compare the findings of the neonate spinal cord with that of the adult spinal cord based on anatomical parameter.

### Introduction

The human spinal cord is major part of the central nervous system (CNS) lodged in the foramen magnum at the base of the brain to a point in the lumbar or sacral vertebrae, depending on the species and considered to be one of the important organ in the our body<sup>(1)</sup>. The spinal cord is the only part of the human central nervous system that has an external segmental organization; which divided in to 31 segments. Each spinal segment contains a pair of nerve roots called the dorsal (sensory) and ventral (motor) roots which travels through the intervertebral foramina of vertebral column.<sup>(2)</sup> The spinal cord (Medulla Spinalis) situated within the vertebral canal of the vertebral column it's surrounded by three meninges; the dura mater, the arachnoid mater and the pia matter. The spinal cord is divided into internally gray matter and peripherally white matter and the diameter of adult spinal cord is (1-1.5) cm,<sup>(3,4)</sup>

The spinal cord is long, cylinder and tubular bundle of nervous tissue that begins from the inferior border of foramen magnum of occipital bone of the skull where it is continuous with the medulla oblongata to the inferior margin of the first lumbar vertebra (L1) or to the inter vertebral disc between the first and second lumbar vertebrae (L1 and L2). Below, the spinal cord tapers off into the conus medullaris (CM), from the apex of which a prolongation of the pia

mater, the filum terminale descends to attach to the back of the periostum of coccyx bone. The conus medullaris generally is centrally located within the lumbar subarachnoid cistern.<sup>(5)</sup>

### Materials and Methods

Neonates without any congenital cranio - vertebral catastrophes were selected for this study; the length of neonate was 48.8±1.74 cm body length, 300-370 mm crown-rump length (CRL), 24.41±1.46 cm the mean length of the vertebral column, 22-35cm head circumference and 2.5-4.6 kg body weight were examined. Laminectomy was performed to open vertebral canal from behind to approach the spinal cord inside the vertebral canal as follow:<sup>(6)</sup>

1. After laminectomy performed from the vertebral canal, the epidural space and meninges was exposed; cut by scissors the dura mater along with arachnoid matter, starting inferiorly from the lumbar region to the foramen magnum superiorly as seen in Figure (1).
2. Removed the spinal cord from the vertebral column, and measurements the dimensions included the length, transverse and sagittal diameters of each segment of neonate spinal cord included (cervical, thoracic, lumbar and sacral segments). Also, measured the length and thickness of filum terminale. by ruler and an electronic digital caliper Figure (2,3). The coccygeal segment was excluded in this study.

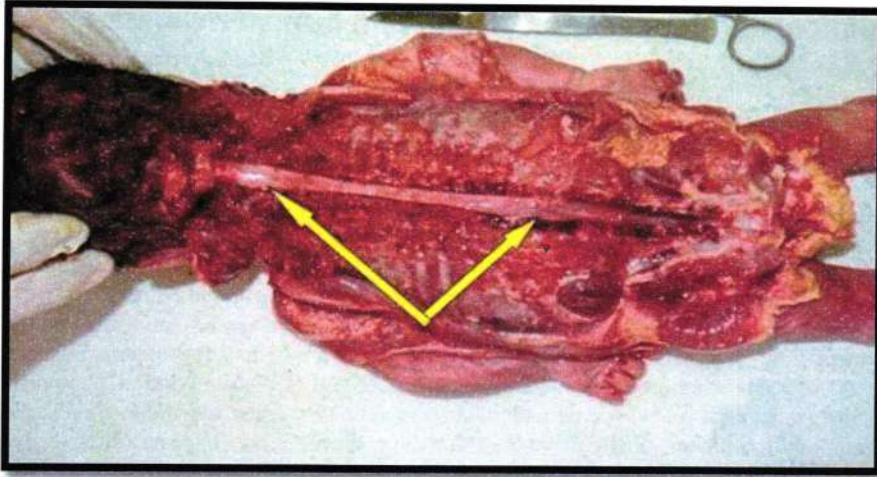


Fig.(1). Laminectomy performed to explore longitudinal dura matter with cervical and lumbosacral enlargements (yellow arrows)

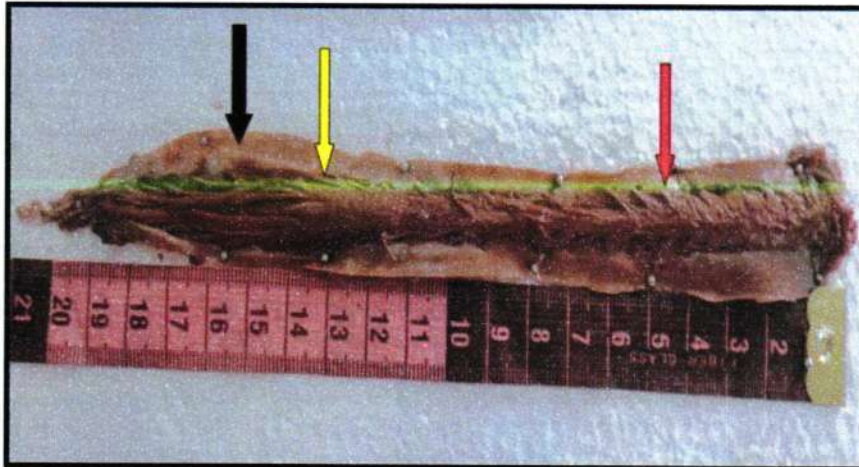


Fig.(2). The anterior roots of spinal nerve of cervical ( red arrow), thoracic exit horizontally while in the lumbar and sacral exit obliquely (yellow arrow) from the dura matter (black arrow)

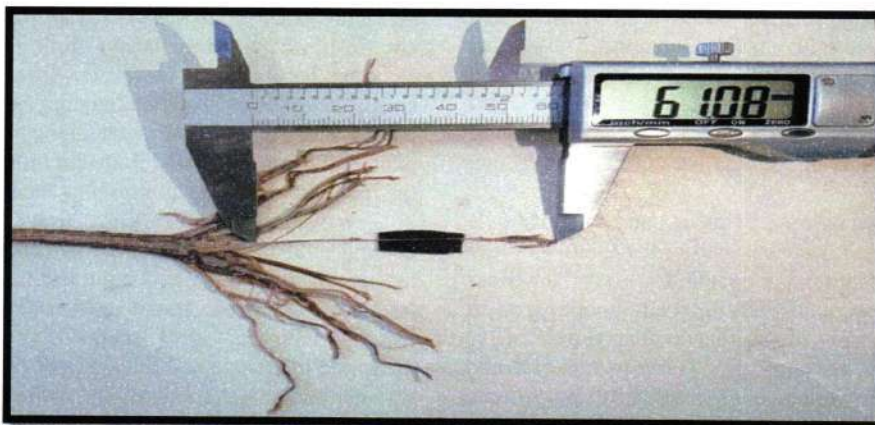


Fig. (3). Measurement the length of thin filum terminale of neonate spinal cord.

### Results

The dura matter was showed white – grey in color, thick and tough layer sac like, which completely surrounded the spinal cord, extended from foramina

magna (attached to it firmly) to the sacral region, the mean values of its length was 19.3 cm, the dura showed two enlargements; cervical and lumbosacral, and pierced segmentally by the anterior and posterior

roots of the spinal nerves along the dural layer as shown in Figure (1).

In this study, the average length of the neonate spinal cord calculated was 16.25±1.59 cm. The mean length of cervical segment forms 3.89 (24.0%) cm from total length of spinal cord, the thoracic 7.87 (48.4%) cm, the lumbar 2.65 (16.3 %)cm, and the sacral 1.84 (11.3%) cm. (Table 1). In addition, the ratio of length of neonate spinal cord to total body length was (1 to 3). While the ratio of length of neonate spinal cord to vertebral column length was (1 to 1.5). Additionally, the mean length and thickness of filum terminale were 6.27±0.64cm and 0.81±0.11mm.

Measuring the length, transverse and sagittal diameter of four segments in whole neonate spinal cord revealed visible differences between the segments which included, cervical (C), thoracic (T), lumbar (L) and sacral (S) were not uniform in measurements. The mean values of length diameters were 38.9 ±1.1mm, 78.7 ±0.51mm, 26.5 ±0.87mm and 18.4 ±0.97mm respectively, while the transverse diameters of four segments C, T, L and S were as follows 8.8 ±0.52 mm, 6.5 ±0.3 mm, 7.9 ±0.79mm and 4.8 ±0.35 mm respectively. Additionally, the sagittal diameters of the four subdivisions segments C, T, L and S were as follows 5.6 ±0.53 mm, 4.6 ±0.38mm, 5.2 ±0.94mm and 3.4 ±0.38 mm respectively. (Table 1 and Figure 4).

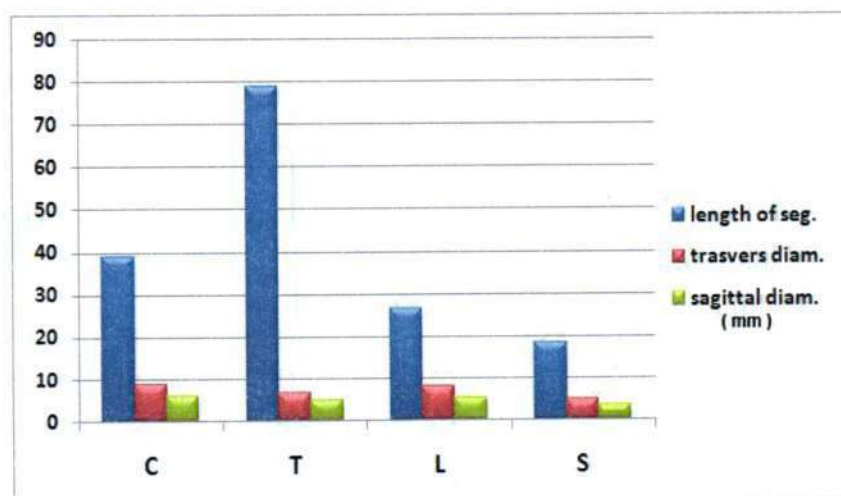
The statistical analysis of length diameter showed a significant variations (P<0.05) among all the segments (C, T, L and S) and highly significant variations (P<0.01) showed (T and S) segments in same column. While, the statistical analysis of transverse diameter reveals no significant (P>0.05) variations are found between (C and L) and between (T and S) but there was highly significant variations (P<0.01) between (C and S) of neonate spinal cord. Regarding, the sagittal diameter results statistically similar to the variations of transverse diameters as mentioned above.

Regarding, the direction and number the roots of spinal nerves include the small and thin dorsal sensory nerve roots ,its number range from (5-7 rootlets), which enter the spinal cord at each level posteriorly, and the ventral motor roots (5-7 rootlets), which emerge from the spinal cord at each level anteriorly. The spinal nerves in the cervical and thoracic region superiorly exit transversely and directly from intervertebral foramina associated numerically with the corresponding spinal cord segment. While the spinal nerves in the lumbar and sacral region and filum terminale travel further down the column before exiting, which occupy the inferior part of the vertebral canal, are collectively known as cauda equina ( horse tail ).

**Table (1): Means ± SD the length, transverse and sagittal diameter in transverse section in four segments of neonate spinal cord.**

Segments	Length of Segment (mm)	Transverse diameter (mm)	Sagittal diameter (mm)
Cervical (C)	38.9 ±1.1*	8.8 ±0.52 *	5.6 ±0.53*
Thoracic (T)	78.7 ±0.51**	6.5 ±0.3 <sup>n</sup>	4.6 ±0.38 <sup>n</sup>
Lumbar (L)	26.5 ±0.87*	7.9 ±0.79 <sup>n</sup>	5.2 ±0.94 <sup>n</sup>
Sacral (S)	18.4 ±0.97**	4.8 ±0.35 **	3.4 ±0.38*

n= (P>0.05) , \*(P<0.05) , \*\*=(P<0.01) .



**Fig. (4).The mean values of length, transverse and sagittal diameters of four segments of neonate spinal cord**

## Discussion

In present results similar with the findings of Huanwei<sup>(7)</sup> and Nilesh *et al*<sup>(8)</sup> they mentioned that the extension of thick grey color dura matter from inferior surface of foramina magna of skull to the sacral region and below dura matter there is thin layer of arachnoid matter, then very thin layer of pia matter adhered strongly to the outer surface of spinal cord. Also, the dura matter pierced externally by transverse and oblique segmental spinal nerves which passes through epidural space to inside the intervertebral foramina.

The average length of neonate spinal cord in present study was 16.25 cm. The cervical region forms 38.9(24%) cm of the total length of spinal cord, the thoracic region 78.7(48.4%) cm, the lumbar region 26.5 (16.3%) cm and sacral region 18.4(11.3%) cm, also, the ratio of neonate spinal cord to the total body length is (1 to 3), this findings above were in agreement with Arthur *et al*<sup>(9)</sup> who reported that average length of newborn cords was 15.4 cm. The cervical cord forms 3.98 (25.9%) cm of the total length, the thoracic 7.6 (49.4%), the lumbar 2.25 (14.6 %), and the sacral 1.55 (10.1%). Additionally, The ratio of length newborn spinal cord to body length was (1 to 3.2), while in the adult is (1 to 4.1) this mean the neonate spinal cord is relatively longer when compared to body length, this ratio is reversed in the length adult spinal cord to the body length.

Whereas Maheshwari *et al*<sup>(10)</sup> reported the average length of adult spinal cord was 43.4cm, the cervical segments form 9.84 (22.7%) cm. of the total length, the thoracic 23.41 (55.1%) cm, the lumbar 5.63 (13.0%) cm, and the sacral 3.99cm (9.2%) cm. also, the ratio of length spinal cord to body length is (1 to 4.2).

The gross metrical measurements of transverse and sagittal diameter enlarge at the cervical ( $8.8 \pm 0.52$  and  $5.6 \pm 0.53$ ) and lumbar region ( $7.9 \pm 0.79$  and  $5.2 \pm 0.94$ ) segments respectively, while it become decline in thoracic ( $6.5 \pm 0.3$  and  $4.6 \pm 0.38$ ) and sacral region ( $4.8 \pm 0.35$  and  $3.4 \pm 0.38$ ) segments respectively. The sagittal diameter measurements revealed a gradual decrease from cervical enlargement segment

## References

1. Haneline M.T., Robert C., Morgan D. and Justin R.: Determining spinal level using the inferior angle of the scapula as a reference landmark: a retrospective analysis of 50 radiographs. *J. Can Chiropr. Assoc.* 2008; 52(1): 24-29.
2. Dum RP. and Strick PL.: The spino thalamic system targets motor and sensory areas in the cerebral cortex at monkeys . *J Neurosci.* 2009; 45: 14223–14235.
3. Talal A., Mohammed H. and Ali A.: Deep Vein Thrombosis in Iraqi spinal cord injured patients. *Iraqi postgraduate medicine J.* 2009; 1: 21.
4. Colin R., Ken W. and Han C.: *The Spinal Cord.* First Edition . Elsevier Ltd. 2009; PP. 5 -11.
5. Barson A. J.: The vertebral level of termination of the spinal cord during normal and abnormal development. *J. Anat.* 1969;106:489– 97
6. Maheshwari T., Faruqi N. and Hasan S.: Variation in the weight of spinal cord in different age group of Indian human fetuses. *Inter. J. of Scientific and Research Publications.* 2013; 3(6): 1-3.
7. Huanwei J., Benchao S. and Shiyuan X. : An anatomical study of lumbar epidural catheterization. *BMC Anesthesiology.* 2015;15:(94). 2-5.
8. Nilesh K., Yousuf S. and Nawal K.: An approach for removal of brain, brain stem with spinal cord for autopsy and anatomical study. *J. Evol. of Med. and Dent. Sci.* 2014; 3(52): 12059-12062.

C4 to the upper thoracic spinal cord segments (T1 and T2) and remaining almost constant all over the thoracic segment, then the sagittal diameter started to enlarge again at lumbar segment, and then declining markedly in the sacral segment.

Concerning, the spinal rootlets, roots and spinal nerves of neonate spinal cord. The anterior and posterior spinal rootlets are small, slender shape which originated from anteriolateral and posteriolateral sulcus of neonate spinal cord with ranging number (5-7 rootlets); these rootlets units to form anterior and posterior spinal roots after that, the roots combine to form 31 paired of spinal nerves on both side of spinal cord. In the same time the number of rootlets as mentioned divide the neonate spinal cord into 31 spinal cord segments. These results were similar with George *et al*<sup>(11)</sup> and Hynes *et al*<sup>(12)</sup> they were stated the segmentations of spinal cord determined or depend on the number of spinal rootlets was enumerate from above to inferior, with ranging from (6-8) rootlets, the former units to form spinal nerves, which enters inside intervertebral foramina (IVF).

The present result of this study corresponds with Salbacak *et al*<sup>(13)</sup> stated that the mean length of filum terminale were 6.27 cm and the mean initial thickness is 0.81 mm and the midpoint thickness 0.30 mm. The filum terminale was divided in to two division, the mean length of first division was 40.70 mm called filum terminale internum extend from the tip of conus medullaris and terminate at the lower end of lumbar cistern (dural sac) which filled by CSF, while the mean length of second division was 10.57mm called filum terminale externum which pierce the two layers arachnoid and dural layer at the lower end of dural sac and then attached to the dorsal surface of coccygeal vertebra. Whereas Pinto *et al*<sup>(14)</sup> reported that the total length of adult filum terminale was 20cm; the filum terminale internum form 15cm of total length, while the filum terminale externum length was 5cm. Also, the initial thickness of filum terminale was range from (1.5-2mm) and (0.79mm) at the midpoint.

9. Arthur M. Lassek G., and Rasmussen L.: A quantitative study of the newborn and adult spinal cords of man. J. Comp. Neur.1938; 1 – 9.
10. Maheshwari T., Faruqi N. and Hasan S.: Variation in the weight of spinal cord in different age group of Indian human foetuses. Inter. J. of Sci. and Res. Pub.2013;3(6):1- 3.
11. George F K. and John P. F.: The sheaths surrounding the attachments of rat lumbar ventral roots to the spinal cord: a light and electron microscopical study. J. Anat. 1986; 148: 137-146.
12. Hynes P. J., Fraher J.P. and Osulliv V.R.: Segment length and root orientation. in normal and sacrally attached spinal cords : A morphometric study. J. Clin. Anat. 1993;6:167-172.
13. Salbacak A., Buyukmumcn M., Malas M.A. and Karabulut A. k.: An investigation of the conus medullaris and filum terminale variations in human fetuses. Surg. Radial Ant. 2000: 22; 89 – 92.
14. Pinto FC., Fontes RB. and Leonhardt MC.: Anatomic study of the filum terminale and its correlations with the tethered cord syndrome. Neurosurgery Sep.2002; 51(3):725-730.

### دراسة تشريحية في الحبل الشوكي للأطفال حديثي الولادة

سامي إبراهيم عبدالله ، عبد الجبار جميل مهدي ، عبد الكريم سالم ماهود

كلية الطب ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

#### الملخص

في هذه الدراسة تم جمع عشرين جثة لأطفال حديثي الولادة من وحدة الطب العدلي في مستشفى تكريت التعليمي و مستشفى كركوك التعليمي للفترة من تشرين الأول 2012 إلى كانون الأول 2013 لعشرين طفل عراقي من الذكور والتي تبلغ أعمارهم من (0 - 28 يوم) لغرض الدراسة التشريحية للحبل الشوكي.

بعد أن شرحت الجثة و إزالة الصفيحة الفقرية والنتوات الشوكية من العمود الفقري ،أظهرت الدراسة التشريحية للحبل الشوكي لأطفال حديثي الولادة أن الحبل مغطى بثلاثة أغلفة (الأم القاسية والعنكبوتية والأم الحنون) الممتدة من أسفل فتحة الثقب الأعظم للجمجمة إلى منطقة الفقرات العجزية للعمود الفقري،وبعد فتح الأغلفة نلاحظ الحبل الشوكي يكون على شكل أنبوب طولي اسطواني الشكل ذات لون ابيض مصفر والذي يمتد في داخل العمود الفقري من الثقب الأعظم إلى مستوى الفقرة القطنية الثالثة أو الرابعة.

ويبلغ طول الحبل الشوكي 16.25سم وينقسم إلى أربع مناطق مختلفة الأطوال، المنطقة العنقية و يبلغ طولها (38.9سم)، المنطقة الصدرية (78.7سم)، المنطقة القطنية (26.5سم) والمنطقة العجزية(18.4سم)، وكذلك ينشا من السطح الخارجي للحبل الشوكي الجذور العصبية الأمامية والخلفية والأعصاب الشوكية التي تنشا من الأطراف الوحشية للحبل الشوكي، وكذلك أظهرت الدراسة على وجود حفرة طولية من السطح الأمامي والخلفي للحبل الشوكي تسمى الشق الأمامي الوسطي والأخدود الخلفي الوسطي على التوالي ويمتد الشريان الأمامي الشوكي في داخل الشق الوسطي الأمامي، وإن المظهر الخارجي للحبل الشوكي ليس بمستوي واحد(غير متناسق) فالمنطقة العنقية والقطنية تكون اعرض واسمك من منطقتي الصدرية والعجزية للحبل الشوكي، وكذلك اظهرت الدراسة على وجود اختلاف في قياس الأبعاد المستعرضة والطولية في الأجزاء الأربعة للحبل الشوكي.

الهدف من الدراسة الحالية هو مقارنة النتائج التشريحية للحبل الشوكي في الأطفال حديثي الولادة مع الحبل الشوكي للبالغين.

## A new cell line in *Cryptosporidium* spp. in vitro culturing

Hiro M. Obiad<sup>1</sup>, Tawfiq I. Al-Alousi<sup>2</sup>, Abdulla H. Al-Jboori<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Medical Lab. Techniques dept., College of Technology – Kirkuk, Foundation of Technical Education, Kirkuk, Iraq

<sup>2</sup> Microbiology Dept., Veterinary Medicine College, Tikrit University, Tikrit, Iraq

<sup>3</sup> Biology Dept., Education College, Tikrit University, Tikrit, Iraq

### Abstract

This study was designed to find out the ability of *Cryptosporidium* spp. to grow and develop in stem cells from human placenta. Because this could have serious transmission implications in relation to pregnant human and other vertebrate hosts especially the immune compromised one. *Cryptosporidium* was cultured successfully in human placental stem cells from (chorion, amnion, umbilical cord), and mice bone marrow stem cells, with rate of 22, 20, 16, 10 % respectively for each one, comparing with 24 % in mice peritoneal macrophages. Both sexual and asexual reproductions was occurred in cultured stem cells and the produced oocysts were seen free within the culture media. This result is represent the first time for recording the parasite growth in placental stem cells and this may open a gate for more intracellular parasites culturing and promise a source of available and abundant undifferentiated cells for other researches.

Key words: Cell culture, Human placenta, *Cryptosporidium*.

### Introduction

The *in vitro* culture of protozoan parasites involves highly complex procedures, which are subjected to many variables. Depending on the life cycle stages of these parasites they may require different culture parameters. *In vitro* cultivation is important for many reasons, some of which include: diagnosis, antigen and antibody production, assessment of parasite immune modulating capabilities, drug screening, improvements in chemotherapy, differentiation of clinical isolates, and vaccine production [1]. Although cultivation of intestinal parasite has a long history, not all parasites are amenable to growth *in vitro*. without the ability to cultivate organisms few basic studies can be performed beyond morphological or pathological description, and cultivation is a prerequisite for studies that require large numbers of parasites [2]. *Cryptosporidium* is one of the intracellular intestinal parasite that invade the microvillous region of epithelial cells of a variety of host species, and it has a complex life cycle including sexual and asexual stage each with different stages and it has been cultivated successfully in wide range of cells type. In 1983 Woodmanse and Pohlenz [3] described the first successful *in vitro* culture of *Cryptosporidium* spp. asexual life cycle stages in human rectal tumor cells (HRT), Current and Long [4] in 1982 had described the development of *Cryptosporidium* in the endoderm cells of the chorioallantoic membrane (CAM) of chicken embryos, cryptosporidial sporozoite attachment and invasion of MDCK cells (Madin-darby canine kidney cells) was also reported [5].

The complete life cycle development in human colonic adeno carcinoma (caco-2), primary rat hepatocyte cells and mouse fibroblasts was reported [6] mouse peritoneal macrophages [7], HCT-8 cells (Human Colonic Tumor) [8]. Despite limitations in the *in vitro* cultivation of *Cryptosporidium* spp. current methods are useful for assessing potential drug therapies, gene expression and a variety of biologic characteristic of this parasite and culturing the parasite in stem cells from human placenta or

other sources may open a gait for more researches on the parasite, and because the parasite has the ability to transmit from pregnant immnosupressed mice to their fetus [9], and this finding could have serious transmission implications in relation to pregnant human AIDS patients and other vertebrate hosts of *Cryptosporidium*, the present study aimed to culture the parasite in stem cells from human placenta and mice bone marrow.

### Materials and methods

*Cryptosporidium* oocysts was obtained from children who were severely infected with the parasite fig.(1) ,the samples were diagnosed by modified ziehl-nelson methods [10] ,and the oocysts were isolated, purified by sucrose flotation method and stored in K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> according to Casemore method [11].

Placental stem cells isolation.

Human placenta with umbilical cord (fig2) were obtained after normal or cesarean delivery from healthy mothers (37-40 weeks gestation) and put in sterile saline 4C<sup>0</sup> in container and immediately transferred from hospital to the laboratory within (27-30 min).

The placental membranes (amnion, chorion) was mechanically peeled off of the cotyledon a small pieces of about 5cm<sup>2</sup> of each membrane and umbilical cord was cut, the parts was washed several times with saline to remove blood, after cleaning the parts was farther cut in to 1-1.5cm size by sharp scalpel size 11 and incubated at 37C<sup>0</sup> for 30-45min. with 0.05% trypsin containing 0.53mM EDTA4Na, the cells from the first 10 minutes of digestion were discarded to exclude debris ,incubation was continued in the same solution for 60 min., after incubation was completed the tissue was crushed with forceps to release individual cells. The large pieces of tissue were removed by using double layer gauze. The cells were sediment by low speed centrifuged (250rpm for 5 min), washed twice with saline and distilled water, viability of cells was determined by applying trypan blue suspension (0.4%), cells were resuspended in

fresh medium (RPM 1640) counted with a neubar slide chamber for culturing [12].

Bone marrow stem cells isolation.

The Bone marrow stem cells was obtained using Martinez method with some modifications. Balb/c mice of 8-10 week (20-25gm) was killed with ether, the abdomen was opened, the femur bone was cleaned very well from the muscles, then immersed in Hank solution in glass Petri dishes and cut horizontally in two parts, the internal side of the two parts was scraped in Hank solution the solution was filtered through double gauze layer into centrifuge tube and centrifuged for 5min. at 2500rpm, washed twice with D.W., cell number and viability were counted, the sediment was suspended in (RPM 1640) for culturing [13].

Macrophage cells isolation.

For control and comparison mice macrophage cells were used as follows: mice age 10weeks (23-25g weight) were injected intraperitoneally with 1-1.5ml cold sucrose 3%, three days before the collection of cells in Hanks solution. Animals were killed with ether, and their peritoneal cavities opened and washed three times with 5ml of Hanks solution. The cells were concentrated by centrifugation at 2500rpm for 5min the cells were washed two times in D.W to remove the RBC. Cells number and viability were counted and they were suspended in (RPM 1640) for culturing [7].

Parasite preparation for culturing.

Stored oocysts in  $K_2Cr_2O_7$  was washed several times with PBS (PH 7.2) until the  $K_2Cr_2O_7$  was completely removed the oocysts was then incubated with 10mMHCL for 10min. at  $37C^0$  then with 0.5% trypsin and 1.5% sodium taurocholate in PBS (PH 7.2) at  $37C^0$  for 45-60min. for excystation which was 97%. The excysted sporozoite fig(3) was counted by neubar chamber and resuspended in RPM media containing 10% calf serum for culturing [14].

Culturing of *Cryptosporidium*.

The harvested stem cells and the macrophages was inoculated in (PRM 1640) media supplemented with 25mM Hepes, 0.03mg/ml L-Glutamine, 0.2mg/ml

sodium bicarbonate, 0.88mg/ml ascorbic acid, inactivated fetal calf serum 10%, penicillin (5000 Iu/ml), streptomycin (5mg/ml), and amphotericin B (50 $\mu$ g/ml), in a 96 well microtiter plate chambers at  $37C^0$  under  $CO_2$  and humidity in candle jars the cells were left for 12hrs. in incubator to allow the adhesion of the cells. Infection was then induced with the sporozoites (except in control wells) at a parasite: cell ratio of 1:1. After 6hrs. the medium was replaced to remove the an adherent parasites outside cells and the incubation continued at  $37C^0$  in  $CO_2$  atmosphere. At intervals of each 2-4 hrs. cells were removed physically from the microtiter wells by rubber spatula on to clean slide, fixed in methanol and stained with giemsa for observation of *Cryptosporidium* stages by light microscope, hundred cell were examined and the percentages of infected cells were calculated at the fourth day of incubation. The rates of three successive reading were done for all the treated wells [11, 7]. The media was maintained for four days and it was replaced by fresh media at the second day of incubation to remove cell debris, the oocysts produced was isolated purified and stored. The infectivity of oocysts produced in cultures of different cells was examined by orally administering them to mice, the mice feces were examined daily for recovery of oocysts by (M.Z.N.) method, after detection of the oocysts in the feces, the mice were killed by ether and parts of the small intestine (ileum, duodenum) was processed for pathological sections[15].

### Results

The stem cells from placental chorion, amnion and umbilical cord and bone marrow stem cells when infection was induced in them by excysted sporozoits fig.(3) in the culturing media, the results showed that the parasite have the ability to attach fig.(4) grow and develop in all cells type used for culturing. fig.(5) shows the placental infected stem cells after different times from culturing, fig.(6) shows an infected control placental stem cells, fig.(7) shows the infected bone marrow stem cells.

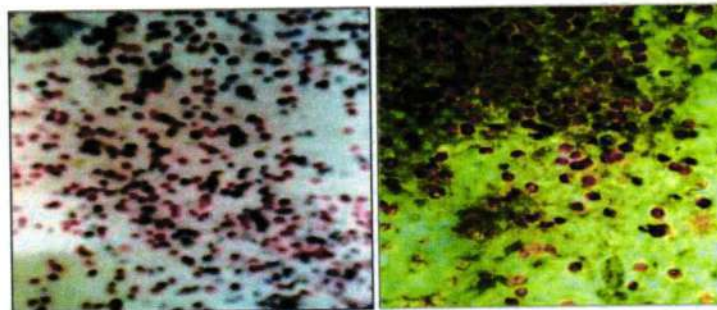


Fig.1 *Cryptosporidium* oocysts from human isolates. 1000x



Fig.2 Human placenta with its Membranes (um=umbilical cord, am=amnion, ch=chorion)

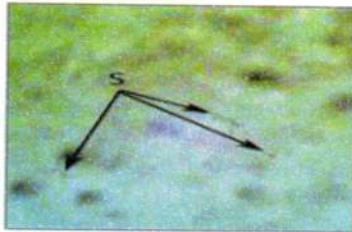


Fig.3 *Cryptosporidium* excysted sporozoites

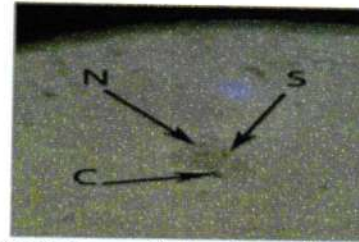


Fig.4 Attached sporozoite to a stem cell S=sporozoite, N=nucleus, C=cell. 1000x

Both sexual and asexual reproductions was occurred in cultured stem cells and the produced scarce oocysts were seen free within the culture media fig.(5) about (48-72hr.) post infection. Macrophages from mouse peritoneal cavity which had been previously proved for parasite growing, was used for culturing too in which the parasite was grow and developed successfully, fig.(8) shows the infected cells, the different stages of the parasite in the infected cells was not clear.

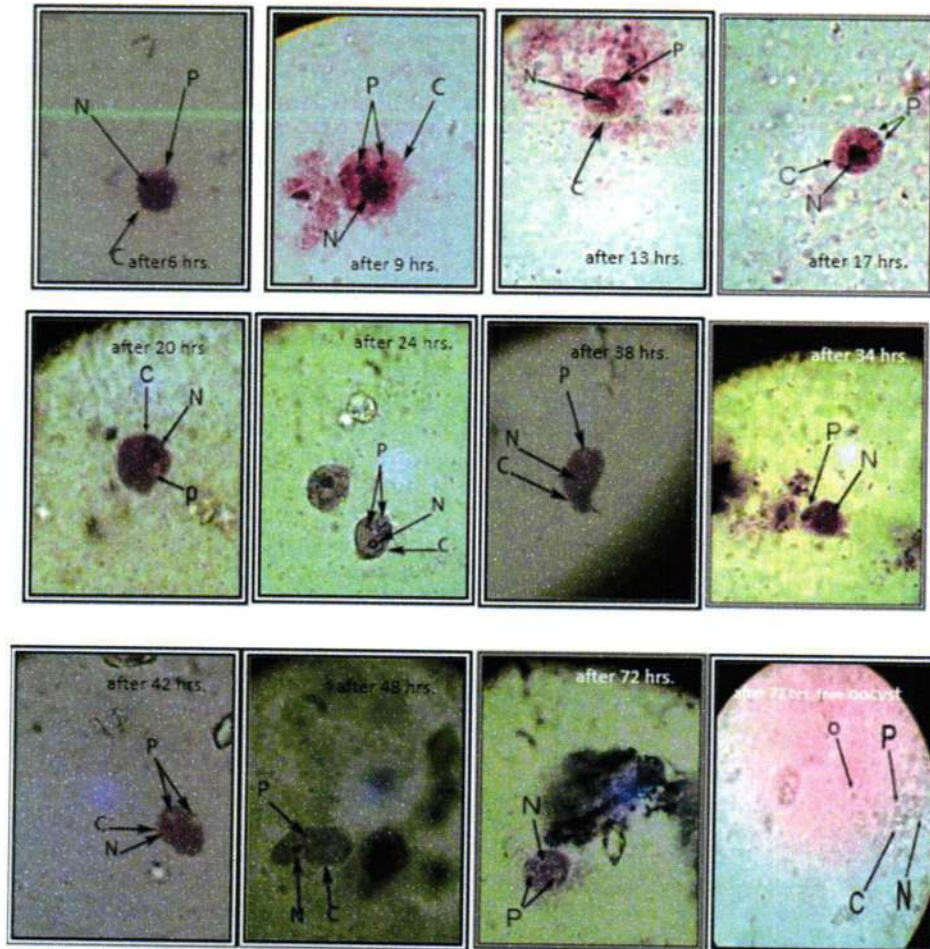


Fig.5 Infected placental chorion stem cells after different times from culturing: P=parasite, N= nucleus, C= cell, O= oocyst. 1000x

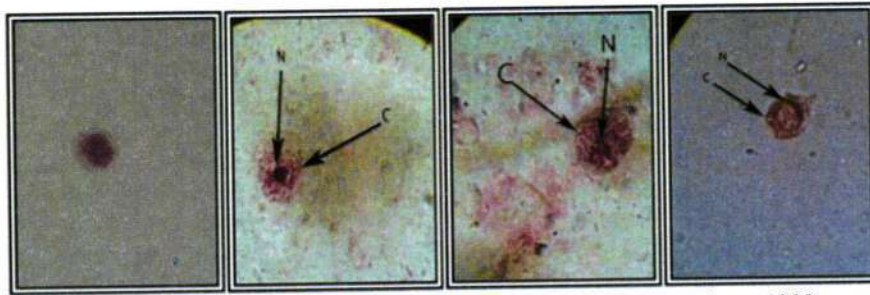


Fig.6 Placental an infected chorion stem cells: C=cell,N=nucleus, 1000x

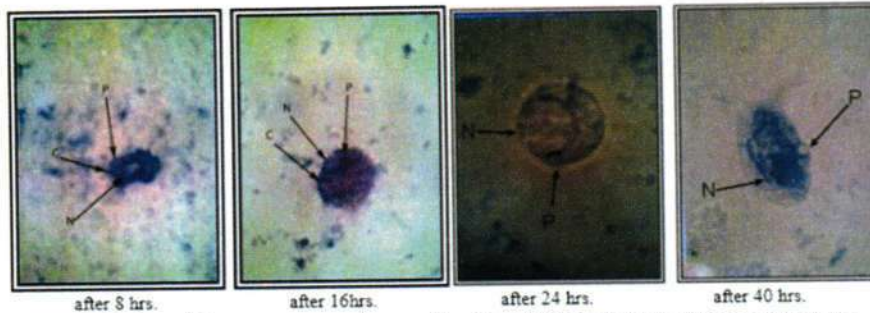


Fig.7 Infected bone marrow stem cells after different times from culturing:  
C =cell, N=nucleus, P=parasite. 1000x.

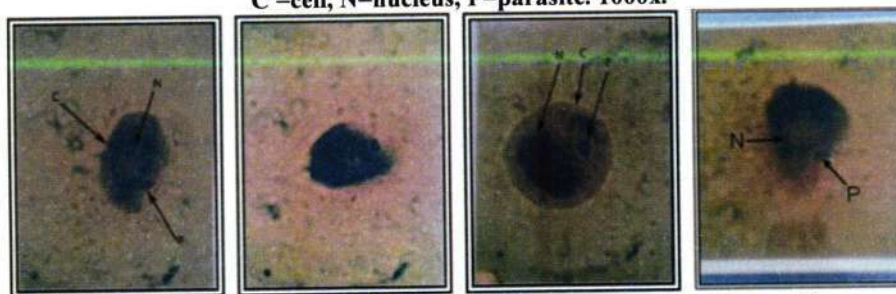


Fig.8 Mice macrophages infected cells: C= cell,N=nucleus,P=parasite.

Table 1 shows the infected cells rate of all cell types used for culturing with rates of (chorion 22%, amnion 20%, macrophage 24%) which were not significantly differ one from another but they were significantly higher than the other two cells types (umbilical cord 16%, bone marrow 10%).

Table 1: Rate of infected cells in different cell types used for culturing.

placental stem cells:	No. infected cells	Percentage
chorion amnion	22	22%
umbilical cord	16	16%
bone marrow stem cells	10	10%
macrophages	24	24%

The oocysts which was isolated from the cultures when administered to the laboratory mice they resulted in causing the infection and producing of oocysts in mice feces in the third to fourth day post infection. The parasite stages was seen in the brush border of the intestine and free oocyst in the intestine canal fig. 9.

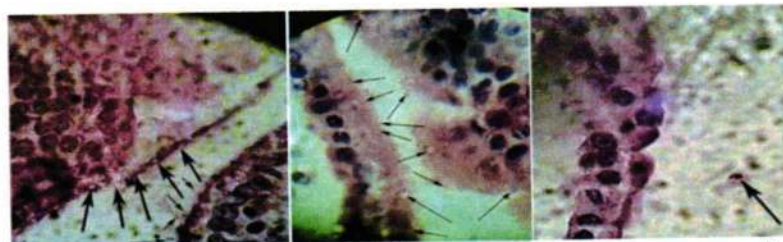


Fig.9 Infected intestine sections: parasite stages in brush border area, arrows ahead.1000x.

## Discussion

*Cryptosporidium* was cultured successfully for the first time in human placental stem cells type (chorion, amnion, umbilical cord) and mice bone marrow stem cells, both sexual and asexual reproductions was occurred in cultured stem cells and the produced oocysts were seen free within the culture media, this somehow agree with observation from other studies where they culture the parasite in wide range of cells from human and different animal cells but not in stem cells, Woodmanse and Pohlenz, (1983) [16] cultured the parasite in human rectal tumor, Current and Long, (1982) [4] cultured it in (CAM) of chicken embryo's, Current and Haynes, (1984) [17] in (HFL) cells, Arrowood, (2002) [6] in (CaCo-2) and (PRH) cells, Svezhova, *et al.*, (2001) [7] in mouse peritoneal macrophages. An explanation of this is that the parasite is very resistant that permits it to multiply and develop in different cell types, it even resist the lysosomal digestion by macrophages, or the parasite have the ability to modulate their surface antigens to the different receptors found on cells, or the sporozoite itself have a very large numbers of antigens that allow it to adhere to different cell protein receptors and establish its life cycle.

Our result for recording the parasite growth in placenta stem cells may confirm Kanyari, *et al.*, [9] results who indicate the fetus infection of immunosuppressed pregnant mice, but they were not sure about the exact route of fetal infection. Low rate of infected cells was detected in all cells types with rate of 22, 20, 24 % for each of chorion and amnion stem cells, macrophages respectively and rate of 16, 10% for umbilical cord and bone marrow respectively, this low rate of infected cells will agree with [18] who recorded rate of 20-25 in HCT8 cells but not with Upton, *et al.*, (1995) [19] who showed infection rate of 21-93 %. This differences is may be because of the different cells types used in each culture, each cell with their own specific characters,

## References

- 1- Visvesvara, Govindas. and Garcia, Lynne S. (2002). Culture of protozoan parasites. Clin. Microbial. Rev. 15(3): 327-328.
- 2- Clark, Graham C. and Diamond, Louis S. (2002). Methods for cultivation of Luminal parasitic protists of clinical Importance. Clin. Microbial. Rev. 15(3): 329-341.
- 3- Woodmansee, D. B. and Pohlenz, J. F. L. (1983). Development of *Cryptosporidium sp.* in a human rectal tumor cell line. J. Infect. Dis. 306-319.
- 4- Current, W. L. and Long, P. L. (1982). Development of human and calf *Cryptosporidium* in chicken embryos. J. Infect. Dis. 148: 1108-1113.
- 5- Lumb, J.; Smith, K.; O' Donoghue, P.J. and Lanser, J.A. (1988). Ultrastructure of the attachment of *Cryptosporidium* sporozoites to tissue culture cells. Parasitol. Res. 74: 531-536.
- 6- Arrowood, Michael J. (2002). *In vitro* cultivation of *Cryptosporidium* species. Clin. Microbial. Rev. 15(3): 390-400.
- 7- Svezhova, NV; Kirpichnikova, KM. and Gamalei, IA. (2001). *In vitro* interaction between persisting oocysts of *Cryptosporidium parvum* and murine resident peritoneal Macrophages. I. Effect of parasite on macrophage capability for oxidative burst. Institute. Cytolo. RAS. St. Peters. burg. 43(8): 822-7.
- 8- Hijjaw, NS.; Neloni, B.P.; Morgan, U.M. and Thompson, R.C.A. (2001). Complete development and long-term Maintenance of *Cryptosporidium parvum* human and cattle genotypes in cell culture. Inter. J. Parasitol. 31(10): 1048-1055.
- 9- Kanyari, P.W.N.; Oyejide, A.O.; Alak, J. I.B.; Anderson, D.L.; Wilson, S.T.; and Srivastava, K. (2002). *Cryptosporidium parvum* experimental

the different techniques used for culturing, different supplementary components for each culture.

The low rate of infection in this study may be due to the techniques used for culturing like using of Candle jar instead of CO<sub>2</sub> incubator, the rate of the parasite to cells used in culture (1:1) may had some effect too and most likely increasing the rate to (2:1) parasite: cell may increase the infection rate depending on the common observation that not all sporozoites will attach and invade host cells (some attach and detach without invading) [6], in addition to the differences between the cells it selves and not using supplementary components like galactose, maltose, insulin which has been reported to have effect in enhancing the parasite invasion [19]. The high rate of infection in chorion and amnion stem cells comparing with low rate in umbilical cord and bone marrow stem cells may be due to the differences between the stem cells type they contain ,the chorion and amnion stem cells are contain large number of multipotent stem cells while umbilical cord and bone marrow stem cells contain large number of hematopoietic stem cells [20].

Isolated oocysts from cultures was infective to laboratory mice, this finding was similar to Current and Long [4] when their culture produced oocysts that cause heavy infection in suckling mice. The intestine section of infected mice shows the same histological changes observed by other researches [21,22] which include, crypt hyperplasia, villus atrophy, sub mucosal inflammation, villi architecture distortion. Associated with the disruption of enterocyte (intestinal epithelial cells) function is a blunting of the villi and crypt cell hyperplasia.

We concluded that the stem cells from human placenta is available and good source for *Cryptosporidium* culturing and because its a reliable and available source of a very huge numbers of cells, it should be used for culturing other parasites specially that which have no culture media and this, may open a gate for more therapeutic researches on *Cryptosporidium* and other parasites.

- transplacental transmission in murine hosts. Israel. J. Vet. Med. 57(2):
- 10- Henriksen S.A. and Pohlenz J.F.L. (1981). Staining of *Cryptosporidium* by a Modified Ziehl-Nelson technique. Acta. Vet. Scand. 22: 594-96.
- 11- Casemore, D.P. (1989). Human cryptosporidiosis. In Recent advance in infection (ed. D.S. Reeves and Geddes, A. M) living stone Churchill Edinburgh. U.K. 209-236.
- 12- Miki, Toshio; Lehmann, Thomas; Cai, Hongbo; and othres. 2004. Stem cell characteristics of Amniotic epithelial cells. Stem cells 23(10): 1549-1559.
- 13- Martinez-M.; Jose A.; Minguet, Susana; Gonzalo, Pilar. And othres.(2001). Long-lived polyclonal-B-cell lines derived from mid gestation mouse embryo lymphohematopoietic progenitors reconstitute adult immunodeficient mice. Immuno Biolo. 98(6): 1862-1871.
- 14- Snelling, William J.; Lin, Qishan; Moore, John E.; Millar, Cherie B. and others.(2007). Proteomics analysis and protein expression during sporozoite excystation of *Cryptosporidium parvum* (*Coccidia, Apicomplexa*). M&C. P.6:346-355.
- 15- Ogata, Sho; Suganuma, Toshiyuki; Okada, Chizuko and others. (2009). A case of sporadic intestinal cryptosporidiosis diagnosed by endoscopic biopsy. Okayama univ.med.scho.63(5):287-291.
- 16- Woodmansee, D.B. and Pohlenz, J.F.L. (1983). Development of *Cryptosporidium sp.* in a human rectal tumor cell line. J. Infect. Dis. 306-319.
- 17- Current, W.L. and Haynes, T.B. (1984). Complete development of *Cryptosporidium* in cell culture. Science, 224:603-605.
- 18- Cordon, Gperez; Marin C.; Romero D.; Rosales C.; Sanchez M. and Rosales, MJ. (2007). More productive *invitro* culture of *Cryptosporidium parvum* for better study of the intra-and extracellular phases. Memorias do instit. Oswaldo Cruz 102(5): 567-571.
- 19- Upton, steven; Tilley, Michael and Brillhart, Dianne B. (1995). Effects of select Medium supplements on *invitro* development of *Cryptosporidium parvum* in HCT-8 cells. J. Clin. Microbio: 33(2): 371-375.
- 20- <http://www.answers.com/topic/placenta.6/12/2008>.
- 21- Certed, Gabriela; Ngouanesavauh, Tramy; Guyot, Karine; Gantois, Nausica. and others. (2007). *Cryptosporidium parvum*, a potential cause of colic adeno carcinoma. Infec. Age. and Can. 21.
- 22- Theodos, Cynthia M.; Griffiths, Jeffrey K; D'onfro, Jennifer. And othres. (1998). efficacy of Nitazoxanide against *C. parvum* in cell culture and in Animal Models. Ameri. Soc. Microbial. 42(8): 1959-1965.

## مسار خلوي جديد لزراعة طفيلي البويضات الخبيثة في الزجاج

هيرو محمد عبيد<sup>1</sup> , توفيق ابراهيم الالوسي<sup>2</sup> , عبدالله حسين الجبوري<sup>3</sup>

<sup>1</sup> قسم تقنية التحليلات المرضية ، الكلية التقنية - كركوك ، هيئة التعليم التقني ، كركوك ، العراق

<sup>2</sup> قسم الاحياء المجهرية ، كلية الطب البيطري ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

<sup>3</sup> قسم علم الحياة ، كلية التربية ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### الملخص

صممت هذه الدراسة لمعرفة قدرة طفيلي البويضات الخبيثة للنمو و التطور في الخلايا الجذعية لمشيمة الانسان، لما له اهمية لامكانية الانتقال الفعلي في النساء الحوامل و بقية الفتيات الاخرى و خاصة ذوي المناعة الضعيفة.

طفيلي البويضات الخبيثة تم زراعته بنجاح في الخلايا الجذعية لمشيمة الانسان (الكوريون، الامنيون، الحبل السري)، و في خلايا نخاع عظم الفأر و بنسب 10،16،20،22% لكل نوع من الخلايا على التوالي ، مقارنة بنسبة 24% لخلايا السيطرة المأخوذة من البلاعم الكبيرة للغشاء البريتوني للفأر. حدث التكاثر الجنسي واللاجنسي للطفيلي في الاوساط الزرعية الخلوية و تم مشاهدة الاكياس البيضية بشكل حر في الاوساط الزرعية . هذه النتيجة تمثل المرة الاولى لتسجيل نمو وتطور الطفيلي في الخلايا الجذعية لمشيمة الانسان وهذا من الممكن ان يمهد الطريق لزراعة الطفيليات الاخرى الداخلة خلوية ويكون مصدرا غزيرا ومتوقفا للخلايا غير المتمايزة للاغراض البحثية الاخرى.

**الكلمات المفتاحية:** الزراعة الخلوية، مشيمة الانسان، البويضات الخبيثة .

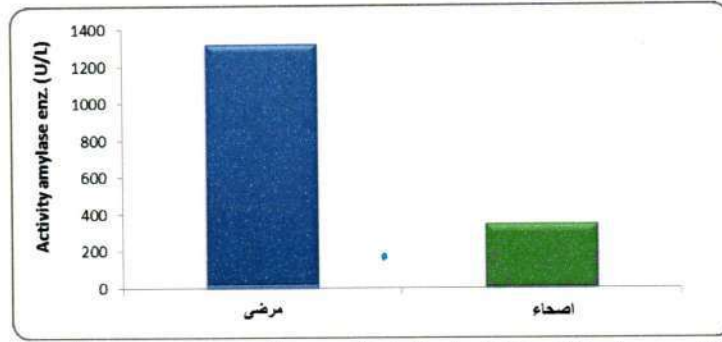
## Determination of Amylase Enzyme in Saliva Urine and Serum Samples Of Helathy & Patients of Nephritis By Colormatric (Kit) & Ascandinviom Methods (Acomparative Study)

Asma'a H. Shakir

*Department of Chemistry , College of Education for Women , Tikrit University , Tikrit , Iraq*

### Abstract

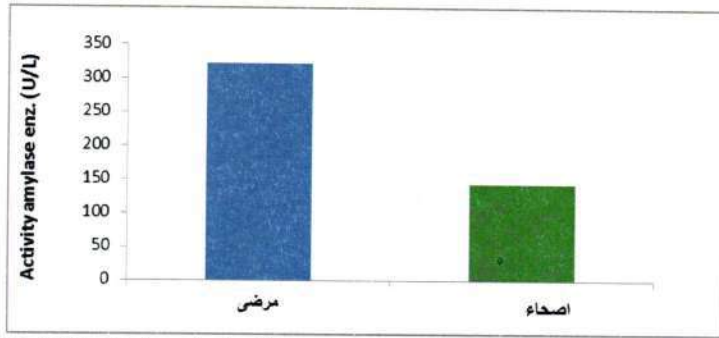
This study was conducted to determine the relationship between infection and total levels of amylase enzyme in the saliva, Serum and Urine Samples, the study included us renal the color emetric method (Kit) on (30) of salivary Serum and, Urine Samples, also on 35 samples for each of the saliva, Serum and Urine Samples By Using Scandinavian method for Ages ranging (23 -75). years of both sexes, the samples were collected from 1.2.2014 until 01.04.2014 the results of the study, showed a highly significant increase in amylase enzyme activity in the saliva blood and urine samples of patients with nephritis using the color emetric method ( $314.16 \pm 24$ ), ( $18.848 \pm 19$ ), ( $19.2 \pm 27$ ) respectively compared with the control group, the enzyme activity in control group were in the saliva and Serum and respectively: ( $162.77 \pm 15$ ), ( $1.77 \pm 10$ ), ( $3.546 \pm 20$ ). High Valued in the activity of the enzyme in the saliva, Serum and Urine patients with nephritis using Scandinavian method respectively: ( $322.66 \pm 16$ ), ( $118.84 \pm 15$ ), ( $910.69 \pm 57$ ) compared with the control group (saliva serum and urine) ( $243.08 \pm 16$ ), ( $102.4 \pm 58$ ), ( $349.59 \pm 18$ ) respectively.



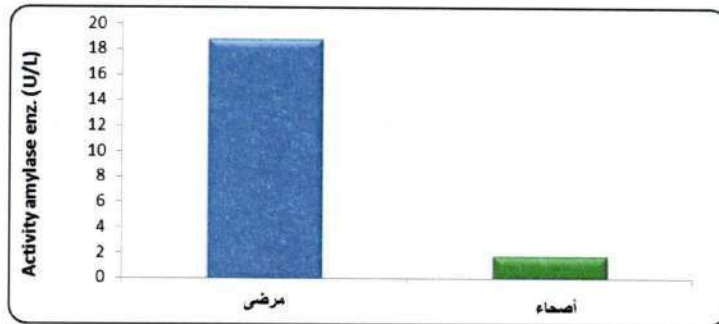
الشكل (6) يبين مستوى الأنزيم الاميليز في الإدرار المرضى والأصحاء باستخدام الطريقة الاسكندنافية

#### المصادر

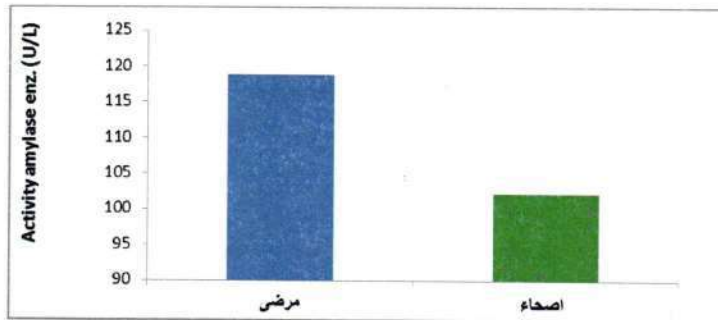
1. Robert Hill and Joseph Needham, The Chemistry of Life: Eight Lectures on the History of Biochemistry (London, England: Cambridge University Press, 1970), page 17; (2) Richard B. Silverman, The Organic Chemistry of Enzyme-catalyzed Reactions, 2nd ed. (London, England: Academic Press, 2002), page 1; (3) Jochanan Stenesh, Biochemistry, vol. 2 (New York, New York: Plenum, 1998), page 83; (4) Robert A. Meyers, ed., Molecular Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference (New York, New York: Wiley-VCH, 1995), page 296.
2. Ramasubbu, N.; Paloth, V.; Luo, Y.; Brayer, G. D.; Levine, M. J. (1996). "Structure of Human Salivary  $\alpha$ -Amylase at 1.6 Å Resolution: Implications for its Role in the Oral Cavity". Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography 52 (3): 435–446..
3. "Effects of pH (Introduction to Enzymes)". worthington-biochem.com. Retrieved 17 May 2015.
4. Rejzek, M.; Stevenson, C. E.; Southard, A. M.; Stanley, D.; Denyer, K.; Smith, A. M.; Naldrett, M. J.; Lawson, D. M.; Field, R. A. (2011). "Chemical genetics and cereal starch metabolism: Structural basis of the non-covalent and covalent inhibition of barley  $\beta$ -amylase". Molecular BioSystems 7 (3): 718–730.
5. "Amylase, Alpha", I.U.B.: 3.2.1.11,4- $\alpha$ -D-Glucan glucohydrolase.
6. "Chew It Up, Spit It Out, Then Brew. Cheers!". New York Times. Retrieved 27 March 2013.
7. البداروي، السيد البداروي يوسف "الكيمياء الحيوية" الطبعة الثانية دار الميسرة للنشر والتوزيع والطباعة. الاردن 2011ص 127.
8. Bhutta HI and Rahman MA. Serum Amylase Activity in Liver Disease CLINICAL CHEMISTRY, Vol. 17, No. 12, 1971 1147
9. "First Biomarker for Human Sleepiness Identified", Record of Washington University in St. Louis, January 25, 2007
10. Udani J, Hardy M, Madsen DC (March 2004). "Blocking carbohydrate absorption and weight loss: a clinical trial using Phase 2 brand proprietary fractionated white bean extract" (PDF). Altern Med Rev 9 (1): 63–9. PMID 15005645.
11. Mapp CE (May 2001). "Agents, old and new, causing occupational asthma". Occup Environ Med 58 (5): 354–60, 290.
12. Vuorisalo, Timo; Arjamaa, Olli (March–April 2010). "Gene-Culture Coevolution and Human Diet". American Scientist 98 (2): 140.
13. Perry, GH; Dominy, NJ; Claw, KG; Lee, AS; Fiegler, H; Redon, R; Werner, J; Villanea, FA; Mountain, JL; Misra, R; Carter, NP; Lee, C; Stone, AC (October 2007). "Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation." Nature Genetics 39 (10): 1256–60.
14. Cotran, RS S.; Kumar, Vinay; Fausto, Nelson; Robbins, Stanley L.; Abbas, Abul K. (2005). Robbins and Cotran pathologic basis of disease. St. Louis, MO: Elsevier Saunders. ISBN 0-7216-0187-1.
15. Keto Acids – Advances in Research and Application 2013 Edition p.220e
16. Colledge, Nicki R.; Walker, Brian R.; Ralston, Stuart H., eds. (2010). Davidson's principles and practice of medicine. illust. Robert Britton (21st ed.). Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier. ISBN 978-0-7020-3084-0.
17. The Nephrotic Syndrome Stephan R. Orth, M.D., and Eberhard Ritz, M.D. N Engl J Med 1998; 338: 1202-1211 April 23, 1998 DOI: 10.1056/NEJM 199804233381707
18. Kumar, Vinay, ed. (2007). Robbins basic pathology (8th ed.). Philadelphia: Saunders/Elsevier. ISBN 978-1-4160-2973-1.
19. COUSER, W (1 May 1999). "Glomerulonephritis". The Lancet 353 (9163): 1509–1515.
20. السعداوي، عيس "الكيمياء حيوية عملي". الطبعة الأولى. عمان دار الميسرة للنشر والتوزيع. 2009. ص 108-221
21. بقاء حازم إسماعيل (دراسة مستوى انزيم الاميليز ومعدل تصفية الاميليز الى الكرياتين في مرضى السكري غير المعتمدين على الانسولين). مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة، 2008، ص 3



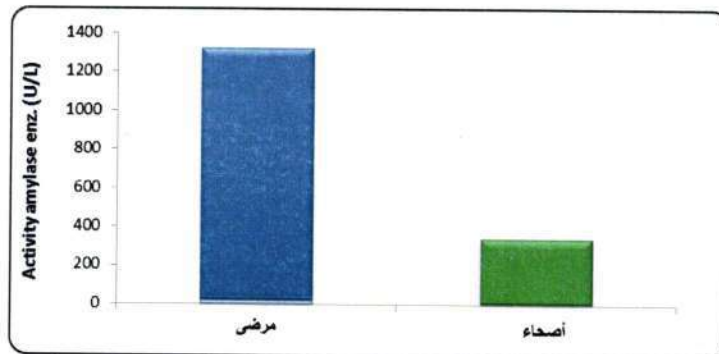
الشكل (2) يبين مستوى الأنزيم الاميليز في اللعاب المرضى والأصحاء باستخدام الطريقة الأسكندنافية



الشكل (3) يبين مستوى الأنزيم الاميليز في مصل دم المرضى والأصحاء باستخدام الطريق اللونية



الشكل (4) يبين مستوى الأنزيم الاميليز في مصل دم المرضى والأصحاء باستخدام الطريقة الاسكندنافية



الشكل (5) يبين مستوى الأنزيم الأميليز في الإدرار المرضى والأصحاء باستخدام الطريقة اللونية

جدول (2) تقدير فعالية الانزيم اميليز

المحلول	النموذج Test(t)	الكفى Control(c)	المحلول الخالي Blank(B)
1-المادة الأساس/الداري	1ml	1ml	_____
2-ماء مقطر	-	-	1ml
3- تحضن الانابيبي لمدة ثلاث دقائق بدرجة حرارة c 37			
4-العيينة	0.1ml	-	-
5-نمزج جيد وحضن عند c 37 لمدة 15 دقيقة ثم نرفع من الحمام ونبرد ونظف			
6- اليود	0.4ml	0.4ml	0.4ml
7- نمزج جيداً ثم نظف			
8- ماء مقطر	8.5ml	8.5ml	8.5ml

بعد مزج الانابيبي يقرأ اللون عند 660 نانوميتر بجهاز المطياف الضوئي

### الحسابات: Calculations

تم حساب نشاط إنزيم ألفا أميليز اعتماداً على القانون التالي:

$$\text{Activity of Enzyme Amylase} = \frac{C-T}{C} \times 800$$

### 1.3 النتائج والمناقشة Results and Discussion

بينت الجداول (3، 4، 5) النتائج ارتفاعاً في فعالية أنزيم الاميليز في اللعاب والمصل والادرار في المرضى المصابين بالتهاب الكلية مقارنة بالأصحاء في كلا طريقتي القياس ويعزى هذا الارتفاع الى زيادة ارتشاح الاميليز من الكلية حيث يمر بسهولة خلال الكبيبات الكلوية لانه يمتاز بصغر جزيئاته، وهذا يتطابق مع الارتفاع في مستوى الانزيم في لبعض الدراسات الخاصة بداء السكري من النوع الثاني (الغير معتمد على الانسولين) الذي يعزى هذا الارتفاع الى تسرب الانزيم من قناة البنكرياس الى الدم بدلا من صبه في اثني عشري<sup>(21)</sup>. كما يمكن الاعتماد على الطريقتين لانهما حساستين وسهله الاستخدام حيث تعد الطريقة الاسكندنافية طريقة حساسة جدا ويمكن استخدامها لعينات عديدة وغير مكلفه،اضافة الى انه يمكن التحكم بالخواص التي لها تأثير مباشر خفض وزيادة فعالية الانزيم منها المادة الاساس التي لها تأثير على المراكز النشطة Active sites التي ترتبط بها مادة التفاعل Substrate ونتيجة لهذا يحدث الارتباط ، كذلك المواد

الاخري التي لها تأثير مباشر على زيادة سرعة التفاعل وزيادة الفعالية النوعية للانزيم ونشاطه وادخال المنشطات والمثبطات والدراسة بشكل اوسع اضافة الى ان الطريقة يمكنها ان تتحسس لعينات المختلفة من سوائل الجسم كمصل الدم والادرار واللعاب .

الجدول (3) القيم الاحصائية لمستوى الانزيم الاميليز في اللعاب

Method	Control Average ±S.D	Patient Average ±S.D
Colorimetric	162.77±15	314.16±24
Scandinavian	243.08±16	322.66±16

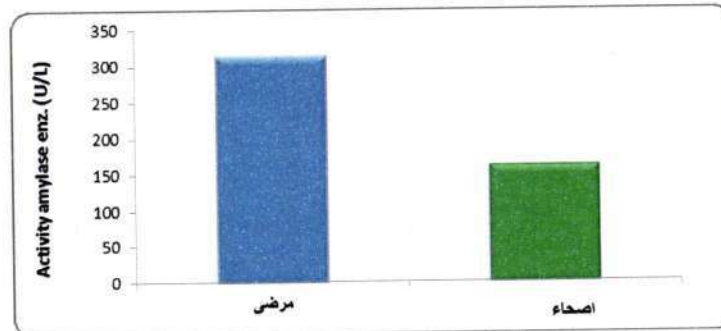
الجدول (4) القيم الاحصائية لمستوى الانزيم الاميليز في مصل الدم

Method	Control Average ±S.D	Patient Average ±S.D
Colorimetric	1.77±10	18.848±19
Scandinavian	102.4±58	118.84±15

الجدول (5) القيم الاحصائية لمستوى الانزيم الاميليز في الادرار

Method	Control Average ±S.D	Patient Average ±S.D
Colorimetric	3.546±20	19.2±27
Scandinavian	349.59±18	910.69±57

وهذا الارتفاع موضح في الشكل أدناه :



الشكل (1) يبين مستوى الأنزيم الاميليز في اللعاب المرضى والأصحاء باستخدام الطريقة اللونية

جدول (1) طريقة العمل المحاليل المستخدمة

	Blank	Sample	
Reagent	1000	1000	μL
Distilled Water	25	—	μL
Sample	—	25	μL

تمزج هذه المحاليل جيداً ويتم احتضان العينة لمدة دقيقة في درجة الحرارة 37°C وقيست الامتصاصية الأولية في الدقيقة الأولى وبعد 3 دقائق قيست الامتصاصية الثانية عند الطول الموجي (405 nm)

#### الحسابات: Calculations

Saliva : Alpha Amylase (U/L) =  $\Delta E / \text{min} \times 3060$

Serum : Alpha Amylase (U/L) =  $\Delta E / \text{min} \times 765$

Urine : Alpha Amylase (U/L) =  $\Delta E / \text{min} \times 765$

تقدير فعالية إنزيم أميليز باستخدام الطريقة الاسكندنافية

تم الاعتماد على الطريقة اللونية في تقدير نشاط إنزيم أميليز حيث يتم تقدير كمية أنشأ التي يهضمها الأنزيم تحت ظروف محددة من الحرارة و الوقت والحجم باستخدام اليود ككاشف (20) وفق الخطوات التالية:

#### طريقة العمل Method

تحضير المحاليل حسب الخطوات الآتية:

##### 1- محلول النشا الأساس

أذيب (6.65) غرام من فوسفات الصوديوم ثنائية الهيدروجين الجافة و 4.3 غرام من حامض البنزويك في 250 مللي لتر من الماء ونسخن للغليان.

مزج 0.2 غرام من النشا القابل للذوبان مع 5-10 مليلتر من الماء المقطر البارد في كأس زجاجي لتكوين عجينة متجانسة ثم نضيف العجينة إلى الخليط المغلي السابق مع غسل بقايا العجينة بالكأس بكميات إضافية من الماء البارد ونستمر بالغليان لمدة دقيقة واحدة ثم يترك ليبرد إلى درجة حرارة الغرفة ومن ثم يخفف إلى حجم 500 مليلتر بالماء المقطر و يحفظ المحلول بدرجة 4م. ويلاحظ ضرورة تحضير هذا المحلول طازجاً على فترات شهرياً.

##### 2- محلول اليود المخزون (0.1N)

أذيب 13.05 غرام من اليود النقي المتسامي في محلول محضر بذوبان 24 غرام من يوديد البوتاسيوم في حوالي 100 مللي لتر من الماء المقطر و اكمل إلى لتر واحد.

##### 3- محلول اليود المتداول (0.01N)

أذيب 50 غرام من فلوريد البوتاسيوم في قليل من الماء وأضيف 100 مللي لتر من محلول اليود المخزون و أكمل الحجم إلى لتر بالماء المقطر، ومن ثم حفظ في زجاجة بنية عند 4م ، تم الاعتماد على الخطوات التالية لتقدير فعالية الإنزيم وفق الجدول (2):

#### المواد وطرائق العمل

##### جمع عينات الدراسة Samples Collection

1- مجموعة المرضى Patients Group

تم الحصول على (155) عينة من الدم والادرار واللغاب اشخاص مصابين بالتهاب الكلي والذين تتراوح اعمارهم ما بين (35-75) سنة من كلا الجنسين حيث شخّصت الحالات المرضية من قبل الاطباء المختصين .

2 مجموعة السيطرة Control Group

تم الحصول على (40) عينة من المصل الدم والادرار واللغاب والذين تتراوح اعمارهم ما بين (23-75) سنة من كلا الجنسين لأشخاص اصحاء لا تظهر عليهم اياً من اعراض الاصابة بالمرض.

##### الأجهزة المستخدمة Instrumentations

استخدام في هذا البحث كلا من جهاز مطياف الضوئي نوع

Shimadzu Shimadzu ياباني المنشأ، وميزان حساس نوع Sartorius

الماني المنشأ، وحمام مائي نوع Gemmyco الماني المنشأ أيضاً ،

وجهاز الطرد المركزي نوع I j-6 ، وماصة مايكرونية نوع Slaned .

##### المواد المستخدمة

تم استخدام مواد كيميائية ذات نقاوة عالية من المناشئ مختلفة ومجهزة من قبل Fluka , Spectrum , Merck , B.D.H .

##### طرائق العمل Method

تقدير فعالية الإنزيم الاميليز باستخدام الطريقة اللونية

يعد تقدير إنزيم الاميليز من القياسات المهمة لتشخيص أمراض البنكرياس والغدد اللعابية والجهاز الهضمي الذي يعمل على تحلل النشا، لذا يعد تقدير إنزيم الاميليز مهم في تشخيص العديد من امراض البنكرياس والغدد النكفية، إذ تزداد مستويات الأنزيم في مصل الدم في حالات التهاب البنكرياس الحاد واضطرابات البنكرياس الأخرى. وكذلك النكاف والتهاب الغدة النكفية البكتيرية.

##### المبدأ الأساس Basic principle

تعتمد فكرة نشاط إنزيم ألفا -إميليز البشري على تحفيز عملية تحلل 2-كلورو-4-نايترو فنييل 1-كلاكتوبايرانسويول (GALG -CNP) مع بوليمر كلوكوز وبارانايترو وفنييل سكر متعدد لإنتاج سلسلة قصيرة من 2-كلورو-4-نايتروفنييل (CNP) حيث تقاس الفعالية اللونية وذلك لزيادة الامتصاصية باستخدام جهاز الطيف الضوئي spectrophotomer عند الطول الموجي nm405

##### طريقة العمل Method

استخدمت أنبويتين اختبار تضمنت (blank, Sample) حيث احتوى كل منهما على محاليل المثبتة في الجدول الآتي رقم (1):

## تقدير انزيم الاميليز في لعاب ادرار ومصل دم بعض الاصحاء والمرضى المصابين بالتهاب الكلية بالطريقتين اللونية القياسية (Kit) والاسكندنافية والمقارنة بينهما

اسماء هاشم شاكر

قسم الكيمياء ، كلية التربية للبنات ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### المخلص

اجريت هذه الدراسة لتحديد العلاقة بين الإصابة بالتهاب الكلية ومستويات الانزيم الاميليز في اللعاب ومصل الدم والادرار، حيث شملت الدراسة على استخدام الطريقة اللونية (Kit) على (30) عينة لكل من لعاب ومصل دم وادرار وكذلك على (35) عينة لكل من لعاب ودم وادرار باستخدام الطريقة الاسكندنافية باعمار تراوحت (23-75) سنة من كلا الجنسين حيث جمعت العينات من 2014/2/1 ولغاية 2014/4/1 وكانت نتائج الدراسة ، ظهور ارتفاع عالي المعنوية في معدل فعالية الانزيم الاميليز في لعاب ودم وادرار مرضى التهاب الكلية باستخدام الطريقة اللونية على التوالي: (314.16±24)، (18.848±19)، (19.2±27) مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث كان معدل الانزيم الاميليز في لعاب ومصل وادرار على التوالي: (162.77±15)، (1.77±10)، (3.546±20). وظهر ارتفاع عالي المعنوية في معدل فعالية الانزيم الاميليز في لعاب ومصل وادرار مرضى التهاب الكلية باستخدام الطريقة الاسكندنافية على التوالي: (322.66±16)، (118.84±15)، (910.69±57) مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث كان معدل الانزيم الاميليز في لعاب ومصل وادرار على التوالي: (243.08 ±16)، (102.4 ±58)، (349.59 ±18).

### المقدمة :

الاحتقاني، سرطان الجهاز الهضمي ،كسور العظام وامراض الكبد المزمنة. (9) . وله استخدامات اخرى حيث يستخدم انزيم الاميليز العصوي Bacillary amylase في مجالات التنظيف كالملابس والصحون وحل النشويات من الهمشة (10-11) ، ومن الملاحظ حديثاً ان نسخ الجينات لهذا الانزيم تكون مختلفة من حيث العدد بين البشر (12-13) .

مرض التهاب الكلى: عبارة عن التهاب يصيب إحدى أو كلا الكليتين، و الكلى هي أعضاء الجسم التي تقوم بتصفية الدم و التخلص من السوائل الزائدة و المواد الكيميائية غير المرغوب فيها(14). ان التهاب الكلية اما يكون بسبب الكبيبات او الانابيب او الخلايا المحيطة بالانابيب او بين الانابيب (15)، والذي يكون بطورين اما التهاب الكلى المزمن او التهاب الكلى الحاد والتي يحدث بسبب حالات صحية عديدة و مختلفة. قد تتطور اعراض التهاب الكلى مع تطور الحالة، و لكن على الرغم من أن التهاب الكلى يشفى و يزول تماما عند ما نسبته حوالي 60% من البالغين و ما يصل إلى 90% من الأطفال، إلا أنه يعاود الظهور بشكل متكرر عند كثير من الناس مسببا لهم الاربك و الازعاج في حياتهم. ان من اهم الجوانب السلبية بالنسبة لأولئك الأشخاص الذين تتطور حالتهم إلى حالة أكثر سوءا مع مرور الوقت، فإنهم قد يصابون بحالة متقدمة من الفشل الكلوي حتى قبل أن يشعروا بوجود حاجة للسعي للحصول على المساعدة الطبية المهنية، اما فيما يخص التهاب الكلى الحاد فهو عدوى ناتجة عن انتقال البكتيريا الى الكليتين عبر الدم او الجهاز التناسلي مما قد يسبب التهاب الكلى مؤثرا على الكبيبات الكلوية ومن اهم الاعراض المرافقة لهذه الحالة ارتفاع درجة الحرارة، الصداع الشديد مع قيء، ألم حاد في الظهر، وكذلك يصاب بالم وصعوبة في التبول واحيانا نزول الدم او زلال في البول وهذه الاعراض قد تظهر مجتمعة او متفرقة(16-19) .

يعد أنزيم الأميليز Amylase Enzyme من الأنزيمات التميؤ (Hydrolysis Enzymes) حيث يقوم بكسر الأصرة الكلوكوسيدية في المواقع ألفا (4-1) في النشا والكلايوجين ولا يستطيع هذا الأنزيم كسر الأواصر الكلوكوسيدية من نوع (6-1) الموجودة عند نقاط التقعر في تركيب الأميلوبكتين. أن درجة الحموضة المثلى لأنزيم الأميليز البشري (Optimum PH) هي (6.9-7) ضمن درجة الحرارة (37°) أو (40°) يستمر نشاط هذه الأنزيم حتى (50°م)، يوجد ثلاثة أنواع من الأميليزات وهي ألفا أميليز وبيتا أميليز وكاما أميليز، يوجد هذا الانزيم في الغدة اللعابية للإنسان والبنكرياس وكذلك بعض الثدييات(1)، البنكرياس والغدة اللعابية تجعل انزيم الاميليز يقوم بتحلل النشا الغذائي الى السكريات الثنائية والثلاثية التي يتم تحويلها من قبل انزيمات اخرى الى كلوكوز لتزويد الجسم بالطاقة (2) كما يوجد بعض النباتات وبعض انواع البكتريا تنتج انزيم الاميليز . انزيم الفا- اميليز لا يكتمل عمله بغياب الكالسيوم pH المثلى له 6.7-7.0 (3) بينما بيتا - اميليز الذي يوجد في بعض انواع البكتريا والفطريات تكون pH المثلى له بين 4-5 (4-5) اما كاما- اميليز pH المثلى له بحدود 3 (6). يعتبر هذا الانزيم ذو اهمية سريرية، إذ يعد انزيم الاميليز من الانزيمات المهمة والتي لها اهمية سريرية في تشخيص العديد من الامراض منها التهاب البنكرياس الحاد وإنسداد قنوات البنكرياس، حيث إن من اسباب التهاب البنكرياس هو تكوين الحصى في الحويصلة المرارية ، والأمراض الباطنية كأفجاء قرحة المعدة والأنتى عشر وإنسداد الأمعاء و التهاب الغشاء البريتوي البكتيري والذي يؤثر على إفراز الاميليز اللعابي مما يسبب ارتفاعا معتدلا لمستوياته(7)، إذ أثبتت الدراسات ارتفاع فعالية ألفا الاميليز في مصل الأشخاص الذين يعانون من مرض السكري المعتمد على الانسولين(8)، هناك بعض الحالات والامراض المرتبطة بانخفاض نشاط انزيم الاميليز في المصل مثل مرض الكبد وكذلك إتهاب البنكرياس المزمن ،وقشل

composition of ram and ewe lambs fed on pasture or in containment and slaughtered at similar fatness: can j. Aim. sci., 64:631.

11- الكعبي، شهاب أحمد رسن، 1987 تأثير نظام التغذية والوزن عند الذبح على النمو وصفات الذبيحة في حملان الحمداني، رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة صلاح الدين. العراق.

12- Gumprich, E.; Rolf, D.; Michael, W. and Ronald, J. S. (2005) Licorice compounds glycyrrhizin and 18βGlycyrrhetic acid, are potent modulators of bile acids-Induced cytotoxicity in rat hepatocyte. Copyright by the American society of biochemistry and molecular biology, Inc.

13- Ayida, M. S.; Forihah, H. S.; Azian, A. L. and Wan, N. W. M. (2007) Effect of glycyrrhetic acid on body weight and fat deposition in the liver and orta of ovariectomy-induced Obese Sprague dawley rats. J. Annals of Microscopy. 7:4-9.

14- Liu, K. X.; Yukio, K.; Tai, I. K.; Tomofumi, S.; Kazuhiro, I.; Akira, Y.; Takashi, I. and Yuichi, S. (2000) Hydroxypropylserine Derivatives JBP 923 and JBP 485 Exhibit the Antihepatitis Activities after Gastrointestinal absorption in Rats. J. Pharmacology and Experimental therapeutics. 294(2): 510-515.

4- Gali, ESE, Y.S. Ghanem and A.M.S. Mukhtar. 1972. A comparative study of some carcass characteristic of sudan desert sheep and goats. Anim. Prod .14:351.

5- Steel, R. G. and Torrie, J.H. 1960. principles and procedures of Statistics. Biometrics 5:99.

6- Duncan, B. D. 1955. Multiple range and multiple F-test. Biometrics, 11:1-42.

7- الجريان، لمياء جواد فارس. 1986. الوزن عند الذبح والمستوى الغذائي وعلاقتها ببعض صفات التسمين لدى الحملان العواسية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد. العراق.

8- طه، صادق علي وهادي جعفر هادي ويكداش، سليم داود وفرحان، شاكر محمد علي. 2002. إحلال نسب مختلفة من نخالة الحنطة محل الشعير في عليقة تسمين الحملان العواسي. مجلة العلوم الزراعية العراقية. المجلد 33. العدد 3.

9- Stewart, P.M., Valentino, R. Wallace, A.M., Burt, D., Shackleton, C. H. L. and Edwards, C. R. W. 1987. Mineralocorticoid activity of liquorice: 11 – beta - hydroxysteroid dehydrogenase deficiency comes of age. Lanncet. 2:821– 824.

10- Jones, S.D.M.:T.D. Burgess,k. Dupchak and E. pollock. 1984. The growth performance and carcass

## Effect of the partial replacement of licorice root powder with Barley in offal percentage of Awassi lamb

Ahmed R. Muhaimed AL-Juboori

College of Agriculture , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

Email: ahmedalaraby97@yahoo.com

### Abstract

This study was conducted at college Agriculture for \ Tikrit University on sept.11\2003–Des.11\2004. The goal of the study to investigate the effect of Licorice root powder insteal of Barley on offal percentage in Awassi lamb. The animals were distributed randomly into four groups with age of 4-4.5 month. The weight was 21-24 kg .The number of animals for four group was 5 animals. The animals were adopted for 15 days on normal feed. After 15 days, the feed was changed to homogenized diet with different percentage of licorice root powder 0, 3, 6and 9%. After 90 days the animals passed through 12 hours interval of non-feeding, animals were slaughtered. Weight of the offal external (skin, head and legs) percentage were recorded. The internal organs (liver, lungs, heart, testes, empty intestine, ruminants and spleen) weight also recorded. The percentage of internal and external organs was calculated on empty live body weight. The result of the study showed that the control group (0% control) significantly, gave higher percentage on 6% and 9% in the head and legs percentage, while it was not significant with 3% for head and legs. The skin percentage did not show difference among 0%, 3% and 9%, while 0% was significantly higher than 6%. The treatment of 3% was significantly higher than 0% and 9%, in liver percentage and not significant with 6% in liver also. A clear significance of 9% in the heart percentage on their treatment. While no significance among all treatments on spleen, testis and intestines.

**Key word:** licorice root; slaughtered offal; awassi lamb; Glycyrrhizin

2- أعضاء الجسم الداخلية

أشارت إلى أن نظام التسمين لم يؤثر معنوياً في نسب الرنتين والقصبية الهوائية ولكن هذه النتائج تخالف ما توصل إليه كل من [11;7;10] بالنسبة للطحال والخصيتين.

لم تظهر نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (3) وجود فروقاً معنوية في نسب كل من الرنتين والقصبية الهوائية والطحال والخصيتين عند ( $P \leq 0.05$ ) ونلاحظ ان هذه النتائج توافق بعض الدراسات التي

الجدول (3): المعدل العام  $\pm$  الخطأ القياسي لنسب مخلفات الذبح الداخلية.

المعاملات	عدد المشاهدات	الكبد %	الرنتين والقصبية %	القلب %	الطحال %	الخصيتين %
المعدل العام	20	0.07 $\pm$ 1.66	0.09 $\pm$ 1.39	0.02 $\pm$ 0.59	0.01 $\pm$ 0.33	0.06 $\pm$ 0.79
%0	5	0.08 $\pm$ 1.59b	0.14 $\pm$ 1.41a	0.11 $\pm$ 0.54ab	0.02 $\pm$ 0.38a	0.09 $\pm$ 0.74a
%3	5	0.011 $\pm$ 1.76a	0.03 $\pm$ 1.53a	0.03 $\pm$ 0.48ab	0.01 $\pm$ 0.34a	0.3 $\pm$ 0.72a
%6	5	0.09 $\pm$ 1.79ab	0.12 $\pm$ 1.26a	0.01 $\pm$ 0.41b	0.04 $\pm$ 0.33a	0.09 $\pm$ 0.85a
%9	5	0.06 $\pm$ 1.68b	0.20 $\pm$ 1.38a	0.03 $\pm$ 0.56a	0.01 $\pm$ 0.31a	0.11 $\pm$ 0.86a

- المخلفات محسوبة على أساس وزن الجسم الفارغ

- الحروف المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية ضمن العمود الواحد عند احتمال ( $P \leq 0.05$ )

الحيوانات المغذاة على علائق حاوية على مسحوق هذا النبات. اما نسبة القلب نلاحظ ان المعاملة الرابعة (9%) قد تفوقت معنوياً على المعاملة الثالثة (6%).

3- الجهاز الهضمي ومحتوياته :

يلاحظ من الجدول (4) انه لا توجد فروقاً معنوية في نسب المعاملات بالنسبة للكرش فارغ وكانت اقل نسبة عند حيوانات المجموعة الرابعة التي بلغت (2.98 $\pm$ 0.60 %) في حين كانت أعلى نسبة لهذه الصفة عند حيوانات المجموعة الثالثة إذ بلغت (3.32 $\pm$ 0.44 %) وكذلك الحال بالنسبة للأمعاء فارغة حيث لم نلاحظ وجود فروقاً معنوية بين المعاملات وكانت اقل نسبة عند حيوانات المجموعة الأولى حيث بلغت (3.73 $\pm$ 0.54 %) أما أعلى نسبة فكانت عند حيوانات المجموعة الرابعة والتي بلغت (4.41 $\pm$ 0.61 %).

ولكن نلاحظ ارتفاعاً معنوياً ( $P \leq 0.05$ ) في نسبة الكبد للمعاملة الثانية على المعاملة الأولى والمعاملة الرابعة ولكن المعاملتين الثانية والثالثة لم تختلف فيما بينها معنوياً وقد يعزى سبب زيادة نسبة الكبد هو ان مركبات نبات عرق السوس تمتلك تأثيراً حيويًا وفسلجياً على أجهزة الجسم كافة

تقريباً إذ أشار [12] إلى أن مستخلص نبات عرق السوس يحسن التركيب النسيجي ووظائف الكبد المختلفة، وتقليل مستوى الإنزيمات الناقلة لمجموعة الأمين في مصل الدم. كما وجد [13] أن حامض الكلايسريزيك Glycyrrhizic acid كان له أثرٌ في تحسين وظائف الكبد. أما [14] فقد أشار إلى أن الكلايسريزيك Glycyrrhizin المستخلص من نبات عرق السوس عالج الكثير من المصابين بالتهاب الكبد الفيروسي نوع ج Hepatitis C فضلاً عن تحسين وظائف الكبد وخفض أنزيماته بصورة جيدة وبذلك تزداد نسبة الكبد في

الجدول (4): المعدل العام  $\pm$  الخطأ القياسي لنسب مخلفات الجهاز الهضمي

المعاملات	عدد المشاهدات	وزن الجسم الحي الفارغ (كغم)	الكرش فارغ %	الأعضاء فارغة %
المعدل العام	20	0.45 $\pm$ 32.75	0.26 $\pm$ 3.1	0.77 $\pm$ 3.97
% 0	5	0.30 $\pm$ 29.08	0.32 $\pm$ 3.01a	0.54 $\pm$ 3.73a
% 0.3	5	0.55 $\pm$ 31.57	0.27 $\pm$ 3.09a	0.47 $\pm$ 3.99a
% 0.6	5	0.39 $\pm$ 37.34	0.44 $\pm$ 3.32a	0.36 $\pm$ 3.75a
% 0.9	5	0.65 $\pm$ 33.01	0.60 $\pm$ 2.98a	0.61 $\pm$ 4.41a

- المخلفات محسوبة على أساس وزن الجسم فارغ

- الحروف المتشابهة ضمن العمود الواحد تشير الى عدم وجود فروق معنوية عند احتمال ( $p \leq 0.05$ )

المصادر

proceedings on goat meat production in Asia. P: 89, Ed- Devendra, CIDRC-268e, Canada.  
3- Riely, R.R., JW. Savell, M. Shellon and C.C Smith.1989.Carcass and offal yield of sheep and goats as influenced by market class and breed . small Ruminant Res .2:265.

1- طه ، صادق علي طه. 1990. تأثير الخصي وفترة التسمين على الإنتاج الكمي والنوعي للحوم في الماعز المحلي. رسالة دكتوراه- كلية الزراعة - جامعة بغداد.  
2- Kirton, A.H.1988. characteristics of goat meat including carcass quality and methods of slaughter

الجدول(1): مكونات ونسب المواد الداخلة في تركيب العليقة المستخدمة في الدراسة

المعاملات	عدد الحملان	السوس	شعير اسود	فول الصويا	إضافات علفية
		%	%	%	%
الأولى	5	0	90	7	3
الثانية	5	3	87	7	3
الثالثة	5	6	84	7	3
الرابعة	5	9	81	7	3

الإضافات العلفية: ملح طعام، حجر كلس، ثنائي فوسفات كالسيوم.

المعاملة الثالثة (6%) وكلاً من المعاملة الأولى والمعاملة الثانية ولم توجد فروقاً معنوية مع المعاملة الرابعة (9%) وقد انخفضت نسب الجلد من (0.33±15.94) % في المعاملة الأولى إلى (0.17±14.59، 0.43±12.69، 0.25±15.67) على التوالي في المعاملة الثانية، الثالثة والرابعة ونلاحظ أن المعاملة الثالثة قد انخفضت نسبة الجلد بصورة أكبر عن باقي المعاملات.

أما نسبة الأرجل فلم تكون هناك اية فروقاً معنوية بين المعاملة الأولى والمعاملة الثانية الا ان المعنوية في الوزن كانت واضحة بين المعاملة الأولى والثانية من جهة والمعاملة الثالثة والرابعة اذ جاءت هذه النتائج متفقة مع ما ذكره [8;7] ويعزى السبب في هذه الزيادة في وزن الجسم الحي الفارغ بالنسبة للمجاميع المغذاة على علائق حاوية مسحوق عرق السوس هو إن المادة الفعالة في هذا النبات الكلايسيريدين Glycyrrhizin ، وحامض الكلايسيريدين Glycyrrhizic acid وهي من مكونات عرق السوس ولها فعالية مشابهة لفعالية الهرمونات الستيرويدية Steroid-like action فمن المعروف إن الهرمونات الستيرويدية هي من الهرمونات البنائية والتي تؤدي إلى زيادة بناء البروتينات وتقليل تحللها، كما تعمل على احتباس الكالسيوم وزيادة معدل الايض الأساسي في الجسم [9] وبذلك يزداد معدل نمو العضلات والعظام والتي أدت إلى زيادة الاستفادة من العلف المقدم للحملان وزيادة وزن الجسم الحي قبل الذبح فكانت حصة الذبيحة من الزيادة الوزنية أكبر من حصة مخلفات الذبح مما يؤدي إلى انخفاض نسبة المخلفات الخارجية.

#### التحليل الإحصائي للبيانات

تم تحليل البيانات إحصائياً باعتماد تجربة عاملية في تصميم عشوائي كامل Completely Randomized Design (CRD) وقد استخدم اختبار دنكن متعدد المدى [6] Multiple Range Test Duncan لتحديد الفروق المعنوية بين المتوسطات للصفات المدروسة عند مستوى احتمالية (0.05).

#### النتائج والمناقشة

##### 1- مخلفات الذبح الخارجية:

يلاحظ من الجدول (2) أن نسب الرأس أظهرت فرقاً معنوياً بين المعاملة الأولى والمعاملة الثالثة والرابعة ولم يلاحظ اختلافاً معنوياً بين المعاملة الثانية وبقية المعاملات ونلاحظ ان النسب المتنبوية قد انخفضت من 7.49% في المعاملة الأولى إلى نسب مختلفة (0.12±6.74، 0.09±6.09، 0.11±0.68) في المعاملة الثانية، الثالثة والرابعة على التوالي. وان تفسير ذلك هو ان سرعة النمو النسبية لمخلفات الذبح الخارجية كانت اقل من سرعة النمو للذبيحة و جاءت هذه النسب متوافقة مع ما توصل إليه [1] في دراسته على تأثير فترة التسمين على هذه المخلفات. ان هذا الانخفاض في النسب سوف يرفع من نسبة التصافي والتي تعتبر مهمة للمربين. وبصورة عامة فان نسبة الرأس من الجسم تكون عالية في بداية عمر الحيوان بسبب النمو الكبير خلال المرحلة الجنينية اما بعد الولادة فان نمو الرأس يبدأ بالانخفاض. نلاحظ أنه عند مستوى معنوية (0.05) لم تكن هناك فروقاً معنوية لنسبة الجلد بين المعاملة الأولى والمعاملة الثانية والمعاملة الرابعة ولكن وجدت هناك فروقاً معنوية بين

الجدول (2): المعدل العام ± الخطأ القياسي لنسب مخلفات الذبح الخارجية

المعاملات	عدد الحملان	وزن الجسم الفارغ (كغم)	الرأس %	الجلد %	الأرجل %
المعدل العام	20	0.45±32.75	0.14±6.75	0.31±14.79	0.12±2.56
%0	5	0.30±29.08	0.16±7.49a	0.33±15.94a	0.16±2.82a
%3	5	0.55±31.57	0.12±6.74ab	0.25±15.67a	0.24±2.55a
%6	5	0.39±37.34	0.09±6.09b	0.43±12.69b	0.13±2.41b
%9	5	0.65±33.01	0.11±6.68b	0.17±14.59ab	0.11±2.47b

-المخلفات محسوبة على أساس وزن الجسم الفارغ

-الحروف المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية ضمن العمود الواحد عند احتمال (P≤0.05)

## تأثير الإحلال الجزئي لمسحوق عرق السوس بدل الشعير في نسب مخلفات الذبح في حملان العواسي

احمد رمضان محييد الجبوري

قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة تكريت، تكريت، العراق

Email: ahmedalaraby97@yahoo.com

### الملخص

هدفت الدراسة الحالية الى معرفة تأثير استخدام مسحوق عرق السوس بدل الشعير فينسب مخلفات الذبح إذ تم استعمال (20) حمل عواسي تراوحت أعمارها 4-5، 4-5 شهر وأوزانها بين 21-24 كغم وزعت الحيوانات بشكل عشوائي على أربعة مجاميع بواقع خمس حملان لكل معاملة بعد أن أدخلت فترة تمهيدية لمدة 15 يوم، غذيت الحملان لمدة 3 شهر على عليقة متجانسة تحتوي على نسب مختلفة من مسحوق عرق السوس (0%) للمعاملة الأولى (3%) للمعاملة الثانية (6%) للمعاملة الثالثة و(9%) للمعاملة الرابعة. ذبحت الحيوانات في نهاية التجربة وأخذت أوزان مخلفات الذبح الخارجية (الجلد، الرأس والأرجل) وكذلك اوزان أعضاء الجسم الداخلية (الكبد، الرئتين، القلب، الطحال، الخصيتين، الأمعاء فارغة والكروش فارغ) بعد عملية الذبح مباشرة كما تم حساب نسب هذه المخلفات من وزن الجسم الحي الفارغ (Empty Live body weight). أظهرت النتائج ارتفاع المعاملة الأولى بشكل معنوي ( $p \leq 0.05$ ) على المعاملتين الثالثة والرابعة في كل من نسبة الرأس والأرجل ولم تختلف معنويًا مع المعاملة الثانية لنفس الصفتين أما بالنسبة للجلد فلم تختلف المعاملات الأولى والثانية والرابعة فيما بينها إلا ان المعاملة الأولى ارتفعت معنويًا على المعاملة الثالثة كما ارتفعت المعاملة الثانية على المعاملة الأولى والرابعة بشكل معنوي في نسبة الكبد ولم تختلف معنويًا مع المعاملة الثالثة ولوحظ ارتفاعاً معنوياً للمعاملة الرابعة في نسبة القلب على المعاملات في حين لم يظهر أي تأثيراً معنوياً بين جميع المعاملات لنسب كل من الطحال والطحال والخصيتين والأمعاء.

الكلمات المفتاحية: عرق السوس، مخلفات الذبح، حملان العواسي، الكلاسيبريزين

### المقدمة

استخدام مسحوق عرق السوس في نسب مخلفات الذبح المأكولة وغير المأكولة في حملان الأغنام العواسية.

#### المواد وطرائق العمل

أجريت هذه الدراسة في حقول كلية الزراعة/جامعة تكريت للفترة من 2003/9/11 الى 2004/12/11 أستعمل في التجربة 20 حملاً ذكراً من الأغنام العواسية تم شراؤها من الأسواق المحلية تراوحت أعمارها 4 - 4.5 شهر وأوزانها 21-24 كغم على التوالي وضعت الحملان في حظائر نصف مكشوفة وأدخلت في فترة تمهيدية لمدة أسبوعين وغذيت خلالها على عليقة مكونة من الشعير الأسود والتبن الذي كان يقدم بصورة حرة كما خضعت الحملان لرعاية بيطرية وتجريع ضد الديدان وقسمت الحيوانات عشوائياً على أربعة مجاميع (خمس حملان لكل مجموعة) عدت الأولى مجموعة مقارنة أما المجاميع الثانية والثالثة والرابعة فغذيت على علائق حاوية مسحوق عرق السوس بنسب (3، 6 و 9%) على التوالي وكانت الإضافة على حساب نسبة الشعير كما يوضحها الجدول رقم (1) ذبحت الحيوانات بعد 90 يوماً من بداية التجربة بعد تجويعها لمدة 12 ساعة قبل الذبح وبعد سلخ الذبائح وتجويفها مباشرة تم اخذ أوزان الجلد، الرأس، الأرجل والمعدة والأمعاء بعد إزالة محتوياتها كما تم فصل الدهن المترسب حولهما ووزن الكبد بعد إزالة الصفراء والرئتين وتم إزالة القسبة الهوائية والطحال.

تولي معظم بلدان العالم النامي اهتمامات كبيرة بمخلفات الذبح إذ يلاحظ وجود تنافس في الأهمية الاقتصادية بين الذبائح ومخلفاتها [1] وان أجزاء مختلفة من هذه المخلفات وخصوصاً في المجترات الصغيرة تستخدم لغرض الاستهلاك البشري كالكبد والقلب واللسان والكليتين والرئتين والطحال [2] ومن هنا جاء اهتمام الباحثين في أنحاء مختلفة من دول العالم نحو أفضل السبل للاستفادة من مخلفات الذبح لغرض الاستهلاك البشري بهدف تقليل الفجوة الغذائية عالمياً وكحل مناسب لسد العجز في البروتين الحيواني ومن ناحية أخرى يمكن الاستفادة من هذه المخلفات في الصناعات المختلفة مثل صناعة الصوصج من كرش الماشية وصناعة الجيلاتين والحلويات و المعجنات ومنتجات الألبان والاييس كريم إذ يستعمل الجيلاتين في الصناعات الصيدلانية مثل المراهم و صناعة الورق والأنسجة. وقد أشارت العديد من البحوث إلى أن أوزان ونسب مخلفات الذبح تتأثر بمجموعة من العوامل منها النوع والعمر [3]، السلالة [4]، الجنس [5] والخصي وفترة التسمين [1].

وان الاهتمام في السنوات الأخيرة كان منصب نحو تطوير الأعلاف والعلائق باستخدام الأعشاب الطبية ومنها عرق السوس لأنه لوحظ ظهور أمراض عديدة بسبب استخدام الهرمونات والمواد الكيماوية في التغذية لذلك صدر في عدد من الدول وتحت شعار ((العودة إلى الطبيعة)) منع استخدام الهرمونات والمواد الكيماوية في تغذية الحيوانات، ومن هذا المنطلق هدفت الدراسة الحالية الى معرفة تأثير

## Effect of Using Corn Distillers Dried Grains without soluble (DDG) , Iraqi Probiotic and Fermentation Treatment in the diets on Performance Eggs Quality in Laying Hens

Abdulrahman F. Abdulrahman , Saad A. Naije , Maad A.K. Albaddy

<sup>1</sup> Ministry Of Agriculture, Baghdad, Iraq

<sup>2</sup> College of Agriculture, University of Tikrit , Tikrit , Iraq

<sup>3</sup> College of Agriculture, University of Qadisiyah , Diwaniyah, Iraq

### Abstract

This experiments was conducted at the poultry farm, Department of Animal Resources, University of Tikrit for the period 5 / 2 / 2014 and 28 / 5 / 2014. The experiment was aimed to investigating the effect of using various levels of Dried Distillers Corn Grains and supplementing with the Iraqi probiotic with fermentation treatment on the productive and physiological performance of laying hens. 600 laying hens (ISA Brown) at the age of 22 weeks were used. hens were assigned randomly on 12 treatments two replicate for each treatments, 25 hens for each replicates .

The treatments used include the following: T1: The control treatment, no supplementation (the negative control). T2: The control treatment with Iraqi probiotic (the first positive control). T3: The control treatment with Iraqi probiotic + Fermentation (the second positive control). T4: Dried Distillers Corn Grains" DDG 10% T5: DDG 10% + Iraqi Probiotic . T6 : DDG 10 % + Iraqi Probiotic + Fermentation. T7: DDG 20%. T8: DDG 20% + Iraqi Probiotic. T9: DDG 20% + Iraqi probiotic + Fermentation. T10: DDG 30%. T11: DDG 30% + Iraqi probiotic. T12: DDG 30% + Iraqi probiotic + Fermentation .

The diets were given in a ground form. The lighting program and the water supplementing regime were performed according to (guides for laying hen -ISA-Brown) from the age of 22 weeks till the age of 37 weeks. The results obtained could be summarizing as follows :

Treatment 4 recorded significantly ( $p < 0.05$ ) in the Egg Shell thickness with or without the membranes for treatment 8 and non significantly differences with the treatment for the period (22 – 37) week , and thewe was significant difference treatment 8 the thickness of the cortex membrane with the treatments for the perio a week and excelled morally eighth treatment in the thickness of the membrane as compared with the rest of the treatments with the exception on the second treatment and excelled was significantly ( $p < 0.05$ ) treatment eighth in the relative weight of the first and second yolk in the ovary in comparison with the second treatment, but for the percentage of the weight of the fat in the egg yolk has excelled morally third-treatment compared with experimental treatments with exception of the first and sixth treatment, including not any significant difference.

- 9- الفياض , حمدي عبد العزيز و ناجي , سعد عبد الحسين (1989) . تكنولوجيا منتجات الدواجن . مطبعة التعليم العالي - جامعة بغداد .
- 10-Ghazalah, A. A., M. O. Abd-Elsamee and S. Eman M. 2011. Use of distillers dried grains with solubles (DDGS) for soybean Meal in laying hen diets. International Journ of Poultry. Sci. 10 (7): 505 - 513.
- 11-Wheeler, E, F. Patterson and H. K. Burley. 2012. Ammonia Emission and Productivity of Laying Hens Fed Diets Containing Distiller Dried Grain. An ASABE Conference Presentation. Paper Number: ILES 12 - 1457.
- 12-Romero, C., M. E. Abdalh, W. Powers, R. Angel and T. J . Applegate. 2012. Effect of dietary adipic acid and corn dried distillers grains with solubles on laying hen performance and nitrogen loss from stored excreta with or without sodium bisulfate. Poultry . Sci 91: 1149 - 1157.
- 13-Deniz, G., S .S. Gezen, C. Kara, H. Gencoglu, Y. Meral and E. Baser. 2013. Evaluation of nutrient equivalency of microbial phytase in hens in late lay given maize-soybean or distiller's dried grains with solubles ( DDGS ) diets. Brit . Poultry. Sci. 54 (4): 494 - 502.
- 14-Jiang, W., L, Zhang., and A. Shan. 2013. The effect of vitamin E on laying performance and egg quality in laying hens fed corn dried distillers grains with solubles. Poultry. Sci. 92: 2956 - 2964.
- 15- خطاب , ثامر احمد ( 2014 ) . تأثير استخدام مستويات مختلفة من الذرة المقطرة مع الذواذب ( DDGS ) في العليقة على الاداء الانتاجي وبعض الصفات الفسلجية للدجاج البياض . اطروحة دكتوراه - كلية الزراعة - جامعة تكريت .
- 16-ISA Brown. 2007. General Management Guide Commercials nieuw . <http://www.isapoultry.com> .
- 17-Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple test . Biometrics, 11: 1 - 42.
- 18-SAS. Veraion, Statistical Analysis System. 2003. SAS Institute Inc., Cary, NC. 27512 - 8000, USA.
- 19-N. R. C., National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry, 9<sup>th</sup> ed., National Acad. Press, Washington, D. C.: NAS, Pp. 155.
- 20-Leeson, S. and J. D. Summers. 2005. Commercial poultry nutrition, 3 rd ed, University books, Guelph, Ontario, Canada.
- 21-Kratzer, F. H, R. W. S. A. R. ajaguru and P. Vohra. 1976. The effect of polysaccharides on energy utilization nitrogen and fat absorption in chickens . Poult . Sci . 46 : 1489 - 1493 .
- 22-Batal, A. and N. Dale . 2006. True metabolizable energy and amino acid digestibility of distillers dried grains with soluble. J. Appl. Poult. Res.15:89-93 .
- 23-Sturkie, P.D.1986. Avian physiology. 4<sup>th</sup> ed. Springer - verlag, New York.
- 24-Weiss, J. F., R. M., Johnson and E.C. Naber. 1967. Effect of some dietary factors and drugs on cholesterol concentration in the egg and plasma of hen. J. Nutri. 91:119 - 12 .

الجدول (5) تأثير استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب ( DDG ) والمعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير للنسبة المئوية لوزن الدهن (%) في صفار البيض للدجاج البياض سلالة ISA Brown المتوسط  $\pm$  الخطأ القياسي

العمر المعاملات	المدة الأولى 25-22 اسبوعاً	المدة الثانية 29-26 اسبوعاً	المدة الثالثة 33-30 اسبوعاً	المدة الرابعة 37-34 اسبوعاً	الكلية 37-22 اسبوعاً
النسبة المئوية لوزن الدهن في صفار البيض (%)					
T1	a 3.99 $\pm$ 31.16	b 2.61 $\pm$ 30.16	cd 3.29 $\pm$ 21.83	a 4.52 $\pm$ 28.50	ab 1.11 $\pm$ 27.91
T2	abcd 3.11 $\pm$ 24.33	bcd 4.10 $\pm$ 25.16	a 2.18 $\pm$ 37.33	ab 1.72 $\pm$ 23.50	b 1.79 $\pm$ 27.58
T3	ab 2.02 $\pm$ 28.50	a 2.92 $\pm$ 36.00	b 2.98 $\pm$ 30.50	ab 2.14 $\pm$ 28.00	a 1.01 $\pm$ 30.75
T4	abcd 3.15 $\pm$ 22.16	bc 1.36 $\pm$ 27.00	d 0.67 $\pm$ 16.50	b 1.36 $\pm$ 20.00	d 1.29 $\pm$ 21.41
T5	cd 3.04 $\pm$ 18.33	cd 0.67 $\pm$ 21.50	a 1.49 $\pm$ 38.33	ab 2.21 $\pm$ 21.83	bc 0.96 $\pm$ 25.00
T6	abcd 1.74 $\pm$ 23.66	a 0.49 $\pm$ 35.16	cd 1.52 $\pm$ 23.33	a 1.33 $\pm$ 29.33	ab 0.71 $\pm$ 27.87
T7	d 0.84 $\pm$ 16.66	bcd 2.24 $\pm$ 25.83	b 2.78 $\pm$ 30.50	ab 1.44 $\pm$ 22.83	c 1.31 $\pm$ 23.95
T8	abcd 3.61 $\pm$ 24.00	a 2.27 $\pm$ 38.83	cd 2.15 $\pm$ 22.16	ab 2.52 $\pm$ 25.33	b 1.77 $\pm$ 27.58
T9	bcd 1.02 $\pm$ 20.33	bcd 1.53 $\pm$ 24.83	d 2.80 $\pm$ 21.00	ab 2.27 $\pm$ 21.66	d 0.97 $\pm$ 21.95
T10	abcd 4.34 $\pm$ 25.33	cd 1.22 $\pm$ 20.66	bc 0.76 $\pm$ 28.66	ab 3.12 $\pm$ 21.33	c 1.01 $\pm$ 24.00
T11	d 2.08 $\pm$ 16.16	a 0.92 $\pm$ 35.50	cd 2.55 $\pm$ 22.33	ab 3.67 $\pm$ 26.66	bc 1.52 $\pm$ 25.16
T12	abc 2.65 $\pm$ 27.50	d 1.55 $\pm$ 19.83	d 0.94 $\pm$ 18.83	ab 1.66 $\pm$ 22.16	cd 0.96 $\pm$ 22.08

\*الاحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية ( P < 0.05 )

T1\*\* = معاملة السيطرة و T2 = معاملة السيطرة مضاف إليها المعزز الحيوي العراقي و T3 = معاملة السيطرة مضاف إليها المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T4 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 10% و T5 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 10% مع المعزز الحيوي العراقي و T6 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 10% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T7 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 20% و T8 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 20% مع المعزز الحيوي العراقي و T9 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 20% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T10 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 30% و T11 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 30% مع المعزز الحيوي العراقي و T12 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 30% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير .

#### المصادر

- 1- Batal, A. B., and N. M. Dale. 2003. Mineral composition of distillers dried grains with soluble. J. App. Poultry. Res. 12: 400 – 403 .
- 2- Noll, S., V. Stangeland, G. Speers and J. Brannon. 2001. Distillers grains in poultry diets. 62nd Minnesota Nutrition Conference and Minnesota Corn Growers Association Technical Symposium, Bloomington, MN. September 11 – 12 .
- 3- Ghavidel, S. Z., K. N. Adl, S. A. Sis, A. M. Aghsaghali, M. Mohammadian and S. A. Siadati. 2011. Effects of *lactobacillus*-based probiotic on growth performance, mortality rate and carcass yield in broiler chickens. Animals of Biological Research . 2 (2): 325 – 331.
- 4- Lin, S.Y., A. T. Y. Hung and J. J. Lu, 2011. Effects of supplement with different level of *Bacillus coagulans* as probiotics on growth performance and intestinal microflora populations of broiler chickens. Journal of Animal and Veterinary Advances. 10 (1): 111 – 114 .
- 5- Uchewa, E. N. and P. N. Onu. 2012. The effect of feed wetting and fermented feed on the performance of broiler chick . Biochemistry in Animal Husbandry 28 : 433 – 439.
- 6- Surawicz, C. M. Elmer, G.W. Speelman, P. McFarland, L.V. Chinn and J. Van Belle. 1989. Prevention of antibiotic -associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*: A prospective study. Gastroenterology 96 : 981 – 988 .
- 7- Kho, W. L. 2006. Effect of fermented feed production by probiotics mixture on broiler chickens . J. Chin. Soc. Anim. Sci. 35: 65.
- 8- Santoso, U., K. Tanaka, S. Ohaniand and M .Saksida. 2001. Effect of fermented product from *Bacillus subtilis* on feed efficiency, lipid accumulation and ammonia production in broiler chickens. Asian-Australas. J. Anim. Sci.14: 333-337.

الجدول (4) تأثير استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) والمعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير في الوزن النسبي (%) للمبيض نسبة إلى الوزن الحي والصفار الاول والثاني والثالث نسبة إلى وزن المبيض في الدجاج البياض سلالة ISA Brown المتوسط  $\pm$  الخطأ القياسي

الوزن النسبي للصفار الثالث (%)	الوزن النسبي للصفار الثاني (%)	الوزن النسبي للصفار الاول (%)	الوزن النسبي للمبيض (%)	** العمر المعاملات
0.65 $\pm$ 17.55	ab 0.64 $\pm$ 22.20	ab* 1.48 $\pm$ 26.87	0.09 $\pm$ 2.88	T1
0.15 $\pm$ 15.64	b 1.93 $\pm$ 19.93	b 3.66 $\pm$ 23.89	0.74 $\pm$ 3.33	T2
0.13 $\pm$ 16.39	ab 0.05 $\pm$ 21.86	ab 0.86 $\pm$ 26.59	0.10 $\pm$ 2.69	T3
0.22 $\pm$ 15.97	ab 1.16 $\pm$ 22.02	ab 1.54 $\pm$ 28.16	0.63 $\pm$ 2.89	T4
0.09 $\pm$ 15.54	ab 0.25 $\pm$ 22.60	ab 0.70 $\pm$ 26.75	0.15 $\pm$ 2.74	T5
3.33 $\pm$ 15.18	a 0.09 $\pm$ 23.51	ab 0.74 $\pm$ 28.05	0.08 $\pm$ 2.94	T6
0.94 $\pm$ 15.76	ab 0.26 $\pm$ 22.45	ab 0.45 $\pm$ 25.24	0.21 $\pm$ 3.15	T7
0.31 $\pm$ 15.10	a 0.83 $\pm$ 24.06	a 0.32 $\pm$ 30.52	0.38 $\pm$ 2.65	T8
0.07 $\pm$ 16.54	ab 1.07 $\pm$ 21.69	ab 3.27 $\pm$ 25.25	1.06 $\pm$ 3.70	T9
0.47 $\pm$ 17.67	ab 0.62 $\pm$ 21.60	ab 1.26 $\pm$ 26.38	0.03 $\pm$ 2.76	T10
0.06 $\pm$ 18.20	ab 0.52 $\pm$ 22.51	ab 0.45 $\pm$ 25.65	0.09 $\pm$ 3.17	T11
1.66 $\pm$ 17.67	ab 0.48 $\pm$ 22.54	ab 0.48 $\pm$ 27.70	0.05 $\pm$ 2.74	T12

\*الاحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية ( P < 0.05 )

\*\*T1 = معاملة السيطرة و T2 = معاملة السيطرة مضاف اليها المعزز الحيوي العراقي و T3 = معاملة السيطرة مضاف اليها المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T4 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 10% و T5 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 10% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T6 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 10% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T7 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 20% و T8 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 20% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T9 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 20% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T10 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 30% و T11 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 30% مع المعزز الحيوي العراقي و T12 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 30% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير .

والحادية عشرة ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات ، وسجلت المعاملات السابعة والحادية عشرة 16.66 و 16.16 % على الترتيب انخفاضاً معنوياً بالمقارنة مع المعاملات الأولى والثالثة والثانية عشرة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين المعاملات الأخرى ، وفي

المدة الإنتاجية الثانية 26 - 29 أسبوعاً تفوقت المعاملات الثالثة والسادسة والثامنة والحادية عشرة معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملات الأخرى ، وسجلت المعاملة الثانية عشرة انخفاضاً معنوياً بالمقارنة مع بقية المعاملات باستثناء المعاملات الثانية والخامسة والسابعة والتاسعة والعاشر ، أما في المدة الإنتاجية الثالثة 30 - 33 أسبوعاً فقد تفوقت المعاملات الثانية والخامسة معنوياً ( $P < 0.05$ ) التي سجلت القيم 37.33 و 38.33 % على الترتيب بالمقارنة مع جميع معاملات التجربة الأخرى وسجلت المعاملة الرابعة أدنى قيمة في نسبة وزن الدهن في صفار البيض التي بلغت 16.50 % ، وفي المدة الإنتاجية الرابعة 34 - 37 أسبوعاً سجلت المعاملتان الأولى والسادسة

28.50 و 29.33 % تفوقاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملة الرابعة التي سجلت 20.00 % ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات .

أما في المدة الإنتاجية الكلية 22 - 37 أسبوعاً فقد تفوقت المعاملة الثالثة معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع بقية المعاملات ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين المعاملتين الأولى والسادسة ، وسجلت المعاملات الرابعة والتاسعة انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع معاملات التجربة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين المعاملة الثانية عشرة و ربما يعود سبب ارتفاع محتوى الصفار من الدهون في عددٍ من المعاملات الحاوية على DDG لكون مستوى الدهون في العليقة قد زاد بزيادة مستوى DDG وبالتالي زاد محتوى الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة التي أدت إلى زيادة مستويات الدهون الكلية في الصفار [24] .

الجدول (3) تأثير استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب ( DDG ) والمعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير في سمك الاغشية لبيض

الدجاج البياض سلالة ISA Brown المتوسط  $\pm$  الخطأ القياسي

العمر	المدة الأولى اسبوعا 22-25	المدة الثانية اسبوعا 26-29	المدة الثالثة اسبوعا 30-33	المدة الرابعة اسبوعا 34-37	الكلبي اسبوعا 22-37
** المعاملات	سمك الاغشية ( ملم )				
T1	b* 0.01 $\pm$ 0.068	a 0.01 $\pm$ 0.067	c 0.01 $\pm$ 0.063	ab 0.01 $\pm$ 0.075	bcd 0.01 $\pm$ 0.068
T2	b 0.01 $\pm$ 0.076	a 0.01 $\pm$ 0.076	a 0.01 $\pm$ 0.079	abc 0.01 $\pm$ 0.072	ab 0.01 $\pm$ 0.076
T3	b 0.01 $\pm$ 0.073	c 0.01 $\pm$ 0.039	abc 0.01 $\pm$ 0.070	abc 0.01 $\pm$ 0.064	d 0.01 $\pm$ 0.062
T4	b 0.01 $\pm$ 0.075	ab 0.01 $\pm$ 0.064	c 0.01 $\pm$ 0.063	a 0.01 $\pm$ 0.077	bcd 0.01 $\pm$ 0.070
T5	b 0.01 $\pm$ 0.075	a 0.01 $\pm$ 0.070	abc 0.01 $\pm$ 0.074	abc 0.01 $\pm$ 0.070	bc 0.01 $\pm$ 0.072
T6	b 0.01 $\pm$ 0.072	a 0.01 $\pm$ 0.071	abc 0.01 $\pm$ 0.070	c 0.01 $\pm$ 0.059	bcd 0.01 $\pm$ 0.068
T7	a 0.01 $\pm$ 0.106	bc 0.01 $\pm$ 0.048	bc 0.01 $\pm$ 0.066	d 0.01 $\pm$ 0.034	cd 0.01 $\pm$ 0.064
T8	b 0.01 $\pm$ 0.074	a 0.01 $\pm$ 0.071	bc 0.01 $\pm$ 0.066	abc 0.01 $\pm$ 0.068	bcd 0.01 $\pm$ 0.070
T9	b 0.01 $\pm$ 0.071	a 0.01 $\pm$ 0.076	bc 0.01 $\pm$ 0.065	abc 0.01 $\pm$ 0.068	bcd 0.01 $\pm$ 0.070
T10	a 0.01 $\pm$ 0.115	a 0.01 $\pm$ 0.073	bc 0.01 $\pm$ 0.067	a 0.01 $\pm$ 0.076	a 0.01 $\pm$ 0.083
T11	b 0.01 $\pm$ 0.076	a 0.01 $\pm$ 0.067	ab 0.01 $\pm$ 0.075	abc 0.01 $\pm$ 0.065	bcd 0.01 $\pm$ 0.071
T12	b 0.01 $\pm$ 0.067	a 0.01 $\pm$ 0.068	abc 0.01 $\pm$ 0.074	bc 0.01 $\pm$ 0.060	bcd 0.01 $\pm$ 0.067

\*الاحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية ( $P < 0.05$ )

\*\* T1 = معاملة السيطرة و T2 = معاملة السيطرة مضاف اليها المعزز الحيوي العراقي و T3 = معاملة السيطرة مضاف اليها المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T4 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 10% و T5 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 10% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T6 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 10% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T7 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 20% و T8 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 20% مع المعزز الحيوي العراقي و T9 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 20% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T10 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 30% و T11 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 30% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير .

مع المعاملات الثانية والخامسة والعاشر ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات .

إن انخفاض سمك القشرة مع وبدون الأغشية في المعاملة الثامنة (20 % DDG مع المعزز الحيوي) في المدة الإنتاجية الكلية 22 - 37 اسبوعاً ربما يعود إلى محتوى DDG العالي من الكبريت الذي يتداخل مع امتصاص الكالسيوم في الأمعاء الدقيقة [20] وهذا ما ظهر لنا عند قياس الكالسيوم في مصل الدم (جدول 34) الذي كان متوقفاً معنوياً عن باقي المعاملات أو ربما يعود السبب إلى ضعف عملية امتصاص فيتامين D<sub>3</sub> الضروري لعملية تمثيل الكالسيوم والاستفادة منه لتكوين القشرة [21]. أما فيما يخص سمك الاغشية فأن التفوق المعنوي للمعاملة العاشرة (30 % DDG) ربما يعود إلى أن DDG يعد مصدراً جيداً للبروتين إذ يحتوي على نسبة عالية منه مقارنةً بحبوب الذرة الذي تحتوي على نسبة 8 % بروتين و بسبب عملية التخمر و إزالة النشا من الذرة أدى إلى زيادة نسبة البروتين وتركيزه فيها أكثر بخمسة مرات مما هو موجود في الذرة و يتراوح معده بين 35 - 45 % [22] وهذا أدى إلى زيادة سمك الأغشية على اعتبار أنها ألياف بروتينية .

تشير نتائج الجدول (4) إلى عدم وجود أية فروق معنوية ( $P < 0.05$ ) بين المعاملات في الوزن النسبي للمبيض نسبة إلى الوزن الحي ، و لكن نلاحظ من الجدول نفسه وجود فروقات معنوية بين المعاملات في صفة الوزن النسبي للصفار الأول نسبة إلى وزن المبيض إذ تفوقت المعاملة الثامنة معنوياً ( $P < 0.05$ ) التي سجلت 30.52 % بالمقارنة مع المعاملة الثانية التي سجلت 23.89 % و لم تكن للمعاملتين أية فروق معنوية مع بقية معاملات التجربة ، أما بالنسبة للوزن النسبي للصفار الثاني فتشير نتائج الجدول (4) إلى تفوق المعاملتين السادسة والثامنة معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملة الثانية ، ولم يكن هنالك فرق معنوي بينهما وبين بقية المعاملات أما الوزن النسبي للصفار الثالث فيبين الجدول نفسه عدم وجود فروق معنوية ( $P < 0.05$ ) بين معاملات التجربة . أن الارتفاع المعنوي للمعاملة الثامنة في الوزن النسبي للصفار الأول والثاني في المبيض قد يعود إلى المثابة و الإنتاج العالي لهذه المعاملات التي نستدل عليها من إنتاج البيض الذي أدى ذلك إلى التهيؤ لإنتاج البيض ، وربما يعود ذلك إلى زيادة نشاط الكبد وان تأثير هرمون الاستروجين يؤثر على مكونات الصفار ويجهزها إلى المبيض من خلال تأثيره على الكبد [23] وكذلك ربما يعود السبب في ارتفاع المعاملة الثامنة في الوزن النسبي للصفار الأول والثاني إلى ان استخدام هذه التوليفة في العليقة له دور إيجابي في رفع كمية المجهز من العناصر الغذائية اللازمة لهذا الصفار .

تشير نتائج الجدول (5) إلى وجود فروقات معنوية في صفة النسبة المئوية لوزن الدهن في صفار البيض إذ تفوقت المعاملة الأولى معنوياً ( $P < 0.05$ ) إذ سجلت 31.16 % في المدة الإنتاجية الأولى 22 - 25 اسبوعاً بالمقارنة مع المعاملات الخامسة والسابعة والتاسعة

وسجلت المعاملات الخامسة والسادسة والثامنة والعاشر والحادية عشرة انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملتين الثالثة والرابعة ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات إذ سجلت المعاملة العاشرة أدنى قيمة لسمك القشرة بدون الأغشية (0.375 ملم) ، وفي المدة الإنتاجية الثالثة 30 - 33 اسبوعاً تفوقت المعاملة الثانية عشرة معنوياً التي سجلت 0.390 ملم بالمقارنة مع المعاملات الثالثة والخامسة والسادسة والسابعة و الثامنة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين المعاملات الأخرى ، وسجلت المعاملة الخامسة أدنى قيمة 0.362 ملم ، أما في المدة الإنتاجية الرابعة 34 - 37 اسبوعاً فقد سجلت المعاملة السابعة تفوقاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع جميع معاملات التجربة ، و في المدة الإنتاجية الكلية 22 - 37 اسبوعاً سجلت المعاملة الرابعة تفوقاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) إذ سجلت 0.383 ملم بالمقارنة مع المعاملات الخامسة والسادسة والثامنة والتاسعة والعاشر والحادية عشرة ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات ، وسجلت المعاملة الثامنة 0.363 ملم انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملات الأولى والثانية والثالثة والرابعة والسابعة ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات .

و من الجدول (3) نلاحظ تأثير استعمال الذرة المقطرة (DDG) و المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير في سمك الاغشية إذ تفوقت المعاملة السابعة والعاشر معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع بقية للمدة الإنتاجية الأولى 22 - 25 اسبوعاً ، وفي المدة الإنتاجية الثانية 26 - 29 اسبوعاً سجلت المعاملة الثالثة انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) إذ سجلت 0.039 ملم بالمقارنة مع بقية المعاملات ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين المعاملة السابعة إذ سجلت المعاملتان الثانية و التاسعة أعلى مستوى في سمك الأغشية التي بلغت 0.076 ملم لكل منهما ، أما في المدة الإنتاجية الثالثة 30 - 33 اسبوعاً فقد تفوقت المعاملة الثانية معنوياً ( $P < 0.05$ ) التي سجلت 0.079 ملم بالمقارنة مع المعاملات الأولى والرابعة والسابعة والثامنة والتاسعة والعاشر ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات ، وسجلت المعاملتان الأولى والرابعة 0.063 ملم لكل منهما انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملتين الثانية والحادية عشرة ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات .

وفي المدة الإنتاجية الرابعة 34 - 37 اسبوعاً تفوقت المعاملتان الرابعة والعاشر معنوياً ( $P < 0.05$ ) التي سجلت القيم 0.077 و 0.076 ملم على الترتيب بالمقارنة مع المعاملات السادسة والسابعة والثانية عشرة ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات ، وسجلت المعاملة السابعة 0.034 ملم انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع بقية المعاملات ، أما في المدة الإنتاجية الكلية 22 - 37 اسبوعاً فقد تفوقت المعاملة العاشرة معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع جميع معاملات التجربة باستثناء المعاملة الثانية التي لم يكن بينها أي فرق معنوي ، وسجلت المعاملة الثالثة انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة

المؤتمر العلمي الثالث لكلية الطب البيطري / جامعة تكريت للفترة 2 و 3 ايار 2016

الجدول (2) تأثير استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) والمعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير على سمك القشرة مع الاغشية وبدونها (ملم) في بيض الدجاج البياض سلالة ISA Brown المتوسط  $\pm$  الخطأ القياسي

العمر ** المعاملات	المدة الأولى 25-22 اسبوعا	المدة الثانية 29-26 اسبوعا	المدة الثالثة 33-30 اسبوعا	المدة الرابعة 37-34 اسبوعا	الكلبي 22-37 اسبوعا
سمك القشرة مع الاغشية ( ملم )					
T1	cd* 0.01 $\pm$ 0.448	abc 0.01 $\pm$ 0.452	ab 0.01 $\pm$ 0.446	a 0.01 $\pm$ 0.434	ab 0.01 $\pm$ 0.445
T2	bcd 0.01 $\pm$ 0.464	ab 0.01 $\pm$ 0.459	ab 0.01 $\pm$ 0.452	ab 0.01 $\pm$ 0.431	a 0.01 $\pm$ 0.451
T3	bcd 0.01 $\pm$ 0.461	abc 0.01 $\pm$ 0.445	b 0.01 $\pm$ 0.438	b 0.01 $\pm$ 0.412	ab 0.01 $\pm$ 0.439
T4	abc 0.01 $\pm$ 0.470	a 0.01 $\pm$ 0.466	b 0.01 $\pm$ 0.441	ab 0.01 $\pm$ 0.428	a 0.01 $\pm$ 0.451
T5	cd 0.01 $\pm$ 0.456	abc 0.01 $\pm$ 0.440	b 0.01 $\pm$ 0.437	ab 0.01 $\pm$ 0.432	ab 0.01 $\pm$ 0.441
T6	cd 0.01 $\pm$ 0.453	abc 0.01 $\pm$ 0.443	b 0.01 $\pm$ 0.436	ab 0.01 $\pm$ 0.421	ab 0.01 $\pm$ 0.438
T7	ab 0.01 $\pm$ 0.486	c 0.01 $\pm$ 0.427	b 0.01 $\pm$ 0.434	ab 0.01 $\pm$ 0.420	ab 0.01 $\pm$ 0.442
T8	cd 0.01 $\pm$ 0.448	abc 0.01 $\pm$ 0.443	b 0.01 $\pm$ 0.432	b 0.01 $\pm$ 0.412	b 0.01 $\pm$ 0.434
T9	cd 0.01 $\pm$ 0.452	abc 0.01 $\pm$ 0.455	b 0.01 $\pm$ 0.441	ab 0.01 $\pm$ 0.418	ab 0.01 $\pm$ 0.441
T10	a 0.01 $\pm$ 0.490	bc 0.01 $\pm$ 0.435	b 0.01 $\pm$ 0.441	ab 0.01 $\pm$ 0.425	a 0.01 $\pm$ 0.448
T11	cd 0.01 $\pm$ 0.449	abc 0.01 $\pm$ 0.442	ab 0.01 $\pm$ 0.447	ab 0.01 $\pm$ 0.421	ab 0.01 $\pm$ 0.440
T12	d 0.01 $\pm$ 0.438	abc 0.01 $\pm$ 0.446	a 0.01 $\pm$ 0.464	ab 0.01 $\pm$ 0.418	ab 0.01 $\pm$ 0.441
سمك القشرة بدون الاغشية ( ملم )					
T1	ab 0.01 $\pm$ 0.380	bc 0.01 $\pm$ 0.384	ab 0.01 $\pm$ 0.382	b 0.01 $\pm$ 0.358	abcd 0.01 $\pm$ 0.376
T2	ab 0.01 $\pm$ 0.388	bc 0.01 $\pm$ 0.382	ab 0.01 $\pm$ 0.372	b 0.01 $\pm$ 0.358	abcd 0.01 $\pm$ 0.375
T3	ab 0.01 $\pm$ 0.388	ab 0.01 $\pm$ 0.405	b 0.01 $\pm$ 0.367	b 0.01 $\pm$ 0.347	abc 0.01 $\pm$ 0.377
T4	a 0.01 $\pm$ 0.395	a 0.01 $\pm$ 0.411	ab 0.01 $\pm$ 0.377	b 0.01 $\pm$ 0.350	a 0.01 $\pm$ 0.383
T5	ab 0.01 $\pm$ 0.379	c 0.01 $\pm$ 0.369	b 0.01 $\pm$ 0.362	b 0.01 $\pm$ 0.362	cde 0.01 $\pm$ 0.368
T6	ab 0.01 $\pm$ 0.381	c 0.01 $\pm$ 0.372	b 0.01 $\pm$ 0.365	b 0.01 $\pm$ 0.362	bcd 0.01 $\pm$ 0.370
T7	ab 0.01 $\pm$ 0.380	bc 0.01 $\pm$ 0.383	b 0.01 $\pm$ 0.367	a 0.01 $\pm$ 0.389	ab 0.01 $\pm$ 0.380
T8	b 0.01 $\pm$ 0.373	c 0.01 $\pm$ 0.371	b 0.01 $\pm$ 0.365	b 0.01 $\pm$ 0.344	e 0.01 $\pm$ 0.363
T9	ab 0.01 $\pm$ 0.380	bc 0.01 $\pm$ 0.378	ab 0.01 $\pm$ 0.375	b 0.01 $\pm$ 0.350	bcd 0.01 $\pm$ 0.371
T10	ab 0.01 $\pm$ 0.375	c 0.01 $\pm$ 0.362	ab 0.01 $\pm$ 0.373	b 0.01 $\pm$ 0.348	de 0.01 $\pm$ 0.365
T11	b 0.01 $\pm$ 0.372	c 0.01 $\pm$ 0.375	ab 0.01 $\pm$ 0.371	b 0.01 $\pm$ 0.356	cde 0.01 $\pm$ 0.369
T12	b 0.01 $\pm$ 0.370	bc 0.01 $\pm$ 0.378	a 0.01 $\pm$ 0.390	b 0.01 $\pm$ 0.357	abcde 0.01 $\pm$ 0.374

\* الاحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية ( $P < 0.05$ )

\*\* T1 = معاملة السيطرة و T2 = معاملة السيطرة مضاف اليها المعزز الحيوي العراقي و T3 = معاملة السيطرة مضاف اليها المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T4 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 10% و T5 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 10% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T6 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 10% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T7 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 20% و T8 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 20% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T9 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 20% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T10 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 30% و T11 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 30% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير و T12 = استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب بنسبة 30% مع المعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير .

جدول رقم ( 1 ) مكونات عذيق الانتاج لدجاج البيض والتركيب الكيميائي المحسوب لها

المواد العلفية ( % )	العذيق الأولى %	العذيق الثانية %	العذيق الثالثة %	العذيق الرابعة %
DDG*	0.0	10	20	30
ذرة صفراء	57.95	55.18	52.87	50.28
كسبة فول الصويا 48%	27.3	19.5	11.5	3.6
**بريمكس	2.5	2.5	2.5	2.5
زيت زهرة الشمس	2.2	2.6	2.85	3.2
حجر الكلس	8.9	9	9	9.1
داي كالسيوم فوسفيت	0.85	0.8	0.7	0.6
لايسين	0.0	0.12	0.28	0.42
منح	0.3	0.3	0.3	0.3
المجموع	100	100	100	100
** التركيب الكيميائي المحسوب				
طاقة ممثلة (كيلوسعرة /كغم علف)	2805	2805	2802.4	2801.5
البروتين الخام ( % )	18.03	18.05	18.01	18
الالياف الخام ( % )	3.2	3.3	3.5	3.6
اللايسين ( % )	0.93	0.90	0.92	0.91
الميثايونين ( % )	0.42	0.43	0.44	0.44
الميثايونين + السستين ( % )	0.71	0.70	0.69	0.68
الكالسيوم ( % )	4.08	4.08	4.04	4.03
الفسفور المتيسر ( % )	0.51	0.51	0.51	0.51

\* DDG المستخدمة حاوية على طاقة ممثلة 2471 كيلو سعرة / كغم و بروتين خام 40% ودهن 3.48% و كالسيوم 0.03% و صوديوم 0.02% وفسفور متيسر 0.39% .

\*\* مخاليط الفيتامينات والمعادن ( BROMIX – 2.5W ) انتاج شركة ( WAFI B.V )

\*\*\* حسب قيم التركيب الكيميائي للمواد العلفية الداخلة في تركيب العذيق على وفق NRC ( 1994 ) .

#### النتائج والمناقشة

سجلت المعاملة الثامنة أدنى قيمة لمسك القشرة إذ بلغت 0.432 ملم ، أما في المدة الانتاجية الرابعة 34 – 37 اسبوعاً فقد تفوقت المعاملة الأولى معنوياً ( $P<0.05$ ) إذ سجلت 0.434 ملم بالمقارنة مع المعاملتين الثالثة والثامنة التي سجلت 0.412 ملم لكل منهما ولم يكن هنالك فرق معنوي بينهما وبين بقية المعاملات . وفي المدة الإنتاجية الكلية 22 – 37 اسبوعاً سجلت المعاملات الثانية والرابعة والعاشره ارتفاعاً معنوياً ( $P<0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملة الثامنة ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات . و نلاحظ من الجدول (2) أيضاً تفوق المعاملة الرابعة معنوياً ( $P<0.05$ ) في صفة سمك القشرة بدون الأغشية للمدة الإنتاجية الأولى 22 – 25 أسبوعاً التي سجلت 0.395 ملم بالمقارنة مع المعاملات الثامنة والحادية عشرة والثانية عشرة التي سجلت القيم 0.373 ، 0.372 و 0.370 ملم على الترتيب ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات ، وفي المدة الإنتاجية الثانية 26 – 29 أسبوعاً سجلت المعاملة الرابعة 0.411 ملم تفوقاً معنوياً ( $P<0.05$ ) بالمقارنة مع جميع معاملات التجربة باستثناء المعاملة الثالثة التي لم يكن بينها أي فرق معنوي.

تشير نتائج الجدول (2) إلى وجود فروقات معنوية بين المعاملات في صفة سمك القشرة مع الأغشية إذ تفوقت المعاملة العاشرة معنوياً ( $P<0.05$ ) في المدة الإنتاجية الأولى 22 – 25 أسبوعاً التي سجلت 0.490 ملم بالمقارنة مع جميع معاملات التجربة باستثناء المعاملات الرابعة والسابعة التي لم يكن بينها أي فرق معنوي ، وسجلت المعاملة الثانية عشرة 0.438 ملم انخفاضاً معنوياً ( $P<0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملتين الرابعة والعاشره ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات ، أما في المدة الإنتاجية الثانية 26 – 29 أسبوعاً فقد تفوقت المعاملة الرابعة معنوياً ( $P<0.05$ ) إذ سجلت 0.466 ملم بالمقارنة مع المعاملتين السابعة والعاشره ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات ، وسجلت المعاملة السابعة 0.427 ملم انخفاضاً معنوياً بالمقارنة مع المعاملتين الثانية والرابعة ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات ، وفي المدة الإنتاجية الثالثة 30 – 33 أسبوعاً سجلت المعاملة الثانية عشرة 0.464 ملم تفوقاً معنوياً ( $P<0.05$ ) بالمقارنة مع جميع معاملات التجربة باستثناء المعاملات الأولى والثانية والحادية عشرة التي لم يكن بينها أي فرق معنوي و

وكانت الكمية توزع حسب عمر الطيور وعددها وحسب [16] ، وبالنسبة لعدد ساعات الإضاءة فكانت بتزايد لحين الوصول إلى النضج الجنسي ويتقدم العمر ثم بعدها ثبتت ساعات الإضاءة إلى 16 ساعة ضوء و 8 ساعات ظلام . شملت الدراسة اثنتا عشر معاملة احتوت كل معاملة على مكررين وفي كل مكرر خمسة وعشرين طيراً إذ وزعت الطيور عشوائياً على المعاملات وكانت المعاملات كالاتي : المعاملة الأولى (T1) تمثلت بمعاملة السيطرة بدون أي إضافة (السيطرة السالبة) . والمعاملة الثانية (T2) معاملة السيطرة مضاف إليها المعزز الحيوي العراقي (السيطرة الموجبة الأولى) . والمعاملة الثالثة (T3) معاملة السيطرة مع المعزز الحيوي العراقي مع المعاملة بالتخمير (السيطرة الموجبة الثانية) . والمعاملة الرابعة (T4) استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) بنسبة 10% . والمعاملة الخامسة (T5) استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) بنسبة 10% مع المعزز الحيوي العراقي. والمعاملة السادسة (T6) استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) بنسبة 10% مع المعزز الحيوي العراقي مع المعاملة بالتخمير . والمعاملة السابعة (T7) استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) بنسبة 20% . والمعاملة الثامنة (T8) استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) بنسبة 20% مع المعزز الحيوي العراقي. والمعاملة التاسعة (T9) استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) بنسبة 20% مع المعزز الحيوي العراقي مع المعاملة بالتخمير . والمعاملة العاشرة (T10) استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) بنسبة 30% . والمعاملة الحادية عشرة (T11) استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) بنسبة 30% مع المعزز الحيوي العراقي. والمعاملة الثانية عشرة (T12) استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) بنسبة 30% مع المعزز الحيوي العراقي مع المعاملة بالتخمير. ودرست الصفات الآتية : سمك القشرة مع الاغشية وسمك القشرة بدون اغشية والنسبة المئوية للبيض والوزن النسبي للبيضة الاولى والثانية والثالثة والنسبة المئوية لوزن الدهن في صفار البيض .

أجري التحليل الإحصائي باستخدام التصميم العشوائي الكامل Complete Randomize Design (CRD) ذي الاتجاه الواحد، ولاختبار معنوية الفروق بين المعاملات استعمل اختبار دنكن متعدد الحدود Duncan's multiple range test [17] وقد استعمل برنامج التحليل الإحصائي الجاهز [18] لتحليل البيانات على وفق النموذج الرياضي الآتي:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

المستهلك دون تعرضه للكسر والتي يلعب دور رئيسي فيها هي سمك القشرة فكلما ارتفع سمك القشرة سترداد القوة اللازمة لكسرها وكذلك من الصفات المهمة التي تعطي فكرة عن طبيعة الانتاج هي الوزن النسبي للمبيض والبيضة التي تكون جاهزة للتبويض [9].

لم يجد [10] أية فروق معنوية بين المعاملات عند استعمال الذرة المقطرة مع الذوائب بنسبة 60 % في صفة سمك القشرة و لاحقاً [11] عدم وجود أية فروق معنوية بين المعاملات في سمك القشرة ، ذكر [12] إن استخدام الذرة المقطرة مع الذوائب (DDGS) لم تكن هنالك فروق معنوية في الوزن النسبي للقشرة بالمقارنة مع معاملة السيطرة . وأشار [13] عند استعماله انزيم الفايينيز والذرة المقطرة مع الذوائب إلى عدم وجود فروق معنوية لسمك القشرة ، و في دراسة أخرى قام بها [14] التي تم فيها استعمال الذرة المقطرة مع الذوائب بنسبة 0 ، 10 و 20 % وفيتامين E في عليقة الدجاج البياض نوع Hy-Line Variety Brown فكان التفوق معنوياً لصالح المعاملة الثالثة بالمقارنة مع باقي المعاملات في سمك القشرة. أما [15] عند استعماله سبعة مستويات من الذرة المقطرة مع الذوائب (DDGS) بنسبة 0 ، 10 ، 20 ، 30 ، 40 ، 50 و 60 % في عليقة الدجاج البياض سلالة ISA Brown عند عمر 35 أسبوعاً فقد تفوقت المعاملات الحاوية على الذرة المقطرة الخالية من الذوائب معنوياً ( $P < 0.05$ ) في سمك القشرة .

#### المواد وطرائق العمل

أجريت التجربة الحقلية في حقل الطيور الداجنة التابع لقسم الثروة الحيوانية ، كلية الزراعة / جامعة تكريت خلال المدة من يوم الأربعاء 5 / 2 / 2014 عند عمر (22) اسبوعاً ولغاية يوم الأربعاء 28 / 5 / 2014 عند عمر (37) أسبوعاً التي من خلالها تم دراسة تأثير استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) والمعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير في بعض الصفات النوعية للبيض والمبيض للدجاج البياض سبقتها مدة تمهيدية لتعود الطيور على علائق التجربة و لمدة (14 يوماً) أربعة عشر يوماً ولم تجمع البيانات فيها .

استخدم في التجربة 600 طيراً من طيور الدجاج البياض سلالة أيسا براون ISA Brown بعمر 20 أسبوعاً . ربيت الطيور في أقفاص عددها 24 قفصاً (مكرر) وكانت أبعاد القفص الواحد 2 × 4 م مصنوعة من الحديد المشبك وتمثل نظام ماء الشرب بالمناهل المعلقة في كل قفص و غذيت المعاملات على علائق متقاربة في الطاقة و البروتين (الجدول 1) وزع العلف داخل حاويات علف معلقة يدوياً بصورة يومية أما معاملات التخمير فيوزع العلف في السواقي المعدنية

## تأثير استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذواب (DDG) والمعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير في بعض الصفات النوعية للبيض والمبيض للدجاج البياض

عبد الرحمن فؤاد عبد الرحمن الشبخلي<sup>1</sup> ، معد عبد الكريم البدي<sup>2</sup> ، سعد عبد الحسين ناجي<sup>3</sup>

<sup>1</sup>وزارة الزراعة ، بغداد ، العراق

<sup>2</sup>كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

<sup>3</sup>كلية الزراعة ، جامعة القادسية ، الديوانية ، العراق

[maadalbaddy@yahoo.com](mailto:maadalbaddy@yahoo.com)

[abdurahman.fuad@yahoo.com](mailto:abdurahman.fuad@yahoo.com)

### المخلص

أجريت التجربة الحقلية في حقل الطيور الداجنة التابع إلى قسم الثروة الحيوانية / كلية الزراعة / جامعة تكريت للمدة 5 / 2 / 2014 و لغاية 28 / 5 / 2014 و هدفت إلى دراسة تأثير إضافة الذرة المقطرة الخالية من الذواب (DDG) والمعزز الحيوي العراقي و المعاملة بالتخمير في الأداء الانتاجي و الفسلجي لدجاج البيض ، إذ استخدم في التجربة 600 دجاجة بياضة نوع ISA Brown بعمر 22 أسبوعاً وزعت الطيور على اثنتي عشرة معاملة بواقع مكررين لكل معاملة ووزع الدجاج بواقع 25 دجاجة لكل مكرر و كانت المعاملات : المعاملة الاولى (T1) السيطرة خالية من الإضافات (السيطرة السالبة) ، المعاملة الثانية (T2) السيطرة مضاف إليها المعزز الحيوي العراقي (السيطرة الموجبة الاولى) ، المعاملة الثالثة (T3) السيطرة مع المعزز الحيوي العراقي مع المعاملة بالتخمير ( السيطرة الموجبة الثانية ) ، المعاملة الرابعة (T4) عليقة حاوية على 10% DDG ، المعاملة الخامسة (T5) عليقة حاوية على 10% DDG مع المعزز الحيوي العراقي ، المعاملة السادسة ( T6 ) عليقة حاوية على 10% DDG مع المعزز الحيوي العراقي مع المعاملة بالتخمير ، المعاملة السابعة (T7) عليقة حاوية على 20% DDG ، المعاملة الثامنة (T8) عليقة حاوية على 20% DDG مع المعزز الحيوي العراقي ، المعاملة التاسعة (T9) عليقة حاوية على 20% DDG مع المعزز الحيوي العراقي مع المعاملة بالتخمير ، المعاملة العاشرة (T10) عليقة حاوية على 30% DDG ، المعاملة الحادية عشرة (T11) عليقة حاوية على 30% DDG مع المعزز الحيوي العراقي ، المعاملة الثانية عشرة (T12) عليقة حاوية على 30% DDG مع المعزز الحيوي العراقي مع المعاملة بالتخمير .

قدم العلف بشكل مجروش و الإضاءة و الماء (حسب دليل تربية دجاج ISA Brown) و شملت التجربة نتائج اربع مدد إنتاجية (اربعه اسابيع للمدة الواحدة) من عمر 22 اسبوعاً و لغاية 37 اسبوعاً و كانت النتائج :

تفوقت المعاملة الرابعة معنوياً في سمك القشرة مع وبدون الأغشية بالمقارنة مع المعاملة الثامنة ، ولم يكن هناك أي فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات في المدة الإنتاجية الكلية (22 - 37) أسبوع وتوقفت معنوياً المعاملة الثامنة في سمك الأغشية بالمقارنة مع بقية المعاملات باستثناء المعاملة الثانية وتوقفت معنوياً ( $P < 0.05$ ) المعاملة الثامنة في الوزن النسبي للصفار الأول والثاني في المبيض بالمقارنة مع المعاملة الثانية ، أما بالنسبة للنسبة المئوية لوزن الدهن في صفار البيض فقد تفوقت معنوياً المعاملة الثالثة بالمقارنة مع معاملات التجربة باستثناء المعاملة الأولى والسادسة التي لم يكن بينهم أي فرق معنوي .

الكلمات المفتاحية: DDG ، الإنتاجية ، التخمير

### المقدمة

تخمير العلف التي تعني ترطيب العلف بالماء أولاً و إضافة مزارع مايكروبية مفيدة فضلاً عن خميرة الخبز و من ثم حضن العلف تحت درجة حرارة معينة [5] ، و أن عملية التخمير ستعزز من إنتاج الأحماض العضوية و تخفض من قيمة الأس الهيدروجيني للعلف و جعل الوسط حامضياً وهذا يثبط البكتريا المرضية *E. Coli* و *Salmonella* التي تتميز بعدم تحملها للحموضة العالية [6] و مضاعفة أعداد البكتريا المفيدة على حساب الضارة [7] فضلاً عن زيادة إفراز انزيمات البروتيز و الاميليز و اللايبيز التي تؤدي إلى تحسن الأداء الإنتاجي [8] . ويمكن الحكم على نوعية البيضة من خلال بعض القياسات النوعية لها إذ تعتبر صفة قوة القشرة من أهم الصفات النوعية للبيض المنتج لانها تتحكم بمدى وصول البيض إلى

لجأ الباحثون إلى استعمال عدد من البدائل العلفية في علائق الدواجن ومنها الناتج العرضي لصناعة الإيثانول منها الذرة المقطرة مع الذواب أو ما يطلق عليها Dried Distillers Grains with Solubles (DDGS) أو بدون الذواب ويطلق عليها Dried Distillers Grains (DDG) التي توفرت بكميات كبيرة لصناعة الأعلاف [1] . و استعمالها في تغذية الدواجن كان محدداً بنسبة 5 % وذلك للتغيير في المحتوى الغذائي و قابليتها للهضم [2] و من الاجراءات التي تؤدي إلى تحسين القيمة الغذائية لـ DDG استعمال المعزز الحيوي وذلك لإمكانية تحسين الأداء الإنتاجي للدواجن كفروج اللحم والدجاج البياض [3] ، [4] . وكذلك من الاجراءات الأخرى التي تؤدي إلى تحسين القيمة الغذائية لـ DDG و الأداء الإنتاجي بصورة عامة هي

- 17) Slippers, S.C., B.A. Letty and J.F. de Villiers (2000). Prediction of the body weight of Nguni goats. South Afr. J. Anim. Sci., 30: 127-128.
- 18) Strathdee, G., Sim, A. and Brown, R.(2004). Control of gene by expression by CPG island methylation in normal cells. Biochemical Society Transaction..32(6):913-914.
- 19) Sumner, A.T.(2003). Chromosomes organization and function. by Blackwell Science Ltd. a Blackwell Publishing company. United Kingdom. 1:143-153.
- 20) Thiruvankadan, A.K.,(2005). Determination of best-fitted regression model for estimation of body weight in Kanni Adu kids under farmer's management system. Livestock Res. Rural Develop., 17(7). <http://www.lrrd.org/lrrd17171thir17085.htm>.
- 21) Tharp, G.D. 1985. Experiments in physiology. Fifth edition. Macmillan publishing company, New York
- 22) Wilson, L.L., Egan C.L. and Terossky T.L. (1997). Body measurements and body weights of special-fed Holstein veal calves. J. Dairy Sci., 80: 3077-3082.
- carcass characteristics of Arsi-Bale goats castrated at different ages. World Applied Sci. J., 4: 545-553.
- 13) Khan, H., Muhammad, F. Ahmad, R. Nawaz, G. Rahimullah and M. Zubair, M. (2006). Relationship of body weight with linear body measurements in goats. J. Agric. Biol. Sci., 1: 51-54.
- 14) Lambe, N.R., Navajas. E.A., Schofield, C.P. Fisher A.V., Simm G., Roche R. and Bungler L. (2008). The use of various live animal measurements to predict carcass and meat quality in two divergent breeds. Meat Sci., 80: 1138-1149.
- 15) Okonkwo, J.C., Omeje, I.S. and Egu, U. N. (2010). Identification of X-chromatin and determination of its incidence in Nigerian goat breeds. Livestock Research for Rural Development, 22. (12).(abstract). <http://www.lrrd.org/lrrd22/12/okon22228.htm>
- 16) SAS. (2012). SAS / STAT Users Guide for Personal Computers. Release 7.0. SAS Institute Inc., Cary, N.C., USA.

## Using of Sex Chromatin Measurements as a Selection Indicator for Some Growth Traits and Body Dimensions in Cyprus goats

Ali N. Abdullah<sup>1</sup>, Wasan J. M. Al-Khazragi<sup>2</sup>, Ahmed A.A. Taha<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Office of Agricultural research , Ministry of Agriculture , Baghdad, Iraq

<sup>2</sup> College of Agriculture , University of Baghdad, Baghdad , Iraq

### Abstract

This study was undertaken at the Ruminant's Research Station, Office of Agricultural Research / Ministry of Agriculture. 35 Shami (Damascus) does were used in this study to study the effect of sex chromatin shapes and its characteristics in growth traits and body measurements. Blood samples were withdrawn, prepared and examined to determine sex chromatin shapes and its measurements in Neutrophil and its relationship with studied traits, results showed that the percentages of figure of sex chromatin types; drum stick (D), sessile nodule (SN), teardrop (T) and small club (SM) were 64.22, 17.48, 15.04 and 3.26% respectively, there was no significant effect for shapes of sex chromatin in the studied traits. In addition, multiple regression coefficients were extracted to examine the relationship between economic traits and dimensions of sex chromatin. Results showed that regression of weaning weight was highly significant and total gain was significant with sex chromatin characteristics and a number of lobes, where weaning weight, total gain, heart girth, body length, and wither height will decrease when vertical axes increase one unit, but these traits will improve with increase of horizontal axes and a number of lobes except birth weight, which will decline with increase of studied sex chromatin measurements.

**Key words:** sex chromatin, growth traits, body measurements, multiple regression coefficient, Shami does.

0.299 سم عند زيادة كل من البعد الأفقي للصبيغين وعدد الفصوص وحدة واحدة لكل منها. مما تقدم يتضح ان الزيادة في صفتي وزن الفطام والزيادة الوزنية وكذلك أبعاد الجسم إعتمدت على الزيادة الحاصلة في صفات الصبيغين المتمثلة بالبعد الأفقي وعدد الفصوص لذا من الممكن إعتقاد صفتي الصبيغين هاتين كطريق غير مباشر للانتخاب ولتحسين هذه الصفات الاقتصادية المهمة.

أما الزيادة الوزنية فكان انحدارها سالباً ومعنوياً ( $p < 0.05$ )، فيتوقع انها ستقل بمقدار 0.712 كغم عند زيادة البعد العمودي مايكروميتر واحد، في حين يتوقع انها ستزداد بمقدار 3.09 كغم و0.725 كغم عند زيادة البعد الأفقي وعدد الفصوص (الجدول 4). كما يتضح من الجدول (4) أن كل من محيط الصدر و طول الجسم وارتفاع المقدمة سيقبل بمقدار 1.11 و 0.483 و 1.00 سم بزيادة البعد العمودي للصبيغين، في حين يمكن التنبؤ بزيادة أبعاد الجسم أعلاه بمقدار 2.44 و 0.582 سم، 3.76 و 0.387 سم و 3.09 و

جدول (4) معادلات التوقع الناتجة من الانحدار المتعدد لصفات النمو على صفات الصبيغين الجنسي في الماعز الشامي

معامل التحديد ( $R^2$ )	مستوى المعنوية	معادلة التوقع	الصفات المنحدرة على صفات الصبيغين
0.33	Ns	$Y^{\wedge}=2.81-0.176X1-0.084X2-0.0014X3$	انحدار وزن الميلاد على البعد العمودي والأفقي وعدد فصوص الصبيغين
0.29	**	$Y^{\wedge}=10.21-0.707X1+3.17X2+0.742X3$	انحدار وزن الفطام على البعد العمودي والأفقي وعدد فصوص الصبيغين
0.29	*	$Y^{\wedge}=7.80-0.712X1+3.09X2+0.725X3$	انحدار الزيادة الوزنية على البعد العمودي والأفقي وعدد فصوص الصبيغين
0.37	Ns	$Y^{\wedge}=54.01-1.11X1+2.44X2+0.582X3$	انحدار محيط الصدر على البعد العمودي والأفقي وعدد فصوص الصبيغين
0.28	Ns	$Y^{\wedge}=52.80-0.483X1+3.76X2+0.387X3$	انحدار طول الجسم على البعد العمودي والأفقي وعدد فصوص الصبيغين
0.41	Ns	$Y^{\wedge}=52.27-1.00X1+3.09X2+0.299X3$	انحدار الارتفاع عند المقدمة على البعد العمودي والأفقي وعدد فصوص الصبيغين

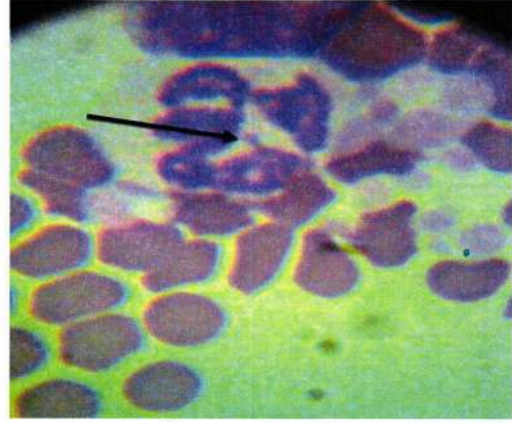
\*\* ( $p < 0.01$ ) ، \* ( $p < 0.05$ ) ، ( ns ) غير معنوي.

#### المصادر

- العيساوي، علي عبد الامير حمزة (2010). دراسة أشكال وأبعاد الصبيغين الجنسي (Sex Chromatin). وعلاقته ببعض الصفات الانتاجية والتناسلية للنعاج العواسية المحلية. رسالة ماجستير. الكلية التقنية/المسيب. هيئة التعليم التقني.
- كاظم، علي فاضل و الدباغ، فواز عبد الوهاب (2014). دراسة بعض صفات النمو و انتاج الحليب في الأغنام العواسية اعتمادا على الصبيغين الجنسي. مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية ، المجلد (14) العدد (3): الصفحة 141- 147 .
- Cam, M. A., Olfaz, M., and Soydan, E. (2010). Possibilities of Using Morphometrics Characteristics as a Tool for body Weight Prediction in Turkish Hair Goats (Kilkeci). Asian Journal of Animal and Veterinary Advances; ISSN 1683-9919.
- Coles, E.H. (1986). Veterinary clinical pathology. 4<sup>th</sup> edition. W.B. Saunders company. Philadelphia.
- Duncan, D. B. (1955). Multiple Range and Multiple Test. Biometrics. 11:1-42.
- Ismail, N. J. (1988). Sex Chromatin Study in Polymorphonuclear Leucocytes of Sheep in Arbil Slaughter House. Zanco, 1:29-37.
- Kebede, T., Lemma T., H. Dinka H., Guru M. and Sisay, A. (2008). Growth performance and

- الجبوري، رويدا عدنان علي حسين (2013). علاقة الصبيغين الجنسي (Sex Chromatin) ببعض صفات الدم والخصب في إناث المعز الشامي والمحلي. رسالة ماجستير. الكلية التقنية/المسيب. هيئة التعليم التقني.
- جلال ، صلاح وكرم ، حسن (2003). تربية الحيوان ز مكتبة الانجلو المصرية. الطبعة السادسة.
- الخرجي، وسن جاسم محمد ( 2011 ). دور الصبيغين الجنسي والوراثة الساييتوبلازمية في أداء الأغنام العواسي التركي. إطروحة دكتوراه - كلية الزراعة - جامعة بغداد.
- الريبيعي، هاشم مهدي عبود والانباري، نصر نوري والعيساوي، علي عبد الامير حمزة ( 2013). صفات الكروماتين الجنسي ( Sex Chromatin ) وعلاقتها بالأداء الإبتاجي والتناسلي في الأغنام العواسية. مجلة بابل للعلوم الزراعية. العدد (4) / المجلد (21): 1510-1500.
- زكو، رائد بهنام (1997). صورة الصبيغين الجنسي في النعاج والماعز المحلية. رسالة ماجستير. كلية الطب البيطري - جامعة بغداد.

تأثير شكل الصبغين في صفات النمو في الماعز الشامي يتضح من الجدول (2) عدم وجود تأثير معنوي لشكل الصبغين في صفات النمو المدروسة (وزن الميلاد ، وزن الفطام والزيادة الوزنية) ولكن كانت هناك فروق حسابية في صفتي وزن الفطام والزيادة الوزنية لصالح شكل دمعة العين وهذه النتائج كانت بنفس إتجاه نتائج دراسة [3] والتي أشارت الى وجود تأثير معنوي ( $p < 0.05$ ) لشكل دمعة العين في صفتي وزن الفطام والزيادة الوزنية في الأغنام العواسية التركية. أما فيما يخص صفة الوزن عند الميلاد فقد جاءت النتائج مطابقة لما توصلت اليه [3] و [7] في دراستيهما على الأغنام العواسية التركية والمحلية، في حين لم تتوفر دراسة مقارنة على الماعز ليتم مقارنة نتائجها مع نتائج الدراسة الحالية.



الصورة (4) الصبغين الجنسي نوع الهرابي قوة تكبير (2000 X)

جدول (2) تأثير شكل الصبغين الجنسي في صفات النمو لدى الماعز الشامي

شكل الصبغين	عدد المشاهدات	متوسط وزن الميلاد ± الخطأ القياسي (كغم)		عدد المشاهدات	شكل الصبغين
		وزن الميلاد	وزن الفطام		
عصا الطبال	158	a 0.041 ± 2.46	a 0.348 ± 15.01	72	عصا الطبال
بروز من دون ساق	43	a 0.078 ± 2.66	a 0.569 ± 12.57	28	بروز من دون ساق
دمعة العين	37	a 0.084 ± 2.50	a 0.836 ± 13.05	13	دمعة العين
الهرابي	8	a 0.182 ± 2.50	a 1.348 ± 11.90	5	الهرابي
مستوى المعنوية	--	NS	Ns	NS	مستوى المعنوية

(ns) غير معنوي.

تأثير شكل الصبغين في قياسات أبعاد الجسم المدروسة في الماعز الشامي: قياسات أبعاد الجسم المدروسة ولكن كانت هناك فروق حسابية لصالح شكل دمعة العين فيها.

يتضح من الجدول (3) عدم وجود تأثير معنوي لشكل الصبغين في

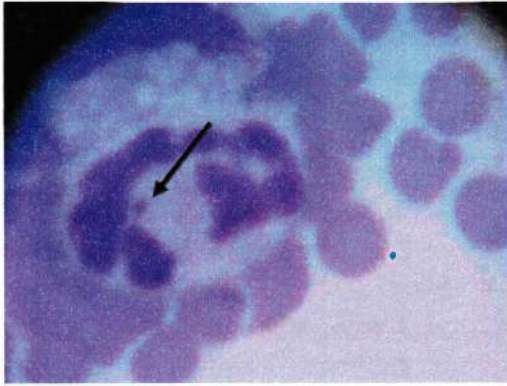
جدول (3) تأثير شكل الصبغين في قياسات أبعاد الجسم (محيط الصدر و طول الجسم وإرتفاع المقدمة) لدى الماعز الشامي

شكل الصبغين	عدد المشاهدات	المتوسط ± الخطأ القياسي (سم)		
		محيط الصدر	طول الجسم	ارتفاع المقدمة
عصا الطبال	72	a 0.49 ± 54.85	a 0.53 ± 53.86	a 0.59 ± 51.65
بروز من دون ساق	28	a 0.80 ± 55.12	a 0.87 ± 53.44	a 0.95 ± 51.12
دمعة العين	13	a 1.18 ± 56.23	a 1.28 ± 56.19	a 1.40 ± 53.30
الهرابي	5	a 1.91 ± 55.50	a 2.06 ± 53.60	a 2.27 ± 51.30
مستوى المعنوية	--	Ns	Ns	Ns

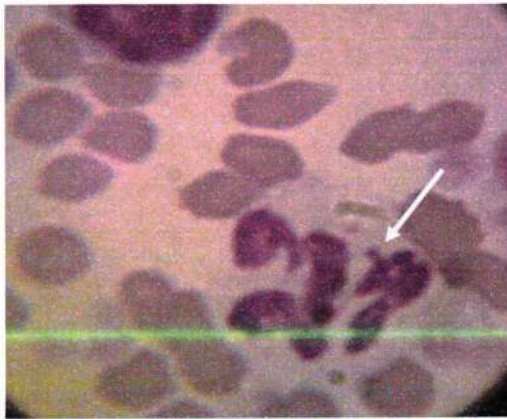
(ns) غير معنوي.

المعادلات التوقع الناتجة من الإنحدار المتعدد لصفات النمو وأبعاد الجسم على صفات الصبغين الجنسي في الماعز الشامي من الجدول (4) توضح معادلات التوقع الناتجة من الإنحدار المتعدد ان الوزن عند الميلاد في الماعز الشامي سيقبل بمقدار 0.176 و 0.084 كغم بزيادة البعد العمودي والأفقي للصبغين مايكرومتر واحد على التوالي، كما ان الصفة نفسها ستقل 0.0014 كغم عند زيادة عدد فصوص النواة الحاملة للصبغين فصاً واحداً، وهذا يشير الى ان العلاقة عكسية ما بين قياسات ابعاد الصبغين مع الوزن عند الميلاد فعند زيادة

البعد الاقوي والعمودي للصبغين الجنسي وكذلك عدد فصوص النواة سيؤدي الى انخفاض بالوزن عند الميلاد في الماعز الشامي. كذلك يتبين من الجدول (4) ان الوزن عند الفطام كان انحداره سالباً ومعنوياً ( $p < 0.01$ )، إذ سيقبل بمقدار 0.707 كغم عند زيادة البعد العمودي للصبغين مايكرومتر واحد، في حين ان الوزن سيزداد بمقدار 3.17 كغم عند زيادة البعد الأفقي للصبغين مايكرومتر واحد ويزداد أيضاً بمقدار 0.742 كغم عند زيادة فص واحد من فصوص النواة الحاملة للصبغين الجنسي وبمعامل تحديد مقداره 0.29 .



الصورة (1) الصبغين الجنسي نوع عصا الطبال قوة تكبير (2000 X)



الصورة (2) الصبغين الجنسي من نوع بروز من دون ساق قوة تكبير (2000 X)



الصورة (3) الصبغين الجنسي نوع دمعة العين قوة تكبير (2000 X)

فيما بينها وكانت النتائج (الجدول 1) اذ كانت النسبة الاعلى للشكل عصا الطبال يليه الشكل بروز من دون ساق ثم دمعة العين واخيرا الشكل الهرابي الذي كان الاقل، بلغت النسب في الماعز الشامى 64.22 و 17.48 و 15.04 و 3.26 % على التوالي. ان هذه النسب تبين وجود شكل عصا الطبال بنسب عالية ويفارق واضح عن بقية الأشكال ولاسيما الشكل الهرابي الذي شكل أقل نسبة والأشكال من 1 الى 4 تمثل أشكال الصبغين الجنسي التي تم تشخيصها. ان نتائج الدراسة الحالية اختلفت مع نتائج سابقاتها من الدراسات التي جرت على الحيوانات المزرعية اذ أشارت دراسة [5] على الأغنام والماعز بان نسب وجود الشكل بروز من دون ساق هي الاعلى مقارنة ببقية الأشكال، كما اختلفت النتيجة الحالية مع ما توصلت اليه [1] التي أشارت الى ارتفاع نسبة وجود الشكل بروز من دون ساق في الماعز الشامى 30.6%. أما فيما يخص أدنى نسب أشكال الصبغين الجنسي فقد اتفقت هذه الدراسة مع ما توصلت اليه غالبية الدراسات السابقة بخصوص قلة ظهور الشكل الهرابي في خلايا الدم البيض العدلات اذ لم يعثر [11] على الشكل الهرابي في أنويه خلايا الدم البيض العدلة للأغنام، اما [5] في دراسته وجد ان نسبة الشكل الهرابي 1.58% وتوصل [6] وكذلك [4] الى ان اقل نسبة كانت للهرابي والتي بلغت 1.89% ، في حين اختلفت نتائج هذه الدراسة فيما يخص أدنى نسبة لشكل الصبغين مع دراسة [1] التي أشارت الى ان أدنى نسبة لشكل الصبغين في الماعز كانت لشكل دمعة العين في كل من الماعز الشامى 14.3%، إن اختلاف نسب وجود أشكال الصبغين الجنسي من دراسة لأخرى قد يعزى الى اختلاف نوع الحيوان والسلالة وحالة القطيع الصحية والمنشأ ونوع التربية وطريقة التزاوج وحجم العينة المدروسة فضلا عن الموقع الجغرافي.

الجدول (1) أعداد الصبغين الجنسي ونسب توزيع أشكاله في خلايا الدم

البيض العدلات لدى الماعز الشامى

التسلسل	شكل الصبغين	العدد المشاهد	العدد المتوقع	النسبة المئوية (%)
1	عصا الطبال	158	262	64.22
2	بروز بدون ساق	43	262	17.48
3	دمعة العين	37	262	15.04
4	الهرابي	8	262	3.26
المجموع	--	246	246	% 100
	قيمة مربع كاي ( $\chi^2$ )	---	---	**83.402

\*\* (p < 0.01)

الأفقي هي مايكرومتر ( $\mu\text{m}$ )، كما تم حساب عدد فصوص الصبغين، بواقع 8-10 شريحة لكل معزة.

2- قياس صفات النمو وأبعاد الجسم: تم أخذ الوزن عند الميلاد بعد الولادة بحدود ساعتين باستخدام سلة بلاستيكية مثبتة بميزان قرصي سعة 20 كغم، وبعد  $120 \pm 15$  يوماً تم أخذ الوزن عند الفطام الوزن باستخدام ميزان سعة 150 كغم وتم حساب الزيادة الوزنية من خلال المعادلة التالية :

الزيادة الوزنية = الوزن عند الفطام - الوزن عند الميلاد

وكذلك تم أخذ قياسات أبعاد الجسم عند الفطام ( محيط الصدر ، طول الجسم، وارتفاع الجسم عند المقدمة ) ، إذ تم أخذ هذه القياسات لكل حيوان في حالة الوقوف الطبيعي قدر الامكان على أرضية مستوية، إذ تم قياس محيط الصدر ( Heart girth ) باستخدام شريط القياس حول المنطقة الصدرية مباشرة خلف القوائم الأمامية، كما تم قياس طول الجسم ( body length ) من مقدمة الصدر ولغاية نهاية الحيوان عند العظام الدبوسية باستخدام مسطرة خشبية مثبت عليها شريط قياس، وأخيراً تم قياس ارتفاع المقدمة (whither height) والتي تمثل المسافة العمودية من الأرض الى أعلى نقطة في الظهر باستخدام المسطرة الخشبية المشار إليها آنفاً.

أستعمل البرنامج الأحصائي Statistical Analysis System ( SAS ) [16] وفق طريقة الأتمودج الخطي العام General Linear Model (GLM) في تحليل البيانات لدراسة العوامل المختلفة في الصفات المدروسة وفق النماذج الرياضية أناه. وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات بأختبار Duncan [10] متعدد المديات كما تم تطبيق إختبار مربع كاي (Qui-Square) لمقارنة الفروق المعنوية بين نسب أشكال الصبغين المدروسة.

للتحرري عن تأثير شكل الصبغين وبعض العوامل الثابتة في صفات النمو وأبعاد الجسم المدروسة.

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + S_j + T_k + B_l + e_{ijklm}$$

إذ أن:

$Y_{ij}$  : قيمة المشاهدة للصفة المدروسة (المشاهدة  $z$  للشكل  $i$ ).

$\mu$  : المتوسط لعام للصفة.

$A_i$ : تأثير شكل الصبغين (إذ شملت الدراسة أربعة أشكال للصبغين وكما ذكرت آنفاً).

$S_j$  : تأثير جنس المولود ( ذكر ، أنثى )

$T_k$  : تأثير نوع الولادة ( فردية ، توأمية ، ثلاثية ، رباعية )

$B_l$  : تأثير عمر الأم ( 2 ، 3 ، 4 )

$e_{ijklm}$  : الخطأ العشوائي الذي يتوزع طبيعياً بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره  $\delta^2 e$ .

#### النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج الدراسة الحالية أن أعداد الصبغين الجنسي ونسب توزيع أشكاله في عينة الماعز الشامي المدروسة على كريات الدم البيض العدلات بأن النسب المنوية للأشكال تباينت معنوياً ( $p < 0.01$ )

المتمثل بدريس الجث، كما يقدم المركز بمقدار 500 غم/ يوم/ حيوان وتزداد هذه الكمية قبل الموسم التأسلي وفي أثنائه للمعزات والتبوس على وفق التركيبة المحددة للحيوانات جميعها مع توفير قوالب الأملاح المعدنية.

#### العمل المختبري وجمع العينات:

1. تم جمع عينات الدم من 35 معزة، إذ تم سحب نماذج الدم من الوريد الوداجي للحيوانات و بمقدار 5 مللتر لكل عينة في أنبوبة أختبار تحوي على مانع التخثر (EDTA) وذلك لإستخدامها في فحوص الصبغين الجنسي (Sex chromatin tests). أستخدمت طريقة [21] في تحضير المسحات الدموية، إذ تم أخذ قطرة صغيرة من الدم بواسطة ماصة دقيقة نظيفة وضعت القطرة على احد طرفي شريحة زجاجية ونشرت قطرة الدم على الشريحة الزجاجية باستعمال شريحة زجاجية أخرى وضعت حافظها أمام قطرة الدم بشكل متعامد ويزاوية 45 درجة. ثم جففت المسحة الدموية بعد ذلك سريعاً بالهواء، ولغرض تثبيت المسحة الدموية غطست الشريحة الزجاجية التي فيها المسحة الدموية في وعاء كوبلن حاوٍ على الكحول المثيلي المطلق لمدة دقيقتين ثم تركت بعد ذلك لتجف في الهواء، بعدها حفظت الشرائح الزجاجية في صناديق بلاستيكية محكمة الغلق خاصة بها لمنع الأتربة من الوصول إليها لحين نقلها إلى المختبر وإجراء عملية التصبيغ لها. تم استخدام طريقة [9] في تصبيغ المسحات الدموية، إذ تم وضع الشرائح الزجاجية على حامل معدني مستوي مشبك قبل إضافة الصبغة اللازمة إليها وهي صبغة كمزا، بعدها وضعت قطرات من الصبغة لتغطي كامل الشريحة الزجاجية، ثم تركت لمدة 5-10 دقائق، بعدها تم تخفيف الصبغة بأضافة قطرات من محلول دارئ الفوسفات (المحضر من 73.5 مل من محلول فوسفات الصوديوم ثنائي القاعدة و 26.5 مل من فوسفات البوتاسيوم أحادي القاعدة) الى الشرائح وتترك لمدة خمس دقائق أخرى بعدها غسلت بالماء المقطر وجففت في الهواء. وأخيراً تم وضع قطرات من مادة كندا بلسم على الشريحة لغرض تثبيت غطاء الشريحة لغرض اجراء الفحص.

فحصت المسحات الدموية المحضرة باستعمال العدسة الزيتية (100X) وباستخدام عدسة عينية بقوة X20 (قوة التكبير 2000). استخدم في الفحص طريقة القلاع (Meander System)، إذ حسبت 200 خلية عدلة (Neutrophil) للعثور على الصبغين الجنسي في هذه الخلايا والنسب المنوية لإشكاله المختلفة وهي: عصا الطبال (Drum stick) ، بروز من دون ساق (Essile nodule) ، دمة العين (Tear drop)، الشكل الهراوي (Small club).

بعدها تم قياس البعد العمودي والأفقي (Vertical and Horizontal axes) للصبغين الجنسي في انوية الخلايا (Nuclear area) عن طريق استبدال إحدى العدسات العينية للمجهر وتثبيت المسطرة المجهرية الخاصة بقياس التراكيب الخلوية (Ocular Micrometer) عوضاً عنها، وكانت الوحدة المستخدمة لقياس البعد العمودي والبعد

## إستخدام قياسات الصبغين الجنسي كمؤشر انتخابي لبعض صفات النمو وأبعاد الجسم في الماعز الشامي

علي نجم عبدالله<sup>1</sup>، وسن جاسم محمد<sup>2</sup>، احمد علاء الدين طه<sup>1</sup>

<sup>1</sup>دائرة البحوث الزراعية، وزارة الزراعة، بغداد، العراق

<sup>2</sup>كلية الزراعة، جامعة بغداد، بغداد، العراق

e-mail:naali127@yahoo.com

### الملخص

أجري البحث في محطة بحوث المجترات التابعة لدائرة البحوث الزراعية/ وزارة الزراعة وأستخدمت 35 معزة شامية لغرض دراسة تأثير شكل وصفات الصبغين الجنسي في صفات النمو (الوزن عند الميلاد ووزن الفطام والزيادة الوزنية) وكذلك أبعاد الجسم (محيط الصدر وطول الجسم وارتفاع المقدمة). تم سحب عينات الدم وتحضيرها وفحصها لتحديد شكل الصبغين الجنسي وقياساته في خلايا الدم (البيض العذلة) وربطها بالصفات المدروسة. بينت النتائج ما يأتي: بلغت النسبة المئوية لشكل الصبغين الجنسي من نوع عصا الطبال ويزور من دون ساق ودمعة العين والهرابي 64.22 و 17.48 و 15.04 و 3.26% على التوالي، ولم يلاحظ أي تأثير معنوي لشكل الصبغين في الصفات المدروسة. تم استخدام معامل الإنحدار المتعدد لغرض دراسة العلاقة ما بين الصفات المدروسة وقياسات الصبغين وكانت النتائج كما يأتي: كان انحدار وزن الفطام عالي المعنوية على البعد العمودي والأفقي للصبغين وعدد الفصوص للنواة الحاملة للصبغين، في حين أن الزيادة الوزنية كان انحدارها معنويًا على صفات الصبغين المدروسة، إذ أن صفات النمو وأبعاد الجسم المدروسة جميعها ستقل بزيادة البعد العمودي للصبغين وتزداد بزيادة البعد الأفقي وعدد الفصوص باستثناء وزن الميلاد الذي سيقل بزيادة أبعاد الصبغين المدروسة جميعها.

**الكلمات المفتاحية:** الصبغين الجنسي، صفات النمو، أبعاد الجسم، الإنحدار المتعدد، الماعز الشامي.

### المقدمة

دراسة التغييرات في صفات هذا الصبغين، لذا فإن اعتماد تلك الأدلة الوراثية للتنبؤ بالأداء الإنتاجي والتاسلي قد يكون مجدياً كطريق للانتخاب غير المباشر لهذه الصفات مما يسرع من برامج التحسين ويقلل من الجهد والتكاليف في إدارة القطعان [4]، كما ان شكل ووجود الصبغين الجنسي هو حالة وراثية ليس للبيئة الخارجية أي دور يذكر فيها [18، 19] لذا ظهرت حديثاً العديد من الدراسات التي تربط بين صفات الصبغين الجنسي وعلاقتها مع بعض مظاهر الأداء لدى الحيوانات المزرعية للوصول بالتحسين الوراثي الى أعلى مايمكن. ان الهدف من الدراسة الحالية هو تحديد نسب أشكال الصبغين الجنسي في خلايا الدم البيض متعددة أشكال النوى (العذلات) وملاحظة نسبة تواجدها في عينة من دم الماعز الشامي المرعى في العراق ودراسة تأثير شكل وقياسات الصبغين الجنسي في صفات النمو وأبعاد الجسم من خلال معادلات التوقع في الماعز الشامي.

### المواد وطرائق العمل

نفذ البحث في محطة بحوث المجترات التابعة لدائرة البحوث الزراعية / وزارة الزراعة، وشمل البحث 35 معزة شامية في موسمها الانتاجي الثاني والثالث بهدف دراسة صفات الصبغين الجنسي وعلاقته بالأداء. تربي الحيوانات في حظائر شبه مفتوحة (35% مسقفة 65% مفتوحة) مخصصة لإيوائها، وتتم إدارة القطيع وفق برنامج يتضمن التغذية والتحصين لموسم السنفاد والإعدادات لمرحلتي الحمل والولادة فضلاً عن الرعاية الصحية والبيطرية. وتتباين كمية العلف ونوعيته باختلاف المواسم وتبعاً لتوافرها، إذ يقدم العلف الأخضر أو العلف الخشن

يعد الماعز من بين أقدم الحيوانات المستأنسة من قبل الانسان ويعتقد أن أصل الماعز الموجود اليوم هي منطقة جبال زاكروس. كما يعد أحد الدعائم الاقتصادية ومصدر الرزق للمزارعين في المناطق الريفية التي لا تتوفر فيها سبل بديلة للعيش سوى تربية الحيوانات، إذ يتميز الماعز بسهولة وقلة تكاليف تربيته، ويستطيع الماعز العيش والإنتاج بمجرد تغذيته على الشجيرات والأشجار المتوفرة وكذلك العيش في مختلف الظروف البيئية القاسية والمناطق الزراعية المنخفضة الخصوبة [8، 12، 13، 20]. وبدأ مربو الماعز بوضع خطط تهدف الى تحسين انتاجيته من خلال الأنتخاب وكذلك التنبؤ ببعض الصفات الاقتصادية المهمة من خلال ربطها بصفات أخرى مثل استخدام قياسات أبعاد الجسم كوسيلة للتنبؤ بمعدل النمو وشكل وصفات الذبيحة [14، 17، 22] إلا أن المدة الزمنية التي تستغرقها هذه الطرق غالباً ما تكون طويلة قد تصل الى عدة سنوات [2] الأمر الذي دعا الباحثون الى اتباع أساليب مبتكرة منها استخدام الأنتخاب المبكر بعد إجراء تقويم للحيوانات عند أعمار مبكرة لبعض الصفات التي بالإمكان قياسها بزمن مبكر من عمر الحيوان لغرض استخدامها دوال غير مباشرة للأنتخاب لصفات اقتصادية معينة مثل ربط القدرات الإنتاجية للحيوانات الزراعية بأشكال وتواجد الصبغين الجنسي في كريات الدم البيضاء [15]. وان التطورات المهمة التي حدثت في السنوات الأخيرة أدت الى إمكانية استعمال المؤشرات الوراثية المختلفة ومنها وجود الصبغين الجنسي في عدد من الخلايا الجسمية عكس وبشكل واضح الإمكانية التطبيقية التي يمكن الوصول إليها عن طريق

Ascorbic Acid in Domestic Animal. Proceeding of the 2<sup>th</sup> symposium, Kartause Ittingen, Switzerland  
29- Novero, R P., M. M. Becj, E. W. Gleaves, A. L. Johnson and J. A. Deshazer. 1991. Plasma

progesterone, luteinizing hormone concentration and granulose cell responsiveness in heat stress hens. Poultr Sci. 70: 2335-2339.

## The effect of different levels of sage plant powder on the production performance of ISA Brown strain laying hens

Abdulrazzaq N. Alduri , Tarik. K. Al-Jumaili , Firas. M. Al-Khailani

*Department of Animal Production , College of Agriculture , Tikrit University , Tikrit , Iraq*

### Abstract

This study was conducted to investigate the effect of adding different levels of sage leaf powder in the diets of laying hens of the ISA Brown strain, and studied productive treatment. It was performed in the Poultry Research Station at the office of agricultural Research of the Ministry of Agriculture for the period from (03/03/2015) to (27/04/ 2015) for a period of eight weeks. We used 540 ISA Brown laying hen breeds at the age of 39 weeks were used, they were randomly assigned in cages to six treatment that included three Replicate, with 30 chickens for every replicate. The treatment experiments was as follows: The first treatment was a control group. The sage leaf powder were added to the second, third, fourth, fifth and sixth treatment by the amount of 1, 2, 3, 4, and 5 grams, respectively, to the diet.

The addition of sage leaf powder to the diet, with the amount of 1, 2, 3, 4 and 5 g/kg to the diet led to the significant improvement in the level of (P <0.05) qualities and production of eggs (the proportion of egg production, the a cumulative number of eggs, egg weight, egg mass and feed conversion ratio) compared to the control group, during the period of 39-46 weeks..

**Keywords:** sage, laying hens, productive.

- 1- Khalil, A. D. S. Hassawi and A. kharma. 2005. Genetic relationship among *Salvia* spices and antimicrobial activity of their crude extract against pathogenic bacteria. *Asian J. of Plant Sci.*, 4(5): 544-549.
- 2- Osman M.; Yakout, H.M.; Mot-Awe, H.F. and W.F. Ezz-ElArab. 2010 Productive, Physiological, Immunological and Economical effect of supplementing natural feed additives to broiler diets. *Egypt. Poult. Sci.*, vol. (30), no.(1):(25-53).
- 3- Carig, W. J. 1999. Health promoting properties of cinnamon herbs. *An. J. Nutr.*70,491-499.
- 4- Soltan, M.A., R.S. Shewita, M.I. Al-katcha. 2008. Effect of deitory anis seeds supplmentation on growth performance, immune response, carcass traits and some blood parameters of broiler chicken, *Int. J. Pooult. Sci.*7:1078-1088.
- 5- Dalkilic, B. and T, Guler. 2009. The effect of dietary clove extract on caracass characterstics, digestive organ size and total coliform counts of small intestine in broilers. *Fyrat Universities, Sadlyk Bilimler Dergisi*, 23,3,153-159.
- 6- Medison, F.T., 2000. Productive characterestics of two strains of laying hens as effected by weight and age at puberty .MS. Thesis, University of Nebraska. Linolin, Lincd, NE.
- 7- Canan, S.B, M. Kuddusi Erhan and O. Kaynar. 2008. The effect of feeding thyme ,sage and rosemary oil on laying hen performance, cholesterol and some proteins ratio of egg yolk and *Escheriechia coli* count in feces. *Arch. Geflugelk* ,72(5).S.231-237.
- 8- Kaye, A. Kaya, H. Masit, M. Celebi, S. Esenbuga, N. Yoruk and M. A. karaoglu, 2013. Effects of diety inclusion of plant extract mixture and copper into layer diets on egg yield and quality ,yolk cholesterol and fatty acid composition. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 19:673-679.
- 9- Del compo, J. Amiot, M. J. and C, Nguyen. 2000. Antimicrobial effect of rosemary extract. *J. food protection*. 63:1359-1368.
- 10- Botsoglou, N. P. Florou-Paneri and E. Botsoglou. 2005. The effect of feeding rosemary, oregano, saffron and a-tocopheryl acetate on hen performance and qxidative stability of eggs .*South African Journal of Animal Science*,35(3).
- 11- Konemann, B. 1999. The Illustrated a-z over 10000 garden plants and how to cultivated them. Gordon cheers publications: Hong kong, pp: 811-817.
- 12- Schauenberg, P. and F. Paris. 1990. Guide to medicinal plant. Lutter worth Press, Isbn: 0-71888-2820-8.
- 13- Bernotiene, G, O. Nivinskiene, R. Butkiene and D. Mockute. 2007. Essential oil composition variability in sage (*Salvia Officinalisl.*) *Chemic*. 18 (4) 38-43.
- 14- Ryzner, M. J. Takacova, K. Cobanova, I. Placha, K. Venglovska and S. Faix. 2013. Effect of dietary *Salvia officinalis* essential oil and sodium selenite supplementation on antioxidative status and blood phagocytic activity in broiler chickens. *ACTA VET. BRNO* 2013, (82): 043-048; doi:10.2754/ avb 201382010043.
- 15- ISA Brown. 2009. General Management Guide Commercials nieuw . <http://www.isapoultry.com> .
- 16- N. R. C. National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry, 9<sup>th</sup> ed., National Acad . Press, Washington, D . C.: NAS, Pp. 155.
- 17- Duncan, D. B. 1955. Multiple range and multiple test . *Biometrics* , 11 : 1 – 42 .
- 18- SAS. Veraion, *Statistical Analysis System*. 2003. SAS Institute Inc . , Cary , NC . 27512 - 8000 , USA .
- 19- الحيثاني، ايلاف مشعل محمد. 2015. تأثير إضافة زيتي الميرمية والغار في الصفات الإنتاجية و الصفات الفسلجية لطيور السمان الياباني. رسالة ماجستير - الكلية التقنية - المسيب في جامعة الفرات الأوسط التقنية.
- 20- Metin Cabuk, E. Serdar, A. Ahmet and B. Mohamed. 2014. Effect of herbal essential oil mixture as a dietary Supplement on Egg production in quail . *The Scientific world Journal* .
- 21- Ozek, K. 2012. Effects of dietary herbal essential oil Mixture on laying performance, some serum biochemical Markers and humoral immunity in laying hens exposed to heat. *General Directorate of Agricultural Research. Mailbox; 51, 06171 Ankara Turkey* .
- 22- Nadia , R. L. , R.A. Hassan , E. M. Qota and H.M. Fayek. 2008 . Effect of natural antioxidant on oxidative stability of eggs and productive and preformance of laying hens. *Int. J. Poult. Sci.* , 7: 134 – 150 .
- 23- Cabuk, M. M. Bozkurt, A. Alcieck, A.U, cath, and K. H. C. Riner. 2006. The effect of mixture herbal essential oils on performance of laying hens under hot climatic conditions, south African Journl *Animal Sci. Vol 36 . PP. 135 – 141* .
- 24- Bozkurt, M., M. Alcicek, K.Kucukyilamaz and A.U. Catli. 2009. Effect of herbal essential oil mixture on growth, laying traits and egg hatching characterisitics of broiler breedars .*Poult. Sci.* 88, 2368.
- 25- Bolukbas, s. Canan, M. Kuddusi Erhan and ozgur Kaynar .2008. The effect of feeding thyme, sage and rosemary oil on laying hen performance, cholesterol and some proteins ratio of egg yolk and *Escherichia Coli* count in feces *Arch. Geflügelk*. 72 (5). S. 231-237 .
- 26- Ma, D., A. Shan and chenetal. 2005. Effect of ligustrum lucidum and schisandrs chinesis on egg production, antioxidant status and immunity of laying hens during heat stress: *Archives of Animal Nutrition*, 59. (6) : 439 – 447 .
- 27- Sturkie, P. D. 2000. *Avian Physiology*. 5<sup>th</sup> ed. New York, Heidelberg, Berlin, Springer Verlag.
- 28- Whitehead, C.C., M. A. Mitchell and P. C. Njoku. 1990. Effects of ascorbic acid on egg yolk and shell precursors in heat stressed laying hens. *Int:*

**المؤتمر العلمي الثالث لكلية الطب البيطري / جامعة تكريت للفترة 2 و 3 ايار 2016**

يعود السبب في التحسن الحاصل في معامل التحويل الغذائي عند اضافة مسحوق نبات الميرمية إلى علائق الدجاج البيضاء لمعاملات التجربة بإستثناء المعاملة الأولى إلى ارتفاع النسبة المئوية لإنتاج البيض (جدول 1) في هذه المعاملات التي انعكست نتيجتها على هذه الصفة علماً أن كمية العلف المستهلكة كانت متساوية في جميع المعاملات لأن الدجاج الأبيض يُغذى بعلف مقنن حسب دليل تربية هكذا نوع من الدجاج .

الأخرى. وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه (21 ؛ 22 ؛ 23 ؛ 25) إذ لاحظوا تحسن في معامل التحويل الغذائي لإنتاج البيض للدجاج البيضاء المضاف إلى علائقه خليط من الأعشاب الطبية متضمنه الميرمية وتتفق أيضاً مع (19) التي لاحظت تحسن صفة معامل التحويل الغذائي عند اضافة خليط من الزيوت متضمنه الميرمية لعلائق السمان الياباني خلال مقارنة مع مجموعة السيطرة،

**جدول (6) تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق نبات الميرمية في علائق الدجاج البيضاء سلالة ISA Brown في متوسط معامل التحويل الغذائي (غم علف / غم بيض) (± الخطأ القياسي) خلال المدد الانتاجية 39- 46 اسبوعاً من عمر الدجاج**

العمر	المدة الأولى	المدة الثانية	المدة الثالثة	المدة الرابعة	المدة الكلية
	39 - 40 اسبوعاً	41 - 42 اسبوعاً	43 - 44 اسبوعاً	45 - 46 اسبوعاً	39 - 46 اسبوعاً
معامل التحويل الغذائي (غم علف / غم بيض)					
T1	a 0.031 ± 2.16	ab 0.014 ± 2.12	a 0.032 ± 2.13	a 0.014 ± 2.25	a 0.018 ± 2.16
T2	ab 0.081 ± 2.10	a 0.042 ± 2.13	a 0.057 ± 2.07	b 0.089 ± 2.06	ab 0.060 ± 2.09
T3	ab 0.077 ± 2.08	bc 0.066 ± 2.00	ab 0.086 ± 2.02	b 0.024 ± 2.06	ab 0.062 ± 2.04
T4	ab 0.039 ± 2.02	cd 0.019 ± 1.94	ab 0.063 ± 1.98	b 0.061 ± 2.02	bc 0.038 ± 1.99
T5	ab 0.046 ± 1.98	bcd 0.036 ± 2.01	ab 0.022 ± 2.03	b 0.024 ± 2.00	b 0.026 ± 2.01
T6	b 0.030 ± 1.93	d 0.014 ± 1.86	b 0.043 ± 1.85	c 0.029 ± 1.85	c 0.024 ± 1.87

T1 = معاملة السيطرة ، T2 = إضافة 1غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T3 = إضافة 2غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية T4 = إضافة 3غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T5 = إضافة 4غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T6 = إضافة 5غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية. الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ( P < 0.05 ) .

**الملاحق**

ملحق ( 1 ) المركز البروتيني الحيواني المستعمل ، منتج من شركة أردنية  
 الملحق (2) التركيب الكيميائي لـ 1 كغم من مخاليط الفيتامينات والمعادن ( WAFI B.V )  
 (مستورد) WAFI B.V.

الكمية	الوحدة	المادة
200.000	IU/Kg	Vitamin A
50.000	IU/Kg	Vitamin D3
500	Mg/Kg	Vitamin E
40	Mg/Kg	Vitamin K3
40	Mg/Kg	Vitamin B1
90	Mg/Kg	Vitamin B2
180	Mg/Kg	Pantothenic acid
60	Mg/Kg	Vitamin B6
500	Mcg/Kg	Vitamin B12
600	Mg/Kg	Niacin
15	Mg/Kg	Folic acid
1.000	Mcg/Kg	Biotin
6.000	Mg/Kg	Choline chloride
1.000	Mg/Kg	Iron
200	Mg/Kg	Copper
1.600	Mg/Kg	Manganese
40	Mg/Kg	Iodine
5	Mg/Kg	Sodium
20	Mg/Kg	Calcium
100	Mg/Kg	BHT
18.000	FYT	Phytase ec3.1.3.26

الكمية	المادة
Kcal / kg 2125	Met .Energy
% 40.00	Crude protein
% 5.00	Crude Fat
% 2.10	Crude Fiber
% 27.20	Crude Ash
% 5	Calcium
%3.80	Lysine
% 2.00	Phosphrus
% 3.85	Av.phosphorus
% 3.29	Meth + Cyst
% 2.85	Methionin
% 2.20	Sodium
% 3.00	CL

هنالك فرق معنوي بينها وبين معاملات التجربة الاخرى , كذلك في المدة الانتاجية الرابعة (45 - 46) اسبوعاً تفوقت أيضاً المعاملة السادسة معنوياً بالمقارنة مع بقية المعاملات الاولى والثانية والثالثة والرابعة والخامسة، أما في المدة الإنتاجية الكلية (39 - 46) اسبوعاً فقد سجلت المعاملة السادسة تفوقاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملات الاولى والثانية والثالثة والخامسة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين المعاملة الرابعة، وسجلت المعاملة الاولى انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملات الرابعة والخامسة والسادسة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين معاملات التجربة الاخرى. أن تحسن صفة كتلة البيض عند اضافة مسحوق نبات الميرمية جاءت متفقة مع ما توصل اليه (19 ؛ 21) الذين لاحظوا تحسن صفة كتلة البيض المضاف الى علائجه مستخلصات الاعشاب الطبية متضمنة الميرمية وينسب مختلفة وتفوقها في صفة كتلة البيض على مجموعة السيطرة.

بلازما الدم وكل من معدل انتاج البيض (H.D)% وعدد البيض التراكمي (بيضة/طير) ومعدل وزن البيضة (29).

- كتلة البيض :

تشير نتائج الجدول (5) إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات في صفة كتلة البيضة للمدة الإنتاجية الاولى (39 - 40) اسبوعاً للدجاج البياض سلالة ISA Brown المغذى على عليقة حاوية على مسحوق نبات الميرمية تفوقت المعاملة السادسة معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملة الاولى ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات، أما في المدة الإنتاجية الثانية (41 - 42) اسبوعاً تفوقت أيضاً المعاملة السادسة معنوياً بالمقارنة مع بقية المعاملات الاولى والثانية والثالثة والرابعة والخامسة، في المدة الإنتاجية الثالثة (43 - 44) اسبوعاً سجلت أيضاً المعاملة السادسة تفوقاً معنوياً بالمقارنة مع المعاملات الاولى والثانية والثالثة والخامسة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين المعاملة الرابعة، وسجلت المعاملة الاولى انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملة السادسة ولم يكن

جدول (5) تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق نبات الميرمية في علائق الدجاج البياض سلالة ISA Brown في متوسط كتلة البيض

(غم / طير / يوم) ( $\pm$  الخطأ القياسي) خلال المدد الانتاجية 39 - 46 اسبوعاً من عمر الدجاج

العمر / المعاملات	المدة الاولى 39 - 40 اسبوعاً	المدة الثانية 41 - 42 اسبوعاً	المدة الثالثة 43 - 44 اسبوعاً	المدة الرابعة 45 - 46 اسبوعاً	المدة الكلية 39 - 46 اسبوعاً
كتلة البيض (غم / طير / يوم)					
T1	b 0.797 ± 55.58	c 0.383 ± 56.52	b 0.851 ± 56.31	c 0.327 ± 53.35	c 0.453 ± 55.43
T2	ab 2.120 ± 57.15	c 1.134 ± 56.26	b 1.655 ± 58.07	b 2.580 ± 58.20	bc 1.681 ± 57.42
T3	ab 2.080 ± 57.63	bc 2.014 ± 59.87	b 2.590 ± 59.37	b 0.675 ± 58.19	bc 1.785 ± 58.77
T4	ab 1.133 ± 59.39	bc 0.588 ± 61.75	ab 1.997 ± 60.85	b 1.829 ± 59.48	ab 1.164 ± 60.37
T5	ab 1.399 ± 60.65	bc 1.039 ± 59.64	b 0.626 ± 59.06	b 0.726 ± 60.04	b 0.762 ± 59.68
T6	a 0963 ± 62.06	a 0.497 ± 64.63	a 1.522 ± 64.82	a 0.986 ± 64.88	a 0.845 ± 64.09

T1 = معاملة السيطرة ، T2 = إضافة 1غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T3 = إضافة 2غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية T4 = إضافة 3غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T5 = إضافة 4غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T6 = إضافة 5غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية. الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ( $P < 0.05$ ) .

المعاملتين الاولى والثانية ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات، وسجلت المعاملة الثانية انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملة الثالثة والرابعة والخامسة والسادسة، في المدة الإنتاجية الثالثة (43 - 44) اسبوعاً فقد تحسنت المعاملة السادسة أيضاً معنوياً بالمقارنة مع المعاملتين الاولى والثانية ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات، وكذلك في المدة الإنتاجية الرابعة (45 - 46) اسبوعاً سجلت المعاملة السادسة أيضاً تحسناً معنوياً بالمقارنة مع بقية المعاملات الاولى والثانية والثالثة والرابعة والخامسة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات، وفي المدة الإنتاجية الكلية (39 - 46) اسبوعاً تحسنت المعاملة السادسة معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملة الاولى والثانية والثالثة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات، وسجلت المعاملة الاولى انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملتين الرابعة والسادسة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين معاملات التجربة

يعود التحسن المعنوي في كتله البيض عند اضافة مسحوق نبات الميرمية إلى علائق الدجاج البياض إلى الارتفاع المعنوي في عدد البيض التراكمي ومعدل وزن البيضة لمعاملات الميرمية بسبب العلاقة بين كتلة البيض ومعدل وزن البيضة وعدد البيض المنتج عليه اظهرت معاملات اضافة مسحوق نبات الميرمية في العليقة زيادة معنوية مقارنة بمعاملة السيطرة .

- معامل التحويل الغذائي :

تشير نتائج الجدول (6) إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات في صفة معامل التحويل الغذائي للمدة الإنتاجية الاولى (39 - 40) اسبوعاً للدجاج البياض سلالة ISA Brown المغذى على عليقة حاوية على مسحوق نبات الميرمية فقد تحسنت المعاملة السادسة معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملة الاولى ولم يكن هنالك فرق معنوي بينهما وبين بقية المعاملات، أما في المدة الإنتاجية الثانية (41 - 42) اسبوعاً تحسنت المعاملة السادسة أيضاً معنوياً بالمقارنة مع

السادسة معنوياً بالمقارنة مع المعاملتين الأولى والثانية ولم يكن هنالك فرق معنوي بينهما وبين بقية المعاملات ، وسجلت المعاملة الثانية انخفاضاً معنوياً بالمقارنة مع بقية معاملات التجربة، في المدة الإنتاجية الثالثة (43 - 44) اسبوعاً سجلت أيضاً المعاملة السادسة توفراً معنوياً بالمقارنة مع المعاملة الثانية التي سجلت ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات، وكذلك في المدة الإنتاجية الرابعة (45 - 46) اسبوعاً فقد تفوقت أيضاً المعاملة السادسة معنوياً بالمقارنة مع المعاملات الأولى والثانية والثالثة والرابعة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات ، وسجلت المعاملة الأولى انخفاضاً معنوياً بالمقارنة مع المعاملتين الخامسة والسادسة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين معاملات التجربة الأخرى، وفي المدة الإنتاجية الكلية (39 - 46) اسبوعاً تفوقت المعاملة السادسة معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملات الأولى والثانية والثالثة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات ، وسجلت المعاملة الثانية انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملات الثالثة والرابعة والخامسة والسادسة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين المعاملة الأولى. أن تحسن صفة وزن البيض عند اضافة مسحوق نبات الميرمية جاءت متفقة مع ما توصل اليه (19 ؛ 21 ؛ 23) الذين وجدوا زيادة معنوية في وزن البيض للمعاملات المضاف إليها زيت الميرمية وينسب مختلفه وتفوقها في صفة وزن البيض على مجموعة السيطرة. ولا تتفق هذه النتائج جمع ما توصل اليه (24) الذين لاحظوا ان اضافة الزيوت الأساسية لعلائق أمهات فروج اللحم لم تؤثر على وزن البيض ؛ (25) الذين لاحظوا ان اضافة الزيوت الأساسية لعلائق الدجاج البياض لم تؤثر على وزن البيض.

جدول (4) تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق نبات الميرمية في علائق الدجاج البياض سلالة ISA Brown في متوسط وزن البيض (غم) ( $\pm$  الخطأ القياسي) خلال المدد الإنتاجية 39 - 46 اسبوعاً عمر الدجاج

العمر	المدة الأولى	المدة الثانية	المدة الثالثة	المدة الرابعة	المدة الكلية
	39 - 40 اسبوعاً	41 - 42 اسبوعاً	43 - 44 اسبوعاً	45 - 46 اسبوعاً	39 - 46 اسبوعاً
وزن البيض (غم)					
T1	bc 0.259 ± 66.98	b 0.491 ± 68.22	ab 0.627 ± 67.82	c 0.917 ± 66.60	dc 0.531 ± 67.40
T2	c 0.398 ± 66.08	c 0.351 ± 66.50	b 0.159 ± 67.22	bc 0.409 ± 67.70	d 0.263 ± 66.88
T3	abc 0.318 ± 67.62	ab 0.467 ± 69.13	ab 0.918 ± 69.33	c 0.131 ± 67.41	bc 0.402 ± 68.38
T4	ab 0.567 ± 67.78	ab 0.434 ± 69.48	ab 0.322 ± 69.07	bc 0.301 ± 67.90	abc 0.096 ± 68.56
T5	ab 0.829 ± 68.53	ab 0.333 ± 69.37	ab 0.144 ± 68.92	ab 0.931 ± 69.53	ab 0.643 ± 69.09
T6	a 0.433 ± 69.20	a 0.482 ± 70.20	a 0.088 ± 69.87	a 0.267 ± 70.05	a 0.248 ± 69.83

T1 = معاملة السيطرة ، T2 = إضافة 1غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T3 = إضافة 2غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية T4 = إضافة 3غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T5 = إضافة 4غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T6 = إضافة 5غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية. الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ( $P < 0.05$ ) .

تحسن هضم الغذاء وزيادة وزن البيض (21). ذكر (28) وجود ارتباط موجب معنوي بين تركيز هرمون الاستروجين في بلازما الدم وبين تراكيز الدهون المتعادلة والبروتينات الدهنية والاحماض الدهنية الحرة والبروتين في بلازما الدم كذلك بين تركيز هرمون الاستروجين في

تؤدي إلى زيادة إنتاج البيض (26) أو لاحتواء نبات الميرمية على مواد كيميائية لها تأثير مشابه لمفعول الهرمون الأنثوي الأستروجين وأستناداً إلى ما ذكره (27) على ان هرمون الاستروجين يعمل على تعزيز نمو قناة البيض وزيادة افراز الغدد الانبوبية الفارزة والمساعدة في تصنيع البروتينات الخاصة في قناة البيض مثل الالفالوبومين Ovalbumin كونه اليومين Conalbumin ، الاليسوزايم Lysozyme وسلف بروتينات الصفار Yolk Protien Precursor . وان سلف بروتين الصفار ينتقل خلال الدم تحت تأثير هرمون الاستروجين إلى المبيض وفي المبيض ينشطر إلى نوعين من بروتينات الصفار هما ليوفيتالين Lipovitellin وفوسفاتين Phosphatin كما تنتقل الكليسيريدات الثلاثية Triglycerides إلى الصفار على هيئة بروتينات وحيث تتكون عملية تكوين الدهن Lipogegensis الخاص بالصفار تحت سيطرة هرمون الاستروجين وذلك عن طريق تأثيره على الكبد .

- وزن البيض :

تشير نتائج الجدول (4) إلى وجود فروق معنوية بين المعاملات في صفة وزن البيضة للمدة الإنتاجية الأولى (39 - 40) اسبوعاً للدجاج البياض سلالة ISA Brown المغذى على عليقة حاوية على مسحوق نبات الميرمية فقد تفوقت المعاملة السادسة معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملتين الأولى والثانية ولم يكن هنالك فرق معنوي بينهما وبين بقية المعاملات ، وسجلت المعاملة الثانية انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملات الرابعة والخامسة والسادسة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين معاملات التجربة الأخرى. أما في المدة الإنتاجية الثانية (41 - 42) اسبوعاً تفوقت أيضاً المعاملة

قد يعود سبب الزيادة المعنوية لوزن البيض للمعاملة التي اضيف إليها نبات الميرمية على الزيوت التي الى تحتوي على الفلافونيدات التي تعمل كمضاد فطري وبكتيري ومضاد للالتهابات الأخرى وهذه الخصائص أو المميزات الموجودة في الفلافونيدات يمكن ان تقلل او تثبط او تمنع تكوين الافلاتوكسينات وبالتالي تؤدي الى كفاءة عالية في

جدول (2) تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق نبات الميرمية في علائق الدجاج البياض سلالة ISA Brown في متوسط نسبة إنتاج البيض (H.D) % (± الخطأ القياسي) خلال المدة الانتاجية 39 - 46 اسبوعاً من عمر الدجاج

العمر / المعاملات	المدة الاولى 39 - 40 اسبوعاً	المدة الثانية 41 - 42 اسبوعاً	المدة الثالثة 43 - 44 اسبوعاً	المدة الرابعة 45 - 46 اسبوعاً	المدة الكلية 39 - 46 اسبوعاً
<b>نسبة إنتاج البيض (H.D) %</b>					
T 1	a 0.939 ± 82.98	b 0.603 ± 82.85	b 0.696 ± 83.03	b 0.705 ± 80.10	b 0.238 ± 82.24
T 2	a 2.741 ± 86.48	b 1.258 ± 84.60	ab 2.275 ± 86.40	ab*3.275 ± 85.97	ab 2.169 ± 85.86
T 3	a 2.981 ± 85.23	ab 3.297 ± 86.60	ab 3.258 ± 85.63	ab 1.011 ± 86.33	ab 2.538 ± 85.95
T 4	a 1.333 ± 87.62	ab 1.386 ± 88.87	ab 2.983 ± 88.10	a 2.613 ± 87.60	ab 1.816 ± 88.06
T 5	a 2.373 ± 88.50	ab 1.822 ± 85.97	ab 1.646 ± 85.70	ab 1.829 ± 86.35	ab 1.807 ± 86.63
T 6	a 1.709 ± 89.68	a 1.055 ± 92.07	a 2.292 ± 92.77	a 1.109 ± 92.62	a 1.334 ± 91.78

T1 = معاملة السيطرة ، T2 = إضافة 1غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T3 = إضافة 2غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية T4 = إضافة 3غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T5 = إضافة 4 غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T6 = إضافة 5غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية. الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ( P < 0.05 ) .

التجربة الأخرى ، و في المدة الإنتاجية الثالثة (43 - 44) اسبوعاً سجلت أيضاً المعاملة السادسة توفراً معنوياً بالمقارنة مع المعاملة الأولى التي سجلت ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات ، وكذلك في المدة الانتاجية الرابعة (45 - 46) اسبوعاً فقد تفوقت المعاملتين الرابعة والسادسة معنوياً التي سجلت بالمقارنة مع المعاملة الأولى التي سجلت ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات ، وفي المدة الإنتاجية الكلية (39 - 40) اسبوعاً تفوقت المعاملة السادسة معنوياً (P < 0.05) بالمقارنة مع المعاملة الأولى ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات.

- عدد البيض التراكمي :

تشير نتائج الجدول (3) عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات في صفة عدد البيض التراكمي للمدة الإنتاجية الأولى (39 - 40) اسبوعاً للدجاج البياض سلالة ISA Brown المغذى على عليقة حاوية على مسحوق نبات الميرمية ، أما في المدة الانتاجية الثانية (41 - 42) اسبوعاً فقد تفوقت المعاملة السادسة (12.889) بيضة / دجاجة / 14 يوماً معنوياً بالمقارنة مع المعاملتين الأولى والثانية ولم يكن هنالك فرق معنوي بينهما وبين بقية المعاملات ، وسجلت المعاملة الأولى انخفاضاً معنوياً (P < 0.05) بالمقارنة مع معاملات الثالثة والرابعة والخامسة والسادسة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين معاملات

جدول (3) تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق نبات الميرمية في علائق الدجاج البياض سلالة ISA Brown في متوسط عدد البيض التراكمي (بيضة / طير / يوم) (± الخطأ القياسي) خلال المدة الانتاجية 39 - 46 اسبوعاً من عمر الدجاج

العمر / المعاملات	المدة الاولى 39 - 40 اسبوعاً	المدة الثانية 41 - 42 اسبوعاً	المدة الثالثة 43 - 44 اسبوعاً	المدة الرابعة 45 - 46 اسبوعاً	المدة الكلية 39 - 46 اسبوعاً
<b>عدد البيض التراكمي (بيضة / دجاجة / 14 يوم)</b>					
T 1	a 0.014 ± 11.62	b 0.084 ± 11.60	b 0.097 ± 11.63	b 0.099 ± 11.21	b 0.133 ± 46.05
T 2	a 0.045 ± 12.11	b 0.176 ± 11.84	ab 0.318 ± 12.10	ab 0.459 ± 12.04	ab 1.215 ± 48.08
T 3	a 0.064 ± 11.93	ab 0.461 ± 12.12	ab 0.456 ± 11.90	ab 0.142 ± 12.09	ab 1.421 ± 48.13
T 4	a 0.058 ± 12.27	ab 0.194 ± 12.44	ab 0.417 ± 12.33	a 0.366 ± 12.26	ab 1.017 ± 49.31
T 5	a 0.032 ± 12.39	ab 0.255 ± 12.03	ab 0.231 ± 12.00	ab 0.256 ± 12.09	ab 1.012 ± 48.51
T 6	a 0.045 ± 12.56	a 0.148 ± 12.90	a 0.321 ± 12.99	a 0.155 ± 12.97	a 0.747 ± 51.40

T1 = معاملة السيطرة ، T2 = إضافة 1غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T3 = إضافة 2غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية T4 = إضافة 3غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T5 = إضافة 4 غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية ، T6 = إضافة 5غم/كغم من مسحوق نبات الميرمية. الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ( P < 0.05 ) .

في الميكروبات وهذا يؤدي مباشرة إلى تدمير الخلايا الميكروبية والتي ينبغي أن تؤدي إلى تحسين أداء الدجاج البياض هذا وقد وجد ان إضافة الميرمية تؤدي إلى تثبيط نمو البكتريا والفيروسات وتقلل مستويات السموم الفطرية فهي تعمل على تحسين صحة الأمعاء وامتصاص المغذيات وتعزيز الحالة التغذوية في الدجاج وبالنتيجة

يلاحظ من نتائج إضافة مسحوق نبات الميرمية الى علائق الدجاج البياض حصول تحسن معنوي في صفتي نسبة إنتاج البيض (H.D) % وعدد البيض التراكمي (بيضة/طير) (جدول 3) وقد يرجع السبب في ذلك إلى إن المكون الرئيسي الفعال في نبات الميرمية هو زيتا الذي قد يؤثر على التمثيل الغذائي للبروتينات والكربوهيدرات

### النتائج والمناقشة

تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق نبات الميرمية في علائق الدجاج البياض سلالة ISA Brown في الصفات الإنتاجية:

- النسبة المئوية لإنتاج البيض (H.D) % :

أظهرت النتائج في جدول (2) عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات في المدة الإنتاجية الأولى (39 - 40) اسبوعاً في معدل إنتاج البيض (H.D) % للدجاج البياض سلالة ISA Brown المغذى على عليقة حاوية على مسحوق نبات الميرمية، أما في المدة الإنتاجية الثانية (41 - 42) اسبوعاً فقد تفوقت المعاملة السادسة معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملتين الأولى والثانية ولم يكن هنالك فرق معنوي مع بقية المعاملات، وسجلت المعاملة الأولى انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملات الثالثة والرابعة والخامسة والسادسة ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين معاملات التجربة الأخرى، في المدة الإنتاجية الثالثة (43 - 44) اسبوعاً فقد تفوقت أيضاً المعاملة السادسة معنوياً بالمقارنة مع المعاملة الأولى ولم يكن هنالك فروق معنوية بينها وبين بقية المعاملات، وكذلك في المدة الإنتاجية الرابعة (45 - 46) اسبوعاً فقد تفوقت أيضاً المعاملتان الرابعة والسادسة معنوياً بالمقارنة مع المعاملة الأولى ولم يكن هنالك فروق معنوية بينها وبين بقية المعاملات، وفي المدة الإنتاجية الكلية (39 - 46) اسبوعاً تفوقت المعاملة السادسة معنوياً ( $P < 0.05$ ) بالمقارنة مع المعاملة الأولى ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين بقية المعاملات. ومن خلال النتائج التي تم الحصول عليها فإن الإضافات الغذائية (مسحوق نبات الميرمية) لعليقة الدجاج البياض أدت إلى تحسن صفة إنتاج البيض، ان تحسن نسبة إنتاج البيض (H.D) % عند إضافة مسحوق نبات الميرمية في عليقة الدجاج البياض جاءت منقفة مع (19 ؛ 20) الذين درسوا تأثير إضافة خليط من الزيوت الأساسية متضمنة الميرمية لعليقة السمان الياباني (21 ؛ 22 ؛ 23) وذلك في دراستهم إضافة خليط من الزيوت الأساسية متضمنة الميرمية على العليقة في الاداء الانتاجي للدجاج البياض؛ (24) لاحظوا ان اضافة مستخلصات الاعشاب الطبية لامهات فروج اللحم ادت الى وجود فروقاً معنوية بين معاملة السيطرة ومعاملات الاضافة في معدل انتاج البيض، ولتتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه (25) الذين لاحظوا ان اضافة الزيوت الاساسية لعلائق الدجاج البياض لم تؤثر على معدل انتاج البيض.

العلف كمية ثابتة (120 غم / طير / يوم) طول مدة التجربة والجدول (1) يبين مكونات العليقة المستخدمة في الدراسة.

جدول (1) تركيب العليقة المستخدمة في الدراسة

النسبة المئوية (%)	المادة العليقة
50.7	ذرة صفراء مجروشه
18.34	حنطة مجروشه
17.3	كسبة فول الصويا (48 % بروتين )
5	مركز بروتيني *
1.75	ثنائي فوسفات كالسيوم
6.82	مسحوق حجر الكلس
0.09	ملح الطعام
100%	المجموع الكلي
التحليل الكيميائي المحسوب **	
16.39	البروتين الخام %
2721.1	طاقة (كيلوسعرة طاقة ممثلة/لكل كغم علف)
0.379	ميثاينين (%)
0.671	ميثاينين + المستين (%)
0.85	لايسين (%)
1.5	ليوليونيك (%)
0.85	أرجنين (%)
3.453	الكالسيوم (%)
0.53	الفسفور متيسر (%)
0.17	الصوديوم (%)
0.17	الكلور (%)

\* استخدام المركز البروتيني الاردني ملحق (1 ، 2)

\*\* حسب قيم العلائق على وفق ما أوردته (16).

درست الصفات التالية: إنتاج البيض H.D %، عدد البيض التراكمي، وزن البيض، كتلة البيض، معامل التحويل الغذائي.

### التحليل الاحصائي

أجري التحليل الإحصائي باستخدام التصميم العشوائي الكامل Complete Randomize Design (CRD) ذي الاتجاه الواحد، ولاختبار معنوية الفروق بين المعاملات استعمل اختبار دنكن متعدد الحدود Duncan's multiple range test (17) وقد استعمل برنامج التحليل الإحصائي الجاهز (18) في التحليل الإحصائي للبيانات.

## تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق نبات الميرمية في الاداء الإنتاجي لدجاج البيض سلالة ISA Brown

عبدالرزاق نبيل عبدالرزاق ، طارق خلف حسن الجميلي ، فراس مزاحم حسين الخيلاني

قسم الإنتاج الحيواني ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### الملخص

أجريت في هذه التجربة دراسة تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق نبات الميرمية في علائق الدجاج البياض سلالة ISA Brown في الصفات الانتاجية اجريت الدراسة في حقل الطيور الداجنة التابع لمحطة أبحاث الدواجن في قسم الثروة الحيوانية دائرة البحوث الزراعية التابعة لوزارة الزراعة للفترة من 2015/3/3 ولغاية 2015/4/27 ولمدة ثمانية أسابيع. إذ استخدم 540 دجاجة بياض سلالة ISA Brown بعمر 39 أسبوعاً وزعت عشوائياً على الأقسام إلى ستة معاملات تتضمن كل منها ثلاثة مكررات في كل مكرر 30 دجاجة ، وكانت معاملات التجربة كالاتي: المعاملة الأولى مجموعة سيطرة (بدون اضافة) وتم إضافة مسحوق نبات الميرمية للمعاملات الثانية والثالثة والرابعة والخامسة والسادسة بمقدار 1، 2، 3، 4، 5 غم/كغم الى العليقة على الترتيب. سجلت نتائج إضافة مسحوق نبات الميرمية الى العليقة أدت الى ظهور تحسن معنوي على مستوى ( $P < 0.05$ ) بالصفات الانتاجية للبيض (نسبة انتاج البيض، عدد البيض التراكمي، وزن البيض، كتلة البيض، معامل التحويل الغذائي) مقارنة مع مجموعة السيطرة.

الكلمات المفتاحية: نبات الميرمية، الدجاج البياض، صفات الانتاجية.

### المقدمة

لعلف الدواجن من اجل منع أو تأخير تشكيل الجذور الحرة للأكسجين في الدجاج المرعى للتممين (14). لذلك فان هذا البحث يهدف الى التعرف على تأثير استخدام مستويات مختلفة من مسحوق نبات الميرمية في علائق دجاج البيض سلالة ISA Brown ومعرفة تأثيرها على الصفات الإنتاجية.

### المواد وطرائق البحث

أجريت هذه الدراسة في حقل الطيور الداجنة التابع لمحطة أبحاث الدواجن في الهيئة العامة للبحوث الزراعية التابعة لوزارة الزراعة للفترة من 2015/3/3 ولغاية 2015/4/27 بعمر (39) أسبوعاً ولمدة ثمانية أسابيع التي من خلالها تم دراسة تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق نبات الميرمية الى العليقة في الاداء الإنتاجي، سبقتها مدة تمهيدية لتعويد الطيور على علائق التجربة و لمدة (14) يوماً ولم تجمع البيانات فيها . استخدم في التجربة 540 طيراً من طيور الدجاج البياض سلالة ISA Brown بعمر (39) أسبوعاً . ربيت الطيور في أقفاص عددها 108 قفصاً (5 دجاجات في كل قفص) وكانت أبعاد القفص الواحد 80×80×40 سم مصنوعة من الحديد المشبك المكونة من ثلاثة طوابق، شملت الدراسة ستة معاملات احتوت كل معاملة على ثلاث مكررات وفي كل مكرر ثلاثين طيراً إذ وزعت الطيور عشوائياً على المعاملات وكانت المعاملات كالاتي : المعاملة الأولى (مجموعة سيطرة) وتم إضافة مسحوق نبات الميرمية للمعاملات الثانية والثالثة والرابعة والخامسة والسادسة بمقدار 1، 2، 3، 4، 5 غم/كغم الى العليقة على الترتيب.

غُذي الدجاج على عليقة الإنتاج التي تم خلطها في معمل العلف التابع لدائرة البحوث الزراعية وتم تكوينها حسب دليل (15) ، إذ قدم

استخدمت النباتات الطبية في مختلف بقاع العالم حيث وصلت نسبة السكان العالم الذين يعتمدون على النباتات حوالي 70% (1)، قد انتشر استخدام النباتات الطبية منذ قرون عديدة كغذاء وان قسم من هذه النباتات تم استخدامها بشكل فعال في حياة الانسان (2)، كونها تحتوي على مواد فعالة المتمثلة بالفلافونيدات والتربينيدات والكينينات والسلفايت والبولي فينوليك والكاروتينات والصابونينات (3)، في الوقت الحاضر أصبحت النباتات الطبية واسعة الانتشار في تغذية الدواجن التي اصبحت بدائل للمضادات الحيوية التي عدتها منظمة الصحة العالمية (WHO) مضررة بالصحة العامة وأصبحت الإضافات الغذائية أساسية في تغذية الطيور (4 ؛ 5)، استخدمت الإضافات الغذائية في تغذية الدجاج لتحسين الصفات الانتاجية المتمثلة بالنمو وزيادة انتاج البيض (6)، استخدمت لزيادة الاستفادة من العلف المستهلك وكفاءة التحويل الغذائي (7 ؛ 8)، إن المركبات الفعالة الموجودة في هذه النباتات لها تأثيرات واسعة ومتباينة في صحة الدواجن (9)، إذ تحتوي هذه النباتات على مضادات للبكتريا والفيروسات ومضادات للأكسدة (10).

يعد نبات الميرمية *Salvia officinalis* من النباتات الطبية والشائعة ويرجع تاريخ استعماله بصفته نباتاً طبيياً الى الرومان إذ غدوها نباتاً سحرياً ومقدساً وذلك لخصائصها الطبية المتعددة إذ استخدموه في علاج العديد من الامراض (11)، استخدمه قدماء المصريين واليونانيين مصلاً ضد عضات الأفاعي واستخدمته النساء المصريات لزيادة خصوبتهن (12)، يحتوي نبات الميرمية على العديد من المركبات الفعالة هي *a-Thujone* و *B-Thujone* و *Camphor* و *Cineole* 1,8- (13). أن الزيوت الأساسية للميرمية يمكن عدها مصدراً لمضادات الأكسدة التي يمكن استخدامها بوصفها مكملات

- كبد اناث الفئران البيض السويسرية C/ Bulb. مجلة الانتباة للعلوم الزراعية , بحوث المؤتمر الرابع. المجلد 12. العدد خاص.
25. Endersen, L.; Thorsrud, A.K.; Jellume, E.; Willard – Gallo, K.E. and Rugstad, H.E. (1984). Protein mapping of two metallothionien rich cell strains and their parent lines using high resolution two dimentional electrophoresis. Anal., Biochem. 16: 610-614.
26. Thaker, A. A. and Haritos, A. A. (1989). Cadmium bioaccumulation and effects on soluble peptides, proteins and enzymes in hepatopancreas of the shrimp *Callinassa tyrrhena*. Comp. Biochem. Physiol. 94C. (1): 63-70.
21. Davis, R. D. and Rawls, W.C. (1996). Magnetism and Its Effects on the living system. Environ. Inter. 22(3): 229-232.
22. Denielli, J.F. (1972). Structural factors in cell permeability and secretion symp. Soc. Exp. Bio. 6: 1-15.
23. Prashanth, K.S.; Chouhan, T.R.S. and Snehalatha, N.(2009). Effect of 50 Hz electromagnetic field on acid phosphatase activity. African J.of Bio Res 3(3):060\_065.
24. ذاكر, عبد علي, اسماء عبد السلام سالم وعلي شنيار فارس.(2014). تأثير الماء المعالج مغناطيسا في سمية الكاديوم في

## The effect of magnetic water on the toxicity of lead acetate in some Broiler organs

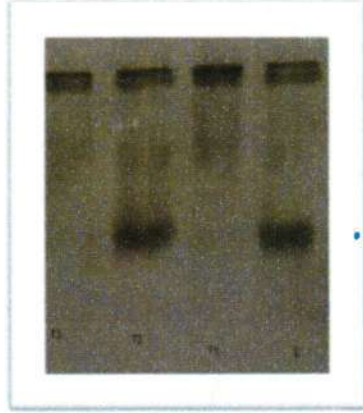
S. H. Farhan

*Collage of Veterinary Medicine , University of Fallujah , Fallujah , Iraq*

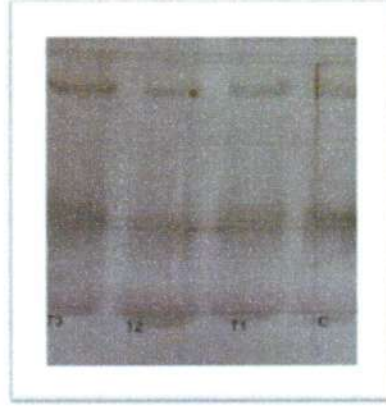
### Abstract

The aim of the study was to follow up the effect of magnetic water on the toxicity of lead acetate in the extract of heart and intestine of broiler by examination of the amount of total protein and electrophoresis protein as well as the activity of some enzymes (ALP, AST, ALT) using spectrophotometric and the electrophoresis method was used to follow up the effects on the Esterase bands in the extract of heart and intestine. 108 broilers one day old were divided randomly in to 3 groups with a control group. Each group subdivided to 3 replicates, the first (T1) was received lead acetate in (400 mg / l ) drinking water, the second (T2) group received magnetized water strongly treated with 3000 Gaus and the third(T3) group was received lead acetate in (400 mg / l) the magnetized water. The results showed that there was significant( $p \leq 0.05$ ) decreased in total protein levels in all treatments in both heart and intestine extract. A significant( $p \leq 0.05$ ) increase in the level of AST , ALT enzymes in all treatments of heart extract while in intestine extract only the AST increased. The ALP enzyme increased in the T1 and T3 in both extracts. Changes observed in number and density of protein and Esterase bundles on Poly acryl amide gel electrophoresis.

**Keywords:** lead acetate, magnetic water, electrophoresis, enzymes.



(ب)



(أ)

صورة (2) ترحيل إنزيم الأستريز في ( أ ) مستخلص القلب (ب) مستخلص الامعاء، حيث C تشير للمعاملة الضابطة و T1 تشير إلى معاملة خلاص الرصاص T2 تشير إلى معاملة الماء المعالج مغناطيسيا و T3 تشير إلى معاملة خلاص الرصاص المذاب في ماء معالج مغناطيسيا

#### المصادر

1. Hermes, J.C. and Holliman K.A. (1992). Water Quality on Oregon's Broiler Farms. Poul. Sci. 71 Supplement 1:103.
2. Berthier, M. (1998). Current problem of lead poisoning. Press. Med; 27 (16): 763-765.
3. سلهب , عبد العظيم سمور .(1990). علم السموم الحديث. الطبعة الأولى.
4. Goering, P.; Fowler, B. (1987). Kidney zinc-thionein regulation of delta-amino levulinic acid dehydrates inhibition by lead. Arch Biochem. Biophys: 253:48-55.
5. Guyton, A.G. & Hull, J.E. (2002). Textbook of medical physiology. 9<sup>th</sup>, ed. ,W.B. Saunders Comp. , Philadelphia , Jorowoto , London
6. Lipus, L.C.; Krope , J. and Crepinsek, L. (2001). Dispersion destabilization in magnetic water treatment. J. Colloid and Interface Sci. 236: 60-66.
7. Klassen, V.I. (1981). Magnetic treatment of water in mineral processing. In developments in mineral processing, part B., Mineral processing. Elsevier, N.Y. 1077- 1097.
8. Kronenberg, K.J. (1985). Experimental evidence for the effects of magnetic fields on moving water. IEEE Transaction on Magnetic. 21 (3) : 2059-2061.
9. بابكر ، منذر .(2002). أثر الماء الممغنط على الملاريا. رسالة ماجستير - كلية العلوم - جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا. السودان .
10. Kobe, S. ; Drazic, G.. Mcguines, P.J. and Strazisar, J. (2001). The influence of the magnetic field on the crystallization from calcium carbonate and the testing of a magnetic water treatment device. Journal of Magnetic and Magnetic Materials. 236: 71-76.
11. مصطفى ، محبوبية عبد الغني . ( 2007 ) . تأثير استخدام التقنية المغناطيسية في معالجة الماء على الأداء الإنتاجي والفسلجي
12. عزيز , عطوف عبد الرحيم .(2004). تأثير الماء المعالج مغناطيسيا" في الصفات التناسلية و الفسلجية في ذكور أمهات الدجاج البيضاء ، أطروحة دكتوراه - كلية الزراعة - جامعة بغداد .
13. Kind, P.R.N. and King, E. J. (1954). Estimation of plasma phosphate by determination of hydrolyzed phenol with amino-antipyrine. Journal clinical pathology.7: 322-326
14. Reitman, S. and Frankel, S. (1957). A calorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyrovic transaminases. Am. J. Clin. Path. 28: 56-63.
15. Gornall, A.C. ; Bardawill, C.J. and David ,M. M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. J. Biol. Chem.177-751.
16. Hames, B. D. and Rickwood, D. (1981). Gel electrophoresis of protein. Irl press limited.
17. Steel, R.G.D. and Torri, J.H. (1980). Principles and Procedures of Statistic. 2<sup>nd</sup> (ed) McGraw Hill, New York.
18. Nelson, D. and Cox, M.(2005). Lehninger principles of Biochemistry. 4<sup>th</sup> ed. Worth Publisher INC.
19. Sarkar, S.; Yadav, P.; Trivedi, R.; Bansel, A.K. and Bhatagar, D. (1995). Cadmium -induced lipid peroxidation and the status of the antioxidant system in rat tissues. T. Trace Elem. Med. Bio. 9(33): 144-149.
20. ذاكر , عبد علي , عبد الستار فرح مجيد , علي شينيار فارس و شيرين حامد فرحان.(2013). تأثير خلاص الرصاص والماء المعالج مغناطيسيا على البروتينات الكلية والانزيمات في دم فروج اللحم سلالة Ross . مجلة الابنار للعلوم البيطرية. المجلد 6. 223-216

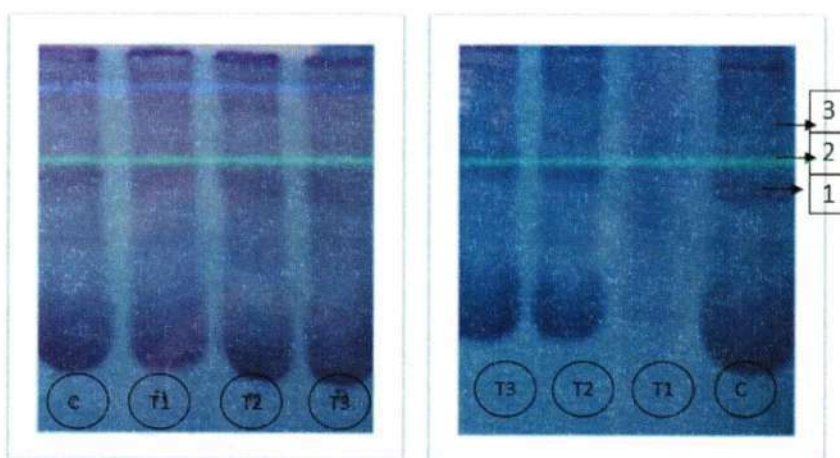
جدول (1) يبين تأثير خلات الرصاص والماء المعالج مغناطيسيا على البروتين الكلي وبعض الانزيمات في بعض اعضاء فروج اللحم سلالة ROSS (المتوسط  $\pm$  الخطأ القياسي)

انزيم ALT وحدة/مللتر		انزيم AST وحدة/مللتر		انزيم ALP K.A.U./100ml		كمية البروتين الكلي g/dl		المعاملات
الأمعاء	القلب	الأمعاء	القلب	الأمعاء	القلب	الأمعاء	القلب	
24.33 $\pm$ 0.72	36.33 $\pm$ 1.14 c	175.66 $\pm$ 1.7b	240.4 $\pm$ 1.67 c	30.79 $\pm$ 0.66 b	18.98 $\pm$ 1.9 c	5.61 $\pm$ 0.26a	4.9 $\pm$ 0.11 a	الكتترول
25.73 $\pm$ 1.35	73.4 $\pm$ 1.83 b	181.33 $\pm$ 1.5 a	268.2 $\pm$ 1.28 a	37.36 $\pm$ 1 a'	40.62 $\pm$ 0.88 b	2.46 $\pm$ 0.13d	1.76 $\pm$ 0.11 d	خلات رصاص
26.16 $\pm$ 1	70.13 $\pm$ 1.16 b	173.26 $\pm$ 1.64 b	260.6 $\pm$ 1.62b	31.07 $\pm$ 0.76 b	21.65 $\pm$ 0.81 c	3.94 $\pm$ 0.09 b	3.9 $\pm$ 0.12 b	ماء معالج مغناطيسيا
25.26 $\pm$ 1.32	79.43 $\pm$ 1.76 a	175.46 $\pm$ 1.3 b	269.5 $\pm$ 1.69 a	39.4 $\pm$ 0.84a	49.38 $\pm$ 1.08 a	3.37 $\pm$ 0.14 c	3.07 $\pm$ 0.09c	خلات الرصاص وماء معالج مغناطيسيا

تشير الحروف الصغيرة المختلفة الى وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ( $P \leq 0.05$ )

والماء المعالج مغناطيسيا حيث اختفاء حزم يعني تثبيط تخليق بروتينات (25) ولم تتغير اعداد الحزم او كثافتها في مستخلص الامعاء.

اظهرت نتائج الترحيل الكهربائي للبروتينات على الهلام المتعدد الاكريلاميد والموضحة بالصورة (1) اختفاء حزم في المعاملات T1 و T2 و T3 في مستخلص القلب استجابة لتأثير خلات الرصاص



(ب)

(ا)

صورة (1) البروتينات المرحلة كهربائيا في (ا) مستخلص القلب (ب) مستخلص الامعاء , حيث C تشير الى المعاملة الضابطة T1 تشير الى معاملة خلات الرصاص و T2 تشير الى معاملة الماء المعالج مغناطيسيا و T3 تشير الى معاملة خلات الرصاص المذاب في ماء معالج مغناطيسيا

مع التجربة الضابطة. في الصورة (2) (ب) كان هناك اختفاء حزمة في المعاملة T1 و T3 هذا التغير قد يكون استجابة لتأثير المعدن الثقيل (26).

توضح الصورة (2) (ا) تأثير خلات الرصاص (T1) والماء المعالج مغناطيسيا (T2) و خلات الرصاص والماء المعالج مغناطيسيا (T3) في حزم إنزيم الأستريز في مستخلص القلب المرحلة كهربائيا على الهلام المتعدد الاكريلاميد. اذ لم تتغير الحزم في أعدادها أو كثافتها

ضرر في خلايا القلب والكبد يؤدي الى تغير في نفاذية اغشية الخلايا لهذين الأنزيمات وتسربهما الى مجرى الدم(19) ولوحظت مثل هذه الزيادة عند استخدام خلات الرصاص بتركيز 400mg/l في ماء الشرب للافراخ (20) اما الارتفاع في مستوى الانزيمات في المعاملة T2 قد يكون ان الماء المعالج مغناطيسيا يزيد من كفاءة الانزيمات حيث اشارت بعض الدراسات ان لكل عضو او نسيج تردد مغناطيسي خاص به وان الماء المعالج مغناطيسيا يعدل هذه الترددات لهذه الانسجة مما يؤدي بالحصول الى زيادة في نشاط الانزيمات (21) لوحظ ارتفاع أنزيم AST في دراسة على بلازما الديكة عند معاملة بماء معالج مغناطيسيا بشدد مختلفة(12) والارتفاع الحاصل في المعاملة T3 قد يكون بسبب استجابة وظيفية للرصاص والماء المعالج مغناطيسيا.

بينت نتائج التحليل الاحصائي لمستخلصي القلب والأمعاء ارتفاع معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في أنزيم ALP في معاملة T1 و T3 عند المقارنة بالمعاملة الضابطة. انزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP ينتج الجزء الاكبر من هذا الانزيم في الخلايا المولدة للعظم و وينسبة اقل من الطبقة المخاطية للأمعاء وهمهم في تأدية الوظائف الحيوية حيث يساهم في عملية النقل الفعال كما يساهم في تكوين البروتينات وازالة مجموعة الفوسفات من النيوكليدات وايض الكلايوجين (22). ويعود سبب هذا الارتفاع الى أن الرصاص يؤثر على طبقة الدهون في الغشاء البلازمي نتيجة حدوث ترنخ للدهون فيصبح الغشاء اكثر نفاذية لهذا الأثر (19). اما في معاملة T2 الماء المعالج مغناطيسيا لم يكن هناك أي فروق معنوية بينها وبين المعاملة الضابطة.

اظهرت نتائج الدراسة الحالية والموضحة بالجدول (1) انخفاض معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في كمية البروتين الكلي لمستخلصي القلب والأمعاء في جميع المعاملات T1, T2, T3 عند مقارنتها مع المعاملة الضابطة C. اذ اظهرت نتائج معاملة (T1) انخفاضا معنويا ( $P \leq 0.05$ ) في كمية البروتين الكلي بالمقارنة مع المعاملة الضابطة وقد يكون السبب هو قابلية الرصاص على الارتباط بمجموعة Thiol في الأحماض الامينية ويتداخل معها ويشكل معقدات تؤثر على إنزيمات الكبد Microsomal enzyme المسؤولة عن تصنيع البروتين فتقل كميته(3). اما في المعاملة T2 فقد يعود سبب الانخفاض الى ارتفاع فعالية الانزيمات العالية في نفس المجموعة اذ اوضح (23) ان هناك علاقة عكسية بين فعالية الانزيمات الناقلة للامين ومجموع البروتينات. اما بالنسبة للمعاملة T3 كانت هناك زيادة في كمية البروتين الكلي عند المقارنة بالمعاملة T1 وربما قلل الماء المعالج مغناطيسيا التأثير السمي للرصاص من خلال تنشيط بعض العمليات الايضية. اذ لوحظت مثل هذه الزيادة في مستخلص كبد لفرننر bulb /c المعرضة لتأثير الكاديوم والماء المعالج مغناطيسيا(24).

الأنبوب المرن المساعد من المضخة والأنبوب النازل من الجهاز المغناطيسي بحيث يمر الماء من القطب الشمالي للجهاز ويخرج من القطب الجنوبي وتم تشغيل المضخة 24 ساعة يوميا وطيلة مدة التجربة.

#### تحضير العينات:

بعد انتهاء فترة التجربة 42 يوم شرحت الأفراخ وفصل القلب والأمعاء عنها حيث تم وزنها ووضعت كل على حدة في محلول دارئ-Tris (HCL pH 7.2) ووضعت في محلول ثلجي وباستخدام جهاز المجنس Homogenizer تم الحصول على مستخلص القلب و الأمعاء وباستخدام جهاز الطرد المركزي تم فصل الرائق عنه وحفظ بدرجة حرارة (20) ( لحين إجراء التجارب حيث تم تقدير ما يلي:

أ- استخدمت العدة المختبرية المصنعة من قبل الشركة BioMerieux الفرنسية لتقدير فعالية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline Phosphatase ALP (13) والإنزيمات ناقلة الأمين ALT Alanine و AST Aspartate amino transaminase amino transaminase (14) كما استخدمت العدة المختبرية المصنعة من قبل الشركة Biolabo الفرنسية لتقدير كمية البروتينات الكلية(15).

ب- استخدمت طريقة الترحيل الكهربائي (16) للكشف عن الطرز البروتينية المرحلة كهربائيا على هلام متعدد الاكريلاميد polyacrylamide gel electrophoresis والمصبوغة بصبغة coomassie brilliant blue مع تحديد طرز انزيم الاستريز المرحل بنفس الطريقة باستخدام المادة الاساس.  $\alpha$ -naphthyl acetate

#### التحليل الإحصائي

حللت البيانات التي تم الحصول عليها باستخدام تحليل التباين Analysis of Variance للتصميم العشوائي الكامل (CRD) باستخدام برنامج spss واستخدام اصغر فرق معنوي (LSD) بين متوسطات المعاملات المختلفة لمعرفة الفروق المعنوية تحت مستوى ( $P \leq 0.05$ ) استنادا إلى الطريقة الموصوفة من قبل Steel and Torrie(17).

#### النتائج والمناقشة

يبين الجدول رقم (1) نتائج الدراسة الحالية، اذ لوحظ ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.005$ ) في مستوى فعالية الانزيمات الناقلة لمجموعة الامين AST و ALT في مستخلص القلب وارتفاع مستوى فعالية انزيم AST في مستخلص الأمعاء في جميع المعاملات T1, T2, T3 مقارنة بالمعاملة الضابطة C.

الانزيمات الناقلة للامين مسؤولة عن نقل مجموعة الامين من الاحماض الامينية الى الاحماض الكيتونية وتساهم في تحرير الطاقة من البروتينات في الخلية (18) ان ارتفاع مستوى ALT, AST في المعاملة T1 عند المقارنة بالمعاملة الضابطة قد يعود بسبب حدوث

## تأثير الماء المعالج مغناطيسيا في سمية خلايا الرصاص لبعض أعضاء فروج اللحم

شيرين حامد فرحان

كلية الطب البيطري ، جامعة الفلوجة ، الفلوجة ، العراق

### المخلص

تهدف الدراسة متابعة تأثير الماء المعالج مغناطيسيا بشدة (3000 gaus) على سمية خلايا الرصاص (بتركيز 400 mg/L) في مستخلصي القلب والأعضاء لفروج اللحم سلالة Ross وذلك من خلال دراسة كمية البروتينات الكلية والبروتينات المرحلة كهربائيا و فعالية أنزيمات ALT, AST, ALP, باستخدام الطرق الطيفية وطرز أنزيم الأستريز المرحل على الهلام المتعدد الأكرميلايد. أُستُخدم (108) فرخ فروج لحم بعمر يوم واحد غير مجنسة وزعت عشوائيا إلى ثلاث معاملات بالإضافة إلى المعاملة الضابطة (C), وكل معاملة ثلاث مكررات بواقع 9 أفراخ لكل مكرر. المعاملة (T1) تشمل إضافة خلايا الرصاص بتركيز 400mg/L إلى ماء الشرب العادي والمعاملة (T2) هي ماء معالج مغناطيسيا بقوة (3000gaus) والمعاملة (T3) هي ماء معالج مغناطيسيا مضافا إليه خلايا الرصاص بتركيز 400mg/L. أظهرت النتائج انخفاض معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في كمية البروتين الكلي في جميع المعاملات مقارنة بالمعاملة الضابطة في مستخلص القلب ومستخلص الأمعاء و لوحظ ارتفاع معنوي ( $p \leq 0.05$ ) في انزيم AST و ALT في المعاملات المذكورة لمستخلص القلب, في حين ارتفع انزيم AST فقط في مستخلص الأمعاء و ارتفع انزيم ALP في المعاملة T1 و T3 للمستخلصين المذكورين. كما اظهرت نتائج البروتينات المرحلة كهربائيا اختفاء حزم في المعاملات T1 و T3 في مستخلص القلب. ولوحظ اختفاء بعض حزم انزيم الاستريز المرحل كهربائيا في المعاملات T1 و T3 في مستخلص الأمعاء.

**الكلمات المفتاحية:** خلايا رصاص , ماء معالج مغناطيسيا, ترحيل كهربائي , أنزيمات.

### المقدمة

على بروتينات وأنزيمات الدواجن (11 و 12). استهدفت هذه الدراسة معرفة تأثير الماء المعالج مغناطيسيا على البروتينات والأنزيمات في القلب والأعضاء المعرضة للرصاص في أفراخ فروج اللحم سلالة Ross.

### المواد وطرائق العمل

اجريت التجربة في حقل الدواجن التابع لكلية الطب البيطري / جامعة الأنبار, للمدة من 2012-8-29 ولغاية 2012-10-9 لمدة (42 يوم) واستخدمت 108 فرخة لحم غير مجنسة بعمر يوم واحد من سلالة Ross المستلمة من مفسس وادي الرافدين في قضاء ابو غريب وزعت عشوائيا الى ثلاث معاملات بالإضافة الى المعاملة الضابطة (C), وكل معاملة ثلاث مكررات بواقع 9 أفراخ لكل مكرر وكانت المعاملة (T1) تشمل اضافة خلايا الرصاص بتركيز 400mg/L الى ماء الشرب العادي والمعاملة (T2) هي ماء معالج مغناطيسيا بقوة 3000 gaus تم مغنطة الماء باستخدام جهاز مغناطيس والمعاملة (T3) هي ماء معالج مغناطيسيا مضافا اليه خلايا الرصاص بتركيز 400mg/L.

### المنظومة المستخدمة لمغنطة الماء

تتألف هذه المنظومة من وعاء بلاستيك سعة 20 لتر ومضخة ماء (water pump) وجهاز مغناطيسي ثنائي القطب ذو شدة 3000gaus. ملئ وعاء البلاستيك بماء الحنفية بحيث شكل 80% من حجم الوعاء ومسبقا تم تثبيت المضخة أسفل الوعاء بعد ربطها بأنبوب مرن الذي ينقل الماء من خلاله ليمر عبر الجهاز المغناطيسي ومن ثم يعود الى الوعاء مرة أخرى. وثبت الجهاز المغناطيسي على غطاء الوعاء البلاستيكي بعد تقب الغطاء بتقنين يمر من خلالها

الماء احد أهم العناصر الغذائية للدواجن, و لنوعيته أهمية في تأثيرها على الأداء الإنتاجي والفسلجي (1) وأن تلوث الماء بالمعادن الثقيلة حاز على اهتمام الباحثين لضمان التقليل من سمية او تراكم هذه الملوثات في الأحياء (2) والرصاص واحد من هذه المعادن والذي تزداد خطورته كل يوم بسبب الطرح المتزايد له إلى الطبيعة, حيث يدخل في كثير من الصناعات مثل صناعة أنابيب المياه والتعدين وتكرير النفط والإصباغ والمبيدات وغيرها (3). يؤثر الرصاص على البروتينات والأنزيمات من خلال قابلية الارتباط بفعالية مع مجموعة sulphhydryl group لذلك فهو يتداخل مع الاحماض الامينية ويشكل معقدات تؤثر على عملية تصنيع البروتينات فتقل كمية البروتين الكلي (4) ويرتبط بالأغشية الخلوية ويغير من نفاذيتها حيث يقلل من فعالية مركب Glutathione الايضية الذي يعمل على ازالة الجذور الحرة مما يسبب الأذى لجدران الخلايا وسهولة تكسرها مما يسمح بمرور الأنزيمات لمجرى الدم (5)

استخدمت التقنية المغناطيسية لإزالة المعادن الثقيلة من مياه مجاري الصناعات الكيماوية وكانت النتائج ايجابية (6) عند إمرار الماء عبر مجال مغناطيسي يؤثر على زاوية الارتباط بين ذرتي الهيدروجين والأكسجين ويقوم بتحطيم بعض الاواصر الهيدروجينية والنتيجة تكون تجمعات اصغر لجزيئات الماء (7) نتيجة لهذا التأثير تتغير 14 خاصية من خواص الماء (8) فترتفع قيمة الرقم الهيدروجيني وتزداد كمية الأوكسجين المذاب في الماء (9) ويصبح الماء كمانع للأكسدة حيث يعمل على ازالة الجذور الحرة المتكونة من العمليات الايضية او تاين المعادن كما يعمل على اعادة توازن الايونات عبر اغشية الخلايا (10) وقد اظهرت عدة دراسات تأثير الماء المعالج مغناطيسيا

- [24] عطية، يوسف محمد (2006). مقارنة سلالتين من طائر السلوى الياباني (البنّي والأبيض) في المؤشرات الإنتاجية والمناعية والصفات النوعية والكيميائية للبيض. رسالة ماجستير -كلية الزراعة- جامعة بغداد.
- [25] الخيلاني، فراس مزاحم حسين (2009). تأثير إضافة مستويات مختلفة من بذور اليانسون وأزهار الكجرات إلى العليقة في كفاءة الأداء للدجاج البياض وطيور السلوى وفروج اللحم. أطروحة دكتوراه-كلية الزراعة-جامعة بغداد.
- [26] محمد، أركان برع وشعنون، عمار قحطان. 2012. تأثير إضافة مسحوق القرفة *Cinnamomum cassia* الى العليقة في الصفات النوعية للبيض وبعض صفات الدم لطائر السلوى الياباني. مجلة جامعة ديالى للعلوم الزراعية. مجلد 4 عدد 2.
- [27] Panda, B. and P. P. Singh, 1990. Development in processing quail meat and egg. Worlds Poult. Sci. J., 46: 219-234.
- [28] NRC. 1994. *Nutrient requirements of poultry*. 9 th rev. Ed. National Academy Pres., Washington DC., USA.
- [29] Duncan, D. B. 1955. Multiple range multiple F-test-Biometrics. 11: -42.
- [30] SAS, 2011. SAS/STAT Users Guide for personal computers, Release 8.00. SAS. Institute Inc., Cray, NC, USA.
- [31] Johnson, H.S. and H.C. Zindal. 1963. Comparisons between housed in cages, on a slatted floor and a litter floor. Anim. Breed. Abstract. 31: 113.
- [32] العرموش، هاني والعمرى، موفق. 1999. الأعشاب في كتاب (الاستخدامات الطبية-العلاجية-التجميلية-التصنيعية) دار النفائس للطباعة والنشر والتوزيع الطبعة الأولى بيروت - لبنان. ع ص 188.
- on spices. Aspics odyssey. Food Technology. 55, PP: 36-44.
- [16] Dem, Dea K.; R. Mukhopadyay ; AB. Banerjee and M. Miro. 2003. Antimicrobial activity of *cuminum cyminum* L. Ars pharmaceutical, uu(3), PP: 257-269.
- [17] إحسان، سعد علي. 1999. دراسة بعض العوامل المؤثرة في الصفات الكمية والنوعية للزيوت العطرية في النعناع. أطروحة دكتوراه جامعة بغداد-كلية الزراعة.
- [18] Graces A. and N.H. Casey. 2003. Oviposition and egg quality traits of dwarf and naked neck layers. S. Afr. J. Animal Sci., 33: 105-110.
- [19] Shanaway, M. 1987. Hatching weight in relation to egg weight in domestic birds. World Poultry Science Journal. 43:107-119.
- [20] Narushin, VG; MN, Romanov. 2002. Egg physical characteristics and hatchability. World's Poult. Sci. J. 58:297-303.
- [21] سامي، محمد سعيد محمد (2003). إنتاج السمّان في المشاريع الصغيرة والكبيرة وسمّان الزينة (رعاية-تغذية-أمراض). مكتبة الأنجلو المصرية - القاهرة.
- [22] الخيلاني، فراس مزاحم وسنبيل جاسم حمودي وعماذ الدين عباس العاني وسامي حامد فرحان (2008). تأثير إضافة زهرة نبات البابونك إلى العليقة في الصفات الإنتاجية لطيور السمّان. مجلة علوم الدواجن العراقية:4(1):20-26.
- [23] الخيلاني، فراس مزاحم، سنبل جاسم حمودي، لمي خالد البندر و صياح صالح كاظم (2009). تأثير استخدام الزعتر (*Thymus Vulgaris* L. في عليقة طيور السلوى على الأداء الإنتاجي ونوعية البيض. مجلة الزراعة العراقية : 14 (5): 89-94.

## The effect of adding *Cuminum cyminum* L seed powder to the ration in specific qualitative characteristics of the Sapanail quail eggs

Ali Qays Jalil

College of Veterinary Medicine , Tikrit University , Tikrit , Iraq

### Abstract

Experiment was conducted to period 8 weeks in farm of animal production in agriculture college/tikrit university during which study the effect of different levels of use the powder cumin seeds in egg production and qualitative characteristics to eggs of the Japanese Quail, as it has been used 54 sexually mature birds randomly distributed on three transactions nutritional divided as follows: the first treatment (T1) the control of any treatment without the addition of cumin seeds powder, the second treatment (T2) Add cumin seeds powder 0.2%, the third treatment (T3) Add cumin seeds powder 0.4%, showed the results non-significant to all studied traits ... traits of shell thickness that high significant it second and third treatments ( $P \leq 0.05$ ) on control treatment .

جدول رقم 3: تأثير إضافة مسحوق بذور الكمون إلى العليقة في الصفات الداخلية لبيض طائر السمان الياباني

المعدل	14-11 أسبوع	10-7 أسابيع	العمر المعاملة
دليل الصفار			
a2,436±34,008	a1,472±38,864	a3,570±29,152	T1 السيطرة
a1,617±35,975	a1,968±39,607	a1,138 ±32,343	T2 0,2% كمون
a2,035±36,508	a1,573±41,617	a1,766±31,400	T3 0,4% كمون
دليل البياض			
a0,616±10,214	a1,045±10,996	a0,556±9,432	T1 السيطرة
a0,579±10,937	a0,511±11,936	a0,864±9,938	T2 0,2% كمون
a0,598±10,522	a0,627±11,897	a0,522±9,147	T3 0,4% كمون
نسبة الصفار (%)			
a2,463±37,545	a1,422±34,303	a4,476±40,788	T1 السيطرة
a2,142±39,540	a3,199±38,500	a3,140±40,577	T2 0,2% كمون
a1,524±36,991	a1,686±38,123	a2,640±35,859	T3 0,4% كمون
نسبة البياض (%)			
a3,066±47,849	a1,439±51,923	a5,651±43,775	T1 السيطرة
a3,394±46,253	a3,872±49,448	a5,633±43,057	T2 0,2% كمون
a1,550±48,931	a2,065±48,054	a2,484±49,806	T3 0,4% كمون

• الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لكل صفة تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية (P<0.05).

#### المصادر

- [8] Shaath, N. A., and N. R. Azzo, 1993. Essential oil of Egypt. In G. Charalambous (Ed.), Food flavor ingredients and composition Amsterdam: Elsevier Sci. Pub (PP. 591-603).
- [9] Goodwin, T.W. and E. I. Mercer, 1985. Introduction to Plant Biochemistry. 2nd ed Pergaon press, Oxford. New.pp.856.
- [10] Mabrouk, S.S. and N.M. EL-Shayeb, 1980. Inhibition of Aflatoxin Formation by Some Spices. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 171 (5)PP: 344-350.
- [11] Saksera NK, S. Saksena, 1984. Enhancement in the Antifungal Activity of Some Essential Oils in Combination against Some Dermatophytes. India Perfumer; 28: 42-45.
- [12] El-Kady, J.A.; S.S. EL-Maraghy and E.M. Mohamed, 1993. Antimicrobial and anti-dermatophyte activity of some essential oil from spice. Qatar Univ. Sc. J., 13(1) PP:63-69.
- [13] Bown D. 1995. Encyclopedia of Herbs and their Uses. Dorling Kindersley, London.pp.113-198.
- [14] الشحات، نصر أبو زيد. 2000. الزيوت الطيارة. قسم الزراعة وإنتاج النباتات الطبية والعطرية شعبة البحوث الصيدلانية والدوائية المركز القومي للبحوث بالقاهرة. الدار العربية للنشر والتوزيع ع ص 257.
- [15] Chase, C. ; H.S. Oliff ; M.S. Sanger ; J. Hoppe ; D. Graves ; M. Garner-Wizard and D. Wepp, 2001. Herb Clib TM, RE: Article reviews uses and statistics
- [1] Tipu. LA. , T. N. Pasha and Z. AIL. 2006. Comparative efficacy of salinomycin sodium and Neeni fruit (*Aadii'acht indica*) as feed additive anti-coccidials in broilers. Int. J. Poult. Sd., 1(4): 91-93.
- [2] Esonu, B. O.; J. C. Azubuike; O. O. Emenalom; E. B. Etuk; I. C. O. Koli; Ukwu and C. S. Ninja., 2004. Effect of Enzyme Supplementation on the performance of Broiler Finisher fed Microseism.
- [3] الناصري، عمار صلاح الدين (2008). تأثير بذور الكزبرة *Coriandrum Sativum* L. المضافة إلى العليقة في بعض الصفات الإنتاجية و صفات الدم لفروج اللحم. رسالة ماجستير-كلية الزراعة-جامعة تكريت.
- [4] Guler, T.; O. N. Erats; M. Ciftci and B. Dalkilic, 2006. Effect of feeding coriander *Corandrum sativum* L. on egg production performance and Nutrient Retention in Laying Japanese Quails. J. Appl. Anim. Res. 30: 181-184.
- [5] Morris, J.A.; A. Khettry and E.W. Seitz, 1975. Antimicrobial Activity of Aroma Chemicals. Journal of American Oil Chemistry Society. 56. 595-603.
- [6] Saunders, W.B. 1998. Trease and Evans Pharmacognosy. Typesets by Technical Typesetters, Ashford, Kent, and UK.pp.773.
- [7] El-Sawi, S. and M. A. Mohammed. 2002. Cumin herbs as a new source of essential oils and its response to foliar spray with some microelements Food chem., 77:75-80.

تم تحليل البيانات باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) لدراسة تأثير المعاملات في الصفات المدروسة، وقرنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود [29]، واستعمل البرنامج الإحصائي [30] في التحليل.

#### النتائج والمناقشة

##### 1- صفات البيضة الخارجية:

يظهر من الجدول 2 عدم وجود فروق معنوية للفترتين والمعدل بين المعاملات بالنسبة لوزن البيضة والوزن النسبي للقشرة ودليل شكل البيضة بينما تفوقت المعاملتان الثانية والثالثة معنوياً ( $P < 0.05$ ) على المعاملة الأولى في سمك القشرة، فكان المعدل للمعاملتين الثانية والثالثة 0,223 و 0,222 ملم على التوالي مقارنة بالسيطرة التي سجلت 0,195 ملم.

##### 2- صفات البيضة الداخلية:

يظهر من الجدول 3 عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات بالنسبة لدليل الصفار ودليل البياض وكذلك النسبة المئوية للصفار والنسبة المئوية للبياض.

قد يعود سبب تفوق معاملتنا التجريبية على معاملة السيطرة في صفة سمك القشرة إلى عدة أسباب منها أن نظام التربية بالأقفاس يؤدي إلى رفع معدلات وزن البيضة وسمك القشرة [31]، وقد يعود السبب لدور الكمون في معالجة الإسهال وعسر الهضم [32]، أو لدوره كفاتح للشهية [17].. ويمكن أن يعود السبب إلى الدور العلاجي لبذور الكمون وخصوصاً احتوائه على الزيت العطري الذي يمتلك كفاءة في مقاومة أنواع من البكتيريا *E. Coli* و *S. aureus* و *B. subtilis* وخميرة *C. albicans* فالكمون يمتلك خواص دوائية عديدة، فهو يعد مادة قابضة تقيد الجهاز الهضمي كذلك يستخدم لمعالجة الاضطرابات الهضمية [12]، وغيرها من الأسباب التي قد أسهمت في تناول الطائر للعلف والاستفادة منه بصورة أفضل.

المعاملة الأولى معاملة سيطرة، أما الثانية والثالثة فكانت 0,2 و 0,4% من مسحوق بذور الكمون على التوالي، وقد وُفِّر العلف والماء بصورة حرة حسب المكونات العلفية في العليقة المبينة لاحقاً.

لقد تم جمع البيض يومياً في الصباح الباكر وتم قياس الصفات التالية: وزن البيضة، وزن الصفار والبياض بميزان عشري لأقرب مرتبة عشرية للغرام الواحد، وتم أخذ قياسات طول البيضة وعرضها، سمك القشرة، قطر الصفار والبياض، ارتفاع الصفار والبياض بواسطة مسطرة منزلفة رقمية (فيرنيا) ولأقرب مرتبة عشرية للمليمتر الواحد، كما جرى وزن القشرة مع الأغشية بعد كسر البيضة بميزان حساس ولأقرب مرتبة عشرية.

##### جدول رقم (1) مكونات عليقة الإنتاج لطائر السلوى الياباني\*

الأولى	العلائق %
	المواد العلفية
36.6	الذرة الصفراء
16.5	الحنطة
33.1	كسبة فول الصويا بروتين خام 44%
2.5	بريمكس**
4.0	زيت نباتي
--	مسحوق بذور الكمون
7	حجر الكلس
0.3	ملح الطعام
100	المجموع
	التركيب الكيميائي المحسوب
2839,03	طاقة ممثلة (كيلو سعرة طاقة ممثلة/كغم علف)
19,57	بروتين %
3,62	ألياف الخام %
1,08	لايسين %
0,44	ميثايونين %
0,77	ميثايونين+سستين
3,2	كالمسيوم %
0,40	فسفور %

[28]

\*\*Each kg of mineral premix contains 80000 mg Manganese; 60000 mg Iron; 60000 mg Zinc; 5000 mg Copper; 200 mg Cobalt; 1000 mg Iodine; 150 mg Selenium.

##### جدول رقم 2: تأثير إضافة مسحوق بذور الكمون إلى العليقة في الصفات الخارجية لبيض طائر السمان الياباني

المعدل	11-14 أسبوع	7-10 أسابيع	العمر / المعاملة
	وزن البيضة (غم)		
a0,418±10,861	a0,350±11,460	a 0,695±10,262	T1 السيطرة
a0,276±10,644	a0,460±10,960	a 0,284±10,328	T2 0,2% كمون
a0,298±11,569	a0,308±11,400	a 0,539±11,738	T3 0,4% كمون
	دليل شكل البيضة		
a0,010±0,772	a0,016±0,785	a0,013±0,759	T1 السيطرة
a0,019±0,757	a0,024±0,780	a0,029±0,734	T2 0,2% كمون
a0,011±0,772	a0,016±0,754	a0,011±0,789	T3 0,4% كمون
	الوزن النسبي للقشرة %		
a0,799±14,428	a0,467±13,772	a1,563±15,084	T1 السيطرة
a1,600±14,228	a1,054±12,050	a2,837±16,405	T2 0,2% كمون
a0,480±14,077	a0,708±13,822	a0,711±14,331	T3 0,4% كمون
	سمك القشرة (ملم)		
b0,006±0,195	a0,011±0,196	b 0,009±0,194	T1 السيطرة
a0,007±0,223	a0,012±0,222	a0,010±0,224	T2 0,2% كمون
a0,003±0,222	a0,005±0,224	a0,003±0,220	T3 0,4% كمون

• الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لكل صفة تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ( $P < 0.05$ ).

قام [22] بإضافة زهرة نبات البابونك إلى عليقة السمان الياباني بنسب 0,0 , 0,2 , 0,4 % فحصل تفوق معنوي ( $P < 0.05$ ) للمعاملة الثالثة (0,4%) مقارنة مع بقية المعاملات (0,0 , 0,2%) في صفات ارتفاع الصفار، ارتفاع البياض وسمك القشرة في حين لم يجد فروقاً معنوية بين المعاملات في صفات قطر الصفار، وزن الصفار ووزن القشرة.

توصل [23] باستخدامه لنبات الزعتر في عليقة طائر السلوى الياباني بنسبة 0,0 , 0,2 , 0,4 % إلى وجود تفوق معنوي في المعاملة الثالثة (0,4%) بالمقارنة مع المعاملتين 0,0 , 0,2% في صفات ارتفاع الصفار، ارتفاع البياض، وزن الصفار وسمك القشرة ولم يجد هناك فروقاً معنوية بين المعاملات في صفات قطر الصفار ووزن القشرة.

دراسة أخرى قام بها [24] لمقارنة سلالتين من طائر السلوى الياباني (البنّي والأبيض) لم يجد فروقاً معنوية في كل من دليل الصفار، سمك القشرة مع الأعشبة ووحدة هيو بين السلالة البنّية والبياض.

وأشار [25] الذي استخدم بذور اليانسون في عليقة طائر السلوى الياباني بنسبة 0,0 , 0,2 , 0,4 % إلى عدم وجود فروق معنوية في صفاتي قطر الصفار (ملم) ووزن الصفار (غم) في حين تفوقت معاملة إضافة 0,4% في ارتفاع الصفار (ملم)، ارتفاع البياض (ملم)، وزن القشرة (غم) وسمك القشرة مقارنة بالمعاملتين (0,0 , 0,2%) .

أجرى [26] دراسة لمعرفة تأثير مسحوق القرفة بنسبة 0,1 و 0,2% في الصفات النوعية لبيض طائر السمان الياباني، وقد أظهرت الدراسة أن إضافة مسحوق القرفة إلى العليقة بنسبة (0,2%) قد سجل ارتفاعاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في معدل وزن البيضة (12,7غم) وارتفاع الصفار (10,3 ملم) ووزن البياض (6,92غم) في حين لم تسجل أي فروقات معنوية في كل من ارتفاع البياض، وزن الصفار، وزن القشرة، سمك القشرة، قطر الصفار وقطر البياض.

ولكون طائر السمان الياباني من الأنواع الصغيرة المستخدمة لإنتاج البيض واللحم [27]، وأشارت العديد من الدراسات إلى أن الصفات النوعية للبيضة هي من الصفات الاقتصادية المهمة فقد هدفت هذه التجربة إلى دراسة تأثير إضافة مسحوق بذور الكمون إلى العليقة في إنتاج البيض والصفات النوعية لبيض طائر السمان الياباني.

#### مواد وطرائق البحث

أجريت التجربة في حقول الثروة الحيوانية التابعة لكلية الزراعة وتم فحص البيض في مختبرات كلية الطب البيطري/ جامعة تكريت لل عمر 6-14 أسبوع تم خلالها دراسة تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق بذور الكمون في إنتاج البيض والصفات النوعية لطائر السمان الياباني، إذ تم استخدام 54 طائراً ناضجاً جنسياً تم توزيعها عشوائياً في أقفاص بثلاثة طوابق وكانت أبعاد القفص الواحد 40×40×40 سم مصنوعة من الحديد المشبك، واستعملت المناهل والمعالف المعلقة بجانب كل قفص، وقد اشتملت الدراسة على ثلاث معاملات لكل معاملة 6 مكررات وفي كل مكرر 3 طيور، وتم خلط كمية من مسحوق بذور الكمون مع العليقة بصورة جيدة، فكانت

إن تناول مسحوق الكمون وبمعدل (1-2غم) يومياً يعالج عسر الهضم حيث انه مَدَّر للعصارات المعوية وطارد للغازات ومقوي للقلب وينصح باستخدامه للتشنجات العصبية [14]. وفي الهند أجرى الباحثون الدراسات عن فعاليتها وكفاءة كمضاد للسرطان [15]، ففي معهد مدراس للسرطان في الهند لوحظ بأن الكمون يقلل 80% من التحطم الكروموسومي (Chromosomal damage) الذي يحصل بشكل طبيعي بسبب المواد الكيماوية المسرطنة، كما يزيد من فعالية انتقال مركب Glutathione مما يحمي من الإصابة بأنواع السرطان Cancer [16] وأكد نفس المصدر أن المستخلص الكحولي للكمون يمتلك القدرة على تثبيط عدد من الأحياء منها مرضية وأخرى مفسدة للغذاء وبدرجة كبيرة.

بعض النباتات الحاوية على الزيوت الطيارة تستخدم مواد فاتحة للشهية وتوابل مثل الكمون *Cuminum cyminum* والينسون *Pimpinella anisum* والكزبرة *Coriandrum sativum* والهيل *Elettaria cardamomum* [17].

الصفات النوعية للبيضة هي عدد من المظاهر المرتبطة بقشرة البيضة والألبومين والصفار، وتقسم إلى صفات نوعية داخلية وصفات نوعية خارجية وهي بمعظمها سهلة القياس وتستهمل بالتقييم العلمي بشكل واسع [18]. وتعود أهمية الصفات النوعية الخارجية كونها مؤشراً حقيقياً للصفات النوعية الداخلية للبيضة (ذات الأهمية الأكبر) وفي وصف كمية المحتوى الداخلي من الألبومين دون كسر البيضة، كما وتعد الأساس الأول لسعر البيضة من خلال تأثيرها على كمية البيض المكسور وعلى رغبة المستهلك وبالتالي القيمة السعيرية، كما إن نوعية البيض الخارجية الخاص بالتربية له تأثير مباشر على نسب الفقس والتطور الجنيني [19]، وتعد صفات القشرة (وزن القشرة ونسبة وزن القشرة إلى البيضة والمساحة السطحية للبيضة والوزن النوعي للبيضة من الصفات النوعية للبيضة والمرتبطة ارتباطاً عالي المعنوية بوزن البيضة [20].

تتأثر نوعية البيضة في طائر السلوى الياباني بعدة عوامل (وراثية وبيئية) ومنها التغذية التي تؤثر على نوعية البياض والصفار وسمك القشرة والصفات النوعية الأخرى إذ تتركب البيضة من 20,7% قشرة وأغشية، 31,9% صفار و 47,4% بياض ويبلغ سمك القشرة بدون أغشية 0,197 ملم [21].

أشار [4] عند استخدامه نبات الكزبرة في عليقة طائر السلوى الياباني بنسبة 0,0 , 0,5 , 1,0 , 2,0 , 4,0 % إلى وجود تفوق معنوي ( $P < 0.05$ ) للمعاملتين 1,0 , 2,0 % بالمقارنة مع بقية المعاملات (0,0 , 0,5 , 4,0%) في صفاتي وزن الصفار والبياض، ولم يجد فروقاً معنوية بين المعاملات في صفة دليل الصفار والبياض وشكل البيضة، وتفوقت جميع المعاملات التي احتوت على نبات الكزبرة (0,5 , 1,0 , 2,0 , 4,0%) إذ سجلت 87,28 , 89,17 , 88,84 , 89,14 على التوالي في صفة وحدة هيو بالمقارنة مع معاملة السيطرة (0,0%) التي سجلت 86,54.

## تأثير إضافة مسحوق بذور الكمون *Cuminum cyminum* L إلى العليقة في الصفات النوعية

### لبيض طائر السمان الياباني *Japanese quail*

علي قيس جليل

كلية الطب البيطري ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

Email: abo.alhasn@yahoo.com

#### المخلص

أجريت التجربة لمدة 8 أسابيع في حقل الانتاج الحيواني التابع لكلية الزراعة/ جامعة تكريت لدراسة تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق بذور الكمون في الصفات النوعية لبيض طائر السمان الياباني، إذ استُخدم فيها 54 طائراً ناضجاً جنسياً وُزعت عشوائياً على ثلاث معاملات تغذية مُقسمة كالتالي: الأولى (T1) معاملة سيطرة بدون إضافة لمسحوق بذور الكمون، والثانية (T2) فيها مسحوق بذور الكمون بنسبة 0,2%، والثالثة (T3) فيها مسحوق بذور الكمون بنسبة 0,4% وقد أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية لجميع الصفات المدروسة عدا صفة سمك القشرة التي تفوقت فيها المعاملة الثانية والثالثة معنوياً ( $P < 0.05$ ) على معاملة السيطرة.

الكلمات المفتاحية: الكمون ، صفات نوعية ، بيض ، سمان

#### المقدمة

Acoradiene (11.46%)، أما نسب حوامض الأسترات الموجودة في الزيت الطيار للكمون فهي (Hydro cinnamyl Acetate) 2.34% (1.09% (Benzoic Acid 4-(Methyl-ethyl)-P-، 2.11% (Anisyl acetate)، وذكر أن نسب المركبات الكيميائية الموجودة في الزيت الطيار تختلف تبعاً لاختلاف الأنواع والأجزاء النباتية وطريقة الاستخلاص والأجهزة المستخدمة في الكشف، إضافة إلى العوامل البيئية، كما أن الزيت الطيار للكمون يحتوي على الحوامض والأسترات Propyltigliate (0.34%) .

وُجد أن نسب مركب الـ Cumin aldehyde تراوحت بين (26-42%) و  $\beta$ -Pinene (4.23%) و Y-Terpinene (1.03%) و P-Cymene (1.54%)، وهو يمثل المكون الرئيس للزيت الطيار حيث بلغت نسبته المئوية 55-62% [8]، وأشار [9] إلى أن مسار حامض الميفالونيك Mevalonic acid Pathway هو الذي يعطي المركبات التربينية مثل  $\beta$ -P-Cymene and Cumin aldehyde و Pinen.

ووجد [10] أن استخدام الكمون بتركيز 0,5% كان مناسباً في تثبيط تكوين السموم الفطرية (Aflatoxines) في نقيع الرز تثبيطاً كاملاً، وقد استخدم الكمون في مجال حفظ الأغذية، فعرّف مثبّطاً لبعض الفطريات المفسدة للأغذية، وله القدرة في السيطرة على الأمراض الناجمة عن الأعفان [11].

أظهرت دراسة [12] أن الزيت العطري للكمون *C. cyminum* L يمتلك كفاءة في مقاومة أنواع من البكتيريا *E. Coli* و *S. aureus* و *B. subtilis* وخميرة *C. albicans* فالكمون يمتلك خواص دوائية عديدة، فهو كما عرف عشباً عطرياً ويعد مادة قابضة تقيد الجهاز الهضمي، كما يستخدم في معالجة الاضطرابات الهضمية ويعمل كمادة محفزة للأعضاء التناسلية واضطرابات الشعب الهوائية والسعال ويعد مسكناً للألام ويستخدم لمعالجة تسوس الأسنان [13].

أشارت البحوث العلمية الحديثة إلى ضرورة استخدام النباتات الطبية بصورة علمية وذلك لاعتبارها مصدراً غذائياً وصحياً آمناً [1]، لذا فقد أدخلت النباتات والأعشاب الطبية التي تحتوي على مواد فعالة كمواد علفية غير تقليدية للحصول على علائق متزنة تمتاز بإمكانيتها في زيادة مناعة الطائر وتُحسن من كفاءته الإنتاجية [2]، وقد أجريت العديد من الدراسات التي استُخدمت فيها النباتات الطبية وتأثيرها على الأداء الإنتاجي لفروج اللحم وطائر السمان وكانت النتائج مشجعة [3] [4]، ومنها نبات الكمون *Cuminum cyminum* L المشتق من الاسم الإغريقي (Kymino) العائد للعائلة الخيمية (Apiaceae Umbelliferae) وهي عائلة تنتمي لها نباتات تمتلك مجاميع من مظلات صغيرة منتظمة لتكون المظلات الرأسية. يتكون الزيت الطيار للكمون من المركبات التربينية غير الحلقية والحلقية (الأحادية والثنائية) وتشكل المركبات الأيديهدية الجزء الأكبر من مركبات زيت الكمون بسبب وجود مركب الكمون الديهايد Cumin-aldehyde، إذ إن نسبة الأيديهدات المحسوبة على أساس هذا المركب تشكل 25-35% من الزيت الطيار [5] [6].

أشار [7] إلى أن المركب الأساس للزيت الطيار للكمون هو Cumin aldehyde إذ بلغت نسبته في الزيت المستخرج من البذور 53,55% في حين بلغت نسبته في الزيت المستخرج من عشبة الكمون 54,40%، ويبيّن نفس الباحث أن الزيت الطيار للكمون يحتوي على مواد فعالة أخرى وهي  $\delta$ -Pinene (1.7%)، Sabinene (1.6%)،  $\beta$ -Pinene (1.26%)، Myrcene (0.72%)،  $\delta$ -Phellandrene (0.75%)، 3-Carene (0.81%)،  $\delta$ -Terpinene (0.95%)، P-Cymene (1.54%)، Y-Terpinene (1.06%)،  $\delta$ -Terpinol (0.84%)، Cumin aldehyde (53.55%)، Thymol (1.27%)، Perillaaldehyde (1.13%)،  $\beta$ -Cisbergamotene (2.10%)، Cumin alcohol (1.21%)،  $\beta$ -Caryophyllene (3.14%)،  $\beta$ -Farnesene Cis (1.72%)،

- معاملات الهضم واداء الحملان العواسية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة تكريت.
- 41- Johnson, R. R. and McClure, K. E. (1972). High fat rations for ruminants. 1. The addition of saturated and unsaturated fats to high roughage and high concentrate rations. J. Anim. Sci., 34 (3): 501.
- 42- Bahrami, Y., Foroozandeh, A.D., Zamani, F., Modarresi, M., Eghbal- Saied, SH., and Chekani-Azar, S. (2010). Effect of diet with varying levels of dried grape pomace on dry matter digestibility and growth performance of male lambs. Journal of Animal & Plant Sciences, Vol. 6, Issue 1: 605-610.
- 43- Mousa , M.R.M. (2011). Effect of feeding Acacia as supplements on the nutrient digestion, growth performance, carcass traits and some blood constituents of Awassi lambs under the conditions of North Sinai. Asian Journal of Ani. Sci., 5 (2): 102-117.
- 44- Van Soest, P. J. (1994). Nutritional Ecology of the Ruminant. Second edition. Comstock Publishing Associates; Cornell University Press, Ithaca and London. 476 p.
- 36- الملاح، عمر ضياء محمد علي. (2001). استخدام نسب مختلفة من مخلفات صناعة السكر من البنجر في علائق تسمين الحملان العواسية. رسالة ماجستير - كلية الزراعة والغابات - جامعة الموصل.
- 37- محمود ، عادل عيد محمد. (2005). غاب المياه العذبة كعلف غير تقليدي صيفي لتغذية المجترات في مصر .
- 38- عويضة، نبيل محمد، محمد سعيد صالح، السيد محمد عبد الرؤوف، محمود محمد بنداري و محمد مرعي. (2007). تقييم نبات الغاب لتغذية الجاموس الحلاب. مركز البحوث الزراعية . قسم تغذية الانتاج الحيواني . 10(2): 15- 29 .
- 39 - الجباري ، عماد مجيد نوري. (2012). تأثير استخدام مكعبات البوريا مع دبس التمر كاضافات غذائية في الاداء الانتاجي للحملان العواسية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة تكريت.
- 40- حسين ، سعد علي محمد. (2012) . تأثير استخدام نسب مختلفة من مسحوق قشور الزمان مع مستويين من العلف المركز على

## Effect of using different rations of (*Phragmites Cummins*) wild reed hay and concentrate feed in the productive performance of Friesian calves

Falah H.S. Al-Abbasy , Hamed I. E. kutaibani  
College of Agriculture, Tikrit University, Tikrit, Iraq

### Abstract

The current study was conducted in the field of the Department of animal resources College of Agriculture - University of Tikrit, for the period from 11/28/2012 till 02/25/2013. Using nine Friesian calves, at average age of 16 months weighted at average  $242.77 \pm 10.60$  kg. were distributed Completely Randomized Design (CRD) experiment by three Total Mixed Rations (TMR) of different levels of Concentrate: Roughage feed (C:R) 60:40, 40:60 and 50:50 on dry matter base for the three groups respectively. The Roughage feed part of rations thw wild reed hay treated by 3% date syrup of roughage feed, calves were fed and given animals for free consumption. studied on the amount of feed intake, average body daily gain, total body gain, the feed conversion efficiency, nutrients digestion co- efficient The results of the current study are summarized in the following:

- 1- There was asinificant differences ( $P \leq 0.05$ ) in average body daily gain and total body gain of calves in first treatment (C:R 60: 40 %) excelled calves in the second and third treatments of C:R(40:60%) and (50: 50%) respectively.
- 2- There was no significant differences between all treatment in dry matter intake.
- 3- There was a significant increase ( $P \leq 0.05$ ) in feed conversion efficiency for the first treatment (60:40% C:R) compared to the second(40:60%) and third (50: 50%).
- 4- There was no significant differences in the amounts of nutrients raw in chmical composition , except for crude fiber which overtook second treatment was significantly ( $P \leq 0.05$ ) on the two treatments first and third the amount of elements indigestible there was outweigh the significant ( $P \leq 0.05$ ) or account for the treatment of the first ( 60:40 % C:R) compared Palmstoyen (40: 60%) and (50:50 %) and outperformed the first treatment was significantly ( $P \leq 0.05$ ) in the rate of digestion of all nutrients except nitrogen free extract and beat third treatment was significantly ( $P < 0.05$ ) on the second treatment in all ratios except digestion of organic matter and nitrogen free extract.

- Feed in Kimit-Fed Growth Diets for Beef Cattle. J. Anim. Sci. 81: 1671-1680.
- 23- Bartle, S.J., Preston, R. L. and Miller, M. F. (1994). Dietary Energy Source and Density: Effect of Roughage Source, Roughage Equivalent Tallow Level and Steers Type of Feedlot Performance and Carcass Characteristic. J. Anim. Sci. 72: 1943-1953
- 24 - الكنزاوي، عبدالحسن حمدان عبدالله. (1996). تأثير مستويات مختلفة من الشعير في بعض قياسات النمو والبلوغ الجنسي لجداء الماعز العراقي. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة البصرة.
- 25- Jabbar , M. A and Anjuml, M. I. ( 2008). Effect of diets with different forage to concentrate ratio for fattening of lohi lambs , Pakistan Vet. J., , 28(3): 150-152.
- 26- Dayani, O., Tahmasbi, R., Khezri, A. and Sabetpay, R.A. (2011). Effect of Feeding Dietary Treated Wheat Straw with Urea and Whey on Fattening Lambs Performance. Iranian Journal of Applied Anim. Sci. 1(4), 265-271.
- 27- Lorech , S.C. and F.L. Fluhaty .(1998). Effect of corn processing dietary roughage level and timing of roughage inclusion on performance of feeding steers. J. Anim. Sci., 76:681-685 .
- 28- Marten, G.C., Jordan, R.M. and Hovin, J.S. (1981). Improved lamb performance associated with breeding for alkaloid reduction in reed canary grass . Crop . Sci ., 21:295 .
- 29 - McClure, K. E., and Van Kuren, R.W. (1985). Effect grazeed forages and all concentrate in drilot on lamb performance. J. Anim. Sci., 61 (Suppl 1): 340 (Abstract).
- 30- Karnezos, T. P., Matches, A. G. , Preston, R. L. and Brown, C. P. (1994). Corn supplementation of lambs grazing Alfalfa. J. Anim. Sci., (72) : 783-789.
- 31- Kamalzadeh , A., Van Bruchem, J., Koops, W. J. , Tamminga, S. and Zwart, D. (1997). Feed quality restriction and compensatory growth in growing Sheep feed intake, digestion, nitrogen balance and modeling changes in feed efficiency. Livestik Production Science. (52) : 204-217.
- 32 - Haddad , S.G. and Husein, M.Q. (2004). Effect of dietary energy density on growth performance and slaughtering characteristics of fattening Awassi lambs. Livest. Prod. Sci, (87): 171-177.
- 33- قول، ازيد بهنان سبو. (2007). تأثير احلال العلف الاخضر محل العلف المركز في علائق تسمين العجول في ادائها الانتاجي وصفات ذبائحها في حملان الحمداني. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة صلاح الدين - أربيل.
- 34- Freeman, A.S., Ken P. Coffey and Steve Clark. (1993). Effect of fescue grazing pasture treatment, on feedlot performance of beef steers. southwest res- extension. 25-27.
- 35- Aye, P.A and Adegun, M.K. (2010) . Digestibility and growth in West African dwarf sheep fed gliricidia – based multinutrient block supplements. Agriculture and Biology Journal Of North America, 2010, 1(6): 1133-1139.
- 9 - المشهداني، خليل ابراهيم. (2000). استعمال مجروش القصب البردي المعامل باليوربا مع مستويات مختلفة من الدبس في تغذية الحملان العواسية. مجلة العلوم الزراعية العراقية 5 (4) : 51-54.
- 10- الحيايالي، صالح حسن سمير. (1996). التقويم الحيوي والبيئي والكيميائي لمبيد الكلايفوسيت عند استخدامه لمكافحة القصب البري [ *Phragmites australis (cav) Trin* ] - أطروحة دكتوراه - كلية الزراعة - جامعة بغداد.
- 11- الصقار ، أحمد ، علي كاظم الخواجة و غازي محمود عبد الله. (1974) . تقرير لجنة تصنيع العلف الحيواني الجاف في نباتات الأهوار في العراق / وزارة الزراعة ( مأخوذة من الملاح واخرون .1988).
- 12- طه، أحمد الحاج وغازي خزعل خطاب. (1993). تأثير تغذية دريس أو سايلاج القصب بدلاً من التبن على أداء النعاج الحوامل و نمو المواليد . مجلة آباء 3 (1) 9-17.
- 13- حسن ، شاكر عبد الامير و علي عبد الغني و ابياد نافع الدراجي. (1998a). دراسة تأثير إحلال نسب تصاعدية من القصب المجفف المجروش المعامل بهيدروكسيد الامونيوم محل دريس الجت في علائق تسمين الحملان العواسية . دراسات. 25 (1):128-134.
- 14- حسن، شاكر عبد الامير، علي عبد الغني و ابياد نافع الدراجي. (1998b). تأثير معاملة القصب المجفف المجروش بالصودا الكاوية أو هيدروكسيد الامونيوم او اليوريا على كمية العلف المتناول ومعامل الهضم العناصر الغذائية (In vivo). دراسات. 25(1). 135-145.
- 15 - السعدي ، ياسين محمد عودة. (2009). تأثير اضافة المعزز الحيوي وأحلال سايلاج القصب محل دريس الجت في العليقة في أداء الحملان العواسية. رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة بغداد.
- 16- A.O.A.C. (1990). Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> end. Association of Oficial Analytical Chemists, Arlington, Virginia.
- 17 - Ranjhan , S.K. (1993). Animal nutrition in the tropicx, 3rd Ed. vikas publishing house PVT. LTD. New Delhi, India. (cited by kutaibani, 1998).
- 18- SAS. (2001). SAS / STAT User's Guide for Personal Computers. Release 6-12. SAS. Institute Inc., Cary, NC, USA.
- 19- Duncan, D.B.(1955). Multiple Range and Multiple F. Test, Bionctrics, 11:1-42 .
- 20 - المهداوي ، مظهر كاظم كعبير. (2002). تأثير مصدر الطاقة والمستوى البروتيني في العليقة على نمو وتسمين الحملان المحلية أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة والغابات - جامعة الموصل.
- 21- El Shaer, H.M. Kandil, H.M.(1990). Comparative study on the nutritional Value of Wild and cultivated *Artiplex halimus* by sheep and goats. Comm. Sci. and Dev. Res. 29: 181. (Cited by Gihad & El Shaer, 1994).
- 22- Montgomery, S. P., J. S. Drouillard, J.J. Sind, T. B. Farran, J. N. Pike, A. M. Trater, C.M. Coetzer, H. J. Labruno, R. D. Hunter and R .A . Stock . (2003) . Combination of Alfalfa Hay and Wet Corn Gluten

الأولى لزيادة العلف المركز مع كمية مناسبة من العلف الخشن الذي يعمل على تحسن بيئة الكرش لزيادة إنتاج حامض البروبيونيك .

الجدول (4) تأثير نسبة العلف المركز الى الخشن في العلائق المتكاملة على معامل هضم المركبات الغذائية (%)

(المتوسط ± الخطأ القياسي)

المعاملات ( نسبة العلف المركز : العلف الخشن )			الصفات
الأولى ( 40: 60 )	الثانية ( 40: 60 )	الثالثة ( 50 : 50 )	
a 2.49 ±68.71	c 1.45 ±43.60	b 0.12 ±53.16	المادة الجافة
a 0.46 ±59.36	b 2.00 ±49.70	b 0.38±48.41	المادة العضوية
a 0.56 ±80.39	c 0.30 ±58.43	b 0.46 ±72.78	البروتين
a 0.14 ±37.16	c 0.32 ±32.50	b 0.33±35.55	مستخلص الايثر
a 0.52 ±61.44	c 0.29 ±37.84	b 0.65 ±43.26	الألياف
a 0.58 ±53.10	a 2.75±49.26	a 0.59±47.18	المستخلص الخالي من النتروجين

\*الأحرف المختلفة ضمن الصف الواحد بين متوسطات المعاملات تشير إلى وجود فروقات معنوية عند مستوى (P≤0.05).

يتبين من نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (4) تفوق المعاملة الأولى معنوياً (P≤0.05) على المعاملتين الثانية والثالثة إذ بلغت 61.44 ، 37.84 و 43.26 على التوالي ، وتفوقت المعاملة الثالثة على الثانية وقد يعود السبب لزيادة الألياف في المعاملة الثانية مقارنة بالأولى والثالثة أو ربما الى توفير ظروف افضل للاحياء المجهرية المحللة للألياف في المعاملة الأولى والثالثة اضافة الى ان نسبته في العليقة كانت اقل مقارنة بالعليقة الثانية [44]

6- معامل هضم المستخلص الخالي من النتروجين :

Nitrogen free extract digestibility

يظهر من نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (4) عدم وجود فروقات معنوية بين المعاملات الثلاثة إذ بلغت 53.10 و 49.26 و 47.18 على التوالي، الا أن المعاملة الأولى تفوقت حسابياً على المعاملتين الثانية والثالثة وتفوقت المعاملة الثانية حسابياً على المعاملة الثالثة وقد يعود السبب الى تفوق المعاملة الأولى حسابياً لزيادة العلف المركز مع كمية مناسبة من العلف الخشن .

وهذه النتائج أتقت مع ما توصل اليه [42] بوجود فروقات معنوية (P<0.05) في تجربة لدراسة خمسة مستويات من بثل العنب المجفف كعلف خشن بنسب 0 ، 5 ، 10 ، 15 و 20 % عند تغذية الحملان فازداد معامل هضم البروتين 52.06 ، 53.90 ، 53.53 ، 57.16 و 64.70 % على التوالي. واختلفت مع [40] عند استخدامه مستويين من العلف المركز 4 و 6 % لتغذية الحملان العواسية اذ لم يلاحظ فروقات معنوية في معامل هضم البروتين .

4- معامل هضم الدهون (مستخلص الايثر):

Ether extract digestibility

يُظهر الجدول (4) تفوق المعاملة الأولى معنوياً (P<0.05) على المعاملتين الثانية والثالثة وتفوق المعاملة الثالثة معنوياً على المعاملة الثانية إذ بلغ معامل هضم الدهون 37.16 و 32.50 و 35.55 للمعاملات الثلاثة على التوالي، وقد يعود السبب الى تفوق المعاملة الأولى لزيادة العلف المركز مع كمية مناسبة من العلف الخشن الذي يعمل على تحسن بيئة الكرش لزيادة إنتاج حامض البروبيونيك .

5- معامل هضم الألياف: Crude fiber digestibility

المصادر

5 - Hassan , S. A. , Al-Ani, A. N. and Farhan, S. M. A. (1989). The effect of different levels of corn cobs in The fattening diet of Awassi lambs . Iraqi J. of Agric. Sci., 20(2): 188-202.

6- طه ، أحمد الحاج، نجدة إبراهيم أحمد، عدنان خضر ناصر وعلي طالب. (1992) . تأثير تغذية ديس أو سايلج القصب بدلاً من التبن على نمو عجلات الحليب. مجلة إباء للأبحاث الزراعية. المجلد 2 ، العدد (2):262-270.

7- الدراجي، أياد نافع. (1996). معاملات كيميائية في تحسين القيمة الغذائية للقصب كعلف للأغنام . أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة - جامعة بغداد .

8- أحمد، عبد الرحمن عبد الكريم. (1997). دراسة تأثير بعض العوامل المؤثرة في تناول وهضم القصب البري في تغذية الحملان العواسية. أطروحة دكتوراه - كلية الزراعة - جامعة بغداد .

1- الملاح ، ميسر يحيى، أديب داود خروفة ، سعد عبد الزهرة ، عدنان خضر ناصر، نور الدين محمود عبد الله و نجدة إبراهيم. (1988) . إستعمال تبن القصب في علائق العجول. زانكو، العدد (4) المجلد (6) : 45-51 .

2- حسن ، شاكِر عبد الامير . (2005) . تأثير معاملة التبن بالغذاء السائل في الكمية المتأولة منه ومعامل هضمه ومعدل الزيادة الوزنية في الحملان العواسية . مجلة العلوم الزراعية العراقية . 36 : 133-138 .

3 - حسن ، شاكِر عبد الامير وسوزان محمد نور محمد . (2008) . استجابة الحملان الكردية للتغذية بالتبن المعامل وغير المعامل باليوربا مع مستويين من النتروجين المحتل في الكرش . مجلة دراسات. عمان الاردن.

4- حسن ، أشواق عبد علي. (2004) . إستعمال بعض المعاملات الكيميائية في تحسين القيمة الغذائية لسعف نخيل التمر . أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة - جامعة بغداد .

إختلاف الطاقة المتناولة إلى إختلاف مستويات العلف المركز [39] وتختلف هذه النتائج مع [38] إذ إزدادت الطاقة الأيضية معنوياً ( $P<0.05$ ) للمجموعات المغذاة على علائق تختلف فيها نسبة العلف المركز الى العلف الخشن في تغذية الجاموس في مصر .

#### معاملات هضم المركبات الغذائية Nutrients Digestibility

1- معامل هضم المادة الجافة: Dry matter digestibility يتبين من نتائج التحليل الاحصائي في الجدول (4) تفوق المعاملة الأولى معنوياً ( $P\leq 0.05$ ) في معامل هضم المادة الجافة فيها 68.71 على المعاملتين الثانية والثالثة التي بلغت المادة الجافة المهضومة فيهما 43.60 و 53.16 على التوالي ولم تكن هنالك فروقات معنوية ( $P\leq 0.05$ ) بين المعاملتين الثانية والثالثة وقد يعود السبب الى ان معامل هضم المادة العضوية في العلف المركز اعلى من العلف الخشن ، أو بسبب إختلاف مستويات العلف المركز والذي عمل على إختلاف تزويدها للعجول من حيث جميع المواد المغذاة [39] وتتفق هذه النتائج مع [40,20]

2- معامل هضم المادة العضوية:

#### Organic matter digestibility

يظهر من نتائج التحليل الاحصائي في الجدول (3) تفوق المعاملة الأولى معنوياً ( $P\leq 0.05$ ) التي بلغ معامل هضم المادة العضوية 59.36 % على المعاملتين الثانية والثالثة التي بلغ معامل المادة العضوية فيهما 49.70 و 48.41 % على التوالي ولم تكن هنالك فروقات معنوية بين المعاملتين الثانية والثالثة وقد يعود السبب الى أن معامل هضم المادة العضوية في العلف الخشن (دراس القصب) أقل من العلف المركز، أو قد يعود السبب الى إختلاف مستويات العلف المركز والذي عمل على إختلاف تزويدها للعجول من حيث جميع العناصر المغذية [39] وتتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه [28] وتتفق أيضاً مع [41] بوجود فروقات معنوية ( $P\leq 0.05$ ) لصالح المعاملة الثالثة إذ بلغ معامل هضم المادة العضوية 59.1 ، 63.7 و 75.4 % عند إستخدامهم مسحوق الجت، الدهن الحيواني و زيت الذرة الصفراء كمصادر طاقة في علائق تسمين الحملان . ولاتتفق هذه النتائج مع [43,42]

#### 3- معامل هضم البروتين: Crude protein digestibility

يُظهر الجدول (4) تفوق المعاملة الأولى معنوياً ( $P\leq 0.05$ ) التي بلغ معامل هضم البروتين فيها 80.39 على المعاملتين الثانية والثالثة التي بلغ فيهما معامل هضم البروتين 58.43 و 72.46 على التوالي وتفوقت المعاملة الثالثة معنوياً ( $P\leq 0.05$ ) على المعاملة الثانية وقد يعود السبب الى أن نسبة هضم البروتين الموجود في العلف المركز أعلى من الموجود في العلف الخشن (دراس القصب) ولهذا نلاحظ أنه كلما كانت نسبة العلف المركز أعلى في العليقة كانت نسبة هضم البروتين أعلى حيث كان المركز في المعاملة الأولى 60% وفي الثانية 40% وفي الثالثة 50% ، أوقد يعود السبب الى تفوق المعاملة

زيادة البروتين الخام المهضوم غم / وزن جسم أيضا معنوياً ( $P\leq 0.05$ ) للحيوانات التي غذيت على القصب الخشن او سيلاج القصب مقارنة بمجموعة السيطرة

وتختلف نتائجنا مع ماتوصل اليه [38] في دراستهم لتقييم استخدام نبات القصب في تغذية الجاموس الحلاب في مصر إذ استخدم في التجربة 12 جاموسة حلابة متوسط وزنها 500-600 كجم ما بين الموسم الثاني والموسم الخامس حيث غذيت على ثلاث علائق تجريبية كالآتي:

العليقة الأولى 46.2% مخلوط علف مركز + 37.4% قش أرز + 16.4% دريس برسيم.

العليقة الثانية 40.5% مخلوط علف مركز + 19.4% قش أرز + 40.1% نباتات القصب الخشن ، العليقة الثالثة 43.1% مخلوط علف مركز + 18.8% قش أرز + 38.1% سيلاج نباتات القصب. إزداد وحدات البروتين المهضوم معنوياً ( $P\leq 0.05$ ) للمجموعات المغذاة على العلائق الثانية والثالثة مقارنة بمجموعة السيطرة (العليقة الأولى).

2- كمية المركبات الغذائية المهضومة الكلية :

#### Total digested nutrients TDN

يُظهر الجدول (3) عدم وجود فروقات معنوية بين المعاملات الثلاثة إذ بلغت 4.13 ، 3.72 و 3.76 (كغم على التوالي) ، ولكن نلاحظ تفوق المعاملة الأولى حسابياً على المعاملتين الثانية والثالثة ، وقد يعود السبب الى زيادة نسبة العلف المركز في هذه المعاملة والتي أدت الى زيادة معامل هضم المادة العضوية للمعاملة الاولى (59.36) مقارنة مع المعاملتين الثانية والثالثة التي بلغ معامل هضم المادة العضوية فيهما (49.70 و 48.41 ) على التوالي (جدول 4).

وتختلف هذه النتائج مع ما توصل اليه [38] ، عند دراسته على الجاموس في مصر إذ إزدادت وحدات الغذاء المتناول يوميا معنوياً ( $P<0.05$ ) من مجموع المركبات الغذائية المهضومة للمجموعات المغذاة على علائق تختلف فيها نسبة العلف المركز الى العلف الخشن في تغذية الجاموس في مصر .

#### 3- كمية الطاقة الأيضية (ME) Metabolic Energy:

يُظهر التحليل الاحصائي في الجدول (3) عدم وجود فروقات معنوية بين المعاملات الثلاثة من حيث الطاقة الأيضية المتناولة إذ بلغت 62.24 ، 56.05 و 56.67 (ميغا جول / كغم TDN) على التوالي، الا أن المعاملة الأولى تفوقت حسابياً على كل من المعاملتين الثانية والثالثة وتفوقت المعاملة الثالثة على المعاملة الثانية وقد يعزى السبب الى إحتواء العلف المركز على مصادر للطاقة أعلى من العلف الخشن فكلما زاد مستوى العلف المركز زادت معه كمية الطاقة المتناولة لأن العجول إستهلكت كمية أكبر من الطاقة عند مستوى 60 % علف مركز لإحتوائه على الشعير والنخالة وكسبة فول الصويا وبقية مكونات العليقة حيث إن كمية المستخلص الخالي من النتروجين المتناولة عند العجول لهذا المستوى كانت متفوقة حسابياً عن باقي المستويين هذا ما أتمكن على كمية الطاقة الأيضية المتناولة لهذا السبب يمكن أن يعزى

الجدول (3) تأثير نسبة العلف المركز الى الخشن في العلائق المتكاملة على كميات العناصر الغذائية الخام والمهضومة المستهلكة (كغم/راس/يوم/ على اساس المادة الجافة) (المتوسط  $\pm$  الخطأ القياسي)

طاقة افضية (ME) مجانول/كغم TDN	المركبات الغذائية المهضومة (TDN) الكثيفة	الرماد	المادة العضوية		المستخلص الخالي من النروجين NFE		مستخلص الايثر		الالياف		البروتين		نصفات  المعاملات ( نسبة العلف المركز : العلف الخشن) الاولى ( 60 : 40 )  الثانية ( 60 : 40 )  الثالثة ( 50 : 50 )
			المهضوم	الخام	المهضوم	الخام	المهضوم	الخام	المهضوم	الخام	المهضوم	الخام	
$\pm 62.24$ a 2.67	$\pm 4.13$ a 0.15	$\pm 0.21$ b 0.00	$\pm 4.11$ a 0.16	$\pm 6.93$ a 0.30	$\pm 2.37$ a 0.08	$\pm 4.47$ a 0.19	$\pm 0.11$ a 0.00	$\pm 0.29$ a 0.01	$\pm 0.70$ a 0.03	$\pm 1.14$ c 0.04	$\pm 0.80$ a 0.03	$\pm 1.00$ a 0.04	
$\pm 56.05$ a 1.57	$\pm 3.72$ a 0.10	$\pm 0.30$ a 0.00	$\pm 3.69$ a 0.22	$\pm 7.60$ a 0.05	$\pm 2.27$ a 0.11	$\pm 4.62$ a 0.03	$\pm 0.10$ a 0.00	$\pm 0.31$ a 0.01	$\pm 0.60$ b 0.01	$\pm 1.01$ a 0.02	$\pm 0.62$ b 0.01	$\pm 1.06$ a 0.02	
$\pm 56.67$ a 0.87	$\pm 3.76$ a 0.08	$\pm 0.24$ b 0.01	$\pm 3.55$ a 0.09	$\pm 7.34$ a 0.13	$\pm 2.17$ a 0.01	$\pm 4.60$ a 0.08	$\pm 0.10$ a 0.00	$\pm 0.31$ a 0.01	$\pm 0.59$ b 0.02	$\pm 1.37$ b 0.02	$\pm 0.75$ a 0.03	$\pm 1.03$ a 0.02	

\* الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد بين متوسطات المعاملات تشير إلى عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى (  $P \leq 0.05$  ).

1- البروتين الخام والمهضوم: Crude and Digested protein يُظهر الجدول (3) عدم وجود فروقات معنوية بين المعاملات الثلاثة من حيث البروتين الخام المستهلك إذ بلغ البروتين الخام 1.00 و 1.06 (كغم / راس / يوم على التوالي). وقد يعود السبب في عدم ظهور الفروقات المعنوية الى أن نسبة البروتين في العلائق الثلاثة كانت متقاربة بين المركز والخشن وعدم وجود فروقات معنوية في معدل المادة الجافة المستهلكة بين المجموع الثلاث. أما من ناحية البروتين المهضوم نلاحظ تفاوتاً معنوياً للمعاملتين الأولى والثالثة عند مستوى (  $P \leq 0.05$  ) على المعاملة الثانية حيث بلغ البروتين المهضوم للمعاملات الثلاثة 0.80 ، 0.62 و 0.75 (كغم / راس / يوم) على التوالي. وقد يعود السبب الى أن نوعية البروتين وسرعة تحلله ومعامل هضمه في العلف المركز هي اعلى مما هي في العلف الخشن أو قد يعود السبب الى أن بيئة الكرش والنشاط البكتيري كان أفضل في حالة نسبة العلف المركز : العلف الخشن 40:60 (المعاملة الأولى) أو ربما يعود السبب الى حصول تزامن في مصدر البروتين المتحلل من العلف المركز مع الطاقة الموجودة في دبس التمر المضاف الى القصب مما ساعد في توفر العناصر الغذائية ومدى تيسرها لنشاط الأحياء المجهرية من خلال الحفاظ على الاس الهيدروجيني الملائم للكرش لعمل هذه الاحياء وبذلك يزداد المهضوم من البروتين وهذا يتضح في المعاملة الاولى و يلاحظ أيضاً من التفوق الحسابي لهذه المعاملة على المعاملة الثالثة .

وهذه النتائج تتفق مع [36] بخصوص وجود فروق معنوية (  $P < 0.05$  ) في معامل هضم البروتين الخام عند إحللهم تلف البنجر السكري أو المولاس كمصادر طاقة بنسب مختلفة محل الحبوب (الشعير، الذرة الصفراء) في علائق تسمين الحملان. وتختلف مع [37] عندما أجرى أربع تجارب هضم مباشرة عند استخدامه غاب المياه العذبة كعلف غير تقليدي صيفي لتغذية المجترات باستخدام اربعة ذكور من الابل السودانية (388 كغم) والكباش الأوسمي (50 كغم) وذكور الماعز الزيببي (27 كغم) ، قدم للحيوانات ثلاثة أشكال مختلفة من نبات قصب المياه العذبة ، وهي الخشن، سيلاج مضاف إليه 5% مولاس ودريس، وذلك بالمقارنة بمجموعة السيطرة والتي يمثلها دريس البرسيم كعلف خشن شائع صيفاً . إذ أظهرت النتائج

أما بخصوص معدل الزيادة الوزنية الكلية هنالك تفوق معنوي (  $P \leq 0.05$  ) للمعاملة الأولى على المعاملتين الثانية والثالثة إذ بلغ معدل الزيادة الوزنية الكلية 75.33 ، 66.00 و 67.00 ( كغم على التوالي) وبدون فروقات معنوية للمعاملتين الثانية والثالثة وهذا أمر طبيعي وذلك لأن الزيادة الوزنية اليومية كانت متفوقة في المعاملة الأولى. واتفقت هذه النتائج مع [33] عند دراسة تأثير إحلال العلف الخشن محل العلف المركز في علائق تسمين العجول حيث أعطيت العجول نسبة العلف المركز : الخشن للمعاملات الثلاثة على التوالي 0:100 ، 25 : 75 و 50 : 50. وكانت معدل الزيادة الوزنيه الكلية  $6.2 \pm 82.92$  و  $6.4 \pm 99.80$  و  $7.0 \pm 91.66$  كغم على التوالي. واتفقت مع كل من [12,9]

وأختلفت مع [34] بعدم وجود فروقات معنوية في معدل الزيادة الوزنية الكلية للعجول عند التغذية على العليقة المتكاملة علف مركز : علف خشن (جت وذر) بنسبة 25 : 75 ، 50 : 50 و 0 : 100 % على التوالي إذ بلغ معدل الزيادة الوزنية الكلية 241.82 ، 236.36 و 236.33 كغم على التوالي.

### 3- الوزن النهائي: Final weight

يتضح من نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (2) أنه لا توجد فروقات معنوية بين المعاملات الثلاثة إذ بلغ الوزن النهائي 310.33 ، 318.88 و 308.00 (كغم) على التوالي ، إلا أن المعاملة الثانية تفوقت حسابياً على المعاملتين الأولى والثالثة وتفوقت المعاملة الأولى على المعاملة الثالثة وقد يعود السبب الى إن الوزن الابتدائي كان متفاوت حسابياً وخاصة في المعاملة الأولى التي تفوقت في معدل الزيادة الوزنية اليومية والكلية مما أدى الى عدم معنويتها في الوزن النهائي .

إذ تتفق هذه النتيجة مع [22] بعدم وجود فروقات معنوية للعجول في معدلات الوزن النهائي إذ بلغ 540 ، 533 و 535 كغم على التوالي. وهذه النتيجة متفقة مع [35] بعدم وجود فروقات معنوية.

ولم تتفق مع [26] بالنسبة للعجول إذ بلغ معدل الوزن النهائي 38.74 و 39.12 و 40.88 و 36.95 كغم على التوالي .

محتوى العلائق المتكاملة من العناصر الغذائية الخام المستهلكة والمهضومة:

الخشن 40:60 على كل من المعاملتين الثانية والثالثة إذ بلغ معدل الزيادة الوزنية اليومية 837.03 و 733.33 و 744.44 (غم / رأس / يوم على التوالي) ولم تكن هنالك فروقات معنوية بين المعاملتين الثانية والثالثة الا أن المعاملة الثالثة التي كانت نسبة العلف المركز : العلف الخشن فيها 50:50 تفوقت حسابياً على المعاملة الثانية التي كانت فيها النسبة 60:40 ، وقد يعود السبب إلى زيادة المركبات القلوية الموجودة في القصب التي جعلت من المعاملتين الثانية والثالثة غير معنوية بالنسبة للمعاملة الأولى التي كانت نسبة القصب فيها أدنى حيث عند زيادة كمية القصب تنخفض الزيادة الوزنية إذ أن المركبات القلوية في القصب تتناسب عكسياً مع الزيادة الوزنية اليومية والكلية [28] واتفقت هذه النتائج مع [29] عند تغذية الحملان على العلائق المركزة إذ أعطت معدلات نمو أعلى معنوياً ( $P \leq 0.01$ ) عن تلك المغذاة على الخشن ، حيث حصل تحسن معنوي في معدل الزيادة الوزنية اليومية ( $P < 0.01$ ) من 240 الى 280 غرام عند زيادة كمية العلف المركز المقدم للحملان التي كانت تتغذى على العلف الخشن . كما ذكر [30] بأن إضافة العلف المركز (الذرة) بكمية صفر و 123 و 247 غرام/ يوم الى حملان (Rambouillet × Suffolk) التي كانت تتغذى على العلف الخشن في ثلاث مجاميع حسنت من معدل زيادتها الوزنية اليومية معنوياً ( $P \leq 0.01$ ) من 141 الى 154 ثم 169 غم/ يوم . كما لاحظ [31] عند تغذية مجموعتين من الحملان حصول انخفاضاً معنوياً ( $P \leq 0.01$ ) للمجموعة المغذاة على دريس الحشائش فقط مقارنة مع المجموعة التي تناولت عليقة إحتوت 50% دريس الحشائش و50% علف مركز.

وتتفق مع دراسة [32] حيث وجدوا أن إحلال دريس الجت بنسبة 15% محل العلف المركز كان أفضل معنوياً ( $p \leq 0.05$ ) بمعدل الزيادة الوزنية اليومية من إحلال 60% منه في تسمين الحملان العواسية لمدة 62 يوم ، حيث بلغتا 258 و 178 غرام / يوم على التوالي ، وقد علل الباحثان السبب، إلى انخفاض كمية الطاقة الممتلئة المتناولة في المجموعة الثانية واتفقت مع كل من [26,9,12] بوجود فروقات معنوية.

الغذائي للمعاملة الاولى مقارنة بالمعاملتين الثانية والثالثة بينما لم تكن هناك فروقات معنوية بين المعاملة الثانية والثالثة حيث بلغت 8.62 ، 10.77 و 10.26 كغم علف / كغم زيادة وزنية بالوزن الحي على التوالي، ربما يكون سبب ذلك الى توفر كمية من البروتين والطاقة المتاحة في العليقة الاولى الذي احدث توازن بين المصدرين اضافة الى ان نسبة الالياف في العليقة الاولى اقل مما وفر ظروف لتصنيع البروتين المايكروبي حيث ان ارجول/طاقة يحتاج الى 7.81 غم بروتين متحلل للحصول على 1غم بروتين مايكروبي علماً ان مصدر الطاقة كان متوفر بشكل جيد من خلال اضافة دبس التمر وهذا واضح من خلال الزيادة الوزنية اليومية والكلية للمعاملة الاولى التي تعتبر دليل الكفاءة [24] ويكون هذا واضحاً ايضاً من ملاحظة الجدول (3) إذ كان هناك تفوق للمعاملة الاولى في جميع العناصر الغذائية المهضومة بالاضافة الى الطاقة الايضية وهذا يوفر افضل الظروف للاستفادة من الغذاء المتناول للادامة والانتاج وتنعكس على الزيادة الوزنية اليومية والكلية والتي كانت أفضل في المجموعة الاولى.

وإتفقت هذه النتائج مع [25] وتتفق مع ماوجده [26] إذ بلغت كفاءة التحويل الغذائي 10.95 ، 10.34 ، 8.34 و 13.3 على التوالي.

أما المعاملتان الثانية والثالثة فلا توجد فروقات معنوية بينهما وهذا يؤكد أنه بالإمكان تقليل نسبة العلف المركز مانسبته 10 % وقد يعود السبب في عدم المعنوية لهاتين المعاملتين الى تقارب مستويات الطاقة الايضية للمجموعتين [20]

وإتفقت مع [27] بعدم وجود فروقات معنوية في كفاءة التحويل الغذائي عند استخدامهم عليقتين ، احتوت الأولى 100 % علفا مركزا والثانية أستبدل 15 % من العلف المركز بالعلف الخشن على أساس المادة الجافة في تسمين العجول لمدة 186 يوماً إذ بلغت كفاءة التحويل الغذائي 5.21 و 5.49 كغم علف / كغم زيادة وزنية على التوالي.

2- معدل الزيادة الوزنية اليومية والكلية: Average daily gain and total gain  
يبيّن الجدول (2) تفوق المعاملة الأولى معنوياً في معدل الزيادة الوزنية اليومية ( $P \leq 0.05$ ) التي كانت فيها نسبة العلف المركز : العلف

الجدول (2) تأثير نسبة العلف المركز الى الخشن في العلائق المتكاملة على اداء عجول التجربة (المتوسط ± الخطأ القياسي)

الصفات	الوحدة	المعاملات ( نسبة العلف المركز : العلف الخشن )		
		الأولى ( 40 : 60 )	الثانية ( 60 : 40 )	الثالثة ( 50 : 50 )
الوزن الابتدائي	كغم	13.22± 235	6.17±252.33	12.42±241
الوزن النهائي	كغم	11.46±310.33	6.22±318.88	11.00±308.00
الزيادة الوزنية الكلية	كغم	1.76±75.33	0.57±66.00	1.52±67.00
الزيادة الوزنية اليومية	غم	19±837.03	25±733.33	16.80±744.44
المادة الجافة المستهلكة	كغم / يوم	0.34 ±7.20	0.05±7.90	0.14±7.63
كفاءة التحويل الغذائي	كغم	0.49±8.62	0.14 ±10.77	0.30±10.26

\*الأحرف المختلفة ضمن الصف الواحد بين متوسطات المعاملات تشير إلى وجود فروقات معنوية عند مستوى ( $P \leq 0.05$ ).

( Duncans Multiple Range ) وتحت مستوى معنوية (0.05) ،

وبالاعتماد على النموذج الرياضي الاتي :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

حيث إن :

$$Y_{ij} = \text{قيمة الملاحظة } j \text{ للعائدة للمعاملة } i .$$

$$\mu = \text{المتوسط العام للصفة المدروسة .}$$

$$T_i = \text{تأثير المعاملة ، اذ ان } i = 1, 2, 3 .$$

$e_{ij} = \text{الخطأ التجريبي المرافق لكل مشاهدة والذي يفترض انه يتوزع توزيعاً طبيعياً وعشوائياً مستقلاً بمتوسط قدره صفر وتباين عام قدره } \sigma^2 e .$

#### النتائج والمناقشة

#### تأثير العلائق المتكاملة في الصفات الإنتاجية : Effect of diets in the productive qualities

1- المادة الجافة المستهلكة وكفاءة التحويل الغذائي : Dry matter intake and food conversion efficiency

يُظهر التحليل الإحصائي للنتائج (الجدول 2) عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات الثلاثة إذ بلغت المادة الجافة المستهلكة 7.20 و 7.90 و 7.63 (كغم / رأس / يوم ) للمعاملات الثلاثة على التوالي (40:60 و 60:40 و 50:50 لنسبة العلف المركز : العلف الخشن) على التوالي وقد يعود سبب ذلك إلى التقارب في اعمار واوزان العجول [20] ، وأن تقارب العلف المستهلك قد يعود أيضاً لتقارب محتوى الطاقة الأيضية في العلائق الثلاثة حيث بلغت 62.24 و 56.05 و 56.67 على التوالي وهناك تناسب عكسي بين كمية العلف المستهلك وكمية الطاقة في العليقة وهذا يبدو واضحاً حيث ان المعاملة الاولى استهلكت علف اقل من المعاملتين الثانية والثالثة لاحتوائها على طاقة اعلى ومن ثم المعاملة الثالثة واخيراً المعاملة الثانية ، ولم يكن للقصب تأثير سلبي في إستساعة المادة الجافة للعجول وتقبلها للعلائق الحاوية عليه [1] لأنه كان هناك فروقات حسابية لصالح المعاملة الثانية مقارنة بالمعاملتين الأولى والثالثة والمعاملة الثالثة على المعاملة الأولى إذ إن توفر العناصر الغذائية الضرورية لعمل الأحياء المجهرية في الكرش ولاسيما توفر مصدر للطاقة المتيسرة مثل المولاس الذي يؤدي الى زيادة المتناول من المادة الجافة [21]

وتتفق هذه النتائج مع [22] إذ لاحظوا عدم وجود فروقات معنوية في كمية المادة الجافة المتناولة عند استخدامهم ثلاث معاملات تحوي 10 ، 20 و 30 % علف خشن اخضر على أساس المادة الجافة في علائق تسمين العجول إذ بلغت المادة الجافة المستهلكة 5.30 و 5.30 و 5.20 كغم على التوالي.

وتختلف مع ما اشار إليه [23] إلى وجود فروقات معنوية ( $p \leq 0.05$ ) في معدلات كمية المادة الجافة المستهلكة بزيادة مستوى العلف الخشن 10 ، 20 ، 30% في علائق تسمين العجول إذ بلغت معدلاتها 8.40 ، 9.20 و 9.90 كغم مادة جافة / يوم على التوالي. وأشارت نتائج الدراسة الحالية الى وجود زيادة معنوية ( $P \leq 0.05$ ) في كفاءة التحويل

تم تقدير نسبة الدهن بطريقة الاستخلاص بالايثر البترولي والذي درجة غليانه 50 درجة مئوية لمدة ثمانية ساعات بواسطة جهاز Soxhlet extract .

4-1-6 الألياف الخام Crude Fiber :

تم تقدير الألياف وذلك بوزن عينة العلف ومن ثم هضمها بحامض الكبريتيك المخفف وترشيحها بواسطة الشاش وغسل العينة بالماء للتخلص من بقايا الحامض ، ثم هضمها بالمحلول القاعدي المخفف (هيدروكسيد الصوديوم) ، ومن ثم ترشيحها بواسطة الشاش وغسلها بواسطة الماء للتخلص من بقايا القاعدة ثم يتم تجفيف العينة لمدة ثلاثة ساعات على درجة حرارة 120 درجة مئوية وبعدها توزن العينة ويفرق الوزنين مقسماً على وزن العينة الأصلي مضروباً في 100 يتم تقدير الألياف ويطرح وزن العينة قبل الترميد مع وزن العينة بعد الترميد مقسومة على وزن العينة قبل الترميد  $100 \times$ .

5-1-6 الرماد Ash:

قدر الرماد من خلال وزن الجفنة فارغة ومن ثم وزنت العينة ثم وضعها في فرن الحرق على درجة حرارة 600 درجة مئوية ويطرح وزن العينة قبل الترميد مع وزن العينة بعد الترميد مقسومة على وزن العينة قبل الترميد  $100 \times$ .

6-1-6 المستخلص الخالي من النتروجين

( Nitrogen free Extract ) :

الذي يمثل الكاربوهيدرات الذاتية فقد تم حسابه على أساس المادة الجافة وفق المعادلة:

NFE غم /كغم = 100 - ( البروتين الخام غم /كغم + الألياف الخام غم /كغم + مستخلص الأيثر الخام غم /كغم + الرماد غم /كغم). أو NFE غم /كغم = المادة العضوية - (البروتين الخام غم /كغم + الألياف الخام غم /كغم + مستخلص الأيثر الخام غم /كغم).

7-1-6 مجموع المركبات الغذائية المهضومة

TDN (Total Digetible nutrients) :

تم إحتسابها وفق المعادلة التالية

TDN غم /كغم = البروتين المهضوم (غم) + الألياف المهضومة (غم) + المستخلص الخالي من النتروجين المهضوم (غم) + مستخلص الأيثر المهضوم (غم)  $\times 2.25$ .

8-1-6 الطاقة الأيضية (Metabolizable Energy) ME :

تم حسابها على أساس إن كل كيلو غرام من مجموع المركبات الغذائية المهضومة Total Digetible nutrients (TDN) يجهز 3.6 ميغا كالوري من الطاقة الأيضية ، أي مايساوي 15.062 ميغا جول [17].

7- التحليل الإحصائي Statistical analysis:

تم اجراء التحليل الاحصائي للبيانات الخاصة بالتجربة باستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز [18] وباستعمال التصميم العشوائي الكامل Compleat Randomized Design ( CRD ) ، ولاختبار معنوية الفروق بين المعاملات فقد اجري اختبار [19] متعدد الحدود

## المواد وطرائق العمل

استعمل نبات القصب Wild reeds كجزء خشن من العلائق التي استعملت في الدراسة الحالية لتسمين عجول الفريزيان وذلك لتوفره بكميات كبيرة .

### 1- تحضير دريس القصب البري المجروش والعلف المركز :

تم قطع القصب من منطقة مكيشيفة في محافظة صلاح الدين على ضفاف نهر دجلة ثم نقله وتجفيفه هوائياً مدة خمسة أيام على أرضية اسمنتية نظيفة وجافة وتقطيعه الى قطع تسمح للحيوان تناولها بواسطة آلة تعمل بالوقود ويعددها عبئ دريس القصب بأكياس ، أما العلف المركز جرش وخلط في خلط كهربائي بشكل متجانس والجدول رقم (1) يبين مكونات العلف المركز .

### 2- تحضير العليقة المتكاملة :

تم فرش الكمية من الدريس المجروش على بساط من البولي أثيلين ثم رش عليه مادة دبس التمر المخففة بالماء بنسبة 1:4 ماء: دبس ، إذ أن الدبس تم تخفيفه بالماء بهذه الكمية بعد إجراء عدة تخفيف الى أن تم الوصول الى هذا التخفيف المناسب في عملية الرش وضمان رشه على كل العليقة وجفافه في اليوم التالي وكانت نسبة الدبس 3% من العلف الخشن هي الأفضل وبعد ذلك تم فرش العلف المركز فوق القصب المرشوش بالدبس حسب كمية العلف المركز لكل معاملة على أساس المادة الجافة.

### 3 - حيوانات التجربة Experimental Animals :

أجريت الدراسة الحالية بإستعمال تسعة عجول كانت متوفرة في حقول الثروة الحيوانية في كلية الزراعة جامعة تكريت والتي كان متوسط أعمارها 16 شهر تقريباً وقسمت العجول بشكل عشوائي مع مراعاة تساوي الأوزان لكل المعاملات بمتوسط وزن قدره  $242.77 \pm 10.60$  إلى ثلاثة مجاميع في كل مجموعة ثلاثة عجول ، تم إيواء العجول في حضيرة مغلقة مقسمة داخلياً وذات مساح وربطت فريداً وكانت هذه العجول تروض أسبوعياً في المساح لمدة أربعة ساعات ، وقد أعطيت العلائق التجريبية مدة 14 يوماً كفترة تمهيدية وخلال هذه الفترة تم تعويد العجول على الصعود للميزان وكذلك التعود على الربط والتغذية كانت فردية وبشكل تدريجي ومن ثم بدأت التجربة بتاريخ 2012/11/28 وكان لكل حيوان معلق ومنهل خاص به الى أن تم تثبيت احتياجات الحيوان من هذه العلائق وكانت هذه العلائق تعطى على وجبتين في الساعة الثامنة صباحاً والرابعة مساءً وتم قياس الكميات المستهلكة من العلف يومياً بطرح المتبقي من الكمية المقدمة للحيوانات ، ووزنت الحيوانات كل أربعة عشر يوماً وبصورة دورية من بداية التجربة ولغاية نهاية التجربة البالغة تسعون يوماً وكان الوزن يتم في الساعة الثامنة صباحاً قبل تقديم العلف بإستخدام ميزان الكتروني.

### 4- عينات العلف Fodder Sample :

تم أخذ عينات العلف نموذج من كل عليقة ونموذج من كل مادة على حدة والمادة التي تستوجب الجرش تم جرشها كالشعير والقصب بواسطة مطحنة ومن ثم أخذت للمختبر لغرض تحليلها .

جدول ( 1 ) مكونات العلف المركز والتركيبة الكيميائية للعلائق التجريبية

ت	اسم المادة	النسبة %
1	الشعير	55
2	نخالة الحنطة	35
3	كسبة فول الصويا	8
4	حجر الكلس	1
5	ملح الطعام	1

التركيب الكيميائي للعلائق التجريبية							
المعاملة	العليقة % مركز : خشن	المادة الجافة	المادة العضوية	بروتين خام	الالياف الخام	مستخلص الايثر	الرماد
الاولى	40 : 60	88.16	96.38	14.00	15.99	4.22	3.62
الثانية	60 : 40	88.71	96.22	13.53	20.13	4.03	3.78
الثالثة	50 : 50	88.60	96.30	13.77	18.06	4.13	3.70

\*الجزء الخشن : هو دريس القصب المجروش والمعامل دبس التمر .

### 5- عينات الروث Feces Samples :

أجريت تجربة الهضم في الأسبوع الاخير من التجربة سبقها ثلاثة أيام كفترة تمهيدية حيث تم جمع الروث من كيس الهضم قبل تقديم وجبة العلف الصباحية ثم وزنت وأخذت منها نماذج بمقدار ( 20 % ) من الكمية المطروحة ثم جففت الكمية المأخوذة هوائياً ، ثم طحنت بواسطة هاون خزفي وتم الاحتفاظ بها في علب بلاستيكية محكمة الغلق لحين إجراء التحليلات الكيميائية [16] .

### 6- التحليل الكيميائي للعينات Chemical analyses for :

samples :

1-6 تحليل عينات العلف Fodder samples analyses :

أجريت تحاليل العلف حسب الطريقة المتبعة في [16] ، وذلك لتقدير المركبات الغذائية في العلائق والتي تشمل .

### 1-1-6 الرطوبة Moistures:

قدرت الرطوبة بأخذ عينة من العينات المراد تقدير الرطوبة فيها وذات وزن معلوم وعلى درجة حرارة 105 درجة مئوية بواسطة فرن فيه منظم على درجة الحرارة المطلوبة وقياس الرطوبة يتم حين ثبات وزن العينة لمرتين متتاليتين .

### 2-1-6 البروتين الخام Crud Protein :

قدرت نسبة النتروجين بطريقة Micro- Kjeldahl .

### 3-1-6 الدهن (مستخلص الايثر) :

## تأثير استخدام نسب مختلفة من دريس القصب البري (*Phragmites Cummins*) wild reed hay والعلف المركز في الاداء الانتاجي لعجول الفريزيان

فلاح حسن صالح العباسي ، حامد أسحق إسماعيل الكتيبياني

كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

Dr.hamidishaq@gmail.com Falahhasan730@gmail.com

### الملخص

أجريت هذه الدراسة في الحقل الحيواني التابع لقسم الثروة الحيوانية في كلية الزراعة - جامعة تكريت للمدة من 28-11-2012 ولغاية 25-2-2013. باستخدام تسعة عجول فريزيان ، بمتوسط عمر قدره 16 شهر تقريباً وبتوسط وزن  $10.60 \pm 242.77$  كغم . وزعت العجول عشوائياً في ثلاثة مجاميع ويواقع 3 عجول لكل مجموعة. غذيت العجول بصورة فردية في تجربة تغذوية بتصميم عشوائي كامل واستعملت ثلاثة علائق متكاملة بنسب مختلفة من العلف المركز إلى العلف الخشن، إذ كانت نسب المركز إلى الخشن 40:60 ، 60:40 و 50:50 للمجاميع الأولى والثانية والثالثة على التوالي وذلك على اساس المادة الجافة ، وكان العلف الخشن مكون من دريس القصب البري المجروش المعامل بدبس التمر بنسبة 3% من العلف الخشن، وأعطيت العجول هذه العلائق بصورة حرة وتمت دراسة تأثير تلك النسب في الاداء الانتاجي لعجول الفريزيان (كمية الغذاء المتناول، الزيادة الوزنية اليومية والكلية وكفاءة التحويل الغذائي و معاملات هضم العناصر الغذائية). وأظهرت النتائج:

1- وجود فروقات معنوية ( $p \leq 0.05$ ) في معدل الزيادة الوزنية اليومية والكلية لصالح المعاملة الاولى مقارنة بالمعاملتين الثانية والثالثة ، بينما لا توجد فروقات معنوية بين المجموعتين الثانية والثالثة.

2- عدم وجود فروقات معنوية بين المعاملات في معدل استهلاك المادة الجافة .

3- حصول زيادة معنوية ( $P < 0.05$ ) في كفاءة التحويل الغذائي بالنسبة للمعاملة الاولى مقارنة بالمعاملتين الثانية والثالثة

4- عدم وجود فروقات معنوية في كميات العناصر الغذائية الخام من حيث التركيب الكيميائي ماعدا الألياف الخام حيث كانت هناك زيادة معنوية ( $P < 0.05$ ) في المعاملة الثانية مقارنة بالمعاملتين الأولى والثالثة أما كمية العناصر المهضومة كان هنالك زيادة معنوية ( $P < 0.05$ ) للمعاملة الاولى مقارنة بالمعاملتين الثانية والثالثة . وتفوقت المعاملة الاولى معنوياً ( $P < 0.05$ ) في معامل هضم جميع المركبات الغذائية ماعدا المستخلص الخالي من النتروجين وتفوقت المعاملة الثالثة معنوياً ( $P < 0.05$ ) في جميع نسب الهضم ماعدا المادة العضوية والمستخلص الخالي من النتروجين على المعاملة الثانية.

الكلمات المفتاحية: عجول الفريزيان ، علائق متكاملة ، القصب البري .

### المقدمة

يُقدر محصوله الخضري في العراق بحوالي 900 ألف طن سنوياً [15,14,13, 12, 11,9,8,7,6]

أن توافر كميات كبيرة من هذا النبات نتيجة نموه الطبيعي السريع بأوراقه وسيقانه الصغيرة الغضة والتي يتحصل عليها قبل تقدم النبات بالمر والإفاداة منها مباشرة كأعلاف خضنة خضراء في تغذية المجترات أو خزنها للإفاداة منها لاحقاً ، شجّع المربين على استعماله في تغذية الحيوانات الزراعية المجترّة ، كما دفع الباحثين الى التفكير الجدي في استعماله بديلاً مناسباً عن الأعلاف الخشنة الخضراء المكلفة اقتصادياً كالجوت والبرسيم على سبيل المثال لا الحصر .

تهدف الدراسة الحالية الى استعمال علائق متكاملة يمثل فيها دريس القصب المجروش المعامل بدبس التمر الجزء الخشن وبنسبة خلط مختلفة من العلف المركز لتحقيق أعلى معدلات للنمو تسمح بها صفات العجول الوراثية ، ومعرفة أفضل مستوى غذائي على بعض الصفات الانتاجية متمثلة بمعدل الزيادة الوزنية اليومية والكلية وكفاءة التحويل الغذائي.

يُعاني العراق من نقص شديد في الموارد العلفية عموماً والأعلاف المركزة خصوصاً ، حيث ان مساحات المراعي المتوافرة والمساحات المحددة لزراعة الأعلاف الخضراء لا تتناسب مع احتياجات و أعداد الحيوانات الموجودة . و بما أن الأعلاف الخشنة تحتل جزءاً مهماً في عليقة الحيوانات المجترّة لذلك اتجهت أنظار العديد من الباحثين الى استخدام بقايا المحاصيل الزراعية والصناعية والنباتات البرية المتوافرة، فمنهم من استخدم الأتبان [3,2,1] . وبعضهم استخدم سعف النخيل [4] والبعض الآخر استخدم كوالح الذرة [5] ومنهم من استخدم القصب البري wild reeds [9,8,7,6]. كعلف خشن لتغذية المجترات وذلك لتوفره في مساحات واسعة من الاهوار وعلى حافات الانهار وقنوات الري وبحيرات الأسماك وخزانات المياه الأرضية وفي الكئبان الرملية والترب الطينية الثقيلة والمناطق ذات مستوى الماء القريب من سطح الأرض في وسط وجنوب العراق [10] ويتميز القصب بكثرة أوراقه وسيقانه الغضة وخاصة قبل تقدمه بالمر ، إذ

- [30] Burton, G.R.W. and Engelkirk, P.G.(1999). Microbiology for the Health Sciences Ch. 12.6<sup>th</sup> ed. Lippincott Williams and Wilkins. London. P. 403-405.
- [31] Al-Joboury, K.H. (1997). Bacteriological, Immunological and Pathological parameters associated with *Salmonella typhi*. Infection in Man, Mice and Guinea pigs. Ph. D. Thesis, College of Veterinary Medicine. University of Baghdad.
- [32] Radostitis, O. M.; Blood, D. C.; Gay, C. C.; Inchcliff, K. W, and Constable, P. D. (2007b). Veterinary Medicine, 10<sup>th</sup> Ed., W. B. Saunders company, Edinburgh London. Pp: 896- 920.
- [33] Hartman, H.; Slucka, R. and Koch, H.S. (2010). Pathogenesis, clinical features and course of Salmonellosis in cattle caused by *Salmonella dublin*. Moustshefte fur veterinarmedizin. 29: 824-828.
- [34] Orr, M.B.; Hunter, A.R.; Brown, D.D. and Smith, A.F.G.(2006). The histopathology and experimental infections of sheep with *Salmonella typhimurium*. Vet. Scie. Commu. 1:191-195.
- [35] Barrow, P.A.; Lovell, M.A.; Szmolleny, G. and Murphy, C.K. (1998). Effect of ofloxacin administration on excretion of *Salmonella enteritidis* by experimentally infected chickens and on quinolone resistance of their *Escherichia coli* flora. Avian pathology. 27: 586-590.
- [36] Mason, J. and Eble, E. (1991). The *Salmonella enteritidis* in control manual of clinical Microbiology, 8<sup>th</sup> ed. Asm press.
- [37] Chandra, M.; Shankar, H.; Agarwal, M.; Agarwal, R. K.; Sharma, G.R.; and Brown, A. E. (2007). Benson's Microbiological Applications. 10<sup>th</sup> ed. McGraw- Hill. New York, p. 415- 421.
- [20] Reed, L.J.; and Muench, H. (2008). A simple method of estimating fifty percent end point. A. J. Hyg., 27(3): 493-497.
- [21] Harley, J. P. and Prescott, L. M. (2001). Laboratory exercises in Microbiology. 2<sup>nd</sup> ed. W.M.C. Brown publisher. Dubuque, Iowa. Melbourne, Australia. Oxford, England.
- [22] Freter, R. (2010). Experimental enteric shigella and vibrio infection in Mice and Guinea Pigs. J. Exp. Med. 104:411-8.
- [23] Aughey, E., Frye, F.L. (2011): Comparative Veterinary Histology With Clinical Correlates. 2<sup>nd</sup> ed. Manson Publishing. Ltd. Pp:10-17.
- [24] Snedecor, G. W & Cochran, W.G (1968). Statistical methods Iowa State Univ. press.
- [25] Jawetz, E.; Melnick, J.L. and Adelberg, E. (2001). Enterobacteriaceae. In: Review of Medical Microbiology, 22<sup>nd</sup> ed. Edited by Geo, F.; Janet, S. and Stephen, A. McGraw - Hill Companies, USA, p. 217-228.
- [26] Gilbert, R.J. and Humphery, T.J. (1998). Food Borne Bacterial Gastroenteritis in: Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infection. 9<sup>th</sup> ed., Edited by Collier, L.; Balows, A. and Sussman, M., Oxford Univ. Press, p. 539-565.
- [27] Brooks, G. F.; Butel, J. S. and Mors, S. A. (2001). Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. 22<sup>nd</sup> ed. Lange Medical Books/ McGraw- Hill. U.S.A. p. 225- 228.
- [28] Carter, G.R. and Wise, D.J. (2004). Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology. 6<sup>th</sup> ed. Iowa state press, Black well publishing com.
- [29] Clarke, R.C and Glyes, C.L. (1986). *Salmonella*. In: Pathogenesis of bacterial infection in animals. Ch. 13. 1<sup>st</sup> ed. Iowa State Univ. Press. P.95-109.

## Pathological study of *Salmonella bongori* with physical and histological change in mice.

Yasseen Hussain Owaied<sup>1</sup>, Sana'a S. Ahmed<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Biology Department, College of Education for Women, Tikrit University, Tikrit, Iraq

<sup>2</sup> College of Veterinary Medicine, University of Tikrit, Tikrit, Iraq

### Abstract

The study aspect included the pathological study of isolated germs in rats, which have been done through three steps:

Step one which included specifies the half killing dosage (LD<sub>50</sub>), and germ counting in plates. Step two infected rats by using high dosage of the germs. Step three attempt to infected rats by half of killing dosage of the germs (LD<sub>50</sub>).

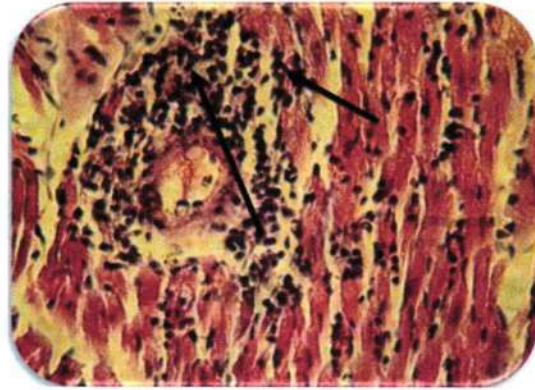
Pathological changes had been studied in the infected organs, germs spread in that organs and the time of its appearance and disappearance. The study results appeared that the rats was sensitive for the half of killing dosage of the germs (LD<sub>50</sub>) which was about (4 × 10<sup>7</sup>) cfu/ml, Also had been found that the *Salmonella bongori* germs is the cause of the pathological changes in infected rats organs, it shows that each of intestines, liver, spleen, lung, kidney, and heart was invaded by the germs.

The most important histopathological changes that show on the organs was multiple focus of granulomatous in addition to the infiltration of inflammatory cells in infected organ.

اما المجموعة E: والتي شرحت بعد اسبوع من اعطاء الجرعة المخمجة فقد كانت نتائج العزل الجرثومي موجبة لجميع الاعضاء الداخلية لحيوانات هذه المجموعة فضلا عن نفوق حيوانين من هذه المجموعة بعد ستة ايام من اعطاء الجرعة المخمجة. اما التغيرات العيانية والمجهرية للجهاز الهضمي المعدة، الامعاء الدقيقة والاعور كانت اقل شدة من المجموعتين A و B بينما بقية الاعضاء الطحال، الكبد، الكلية، القلب والرئة كانت مشابهة للمجموعة D من حيث شدة الخمج.

اما المجموعة الضابطة F: فاعطت حيواناتها نتائج سالبة لزراع جراثيم السالمونيلا، ومن الجدير بالذكر انه تم عمل مقاطع نسيجية للاعضاء المختلفة من فئران هذه المجموعة وفحصت عيانيا ومجهريا ولم يلاحظ عليها تغيرات مرضية.

أن ظهور هذه الآفات في الأعضاء الحشوية نتيجة لانتشار جراثيم السالمونيلا عن طريق الدم ووصولها إلى هذه الأماكن وتكاثرها فيها [37].



الصورة (16) مقطع نسيجي في قلب أحد الفئران لوحظ إرتشاح شديد بين الخلايا الالتهابية حول الأوعية الدموية وبين الألياف العضلية

(↑) مع تنخر الألياف العضلية (↑) (H & E) X 400.

ووجدنا في القلب إرتشاح الخلايا الالتهابية حول الأوعية الدموية المحتقنة بين الألياف العضلية القلبية، وقد سجل هذه الآفات [36] كذلك لاحظها [6] في خنازير غينيا المصابة بجراثيم S.

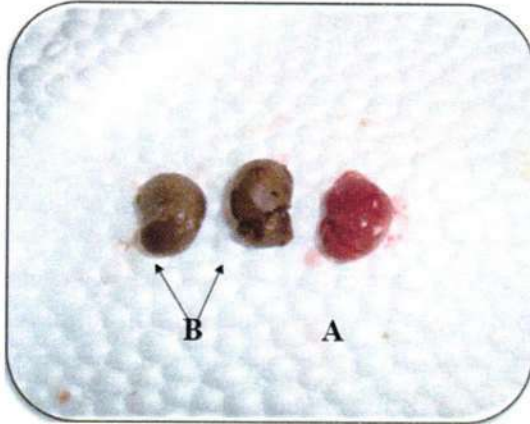
*typhimurium*

المصادر

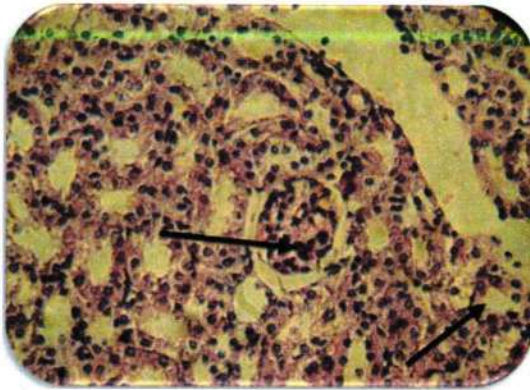
[10] Quinn, P. J.; Carter, M. E.; Marky, B. and Carter, G. R. (2007c). Clinical Veterinary Microbiology. 6<sup>th</sup> ed. Mosby, London.  
[11] Kenneth J. R, George Ray, C. Sherris, (2004). "Medical Microbiology AnIntroduction, finfections Diseases". 4<sup>th</sup>.ed. MCGRAW.HILL.  
[12] Papadopoulou, C.; Davies, R. H.; Teale, C. J. and Threlfall, E. J. (2004).Salmonella serovars of public health significance in G.B.  
[13] Carter, G.P.; Feldman, R.A. & Brenner, D.J. (1986). Occurrence and distribution of serotypes of arizonae subgroup Salmonella strain in the US from, 1967- 1976. J. Clin. Microb. 23: 1036-1064.  
[14] Pena, M.E.; Higuera – Igleis, A.L.; Huertas – Jimenez, M.a.; Baez-Martinez, R.; de-leon, J.M.; Artego-Cabello, F.; Rangel-Frausto, M.S. and Leon-Rosales, S.P. (2001).  
[15] An outbreak of *Salmonella enteritidis* infection among hospital workers in Mexico. Salud Publica de Mexico. 43(3): 1-6.  
[16] Aroral, A.K. (2011). *Salmonella typhimurium* isolation from apparently healthy goats slaughtered for meat purposes. Mesoptamia. J. Agric. 15(1):43-53.  
[17] Susan, M. A.; Cynthia, M. K.; Scott line. (2005). The merckveterinary manual. 9<sup>th</sup> ed. Merck and Co. Inc. White House Station, N.J., U.S.A. : p. 160.  
[18] Lennet, E. H., Balows A., Hansler W. J. and Shadomy H. J. (1985). Manual of clinical microbiology 4<sup>th</sup> ed. American Society forMicrobiology, Washington, D. C., U. S. A.  
[19] Coles, E.H. (1986). Veterinary Clinical Pathology. 4<sup>th</sup> Ed. Canada, W.B. Saunders Company Ltd. Philadelphia, London, Toronto. Pp: 359-367.

[1] الحديثي، بشار صادق (2007). دراسة إنتشار مرض السالمونيلا في العجول والابقا. رسالة ماجستير. فرع الاحياء المجهرية . كلية الطب البيطري , جامعة بغداد. العراق.  
[2] الراوي، زينب سامي حبيب (2003). دراسة تشخيصية لجرثومة *Salmonella typhimurium* المعزولة من المرضى والابقار. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد. العراق.  
[3] الزوي، رغد محمد نجيب ابراهيم (2003). دراسة مناعية ومرضية لتأثير مستضد الرويسات الأولية على الإصابة بجراثيم *Salmonella typhimurium* في خنازير غينيا. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد. العراق.  
[4] الهاشمي، لهيب جمال مجيد (2005). دراسة بعض الجوانب المناعية والمرضية للسالمونيلا المعوية *S.enteritidis* في الفئران، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد. العراق.  
[5] Maddocks, S., Olma, T. and Chen. S. (2002).Comparison of CHROM.  
[6] Radostitis, O.M.; Gary, C.C.; Blood, D.C. and Hinchcliff, K.W. (2007a).Veterinary.  
[7] Medicine: A text book of the Diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. 9<sup>th</sup> ed. harcontt publisher Ltd. P.809-830.  
[8] Galan, J.E. (2011). Molecular genetic bases of *Salmonella* entry into hostcell. Mol. Micro. 6: 590-595.  
[9] Yaramis, A.; Yildirim, I.; Katar, S.; Özbek, M. N.; Yalçin, I.; Alitas, M. and Hosoglu, S. (2001). Clinical and laboratory presentation of typhoid fever. International pediatrics. 16 (4): 227-231.

اما الكلية فقد لوحظ عيانيا احتقان العضو الصورة (14) وتميز مجهريا بوجود التورم الغيمي Cloudy swelling للخلايا الظهارية المبطننة لبعض النبيبات الكلوية واحتقانات شديدة للأوعية الدموية مع وجود المادة الزجاجية Hyaline material في داخل تجاويف بعض النبيبات وهناك ارتشاح Infiltration للخلايا الالتهابية وحيدة النواة في بعض الاجزاء من متن النسيج الصورة (15).



الصورة (14) (A)- كلية طبيعية. (B)- كلية مصابة باحتقان شديد

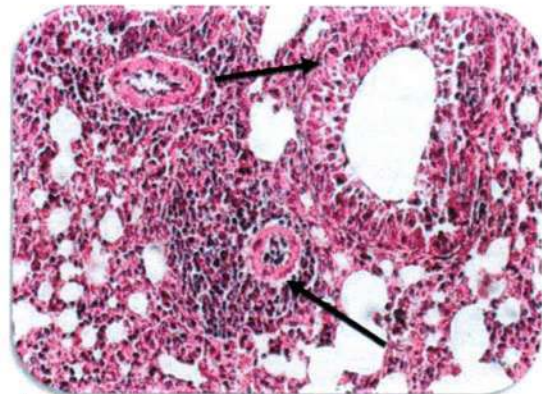


صورة (15) مقطع نسيجي في كلية أحد الفئران تلاحظ احتقان الأوعية الدموية بين النبيبات الكلوية (↗) واحتواء تجاويفها على خلايا التهابية (→). (H & E) X 400.

ووجد أن التغيرات المرضية في الكلية بوجود ورم حبيبي حول الأوعية الدموية المحتقنة وكذلك تتخرات تكسية Degeneratio في النبيبات الكلوية. وقد سجلت هذه الآفات من قبل [20] في خنازير غينيا المصابة بجراثيم *S.typhimurium* كذلك لوحظت هذه الآفات من قبل [21] في الفئران المصابة بجراثيم السالمونيلا المعوية .  
واتضح ان القلب كان محتقنا لحيوانات هذه المجموعة أما مجهرياً فقد لوحظ ارتشاح Infiltration شديد بين العدلات حول الأوعية الدموية مع تتخر الالياف العضلية.

وأوضحت هذه الدراسة بان التغيرات المرضية الناتجة في كل من الكبد والطحال تميزت بالتورم Swolling وزيادة الحجم مع احتقان شديد وهذه مقارنة مع نتائج الدراسات التي اشار اليها الحديثي [33] في حالة الإصابة بجراثيم *S.typhimurium* إذ أنها تسبب تضخم الكبد والطحال الناتج عن فرط التنسج الخلوي لهذه الاعضاء وتجمع الخلايا الالتهابية وحيدة النواة (البلاعم الكبيرة ، اللمفية والبلازمية) وتوسع الجيبانيات. وكذلك جاءت مقارنة مع ما بينه [34] بأن فرط التنسج الذي يحدث في الجهاز الشبكي البطاني مسؤولاً عن تضخم الانسجة والاعضاء المكونة لها. بينما تميزت التغيرات النسيجية في الطحال في دراستنا بظهور فرط تنسج وتكاثر الخلايا اللمفية وتوسع الجيبانيات وهذه متفقة ايضاً مع ما وجدته [35].

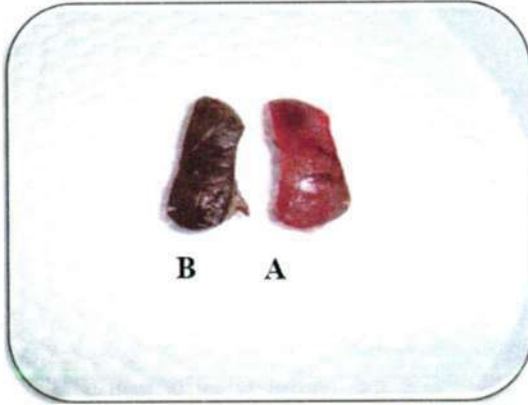
بينما المجموعة D: والتي شرحت بعد 72 ساعة فقد عزلت جراثيم السالمونيلا من جميع الاعضاء السابقة. فضلاً عن عزلها من الرئة والكلية لثلاث حيوانات من هذه المجموعة وظهرت آفات وتغيرات مرضية مشابهة للمجموعات السابقة الا انها تميزت بكونها اكثر شدة في القلب، الرئة والكلية. والتغيرات العيانية للرئة تمثلت بمناطق داكنة لاكثر اجزاء الرئة ومناطق نفاخية شاحبة اللون ،اما مجهريا فقد اعتمد التصنيف على نوع ومكونات النضحة الالتهابية وكانت ذات الرئة من النوع الخلالي Interstitial pneumonia اذ تميزت بزيادة سمك الحواجز السنخية نتيجة ارتشاح الخلايا الالتهابية (اللمفية، البلاعم الكبيرة والعدلات) كذلك وجود احتقان الاوعية الشعرية السنخية واحيانا توجد نضحة ليفينية في تلك الحواجز وهناك مناطق نفاخية في بعض اجزاء المتن الرئوي ،فضلا عن ان بعض القصيبات تعاني من حالة التوسف Desquamation الصورة (13).



الصورة (13) مقطع نسيجي في رئة أحد الفئران توضح احتقان الأوعية الشعرية السنخية (↗) مع وجود مناطق نفاخية (H & E) X 400 (→)

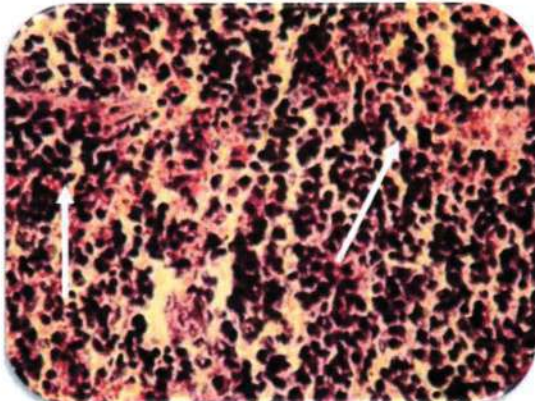
أما في الرئة فقد لوحظ ورم حبيبي حول الأوعية الدموية المحتقنة كذلك لوحظ زيادة سمك الحواجز بين الأسناخ . وقد سجل هذه الآفات الباحث (Martinez et al., 2005) كذلك سجلت من قبل [30] في الفئران وخنازير غينيا المصابة بجراثيم *S.typhi*.

وتميزت التغيرات النسيجية للكبد في هذه الدراسة في الفئران المخمجة بوجود البؤر النخرية Necrotic Focus والتكتسات الدهنية Degeneration Fatty مع تكثف Cuffing الخلايا الالتهابية حول الاوعية الدموية المحتقنة ، وهذه متفقة نسبياً مع ما وجدته [30] في حالة الاصابة بجراثيم *S.typhi* في الفئران فضلاً عن ما لاحظته من ظهور خراجات دقيقة وتورم حبيبي وداء النشوانية Amyloidosis من الكبد. أما التغيرات العيانية المتمثلة في الطحال تميزت بتضخم واحتقان العضو الصورة (11) .

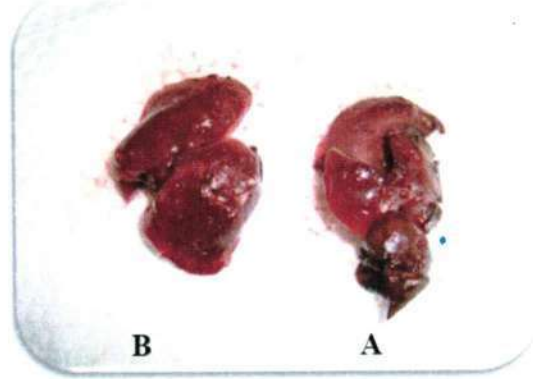


الصورة (11) - (A) طحال طبيعي (B) - طحال مصاب متضخم وذا لون داكن

ووصف مجهرياً فرط تنسج الخلايا البطانية الشبكية مع وجود مناطق نزفية Haemaliesis k ونخرية Necrotic، وكذلك احتقان شديد وتوسع معتدل لللب الابيض مع ارتشاح خلايا التهابية وحيدة النواة الصورة (12) ، بينما التغيرات المرضية للقناة الهضمية المعدة ، الامعاء الدقيقة والاعور فكانت مشابهة لتلك التغيرات التي لوحظت في المجموعتين السابقتين A . B. في حين تم عزل الجراثيم من القلب ، الرئة والكلية لحيوان واحد من هذه المجموعة الا انه لم يظهر أي تغيرات عيانية او مجهرية فيها.



الصورة (12) مقطع نسيجي في طحال أحد الفئران نلاحظ احتقان اللب الأحمر وإرتشاح الخلايا الالتهابية وخاصة العدلات (↑) مع تشتت طبقة اللب الابيض (↑) (H & E) X 400 .

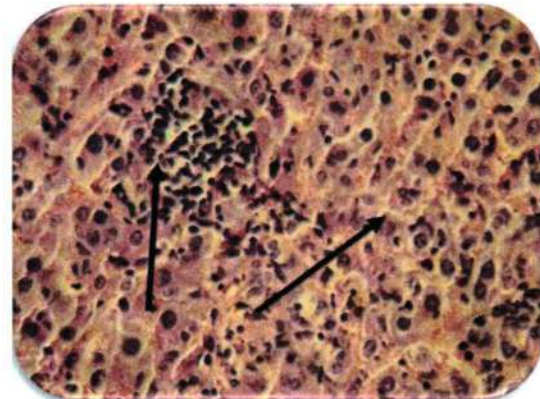


الصورة (8) - (A) كبد مصاب يتميز بزيادة الحجم مع احتقان شديد (B) - كبد طبيعي

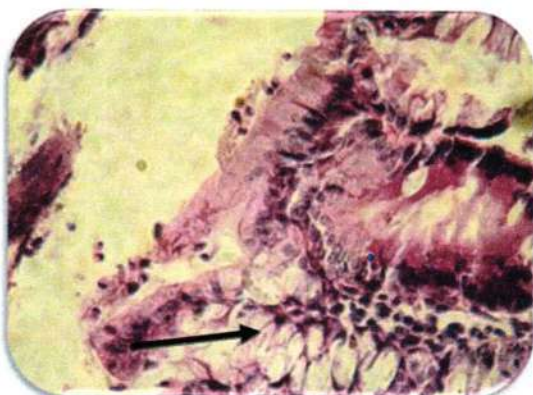
ولوحظ مجهرياً احتقان بعض الاوردة المركزية في الفصيصات الكبدية Hepatic Lobules وتجمع الدم في الجيبانيات Sinusoids وتميز الكبد ايضا بوجود تكتسات دهنية Degeneration Fatty داخل معظم الخلايا الكبدية ووجود بؤر نخرية Necrotic Focus مختلفة الاحجام فضلاً عن عملية تكثيف Cuffing الخلايا الالتهابية وحيدة النواة حول بعض الاوعية الدموية المحتقنة الصورة (9,10) .



الصورة (9) تميزت التغيرات المرضية بأرتشاح الخلايا الالتهابية في متن الكبد وخاصة العدلات مع وجود بؤر متعددة من التنخر (↑)، تتميز بتغلظ أنوية الخلايا الكبدية. (H & E) X 400 .

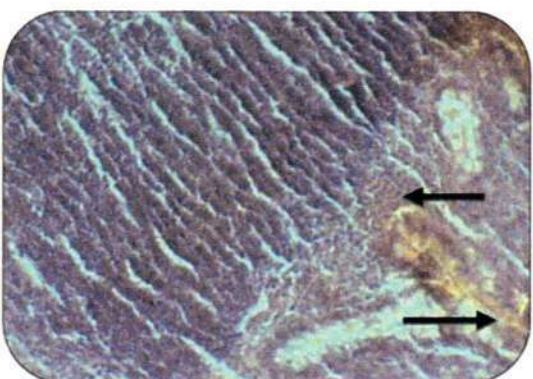


الصورة (10) مقطع نسيجي في كبد أحد الفئران بعد الاصابة يوضح تجمع الخلايا الالتهابية في متن الكبد (↑) مع وجود بؤر تنخرية (↑) (H & E) X 400 .



الصورة (6) يبين الفحص المجهرى تنسج الخلايا الكأسية المبطننة للغدد المعوية مع إرتشاح خلايا العدلات بين الزغابات ( → ) في تجويف الامعاء (H & E) X 400.

أما الأور Cecum تتميز عيانياً بالانتفاخ والاحتقان الشديدين ، فضلاً عن ارتشاح Infiltration للخلايا الالتهابية وحيدة النواة في الطبقتين المخاطية وتحت المخاطية مع وجود إحتقان في كلا الطبقتين وتوسف Desquamation بعض أجزاء الطبقة المخاطية الصورة (7). أما بقية الأعضاء لفتران هذه المجموعة فلم تظهر تغيرات مرضية عليها.

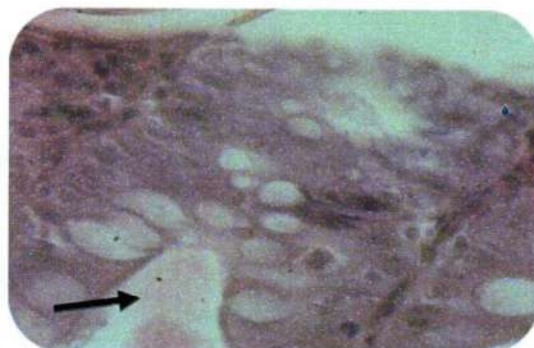


الصورة (7) يبين الفحص المجهرى ارتشاح الخلايا الالتهابية في الطبقتين المخاطية وتحت المخاطية ( ← ) مع احتقان شديد ( → ) (H & E) X 400.

وجد في هذه الدراسة ان التغيرات المرضية إشتدت في أعضاء الجهاز الهضمي الامعاء الدقيقة ، الامعاء الغليظة بعد 18 ساعة من إعطاء الجرعة المخمجة وهذه النتيجة متفقة مع ما ذكره [32] إذ أشاروا الى ان هذه التغيرات ناتجة من غزو مخاطية الامعاء من قبل الجراثيم مسببة تلف المخاطية بسبب الودى الناتج من الخثر Coagulate المتكونة في الاوعية الدموية الصغيرة.

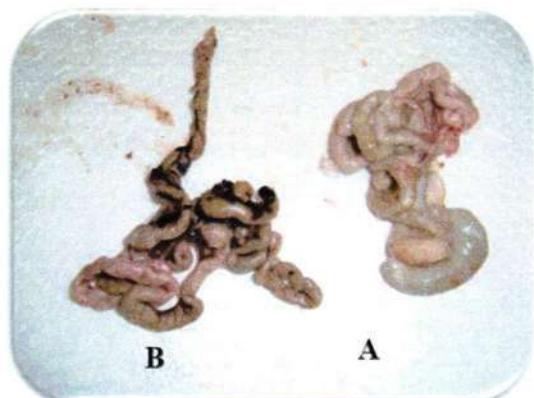
أما المجموعة C: والتي شرحت بعد 48 ساعة من اعطاء الجرعة المخمجة فقد تميزت عن المجموعتين السابقتين بعزل الجراثيم من القلب، الرئة، الكبد، والكلية لحيوان واحد من المجموعة وكذلك من الطحال لثلاث حيوانات من المجموعة ،اذ لوحظ عيانيا احتقان وتضخم الكبد الصورة (8).

تجاويف الغدد ، فضلاً عن ارتشاح Infiltration للخلايا الالتهابية وحيدة النواة (البلاعم الكبيرة والمفوية) في الطبقة المخاطية وتحت المخاطية مع فرط الدم Hyperemia في تلك الطبقتين الصور (4).



الصورة (4) مقطع عرضي لمعدة مصابة يبين التغيرات المرضية للطبقة المخاطية (H & E) X 400. ( → )

أما المجموعة B: فقد كانت نتائج العزل الجرثومي موجبة من المعدة والامعاء الدقيقة لاربع من حيوانات هذه المجموعة وعزلت الجراثيم ايضاً من الاور لثلاثة من حيوانات هذه المجموعة ، اما بقية العينات للأعضاء الداخلية اعطت نتائج سالبة للعزل، اذ ان التغيرات العيانية والمجهرية للمعدة كانت مشابهة للمجموعة A بينما الامعاء الدقيقة تميزت عيانيا بوجود مناطق نزفية Hemorrhagic Zone ومناطق داكنة Dark Zone تمثل احتقانات واضحة من خلال طبقات الامعاء الصورة (5).



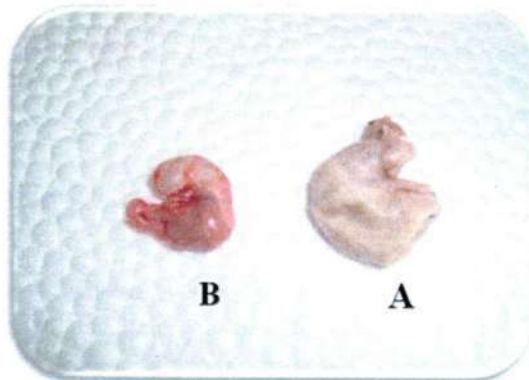
الصورة (5) - (A) امعاء طبيعية (B) - أمعاء مصابة مع وجود مناطق نزفية ومناطق محتقة من خلال طبقاتها

بينما تميزت مجهرياً بفرط دم معتدل، وارتشاح Infiltration معتدل للخلايا وحيدة النواة (البلاعم الكبيرة والمفوية) في الاجزاء العميقة من الطبقة المخاطية وتوسف Desquamation للخلايا الظهارية الصورة (6).

الجدول (2) عزل جراثيم *S. bongori* من اعضاء الفئران بعد إعطاء الجرعة المخمجة

المجموعات	أوقات تشریح الحيوانات عند التجريح بالمساعات	الأعضاء					
		المعدة	الامعاء الدقيقة	الأعور	الكبد	الطحال	الكلية
A	3	4/5	-	-	-	-	-
B	18	4/5	4/5	3/5	-	-	-
C	48	3/5	4/5	4/5	1/5	3/5	1/5
D	72	3/5	3/5	3/5	4/5	4/5	3/5
E	168	1/3	1/3	1/3	3/3	3/3	3/3

لقد ذكر الباحثون [28] بأنه تم عزل جراثيم *S. dublin* من دم العجول المخمجة تجريبياً عن طريق الفم بعد 15 دقيقة الى 18 ساعة واعزوا سبب الاختلاف الى عمر المضيف والنمط الجرثومي المستخدم وفوعته. بينما توصل الباحثون [29] بأن جراثيم *S. typhimurium* عزلت بعد 5 - 8 ايام من الكبد والعقد اللمفية بعد تجريح الأغنام تجريبياً، في حين أوضحت البحوث التي أجراها كل من [30,31] حول الاختلاف في سلوك جراثيم السالمونيلا لاحداث المرض وتباين شدة هذه التغيرات المرضية بسبب نوع النمط الجرثومي، مقدار الجرعة المخمجة، نوع المضيف والحالة الصحية أو المناعية للحيوان. المجموعة A: كانت نتائج الزرع الجرثومي موجبة من عينات المعدة لأربع من حيوانات هذه المجموعة بينما كانت نتائج الزرع سالبة لعينات الاعضاء الداخلية الاخرى لجميع فئران المجموعة الجدول (2) ولم تظهر تغيرات عيانية ومجهريّة على الاعضاء الداخلية لهذه المجموعة سوى انتفاخ شديد في الجزء الامامي من المعدة الصورة (3).



الصورة (3) (A) - معدة مصابة تبين انتفاخ الجزء الامامي (B) - معدة طبيعية

بينما تميزت التغيرات النسيجية بملاحظة النكس Degeneration المخاطية للخلايا العمودية المبطنة للغدد مع زيادة الخلايا الكاسية Goblet cells وتوسف Desquamation بعض هذه الخلايا

وأظهرت الدراسة أن لجراثيم *S. bongori* القابلية على إختراق بطانة الأمعاء والوصول الى الاحشاء الداخلية سواء أكان ذلك عن طريق الدم أم اللمف أو كلاهما [23,24].

إن التغيرات المرضية في الجهاز الهضمي للفئران المصابة في المجموعات ظهرت بعد (3) ساعات من إعطاء جرعة الأصابة، وتميزت هذه التغيرات بظهور نزف وإحتقان كما أظهرت المقاطع النسيجية وجود إرتشاح للخلايا الالتهابية وحيدة النواة كذلك إزدادت شدة التغيرات كلما إزدادت مدة بقاء الجراثيم في الجهاز الهضمي إذ ظهرت تنكسات Degeneration مخاطية للخلايا العمودية المبطنة للأمعاء مع توسف Desquamation البعض منها الى داخل تجاويف الغدد الصورة (4) في المجموعة D، في حين كانت هذه التغيرات في المجموعة بصورة أوضح في المجموعة E إذ أظهرت تآكلات في بطانة المعدة الجدول (1)، وإن هذه التغيرات جاءت متوافقة مع ما اشار إليه [25] وتعزى التغيرات الحاصلة في الجهاز الهضمي الى قابلية جراثيم السالمونيلا على إختراق بطانة الأمعاء أو تحريرها الذيفانات المعوية، الداخلية والخلوية [26].

إن جراثيم *S. bongori* أقل ضراوة من جراثيم *S. typhi* ذكر [27] إن جراثيم *S. typhi* عزلت من دم الفئران المصابة تجريبياً بعد 30 دقيقة من إعطاء جرعة الاصابة وتقيد الدراسات بأن جراثيم *S. typhi* وجراثيم *S. typhimurium* لها القابلية على إحداث سمدمية الدم Septicemia بالفئران أسرع من غيرها لأمتلاكها أعداد كبيرة من جينات الضراوة العالية.

وتم عزل هذه الجراثيم من الامعاء الدقيقة والغليظة بعد 18 ساعة من إعطاء الجرعة المخمجة، بينما عزلت من القلب بعد 48 ساعة ومن حيوان واحد فقط من المجموعة C، ويعتقد أن سبب العزل من قلب الحيوان دون حيوانات المجموعة هو إنخفاض مستوى الاستجابة المناعية (2) ويشند غزو الجراثيم للأنسجة في مجموعة D بعد 72 ساعة من إعطاء الجرعة المخمجة وكذلك إرتفعت نسب عزل الجراثيم من الأعضاء المختلفة للمجموعة E الجدول (2).

اظهرت جرثومة السالمونيلا نتائج ايجابية للاختبارات التالية :-  
Lysine, Ornithine, Nitrate, H<sub>2</sub>S, Methyl Red,  
Arbinose, Citrate Utilization, Xylose, Rhamose,  
Metibiose, Glucose.

ونائج سالبة للاختبارات التالية :-  
ONPG, Urease, TDA, Voges Proskauer's, Indole,  
Malonate, Esculin Hydrolysis, Adonitol, Cellobiose,  
Saccharose ,Raffinose , Trehalose , Lactos , Oxidase

Mounting بواسطة (DPX) Distrene Plasticizer-Xylene  
وتركت لتجف ثم فحصت وصورت.

التحليل الأحصائي Statistical Analysis :

تم تحليل النتائج باستخدام مربع كاي (X<sup>2</sup>) عند مستوى معنوية 0.01  
وحسب طريقة [18]

النتائج والمناقشة

نظام API 20E :-



الصورة (1) شريط الاختبار API 20



الصورة (2) النتائج الايجابية تبين الاختبارات الكيموحيوية لجرثومة *Salmonella bongori* باستخدام نظام API 20E

الدراسة الامراضية :  
لقد اظهرت الدراسة الجدول (1) على عينات الاعضاء المختلفة للفئران  
المخمجة تجريبيا ان جراثيم *Salmonella bongori* لها القابلية على  
غزو انسجة واعضاء جسم المضيف المختلفة فضلا عن احداث  
تغيرات عيانية ومجهرية في هذه الاعضاء.

وتم تأكيد التشخيص عن طريق الفحص بنظام API 20E الصورة  
(1) (2) الذي تعد طريقة معتمدة في التشخيص في معظم المختبرات  
العالمية ، ولن تظهر نتائج التشخيص أي خلاف أو تغاير في صفات  
البكتريا بكافة جوانبها الشكلية والزرعية والكيموحياتية وهذا ما اتفق  
مع المراجع العلمية الحديثة وبعض الباحثين [19,20,21].

الجدول (1) التغيرات العيانية المختلفة الظاهرة على أعضاء الفئران

الأعضاء								المجموعات	إوقات تشريح الحيوانات عند التجريح بالساعات
القلب	الرئة	الكلية	الطحال	الكبد	الاعور	الامعاء الدقيقة	المعدة		
-	-	-	-	-	-	-	إنتفاخ شديد في الجزء الامامي	A	3
-	-	-	-	-	وجود إحتقان	وجود مناطق نزفية	إنتفاخ شديد في الجزء الامامي	B	18
-	-	إحتقان طفيف	تضخم وإحتقان شديدين	وجود بقع حمراء اللون	تضخم	وجود مناطق نزفية	إنتفاخ الجزء الامامي مع وجود إحتقان في أجزاء أخرى	C	48
تضخم	محتقنة مع وجود بقع سوداء	وجود إحتقان	متضخم مع وجود بقع فاتحة	متضخم مع وجود بقع فاتحة	وجود إحتقان	وجود إحتقان	إنتفاخ شديد في الجزء الامامي	D	72
إحتقان خفيف	وجود مناطق إنتفاخية وأخرى داكنة	وجود إحتقان	متضخم وذو لون داكن	متضخم مع وجود إحتقان شديد	تضخم وإحتقان	وجود إحتقان	تآكلات في بطانة المعدة مع وجود إحتقان	E	168

طريق الفم تجريبياً ، إذ لوحظت هذه التغيرات المرضية على الأعضاء  
الداخلية وتباينت شدة هذه التغيرات بحسب الوقت المحدد لكل  
مجموعة، كذلك تباينت نسب عزل الجراثيم من أعضاء الفئران الداخلية  
للمجموعات المختلفة الجدول (2).

تختلف إمراضية جراثيم السالمونيلا بحسب اختلاف النمط الجرثومي  
وجرعة الإصابة ونوع المضيف وعمره وحالته المناعية ونوع الغذاء  
[22]. وأظهرت الدراسة إن لجراثيم *S.bongori* القابلية على احداث  
التغيرات المرضية في الحيوانات المختبرية (الفئران) الجرعة عن

6- بعد 7 أيام تم قتل المجموعة الثالثة والمجموعة الرابعة وأجري لهما محاولة العزل الجرثومي.

الأصابة التجريبية في الفئران باستخدام جرعة قاتلة نصفية :-  
اعتمدت الطريقة التي أتبعها [17] مع بعض التحويرات :

1. استخدمت 15 مجموعة من الفئران كل مجموعة تشتمل على 3 فئران .

2. سحب الطعام لمدة يومين قبل الأصابة وجرعت باستخدام الأنيوب المعدي كل من Tetracycline 5 Mg \ ML , Amoxicillin 5 Mg \ ML وبالأعتماد على نتائج فحص الحساسية إذ أظهرت البكتريا مقاومة عالية حيال هذه الأدوية.

3. ماء الشرب مغلي ومبرد بشكل طبيعي ومضاف له هذه الأدوية وبالتراكيز الآتية :-

Tetracycline 4 Mg \ ML  
Amoxicillin 4Mg \ ML

وهذا أستمّر طيلة مدة التجربة .

4. حضر العالق البكتيري Bacterial Suspension للبكتريا بتركيز  $10^2 \times 6$  cfu/ml من البكتريا بالأعتماد على الجرعة القاتلة نصفية LD 50 .

5. يجرع كل فأر وباستخدام الأنيوب المعدي مقدار (0.5) مل من العالق البكتيري المحضر أعلاه والمضاف له Amoxicillin 4 Mg \ ML و Tetracycline 4 Mg / ML بينما تركت المجموعة الأخيرة كمجموعة سيطرة .

6. كل (72,48,18,3) ساعة تشرح ثلاثة فئران من التي جرعت خلال فترة التجربة والتي استمرت 7 أيام و درست للأعراض الآتية :

A- عزل البكتريا من الأعضاء الداخلية للفئران المصابة تجريبياً ومتابعة أنتشارها في تلك الأعضاء .

B- دراسة التغيرات المرضية التي تسببها البكتريا في الأعضاء الداخلية .

العينات المأخوذة من حيوانات التجربة :

بعد إجراء الصفة التشريحية للفئران ، فحصت الأعضاء عيانياً وسجلت الأوقات والتغيرات المرضية الظاهرة على هذه الاعضاء لاحظ الصور (7,16,13,10,8) فضلاً عن حفظ العينات في الفورمالين بتركيز 10% لكل عضو من الأعضاء المتأثرة من جراء الأصابة بجراثيم النمط المصلي S.bongori المعزولة من الاغنام للفحص النسيجي.

التقطيع النسيجي :

تم إجراء التقطيع النسيجي للعينات وعمل شرائح نسيجية منها وفق طريقة (Aughey and Frye 2011)، وذلك لملاحظة التغيرات النسيجية الناجمة من الأصابة بجراثيم S.bongori. إذ تم تحضير العينات عن طريق الغسل Washing والانتكاز Dehydration والترويق Clearing ثم طمرت Embiding العينات في شمع البارافين باستخدام قوالب حديدية وقطعت العينات ثم صبغت باستخدام صبغة Eosin و Hematoxylin بعد ذلك تمت عملية التحويل

تحديد الجرعة القاتلة النصفية في الفئران والعد الجرثومي :-

حددت الجرعة القاتلة النصفية (LD-50%) حسب طريقة [15] نمت الجراثيم في مرق الصويا بتركيز trypton soya broth بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة ثم تركيزها باستخدام الطرد المركزي 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة ، غسلت الجراثيم 3 مرات بمحلول داري الفوسفات الملحي PBS ، ولمدة 5 دقائق لكل مرة ويهمل السائل الصافي.

خففت الجراثيم تخفيفاً عشرياً باستخدام داري الفوسفات الملحي ، ثم تم اختبار 7 تخفيفات عشرية وهي  $10^{-3}$  ,  $10^{-4}$  ,  $10^{-5}$  ,  $10^{-6}$  ,  $10^{-7}$  ,  $10^{-1}$  ,  $10^{-2}$  ، واستخدمت 32 فأر مقسمة على 8 مجاميع متساوية ، وبواقع 4 فئران لكل مجموعة ، وعدت المجموعة الأخيرة مجموعة سيطرة .

منع الطعام لمدة 24 ساعة وجرعت كل مجموعة بمقدار 1 مل من التخفيفات بينما جرعت المجموعة الأخيرة 1 مل من داري الفوسفات الملحي .

حدد عدد الجراثيم الحية لكل تخفيف تبعاً إلى طريقة spreading method باستخدام أطباق بتري حاوية على آكار السالمونيلا - شيكلا وذلك بنشر 0.1 مللتر من كل تخفيف على طبق من الأطباق الزرعية المستخدمة وبواقع ثلاثة أطباق لكل تخفيف . وحضنت الأطباق لمدة 18 ساعة بدرجة حرارة 37 م . وحسب عدد المستعمرات لكل طبق وحسب المعدل لها ، وعرف عدد المستعمرات في 0.1 مل من كل تخفيف من التخفيفات التي استخدمت، وبضربها  $10 \times$  نحصل على عدد المستعمرات لكل 1مل، ثم بضرب عدد المستعمرات لكل 1مل في مقلوب التخفيف نحصل على عدد الجراثيم لكل 1مل.

الأصابة التجريبية في الفئران باستخدام جرعة قاتلة :

تم إجراء الاصابة التجريبية في الفئران باستخدام جرعة قاتلة حسب طريقة [16] إذ تم أخذ 12 فأرة وقسمت إلى 4 مجاميع بواقع 3 فئران لكل مجموعة وعولمت كالآتي :-

1- جرعت المجموعة الأولى 1 مل من العالق الجرثومي الذي يحوي على  $10^2 \times 6$  cfu / ml بينما عولمت المجموعة الثانية كمجموعة سيطرة وجرعت 1 مل من المحلول الملحي الفسلجي .

2- بعد 7 أيام تم قتل المجموعة الأولى وعزلت الجرثومة من الأعضاء الداخلية للفئران (أمعاء، كبد، صفراء) على وسط السالمونيلا - الشيكلا .

3- كذلك تم قتل مجموعة السيطرة وأجري له اختبار محاولة العزل على وسط السالمونيلا - الشيكلا .

4- تم عمل عالق جرثومي من البكتريا المعزولة من الأعضاء الداخلية للمجموعة الأولى .

5- جرعت المجموعة الثالثة 1 مل من العالق الجرثومي المحضر أعلاه والذي يحوي  $10^2 \times 6$  cfu / ml بينما عولمت المجموعة الرابعة كمجموعة سيطرة وجرعت 1 مل من المحلول الملحي الفسلجي.

## دراسة امراضية جراثيم *Salmonella bongori* والتغيرات العيانية والنسجية في الفئران

ياسين حسين عويد الجبوري<sup>1</sup>، سناء سعود احمد<sup>2</sup>

<sup>1</sup>كلية التربية للنبات ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

<sup>2</sup>كلية الطب البيطري ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### الملخص

تناولت الدراسة امراضية الجرثومة المعزولة بالفئران وتمت بثلاث خطوات: الخطوة الاولى تضمنت تحديد الجرعة القاتلة النصفية ( $LD_{50}$ ) والعد الجرثومي في الاطباق, اما الخطوة الثانية فقد تضمنت إحداث إصابة تجريبية في الفئران باستخدام جرعة جرثومية عالية ، والخطوة الثالثة اشتملت على إحداث إصابة تجريبية في الفئران باستخدام نصف الجرعة القاتلة ( $LD_{50}$ ) ، ودرست التغيرات المرضية في الأعضاء المصابة وانتشار الجرثومة في تلك الأعضاء من حيث وقت ظهورها واختفائها. إذ وجد ان الفئران حساسة لنصف الجرعة القاتلة ( $LD_{50}$ ) مقدارها ( $4 \times 10^5$ ) cfu / ml , كذلك وجد ان جرثومة *Salmonella bongori* هي المسبب للتغيرات المرضية في أعضاء الفئران المصابة تجريبيا , كذلك اظهرت الدراسة ان الأعضاء التي تعرضت للغزو الجرثومي هي الأمعاء، الكبد، الطحال، الرئة ، الكلية، القلب. اما من ناحية التغيرات المرضية النسجية التي ظهرت على الأعضاء فقد كان اهمها البؤر المتعددة من الورم الحبيبي إضافة لإبانتشاح الخلايا الالتهابية في الأعضاء المصابة.

### المقدمة

والطيور الحرة تشكل هي الأخرى معضلة في السيطرة على إنتشار الجراثيم [10].

للمرض اربعة اشكال: الشكل السمومي septicemic form يصيب الحيوانات الصغيرة، الشكل المعوي الحاد Acute enteritis form يلاحظ في الحيوانات البالغة والصغيرة، الشكل تحت الحاد subacute enteritis والشكل المزمن Chronic enteritis form يحدث في الحيوانات البالغة [11].

لقد عد داء السالمونيلا ضمن مجموعة الامراض الخطرة من الصنف الثالث Risk group III حسب تقرير منظمة الصحة العالمية [12] ويكمن جزء من أهمية هذا المرض في إزدياد عدد الاتمات المصلية للجرثومة المسببة.

### المواد وطرق العمل

#### العزلات الجرثومية:

يتم الحصول عليها من مختبرات الاحياء المجهرية في كلية التربية للنبات ودراسة صفاتها الشكلية المزروعة والاختبارات الكيموحيوية.

#### الحيوانات المختبرية :

تم استخدام (89) فأراً أبيض بأوزان حوالي 20 إلى 25 غم والتي تم الحصول عليها من معهد المصقول واللقاح/ بغداد وكانت بصحة جيدة، ووضعت في أقفاص بلاستيكية بيضاء خاصة بتربية الفئران ومجهزة بغطاء معدني مشبك يوجد فيه مكان خاص بالغذاء والماء ووضعت بواقع 6 فئران في كل قفص . وتويعت الحيوانات يومياً من حيث التغذية وتبديل الفرشة (نشارة الخشب). إذ غذيت الحيوانات بعليقة مركزة (Pellets) وإستمرت مراقبة الحيوانات لمدة شهر كامل قبل إجراء التجربة لغرض التأقلم والحالة العامة للحيوانات .

#### الإصابة التجريبية في الفئران :

يعد داء السالمونيلا Salmonellosis من الأمراض المهمة صحياً واقتصادياً ، وهو من الأمراض المشتركة Zoonosis التي تصيب كل من الإنسان والحيوان [1,2] إذ يصيب هذا المرض فصائل الحيوانات كافة مثل الأبقار، الأغنام، الخنازير، الكلاب، القطط كما تم عزل الجرثومة من الحيوانات البرية والداجنة والطيور والزواحف [3] .

تكمن أهمية المرض في الإنسان كونه سبب المشاكل الصحية التي يعاني منها الإنسان وتشير التقارير إلى وجود (12.5) مليون حالة إصابة في العالم منها (7.7) مليون حالة في آسيا [4]. أما في الحيوانات فتكمن الأهمية الاقتصادية له من حيث الخسائر الكبيرة الناجمة عن ارتفاع الهلاكات في الحيوانات المخمجة وانخفاض إنتاجها من الحليب والبيض فضلاً عن إجهاض الحوامل [5] .

تعتمد شدة الإصابة بهذا المرض على جرعة الجراثيم المأخوذة وضراوتها فضلاً عن الحالة المناعية للكائن الحي التي لها دوراً مهماً في تحديد درجة الإصابة [6] .

كما تلعب عوامل الإجهاد Stress factor دوراً مهماً في حدوث حالات الإصابة بالسالمونيلا وتعد الحيوانات الحاملة للجراثيم مصدر رئيسي في نشر ونقل هذه الجراثيم عن طريق الحليب والبراز [7] إن الطيور المختلفة والمضائف الأخرى الخازنة تلعب دوراً مهماً في نشر الجراثيم [8].

تُعد الحيوانات المريضة مصدراً للعدوى ونشر الجراثيم حيث تطرح جراثيم السالمونيلا بالبراز كما أنها توجد في أعضاء وأنسجة الجسم مما يجعلها مصدراً للتلوث فضلاً عن إن الحيوانات الحلوبة قد تطرح جراثيم السالمونيلا بالحليب [9]. وتؤثر الحيوانات الحاملة للجراثيم تأثيراً مهماً في نشر الإصابة ومما زاد الأمر تعقيداً في السيطرة على المرض صعوبة كشف هذه الحيوانات في القطعان ، كما أن الحيوانات البرية

## Add peeling pomegranate effect under tow levels of Concentrate feed to Roughage and its impact on Some biochemical characterifics of blood of the Awasli lamb

Mohaiman A. Mohammad , Taher A. Shuja

*Animal Production Department , College of Agriculture, University of Tikrit , Tikrit , Iraq*

### Abstract

16 Awassi Lambs were used in this experiment, they were bought from local market aged 3-4 months and average weight of  $19.98 \pm 0.21$  Kg . These lambs were divided into four groups according to their weight, each group had four lambs, then distributed the treatments randomly on groups .

In this experiment, individual feeding system was used which included fed to the lambs within two ratio of concentrate 60%: roughage 40% and concentrate 40% : roughage 60% according to the body weight and 70 days and added to peel pomegranate powder level 0 and 4% for each diet for four groups of lambs in a row. Statistical analysis results showed that:

The high level of concentrate and the level of 4% pomegranate peel showed a significant increase ( $P \leq 0.05$ ) in blood glucose ( $75.52 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$ ), total protein ( $7.29 \text{ gm} / 100 \text{ ml}$ ) and cholesterol ( $67.31 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$ ). The emergence of a significant increase ( $P \leq 0.05$ ) in blood urea ( $52.87 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$ ) with a high level of concentrate feed, but an increase of \_\_\_\_\_

pomegranate peel back a ( $44.83 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$ ) significant decrease by urea.

- [1] Paulino, M.F., Detman, E., and Zervoudakis, J.T. (2001). Suplementos múltiplos para recria e engorda de bovinos em pastejo. Simcorte. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, pp. 187-232.
- [2] NRC, (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th ed. National Academy Press, Washington, DC.
- [3] Caldas Neto, S.F., Zeoula, L.M., Prado, I.N.d., Branco, A.F., Kazama, R., Geron, L.J.V., Maeda, E.M., and Fereli, F. (2008). Proteína degradável no rúmen da dieta de bovinos: digestibilidades total e parcial dos nutrientes e parâmetros ruminiais. Revista Brasileira de Zootecnia 37, 1094-1102.
- [4] Pina, D.S., Valadares Filho, S.C., Tedeschi, L.O., Barbosa, A.M., and Valadares, R.F.D. (2009). Influence of different levels of concentrate and ruminally undegraded protein on digestive variables in beef heifers. J. Anim Sci. 87, 1058-1067.
- [5] Makkar, H.P.S., Barowy, N.K., Becker, K., and Degen, A. (1995). Some problems in fibre determination of a tanninrich forage (Acacia saligna leaves) and their implications in in vitro. Anim. Feed Sci. Technol. 55, 67-76.
- [6] Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., and Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food Chem. 96:254-260.
- [7] Church, D.C. (1979). Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants. Vol.1. 3rd ed. O & B Corvallis. Oregon, USA.
- [8] العكام، ناطق حمود وخير الدين محي الدين (1984). فيزيولوجيا الحيوان العام. مديرية مطبعة جامعة الموصل.
- [9] حسين، سعد علي محمد (2012). تأثير استخدام نسب مختلفة من مسحوق قشور الرمان مع مستويين من العلف المركز على معاملات الهضم وأداء الحملان العواسية. رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة تكريت.
- [10] Coles, E. A. (1986). Veterinary Clinical Pathology. 4<sup>th</sup> edi. Sannders W. B. Co. Philadelphia. London - pp:124 - 127 .
- [11] يوسف، وليد حميد وخير الدين محي الدين (1987). علم الفسلجة البيطرية. مطبعة دار الحكمة للطباعة والنشر، جامعة الموصل.
- [12] Al-Toma, F. J., Al-Shawi, A. L. and Al-Mohdawi, T. E. (2001). Development of a new colorimetric method for the determination of blood urea. National Journal of Chemistry, 1: 80 .
- [13] Wootton, I.D. (1974). "Hero-analysis in medical biochemistry". 5th ed., J. and A. Churchill Ltd., Group Limited, London.
- [14] Randal, D., Burggren, W. and French K. (2001). Animal Physiology, Mechanisms and Adaptations . 5<sup>th</sup> Ed . W.H. Freeman and Company .New York .
- [15] Bahrami, Y., and Chekani-Azar, S. (2010). Some blood biochemical parameters and yield of lambs fed ration contained dried grape pomace. Global Veterinaria 4(6):571-575.
- [16] Wagner, B. A., Buettner, G. R., and Burns, C. P. (1994). Free Radicals mediated lipid peroxidation in cells: Oxidizability is a function of cell lipid bis-allylic hydrogen content. Biochemistry. 33, pp: 4449-4453
- [17] A.O.A.C, (1990). Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> end. Association of Oficial Analytical Chemists, Arlington, Virginia.
- [18] MAFF. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. (1975)Department of Agriculture and Fisheries for Scotland. Energy allowance feeding system for ruminants . Technical Bulletin 33. .pp 79
- [19] Saeed, A.A. (2011). Effect of level and degradability of dietary protein fed with or without baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on turkish awassi lambs performance. Ph.D. Thesis, University of Baghdad.
- [20] Jain, N. C. (1986). Schalm veterinary hematology, 4<sup>th</sup> . Ed. Philadelphia: Lea and febiger.
- [21] Charless, E. S.( 1983). Hematology for Medical Technologists. Fifth Edition. Part 4.
- [22] Tietz, N.W. (1982). Fundamental of clinical chemistry. 2<sup>nd</sup> ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia.
- [23] Fossati, P. and Prencipe, L. (1982). Serum Triglycerides determination colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxides. Clin Chem. 28: 2077-2085.
- [24] SAS, Statistical Analysis System. (2001). SAS / STAT Users Guide for Personal Computers. Release. 6:12. SAS Institute Inc., Cary, N.C., U.S.A.
- [25] Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F test. Biometrics 11 :1- 42.
- [26] Frutos, P., Hervas, G., Giraldez, F. J., and Mantecon, A. R. (2004). Tannins and ruminant nutrition. Spanish Journal of Agricultural Research. 2 (2), 191-202 .
- [27] دوسكي، كمال نعمان (2007). تأثير معالجة العلف بالفورمالديهايد في الأداء الأنتاجي وبعض المعالم الكيموحيوية للدم في الأغنام الكردية. أطروحة دكتوراه - كلية الزراعة - جامعة الموصل.
- [28] Makkar, H.P.S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Rumin Res.*49:241-256
- [29] McSweeney, C.S., Palmer, B., McNeill, D.M., and Krause, D.O. (2001). Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Anim Feed Sci Technol* 91:83-93.

الجدول رقم (3) تأثير قشور الرمان تحت مستويات مختلفة من العلف المركز الى العلف الخشن على بعض صفات الدم الكيموحيوية (المتوسط  $\pm$  الخطأ القياسي)

40% علف مركز 60% علف خشن		60% علف مركز 40% علف خشن		المعاملات	الصفات
4% قشور رمان T4	0% قشور رمان T3	4% قشور رمان T2	0% قشور رمان T1		
b 0.52 $\pm$ 61.44	b 0.52 $\pm$ 61.42	a 0.54 $\pm$ 63.65	ab 0.43 $\pm$ 62.84	قبل التغذية	الكلوكوز (ملغم/100مل)
b 1.05 $\pm$ 65.83	b 0.33 $\pm$ 65.67	a 1.11 $\pm$ 69.33	a 0.42 $\pm$ 68.88	بعد التغذية بـ 3 ساعات	
b 0.86 $\pm$ 71.25	b 0.58 $\pm$ 69.35	a 0.85 $\pm$ 75.52	b 0.68 $\pm$ 71.26	بعد التغذية بـ 6 ساعات	البروتين الكلي (غم/100 مل)
ab 0.06 $\pm$ 6.18	b 0.10 $\pm$ 6.01	a 0.06 $\pm$ 6.33	ab 0.03 $\pm$ 6.12	قبل التغذية	
b 0.11 $\pm$ 6.52	b 0.10 $\pm$ 6.37	a 0.06 $\pm$ 6.84	b 0.06 $\pm$ 6.55	بعد التغذية بـ 3 ساعات	اليوريا (ملغم/100مل)
b 0.09 $\pm$ 6.96	b 0.11 $\pm$ 6.80	a 0.12 $\pm$ 7.29	b 0.06 $\pm$ 6.97	بعد التغذية بـ 6 ساعات	
b 0.73 $\pm$ 36.67	a 1.13 $\pm$ 40.20	a 1.10 $\pm$ 41.97	a 0.64 $\pm$ 43.20	قبل التغذية	الكلسيريدات الثلاثية (ملغم/100مل)
c 0.86 $\pm$ 40.73	bc 1.05 $\pm$ 42.17	b 1.22 $\pm$ 44.83	a 0.69 $\pm$ 48.23	بعد التغذية بـ 3 ساعات	
b 0.71 $\pm$ 44.87	b 0.81 $\pm$ 46.23	a 1.53 $\pm$ 49.87	a 0.56 $\pm$ 52.87	بعد التغذية بـ 6 ساعات	الكوليستيرول (ملغم/100مل)
ab 0.23 $\pm$ 30.22	b 0.29 $\pm$ 30.03	a 0.20 $\pm$ 30.88	ab 0.08 $\pm$ 30.19	قبل التغذية	
b 0.13 $\pm$ 32.12	b 0.17 $\pm$ 31.87	a 0.25 $\pm$ 33.23	ab 0.46 $\pm$ 32.53	بعد التغذية بـ 3 ساعات	الكوليستيرول (ملغم/100مل)
b 0.17 $\pm$ 31.87	b 0.20 $\pm$ 31.66	a 0.09 $\pm$ 34.28	a 0.28 $\pm$ 33.76	بعد التغذية بـ 6 ساعات	
b 0.74 $\pm$ 60.92	b 0.55 $\pm$ 60.77	a 0.32 $\pm$ 64.09	ab 0.63 $\pm$ 62.36	قبل التغذية	الكوليستيرول (ملغم/100مل)
bc 0.42 $\pm$ 63.18	c 0.52 $\pm$ 62.96	a 0.56 $\pm$ 66.21	ab 0.46 $\pm$ 64.69	بعد التغذية بـ 3 ساعات	
b 0.44 $\pm$ 65.52	b 0.59 $\pm$ 65.39	a 0.36 $\pm$ 67.31	ab 0.45 $\pm$ 66.24	بعد التغذية بـ 6 ساعات	

\*الأحرف المختلفة ضمن نفس الصف تشير إلى وجود فروق معنوية بمستوى (p ≤ 0.05)

فروقات معنوية عند تقديم أربع مستويات من قشور الرمان وتحت مستويين من العلف المركز في علائق الحملان العواسية .  
كوليستيرول الدم :

تبين نتائج الجدول رقم (3) إلى وجود ارتفاع معنوي (P≤0.05) في كوليستيرول الدم قبل التغذية في المعاملة الثانية (64.09 ملغم/100مل) مقارنة مع المعاملتين الثالثة والرابعة (60.77 و 60.92 ملغم/100مل) على التوالي في حين لم تظهر المعاملة الأولى أي فرق مع باقي المعاملات (62.36 ملغم/100مل) كما أظهرت نتائج ما بعد التغذية بـ 3 ساعات زيادة معنوية للمعاملة الثانية (66.21 ملغم/100مل) مقارنة بالمعاملتين الثالثة والرابعة (62.96 و 63.18 ملغم/100مل) على التوالي ، كما تفوقت المعاملة الأولى معنوياً (64.69 ملغم/100مل) على المعاملة الثالثة . اما نتائج ما بعد التغذية بـ 6 ساعات فقد أظهرت المعاملة الثانية تفوقاً معنوياً مقارنة مع المعاملتين الثالثة والرابعة (67.31 ، 65.39 ، 65.52 ملغم/100مل) على التوالي في حين لم يسجل أي فرق للمعاملة الأولى (66.24 ملغم/100مل)

مقارنة مع باقي المعاملات ولكن بالرغم من عدم تسجيل فروقاً معنوية فإنه يلاحظ ارتفاع مستوى الكوليستيرول في المجاميع التي تناولت قشور الرمان وتحت نفس المستوى من العلف المركز وقد اتفقت هذه النتائج مع [9] في دراسته لتغذية الحملان العواسية على أربع مستويات من قشور الرمان وتحت مستويين من العلف المركز والذي فسّر ذلك بان التأين يعمل على حماية الدهون من التحلل في الكرش بفعل الأحياء المجهرية مما يؤدي إلى زيادة الجزء العابر إلى الأمعاء ربما كان السبب في زيادة تركيز الكوليستيرول في الدم.

(52.87 و 49.87 ملغم/100مل) على التوالي ، وبالرغم من عدم وجود فروقاً معنوية في التداخل ضمن نفس المستوى من العلف المركز إلا أنه يمكن ملاحظة انخفاض في قراءة المعاملات التي تناولت قشور الرمان مقارنة مع التي لم تتناول قشور الرمان وتحت المستوى ذاته من العلف المركز . وإن هذا الانخفاض قد يرجع إلى ارتباط التأين الموجود في قشور الرمان بالبروتين والذي يعمل على خفض المتحرر من الأمونيا داخل الكرش والممتصة من خلال جدار الكرش وذلك بالارتباط مع نيتروجين الأمونيا [29].

الكلسيريدات الثلاثية للدم:

تشير نتائج الجدول رقم (3) ان مستويات الكلسيريدات الثلاثية للدم قبل التغذية أن المعاملة الثانية تفوقت معنوياً (P≤0.05) على المعاملة الثالثة (30.88 ، 30.03 ملغم/100مل) على التوالي ، في حين لم يظهر أي فرق بين باقي المعاملات حيث كانت المعاملة الأولى (30.19 ملغم/100مل) والرابعة (30.22 ملغم/100مل).

أما نتائج ما بعد التغذية بـ 3 ساعات فقد أظهرت تفوق المعاملة الثانية تفوق معنوي (P≤0.05) مقارنة مع المعاملات الثالثة والرابعة إذ بلغت (33.23 ، 31.87 و 32.12 ملغم/100مل) على التوالي ، ولم يُسجل أي فرق مع المعاملة الأولى (32.53 ملغم/100مل) ، وقد يكون سبب ذلك ارتفاع معامل هضم الدهون في المجاميع التي تناولت قشور الرمان مما يدل على تحسين مستوى التغذية في هذه المجاميع كما أظهرت نتائج ما بعد التغذية بـ 6 ساعات تفوق المعاملتين الأولى والثانية (33.76 ، 34.28 ملغم/100مل) على التوالي ، مقارنة مع المعاملتين الثالثة والرابعة (31.66 ، 31.87 ملغم/100مل) ولم تتفق النتائج مع [9] إذ لم يسجل التداخل أي

وقد يكون ذلك سبب توفر الأحماض الأمينية بشكل كبير مما يساعد على تخليق الكلوكون من خلال عملية *gelconeogenesis* والتي كانت مرتبطة مع التانين ثم تم تحررها بعد فك الارتباط بين التانين والبروتين في المعدة الحقيقية وهذا يفسر تاخر ارتفاع الكلوكون [26].

البروتين الكلي:

أظهرت نتائج الجدول رقم (3) قبل التغذية تفوق معنوي ( $P \leq 0.05$ ) للمعاملة الثانية على المعاملة الثالثة (6.33 و 6.01 ملغم/100مل) على التوالي ، في حين لم يكن هناك فرق مع المعاملات الأولى والرابعة إذ سجلت (6.12 و 6.18 ملغم/100مل) على التوالي أما نتائج ما بعد التغذية بـ 3 ساعات و 6 ساعات فقد بينت تفوق المعاملة الثانية معنوياً ( $P \leq 0.05$ ) حيث سجلت (6.84 و 7.29) على التوالي مقارنة مع المعاملة الأولى والتي سجلت (6.55 و 6.97 ملغم/100مل) على التوالي كما سجلت المعاملة الثالثة (6.37 و 6.80 ملغم/100مل) على التوالي أما المعاملة الرابعة فقد سجلت (6.52 و 6.96 ملغم/100مل) ، كما وجد [27] إن أعلى مستوى لبروتين الدم الكلي في النعاج الكرادية كان مع المستوى الأعلى من البروتين الغذائي، وإن التانين الموجود في قشور الرمان مقارنة مع المجموعة التي لم يقدم لها قشور الرمان يعمل على حماية البروتين الغذائي من التحلل في الكرش وزيادة وصوله إلى المعدة الحقيقية وتحلله هناك وهذا ما يؤدي إلى زيادة تدفق الأحماض الأمينية إلى الأمعاء الدقيقة وارتفاع امتصاصها إلى الدم [28].

يوربا الدم :

يشير الجدول رقم (3) إلى ظهور انخفاض معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في كمية يوربا الدم في المعاملة الرابعة والتي كانت تحت مستوى علف مركز 40% ومستوى قشور الرمان 4% (36.67 ملغم/100مل) مقارنة مع المعاملات الأولى والثانية والثالثة (43.20 ، 41.97 ، 40.20 ملغم/100مل) على التوالي . كما أظهرت نتائج ما بعد التغذية بـ 3 ساعات انخفاضاً معنوياً ( $P \leq 0.05$ ) في المعاملات الثانية والثالثة والرابعة (44.83 ، 42.17 و 40.73 ملغم/100مل) على التوالي مقارنة مع المعاملة الأولى (48.23 ملغم/100مل) كما ظهر انخفاض معنوي ( $P \leq 0.05$ ) في المعاملة الرابعة مقارنة مع المعاملة الثانية وقد انفتحت هذه النتائج مع نتائج [9] إذ وجد انخفاضاً في كمية اليوربا في المجاميع التي قدمت لها قشور الرمان مقارنة مع المجاميع التي لم تقدم لها قشور الرمان تحت أي مستوى من العلف المركز حيث ازداد الانخفاض بزيادة مستوى قشور الرمان المقدم . أما نتائج ما بعد التغذية بـ 6 ساعات فقد أظهرت انخفاضاً معنوياً في المعاملتين الثالثة والرابعة (46.23 و 44.87 ملغم/100مل) على التوالي، مقارنة مع المعاملتين الأولى والثانية.

تركيز الكليسيريدات الثلاثية (ملغم/دسل) = امتصاصية العينة / امتصاصية المحلول القياسي \* 200

التحليل الأحصائي :

تم إجراء التحليل الأحصائي للبيانات باستخدام التصميم العشوائي الكامل (C.R.D) (Completely Randomized Design) لتجربة ذات عاملين وذلك لدراسة تأثير المعاملات التغذوية في الصفات المدروسة باستخدام البرنامج الاحصائي [24] وفق النموذج الرياضي الآتي:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + R_j + PR_{(ij)} + e_{ijk}$$

إذ إن:

$Y_{ijk}$  = قيمة المشاهدة k العائدة للمستوى i من العلف المركز: الخشن والمستوى j من قشور الرمان.

$\mu$  = المتوسط العام للصفة المدروسة.

$P_i$  = تأثير المستوى i من العلف المركز: الخشن

$R_j$  = تأثير المستوى j من قشور الرمان.

$PR_{(ij)}$  = تأثير التداخل بين المستوى i من العلف المركز: الخشن والمستوى j من قشور الرمان.

$e_{ijk}$  = الخطأ العشوائي الذي يتوزع توزيعاً طبيعياً ومستقلاً بمتوسط قدره صفر وتباين متساوٍ قدره  $\sigma^2$ .

وتتم مقارنة متوسطات المعاملات باستخدام اختبار [25] متعدد الحدود لتقدير الفروق المعنوية بين المعاملات.

النتائج والمناقشة

صفات الدم الكيموحيوية:

كلوكوز الدم :

تشير نتائج الجدول رقم (3) إلى وجود زيادة معنوية في ( $P \leq 0.05$ ) في كلوكوز الدم ، قبل التغذية لصالح المعاملة الثانية (63.65 ملغم/100مل) والتي كانت تحت مستوى مركز 60% : خشن 40% ونسبة 4% قشور الرمان مقارنة مع المعاملتين الثالثة والرابعة (61.42 ، 61.44 ملغم/100مل) على التوالي في حين لم يظهر فرق معنوي مع المعاملة الأولى (62.84 ملغم/100مل) كما أظهرت نتائج ما بعد التغذية بـ 3 ساعات تفوق المعاملتين الأولى والثانية (68.88 ، 69.33 ملغم/100مل) على التوالي والتي كانت تحت مستوى علف مركز 60% مقارنة بالمعاملتين الثالثة والرابعة (65.67 و 65.83 ملغم/100مل) على التوالي والتي كانت تحت مستوى علف مركز 40% وقد يعود هذا إلى توفر كميات عالية من العلف المركز مما يؤدي إلى حدوث عمليات تخليق للكلوكون [7] وأظهرت نتائج ما بعد تغذية بـ 6 ساعات تفوق المعاملة الثانية (72.52 ملغم/100مل) مقارنة مع باقي المعاملات (71.62 ، 69.35 و 71.25 ملغم/100مل) على التوالي .

جدول رقم (2) التركيب الكيميائي للعلائق وقشور ثمار الرمان والتبن المستخدمة في التجربة على أساس المادة الجافة.\*

المكونات	العليقة	% من العليقة الأولى	% من العليقة الثانية	% من العليقة الثالثة	% من العليقة الرابعة
المادة العضوية	94.75	94.88	94.61	94.89	
البروتين الخام	10.53	8.25	10.80	8.43	
الألياف الخام	17.21	22.24	17.18	22.26	
مستخلص الأيثر	3.79	2.81	3.90	2.89	
زالمستخلص الخالي من النيتروجين	63.22	61.58	62.73	61.31	
الرماد	5.25	5.06	5.39	5.05	
الطاقة الممتلئة (ميغاجول/كغم)**	12.14	11.59	12.14	11.60	

\*العناصر الكيماوية تم تحليلها حسب [17] \* \* [17] NFE= OM -(CP+CF+EE) \*\*\* حسب الطاقة الايضية حسب [18]  
 $(0.012*CP+0.031*EE+0.005*CF+0.014*NFE)=(MJ/KgDM)$  ME

تركيز سكر الدم (ملغم/دسل) = امتصاصية العينة / امتصاصية المحلول القياسي  $\times 100$   
 البروتين الكلي للدم :

استخدمت طريقة بايورييت Biuret method لتقدير تركيز البروتين الكلي في مصل الدم ، إذ تم استخدام عدة التحليل الجاهزة Kit المجهزة من شركة Biomaghreb الفرنسية بقراءة النماذج بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجي 546 nm. [22]. وطبقت المعادلة الآتية في قياس تركيز البروتين الكلي:

تركيز البروتين الكلي (غم/دسل) = امتصاصية العينة / امتصاصية المحلول القياسي  $\times 5$   
 يوريا الدم :

تم تقدير اليوريا في مصل الدم باستعمال المحاليل الجاهزة (Kit) المجهزة من شركة Biomerieux الفرنسية وقُرئت النماذج بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجي 580 nm [22] وطبقت المعادلة كالتالي:  
 مستوى اليوريا (ملغم/100مل) = امتصاصية العينة/امتصاصية المحلول القياسي  $\times 50$   
 كولسترول الدم :

تم تقدير تركيز الكولستيرول في مصل الدم بالطريقة الإنزيمية باستخدام عدة العمل (Kit) المرقمة 2160 لشركة Biomeriux الفرنسية بقراءة النماذج بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجي 505 nm. [22]. وطبقت المعادلة التالية في قياس تركيز الكولستيرول:

تركيز الكولستيرول (ملغم/دسل) = امتصاصية العينة / امتصاصية المحلول القياسي  $\times 200$   
 الكليسيريدات الثلاثية للدم :

تم تقدير مستوى الكليسيريدات الثلاثية في مصل الدم بالطريقة الإنزيمية باستخدام المحاليل الجاهزة (Kit) المجهزة من شركة Biolabo الفرنسية وقُرئت النماذج بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجي 500 nm [23]. وطبقت المعادلة كالتالي:

تم شراء مسحوق قشور الرمان من الاسواق المحلية، وخلط مع باقي مكونات العليقة بصورة متجانسة اما العلف الخشن (التبن) فقد تمت معاملته بمادة اليوريا وذلك باذابة (5) كغم منها في (30 لتر ماء) وتم بعد ذلك رش السائل على تبن الحنطة وتم تغطيته بمادة النايلون لمدة خمس اسابيع بعدها تم تعريضه للهواء لكي يتبخر الكمية الزائدة من المادة المضافة وكذلك الغازات المتكونة من التفاعل. وقد تم اعداده مسبقاً بحيث يكون جاهز للاستهلاك عند دخول الحيوانات الى الحقل عند بداية التجربة

سحب عينات الدم :

في الاسبوع الأخير من البحث وفي يوم واحد تم سحب العينات من جميع الحملان على ثلاث فترات الأولى قبل التغذية صباحاً والثانية بعد 3 ساعات من التغذية والثالثة بعد 6 ساعات من التغذية وذلك لمعرفة تأثير العلاق التجريبي على الصفات الكيموحيوية لمصل الدم [19]، إذ تم سحب العينات باستخدام محقنة طبية سعة (10 مل) من الوريد الوداجي في رقبة الحيوان [20] ووضعت العينات المأخوذة في أنابيب مختبرية خاصة نظيفة ومعقمة ونقلت إلى المختبر وتركت لمدة ساعة تحت درجة حرارته ثم خزنت ورتبت بشكل مائل بزاوية  $45^\circ$  لمدة 24 ساعة تحت درجة حرارة  $4^\circ$  مئوية في التلاجة بعدها وضعت في جهاز الطرد المركزي (3500 دروة/دقيقة) لمدة 10 دقيقة لفصل مصل الدم عن باقي المكونات، ثم حفظ المصل في أنابيب محكمة الغلق تحت درجة حرارة  $20^\circ$  مئوية لحين إجراء التحاليل.

تحليل عينات الدم :

أجريت الفحوصات الكيموحيوية الخاصة بمصل دم الحملان وقدرت كما يأتي:

كلوكوز الدم :

تم تقدير تركيز سكر الدم في مصل الدم بالطريقة الأنزيمية Enzymatic Colorimetric Test (GOD-PAP) بإتباع التعليمات الخاصة بعدة عمل (Kit) شركة Biomaghreb الفرنسية بقراءة النماذج بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer عند طول موجي 505 nm. [21]. وطبقت المعادلة التالية في قياس تركيز سكر الدم:

تحت مستويات مختلفة من البروتين المتناول فان من خلال هذه الدراسة حاولنا معرفة تأثير قشور الرمان\_ والتي تحتوي على التانين \_ تحت مستويات مختلفة من العلف المركز الى العلف الخشن في بعض صفات الدم للحملان العواسية .

#### مواد وطرائق البحث

##### إدارة الحيوانات

استخدم في هذا البحث 16 حملاً عواسياً تم شراؤها من الأسواق المحلية , تراوحت أعمارها بين 3-4 أشهر وبمعدل وزن  $19.98 \pm 0.21$  كغم. وأُتيح في هذا البحث نظام التغذية الفردية إذ رُقمت الحملان ووضعت في أقفاص مساحة كل منها  $1 \times 2$  متر واحتوت كل حظيرة على معلق بلاستيكي متحرك للعلف ومنهل بلاستيكي للماء سعة 5 لتر وقالب للاملاح المعدنية خضعت جميع الحملان لفترة تمهيدية (Adaptation period) لمدة اسبوعين قبل البدء بالتجربة لغرض تعويدها على الحظائر المنفردة واسلوب تقديم العلف والماء . بعد انتهاء الفترة التمهيدية تم توزيع الحملان الى 4 مجاميع حسب الوزن إذ كانت معدلات أوزان كل مجموعة مقاربة وضمنت كل مجموعة 4 حملان ثم وزعت المعاملات عشوائياً على المجاميع في حظيرة نصف مغلقة وتم ترقيم الحظائر على اساس كل معاملة . تقديم العلف كان لمرة واحدة يومياً عند الساعة الثامنة صباحاً يتم تعديل الحصص اليومية من العلف اسبوعياً بحسب الوزن الجديد للحملان في بداية ذلك الاسبوع ولطيلة مدة التجربة و يتم استبدال الماء في المناهل صباحاً ويتم زيادته عدة مرات اثناء اليوم في حال الحاجة ولطيلة فترة التجربة . لم تتضمن الرعاية البيطرية لحملان التجربة اي اجراءات تلقيح او أي علاج خلال مدة التجربة إذ اكتفينا بالمواد الفعالة في قشور الرمان المضافه الى العليقة وذلك لما لها من دور في معالجة كثير من الامراض ومكافحة كثير من الديدان والطفيليات في المعدة والجهاز الهضمي في الحيوانات المجتره ولما لها من دور ايجابي على الوضع الصحي العام للحيوان .

##### العلائق التجريبية

تضمن هذا البحث تغذية الحملان على عليقتين ذوات مستويات مختلفة في نسبة العلف الخشن الى المركز 40% خشن : 60% مركز و 60% خشن: 40% مركز على التوالي وأضيفت قشور ثمار الرمان بنسبة 4% و 0% (سيطرة) من لكل من العليقتين وتمت التغذية بنسبة 3,5% من وزن الحيوان لكل عليقة لمجاميع الحملان الاربعة على التوالي (جدول رقم 1).

جدول رقم (1) نسب ومكونات العلائق المركزة المستخدمة في التجربة.

المكونات	العليقة الأولى	الثانية	الثالثة	الرابعة
شعير	18	12	18	12
ثرة صفراء	18	12	18	12
نخالة الحنطة	13.4	7.6	17.4	11.6
فول الصويا	6	4	6	4
املاح وفيتامينات	0.6	0.4	0.6	0.4
مسحوق قشور الرمان	4	4	0	0
تين معامل باليوربا	40	60	40	60

يُعد الكبد المكان الرئيسي لتكوين اليوريا وتكون نصف المركبات النتروجينية غير البروتينية الموجودة في الدم [12] وتكون نوعية الأغذية التي يستهلكها الحيوان ومستوى البروتين في هذه الاغذية هي العوامل التي يعتمد عليها تركيز اليوريا في الدم و التوازن ما بين عملية تصنيعها وإفرازها ويُعدّ مستوى اليوريا في الدم مؤشراً لأداء الحيوان ولوظائفه الفسلجية [13] .

وذكر [9] وجود انخفاض معنوي قبل التغذية وبعدها بـ 3 ساعات و 6 ساعات في المجاميع التي غذيت قشور الرمان بمستوى (2 ، 4 ، و 6 % ) وكانت النتائج قبل التغذية (41.85 ، 43.01 ، 41.84 ملغم/100مل) وبعد التغذية بـ 3 ساعات (42.75 ، 44.18 ، 46.25 ملغم/100مل) أما بعد التغذية بـ 6 ساعات فبلغت (44.52 ، 47.03 ، 44.12 ملغم/100مل) مقارنة مع المجموعة التي لم يقدم لها قشور الرمان والتي كانت نتائجها (45.49 ، 48.91 ، 49.90 ملغم/100مل) على التوالي. كما اظهرت نتائج مابعد التغذية بـ 3 ساعات انخفاضاً معنوياً للمجموعة التي أعطيت (6%) من قشور الرمان مقارنة مع المجموعة التي أعطيت (2%) كذلك اظهرت نتائج مابعد التغذية بـ 6 ساعات انخفاضاً معنوياً للمجاميع التي أعطيت (4 و 6%) من قشور الرمان مقارنة مع المجموعة التي أعطيت (2%) .

اما الكوليستيرول فهناك عوامل عديدة تؤثر على تركيزه بالدم مثل كميته في العليقة ونوع الحيوان وعمره والمراحل الفسلجية التي يمر بها ومستوى الهرمونات، ويتراوح مستواه في دم الأغنام ما بين ( 62.8 - 80.6 ملغم/100مل دم ) [14].

وذكر [15] في تجربة لدراسة تأثير خمسة مستويات من بثل العنب المجفف dried grape pomace (5.4% تانين) (0 ، 5 ، 10 ، 15 و 20%) على تغذية الحملان عدم وجود تأثير على الكوليستيرول إذ كان (67 ، 61.2 ، 63 ، 66.2 و 59.8 ملغم/100مل) على التوالي . ولم تظهر النتائج التي حصل عليها [9] أي تأثير معنوي لمستويات قشور الرمان الاربعة قبل التغذية حيث كانت (62.77 ، 62.49 ، 62.82 و 63.77 ملغم/100مل) على التوالي . اما نتائج مابعد التغذية بـ 3 ساعات فقد اظهرت زيادة معنوية للمجاميع التي غذيت بقشور الرمان بمستوى (2 ، 4 ، و 6 % ) والتي بلغت ( 66.74 ، 67.38 ، 67.84 ملغم/ 100 مل ) مقارنة مع المجموعة التي لم يقدم لها قشور الرمان (65.10 ملغم/100مل) . أما نتائج ما بعد التغذية بـ 6 ساعات فقد اظهرت المجموعة التي اعطيت ( 6 % ) من قشور الرمان زيادة معنوية مقارنة بالمجموعة التي لم يقدم لها قشور الرمان حيث بلغت (67.93 و 65.77 ملغم / 100 مل) في حين لم تختلف المجاميع التي اعطيت قشور الرمان بمستوى (2 و 4 % ) عن بقية المجاميع والتي بلغت ( 67.17 و 67.48 ملغم / 100 مل) على التوالي .

و الكليسيريدات ثلاثية Triglyceride (TG) عبارة عن استرات الأحماض الدهنية Fatty acid esters مع الكوليستيرول، ويتم نقلها من الأنسجة الدهنية عبر الدم إلى مواقع الأيض بالجسم [16] ولما كانت الدراسات السابقة كانت تشير الى تأثير التانين على صفات الدم

## إضافة قشور الرمان تحت مستويين من العلف المركز إلى الخشن وأثره على بعض صفات الدم في الحملان العواسية

مهيمن عبد السلام محمد الجبوري ، طاهر عبد اللطيف شجاع الراوي

قسم الإنتاج الحيواني ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### الملخص

استخدم في هذه التجربة 16 حملاً عواسياً تم شرائها من السوق المحلية تراوحت أعمارها بين 3-4 أشهر وبمعدل وزن  $0.21 \pm 19.98$  كغم، وزعت الحملان إلى 4 مجاميع حسب الوزن وضمت كل مجموعة 4 حملان ثم وزعت المعاملات عشوائياً على المجاميع. وأُتبع في هذه التجربة نظام التغذية الفردية وتضمنت عليقتين ذات مستويات مختلفة من مسحوق قشور الرمان 0% و 4% وتم تقديم هذه العلائق للحملان مع نسبتين من العلف المركز إلى العلف الخشن ( 60% علف مركز : 40% علف خشن و 40% علف مركز : 60% علف خشن) لكل عليقة لمجاميع الحملان الأربعة على التوالي و أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى:

ظهور زيادة معنوية ( $P < 0.05$ ) في كلوكوز الدم ( 75.52 ملغم/100مل) وفي البروتين الكلي للدم (7.29 غم/100 مل) ولكولسترول الدم (67.31 ملغم/100مل) وفي يوريا الدم (52.87 ملغم/100مل) مع المستوى العالي من العلف المركز مقارنة مع المستوى المنخفض ولكن بزيادة قشور الرمان ظهر انخفاض معنوي بنسبة اليوريا (44.83 ملغم/100مل) في المستويات المختلفة من قشور الرمان والعلف المركز.

**الكلمات المفتاحية:** قشور الرمان ، علف مركز ، حملان عواسية ، صفات دم

### المقدمة

التي تدخل بعد امتصاصها إلى الدورة الكبدية ومن ثم الاستفادة منها في أنسجة الجسم كمصدر للطاقة [7]. إن المستوى الطبيعي لكلوكوز الدم في الأغنام يتراوح ما بين 40-80 ملغم/100مل دم [8]. وأشار [9] الذي غذى الحملان العواسية على أربع مستويات من قشور الرمان (0 ، 2 ، 4 و 6 %) وتحت مستويين من العلف المركز (2 و 3%) إلى عدم ظهور أي تأثير معنوي على سكر الدم قبل التغذية وبعدها ب 3 ساعات و 6 ساعات كما أشارت نتائج التداخل إلى عدم وجود تأثير معنوي قبل التغذية وبعدها ب 3 ساعات للمجاميع التي أعطيت قشور الرمان بجميع المستويات تحت المستويين من العلف المركز. في حين أظهرت نتائج مابعد التغذية بـ 6 ساعات زيادة معنوية للمجاميع التي أعطيت قشور الرمان بمستوى (2 و 6%) تحت مستوى علف مركز (3%) مقارنة مع المجاميع التي أعطيت قشور الرمان بمستوى (0 و 6%) تحت مستوى علف مركز (2%). كما تمثل البروتينات جزءاً مهماً من محتويات الدم وتشكل 20% منه ، وأن التغيرات الحاصلة في تركيز البروتين الكلي للدم تعكس الحالة الصحية والأفضية للحيوان فضلاً عن مستوى التغذية و الظروف البيئية و تستخدم هذه التغيرات كمؤشر للحالة الفسلجية للحيوان. [10] إن المستوى الطبيعي للبروتين الكلي في دم الأغنام 5.2-7.0 غم/100مل دم [11]. ولم تظهر النتائج التي حصل عليها [9] أي تأثير لقشور الرمان قبل التغذية للمستويات الأربعة في حين كان هناك زيادة معنوية للمجموعتين التي أعطيت قشور الرمان بمستوى (4 و 6%) بعد التغذية ب 3 ساعات مقارنة مع المجموعة التي لم يقدم لها قشور الرمان. أما نتائج مابعد التغذية بـ 6 ساعات فأظهرت زيادة معنوية للمجاميع التي أعطيت قشور الرمان بمستوى (2 ، 4 و 6%) مقارنة مع المجموعة التي لم يقدم لها قشور الرمان (0%).

يعد هدف الباحثين في مجال تغذية الحيوان هو استبدال بعض العلف المركز بالعلف الخشن في علائق تسمين الحيوانات المجتررة مع الحفاظ على كمية ونوعية الذبائح المنتجة وبالتالي معرفة الفروقات الاقتصادية في إنتاج اللحم وإمكانية زيادة الربح من خلال خفض التكاليف التغذوية وكذلك فهم العوامل الرئيسية التي تؤثر على أداء الحيوان ومن العوامل كمية العلف المستهلك وقابلية تحلل العناصر الغذائية ومعامل الهضم وكفاءة التحويل الغذائي فضلاً عن الاستفادة المثلى من البروتين الخام الذي يستفيد منه الحيوان [1] حيث إن تقليل تحلل البروتين الخام في الكرش والسماح لجزء منه بالوصول إلى الأمعاء يضمن عدم خسارة جزء من الأحماض الأمينية في الكرش بسبب التخمرات الميكروبية والتي تؤدي إلى خسارة أكثر من 10% أغلبها بشكل نيتروجين أمونيا  $NH_3\_N$  [2,3,4] ويتم خفض تحلل البروتين في الكرش من خلال عدة تقنيات وطرق لمعاملة البروتين والتي منها استخدام التانينات (Tannins) حيث من المعروف والمؤكد أن أنواع وأشكال التانين عند تراكيز منخفضة يحسن من تخمرات الكرش للكربوهيدرات والبروتينات وكذلك تصنيع البروتين الميكروبي وتستطيع أن تزيد من البروتين الغذائي غير المتحلل في الكرش [5] وتعد قشور الرمان مصدراً غنياً بالتانين والفلافونويدات والمركبات الفينولية الأخرى [6] لذا فإن قشور الرمان يمكن أن تستخدم كمصدر للتانين من أجل أحداث تغيير في عمليات التخمر في الكرش أو في عمليات هضم العناصر الغذائية لتحسين أداء الحيوانات المجتررة .

ولما كانت صفات الدم مؤشراً للحالة الفسلجية للحيوان فيمكن أن نستدل على حالة الحيوان من خلال ارتفاع أو انخفاض نسب بعض مكونات الدم . حيث إن سكر الكلوكوز في دم المجترات ينتج من تحول كربوهيدرات العلف المتناول إلى أحد الأحماض الدهنية الطيارة

Philadilphia, London, Torento, Monterial Sydney, Tokyo, pp:34.

21-Black, SM; Bekker, JM; McMullan, DM; Parry, AJ; Ovadia, B; Reinhartz, D (2002). Alterations in nitric oxide production in 8-week old lambs with increased pulmonary blood flow. *Pediatr Res*, **52**: 233-244.

22-Kocak-Toker, N.; Giris, M.; Tulubas, F.; Uysal, M.; Aykac-Toker, G. (2005). Peroxynitrite induced decrease in Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity is restored by taurine. *Biochem. World J. Gastroenterol.* **21**, 11(23): 3554-3557

23-الرماحي، نهاد حميد داود (2002). تأثير بذور الحلبة على فعالية

الغدة الدرقية في ذكور الجرذ الابيض: دراسة هرمونية ونسجية. رسالة ماجستير، كلية التربية (ابن الهيثم)، جامعة بغداد. ص66

24-Amin, A.R.; Kucuk, O.; Khuri, F.R. and Shin, D., M. (2009). Perspectives for cancer prevention with natural compounds, *J. Clin. Oncol.*, **27**:2712 .

25-الكروي، طلال عبد الرزاق (2000). عزل وتشخيص المركبات

الفلافونويدية من أوراق نبات السدر واستعمالها مواداً مضادة للأكسدة ومقيدة للمعادن في الزيوت. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

الوظيفة والتركيب النسجي للغدة الدرقية وفعالية انظيم الفوسفاتيز القاعدي في الخلايا العدلة وبعض معايير الدم في ذكور الجرذ الابيض. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.

17-Fusheng, Miao; Wengian, Ya; Yaoguang, wang; Meijuan, wang; xiangyan, Liu. and Fenglin, Li . (2010). "effect of corn peptides on exercise tolerance, free radical metabolism in liver and serum glutamic-pyruvic transaminase activity of mice ". *African journal of pharmacy and pharmacology*, vol:4 (4), pp:178-183.

18-عباس، آل خضير (2008). تقويم بعض الاستجابات المناعية والنسجية لنباتي لسان الثور *Borago officinalis* وزنبق المطر *Zephyranthes candida* في ذكور الجرذ الابيض. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة بغداد.

19- الشمري، زينة محمد حمد (2008). تأثير المستخلص الكحولي للزبيب الأسود *Vitis vinifera* على التلف الكبدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين وفرط الميثونين في ذكور الجرذ الابيض. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد .

20- Kumar, V; Cortan, PS and Robbins, SL (2003). *Basic pathology*. 7<sup>th</sup> ed. Sunders Elsevier science.

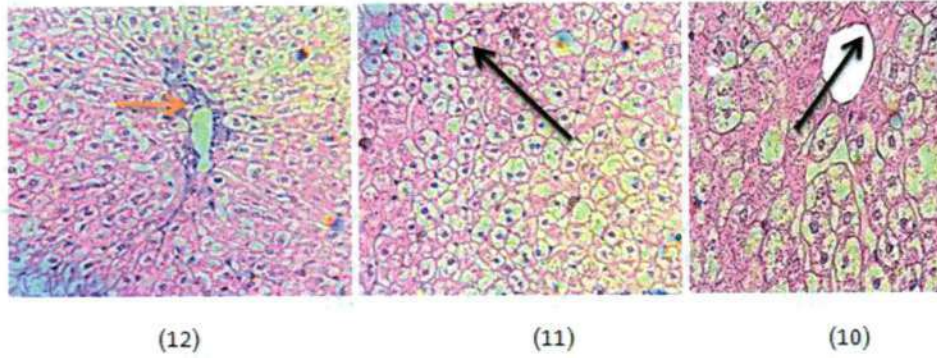
## Histological study of the effect of aqueous extract of *Borago officinalis* Linn and some physiological & biochemical parameters related to liver functions in female albino rabbits exposed to oxidative stress

Raghad Hazem Hamad Al-Abbasi

Department pathological analyzes , College of Applied Sciences , University of Samarra , Samarra , Iraq

### Abstract

This study was conducted to determine the protective effect of aqueous extracts of *Borago officinalis* Linn and its impact as histological antioxidant and on some parameters on the functions of the liver in female of the albino rabbits exposed to oxidative stress-induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The study included 20 rabbits at age (5-4 months) and they are divided into 4 groups (5 animals/ group). These groups are:G1,G2,G3,andG4, The study measured some of physiological and biochemical parameters which (were concentration of (Hb), account of (WBCs), and measures the level of alinine trans aminase (ALT). At the end of the experiment, the animals are killing in a manner of slaughter, and the liver is eradicated and saved in 10% formalin, then microscopic slides of it are prepared for the histological study.



- شكل (10): مقطع في كبد ارنب من مجموعة البيروكسيد + المستخلص المائي لورد لسان الثور يظهر المظهر الطبيعي لجدار الوريد المركزي ( → ) ، (H&E) قوة التكبير 400X.
- شكل (11): مقطع في كبد ارنب من مجموعة البيروكسيد + المستخلص المائي لورد لسان الثور يظهر المظهر الطبيعي للخلايا ( → ) ، (H&E) قوة التكبير 400X.
- شكل (12): مقطع في كبد ارنب من مجموعة البيروكسيد + المستخلص المائي لورد لسان الثور يظهر فيه ارتشاح الخلايا اللمفية حول جدار الوريد المركزي ( → ) ، (H&E) قوة التكبير 400X.

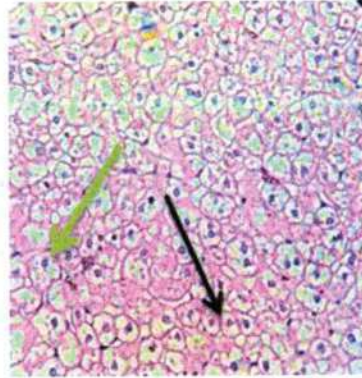
#### المصادر

- Christian Body .com . subject Christian Body . comment .pp:1-2.
- 10- Bancroft, J.; and Stevens, A. (1982). The theory and practice of histological techniques. 2<sup>nd</sup> ed. Churchill Livingstone.p:49-113.
- 11-Duncan, RC; Knap, RG and Miller, MC (1983). Introductory biostatistics for the health sciences, A Wiley Medical Publication, John Wily and Sons. London, pp: 16-179.
- 12-Babu, V.; Gangadevi T.; Subramanian A. (2003). Antidiabetic activity of ethanol extract of cassia ideinii leaf in streptozotocin induced diabetic rats and isolation of an active fraction and toxicity evaluation of the extract. J. Pharmacol. Indian., 35: 290 – 296.
- 13-Cazarolli, LH; Zanatta, L; Alberton, EH; Figueiredo, MS; Folador, P; Damazio, RG; Pizzolatti, MG and Silva, FR (2008). "Flavonoids: Prospective Drug Candidates". *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 8(13): 1429-1440.
- 14-عبد الرحمن، صاحب جمعة (2008). التأثيرات الفسلجية والكيموحيوية لعدد من المستخلصات النباتية في الدم والجهاز التناسلي الذكري في الجرذان البيض *Rattus norvegicus* المعرضة للكرب التأكسدي. أطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة تكريت.
- 15-الكراعي، نور إبراهيم حسن(2013). دراسة تأثير بعض محتويات ثمرة الرمان في كبح تصلب الشرايين وتقليل التأثيرات الجانبية الناتجة من استعمال العقار المضاد للسرطان Vincristine في الجرذ .رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة تكريت.
- 16-الحيالي، داليا عبداللطيف (2006). دراسة بالمجهر الالكتروني والضوئي لتأثير الثايروكسين ونبات *Borago officinalis* في
- 1- Johnsen, S. H.; Mathiesen, E. B.; Joakimsen, O.; Stensland, E.; Wilsgaard, T.; Lochen, M. L.; Njolstad, I. and Arnesen, E. (2007). Carotid atherosclerosis is a stronger predictor of myocardial infarction in women than in men, a 6-year follow-up study of 6226 persons. *J. Stroke*; 38: 2873-2880.
- 2- Beckingham, I.J. and Ryder, S.D. (2001). ABS of diseases of liver, pancreas and biliary system. Investigation of liver and biliary diseases. *BMJ*. 322 (7277): 33-36.
- 3- Bonkovsky, H.L. (1991). Iron and the liver. *Am. J. Med. Sci.* 301(1): 32-43.
- 4- Thrall, M.A. (2004). *Veterinary hematology and clinical chemistry*. Lippincott Williams and Wilkins. USA. Ch. 23., pp: 355-374. Ch. 34., pp: 646-647.
- 5- Bulter, R.; Morris, A. O.; Jill, J. F.; Hill, A. and Struthers, A. D. (2002). Allopurinol normalizes endothelial dysfunction types diabetics with mild hypertension., 35:746.
- 6- Sabu, M. C. and Ramadasan, K. (2002). Antioxidant ability of medicinal plants in treatment of diabetes. *J. Ethnopharmacology*, 81: 155-160.
- 7- إسماعيل، عبد الكريم حسين (2005). التأثير الوقائي لزيت الحبة السوداء في الجهاز التناسلي في الفئران البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث ببيروكسيد الهيدروجين. أطروحة دكتوراه، كلية التربية، جامعة الموصل.
- 8- آل سليمان اغا، رنا عامر عاصم (2006). تأثير مستخلصات الثوم المضاد للأكسدة في الأرنب. أطروحة دكتوراه، جامعة الموصل.
- 9- Walsh, E. (2005). *Christian Body Migrain Defense*. Internet address: chritian Body .com .EEWalsh @

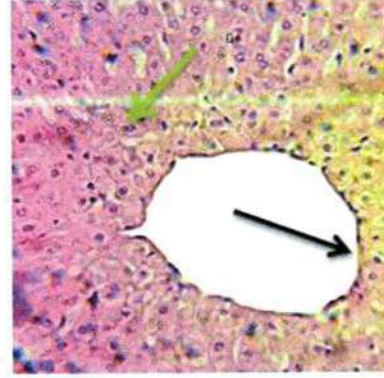
وخفض في فعالية أنزيم ATPase وزيادة ملحوظة في مستوى MDA كما أشار له [22]

مجموعة المستخلص المائي لورد لسان الثور:

أظهرت نتائج هذه الدراسة ظهور جدار الوريد المركزي بمظهر طبيعي ومقارب لمجموعة السيطرة، لكن ظهرت بعض الخلايا بحالة انقسام خلوي كما في الشكل (8)، كما ظهرت غالبية الخلايا الكبدية بالمظهر الطبيعي، وكانت ذات ترتيب شعاعي، وظهرت بعض الخلايا متضخمة كما في الشكل (9) ربما يُعزى هذا التغيير الى تأثير مكونات المستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور في الخلايا الظهارية وتحفيزها على الانقسام الخلوي، والذي قد يكون نتج بسبب وجود الـ GLA ضمن مكونات المستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور الذي أسهم في زيادة فعالية عملية الانقسام الخلوي، كما أن GLA يلعب دوراً مهماً في تنظيم الجهاز المناعي، والذي قد يعد مؤشراً على قدرته في تعزيز مناعة الجسم للدفاع عند وجود عامل مؤثر في خلايا الجسم. كما اشار له [23].



(9)



(8)

شكل (8): مقطع في كبد ارنب من مجموعة المستخلص المائي لورد لسان الثور يظهر المظهر الطبيعي لجدار الوريد المركزي (→)، خلايا بحالة انقسام (→)، (H&E)، قوة التكبير 400X.

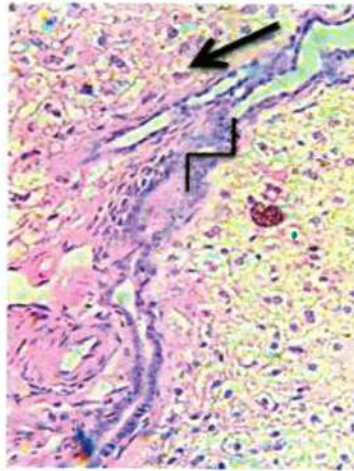
شكل (9): مقطع في كبد ارنب من مجموعة المستخلص المائي لورد لسان الثور يظهر المظهر الطبيعي للخلايا (→)، بعض الخلايا متضخمة (→)، (H&E)، قوة التكبير 400X.

وحامض Ellagic الذي برزت تأثيراته في حماية النسيج الجسمية المختلفة ومن ضمنها نسيج الكبد من ضرر المؤكسدات التي تؤدي إلى الأضرار بالمكونات والأغشية الخلوية كما اشار له [24]، فضلا عن امتلاكه الثانين والتي ترتبط مع البروتينات الموجود في جدران الخلايا فتكون معقدات وهذه المعقدات مع البروتين تكون أواصر تساهمية وذلك بسبب امتلاك التانين عدد كبير من مجاميع الفينول الهيدروكسيلية الحرة والذي يعتقد انها تساهم في الحد من الانتهاب الحاصل من تأثير البيروكسيد، فضلا عن وجود الصابونيات التي تحفز من عملية البلعمة والإسراع من الإصلاح الخلوي كما اشار له [25].

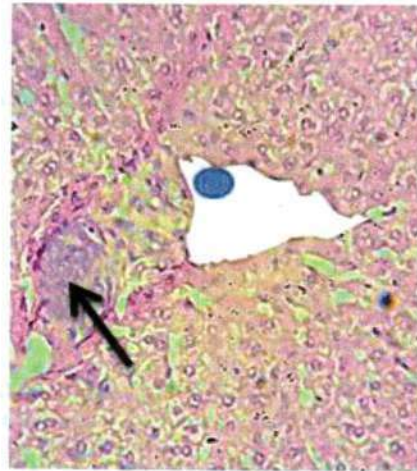
جذب الخلايا الالتهابية للهجرة إلى المنطقة الممتكسة لغرض الدفاع عن النسيج بالتهام المواد الممتكسة وإزالة العامل المسبب لحدوث الضرر وهذا يتفق مع ما أشار له [20]، كما ان الاحتقان هو نتيجة تراكم الجذور الحرة في الأوعية الدموية الشعيرية، وبالتالي تسبب ارتفاعاً في ضغط الدم فيها وحدوث الفشل الوظيفي، ومن ثم انفجار البطانة الاندوتيلية للأوعية الدموية الشعيرية مؤدية لاحتقان عن طريق خروج كريات الدم الخمر للخارج، وترسيبها داخل الوريد المركزي [21] وتتفاعل الجذور الحرة أيضاً مع البروتينات الداخلة في تركيب الأغشية الخلوية والداخل خلوية Cellular and Intracellular membrane وبالتالي تثبط عدداً من الفعاليات الحيوية الخاصة بالأغشية، أن تحطم الخلايا ناتج عن الإجهاد التأكسدي المستحدث بواسطة جذر بيروكسي نيتريت  $ONOO^+$  وهو من أقوى الجذور الحرة الذي يعمل على تحطيم الأغشية الخلوية والتي تتفاعل مع العديد من الجزيئات الحيوية، إذ يعمل على تحطيم  $Na^+-K^+-ATPase$  في الغشاء البلازمي للكبد

مجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين لمدة اسبوعين ثم تم معاملتها بالمستخلص المائي لورد لسان الثور لمدة اسبوعين :

أظهرت نتائج الدراسة النسيجية ظهور جدار الوريد المركزي بالمظهر الطبيعي مشابه بذلك مجموعة السيطرة شكل (10)، وظهرت الخلايا بالترتيب الشعاعي حول منطقة الوريد المركزي وظهرت الفسح بين الخلايا الكبدية والجيبانبات الدموية Sinusoids، بالمظهر الطبيعي كما في شكل (11)، بينما ظهر ارتشاح الخلايا المملية حول جدار الوريد المركزي كما في الشكل (12) ان هذا يدل على امكانية المستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور على الاصلاح الخلوي وذلك لامتلاكه العديد من مركبات الايض الثانوي الفعالة كالفينولات



(5)

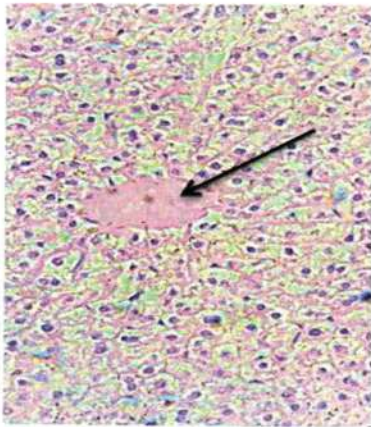


(4)

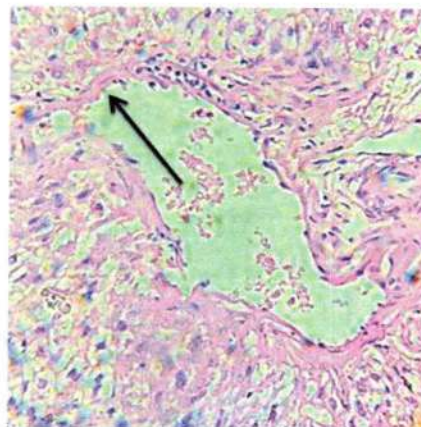
شكل (4): مقطع في كبد ارنب من مجموعة بيروكسيد الهيدروجين يظهر فيه ارتشاح الخلايا اللمفية (→)، تتخر جدار الوريد المركزي (●) (H&E). قوة التكبير 400X.

شكل (5): مقطع في كبد ارنب من مجموعة بيروكسيد الهيدروجين يظهر فيه التقسام نوى الخلايا (→)، ارتشاح الخلايا اللمفية (□) (H&E). قوة التكبير 400X.

وظهر جدار الوريد المركزي بشكل غير طبيعي كما في الشكل (6)، المركزي كما في الشكل (7). كما ظهر تحلل كريات الدم الحمر و تجمعها داخل تجويف الوريد



(7)



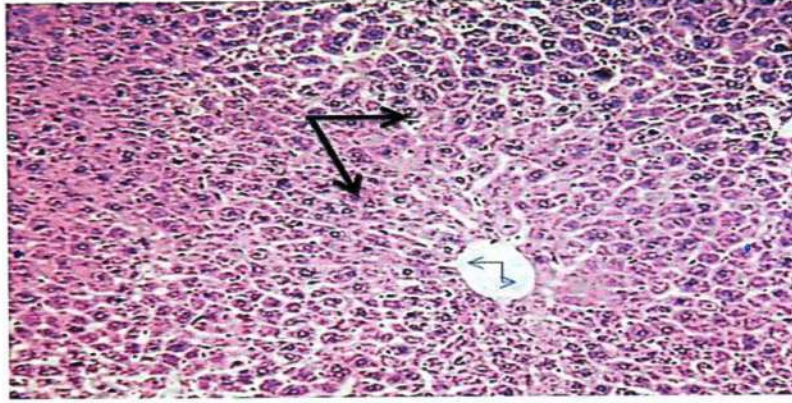
(6)

شكل (6): مقطع في كبد ارنب من مجموعة بيروكسيد الهيدروجين يظهر فيه مظهر غير طبيعي لجدار الوريد المركزي (→)، (H&E) قوة التكبير 400X.

شكل (7): مقطع في كبد ارنب من مجموعة بيروكسيد الهيدروجين يظهر تحلل كريات الدم الحمر وتجمعها داخل الوريد المركزي (→)، (H&E) قوة التكبير 400X.

التأثير على حيوية غشاء المايتوكوندريا، و تحطيم الجسيمات الحالة مؤدي الى تتخر الخلايا وهذا يتفق مع ما اشار له [19]، كما أن حصول التغيرات التنكسية تؤدي إلى حصول استجابة التهابية ، اذ تعد نواتج الخلايا المتكسمة عوامل جذب Chemotatic factor تؤدي إلى

ويعود حصول هذه التغيرات غير الطبيعية الى ان الاجهاد التأكسدي يعمل على تكوين جذور حرة لها القدرة على التفاعل مع الدهون المفسفرة لاغشية الخلايا فينتج عنه بيروكسدة للدهون Lipid peroxides ، والذي يحفز سلسلة من التفاعلات الحالة للاغشية مع

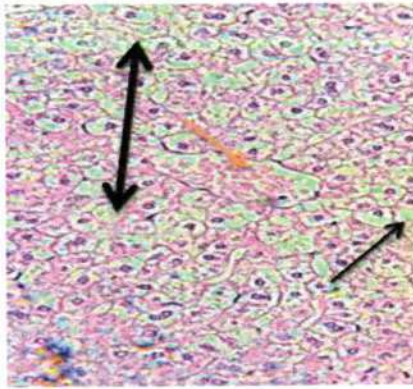


شكل (1): مقطع في كبد أرنب من مجموعة السيطرة يوضح المظهر الطبيعي للخلايا الكبدية ( → )، الوريد المركزي ( ↙ )، (H&E). قوة التكبير 400X.

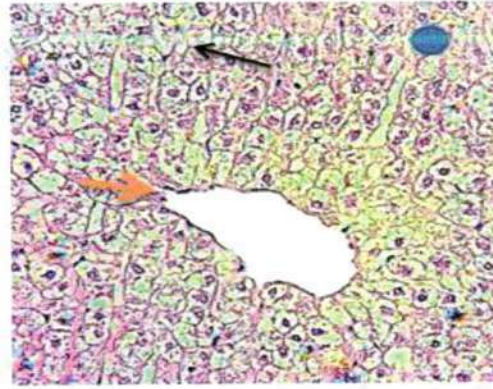
الدموية مع الوريد المركزي لتصريف الدم كما في الشكل (2) ، بينما ظهر تحلل للساييتوبلازم و الانوية و احتقان داخل تجويف الوريد المركزي كما في الشكل (3) .

مجموعة بيروكسيد الهيدروجين.

أظهرت نتائج الفحص النسيجي لكبد أرنب في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين حالات تنكس Degeneration وتنخر فجوي لبعض الخلايا Vaculated Necrosis و مناطق توصل الجيبانيات



(3)



(2)

شكل (2): مقطع في كبد أرنب من مجموعة بيروكسيد الهيدروجين يظهر فيه تنكس الخلايا ( → )، تنخر ( ● )، توصل الجيبانيات مع الوريد المركزي ( → ) . (H&E). قوة التكبير 400X.

شكل (3): مقطع في كبد أرنب من مجموعة بيروكسيد الهيدروجين يظهر فيه تحلل ساييتوبلازم الخلايا ( → )، احتقان ( → )، تحلل الانوية ( ↔ ) . (H&E). قوة التكبير 400X.

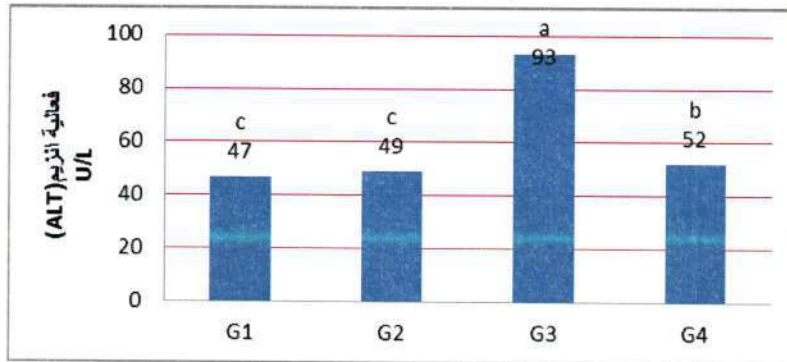
ظهر أنقسام لنوى بعض الخلايا كما في الشكل (5).

بينما ظهر ارتشاح الخلايا اللمفية في النسيج الخلالي بين الخلايا الكبدية Infiltration of Lymphocytes كما في الشكل (4)، كما

( $P \leq 0.05$ ) في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور (G2) اذ بلغت ( $49 \pm 1.14$ ) عند المقارنة بمجموعة السيطرة (G1)، بينما أظهرت حدوث انخفاض معنوي عند مستوى معنوية ( $P \leq 0.0$ ) في تركيز انزيم ال (ALT) في المجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين (G3) و التي بلغت ( $93 \pm 2.73$ )، عند المقارنة بمجموعة السيطرة (G1) ، اما المجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين لمدة اسبوعين ومن ثم تم معاملتها بالمستخلص المائي لورد لسان الثور (G4) فقد أظهرت حدوث ارتفاع معنوي عند مستوى معنوية ( $P \leq 0.0$ ) اذ بلغت ( $52 \pm 2.55$ ) عند المقارنة بالسيطرة (G1) التي بلغت ( $47 \pm 0.83$ ) ولكنها اختلفت معنوياً عن المجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين (G3) لوحدها.

تتفق مع [14] الذي اشار الى زيادة أعداد خلايا الدم البيض عند المعاملة بيروكسيد الهيدروجين، بينما تتفق مع [15] التي أشارت الى انخفاض اعداد ال WBCs عند المعاملة بالبيروكسيد، اما المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي (G2) فلم تظهر فروق معنوية دلالة على عدم وجود اي تأثيرات جانبية سلبية عند مستوى هذه الجرعة، أما المجموعة المعاملة بـ  $H_2O_2$  ثم بالمستخلص المائي (G4) فلم تظهر اي فروق معنوية مقارنة بالسيطرة فتدل على القدرة العالية لمكونات المستخلص المائي على اصلاح الضرر الحاصل بفعل البيروكسيد والحد من الالتهابات الحاصلة في الجسم و بالتالي عودة الخلايا الى حالها الطبيعي وهذا يتفق مع ما أشار له [16].

أما نتائج فحص فعالية الأنزيم ناقل الأمين الألتين (ALT) فقد أظهرت هذه الدراسة عدم حصول اي فروق معنوية عند مستوى معنوية



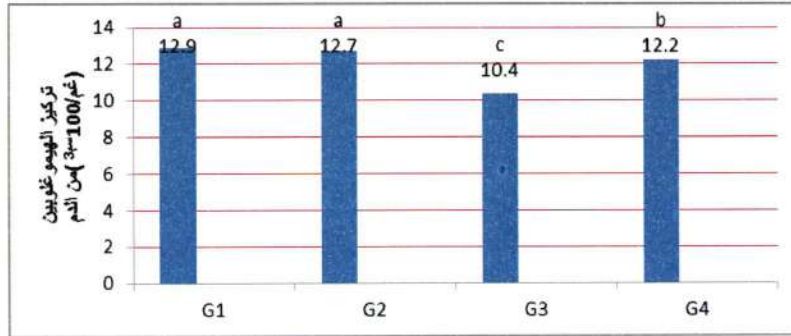
شكل (3) التغيرات في معدل تركيز الانزيم ناقل أمين الألتين (ALT) للمجموعات التجريبية اذ تمثل G1 مجموعة السيطرة و G2 المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور و G3 المجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين و G4 المجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين لمدة اسبوعين ثم تم معاملتها بالمستخلص المائي لورد لسان الثور لمدة اسبوعين.

المعاملة بالبيروكسيد و تعويض الخلايا الكبدية التالفة وبالتالي اقتراب تركيز الانزيم من الحالة الطبيعية دون الوصول للحالة الطبيعية وهذا يتفق مع ما أشارت له [18]  
نتائج و مناقشة الفحص النسيجي:  
\_مجموعة السيطرة.

أظهرت نتائج الفحص المجهرى ظهور الخلايا الكبدية Hepatocytes بشكل صفوف شعاعية منتظمة باتجاه الوريد المركزي Central vein في نسيج كبد الارانب لمجموعة حيوانات السيطرة، وهي خلايا متعددة الأشكال Polyhedral ذات نوى كروية الشكل ويمكن تمييز أكثر من نواة في بعض الخلايا الكبدية يتخللها جيوب تسمى الجيبانيات الدموية Sinusoids، كما يظهر ذلك في الشكل (1).

ان حدوث ارتفاع معنوي في تركيز انزيم ال ALT في المجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين (G3) ربما يعود هذا الى تحطم أغلب أغلفة الخلايا الكبدية و بالتالي زيادة ترسيب تركيز انزيم ALT في مصل الدم نتيجة للكرب التأكسدي الناتج عن بيروكسيد الدهون و زيادة مستوى الجذور الحرة التي نتجت عن بيروكسيد الهيدروجين و هذا يتفق مع ما أشار له [17] اما المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور (G2) فلم تظهر اي فروق معنوية دلالة على عدم تأثيره عند مستوى هذه الجرعة، المجموعة المعاملة بيروكسيد الهيدروجين لمدة اسبوعين ثم تم معاملتها بالمستخلص المائي لورد لسان الثور (G4) فقد أظهرت ارتفاع معنوي و لكن كانت منخفضة معنوياً عند المقارنة بمجموعة البيروكسيد (G3) لوحدها وهذا يشير الى امكانية المستخلص المائي على اقتناص الجذور الحرة الناتجة من

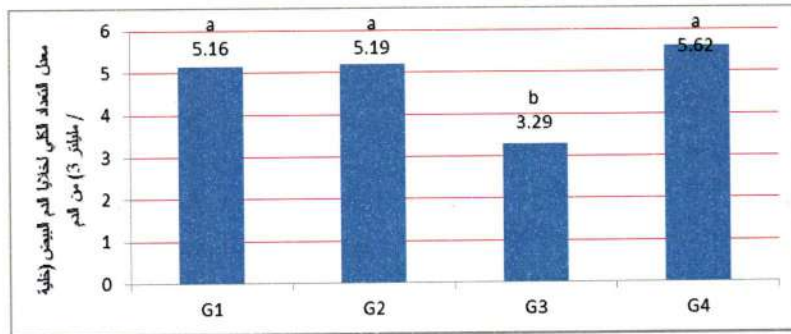
(12.9±0.573)، كما ازدادت المجموعة (G4) زيادة معنوية عن مجموعة البيروكسيد (G3) لوحدها.



شكل (1) التغيرات في معدل تركيز هيموغلوبين دم المجموعات التجريبية اذ تمثل G1 مجموعة السيطرة و G2 المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور و G3 المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين و G4 المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لمدة اسبوعين ثم تم معاملة المستخلص المائي لورد لسان الثور لمدة اسبوعين.

و التي لها أثر كبير في اقتناص الجذور الحرة الناتجة من تأثير البيروكسيد كما أشار لها [13] كما بينت نتائج هذه الدراسة عدم حصول اي فروق معنوية على مستوى معنوية ( $P \leq 0.05$ ) في المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي (G2) و التي بلغت ( $5.19 \pm 0.79$ ) عند المقارنة بمجموعة السيطرة (G1)، بينما ظهر حدوث انخفاض معنوي عند مستوى معنوية ( $P \leq 0.0$ ) في العدد الكلي لخلايا الدم البيض (WBCs) في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (G3) و التي بلغت ( $3.29 \pm 0.24$ ) عند مقارنتها بمجموعة السيطرة (G1) ، اما المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لأسبوعين ثم تم معاملة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور (G4) فلم تظهر اي فروق معنوية عند مستوى معنوية ( $P \leq 0.05$ ) و التي بلغت ( $5.62 \pm 0.23$ ) عند المقارنة بمجموعة السيطرة (G1) و التي بلغت ( $5.16 \pm 0.15$ ).

أشارت نتائج الدراسة الى حصول انخفاض معنوي في معدل هيموغلوبين الدم في المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين (G3)، و الذي يعود ربما الى توليد أصناف الاوكسجين الفعالة و التي تنتج بفعل الاجهاد التأكسدي وينتج عنها أكسدة لمجاميع الكبريت ( $SH$ ) في السلسلة الببتيدية لبروتين الهيموغلوبين و توليد أواصر ثنائية الكبريت و بالتالي أكسدة الحديدوز ( $Fe^{2+}$ ) الى الحديدك ( $Fe^{3+}$ ) وهذا ما اشار له [12]، أما نتائج المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي (G2) فلم تظهر اي فروق معنوية دلالة على عدم وجود اي تأثيرات جانبية للمستخلص عند مستوى هذه الجرعة، بينما أظهرت نتائج المجموعة الرابعة قدرة المستخلص المائي لورد لسان الثور على اصلاح الضرر الناتج عن بيروكسيد الهيدروجين، اذ يتميز المستخلص باحتوائه العديد من المواد التي تمتلك خصائص مضادة للأكسدة و الالتهابات كمرکبات الفلافونيدات التي تعد احدى نواتج الايض الثانوي



شكل (2) التغيرات في معدل العدد الكلي لخلايا الدم البيض (WBCs) للمجموعات التجريبية اذ تمثل G1 مجموعة السيطرة و G2 المجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور و G3 المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين و G4 المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لمدة اسبوعين ثم تم معاملة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور لمدة اسبوعين

بالتالي تسريع و زيادة في عمليات موت الخلايا المبرمج Apoptosis و الذي أحد اسبابه التعرض للمركبات الكيميائية و بالتالي تأثيره على الاستجابة المناعية مؤدياً الى قلة أعداد الخلايا، ان هذه النتيجة لا

ان حدوث انخفاض معنوي في العدد الكلي لخلايا الدم البيض في مجموعة البيروكسيد (G3) ربما يعود الى التأثير المباشر للإجهاد التأكسدي و تأثير الجذور الحرة على اغشية خلايا الدم البيض و

منوية لمدة 5 دقائق بعد ذلك تم استخراجها من الحاضنة وأضيف إليها (0.1) سم<sup>3</sup> من المصل ومزجت الأنبوية جيداً وتم إرجاعها إلى الحاضنة لمدة 30 دقيقة ثم بعد ذلك تم استخراجها مرة ثانية من مزج الحاضنة وأضيف إليها (0.5) سم<sup>3</sup> من المحلول الكاشف (R2) وتم مزج محتويات الأنبوية جيداً وتركت لمدة 20 دقيقة في درجة حرارة الغرفة ثم أضيف إليها 5 سم<sup>3</sup> من هيدروكسيد الصوديوم وتركت لمدة 5 دقائق ثم قرأت الامتصاصية عند طول موجي (505) نانوميتر، وبعد قياس شدة الامتصاصية في جهاز المطياف الضوئي حسب امتصاصية إنزيم ALT ومن ثم أسقطت قيم الامتصاصية للإنزيم على المنحنى القياسي ومنها حسبت فعالية الإنزيم بوحدة U/L.

#### الحصول على العينات النسيجية:

بعد انتهاء التجربة تم قتل الحيوانات بطريقة الذبح، وبعدها تم أخذ عينات من الكبد بحجم 0.5 سم<sup>3</sup>، وضعت في الفورمالين بتركيز 10% لمدة (12) ساعة، وبعد غسلها بالماء لمدة (10) دقائق، أجريت عليها سلسلة التمريرات النسيجية بالكحول، الزايلين و من ثم التشريب و الطمر بشمع البرافين وعمل القوالب الخاصة L-Shaped mold باستعمال شمع البارافين التنظيف ذي درجة انصهار 60 م°، ثم قُطعت بواسطة المقطاع الدوار بسلك 4-5 مايكرومتر، سطحت المقاطع بكحول تركيزه 30% ثم نقلت إلى حمام مائي خاص لغرض المقاطع بدرجة حرارة 45 م°، ثم حملت على الشرائح الزجاجية، لتجهيزها للتلوين، إذ تُؤنت بملونة الهيماتوكسيلين والايوسين H & E حسب [10]. وتم فحصها تحت المجهر الضوئي.

#### التحليل الاحصائي Statistical Analysis:

تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام نظام الحقيبة الاحصائية Statistical analysis package for social science (spss) لاستخراج الفروق المعنوية بين مجموعات التجربة مع التأكيد على هذه الفروقات باستخراج الخطأ القياسي Stander Error (SE) أجريت التحليلات الاحصائية بتركيز معنوية (P≤0.05) حسب [11]

#### النتائج و المناقشة

بينت نتائج هذه الدراسة عدم حصول اي تغيرات معنوية على مستوى معنوية (P≤0.05) في معدل هيموغلوبين الدم (Hb) للمجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور (G2) و التي بلغت (12.7±0.158) عند مقارنتها بمجموعة السيطرة (G1)، بينما أظهرت الدراسة حصول انخفاض معنوي على مستوى معنوية (P≤0.05) في معدل هيموغلوبين الدم لمجموعة بيروكسيد الهيدروجين H2O2 (G3) عند مقارنتها بمجموعة السيطرة (G1) و التي بلغت (10.4±0.084)، اما المجموعة المعاملة ببيروكسيد الهيدروجين لمدة اسبوعين ثم معاملة بالمستخلص المائي لورد لسان الثور (G4) فقد أظهرت حصول انخفاض معنوي على مستوى معنوية (P≤0.05) في معدل هيموغلوبين الدم و التي بلغت (12.2±0.084) عند المقارنة بمعدل هيموغلوبين مجموعة السيطرة (G1) و التي بلغت

لاستخدام المستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور في أنسجة الجسم المختلفة لذا تم تصميم الدراسة للتوصل منها الى دراسة تأثير المستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور نسيجياً وعلى بعض المتغيرات الكيموحيوية المتعلقة بوظائف الكبد في اناث الارانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي ببيروكسيد الهيدروجين.

#### المواد وطرائق العمل

#### حيوانات التجربة The Experimental Animals:

استخدمت في هذه التجربة 20 من اناث الارانب البيض البالغة بعمر (3-4) أشهر وبأوزان تراوحت بي (1020 - 1030)غم، وقد أجريت الدراسة في شهر كانون الثاني من العام الحالي، وقد اتمت تربية الحيوانات في غرفة خاصة تتوفر فيها الشروط الصحيحة لتربية الحيوانات من تغذية ودرجة حرارة وإضاءة وتهوية في مختبرات قسم التحليلات المرضية لكلية العلوم التطبيقية .

وزعت الحيوانات الى 4 مجموعات بواقع (5) حيوانات لكل مجموعة وعولت لمدة 30 يوماً وكما يأتي :

**G1** : أعطيت ماء الشرب الاعتيادي طيلة فترة التجربة وعدت مجموعة سيطرة Control.

**G2** : أعطيت ماء الشرب الحاوي على المستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور بتركيز 0.5 % طيلة فترة التجربة.

**G3** : أعطيت ماء الشرب الحاوي على 0.5% بيروكسيد الهيدروجين طيلة فترة التجربة.

**G4** : أعطيت ماء الشرب الحاوي على 0.5% بيروكسيد الهيدروجين لمدة اسبوعين ثم عولت بالمستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور لمدة اسبوعين .

#### الحصول على عينات الدم:

بعد إنتهاء المدة المحددة للتجربة (30) يوماً ،جوعت الحيوانات لمدة 12 ساعة ثم وزنت ، ثم سحبت عينات الدم من القلب مباشرة بطريقة الطعنة القلبية Cardiac puncture باستخدام محقنة طبية سعة (5) سم<sup>3</sup>، إذ تم سحب مايقارب (4-5) مل من الدم . قسم الدم على جزئين حسب نوع الفحص، إذ وضع (1) سم<sup>3</sup> من الدم في أنابيب بلاستيكية ذات أغشية محكمة حاوية على رباعي حامض الخليك ثنائي أمين الأثلين Ethylene Diamine Tetra (EDTA) Acetic Acid المانعة للتخثر لغرض إجراء فحوصات صور الدم (قياس كمية خضاب الدم (Hb)، و WBCs acount) الذي تم في نفس يوم التشريح أما الجزء الباقي فوضع في أنابيب اختبار Test tubes خالية من مانع التخثر تركت بدرجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة لحين تخثر الدم، ومن ثم أجريت لها عملية طرد مركزي بسرعة 3000 دورة في الدقيقة لمدة 15 دقيقة لغرض الحصول على مصل الدم، وحفظ المصل بالتجميد عند درجة -20 درجة مئوية لحين إجراء الفحص الكيموحيوي ويشمل قياس مستوى انزيم ناقل الأمين الأكتين (ALT)، وقد أخذت أنبوية اختبار ووضع فيها (0.5)سم<sup>3</sup> من المحلول الكاشف (R1) ثم وضعت الأنبوية في الحاضنة بدرجة 37 درجة

## دراسة نسجية لتأثير المستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور *Borago officinalis Linn* على بعض المتغيرات الكيموحيوية المتعلقة بوظائف الكبد في اناث الارانب البيض

### المعرضة للإجهاد التأكسدي

رغد حازم حمد العباسي

قسم التحليلات المرضية ، كلية العلوم التطبيقية ، جامعة سامراء ، سامراء ، العراق

#### المخلص

اجريت هذه الدراسة لمعرفة التأثير الوقائي للمستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور *Borago officinalis Linn* و اثره كمضاد اكسدة نسجي على بعض المتغيرات المتعلقة بوظائف الكبد في اناث الارانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث بيروكسيد الهيدروجين H2O2. شملت الدراسة استخدام 20 من اناث الارانب بعمر (4-5 أشهر) وزعت الى 4 مجاميع بواقع (5) ارناب لكل مجموعة وكانت المجاميع كالاتي: G1، G2، G3، G4، إذ تم قياس المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية التالية (الهيموكلوبين (Hb) ، العدد الكلي لخلايا الدم البيض (WBCs) ، قياس مستوى انزيم ناقل الأمين الألتين (ALT) ) . بعد انتهاء التجربة تم قتل الحيوانات بطريقة الذبح، واستوصل الكبد وحفظ به 10% فورمالين وبعدها حضرت منه شرائح مجهرية لإجراء الدراسة النسجية.

الكلمات المفتاحية: ورق لسان الثور ، الكبد ، ارناب بيض ، اجهاد تأكسدي

#### المقدمة

إن معظم حالات الأذى الكبدي الحاد غالباً ما تؤدي إلى ارتفاع أنزيم ALT بمستويات عالية ويكون ذلك بعد مرور 24-48 ساعة من حدوث الأذى وتبقى فعالية ALT مرتفعة في حالة الأذى الكبدي المزمن Chronic، إن التهاب الكبد المزمن عادة يشخص بوجود ارتفاع في مستوى أنزيمات السايوتولازم وخاصة أنزيم ALT [4]. وبعد الاجهاد التأكسدي السبب الشائع لإصابة الكبد المزمنة ففي هذه الحالة يلاحظ ارتفاعاً في فعالية أنزيم ALT ، ينتج عن الاجهاد التأكسدي للجذور الحرة والتي يمكن تعريفها على انها عبارة عن وحدات كيميائية فعالة جداً تمتلك واحداً من الالكترونات غير المزدوجة في الغلاف الخارجي، ويمكنها ان تتفاعل مع الجزيئات الحيوية مسببة تحطيم الانسجة المحتوية عليها [5].

هناك العديد من النباتات التي استخدمت في علاج الإجهاد التأكسدي الناتج من تكون الجذور الحرة داخل الجسم وما ينجم عنه من أمراض أخرى فقد تم استخدام زيت الحبة السوداء في علاج الإجهاد التأكسدي في الجهاز التناسلي للفئران البيض [6-7] ، كما استخدمت مستخلصات الثوم كمضادات أكسدة في الأرناب المعرضة للإجهاد التأكسدي المستحدث [8]. لقد أصبح استعمال النباتات الطبية أكثر ميلاً مما يعطي نتائج أفضل من المواد الكيماوية المصنعة ويقلل من التعرض للتأثيرات الجانبية ومن هذه النباتات نبات ورد لسان الثور *Borago officinalis Linn* وهو نبات شرقي الأصل ومن الأعشاب التي تستخدم كتوابل، مذاقه يشبه مذاق الخيار مع الامتزاج بشيء من مذاق نبات الكراوية وتؤكل أوراق النبات كخضروات مثل نبات السبانخ Spinach لدى بعض الشعوب [9].

نظراً للاستخدام الشعبي الواسع للنباتات الطبية ولندرة الدراسات التي تشير الى وجود علاقة أو تأثير علاجي مباشر أو غير مباشر

تعد امراض الكبد المزمنة واحدة من اهم الامراض التي تؤدي الى الموت في العالم، ويعد التهاب الكبد الفايروسي اكثر الاسباب شيوعاً لأمراض الكبد المزمنة، فضلاً عن ان الاختلالات التي تحدث في التوازن الدقيق ما بين المؤكسدات oxidants ومضادات الاكسدة antioxidants تؤدي الى الاجهاد التأكسدي oxidative stress والمتمثلة بزيادة انتاج بيروكسيد الدهون وتغيرات في تركيب ووظائف المكونات الخلوية المهمة مثل البروتينات وال DNA وهي من أخطر الأمراض المسببة للوفاة في العالم [1]

يعد الكبد من اكبر الغدد الموجودة في الجسم، وهو من الأعضاء الحيوية التي لها وظائف اساسية خلال الحياة الجنينية وبعد الولادة، يتكون الكبد من خلايا ايضية معقدة تحتوي على مستويات عالية من عدد من الأنزيمات المهمة للقيام بالتفاعلات الايضية، وفي حالة حدوث أذى في غشاء الخلية او عضياتها فان هذه الأنزيمات تتسرب الى الفسح خارج الخلايا ثم تتحرر الى الدم وتحدث هذه العملية بسرعة كبيرة حيث تزداد فعالية الإنزيمات في الدم ويمكن قياس هذه الفعالية بحدود ساعات من حدوث الأذى، اذ من الممكن اعتماد هذه الزيادة في تشخيص ومراقبة الخلل التركيبي والوظيفي للكبد وان معرفة التمركز الخلوي للأنزيمات يفسر معرفة الأنواع المختلفة من الحالات المرضية [2]

يحتوي سايتوتولازم الخلايا الكبدية على انزيمات ناقل امين الاسبارتيت AST و ناقل امين الألتين ALT واللاكتيت ديهيدروجينيز LDH، يتوزع إنزيم ال ALT في عدة أنسجة غير انه يتواجد بتركيز عالية في الكبد ويعد الإنزيم الأكثر تخصصاً ويستخدم قياس مستواه بصورة رئيسة في حالات أمراض الكبد [3].

**Study the effect of two fungal filtrates( *Fusarium solani* and *Penicillium chrysogenium*) on growth of several bacterial species isolated from multiple infections in Samarra city**

Rasha Abdul Atheem yaseen<sup>1</sup> , Amidah Ali Atiyah<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Biology Department , College of Education , Samarra University , Samarra , Iraq

<sup>2</sup> Department of pathological analyzes , College of Applied sciences , Samarra University , Samarra , Iraq

**Abstract:**

the study effects of three concentrations of leaky fungus *Fusarium solani* and *Penicillium chrysogenium* which (50%, 75%, 100%) on the growth of five types of bacteria isolated from different infections at the city of Samarra, (*Acinetobacter*, *Escherichiacoli*, *Klebsiella*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermids*) by a way (Agar well diffusion). The results showed inhibitory effect of filtrates two fungi and above all the concentration on bacterial species used except *Staphylococcus epidermidis*, while bacteria *Acinetobacter* was the most sensitive species to leaky two fungi *Fusarium solani* and *Penicillium chrysogenium* at concentration of 100%.

*Pseudomonas aeruginosa* ووجد [8] بان سم Citrinin المعزول من الفطر *Pencillium chrysogenum* له تأثير مضاد ضد البكتريا *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Shigella flexneri* ، *Vibrio cholera* . اما مقاومة البكتريا *Staphylococcus epidermids* للروائح الفطرية فيعود الى انتاجها عدد من السموم أهمها *Staphylococcal Lipases* ، *Haemolysin* ، *Exfoliative toxin* ، *enterotoxin* و *Hayluronidase* [2] بالإضافة إلى إنتاج هذه البكتريا لانزيمات البيبتاكتاميز التي تعتبر أكثر مقاومة للمضادات الحيوية وقد تحمل الجينات المشفرة لها كروموسوميا على البلازميدات [8].

the extracellular synthesis of silver nanoparticles. J. Nanopart 11:2079-2085.  
12-Kamba, A.S and Hassan, L.G (2010) Phytochemical screening and antimicrobial activities of *Euphorbiabalasamifereleaves*, stems and roots against pathogenic microoganisms .sci and pharmacology 15:57-  
13-Lopes, F.C., Tichota ,D.M., Sauter, I.p and Stela. M.M (2012) Active metabolites produced by *penicilliumchrysogenum* IFL1 growing on agro-industrial residues. Ann Microbiol. DOI110-1007.  
14- Monaci, L., Aresta, A., Palmisano, F., Visconti, A. and Zamboni, G. (2002). Amino bonded silica as stationary phase for liquid chromatographic determination of cyclopiazonic acid infungal extracts. J. Chromatogr A955:79-86.  
15-Osman, M.(2004).Factors affecting the antifungal properties of *Brevibacteriumlinens*. Internatyonal Dairy. J. 14(8).  
16- Olurinola, P.F. A.(1996). A laboratory manual of pharmaceutical microbiology, Idu, Abuja, Nigeria;69-105.  
17-Petit, P., Lucas, E.M., Abreu, L.M and Pfenning, L.H. (2009). Novel antimicrobial secondary metabolites from a *penicillium sp* isolated from do soil .Electron JBiotechnol 4:1-9.  
18-Pimenta, E. F., Vita-Marques, A. M and Tininis , A .(2010) Use of experimental design for the optimization of the production of new secondary metabolites by two penicilliumspecies. J .Nat prod 73: 821-1832.  
19-Shihabudeen, M.S., Priscilla, H.B. and Thirumurugan, B.K.(2010). Antimicrobial activity and phytochemical analysis of selected Indian folk medicinal plants. International J Pharmaceutical Sciences and Research 10: 430-434.  
20- Sppadden, G and Pal, K.K.(2006) Biological control of pathogens, Ohio state University.  
21-Watanabe,T. (2002). Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphological of cultured fungi and key to species. 2. ISBN 0-8493-1118-7

راشح الفطر *Fusariumsolani* .كما وجد{12} بان مركبات التانينات والفينولات لها دور في تثبيط انزيمات الجراثيم مثل Protease، في حين بين {19} إن التانينات تثبطت نمو *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* والتي تؤثر بدورها على ربط بروتينات جدران الخلايا البكتيرية .

في حين يمكن ان ترجع الفعالية المضادة لراشح الفطر *Pencillium chrysogenum* إلى إنتاجه للمواد الايضية الثانوية مثل Pencillins وهذا يتفق مع ما وجدته [13] في ان راسح الفطر *Pencillium chrysogenum* تثبط نمو البكتريا *Bacillus cereus* ، *Staphylococcus aureus*

#### المصادر

1- الريادي ، صبا عبد الأمير كاظم (2011) . دراسة إمكانية بعض المستخلصات النباتية وروائح الفطريات المضادة في السيطرة على الفطريات المرافقة لبذور بعض المحاصيل الحقلية المحلية. رسالة ماجستير، جامعة القادسية، العراق .  
2- المرجاني ، محمد فرج ،عبد الهادي ، علي حيدر؛ سلمان، جيهان عبد الستار(2012). السموم البكتيرية. دارالكتب والوثائق:544.  
3-Alfred, E.B. (2005). Bensons Microbiological applications in laboratory manual in general microbiology. 9<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill Companies.  
4-Autonissen, G., Martel, A., Pasmans, F. and Ducatell, R. (2014) Toxin (Basel) 6 (2):430-52.  
5-Collee,J.G., Fraser, A.G., Marmion, B.P. and Simons, A.(1996).Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology14th ed., Longman Singapore Publishers Ltd.,Singapore.  
6-Costa, E., Kumrae ,E .and Nakatani, A.K (2005) Characterzcuocitofoga cultural molecular pathogenic *R.solaniphytopathology*.33:129-136.  
7- Cruickshank, R., Duguid, J. P., Mermion, B.P., and Swain RH.A(1975). Medical Microbiology. Vol. 2, (12<sup>th</sup> ed.), ChurchillLivingstone (Publ.) Edinburgh, London, NewYork.  
8-Devi, P., Souza, L., Kamat, T., Rodrigus, C and Naik, C.(2007) Batch culture fermentation of *penicillium chrysogenum* and areport on the isolation ,purification, indentification and antibiotic activity of citrinin .Indian Journal Marine Sciences.Vol.38 (1).  
9-Hateet ,R.R., Muhsin ,T.M and Humadi ,K.J.(2014) Antibacterial activities secondary metabolites from endophytic fungus *Fusarium solani* .Journal of Basrah Reserches (Sciences).Vol.40.No.1.  
10- Hostachal, A., Karelova, E. and peuther, J. (1997): outer membrane protein profiles of *Pseudomonas aeruginosa* after the post antibiotics effect of imipenem microbios, 90: 45 -50.  
11-Ingle, A., Rai, M., Gade, A. and Bawaskar, M. (2009) *Fusarium solani* anovel biological agent for

جدول (1) معدل اقطار منطقة التثبيط بعد 24 ساعة

العزلات البكتيرية					التركيز %	الروائح الفطرية
<i>Staphylococcus epidermids</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>		
0d	27±1.00c	b12±1.00	27±1.00b	b24±1.00	50	<i>Fusarium solani</i>
0d	30±1.00b	a15±1.00	27±1.00b	a28±2.08	75	
0 d	32±1.00a	a15±1.00	29±0.57a	a30±1.00	100	
0d	29±0.57a	b12±1.00	30±1.00a	c19±1.00	50	<i>Pencillium chrysogenu</i>
0d	26±1.52b	a14±1.00	26±1.00b	b20±0.57	75	
0d	31±1.00a	a14±1.00	30±0.57a	a25±1.00	100	

a : تمثل أعلى قيمة ، b:القيمة الوسطى ، c: اقل قيمة



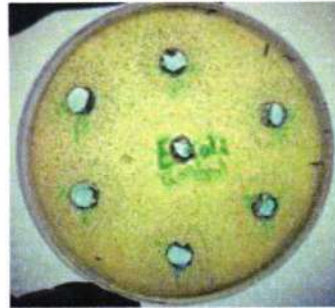
شكل (3)



شكل (2)



شكل (1)



شكل (5)



شكل (4)

القولونية في الأمعاء من خلال تحفيزها على تكوين المستعمرات في تلك الأماكن وكذلك انتقالها لإحداث إصابات جهازية وبنفس الوقت تؤثر بشكل سلبي على الاستجابة المناعية. من خلال اختزال العمل التنظيمي المسؤول عن تكوين معقدات التوافق النسيجي الصنف الثاني والتي تتألف من عناقيد مكونة من IL12p40 و (CD)80/6 هذا التغيير بالوظيفة يؤثر على الاشريكية القولونية من خلال تحفيزها على التكيف لاستجابتها للأجسام المناعية بالإضافة الى انه يؤخر تنظيم عمل *Escherichia coli* ، كما و يتفق مع [9] في ان راسح الفطر *Fusarium solani* المعزول من النابت الداخلي من داخل جذور نبات الطماطم له فعالية ضد *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* حيث بلغت أقطار منطقة التثبيط 28 و 45 ملم على التوالي وقد أشار الى وجود التانينات و الفينولات في

توضح الاشكال (3،2،1) تأثير راسح الفطرين *Fusarium solani* و *Pencillium chrysogenum* في تثبيط النمو (1) و *Acinetobacter aureus* (2) *Staphylococcus aureus* (3) شكل *Staphylococcus epidermids* (4) شكل *Klebsiella* (5) *Escherichia.Coli* . وقد ترجع الفعالية ضد مايكروبية لراسح الفطر *Fusarium solani* الى احتوائه على مركبات الفينولات والتي تتميز باحتوائها على مجموعة الكربونيل (C=O) ومجموعة أو أكثر من مجاميع الهيدروكسيل إذ تعمل على ترسيب بروتينات الجدار الخلوي وتحليله ، أو ربما تعود لإنتاجه للعديد من المواد الايضية الثانوية مثل Fumonic acid و Fusaric acid {11}، وهذا يتفق مع [4] في ان الفطر *Fusarium solani* له تأثير سلبي على تواجد الاشريكية

بعدها بجهاز الخلاط وحضنت الأنايب لمدة نصف ساعة . وبعد اخراج الوسط الزرعي من المؤسدة وبدرجة حرارة 60 م تم إضافة المعلق البكتيري الى الوسط ومزج برفق ومن ثم صب في اطباق بتري. بعد تصلب الأطباق تم عمل حفر بقطر 5ملم باستخدام ثاقب فليني معقم واضيف 75مايكروليتر من كل تركيز من تراكيز الرواشح الفطرية وثلاث مكررات باستعمال Micropipette وبالوقت نفسه تم عمل اطباق سيطرة وذلك بوضع 75مايكروليتر من الماء المقطر المعقم في الحفرة كعينة سيطرة سالبة حضنت الاطباق بدرجة حرارة (37)م° لمدة 18-24 ساعة وقيس قطر منطقة التثبيط {16}.

#### النتائج والمناقشة

تشير النتائج الموضحة في جدول (1) وفي الاشكال (1,2,3,4,5) ان هناك تأثير معنوي واضح لراشح الفطرين *Fusarium solani* و *Pencillium chrysogenum* في تثبيط نمو الأنواع البكتيرية حيث كان راشح الفطر *Fusarium solani* أكثر تثبيطاً من راشح الفطر *Pencillium chrysogenum*. كما أظهرت النتائج ان هناك تأثيراً معنوياً للتراكيز المختلفة المستخدمة في التجربة لكل من الراشحين في تثبيط نمو جميع الأنواع البكتيرية ماعداً *Staphylococcus epidermids* ، إذ كان هناك تأثير معنوي لراشح الفطر *Fusarium solani* عند التركيز 50% في تثبيط الأنواع البكتيرية إذ بلغ أعلى معدل للتثبيط لبكتريا *Staphylococcus aureus* هو  $1.00 \pm 27$ . في حين كان للتركيز 75% لنفس الراشح تأثير معنوي إذ بلغ أعلى معدل للتثبيط عند البكتريا *Acinetobacter* ويليه *Escherichiacoli* وبمعدل  $1.00 \pm 30$  و  $2.08 \pm 28$  ملم وعلى التوالي. أما التركيز 100% ونفس الفطر فكان له تأثير معنوي على النوعين *Acinetobacter* و *Escherichia coli* إذ بلغت نسبة تثبيطهما  $1.00 \pm 32$  و  $1.00 \pm 30$  ملم وعلى التوالي . اما بالنسبة لراشح الفطر *Pencillium chrysogenum* عند التركيز 50% فقد اظهر فروقا معنوية في التثبيط إذ كان اعلى معدل له مع البكتريا *Staphylococcus aureus* حيث بلغت  $1.00 \pm 30$  ملم ، بينما كان للتركيز 75% لنفس الراشح تأثير معنوي إذ سجلت بكتريا *Acinetobacter* أعلى حساسية وبنسبة بلغت  $1.52 \pm 26$  ملم . اما التركيز 100% فقد حقق أعلى معدل للتثبيط مع النوعين *Acinetobacter* و *Staphylococcus aureus* وكانت نسب تثبيطهما  $1.00 \pm 31$  و  $0.57 \pm 30$  ملم وعلى التوالي .

- اختبار الكاتاليز Catlase test
- اختبار ازرق المثلين والايوسين Eosin –Methylen blue test
- اختبار الاندول Indol test
- اختبار المثيل الأحمر Methyl Red test
- اختبار فوكس بروسكرو Voges-proskauer
- اختبار استهلاك السترات Citrat utilization test
- اختبار إنتاج أنزيم اليوريز Urease production test
- اختبار انتاج الهيموليسين Haemolysin production test

#### عزل وتشخيص الفطر

تم الحصول على الفطرين *Fusarium solani* و *Pencillium chrysoginum* من تربة نبات فول الصويا وذلك بطريقة التخفيف وبعدها تم تحضير الرواشح الفطرية بتحضير وسط زرعي Potato.Dextrose.Broth والمتكون من 200غم من درنات البطاطا مقشرة ومقطعة الى قطع صغيرة بعد غليها بالماء المقطر المعقم وبحجم 500مل لمدة 20-30 دقيقة ثم ترشح بقطعة من الشاش للحصول على راشح ثم أكمل الحجم إلى 1000مل (التر) اضيف اليها 20غم من السكر ثم وزع الوسط في دوارق زجاجية بحجم 250مل واغلقت فوهاتها بسدادات من القطن ثم عقرت بجهاز المؤسدة بدرجة حرارة 121م لمدة 15 دقيقة وضغط 1جو. وبعد انتهاء مدة التعقيم تركت الدوارق لتبرد واضيف اليها المضاد الحيوي الكلورامفينيكول بمقدار 250ملغم/ لتر {21}.

#### الرواشح الفطرية

لقح كل دورق زجاجي بثلاثة اقراص من الفطريات المعزولة على وسط Potato Dextrose Agar ويعمر 5-7 ايام ،حضنت الدوارق في الحاضنة تحت درجة حرارة  $25 \pm 2$ م ولمدة 28يوم مع رج الدوارق كل 3ايام بعد انتهاء فترة التحضين تم ترشيح مزارع الفطريات باستخدام ورق ترشيح ومن ثم Millipore filter بقطر 0.22 ملي مايكرون. وتحت ظروف معقمة وكلاعلى حده بعدها حضرت التراكيز لكل من الراشحين وهي 100% , 75 , 50 {1}.

#### اختبار الفعالية المضادة للرواشح الفطرية ضد الأنواع البكتيرية

تم اختبار الفعالية المضادة للرواشح الفطرية بطريقة الانتشار في الطبق ( Agar well (diffusion) إذ تم تحضير الوسط الزرعي Nutrient Agar حسب تعليمات الشركة المنتجة. نشط المعلق البكتيري وذلك بأخذ مسحة من مزرعة بكتيرية حديثة النمو ووضعه في أنبوب حاوي على 5 مل من الوسط المغذي Nutrient Broth مزج

## دراسة تأثير راشحي الفطرين *Penicillium chrysogenum* و *Fusarium solani* في نمو أنواع

### بكتيرية معزولة من اخماج مختلفة في مدينة سامراء

رشا عبد العظيم ياسين<sup>1</sup> ، عميدة علي عطية<sup>2</sup>

<sup>1</sup> قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة سامراء ، سامراء ، العراق

<sup>2</sup> قسم التحليلات المرضية ، كلية العلوم التطبيقية ، جامعة سامراء ، سامراء ، العراق

#### الملخص

تم دراسة تأثير ثلاثة تراكيز مختلفة من راشحي الفطرين *Penicillium chrysogenum* و *Fusarium solani* (50%، 75%، 100%) على نمو خمسة أنواع من البكتيريا المعزولة من اخماج مختلفة من مرضى في مدينة سامراء وهي (الراكده ، بكتريا القولون ، كلبسيلا ، المكورات العنقودية الذهبية ، المكورات العنقودية الجلدية) بطريقة (النشر في الأطباق) وأظهرت النتائج التأثير المثبط لرواشح الفطرين المستخدمة في الدراسة وبجميع التراكيز على الأنواع البكتيرية المستخدمة ما عدا *Staphylococcus epidermidis*، بينما كانت بكتريا *Acinetobacter* أكثر الأنواع المدروسة حساسية لرواشح الفطرين *Penicillium chrysogenum* و *Fusarium solani* عند التركيز 100%.

#### المقدمة

نمو خمسة انواع من البكتريا المعزولة من اخماج مختلفة من مرضى في مدينة سامراء.

#### طريقة العمل

##### جمع العينات البكتيرية:

جمعت عينات الدراسة من الحالات المرضية الاتية (الاسهال ، الادرار ، التهابات القناة التنفسية والاصابات الجلدية ) ثم نقلت العينات بواسطة مسحات قطنية معلقة في الوسط الناقل transport media .

##### العزل الجرثومي:

تم زرع العينات على الاوساط الزرعية الاتية:

تم تحضير الأوساط الزرعية الآتية حسب تعليمات الشركة المصنعة وبالاعتماد على (Alfred,2005) في إضافة بعض المواد إلى الأوساط الزرعية المستخدمة

1- وسط اكار الماكونكي MacConkey Agar Medium

2- وسط اكار الدم Blood Agar Medium

3- وسط ازرق الميثيلين Eosin-Methylen Blue

4- وسط ملح المانيتول Manitol salt Agar

##### تشخيص العزلات البكتيرية:

1- الصفات المزرعية: شخصت العزلات البكتيرية أوليا بملاحظة الشكل المظهري للمستعمرات من حيث حجم المستعمرة وقطرها وارتفاعها ولونها.

2- الفحص المجهرى: استخدمت الطرق المتبعة من قبل [7] حيث حضرت مسحات رقيقة من المستعمرات لملاحظة قابليتها للاصطباغ بصيغة كرام.

3- الاختبارات الكيموحيوية: أجريت الاختبارات التالية اعتمادا على [5] وشملت

• اختبار أنزيم الاوكسيديز Oxidase test

• اختبار تخمر اللاكتوز Lactose fermentation

تعد الرواشح الفطرية أو المنتجات الخارج خلوية لعدة أنواع من الفطريات منها (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Pencillium*), (*Micromycetes*) ذات فعالية حيوية ضد البكتريا والفطريات [17]، تختلف المواد الايضية للفطريات المفترزة في مكوناتها وتأثيراتها، وتشمل أحماض امينية ، و ببتيدات متعددة وفينولات وتربينات وغيرها [15]. ونظرا لإنتاج الفطريات لمثل تلك المواد ذات الفعالية المضادة للجراثيم ونجاح هذه الكائنات في استعمالها في السيطرة الحيوية تم استخدامها كمضادات جرثومية [18] ، حيث تعد صفة المقاومة المتعددة للعزلات البكتيرية ولأكثر من مضاد حيوي من المشاكل الكبيرة والخطيرة من الناحية الطبية كما إن عمل المقاومة الحيوية يكون أكثر كفاءة في إنتاج الأنزيمات والسموم أو النواتج الايضية الأخرى التي تثبط نمو بعض الأنواع البكتيرية [20].

ينتمي فطر *Penicillium chrysogenum* إلى صنف الفطريات الكيسية Ascomycota والذي يتميز بإنتاجه للعديد من المواد الايضية مثل، *Pencillins*, *Vrugulosin*, *Formyl-xanthocilin*, *Patulin* والسموم [14]. وتشير دراسة Monaci وجماعته (2002) إلى استعمال الفطر *Penicillium chrysogenum* في تثبيط عدة أنواع من البكتريا منها *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* كما وتثبط البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* السالبة لصبغة غرام. أما الفطر *Fusarium solani* فينتهي إلى صنف الفطريات الناقصة Deuteromycota ويتميز بقدرته على افراز العديد من السموم الفطرية منها *Javanicin* , *Fusarbin* , *Polypeptide* , *protenoneons* والتي تؤدي دورا هاما في أمراضية الفطر [10]. لذا كان الهدف من الدراسة الحالية تقييم فعالية راشح الفطرين *Penicillium chrysogenum* و *Fusarium solani* في اختزال

- 18-Stubbs, E., Pegler, M., Vickery, A., Harbour, C.,(1994). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in Australian (pre-clinical and clinical) medical students. *J Hosp Infect.* 27:127-34.
- 19-Dziekian, G., Hahn, A., Thune, k., Schwarzer, G., Schafer, k., Daschaner F.D. and Grundmann, H. (2000). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a teaching hospital : investigation of nosocomial transmission using a matched case-control study . *J. Hops. Infect .Dec:* 46 (4): 263-70 .
- 20-Mazura, F. (1990). Determination of beta-lactamase production in strains of *Staphylococcus aureus* from the milk of cows. *Vet Med (Praha).* 35: 267-74.
- 21-Sindhu, C.P., Shanmugam, J. (1998). Beta-lactamase production by *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci: detection by different iodometric and acidometric techniques. *Biomedicine.* 18:74-80.
- 22-Patrick, E. A., Shivnarine, K., William, H.S. and Michele, M.(2006). Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Trinidad and Tobago. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 5:16.
- 23-Islam, M. A., Alam, M.M., Choudhury, M.E., Kobayashi, N. and Ahmed, M.U., (2008). Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of Cloxacillin for selected isolates of *Staphylococcus aureus* with their antibiogram. *Bangl J Vet Med.* 6 (1):121-126.

## Detection of isolated *Staphylococcus aureus* producers of B-lactamase from in and out patient in General Samarra Hospital

Asmaa Easa Mahmood , Dawood Salman Dawood

Department of pathological analysis , College of Applied Sciences , University of Samarra , Samarra , Iraq

### Abstract

The study have been done to detection  $\beta$ -lactamase which produce from *Staphylococcus aureus* from emergency unit and out patient in General Samarra Hospital. This study included the isolation and identification of *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) from patient were under treatment in the emergency unit, and out patients which were isolated from different infection site with different age and from both sexes. Eighty samples were collected from in and out patients from Samarra General Hospital, (30) from in patients and (50) from out patients. The result showed that (57) isolates were belong to the genus (*Staphylococcus aureus*) by a ratio of (71.3%) , (23) of them were from in patients and (34) from out patients. the bacterial identification was based on culture media, gram stain and biochemical test.  $\beta$ -lactamase enzyme activity of *Staph. aureus* was determined by the iodometric and acidometric methods. The production of  $\beta$  -lactamase from each of in and out patients were (91.3%), (73.5%) respectively. The antimicrobial susceptibility testing by Kirby-Bauer's method showed all isolates produced  $\beta$ -lactamase were resistant to antibiotics.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*,  $\beta$ -lactamase, iodometric method, acidometric method

يوضح الجدول رقم (6) اعداد ونسب العزلات المقاومة للمضادات الحيوية إذ أظهرت العزلات مقاومة 100% للمضاد الحيوي البنسلين والامبيسيلين ومضادات أخرى من السيفالوسبورينات وهذا يتفق مع ما توصل اليه كل من [22,23].

جدول رقم (5) مقارنة طرق الكشف عن انزيمات البيتا لكتاميز

طرق الاختبار	β-lactamase +	β-lactamase -
الحامض	35 (61.4%)	22 (38.6%)
اليود	44 (77.2%)	13 (22.8%)
الحامض + اليود	46 (80.7%)	11 (19.3%)

جدول رقم (6) اعداد ونسبة مقاومة العزلات الجرثومية للمضادات الحيوية

المضادات	P	CIP	CN	AM	TMP*	RA	AK	CRO	CAZ	IPM	ME
العينات العنات	23	2	3	23	8	0	2	23	23	0	23
الرائقين	23 (100%)	2 (8%)	3 (13%)	23 (10%)	8 (34.8%)	0	2 (8.7%)	23 (100%)	23 (100%)	0	23 (100%)
الوافدين	32 (94%)	0	0	34 (100%)	12 (35.3%)	0	0	34 (100%)	34 (100%)	0	34 (100%)

P : Penicillin G CIP: ciprofloxacin, CN: Gentamicin, AK: Amikacin, TMP: Trimethoprim, RA: Refampin, AK: Amikacin, CRO: Cephoperazone CAZ: Ceftazidime, IMP: Imipenem, ME: Methicillin

#### المصادر

- 1-Bilal, N. E. and Gedebou, M. (2000). *Staphylococcus aureus* as a paradigm of a persistent problem of bacterial multiple antibiotic resistance in Abha Saudi Arabia. Eastern Mediterranean Health J. 6:35-37.
- 2-Higaki, S. Morohash: M. Yamagishi, T. and Hasegawa, T. (1999). Comparative study of *staphylococci* from the skin of atopic dermatitis patients and from healthy subjects. Int-J. Dermatol. Apr, 38 (40):265-9.
- 3-Aries-de-sousa, M. de-Lencastre, H. Santos, S. I. Kikuchi, K. Totsuka, K. and Tomasz, A. (2000). Similarity of antibiotic resistance patterns and molecular typing properties of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated widely spread in hospitals in New York City and a hospital in Tokyo, Japan. Microb-Drug-Resist; 6: 253-258.
- 4- Ali, A.M, Rafi, S., Qureshi, A.H. (2004). Frequency of extended spectrum beta lactamase producing Gram negative bacilli among clinical isolates at clinical laboratories of Army Medical College, Rawalpindi. J Ayub Med Coll Abbottabad. 16:357-417.
- 5-Ekrem, K. Meltem, Y.C.(2006). Comparison of Staphylococcal Beta-lactamase detection methods. J Pharm Sci. 31:79-84.
- 6-Hall-stoodley, L. Costerton, J.W. and Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilm: From the natural environment to infectious diseases. Nat. Rev. Microbiol. 2:pp.95-108.
- 7-Livermore, D.M. (1995). β-lactamases In Laboratory and Clinical Resistance. Clin. Microbiol. Review. Vol.8, No.(4): 560.
- 8- Todar, K. (2002). *Staphylococcus*. J. Med. Microbiol, 1-9.
- 9-World Health Organization. (1978). Technique for the detection of β-lactamase production strainof enterobacteriaceae.p 52-77
- 10-Akindele, A.A, Adewuyi, I.K, Adefioye, O.A, Adedokun, S.A, Olaolu, A.O.(2010). Antibioqram and Beta-lactamase production of *Staphylococcus aureus* isolates from different human clinical specimens in a tertiary hospital institution in Ile-ife, Nigeria. American-Eurasian Journal of Scientific Research. 5 (4):230-3.
- 11-Doowell,E. B. and James, J. F. (2001). Speciation of Coagulase Negative *staphylococci*, Contagious comments Department of Epidemiology. The children's Hospital Association. 15:102-104.
- 12-Amyes, S.G.B. (2000). The rise bacterial resistance. BMJ, 320 :199-200.
- 13- العبيدي, رغد عبد اللطيف عبد الرزاق. (2006). دراسة بعض عوامل الضراوة للبكتريا المعزولة من ردهات الأطفال الخدج ومقاومتها لمضادات الحياة والمطهرات. رسالة ماجستير, كلية العلوم, الجامعة المستنصرية.
- 14-Inabo, H. I., and Obani, H. B., (2006). Antimicrobial susceptibility of urinary tract clinical isolates to commonly used antibiotic. African J Biotechnology, (5): 487- 489.
- 15- العبيدي, شيما منشد مرشد (2011). دراسة فعالية بعض المستخلصات النباتية على انواع جرثومية ممرضة معزولة من مرضى في مستشفى تكريت التعليمي. رسالة ماجستير, كلية التربية, جامعة تكريت.
- 16-Devapriya, F., Ramesh, R., Sajit Khan, A.K., Shanmugam, J.,(2013) β-lactamase production of *Staphylococcus aureus*: a comparison study of different iodometric methods. Gulf Medical Journal. 2(1):16-21.
- 17-Shakya, B., Shrestha, S., Mitra, T., (2010). Nasal carriage rate of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among at National Medical College Teaching Hospital, Birgunj, Nepal. Nepal Med Coll J. 12:26-9.

جدول رقم (2) مقارنة بين عدد الاصابات لدى المرضى الراقدين والوافدين

ونسبتها بين الجنسين

مجاميع الدراسة	عدد الذكور	عدد الاناث	مجموع المكورات الذهبية العنقودية
المرضى الراقدين	13 (56.5%)	10 (43.5%)	23 (40.4%)
المرضى الوافدين	12 (32.3%)	22 (64.7%)	34 (59.6%)
المجموع	25 (43.8%)	32 (56.2%)	57 (100%)

وتظهر النتائج في جدول (3) ان اعلى نسبة عزل لجرثومة المكورات العنقودية الذهبية كانت من التهابات المسالك البولية لدى النساء الراقدا في المستشفى وبنسبة (61.5%) واعلى نسبة عزل من الاخماج الجلدية من الذكور الراقدين بنسبة (70%). ومن ملاحظة الجدول يتبين ان الفروقات بين الذكور والإناث من حيث الاصابة

بالاخماج الجلدية متقاربة السبب في تقارب النسب ربما يعود الى تقارب اعداد الوافدين من كلا الجنسين الى المستشفى، كما ان كلا الجنسين عرضة للإصابة بالأخماج الجلدية وبشكل متقارب لعدم وجود سبب تشريحي او وظيفي يرجح اصابة جنس معين اكثر من الاخر. هذه النتيجة جاءت مقارنة لما توصلت اليه [13] فيما يخص اخماج الجروح والتي سجلت نسبة متقاربة بين الذكور والإناث. إلا أنه ظهرت فروقات معنوية بين الذكور والإناث فيما يخص اخماج السبيل البولي (UTI)، إذ كانت نسبة إصابة الإناث (60.92%) مقارنة مع نسبة إصابة الذكور والتي بلغت (39.08%) ويعزى سبب ارتفاع الإصابة عند الإناث الى الاختلافات التشريحية بين الجنسين مثل قصر طول الاحليل عند الإناث وقربه من المخرج [14] جاءت نتائج هذه الدراسة مقارنة لما توصلت اليه [15]، والتي سجلت نسبة عزل للإناث بلغت (61.5%).

جدول رقم (3) اعداد الجراثيم المعزولة من اخماج المسالك البولية واخماج جلدية ونسبتها بين الجنسين

مجاميع الدراسة	الجنس	عدد عينات الادراج	عدد العينات الجلدية	العدد الكلي
الراقدين	ذكور	5 (38.5%)	7 (70%)	12 (52.2%)
	اناث	8 (61.5%)	3 (30%)	11 (47.8%)
	المجموع	13 (100%)	10 (100%)	23 (100%)
الوافدين	ذكور	4 (21%)	9 (60%)	13 (38.2%)
	اناث	15 (79%)	6 (40%)	21 (61.8%)
	المجموع	19 (100%)	15 (100%)	34 (100%)

عديدة عن نقشي اصابات خطيرة من جراء عزلات مقاومة للعديد من مضادات المكورات العنقودية *Anti staphylococcal antibiotics* الشائعة الاستخدام وبخاصة مجموعة البنسيلينات النصف مصنعة المقاومة للبيتا لاكتاميز [19].

جدول رقم (4) مقارنة العزلات المنتجة لإنزيمات البيتا لاكتاميز لدى المرضى الراقدين والوافدين للمستشفى

مجاميع الدراسة	العدد	β-lactamase +	β-lactamase -
الراقدين	23	21 (91.3%)	2 (8.7%)
الوافدين	34	25 (73.5%)	9 (26.5%)
المجموع	57	46 (80.7%)	11 (19.3%)

كما تبين النتائج في جدول رقم (5) ان افضل طريقة للكشف عن هذه الانزيمات كانت بطريقة اليود القياسية اذ أعطت (44) عزلة من مجموع (46) نتيجة موجبة باستخدام طريقة اليود تليها طريقة الحامض القياسية إذ يبين الجدول ان حساسية طريقة الحامض القياسية كانت (61.4%) بينما وطريقة اليود (77.2%). تبينت من هذه النتائج ان استخدم طريقة اليود هي اكثر حساسية وسرعة بالإضافة الى كونها اسهل في التحري عن انزيمات البيتا لاكتاميز [20]. ان طريقة الحامض القياسية تقوم على أساس تغير الـ pH من خلال تكون حامض البنسيلونك اسد *Penicilloic acid*. اما طريقة اليود القياسية تعتمد على تفاعل اليود مع *Penicilloic acid* بدلا عن البنسلين مما يؤدي الى تلاشي لون المعقد الارجواني الناتج من اتحاد النشا مع اليود [21].

كما تظهر النتائج في الجدول رقم (4) ان (80.7%) من عزلات جراثيم المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من اخماج مختلفة كانت منتجة لإنزيمات البيتا لاكتاميز وكانت اعلى نسبة منتجة لهذه الانزيمات (91.3%) من المرضى الراقدين في المستشفى اما الوافدين فكانت نسبة الجراثيم المنتجة لهذه الانزيمات (73.5%). وهذه النتيجة اتفقت مع الدراسة التي توصل اليها [16]، ان وجود المكورات العنقودية الذهبية كنبيت طبيعي لدى الأشخاص الاصحاء العاملين في المجال الصحي يمكن ان تتطور لديها المقاومة ضد المضادات الحيوية ويمكن ان يصبحوا حاملين لهذه الجراثيم المقاومة مما يقود الى نقشي الإصابات المكتسبة من المستشفيات. هذه النتائج تتفق مع الدراسة التي اجراها [17] في النيبال إذ بينت ان العاملين في المجال الصحي هم من اكثر الأشخاص الحاملين لجرثومة المكورات العنقودية بالمقارنة مع المرضى الراقدين والمرضى الوافدين والزائرين. وقد بينت الدراسة ان نسبة الجراثيم المنتجة لإنزيمات البيتا لاكتاميز المعزولة من المرضى الراقدين هي اعلى مما لدى المرضى الوافدين وهذا يتفق مع ما توصل اليه [18] إذ وجد ان المكورات العنقودية المقاومة للعديد من المضادات الحيوية المعزولة من الطلبة العاملين في المجال الصحي اكثر بالمقارنة مع الطلبة الذين لم يتعرضوا لبيئة المستشفيات. هذا وقد اصبحت جرثومة *S. aureus* مشكلة واضحة في المستشفيات منذ ظهور السلالات المقاومة للبنسلين في الخمسينات اذ تشير تقارير

**طريقة الحامض:** اضيف (2) مل من محلول الفينول الأحمر الى (16×6) مل ماء مقطر معقم ثم اضيف الى المزيج مليون وحدة من بنسلين ج واضيف بضع قطرات من محلول هيدروكسيد الصوديوم (1 عياري) لكي يصبح لون المحلول بنفسجي، غمست انايبب شعرية (1-0.7 مل) في محلول البنسلين - الفينول الأحمر للسماح بصعود المحلول مسافة (1-2سم) ثم مررت نهاية الانبوب بلطف على عدد من المستعمرات البكتيرية بدرجة حرارة الغرفة. احتسبت النتيجة موجبة عند تحول اللون البنفسجي الى اصفر في غضون 15 دقيقة.

#### اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

اختبرت حساسية جرثومة المكورات العنقودية الذهبية للمضادات الحيوية على وسط مولر هنتون بعد إضافة 5% ملح كلوريد الصوديوم واستخدمت طريقة انتشار الأقراص [10].

#### النتائج والمناقشة

جمعت (80) عينة من اخماج التهابات المسالك البولية ومن التهابات جلدية مختلفة ومن مرضى راقدين وواقدين لمستشفى سامراء العام، حيث جمعت (30) عينة من المرضى الراقدين و (50) عينة من المرضى الواقدين. أظهرت النتائج ان (57) عينة (71.3%) أظهرت نموا موجبا لجرثائم المكورات العنقودية الذهبية، منها (23) عينة من المرضى الراقدين و (34) عينة من الواقدين لمستشفى سامراء العام كما مبين بالجدول (1). ويرجع السبب في الإصابات التي تسببها جرثومة *S.aureus* كونها تشكل جزءاً كبيراً من النبيت الطبيعي للجسم ولاسيما على الجلد ومقدمة المنخرين إذ تحمل هذه الجرثومة بنسبة (20-30%) في خيشوم الاصحاء والذين يشكلون اهم وخطر عامل مسبب للإصابة فضلاً عن قابلية هذه الجرثومة لمقاومة الجفاف والانتشار بواسطة الهواء [11]. كما ان عنقوديات الجلد (المكورات العنقودية) غالباً ما تكون صعبة الازالة باستعمال المضادات الحيوية وهذا يرجع الى تكرار التلوث بهذه الجراثيم من المستودع الانفي ولهذا نجد ان مقاومة البكتريا للمضادات كانت ومازالت المعضلة الاساسية امام نجاح العلاج ومن الصعوبة وجود مضاد حيوي لم تظهر البكتريا اساليب لمقاومته [12].

جدول رقم (1) نسب العزل الجرثومي من المرضى الراقدين والواقدين

لمستشفى سامراء العام

مجاميع الدراسة	مجموع العينات		المكورات العنقودية الذهبية	
	العدد	النسبة (%)	العدد	النسبة (%)
المرضى الراقدين	30	(37.5%)	(23)	(40.4%)
المرضى الواقدين	50	(62.5%)	(34)	(59.6%)
المجموع الكلي	80	(100%)	(57)	(71.3%)

بينت الدراسة ان نسبة الجراثيم المعزولة من الذكور في المرضى الراقدين (56.5%) والاناث (43.5%) بينما لدى المرضى الواقدين كانت نسبة الجراثيم المعزولة من الذكور (32.3%) والاناث (64.7%) على التوالي (جدول رقم 2).

وسط اكار الدم و اكار المانيتول الملحي بدرجة 37 م لمدة 24 ساعة وقد اخضعت الجراثيم المحاللة للدم على اكار الدم والمستعمرات المخمرة لسكر المانيتول لصبغة كرام واختبار انتاج الكتاليز وانزيم الخثرة المجلط للفايبرين بطريقة الانبوب [8]. وقد اختبرت العينات المشخصة على انها المكورات العنقودية الذهبية لاختبارات انتاج انزيمات البيتا لاكتيميز بطرق مختلفة.

#### تحضير المحاليل

حضرت المحاليل حسب ماورد في WHO (1978) [9]

**محلول النشا Starch Solution:** حضر أنيا عند الاستعمال بإذابة (0.1) غم من مادة النشا في (10) مل من الماء المقطر ونقلت الى حمام مائي بدرجة (100) م لمدة (10) دقائق للتأكد من ذوبان النشا، حفظ المحلول في درجة (4) م.

**محلول اليود Iodine Solution:** حضر بإذابة (2.03) غم من اليود و (5.32) غم من يوريد البوتاسيوم في (90) مل من الماء المقطر بعدها اكمل الحجم الى (100) مل وحفظ المحلول في قنينة معقمة ومعقمة بدرجة (4) م.

**محلول بنسلين ج Penicillin G Solution:** حضر بإذابة (0.5693) مسحوق البنسلين في دارئ الفوسفات ذو الرقم الهيدروجيني (6) وعقم بالترشيح ووزع في عبوات صغيرة معقمة وحفظ بدرجة (-20) م لحين الاستعمال.

**محلول احمر الفينول Phenol Red Solution:** أنيب (1) غم من احمر الفينول في (40) مل من محلول (0.1) هيدروكسيد الصوديوم واكمل الحجم الى (500) مل ماء مقطر.

#### تحضير العالق البكتيري

لقدت انايبب اختبار تحتوي على 4 مل من مرق نقيع القلب والدماغ بالمستعمرات الجرثومية وحضنت بدرجة 37 م لمدة 5 ساعات، ثم خففت باستعمال المحلول الفسيولوجي المعقم الى ان يتساوى بالنظر مع كثافة محلول ماكفرلانند ( $10^8 \times 1$ ) خلية/مل.

#### طريقة اليود القياسية و طريقة الحامض القياسية

استخدمت هذه الطريقة حسب ماورد في WHO (1978) [9] وكما يأتي:

**طريقة اليود:** حضرت المزارع البكتيرية بعمر (24) ساعة ونقلت المستعمرات البكتيرية بوساطة العروة الناقلة الى انايبب حاوية على (100) مايكروليتر من بنسلين جي، وحضنت الانايبب لمدة (30) دقيقة عند درجة 37 م ثم اضيف الى كل انبوية (50) مايكروليتر من محلول النشا ومزجت جيداً. اضيف الى كل انبوية (20) مايكروليتر من محلول اليود الذي يحول لون المحلول الى ازرق غامق نتيجة تفاعل اليود مع النشا، ثم مزجت جيداً. احتسبت النتيجة موجبة عند حصول تغير لوني سريع من اللون الأزرق الى اللون الأبيض خلال (5) دقائق من إضافة كاشف اليود.

## التحري عن قابلية المكورات العنقودية الذهبية على انتاج انزيمات البيبتالاكتاميز والمعزولة من المرضى الراقدين والوافدين لمستشفى سامراء العام

أسماء عيسى محمود ، داوود سلمان داوود

قسم التحليلات المرضية ، كلية العلوم التطبيقية ، جامعة سامراء ، سامراء ، العراق

asma\_easa@yahoo.com

### الملخص

أجريت هذه الدراسة للتحري عن انزيمات بيبتالاكتاميز التي تنتجها المكورات العنقودية الذهبية من الأشخاص الراقدين والوافدين في مستشفى سامراء العام. تضمنت عزل وتشخيص جراثيم المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* من المرضى الراقدين والوافدين لمستشفى سامراء العام ومن اخماج مختلفة متمثلة بالتهابات المجاري البولية واصابات جلدية مختلفة وباعمار مختلفة ومن كلا الجنسين. جمعت (80) عينة من المرضى الراقدين والوافدين لمستشفى سامراء العام وواقع (30) عينة من المرضى الراقدين و(50) عينة من المرضى الوافدين. وقد أظهرت النتائج ان (57) عينة تعود الى جرثومة المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* توزعت ما بين (23) عينة من المرضى الراقدين وبنسبة (40.4%) وبنسبة (59.6%) من المرضى الوافدين وواقع (34) عينة. حيث شخصت العزلات الجرثومية بالاعتماد على الصفات الزرعية، وصيغة كرام والاختبارات الكيموحيوية. وقد اختبرت قابلية العزلات على انتاج انزيمات البيبتالاكتاميز باستخدام طرق مختلفة متمثلة بطريقة البيود القياسية وطريقة الحامض القياسية إذ أظهرت النتائج ان (91.3%) من العينات المعزولة من المرضى الراقدين كانت منتجة لإنزيمات البيبتالاكتاميز في حين ان (25) عينة من جراثيم المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من المرضى الوافدين وبنسبة (73.5%) كانت منتجة لإنزيمات البيبتالاكتاميز. اختبرت قابلية العزلات المنتجة لأنزيم البيبتالاكتاميز على مقاومة المضادات الحيوية باستخدام طريقة Kirby-Bauer's. اشار اختبار فحص الحساسية بطريقة Bauer-Kirby ان جميع العزلات المنتجة لإنزيمات البيبتالاكتاميز كانت مقاومة للمضادات الحيوية.

**الكلمات المفتاحية:** جرثومة المكورات العنقودية الذهبية، انزيمات البيبتالاكتاميز، طرق البيود والحامض القياسية

### المقدمة

البنسلينات اسم حامض البنسلويك Penicilloic acid ويحتوي على مجموعتين حامضيتين في حين هناك مجموعة واحدة في المركب الأصلي ويكون المركب الجديد مستقرا، بينما ينتج مركب وسط غير مستقر يدعى حامض السيفالوسبوريك Cephalosporic acid من تكسير السيفالوسبورينات وسرعان ما يتفكك الى جزئيتين غير فعالة [7].

ونتيجة لما تقدم هدفت الدراسة الى :

التحري عن انزيمات البيبتالاكتاميز التي تنتجها المكورات العنقودية الذهبية بين الأشخاص الراقدين والوافدين في المستشفى باستخدام افضل طرق الاختبارات للكشف عن انزيمات البيبتالاكتاميز وبالتالي معرفة العزلات المنتجة لها .

### المواد وطرائق العمل

جمعت العينات من المرضى الراقدين والوافدين لمستشفى سامراء العام بواقع (80) عينة من مرضى مصابين بالتهابات المسالك البولية واصابات جلدية مختلفة ومن اعمار متقاربة من الذكور والاناث، وسجلت (30) عينة من المرضى الراقدين و(50) عينة من المرضى الوافدين وقد استخدمت المسحات القطنية لأخذ العينات الجلدية وانايب معقمة لجمع عينات الاذنين كما استخدم وسط نقيع القلب والدماغ Brain heart infusion broth كوسط ناقل للعينات لحين وصولها للمختبر بفترة زمنية لم تتجاوز الثلاث ساعات وقد زرعت العينات على

تعد المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* عاملا مرضيا انتهازيا للإنسان، غالبا ما تكون الاصابة بالمكورات العنقودية الذهبية حادة وقبيحة، وإذا لم تعالج فريما تنتشر الاصابة الى الانسجة المحيطة او من خلال تجرثم الدم Bacteremia وعقونة الدم Septicemia [1]. وتشكل امراض المكورات العنقودية اكثر من 80% من الامراض القبيحة suppurative diseases المسجلة في المراكز الطبية ، تصيب معظم امراض المكورات العنقودية التي تعد خطرة حاليا بين المرضى الراقدين في المستشفيات الأشخاص الذين يعانون ضعفا في الجهاز المناعي[2]. وقد ازدادت في السنوات الاخيرة الاخماج المرتبطة بالمستشفيات (Nosocomial infection) والتي تسببها ذراري المكورات العنقودية المقاومة للمضادات الحيوية ، اذ تظهر بعض السلالات المعزولة حاليا مقاومة لاكثر من 20 مضادا للجراثيم [3] علماً ان ظهور هذه المقاومة أدى الى أزمات صحية كبيرة[4] وافضل طريقة لمعرفة مقاومة البكتريا هي مقاومتها للبيبتالاكتام والتي يشفر لها اما كروموسوميا او عن طريق البلازميد وقد تكون هذه الانزيمات بنائية او مستحثة [5]. ان انزيم البيبتالاكتاميز والمعروفة أيضا باسم البنسلينيز تعمل على تثبيط عمل مضادات البيبتالاكتام من خلال كسرها لأصرة الأمايد المتوافرة في حلقة البيبتالاكتام [6] مودية الى تحطيم جزيئة المضاد، يتحول بعدها المضاد الى مركب فاقد الفاعلية. يطلق على المركب الناتج من تحطيم

12. Yanxia, G. Jianguo, L., Wenbin, J., Qiufeng, L. and Yufeng, C. 2008. Response of lactating cows to supplemental rumen protected methionine and niacin. *Front. of Agric. in China*, 2: 121-124.
13. Karkoodi, K. and Tamizrad, K. 2009. Effect of niacin supplementation on performance and blood parameters of Holstein cows . *S. Afr. J. Anim. Sci.*, 39 : 349-354 .
14. Madison-Anderson, R., Schingoethe, D. J., Brouk, M. J., Baer, R. J. and Lentsch, M. R. 1997. Response of lactating cows to supplemented unsaturated fat and niacin. *J. Dairy Sci.*, 80 :1329-1338.
15. Wagner, K., Mockel, P., Lebzien. P. and Flachowsky, G. 1997. Influence of duodenal infusion of nicotinic acid on the milk fat composition of dairy cows. *Arch. Anim. Nutr.* 50, 239-244.
16. Ghorbani., B., Vahdani., N. and Zerehdaran., S . 2009. Effects of niacin on milk production and blood parameters in early lactation of dairy cows. *Pak. J. Biol. Sci.*, 11:1582-1587.
17. Zhang, Z., Liu, G., Li., X., Wang., Z. and Kong, T. 2009. B-hydroxybutyrate, glucose, calcium, phosphorus, and vitamin c concentrations in blood of dairy cows with subclinical ketosis during the early lactation . *Bull Vet Inst Pulawy* 53, 71-74.,
18. Skaar, T., C., Grummer, Ric. R., Dentine, M. R. and Stauffacher, Ralph, H. Seasonal Effect of Prepartum and Postpartum Fat Niacin Feeding on Lactation Performance and Lipid Metabolism .1989. *J. Dairy Sci.*, 72, 2028-2038.
19. Cervantes, A., Smith, T. R. and Young, J. W. 1996. Effects of Nicotinamide on milk composition and production in dairy cows fed supplemental fat . *J. Dairy Sci.*,79:105-113.
20. العباسي، عماد غايب عبد الرحمن . 2012 . تأثير النياسين والرش بالماء تحت ظروف الإجهاد الحراري في الأداء الإنتاجي والفسلجي لأبقار الفريزيان في وسط العراق . أطروحة دكتوراه . جامعة تكريت كلية الزراعة .
21. Minor, D.J., Trower, S.L., Strang, B.D., Shaver, R.D. and Grummer, R.R., 1998. Effects of nonfiber carbohydrate and niacin on periparturient metabolic status and lactation of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81, 189-200. 22. Drackley, J.K., Lacount, D. W., Elliott, J. P., Klusmeyer, T. H., Overton, T. R., Clark, J. H. and Blum, S. A. 1998. Supplemental fat and nicotinic acid for Holstein cows during an entire lactation. *J. Dairy Sci.*, 8 :1201-1214.

## Effect of adding two levels of niacin in milk production and controlling indicators of ketosis in Friesian cows postpartum

Emad GH. ALAbbasy

College of Agriculture, Tikrit University, Tikrit, Iraq

### Abstract

This study was conducted in AL-Ishaqi Cattle Station, north of Baghdad, and use of 36 multiparous Friesian cows in the early lactation, cows were divided randomly into three main groups, includes all cows are supplementation of niacin (0, 6, 12g) for the period 1/6/2010 to 30/8/2010, to study the effect of niacin supplementation on average of weekly milk production and level of  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHBA), acetone, triglycerides, glucose and glucagon hormone in blood .

The aim of this research to study the effect of niacin in productive performance and reducing incidence of ketosis ,the results showed a highly significant effect of niacin supplementation level 6 and 12g in Increase of weekly milk production for the months of June and July and August, also reduce the level of  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHBA), acetone, triglycerides compared to the control group, rate this amounted materials for two levels respectively  $0.449 \pm 0.029$  (mmol/l),  $11.00 \pm 0.89$  and  $16.16 \pm 1.76$  (mg/dL) and  $0.237 \pm 0.013$  (mmol/L) and  $6.16 \pm 0.47$  and  $13.39 \pm 1.49$  (mg/dL) compared to the control group, for the first month of the study, this influence continued for the subsequent two months, well as the effect of niacin levels mentioned above significantly ( $P < 0.01$ ) in high blood glucose levels and glucagon hormone, appears the niacin has improved energy use for cows postpartum, so reduced the indicators of metabolic diseases which usually infect cows in the beginning of the lactation period such as disease of ketosis .

الجدول 5: تأثير المعاملة بالنياسين في تركيز الكلوكوز لأشهر حزيران وتموز وآب

المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي (ملغم/ديسيلتر)			عدد المشاهدات	العوامل المؤثرة
آب	تموز	حزيران		
2.0 $\pm$ 58.67	1.3 $\pm$ 49.88	1.8 $\pm$ 55.22	36	المتوسط العام
c 2.6 $\pm$ 49.09	c 0.8 $\pm$ 42.39	c 1.3 $\pm$ 44.47	12	مجموعة السيطرة
b 2.9 $\pm$ 58.66	b 1.3 $\pm$ 48.46	b 2.3 $\pm$ 54.72	12	مجموعة 6 غم نياسين
c 2.8 $\pm$ 68.26	a 1.4 $\pm$ 58.79	a 1.6 $\pm$ 66.47	12	مجموعة 12 غم نياسين
**	**	**	---	مستوى المعنوية

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.  
(P<0.01) \*\*

الجدول 6: تأثير المعاملة بالنياسين في تركيز الكلسريدات الثلاثية لأشهر حزيران وتموز وآب

المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي ( ملغم/ديسيلتر)			عدد المشاهدات	العوامل المؤثرة
آب	تموز	حزيران		
1.21 $\pm$ 18.15	1.40 $\pm$ 15.5	1.61 $\pm$ 14.59	36	المتوسط العام
b 1.55 $\pm$ 23.67	c 1.70 $\pm$ 19.67	b 1.58 $\pm$ 18.22	12	مجموعة السيطرة
a 0.79 $\pm$ 16.32	b 0.95 $\pm$ 15.86	b 1.76 $\pm$ 16.16	12	مجموعة 6 غم نياسين
a 1.30 $\pm$ 14.48	a 1.57 $\pm$ 13.97	a 1.49 $\pm$ 13.39	12	مجموعة 12 غم نياسين
*	*	*	---	مستوى المعنوية

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.  
(P<0.05) \*\*

الجدول 7: تأثير المعاملة بالنياسين في مستوى الكلوكاكون لأشهر حزيران وتموز وآب

المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي (بيكوغرام/مل)			عدد المشاهدات	العوامل المؤثرة
آب	تموز	حزيران		
0.53 $\pm$ 92.74	0.76 $\pm$ 93.5	0.13 $\pm$ 96.26	36	المتوسط العام
c 0.3 $\pm$ 88.12	c 1.0 $\pm$ 87.1	c 0.1 $\pm$ 90.5	12	مجموعة السيطرة
b 0.4 $\pm$ 92.7	b 0.9 $\pm$ 94.7	b 0.2 $\pm$ 96.1	12	مجموعة 6 غم نياسين
a 0.9 $\pm$ 96.4	a 0.4 $\pm$ 100.7	a 0.1 $\pm$ 104.2	12	مجموعة 12 غم نياسين
*	*	*	---	مستوى المعنوية

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.  
(P<0.05) \*\*

#### المصادر

1. Grummer, R.R., 1993. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 76: 3882-3896.
2. Radostits O. M. Arundel, J. H and Clive C. G. 2000. Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses (9th ed.). Elsevier Health Sciences. pp. 512
3. Sahinduran, S., Sezer, K., Buyukoglu, T., Albay., M.K. and Karakurum M.C.2010. Evaluation of Some Haematological and Biochemical Parameters Before and After Treatment in Cows with Ketosis and Comparison of Different Treatment Methods. *J. of Animal and Veterinary Advances*. V.: 9 Page No.: 266-271 .
4. حرب، محمد يونس. 2011. ايض العناصر الغذائية أثناء الفترة الانتقالية. مجلة أبقار وأغنام. العدد: 97-98
5. Hutjens, M. F. 1984. Use of niacin to balance a diet of dairy cow. *Vet. Med. and small Anim. Clin.*, 79: 1302-1305
6. Sarwar, M., Iqbal, Z. and Un-Nisa, M. .1999. Effect of niacin on the performance of dairy cow . *Int. J. of Agri. And Biol.* 1: 79-81.
7. الصغير، علي بن منصور . 2002 . تأثير اضافة النياسين على الاستجابة الفسيولوجية لبقر اللبن عالي الانتاج خلال فصل الصيف
8. Duncan, D.D. 1955. Multiple range and multiple F-test Biometrics, 11: 1-42.
9. SAS. 2004. SAS/STAT User's Guide for Personal Computers . Release 7.0 SAS Institute Inc. , Cary , N. C. , USA .
10. Horner, J. L. Windle, M., Coppock, C. E., LaBore, J. M. and Lanham, J. K. 1988. Effects of Whole cottonseed, niacin, and nicinamide on in vitro rumen fermentation and on lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 71:3334-3344 .
11. El-Barody, M. A. A., Daghash, H. A. and Rabie, Z. B. H. 2001. Some physiological responses of pregnant Egyptian buffalo to niacin supplementation . *livestock production science* . 69: 291.296 .

مؤشرات الكيتونية :

مرض الكيتونية (7) وبدا ذلك واضحا من ما أوشر من زيادة في تركيز BHBA والأسيون والكسريدات الثلاثية، ويبدو أن النياسين قد قلل من تحليل الدهون المخزونة في الجسم والتي عادة ما يتم استخدامها من قبل البقرة في بداية موسمها الإنتاجي لمجابهة الطلب المتزايد على الطاقة وبالتالي انخفاض في تركيز هذه المواد، وقد اتفقت نتائج هذه الدراسة مع (17، 3 و 16) واختلفت مع كل من (18) و(19)، وفيما يخص الكلوكون وهرمون الكلوكون يلاحظ أن إضافة النياسين قد أثرت بشكل ملحوظ في زيادة تركيزهما بعد أن سجلا انخفاض معنوي لدى أبقار مجموعة السيطرة، وقد يعزى سبب زيادة الكلوكون إلى أن النياسين زاد من تخمرات الكرش ورفع من مستوى بروبونات الكرش مما حفز على حدوث عملية gluconeogenesis (20) وأن النياسين زاد ورفع مستوى هرمون الكلوكون في الدم بعد الانخفاض الملحوظ للكلوكون والذي بدوره حفز على حصول عملية gluconeogenesis لتعويض الكلوكون المفقود، وهي نتيجة مغايرة لما توصل إليه (21) و (22) وموافقة لـ (12، 13)، مما سبق يتضح أن الأبقار عند بداية موسمها الإنتاجي تتطلب طاقة عالية نظرا للزيادة الحاصلة في إنتاج الحليب مما يؤدي إلى انخفاض حاد في الكلوكون نتيجة لاستهلاكه من قبل البقرة وزيادة في تركيز الأجسام الكيتونية المتمثلة بـ BHBA والأسيون والكسريدات الثلاثية التي تسبب مرض الكيتونية لدى الأبقار الحلوب ويبدو أن إضافة النياسين للعليقة قد اثر بشكل ايجابي في زيادة تركيز هرمون الكلوكون والكلوكون وتحسين استخدام الطاقة وخفض أيض الدهون وخفض هذه الأجسام وبالتالي التقليل من الإصابة بهذا المرض الايضي .

أظهرت النتائج وجود انخفاض معنوي ( $P < 0.01$ ) لتركيز BHBA والأسيون والكسريدات الثلاثية للأبقار التي عوملت بالنياسين بمستوى 12 غم/يوم/راس وبدرجة أقل لتلك التي تلقت 6 غم/بقرة/يوم خلال شهر حزيران موازنة بمجموعة السيطرة، إذ بلغ متوسطات تركيز هذه المواد  $0.013 \pm 0.237$  (ملي مول/لتر) و  $0.47 \pm 6.16$  و  $13.39 \pm 1.49$  (ملغم/ديسيلتر) على التوالي لمجموعة (12 غم نياسين) في حين كان معدل هذه التركيز للمجموعتين الباقيتين (6 غم/يوم/راس والسيطرة) هي  $0.029 \pm 0.449$  (ملي مول/لتر)،  $0.89 \pm 11.00$  و  $16.16 \pm 1.76$  (ملغم/ديسيلتر) و  $1.140 \pm 0.202$  (ملي مول/لتر)،  $0.75 \pm 14.17$  و  $18.22 \pm 1.58$  (ملغم/ديسيلتر) على التوالي جدول (2،3،4)، وقد استمر التأثير الموجب للنياسين طيلة فترة التجربة، كما في الجدول (5) والجدول (7). وفيما يتعلق بالكلوكون وهرمون الكلوكون خلال الشهر الأول من التجربة يلاحظ أن المعاملة بالنياسين بالمستويين المذكورين قد أثرا بشكل معنوي ( $P < 0.01$ ) في زيادة تركيز الكلوكون بمتوسط بلغ  $1.6 \pm 66.47$ ،  $2.3 \pm 54.72$  (ملغم/ديسيلتر) والكلوكون بمتوسط  $0.1 \pm 104.2$  و  $96.1 \pm 0.2$  (بيكو غرام/مل) على التوالي موازنة بمجموعة السيطرة  $1.3 \pm 44.47$  (ملغم/ديسيلتر) و  $90.5 \pm 0.1$  (بيكو غرام/مل)، هذا وقد استمر هذا التأثير إلى حتى نهاية التجربة، ويبدو جليا أن الأبقار في مجموعة السيطرة كانت واقعة تحت ميزان طاقة سالب صاحبه قلة في تناول العلف خصوصا مع ارتفاع في درجات الحرارة نجم عنه حدوث هدم للدهون المخزنة في الجسم، وتحرر للأحماض الدهنية الحرة في الدم التي امتصها الكبد وحول جزء منها إلى أجسام كيتونية تسبب

الجدول:3. تأثير المعاملة بالنياسين في مستوى  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHBA) لأشهر حزيران وتموز وآب

العوامل المؤثرة	عدد المشاهدات	المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي (ملي مول/لتر)		
		حزيران	تموز	آب
المتوسط العام	36	$0.093 \pm 0.608$	$0.086 \pm 0.589$	$0.088 \pm 0.585$
مجموعة السيطرة	12	$a 0.202 \pm 1.140$	$a 0.184 \pm 1.092$	$a 0.185 \pm 1.107$
مجموعة 6 غم نياسين	12	$b 0.029 \pm 0.449$	$b 0.027 \pm 0.446$	$b 0.024 \pm 0.425$
مجموعة 12 غم نياسين	12	$c 0.013 \pm 0.237$	$c 0.013 \pm 0.229$	$c 0.024 \pm 0.224$
مستوى المعنوية	---	**	**	**

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها. (\*\*  $P < 0.01$ )

الجدول: 4. تأثير المعاملة بالنياسين في مستوى الأسيون لأشهر حزيران وتموز وآب

العوامل المؤثرة	عدد المشاهدات	المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي (ملغم/ديسيلتر)		
		حزيران	تموز	آب
المتوسط العام	36	$0.70 \pm 10.62$	$0.57 \pm 11.55$	$0.54 \pm 11.72$
مجموعة السيطرة	12	$c 0.75 \pm 14.17$	$c 0.77 \pm 17.00$	$c 0.75 \pm 18.83$
مجموعة 6 غم نياسين	12	$b 0.89 \pm 11.00$	$b 0.60 \pm 9.17$	$b 0.42 \pm 10.50$
مجموعة 12 غم نياسين	12	$a 0.47 \pm 6.16$	$a 0.34 \pm 8.50$	$a 0.47 \pm 5.83$
مستوى المعنوية	---	**	**	**

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها. (\*\*  $P < 0.01$ )

الفروق بين المتوسطات باختبار (8) متعدد الحدود، وأستعمل البرنامج (9) في التحليل الإحصائي على وفق النموذج الرياضي الآتي:  

$$Y_{ij} = \mu + N_i + e_{ij}$$

إذ إن:

$Y_{ij}$  = قيمة المشاهدات  $j$  للعائدة للمعاملة  $i$ .

$\mu$  = المتوسط العام للصفة المدروسة.

$N_i$  = تأثير المعاملة، إذ شملت التجربة ثلاث معاملات (السيطرة، 6 غم نياسين، 12 غم نياسين).

$e_{ij}$  = الخطأ العشوائي الذي يتوزع طبيعياً بمتوسط يساوي صفر وتباين قدره  $\sigma^2$ .

### النتائج والمناقشة

#### إنتاج الحليب الأسبوعي :

تشير نتائج الدراسة الحالية إلى وجود تأثير عالي المعنوية ( $P < 0.01$ ) للنياسين على إنتاج الحليب الأسبوعي خلال مدة الدراسة فخلال شهر تموز كانت الزيادة في إنتاج الحليب الأسبوعي لمجموعة 12 غم نياسين/يوم/ رأس مقدارها 18.27 و 40.33 كغم/يوم مقارنة بمجموعة 6 غم نياسين/يوم/ رأس، والمجموعة التي لم تتلقى أي مستوى من النياسين على التوالي (جدول 2)، ومثل هذا التحسن قد يكون راجعاً إلى دور النياسين في تحسين استخدام الطاقة ورفع نسبة السكر في الدم وخفض ايض الدهون أو قد يرجع الأثر الإيجابي للنياسين على إنتاج الحليب من خلال العلاقة بين النياسين والتربتوفان إذ أشار (10) إلى إن الأبقار التي تكون في بداية موسمها الإنتاجي يلاحظ لديها انخفاض في تركيز التربتوفان في بلازما الدم بسبب استغاله من قبل ميكروبات الكرش في بناء النياسين الذي يؤثر بشكل إيجابي على الإنتاج أو قد تكون المعاملة بالنياسين قد أدت إلى زيادة مستوى المساعدين الإنزيمين NAD و NADP اللذان يدخلان في تمثيل الدهون والبروتينات والكربوهيدرات وتحسن من معدل الاستفادة من الغذاء وتشجيع البروتين الميكروبي وزيادة تكوين الأحماض الطيارة وزيادة في الشهية والغذاء المتناول وزيادة مستوى السكر بالدم بحيث انعكست إيجابياً على إنتاج الحليب (5، 11)، هذا وقد اتفقت نتيجة الدراسة الحالية في التأثير الإيجابي للمعاملة بالنياسين مع كل من (12) و (13) في حين اختلفت مع نتائج مجموعة أخرى من الباحثين (14، 15، 16).

إلى إنتاج الحليب وعادة ما يكون بمعدل 1 كغم لكل 2-2.5 كغم حليب، وفيما يخص التجربة الحالية كانت التغذية طيلة مدة التجربة موحدة واعتمدت بشكل أساسي على العلف المركز المتكون من نخالة الحنطة والشعير المجروش وعلى الكلس وملح الطعام فضلاً عن التبن ودريس الألبت الذي كان يقدم عند شحه توفر الأعلاف الخضراء، أما الماء فكان متوفراً أمام الحيوانات وعلى مدار الساعة، وقد حددت النسب المئوية للعليقة كالآتي :

#### جدول: 1. مكونات العليقة المركزة المستخدمة في التجربة

المادة العلفية	النسبة المئوية %
نخالة حنطة	40
شعير	20
كسبة زهرة الشمس	15
ذرة مجروشة	10
مجروش فول الصويا	10
ملح طعام	2.5
كلس	2.5
المجموع	100%

اختيرت 36 بقرة حلب في بداية مواسمها الإنتاجي وبمواسم مختلفة، وزعت الأبقار عشوائياً في ثلاث مجموعات هي مجموعة السيطرة (0 غم/يوم/ رأس) ومجموعة (6 غم/يوم/ رأس) ومجموعة (12 غم/يوم/ رأس) بواقع 12 بقرة لكل مجموعة وكان النياسين على شكل مسحوق بلوري إذ تم خلطه مع العلف المركز في الوجبة الصباحية وتم إعطائه للمجموعات بمعدل 0، 6 و 12 غم نياسين/رأس/يوم خلال مدة التجربة.

كانت الأبقار تحلب أوتوماتيكياً مرتان يومياً صباحاً ومساءً وسجل الإنتاج اليومي طيلة مدة التجربة لكل بقرة، جمعت نماذج الدم بشكل منتظم من الوريد الوداجي (Jugular vein) مرة شهرياً في الساعة السابعة صباحاً قبل وجبة العلف الصباحية عن طريق محقنه نبيذة سعة 10 وضعت في أنابيب بلاستيكية نبيذة نظيفة ومعقمة وترك لمدة ساعة في درجة حرارة المختبر، ثم وضعت في جهاز الطرد المركزي لمدة عشرون دقيقة على سرعة 3000 دورة/دقيقة لغرض فصل مصل الدم عن باقي المكونات، استخدم المصل مباشرة في إجراء اختبارات فحص (BHBA)، والأسيتون، والكليسريدات الثلاثية، والكلوكوز، والكلوكاكون).

استخدم التصميم العشوائي الكامل (CRD) في تحليل بيانات التجربة لدراسة تأثير المعاملات المدروسة في الصفات المختلفة، وقورنت

#### الجدول: 2. تأثير المعاملة بالنياسين في معدل إنتاج الحليب الأسبوعي لشهر حزيران وتموز وآب

العوامل المؤثرة	عدد المشاهدات	المتوسط $\pm$ الخطأ القياسي (كغم)		
		حزيران	تموز	آب
المتوسط العام	36	3.67 $\pm$ 55.87	5.1 $\pm$ 63.18	4.7 $\pm$ 55.52
مجموعة السيطرة	12	b 3.14 $\pm$ 49.89	c 2.54 $\pm$ 42.39	c 1.68 $\pm$ 33.12
مجموعة 6 غم نياسين	12	b 3.60 $\pm$ 52.62	b 6.32 $\pm$ 64.45	b 5.99 $\pm$ 59.74
مجموعة 12 غم نياسين	12	a 4.28 $\pm$ 65.12	a 6.44 $\pm$ 82.72	a 6.43 $\pm$ 73.70
مستوى المعنوية	---	**	**	**

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً فيما بينها.

\*\* ( $P < 0.01$ )

## تأثير إضافة مستويين من النياسين في إنتاج الحليب والسيطرة على مؤشرات الإصابة بالكيتونية لدى

### أبقار الفريزيان بعد الولادة

عماد غايب عبد الرحمن العباسي

كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

#### الملخص

أجريت هذه التجربة في محطة أبقار الاسحاقي شمال بغداد باستخدام 36 بقرة فريزيان متعددة الولادات في بداية موسمها الإنتاجي للمدة من 2010/6/1 إلى 2010/8/31، اذ وزعت الأبقار عشوائيا في ثلاث مجموعات بواقع 12 بقرة لكل مجموعة، لبيان مدى تأثير المعاملة بالنياسين (6 و 12 غم/يوم/ رأس) في معدل إنتاج الحليب الأسبوعي ومستوى BHBA ( $\beta$ -hydroxybutyrate) والأسيتون والكلسريدات الثلاثية والكلوكوز وهرمون الكلوكاكون في الدم بهدف معرفة تأثير النياسين في الأداء الإنتاجي وخفض الإصابة بمرض الكيتونية، وقد أظهرت النتائج وجود تأثير عالي المعنوية للمعاملة بالنياسين بمستوى 6 و 12 غم في زيادة إنتاج الحليب الأسبوعي لأشهر حزيران وتوز وأب ، كذلك خفض مستوى BHBA) والأسيتون والكلسريدات الثلاثية موازنة بمجموعة السيطرة، إذ بلغت قيم هذه المواد للمستويين على التوالي  $0.029 \pm 0.449$  (ملي مول/لتر)،  $0.89 \pm 11.00$  و  $1.76 \pm 16.16$  (ملغم/ديسيلتر) و  $0.013 \pm 0.237$  (ملي مول/لتر) و  $0.47 \pm 6.16$  و  $1.49 \pm 13.39$  (ملغم/ديسيلتر) موازنة بمجموعة السيطرة  $0.202 \pm 1.140$  (ملي مول/لتر)،  $0.75 \pm 14.17$  و  $1.58 \pm 18.22$  (ملغم/ديسيلتر) للشهر الأول من الدراسة واستمر هذا التأثير للشهرين اللاحقين، كذلك كان تأثير النياسين بالمستويين المذكورين أعلاه معنوي ( $P < 0.01$ ) في ارتفاع مستوى كلوكوز الدم وهرمون الكلوكاكون، ويبدو أن النياسين قد حسن من استخدام الطاقة لدى الأبقار الولادة حديثا بحيث قلل من مؤشرات حدوث الإصابة بالأمراض الايضية التي عادة ما تصيب الأبقار عند بداية موسمها الإنتاجي ومنها مرض الكيتونية.

الكلمات المفتاحية: النياسين ، إنتاج الحليب ، كيتونية ، ابقار الفريزيان

#### المقدمة

الاستفادة من الغذاء وتقليل BHBA) والأحماض الدهنية الحرة وزيادة مستوى الكلوكوز في الدم، في حين أشار (6) أن المعاملة بالنياسين لم ينجم عنها فقط زيادة في إنتاج الحليب وزيادة في بناء البروتين الميكروبي في الكرش وإنما خففت مشاكل الإجهاد الحراري والكيتونية، في حين بين (7) إلى أن إضافة النياسين أدت إلى زيادة إنتاج الحليب وخفضت بشكل معنوي مستوى  $\beta$ -Hydroxybutyrate في الدم.

يهدف البحث إلى معرفة إمكانية تحسين الأداء الإنتاجي وخفض الإصابة بمرض الكيتونية لدى أبقار الفريزيان عن طريق المعاملة بالنياسين من خلال تأثيره الموجب على ايض الطاقة وعلى مؤشرات حدوث هذا المرض.

#### المواد وطرائق البحث

أجريت هذه الدراسة في محطة أبقار الحليب في الاسحاقي الواقعة في قضاء الدجيل التابع لمحافظة صلاح الدين التي تقع شمال بغداد على بعد 55-50 كم للمدة من (2010/6/1 إلى 2010/8/31) ، كانت التغذية في المحطة تتباين من عام إلى آخر ومن فصل لفصل تبعاً لتوفر الأعلاف، إذ تتغذى الحيوانات على الأعلاف الخضراء المكونة من الذرة البيضاء والصفراء والجت في الصيف والخريف وعلى محاصيل الجت ومخاليط الشعير والبرسيم أثناء الشتاء والربيع كما ويستعمل الغمير (السالمج) والدريس والتبن لتغطية الاحتياجات الغذائية اليومية لأبقار المحطة، ويقدم العلف المركز للأبقار الحلوب استناداً

تحتاج الأبقار عقب الولادة إلى طاقة عالية لمجابهة التزايد في إنتاج الحليب وقد يكون استهلاكها للعلف اقل خصوصاً في فصل الصيف مما يسبب تعرضها لميزان طاقة سالب يحدث خلاله هدم للدهون المخزونة في الجسم وتحرر الأحماض الدهنية الحرة في الدم وامتصاصها إلى الكبد، إذ يتحول جزء منها إلى أجسام كيتونية تسبب مرض الكيتونية (Ketosis)، وغالبا ما ترتفع نسبة الإصابة بهذا المرض وهو مرض أيضا شائع في الأبقار المنتجة للحليب بعد الولادة، اذ يحدث بسبب عدم الاتزان بين معدلات اخذ الغذاء والإنتاج، والمرض يحصل عادة في الشهرين التي تتبع الولادة (1) و(2)، إذ يلاحظ قلة استهلاك الأبقار أثناء الفترة الأخيرة من الحمل وأوائل فترة الرضاعة من العلف والسحب من خزين اجسامها لتلبية احتياجات الرضاعة وتجميع الحليب وبناء أنسجة الضرع وتسبب هذه الحالة ظهور الأجسام الكيتونية ketones والأسيتون وBHBA)- $\beta$  Hydroxybutyrate نتيجة الإفراط في التمثيل الغذائي للدهون (3)، وقد أشار (4) إلى أن تسلسل الأحداث لمرض الكيتونية يتمثل في ولادة ثم إنتاج حليب ومتطلبات طاقة ثم تكثيف استعمال دهن يؤدي ذلك إلى سعة فوق مقدرة الكبد وبالتالي كيتونات سامة زائدة في الدم، وعليه كان لابد من إيجاد الحلول اللازمة لمعالجة هذا المرض عن طريق بعض المعاملات الغذائية، إذ بينت بعض الأبحاث أن إضافة النياسين له دور فعال في الحد من الإصابات، إذ ذكر (5) أن دور النياسين كإضافات غذائية في تغذية الأبقار الحلوبة هو زيادة كفاءة تمثيل الدهون والكاربوهيدرات والبروتينات وتحسن من معدل

## Effect of different levels of ginger (*Zingiber Officinale*) powder roots on the productive performance of Awassi lambs

Abdullah Issam Noaman , Taher A. Shujaa

Department of Animal Production , College of Agriculture , Tikrit University , Tikrit , Iraq

[Abdullah.nuaman@gmail.com](mailto:Abdullah.nuaman@gmail.com)

### Abstract

In this experiment used 20 individually feeding Awassi lambs,(each group was 5 animal) average initial weight was 23.14kg, aged 3-4 months. Animals were fed during the experiment on concentrate feed by 3.3% of body weight ,the diets equal in total nutrients and in addition. Ginger powder roots was add to diet and mix with the feed daily by 0, 5,10 and 15 g / kg dry matter, respectively. This Study Conducted the effects of ginger on some productive performance .There was no significant difference on initial and Daily feed intake and Average daily gain and final weight and total gain and feed conversion ratio by the levels of ginger powder roots and the control group. Second treatment (5g ginger) varied significantly with fourth treatment(15g ginger ).It is gave the highest final weight (35.52 kg) and Average daily gain (0.160kg) and Total gain(12.36kg).

10 و 25 غم من مكونات العليقة على التوالي ، في تغذية الحملان العواسية .

**ه - كفاءة التحويل الغذائي : Feed Conversion Ratio**

يتبين من جدول 4 أن متوسطات كفاءة التحويل الغذائي لم تختلف معنوياً فيما بينها وبلغت قيمها 9.40 و 7.03 و 10.45 و 11.20 كغم على التوالي. وتوافقت النتائج مع كل من 9 و 10 عند استخدامهما أوراق الزعتر البري في علائق الحملان.

8- SAS. (2001). SAS / STAT Users Guide for Personal Computers . Release . 6:12 . SAS Institute Inc ., Cary , N.C., U.S.A .

9- Bampidis, V.A.; Christodoulou, V.; Florou-Paneri, P.; Christaki, E.; Spais, A.B., and Chatzopoulou, P.S. 2005. Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. Anim. Feed Sci., Technol., 121, 285–295.

10- Simitzis, P.E.; Deligeorgis, S.G.; Bizelis, A.; Dardmani, I.; Theodosiou and Fegerosk, K(2008). Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. Meat Sci.,79(2) 217-223.

11- دخيل؛ محمد مؤنس (2010). تأثير إضافة جذور الزنجبيل أو بذور المعدنوس إلى عليقة إناث المعز المحلي الأسود في بعض الصفات الإنتاجية والفسلجية والتناسلية. رسالة ماجستير - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد.

12- النعيمي؛ عراق غانم منصور (2010). تأثير إضافة مستويات مختلفة من نبات الزعتر (*Thymus vulgaris L.*) إلى العليقة في بعض صفات ذبائح الحملان العواسية. رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة تكريت

13- الموسوي؛ جاسم عيدان قاسم (2009). تأثير استخدام الزنجبيل (*Zingiber officinale*) وبذور الجرجير الناضجة (*Eruca sativa mill*) في بعض الصفات الإنتاجية والفسلجية والتناسلية في الحملان الذكرية العواسية. رسالة ماجستير - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد.

السيطرة . أما بالنسبة لمعدل الزيادة الوزنية الكلية لم يكن هناك أي تفوق معنوي بين المعاملات التي تم إضافة مسحوق جذور الزنجبيل إلى علائقها مقارنة مع مجموعة السيطرة. كما يلاحظ من الجدول 4 أيضاً أن معدل الزيادة الوزنية الكلية للمعاملة الثانية قد تفوق معنوياً  $P < 0.05$  على المعاملة الرابعة (7.12 كغم) ، وربما يعود سبب الاختلاف إلى أن المستويات العالية من مسحوق جذور الزنجبيل قد تبطلت من نمو الأحياء المجهرية في الكرش التي تعد مصدراً بروتينياً مهماً في المجترات. توافقت هذه النتائج مع ما ذكره ( 12 ) واختافت هذه النتائج مع 3 و 13 عندما استخدموا مسحوق جذور الزنجبيل

**المصادر**

1- رضوان، محمد علي حسن (1997). الاضافات العلفية والاعشاب الطبية في تغذية الدواجن . نشرة فنية رقم 9 / 1997 صدرت عن الادارة العامة للثقافة الزراعية - وزارة الزراعة - مصر .

2- الفتیان، منهل حبيب سلمان (2008) . استخدام بذور نبات الجرجير الناضجة *Eruca sativa* وفيتامين E في تغذية الحملان الذكرية العواسية و تأثيره في بعض الصفات الإنتاجية والتناسلية والدمية. رسالة ماجستير - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد.

3- الراوي؛ سعد ثابت جاسم (2008) . تأثير استخدام الزنجبيل (*Zingiber officinale*) وفيتامين E في الصفات الانتاجية والفسلجية والتناسلية للحملان الذكرية العواسية . رسالة ماجستير - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد .

4- هادي، لطيف عيسى (2009). تأثير استخدام الزنجبيل (*Zingiber officinale*) وفيتامين E في الصفات الانتاجية والفسلجية والتناسلية في جداء الماعز المحلي الاسود. رسالة ماجستير - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد.

5- Hassan, S.A.2008.Effect of some medicinal plants supplementation on daily intake ,live weight gain and carcass characteristics of Awassi lambs. accepted for publication in Egypt J. Ntr. and Feed .

6- NRC. (1980). The Nutrition requirement of sheep . National Academy press .Washington ,DC.

7- Duncan, D.B. (1955). Multiple range and multiple F test. Biometrics 11: 1- 42 .

النتائج والمناقشة

10 و 15غم مسحوق جذور الزنجبيل) إذ بلغت متوسطاتها 23.04 ، 23.16 ، 23.17 و 23.21 كغم على التوالي.

أ- الوزن الابتدائي: Initial Weight : يتبين من جدول 3 عدم وجود فروق معنوية في الوزن الابتدائي للمعاملات الأربعة (0 ، 5 ،

جدول3: تأثير ضافة مستويات مختلفة من مسحوق جذور الزنجبيل في اوزان الحملان العواسية (المتوسط  $\pm$  الخطأ القياسي).

المعامل	T4 15 غم زنجبيل	T3 10 غم زنجبيل	T2 5 غم زنجبيل	T1 0 غم زنجبيل	تاريخ الوزن تاريخ الوزن الوزن الابتدائي
0.58 $\pm$ 23.15	0.70 $\pm$ 23.21	1.37 $\pm$ 23.17	1.39 $\pm$ 23.16	1.51 $\pm$ 23.04	2009/6/24
0.66 $\pm$ 24.92	0.64 $\pm$ 23.91	1.03 $\pm$ 24.54	1.43 $\pm$ 26.43	2.02 $\pm$ 24.81	2009/7/24
0.85 $\pm$ 29.15	1.13 $\pm$ 26.94	0.89 $\pm$ 28.48	1.65 $\pm$ 31.23	2.54 $\pm$ 29.97	2009/8/23
0.83 $\pm$ 32.96	1.08 $\pm$ 30.33 b	0.74 $\pm$ 31.79 ab	1.72 $\pm$ 35.52 a	2.12 $\pm$ 34.96 ab	

\*الأحرف غير المتشابهة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى  $P < 0.05$

جذور الزنجبيل مقارنة مع معاملة السيطرة في معدل الزيادة الوزنية اليومية ( جدول 4). لوحظ أن المعاملة الثانية المضاف إليها 5غم من مسحوق جذور زنجبيل تفوقت معنويا ( $P < 0.05$ ) في معدل الزيادة الوزنية اليومية (0.16 غم / يوم) على المعاملة الرابعة (15 غم مسحوق جذور زنجبيل) (0.09 كغم)، ويمكن أن يعزى السبب الى قصر فترة التجربة وصعوبة التأقلم مع العليقة . اختلفت هذه النتائج مع كل من (3 و 11) الذي بين إن إضافة 10 غم من مسحوق جذور الزنجبيل قد اثر معنويا في معدل الزيادة الوزنية اليومية للحملان العواسية (11) الذي أكد أن إضافة 30غم من مسحوق جذور الزنجبيل قد أدى إلى حصول زيادة وزنيه يومية معنوية في إناث الماعز المحلي الاسود العراقي.

ب- كمية العلف اليومي المتناول: Daily Feed Intake

لم تكن هناك أية فروق معنوية بين المعاملات في كميات العلف المتأولة (جدول4) . إذ بلغت متوسطات المعاملات الأربعة 1.06 ، 1.11 ، 1.03 و 1.01 كغم على التوالي وقد يعود السبب في عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات إلى كون كمية العلف المقدمة محدودة بنسبة من وزن الجسم فضلا عن قصر فترة التجربة كما أن الحيوانات احتاجت الى فترة اطول للتكيف على اضافة مسحوق جذور الزنجبيل . وتوافقت النتائج مع كل من 9 و 10 عند استخدامهما أوراق الزعتر البري في علائق الحملان .

ج- معدل الزيادة الوزنية اليومية: Average Daily Gain

لم يكن هناك أي تفوق معنوي للمعاملات التي أضيف إليها مسحوق

جدول4: تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق جذور الزنجبيل إلى علائق الحملان العواسية في بعض الصفات الإنتاجية

(المتوسط  $\pm$  الخطأ القياسي)

T4 15 غم زنجبيل	T3 10 غم زنجبيل	T2 5 غم زنجبيل	T1 0 غم زنجبيل	الصفة
0.70 $\pm$ 23.21	1.37 $\pm$ 23.17	1.39 $\pm$ 23.16	1.51 $\pm$ 23.04	الوزن الابتدائي(كغم)
1.08 $\pm$ 30.33 b	0.74 $\pm$ 31.79 ab	1.72 $\pm$ 35.52 a	2.12 $\pm$ 34.96 Ab	الوزن النهائي(كغم)
0.65 $\pm$ 7.12 b	1.62 $\pm$ 8.62 ab	1.05 $\pm$ 12.36 a	1.87 $\pm$ 9.81 Ab	الزيادة الكلية(كغم)
0.01 $\pm$ 0.09 b	0.02 $\pm$ 0.11 ab	0.02 $\pm$ 0.16 a	0.03 $\pm$ 0.13 Ab	معدل الزيادة الوزنية اليومية(كغم)
0.02 $\pm$ 1.01	0.03 $\pm$ 1.03	0.05 $\pm$ 1.11	0.06 $\pm$ 1.06	معدل كمية العلف المتناول(كغم)
0.92 $\pm$ 11.20	2.33 $\pm$ 10.45	0.57 $\pm$ 7.03	2.21 $\pm$ 9.40	كفاءة التحويل الغذائي (كغم مادة جافة/كغم لحم)

\*الأحرف غير المتشابهة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى  $P < 0.05$

كغم) . توافقت هذه النتائج مع ما ذكره (12) إذ لم يجد أية فروق معنوية في دراسته على تأثير مستويات مختلفة (0 ، 2 ، 3 ، 4%) من الزعتر إلى علائق الحملان العواسية في الوزن النهائي. على حين اختلفت مع كل من 3 و 13 إذ حصل على اوزان نهائية متفوقة معنويا عند استخدام مسحوق جذور الزنجبيل مقارنة مع مجموعة

د- الوزن النهائي والزيادة الوزنية الكلية: The Final Weight & Total Gain

يتبين من جدول4 عدم وجود أي تفوق معنوي في الوزن النهائي بين المعاملات المضاف إليها مسحوق جذور الزنجبيل مقارنة مع مجموعة السيطرة ، ولكن المعاملة الثانية التي بلغت 35.52 كغم أعطت أعلى وزن نهائي واختلفت معنويا ( $P < 0.05$ ) مع المعاملة الرابعة (30.33

## استخدام مستويات مختلفة من مسحوق جذور الزنجبيل (*Zingiber officinale*) في تغذية الحملان

### العواسية وتأثيره في الأداء الإنتاجي

عبدالله عصام نعمان ، طاهر عبد النظيف شجاع

قسم علوم الثروة الحيوانية ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

#### الملخص

أجريت الدراسة في الحقل الحيواني لقسم علوم الثروة الحيوانية التابع لكلية الزراعة - جامعة تكريت للمدة من 2009/6/1 ولغاية 2009/8/23 . استخدم فيها 20 حملا عواسيا تراوحت أعمارها بين 3-4 أشهر بمعدل وزن ابتدائي 23.14 كغم وزعت حسب الوزن الى اربعة مجاميع ثم وضعت في أقفاص فردية في حظيرة نصف مفتوحة، غذيت المجاميع الاربعة على العلف المركز بنسبة 3.3 % من وزن الحيوان الحي وأضيف في اربعة مجاميع تغذوية مسحوق جذور الزنجبيل بكميات (0 و 5 و 10 و 15 غم / كغم مادة جافة) . لم يلاحظ أي اختلاف معنوي في الوزن الابتدائي والوزن النهائي وكمية العلف المتناول وكفاءة التحويل الغذائي والزيادة الوزنية اليومية والكلية بين المعاملات المضاف إليها مسحوق جذور الزنجبيل مقارنة مع مجموعة السيطرة. ولوحظ أن المجموعة الثانية (5 غم زنجبيل) تفوقت معنويا ( $P < 0.05$ ) على المجموعة الرابعة (15 غم زنجبيل) في الوزن نهائي (35.52 كغم) ومعدل الزيادة الوزنية اليومية (160 غم / يوم) والزيادة الوزنية الكلية (12.36 كغم).

الكلمات المفتاحية: الزنجبيل ، حملان العواسي ، الاداء الانتاجي

#### المقدمة

تسهم الثروة الحيوانية بشكل كبير في توفير الأمن الغذائي ورفع مستوى البلد الاقتصادي وذلك لما تنتم به منتجاتها من أهمية كبيرة لكونها سلعا غذائية ضرورية للاستهلاك البشري. لذا حظيت بالاهتمام مسالة تحسين كفاءة الحيوانات الإنتاجية وزيادة إنتاج اللحوم، ولوحظ إن استخدام الأعشاب والنباتات الطبية في علائق الحيوانات عامة والمجترات خاصة أعطى نتائج مشجعة في تحسين الأداء الإنتاجي للحيوانات وأيضا على صفات الحيوان التناسلية (2،1، 3، 4). كما أن استخدام النباتات الطبية كإضافات في تغذية الحيوان أدى إلى تحسين الأداء التناسلي والإنتاجي بسبب احتوائها على مواد فعالة تحسن من الظروف البيئية للقناة الهضمية وزيادة الأحياء المجهريّة المفيدة للحيوان، إذ إن بعض الإضافات الغذائية البروتينية أو بعض الإضافات الطبيعية مثل النباتات الطبية تؤدي إلى تحسن النمو وتزيد من كفاءة استغلال المواد العلفية وتحسن من خواص الذبيحة (5). ونظرا لما سبق استخدم الزنجبيل كإضافات علفية لدراسة تأثيره على الأداء الإنتاجي للحملان العواسية .

احتياجاتها الغذائية وتحقيق زيادة وزنيه قدرها 150 غم/ يوم / حيوان حسب (6) وأضيف مسحوق جذور الزنجبيل الى العليقة بكمية 0، 5، 10 و 15 غم /كغم علف مادة جافة (جدول1). وكانت العلائق متساوية في مجموع المركبات الغذائية جدول(2). كما كان الماء النظيف وقوالب الأملاح المعدنية متوفرة طيلة اليوم أمام الحيوانات. أجري التحليل الإحصائي باستخدام التصميم العشوائي الكامل Complete Randomize Design (CRD) ذو الاتجاه الواحد، ولاختبار معنوية الفروق بين المعاملات أستعمل اختبار دنكن متعدد الحدود Duncan's multiple range test (7) وأستعمل برنامج التحليل الإحصائي الجاهز (8) لتحليل البيانات وفق النموذج الرياضي الآتي:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

جدول 1: المواد العلفية المستخدمة في تكوين علائق التجربة غم/كغم

العلائق	1	2	3	4
المادة العلفية	390	385	380	375
نخالة حنطة	500	500	500	500
شعير	100	100	100	100
كسبة فول الصويا	10	10	10	10
معادن وفيتامينات	0	5	10	15
مسحوق الزنجبيل				

جدول 2: التركيب الكيميائي للمواد العلفية المستخدمة في تكوين علائق

التجربة غم /كغم \*

العلائق	1	2	3	4
التركيب الكيميائي				
مادة جافة	891.11	891.11	891.11	891.11
مادة عضوية	841.88	841.88	841.88	841.88
البروتين الخام	155.63	155.27	154.92	154.57
الألياف الخام	713	712.06	711.11	710.17
مستخلص الأثير	17.61	17.70	17.79	17.89
الطاقة الممتدة MJ/KG	11.67	11.67	11.67	11.67

(6)

9. الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية (2001). المواصفات القياسية العراقية لمياه الشرب المواصفات العراقية رقم (417).
10. **Smith, R. (2004).** Current methods in aquatic science. University of Waterloo, Canada.
11. **Whitton, B A. (1975).** River Ecology . Blackwell Scientific publication , Osrey Mead Oxford. 725 pp.
12. **World Health Organization (WHO) (2003)** . Assessing microbial safety of drinking water – Improving Approaches and Methods. TJ internatinal ,UK.
13. **Henry, J.G., and Heinke, G.W. (1996),** Environmental Science and Engineering, 2nd ed., Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ, pp 274-275.
5. **APHA, (1998).** Standard Method for the Examination of water and waste water (20<sup>th</sup> ed) A.P.H.A., 1015 Fifteen Street, N.W. Washington DC.
6. **الراوي . خاشع محمود (1989)** . المدخل الى الاحصاء , دار الكتب للطباعة والنشر - جامعة الموصل .
7. **الاعرجي ، منى فائق ( 2003 )** . أمكانية زيادة طاقة مشروع ماء الدورة ، رسالة ماجستير في هندسة البيئة ، قسم البناء و الانشاءات ، الجامعة التكنولوجية .
8. **WHO (World Health Organization). (1999).** Guideline for Drinking Water Quality, 2nd. Ed. Vol. 2. Geneva.

## Bacteriological Chemical and Physical Study For Mineral Drinking Bottled Water Circulating in Local Market in Tikrit City

**Hameed Salman Khamees<sup>1</sup> , Yasseen Hussain Owaied , Israa Hammood Abed AL-Doori**

*Biology Department , College of Education for Women , Tikrit University , Tikrit , Iraq*

### Abstract:

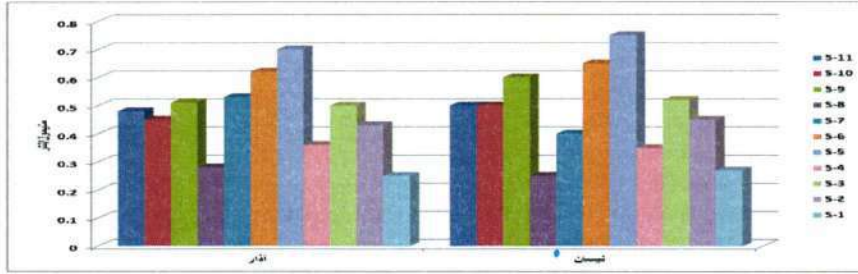
The current study included monthly collected samples of mineral water found in the local markets in the city of Tikrit. The quality of ten varieties of bottled water and comparing the results to the standard specifications for Iraqi drinking water and international standards for the World Health Organization.

Evaluation included a study of physical, chemical and microbiological factors: turbidity, total dissolved solid, electrical conductivity, pH, dissolved oxygen, total alkalinity, total hardness, calcium, sodium, chloride, sulphate, total number of bacteria, and total coliforms .

The level of quality parameters of these classes were in compliance with the different standards except for pH of one class Pearl Comparing with tap water it was found that the concentrations of turbidity, total dissolved solid, electrical conductivity, dissolved oxygen, total hardness, iron and total number of bacteria in tap water were higher than the concentrations in bottled water but didn't exceed the upper limit that allowed by the local and international specifications for drinking water.

Measurements also revealed that the values of most of the criteria listed on the packaging do not reflect the actual content of these water bottles with the exception of one class Kameran. Most of the packaging in this class has matched the actual content of the water container.

The results also showed the absence of coliform bacteria in any of the different bottled water and tap water as well as the absence of bacterial contamination in it.



الشكل(11): تركيز البوتاسيوم (ملغم / لتر) في العينات المدروسة

لتر لكل من العينة رقم (9) و(10) خلال شهري كانون الأول والثاني إذ لوحظ أن عدد البكتريا الكلي في مياه العبوات الكبيرة التي يعاد تعبئتها كان أكبر من عددها في مياه العبوات الصغيرة. وقد أظهر التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية زمنية ووجود فروق معنوية بين العينات وأن أغلبية العينات لم تتجاوز الحد المسموح به للبكتريا في المواصفات العراقية القياسية لمياه الشرب والبالغة (50) خلية / مل.

الفحوصات البكتريولوجية:  
العدد الكلي للبكتريا  
وتشير النتائج المبينة في الجدول رقم (2) إلى أن العدد الكلي للبكتريا قد تراوح بين (0 - 41) خلية / مل وأن أغلبية العينات كانت أعداد البكتريا فيها صفر خلية / مل طيلة أشهر البحث مثل العينة رقم Life(1) والعينة رقم Pearl(4) والعينة رقم Sama(5) وأن أعلى الأعداد كانت في العينة رقم (9) ALmazen و(10) ALkhalid و(11) و(ماء الصنبور) وهذا يعود إلى فحص عبوات كبيرة حجم (20)

الجدول رقم (2) يوضح عدد البكتريا (خلية/مل) في العينات المدروسة

العينات	S-11	S-10	S-9	S-8	S-7	S-6	S-5	S-4	S-3	S-2	S-1
الأشهر											
تشرين الأول	0	16	10	0	2	2	0	0	34	3	0
تشرين الثاني	20	0	19	9	0	0	0	0	1	8	0
كانون الأول	10	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0
كانون الثاني	6	2	41	0	8	0	0	0	0	0	0
شباط	0	0	0	1	0	8	0	0	0	3	0
آذار	1	15	30	0	0	3	0	0	2	0	0
نيسان	3	6	35	0	0	2	0	0	0	0	0
أيار	0	10	20	4	0	0	0	0	15	2	0
المعدل	5	7.3	19.4	1.8	1.3	1.9	0	0	7	2	0

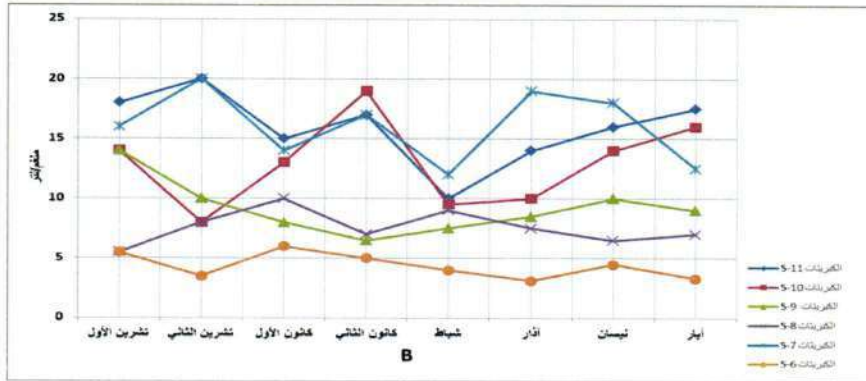
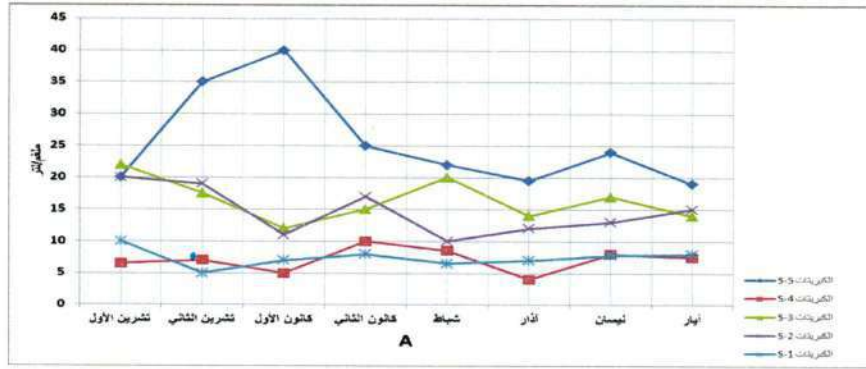
يدل على تلوثه بالفضلات البشرية وفي ذلك إشارة إلى احتمال وجود كائنات دقيقة ممرضة في المياه، ولكن عدم وجود بكتريا القولون يدل على نظافة المياه وإلى كفاءة التقنيات المستخدمة في عمليات التعقيم مثل التعقيم بالكلور والأوزون والأشعة فوق البنفسجية [13]

العدد الكلي لبكتريا القولون:  
تعتبر بكتريا القولون عن الحالة الصحية للمياه كما أنها تجهز معلومات أساسية عن نوعية مصدر المياه وتستخدم كمؤشر لكفاءة عمليات معالجة مياه الشرب [12]. وتشير نتائج الدراسة الحالية إلى عدم وجود بكتريا القولون في أي من العينات إذ أن وجود بكتريا القولون في الماء

#### المصادر

3. Mackereth, F.J.H. (1963). Some methods of water analysis for Limnologists. Fresh Biol. Assoc. Sci. pub. PP.21 – 70.
4. ASTM, American Society for Testing and Materials (1989). Annual Book of ASTM standards. water printed in Easton Md. USA. PP.1129.

1. أبو سعدة، محمد مجيد إبراهيم (2000). التلوث البيئي ودور الكائنات الدقيقة إيجاباً وسلباً، دار الفكر العربي.
2. Alabdula'aly, (2012), Microbiological quality of bottled water in Saudi Arabia, *J. Environ. Sci. Health*, A30(10), 2229-2241.



الشكل (9) A و B : التغيرات الشهرية والموقعية لقيم الكبريتات لماء العينات خلال مدة الدراسة

البوتاسيوم: الشكل (11)

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن أعلى تركيز للبوتاسيوم بلغ 0.75 ملغم / لتر كان للعينه رقم (5)Sama في شهر نيسان وأدنى تركيز بلغ 0.25 ملغم / لتر للعينه رقم (1)Life في شهر آذار والعينه رقم (8)Kameran في شهر نيسان.

وقد أظهر التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية زمانية وعدم وجود فروق معنوية بين العينات.

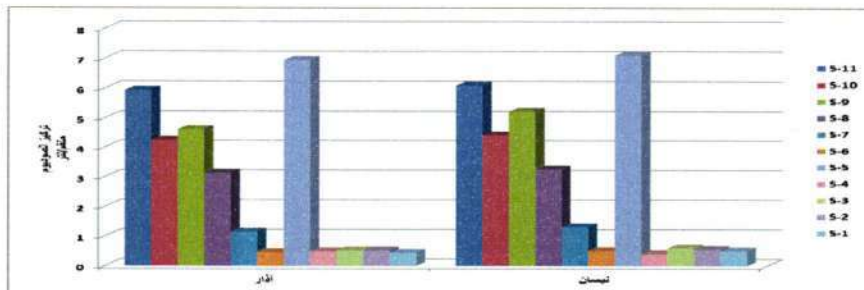
ولم تورد أي من المواصفات المحلية والدولية لمياه الشرب ذكر الحد الأعلى المسموح به للبوتاسيوم في مياه الشرب، لقد خالفت أغلب العينات تركيز البوتاسيوم المذكور على العبوة باستثناء العينه رقم(3)Rovian والعينه رقم(5)Sama .

الصوديوم: الشكل (10)

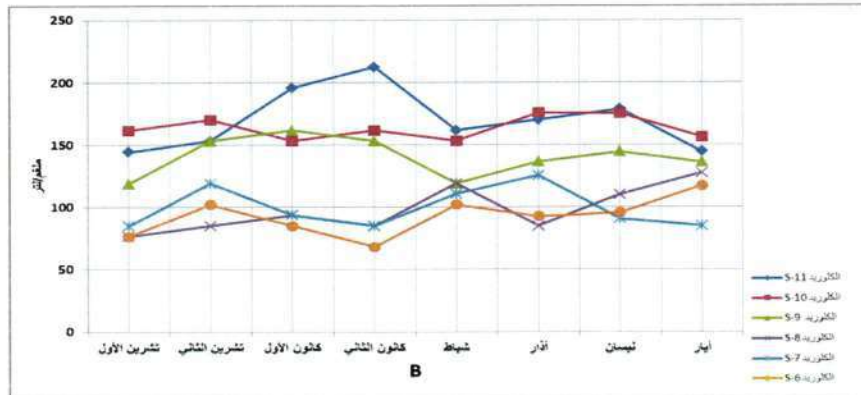
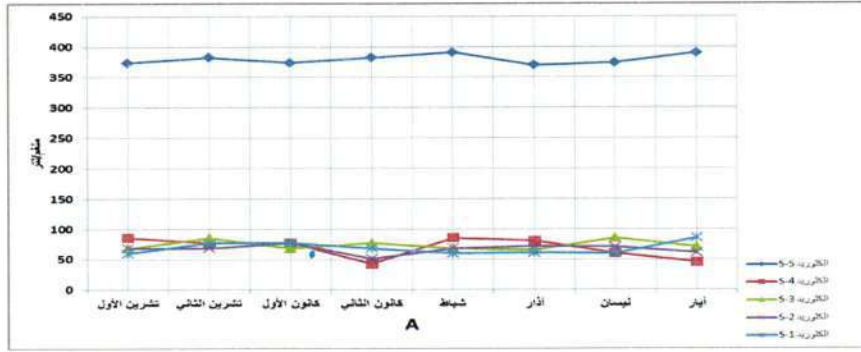
أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن أعلى تركيز للصوديوم كان في العينه رقم (5)Sama إذ بلغ 7.10 ملغم / لتر في شهر نيسان، وأن أدنى تركيز للصوديوم كان في العينه رقم (4)Pearl إذ بلغ 0.40 ملغم / لتر في شهر نيسان أيضاً.

وقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية زمانية ووجود فروق معنوية بين العينات.

وأن أغلبية العينات لم تتجاوز الحد الأعلى المسموح به لتركيز الصوديوم في المواصفات المحلية لمياه الشرب والبالغ 200 ملغم / لتر. ولقد خالفت أغلب العينات تركيز الصوديوم المذكور على العبوة باستثناء العينه رقم (4) .



الشكل(10) تركيز الصوديوم (ملغم / لتر) في العينات المدروسة

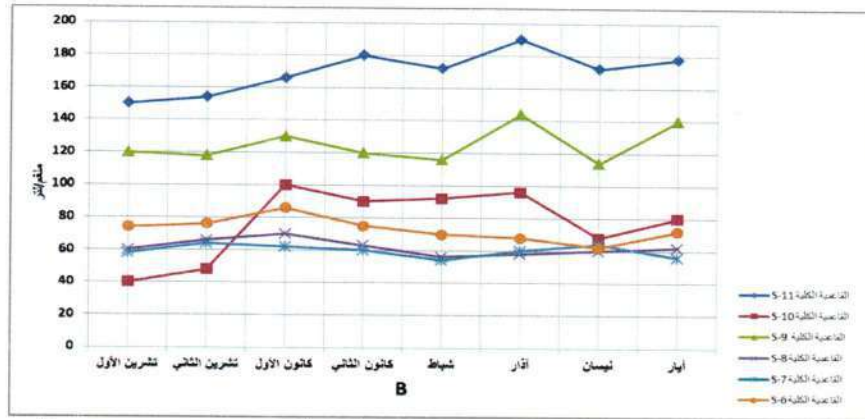
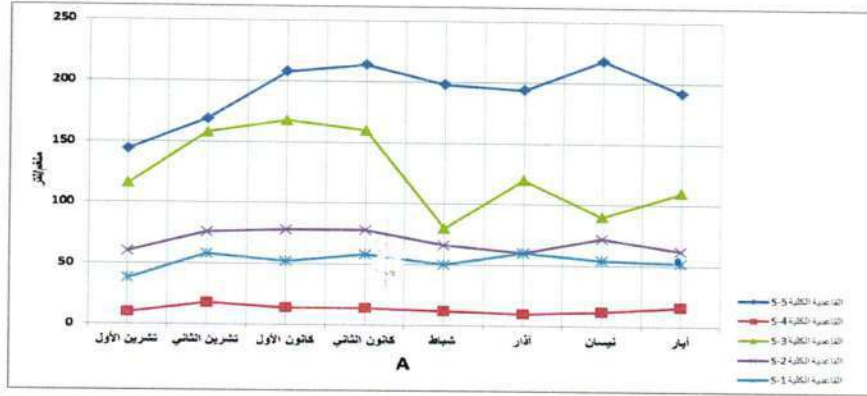


الشكل (8) A و B: التغيرات الشهرية والموقعية لقيم الكلوريد لماء العينات خلال مدة الدراسة

ويمقارنة النتائج بالموصفات القياسية العراقية لمياه الشرب ومنظمة الصحة العالمية [ 8 ] والتي حددت التركيز الأقصى للكبريتات بـ 400 ملغم / لتر والموصفات الدولية والتي حددت تركيز الكبريتات بـ 250 ملغم / لتر نجد أن جميع العينات لم تتجاوز الحد الأعلى المسموح به في هذه المواصفات، ولقد خالفت أغلب العينات التراكيز المذكورة على العيوب باستثناء العينة رقم (5) Sama إذ جاءت القيمة المقاسة في شهر نيسان مطابقة للتركيز المذكور على العبوة والبالغ 24 ملغم/لتر .

#### الكبريتات الشكل (9) A و B

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن أعلى تركيز للكبريتات بلغ 40 ملغم / لتر للعينة رقم (5) Sama في شهر كانون الأول وأدنى تركيز بلغ 4 ملغم / لتر للعينة رقم (4) Pearl في شهر آذار والعينة رقم (6) Mina في شهر شباط. وقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية زمانية ووجود فروق معنوية بين العينات.

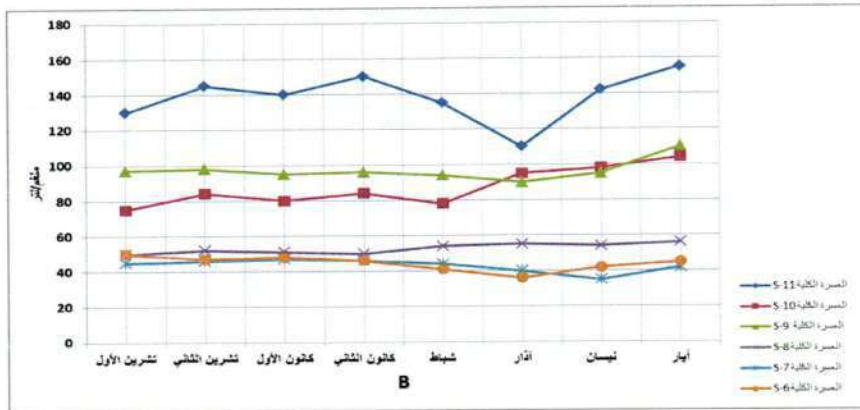
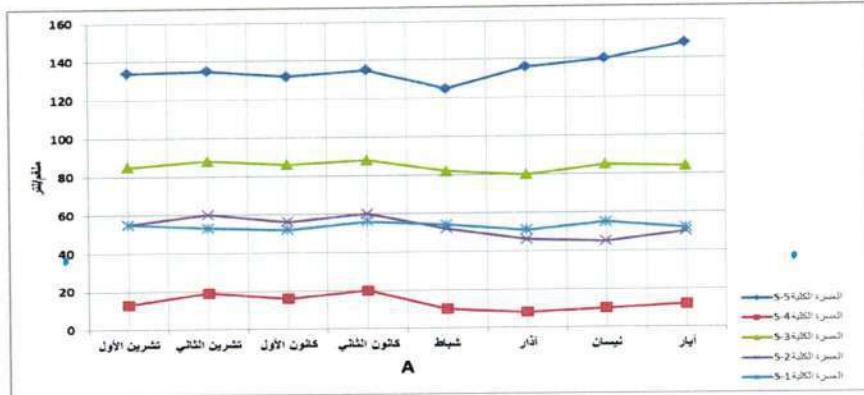


الشكل (7) A و B: التغيرات الشهرية والموقعية لقيم القاعدية الكلية لماء العينات خلال مدة الدراسة

والبالغ 600 ملغم / لتر والمواصفات الدولية والبالغ 250 ملغم / لتر وبهذا فإن العينة رقم (5) Sama تكون قد طابقت المواصفات القياسية العراقية وخالفت المواصفات القياسية الدولية. ولقد خالفت أغلب العينات التركيز المذكور على العبوات باستثناء العينة رقم (8) Kameran فقد طابق التركيز المذكور على العبوة التركيز المقاس في شهر كانون الثاني والبالغ 85 ملغم/لتر.

#### الكلوريد الشكل (8) A و B

لقد أشارت نتائج الدراسة الحالية إلى أن أعلى تركيز للكلوريد بلغ 391 ملغم / لتر للعينة رقم (5) Sama في شهر شباط وأدنى تركيز بلغ 42.5 ملغم / لتر للعينة رقم (4) Pearl في شهر كانون الثاني. إذ أظهرت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية زمانية ووجود فروق معنوية بين العينات وأن أغلبية العينات قد طابقت المواصفات القياسية لمياه الشرب العراقية ومنظمة الصحة العالمية [8]

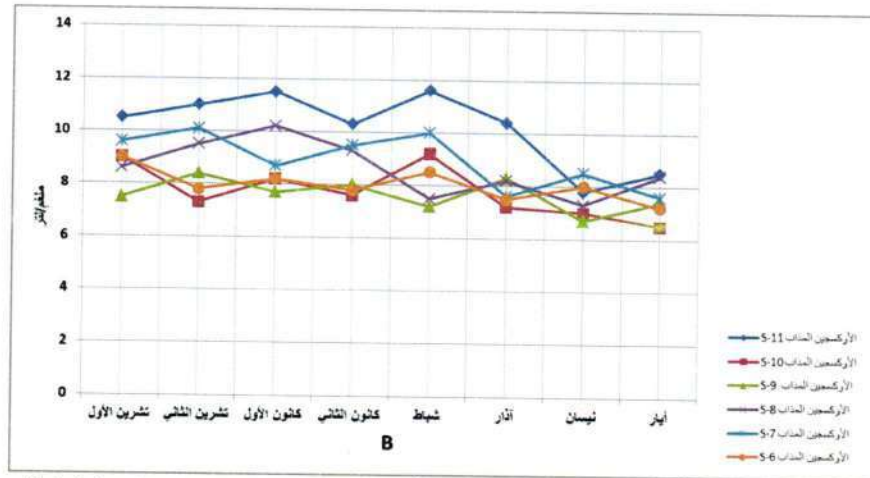
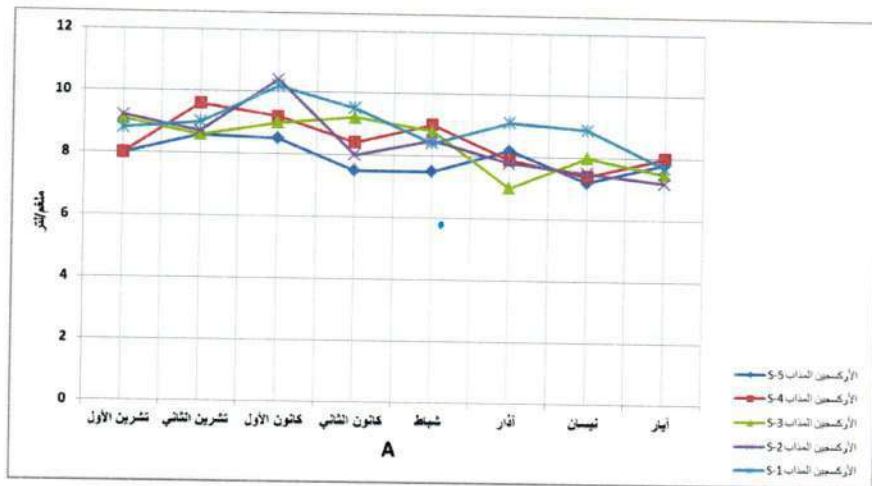


الشكل (6) A و B: التغيرات الشهرية والموقعية لقيم العسرة الكلية لماء العينات خلال مدة الدراسة

#### القاعدية الكلية الشكل (7) A و B

العراقية ومنظمة الصحة العالمية [8] وبالباغة 250 ملغم / لتر. وأن ارتفاع القاعدية لعينة رقم (5) خلال فترة الدراسة يعزى إلى ارتفاع كمية الأملاح المذابة فيها والتي تعمل على زيادة القاعدية [11]. ولم تذكر قيمة القاعدية على أي من العيوات باستثناء العينة رقم (8) Kameran وجاءت مخالفة للقيمة المقاسة في جميع الأشهر إذ كانت القيم المقاسة أقل بكثير من التركيز المذكور على العبوة والبالغ 156 ملغم/لتر.

لقد تراوحت قيم القاعدية الكلية بين أدنى قيمة لها بلغت 10 ملغم / لتر للعينة رقم (4) Pearl في شهر آذار ونيسان وأعلى قيمة لها بلغت 218 ملغم / لتر للعينة رقم (5) Sama في شهر نيسان. إذ أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية تعود إلى الزمن والعيونات وأن أغلبية العينات قد طابقت المواصفات القياسية لمياه الشرب



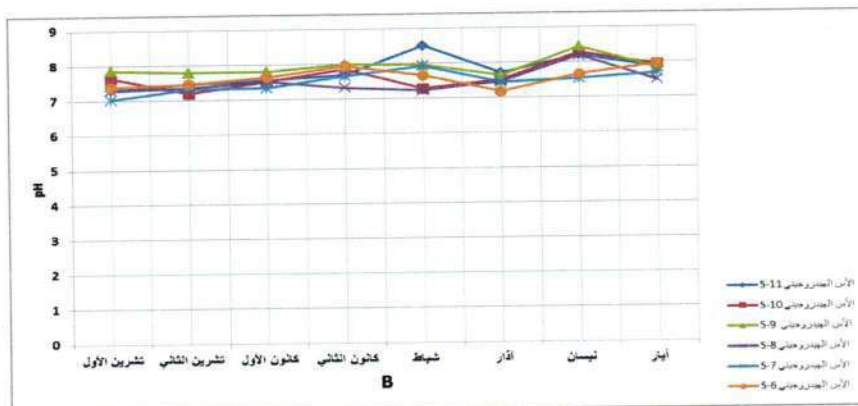
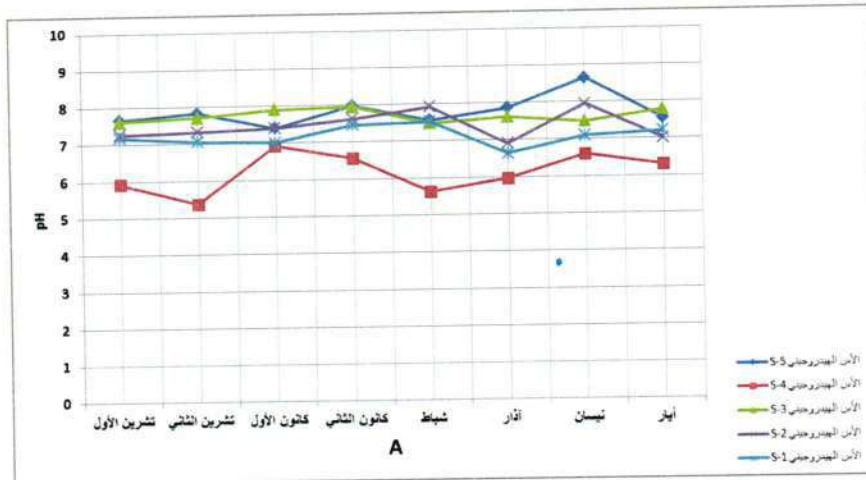
الشكل (5) A و B: التغيرات الشهرية والموقعية لقيم الأوكسجين المذاب لماء العينات خلال مدة الدراسة

العالمية [8] والبالغ 500 ملغم / لتر . ولم تذكر قيمة العسرة على أغلب العينات باستثناء عينة رقم (1) Life وعينة رقم (8) Kameran وعينة رقم (9) Almazan وقد طابقت القيمة المذكورة على العبوة القيمة المقاسة لعينة رقم (8) في شهري تشرين الأول وكانون الأول وبالغاية 50 ملغم/لتر في حين كانت القيمة المسجلة على العبوة في العينة رقم (1) 10 ملغم/لتر والعينة رقم (9) 7.2 ملغم/لتر وهي مخالفة للقيمة المقاسة.

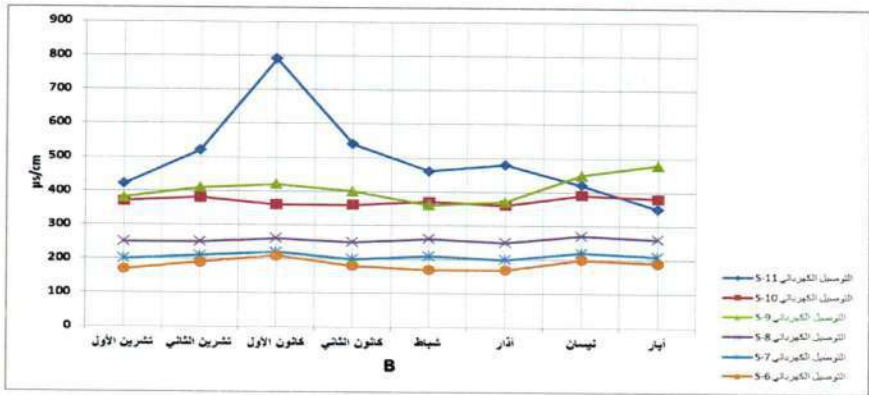
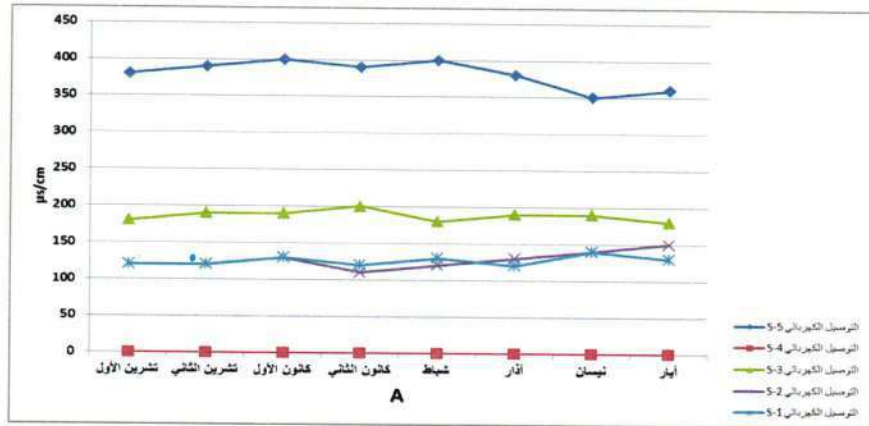
#### العسرة الكلية الشكل (6) A و B

لقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن أعلى قيمة قد سجلت للعسرة كانت 155 ملغم / لتر للعينة رقم (11) (ماء الصنوبر) في شهر أيار وأدنى قيمة سجلت للعسرة كانت 8 ملغم / لتر للعينة رقم (4) Pearl في شهر آذار.

إذ أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية في الزمن والعينات. وأن قيم العسرة لجميع العينات لم يتجاوز الحد الأعلى المسموح به في المواصفات العراقية لمياه الشرب ومنظمة الصحة



الشكل (4) A و B: التغيرات الشهرية والموقعية لقيم الأس الهيدروجيني لماء العينات خلال مدة الدراسة



الشكل (3) A و B : التغيرات الشهرية والموقعية لقيم قابلية التوصيل الكهربائي لماء العينات خلال مدة الدراسة

#### الأوكسجين المذاب الشكل (5) A و B

تكمن أهمية الأوكسجين المذاب في كونه منظماً للافعال الحيوية وهو احد العوامل الكيمياوية الأكثر حرجاً في أي بيئة مائية [10]. وقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن أعلى قيمة سجلت للأوكسجين المذاب بلغت 11.6 ملغم / لتر في شهر شباط للعينة رقم (11) (ماء الصنبور) وأدنى قيمة بلغت 6.5 ملغم / لتر في شهر ايار للعينة رقم (10) ALKhaled.

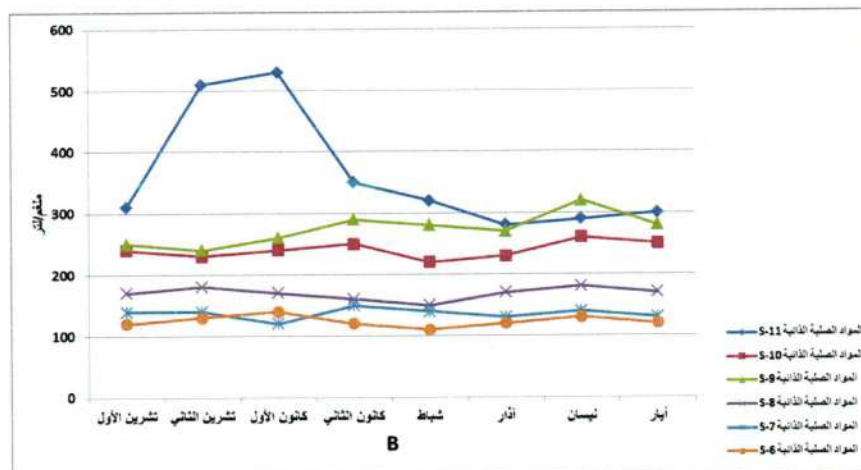
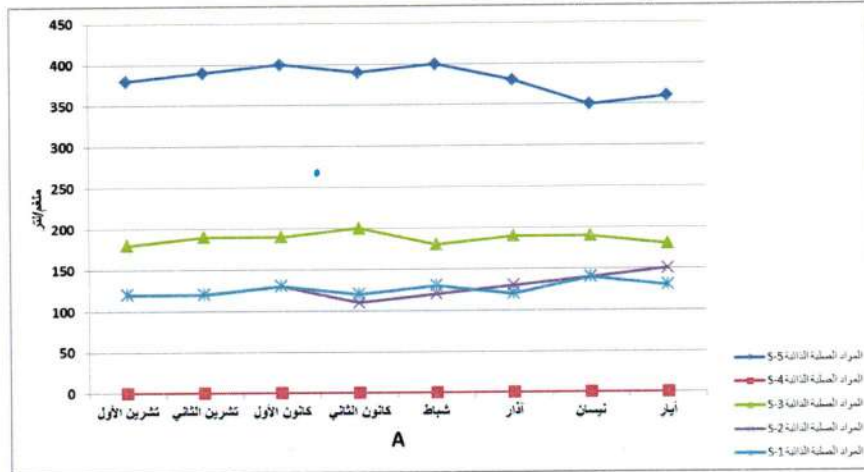
إذ يقل التركيز مع بداية الصيف وذلك يعود إلى ارتفاع درجة الحرارة وقلة ذوبان الأوكسجين في فصل الصيف. وقد بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية زمنية يعود سببها إلى تأثير الأوكسجين بدرجات الحرارة وكذلك وجود فروق معنوية بين العينات. لم يذكر تركيز الأوكسجين المذاب على أي من العيوات باستثناء العينة رقم (3) Rovian حيث بلغ التركيز المسجل على العبوة 9 ملغم/لتر وقد جاءت هذه القيمة مطابقة للتركيز المقاس في شهر تشرين الثاني.

#### الأس الهيدروجيني الشكل (4) A و B

لقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية إلى أن قيم الأس الهيدروجيني قد تراوحت ما بين أدنى قيمة لها إذ بلغت 5.36 للعينة رقم Pearl(4) في شهر تشرين الثاني وأعلى قيمة بلغت 8.65 للعينة رقم Sama(5) في شهر نيسان وبمقارنة النتائج بالموصفات العراقية لمياه الشرب رقم 417 لسنة 2001 [9] نجد أن العينة رقم Pearl(4) والعينة رقم (5) Sama قد تجاوزت الحد المسموح به للأس الهيدروجيني والبالغ (8.5- 6.5) في هذه المواصفات، وقد أظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية زمنية ومكانية بين العينات أي أن الزمن والعيوات هما المسببان في إحداث هذه الفروق. لقد طبقت أغلب العينات المحتوى المذكور على العبوة باستثناء العينة رقم (8) Kameran حيث كانت القيمة المسجلة على العبوة 6.9 بينما تراوحت القيم المقاسة بين 7.22 - 8.18.

## المؤتمر العلمي الثالث لكلية الطب البيطري / جامعة تكريت للفترة 2 و 3 ايار 2016

بأستثناء العينة رقم(7)Alain فقد طابقت المحتوى المذكور على العبوة في شهر كانون الأول والبالغ 120ملمغم/لتر في حين لم تذكر كل من عينة(1)Life وعينة(2)Tiyان قيمة للمواد الصلبة الذائبة على العبوة.



الشكل (2) A و B : التغيرات الشهرية والموقعية لقيم المواد الصلبة الذائبة الكلية لماء العينات خلال مدة الدراسة

العالمية [8]. وقد أظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية زمانية ومكانية وهذا يعني ان للزمن والعينات تأثير في إحداث هذه الفروق. ولم تورد أغلب العينات ذكر قيمة للتوصيل الكهربائي بأستثناء العينة رقم(3)Rovian والعينة رقم(8)Kameran وقد كانت قيمها مخالفة لما مذكور على العبوة إذ أن التركيز المذكور على العبوة والبالغ 46.10 مايكروسيمينز/سم في العينة(8) والعينة(3) على التوالي وهي أقل بكثير من القيمة المقاسة.

### التوصيل الكهربائي الشكل (3) A و B

لقد تراوحت قيم التوصيل الكهربائي بين أدنى قيمة لها بلغت صفر مايكروسيمينز/سم في العينة رقم (4)Pearl في شهري كانون الأول ونيسان وأعلى قيمة لها بلغت 790 مايكروسيمينز/سم في شهر كانون الأول لماء الصنبور.

ولم تتجاوز قيم التوصيل الكهربائي لجميع العينات الحد الأعلى المسموح به في المواصفات العراقية لمياه الشرب ومنظمة الصحة

تم حساب العدد الكلي لبكتريا القولون Total Coliform bacteria  
(TC) باستعمال طريقة الأنابيب المتعددة Multiple Tube  
Method وبواسطة العدد الأكثر احتمالاً Most Probable  
Number (MPN) المذكور في جمعية الصحة العامة الأمريكية [5]  
وتضم ثلاث مراحل وهي:

- 1- الفحص الافتراضي Presumptive Test.
- 2- الفحص التأكيدي Confirmed Test.
- 3- الفحص التكميلي Completed Test.

#### 6- التحليل الإحصائي:

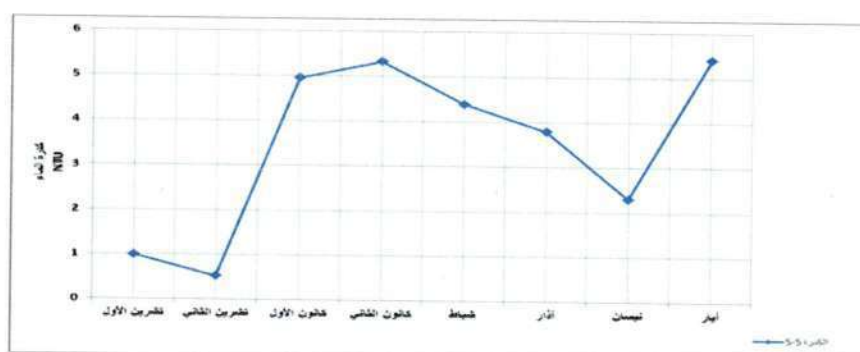
تم استخدام اختبار F لتشخيص الفروق بين العينات وفقاً للتصميم  
العامل Factrol Design الذي يتضمن تأثير عاملين في آن واحد  
هما الزمن والعينات وتم في هذا الاختبار استخدام ومقارنة النتائج تبعاً  
لمستوى معنوية 0.01 و 0.05 [6].

#### 7- النتائج والمناقشة

##### العوامل الفيزيائية والكيميائية :

##### الكدرية : الشكل (1)

لقد كانت قيم الكدرية لجميع العينات صفر نيفثالين وحدة كدرية (NTU)  
أما بالنسبة للعينات رقم (11) (ماء الصنبور) فقد تراوحت قيم الكدرية بين  
أدنى قيمة لها 0.52 (NTU) في شهر تشرين الثاني إلى أعلى قيمة  
لها بلغت 5.40 (NTU) في شهر أيار، وعلى الرغم من كون هذه  
القيمة عالية إلا أنها لم تتجاوز الحد الأعلى المسموح به في  
المواصفات العراقية لمياه الشرب 1986 والبالغ 10 وحدات (NTU)  
وبالنسبة لانخفاض الكدرية لباقي العينات فإنها تتوقف على كفاءة  
عمليات التنقية وجودة عمليات التنقية وإضافة الكلور [7] وقد طبقت  
بعض العينات المحتوى المذكور على العبوة مثل عينة رقم (2) Tiyam  
وعينة رقم (8) Kameran إذ سجلت القيمة صفر NTU في حين لم  
تذكر قيمة الكدرية في أغلب العينات الأخرى .



الشكل (1) التغيرات الشهرية والموقعية لقيم الكدرية في ماء الصنبور خلال مدة الدراسة

الأعلى المسموح به في المواصفات العراقية لمياه الشرب والبالغ 1500  
ملغم / لتر وقد أظهرت نتائج التحليل الإحصائي بموجب اختبار F عدم  
وجود فروق إحصائية معنوية بين العينات وكذلك عدم وجود فروق  
معنوية زمنية بين الأشهر أي ليس للعينات ولا للزمن تأثير يذكر في  
وجود الفروق.. لقد خالفت أغلب العينات المحتوى المذكور على العبوة

#### الصوديوم والبوتاسيوم Sodium and Potassium

قيست تراكيز الصوديوم والبوتاسيوم بواسطة جهاز المطياف الضوئي  
اللمهي (Flame photometer) وعبر عن النتائج بملغم/لتر [5].  
الفحوصات البكتريولوجية:

#### تحضير الأوساط الزرعوية Culture media preparation

حضرت الأوساط الزرعوية حسب تعليمات الشركات المصنعة وعقمت  
بالمؤسدة بدرجة حرارة (121) م° وضغط (15) باوند/انج<sup>2</sup> مدة (15)  
دقيقة.

#### وسط الأكار المغذي Nutrient Agar Medium

#### وسط ماکونکی (الصلب) MacConkey agar medium

وسط ماکونکی مفرد التركيز MacConkey broth Single  
strength

وسط ماکونکی مضاعف التركيز MacConkey broth Double  
strength

#### حساب العدد الكلي للبكتريا Total plate count (TPC)

خففت عينات المياه وذلك برج العينة بشدة ولعدة مرات ثم حضرت  
التخافيف العشرية وذلك بإضافة (1) مل من ماء العينة إلى أنابيب  
اختبار حاوية على (9) مل من محلول زنكر (6.5) غم NaCl,  
0.14غم KCl, 0.12 غم  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  في لتر واحد من الماء  
المقطر إذ تم سحب (1) مل من التخافيف  $(1 \times 10^{-1}, 1 \times 10^{-2}, 1 \times 10^{-3})$   
إلى أطباق بتري معقمة ثم صب الوسط الغذائي  
Nutrient Agar بعد أن تم تبريده إلى درجة حرارة (50) م° وحرك  
الوسط الغذائي ثم اضيف عينة الماء حركة دائرية لغرض مزج عينة  
الماء مع الوسط الغذائي بصورة جيدة ثم حضن بدرجة حرارة (35) °  
م لمدة (18 – 24) ساعة بعدها تم حساب العدد الكلي للبكتريا [5].

#### العد والكشف عن بكتريا القولون الكلية Total Coliform

#### المواد الصلبة الذائبة الكلية الشكل (2) A و B

لقد تراوحت تراكيز المواد الصلبة الذائبة بين أدنى قيمة لها بلغت صفر  
ملغم / لتر للعينات رقم (4) Pearl طيلة أشهر البحث وأعلى قيمة بلغت  
530 ملغم / لتر للعينات رقم (11) (ماء الصنبور) في شهر كانون  
الأول وبذلك تكون جميع التراكيز المقاسة لجميع العينات دون الحد

**قياس تركيز الأوكسجين المذاب (DO) Dissolved Oxygen**  
تم اتباع الطريقة المعتمدة في [3] لتحديد الأوكسجين المذاب في المياه معبراً عنها بـ (ملغم/لتر) وتستخرج النتيجة من خلال المعادلة التالية:

$$O_2 \text{ (ملغم / لتر)} = \frac{V_{Na_2S_2O_3} \times N \times 1000 \times \text{Mole wt}}{V_{\text{sample}}}$$

#### القاعدية الكلية Total Alkalinity

تم قياس القاعدية الكلية باتباع الطريقة المعتمدة في [4] في تقدير تركيز القاعدية وذلك بأخذ (50) مل من ماء العينة ثم يضاف لها دليل الميثيل البرتقالي (Methyl Orang) ثم يسح مع حامض الهيدروكلوريك (HCl) بتركيز (0.02 N) المعياري ومن ثم تحديد القاعدية الكلية عند وصول الأس الهيدروجيني pH إلى مقدار (4.2) ويعبر عنها بوحدة (ملغم كاربونات الكالسيوم / لتر)

$$\text{Total Alkalinity} = \frac{V_{\text{HCl}} \times N \times 1000 \times \text{Mole wt}}{V_{\text{sample}} \times 2}$$

#### العسرة الكلية Total Hardness

تم استخدام الطريقة المعتمدة في [4] ضمن اختبارات المياه، ثم تحديد العسرة الكلية للعينات وبعدها تم حساب العسرة الكلية باستخدام المعادلة الآتية ويعبر عنها بدلالة وحدات (ملغم كاربونات الكالسيوم/لتر).

$$\text{Total Hardness} = \frac{VEDTA \times N \times 1000 \times \text{Mole wt}}{V_{\text{sample}} \times 2}$$

#### الكلوريد Chloride

تم اتباع الطريقة المعتمدة في [4] ضمن اختبارات المياه على وفق الخطوات الآتية:

يوضع (50) مل من ماء العينة في دورق زجاجي سعة (250) مل ثم يضاف إليه (1) مل من دليل كرومات البوتاسيوم  $K_2CrO_4$  ويخلط المزيج جيداً وبعدها يتم تسحيح المزيج مع محلول نترات الفضة  $AgNO_3$  عيارية (0.025 N) لحين تحول اللون الأصفر إلى احمر فاتح ويعبر عنه بدلالة (ملغم / لتر) من خلال تطبيق المعادلة الآتية:

$$\text{Chlorinity} = \frac{V_{AgNO_3} \times N \times 1000 \times \text{Mole wt}}{V_{\text{sample}}}$$

#### الكبريتات Sulphate

اتبعت الطريقة المعتمدة في [5] وذلك بتخفيف 50 مل من العينة إلى (100) مل وأضيف إليه (5) مل من محلول Conditioning reagent أضيف بعدها كلوريد الباريوم 0.15 غرام إلى العينة ووضع على جهاز الدوار المغناطيسي وبسرعة ثابتة لمدة (4) دقائق لترسيب أيون الكبريتات (SO4) في المحيط الحامضي ثم قيست امتصاصية الناتج بواسطة جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer على طول موجي 420 نانوميتر. وحسب تركيز الكبريتات بعد تحضير محاليل قياسية مقارنة للتركيز المتوقعة في نماذج الماء وعبر عن الناتج بملغم/لتر.



الصورة رقم (1) توضح العينات المدروسة

الجدول رقم (1) يوضح أسماء العينات المدروسة ورموزها

رمزها	اسم العينة	لايف
1	Life	لايف
2	Tiyan	تيان
3	Rovian	روفيان
4	Pearl	لؤلؤة
5	Sama	سما
6	Mina	منى
7	Alain	العين
8	Kameran	كاميران
9	Almazan	المازن
10	Alkalid	الخالد
11		ماء الصنبور

#### 5- المواد وطرق العمل

##### درجة حرارة الماء Water Temperature

تم اعتماد درجة حرارة المختبر وعليه تعتبر ثابتة لجميع العينات

##### الكدرية Turbidity

تم قياس الكدرية باستخدام جهاز Turbidity Meter نوع HANA- LP 2000 ويعبر عنها بوحدة NTU (Nephelometric Turbidity Unit) نفثالين وحدة كدرية، وبمعدل قراءتين لكل عينة بعد معايرة الجهاز بمحاليل قياسية.

##### المواد الصلبة الذائبة الكلية (T.D.S) Total Dissolved Solid

تم قياس المواد الصلبة الذائبة للعينات باستخدام جهاز Meter (T.D.S) نوع Oyster الالكتروني وذلك بعد معايرته قبل الاستخدام وبمعدل قراءتين لكل عينة بدلالة ملغم/لتر.

##### قابلية التوصيل الكهربائي Electrical Conductivity

سجلت قابلية الماء على نقل التيار الكهربائي باستخدام جهاز Conductivity Meter نوع Oyster الالكتروني لقياس التوصيل الكهربائي للعينات وذلك بعد معايرته قبل الاستخدام وبمعدل قراءتين بدلالة وحدات مايكروسيمنز/سم.

##### الأس الهيدروجيني pH

تم استخدام جهاز pH meter نوع Oyster الالكتروني بعد معايرته قبل الاستخدام بمحاليل قياسية ذات أس هيدروجيني (4-9) ثم قياس الأس الهيدروجيني للعينات وبمعدل قراءتين.

## دراسة بكتريولوجية كيميائية وفيزيائية لمياه الشرب المعدنية المتداولة في الأسواق المحلية لمدينة تكريت

حميد سلمان خميس ، ياسين حسين عويد ، أسراء حمود عبد

قسم علوم الحياة ، كلية التربية للبنات ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

### 1- الملخص

تضمنت الدراسة الحالية جمع عينات شهرية من أصناف المياه المعدنية المعبأة المتداولة في الأسواق المحلية في مدينة تكريت وتم تقييم جودة عشرة أصناف من المياه المعبأة بالإضافة إلى ماء الصنبور ومقارنة النتائج بالموصفات القياسية لمياه الشرب العراقية والموصفات الدولية لمنظمة الصحة العالمية وتضمن التقييم دراسة العوامل الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية التالية: الكثرة، المواد الصلبة الذائبة ، التوصيل الكهربائي، الأس الهيدروجيني، الأوكسجين المذاب، القاعدية الكلية، العسرة الكلية، الصوديوم، البوتاسيوم، الكلوريد، الكبريتات، والتعداد الكلي للبكتريا وبكتريا القولون. وقد بينت نتائج الدراسة أن مستويات معايير الجودة في مياه الأصناف المدروسة كانت مطابقة للمواصفات القياسية المحلية والدولية لمياه الشرب باستثناء الأس الهيدروجيني في صنف واحد هو اللؤلؤة Pearl . وبمقارنة جودة المياه المعبأة بماء الصنبور وجد أن تراكيز اغلب المعايير في ماء الصنبور أعلى من تراكيزها في المياه المعبأة إلا أنها لم تتجاوز الحد الأعلى المسموح به في المواصفات المحلية والدولية لمياه الشرب. كما كشفت القياسات أن قيم معظم المعايير المذكورة على العبوات لا تعكس المحتوى الحقيقي لمياه هذه العبوات باستثناء صنف واحد هو كاميران Kameran فان أغلب المعايير المذكورة على العبوة في هذا الصنف قد طابقت المحتوى الحقيقي لمياه العبوة. وقد كشفت القياسات عدم وجود بكتريا القولون في أي من أصناف المياه المعبأة وكذلك في ماء الصنبور دلالة على عدم وجود تلوث جرثومي فيها. الكلمات المفتاحية: المياه المعدنية ، كيميائية ، فيزيائية ، بايولوجية.

### 2- المقدمة

نظراً لما للمياه من أهمية خاصة تفرضها حاجة الإنسان، وضرورة خلو هذه المياه من المواد الكيميائية والأحياء المجهرية الخطرة على الصحة العامة، لذلك يجب أن تكون المياه المجهزة للشرب خالية من المواد المسببة لهذه المخاطر، كما يجب أن تكون هذه المياه مستساغة وتمتاز بخلوها من الطعم واللون والرائحة غير المرغوب فيها [1] . وقد ازداد استهلاك مياه الشرب في السنوات الأخيرة و سبب هذه الزيادة هو أهمية مياه الشرب للصحة، وكذلك ازداد عدد مستهلكي مياه الشرب المعبأة في قناني بمقدار ثلث الجنس البشري بسبب عدم وجود مياه عذبة للشرب. وهناك أسباب مختلفة لشراء مياه الشرب المعبأة في قناني ومنها النوعية السيئة لمياه الصنبور في بعض المناطق فضلاً عن تزايد الجهل بمزايا مياه الشرب إلى حد أنه يتم شرب هذه المياه فقط لإرواء العطش [2].

### 3- أهداف الدراسة:

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم جودة عشرة أصناف من مياه الشرب المعبأة تسعة منها منتجة محلياً في العراق وصنف واحد مستورد والمتداولة في أسواق مدينة تكريت وقد تضمن التقييم العناصر التالية:

1. دراسة الخصائص الفيزيائية والكيميائية والبكتريولوجية لأصناف المياه المعبأة وعلى وجبات مختلفة وبفترات زمنية مختلفة.

2. مقارنة النتائج ببعض المواصفات المحلية والدولية لمياه الشرب المعبأة ومقارنة النتائج بمحتوى المياه المثبتة على العبوات.

3. تقييم الاختلاف في جودة المياه بين عبوات كل صنف وتقييم الاختلاف بين جودة المياه المعبأة ومياه الصنبور.

### 4- طريقة جمع العينات

تم الحصول على عبوات مياه الشرب المعبأة من بعض المحلات التجارية في مدينة تكريت بشكل عشوائي مع الأخذ بنظر الاعتبار حداثة إنتاج العبوات لتفادي احتمالية تغير بعض خصائص المياه مع اقتراب انتهاء الصلاحية وتضمنت العبوات 10 أصناف كانت 9 منها منتجة محلياً وصنف واحد مستورد هو صنف Sama. جميع العبوات كانت من حجم 0.5 لتر ماعدا صنفين كان أحدهما من حجم 1.5 لتر والآخر من حجم 1 لتر وقد تم اختيار عبوات من حجم 20 لتر للصنفين (9) و (10) خلال شهري كانون الأول وكانون الثاني. وخلال مدة الدراسة تم شراء 5 عبوات من كل صنف شهرياً وقياس المعايير الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية بواقع مرتين لكل عبوة للتأكد من دقة القياس. وتمت جميع القياسات في مختبرات كلية التربية للبنات/ جامعة تكريت وتوضح الصورة رقم (1) العينات المدروسة و يوضح الجدول رقم (1) أسماء العينات المدروسة ورموزها.

## Effect added the mixed commercial enzyme (SAFIZYM J.P 2500) On Common Carp *Cyprinus Carpio* L. Digestibility And Evacuation Feed

Nuha Hameed Albassam<sup>1</sup>, Saddam Mohamad Hassan<sup>1</sup>, Faroq Mahmood Alhabeeb<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Animals Resource Dep. Agriculture college, Tikrit University, Tikrit, Iraq

<sup>2</sup> Food Science Dep., Agriculture college, Tikrit University, Tikrit, Iraq

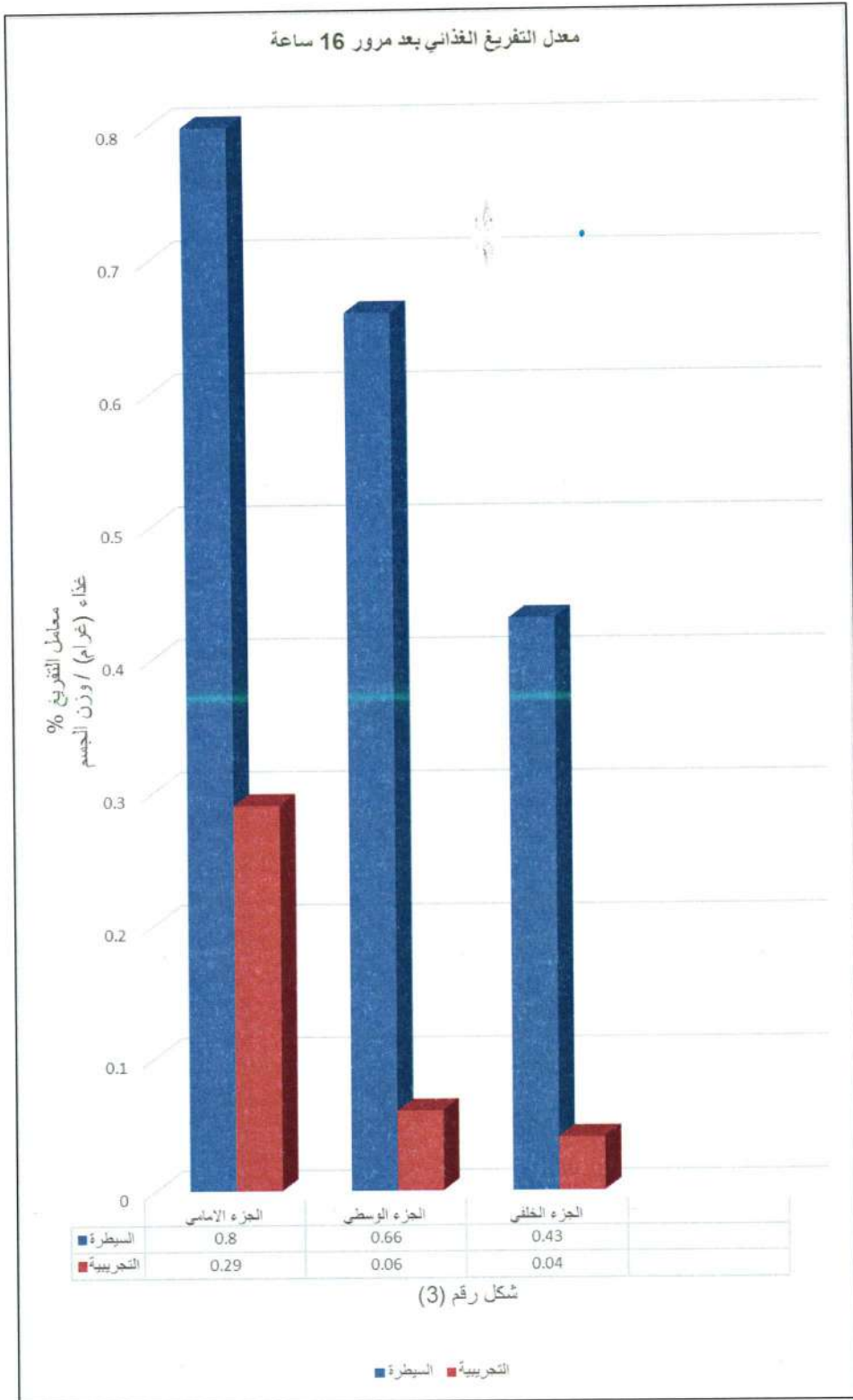
\* [nuhaalbassam@yahoo.com](mailto:nuhaalbassam@yahoo.com) [saddam.iraq1@yahoo.com](mailto:saddam.iraq1@yahoo.com) [faroq1956@gmail.com](mailto:faroq1956@gmail.com)

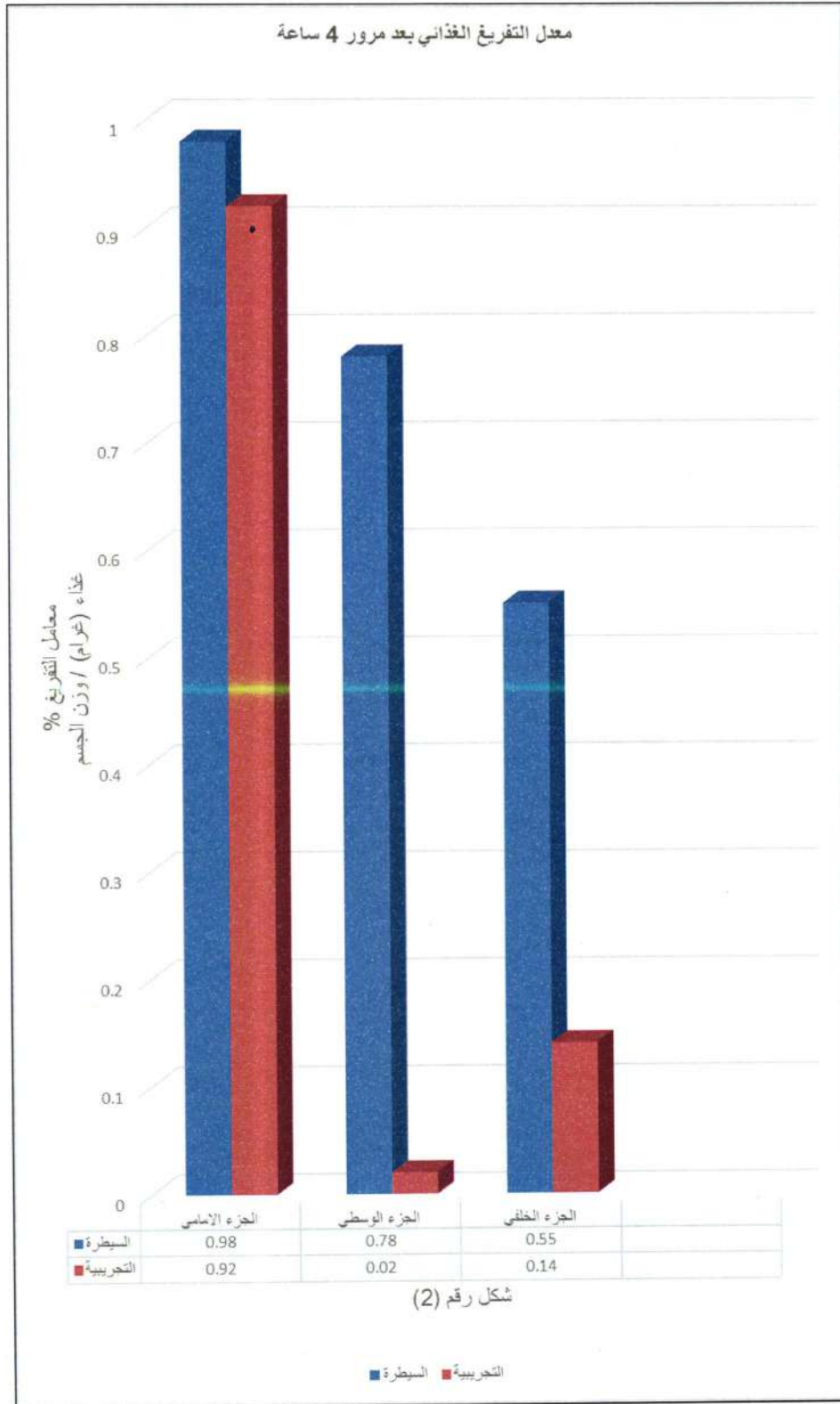
### Abstract

Total digestibility and evacuation food rate was estimate *Cyprinus carpio* weighted (75 ± 2) g cultured in glass aquariums in fish Laboratory of the Animal Resource Department - College of Agriculture – Tikrit University for the period from 01/04/2013 till 30/5 / 2013 as it used commercial enzyme mixture (SAFIZYN JP 2500) by two levels (2.5 0.5)% in the result showed a significant increase in the overall digestion in diets content enzyme to (72,80) % concentration (2.5, 5)% enzyme respectively, while the total digestion for experimental diet is 54% . Results of the experiment show that the addition of the enzyme concentration of 5% in the diet help fish to good performance diets experiences so that food volumes fell in the front, middle and rear morally in the diets treatment assay, especially after 16 hours to give the best evacuation diet compared to control.

المصادر

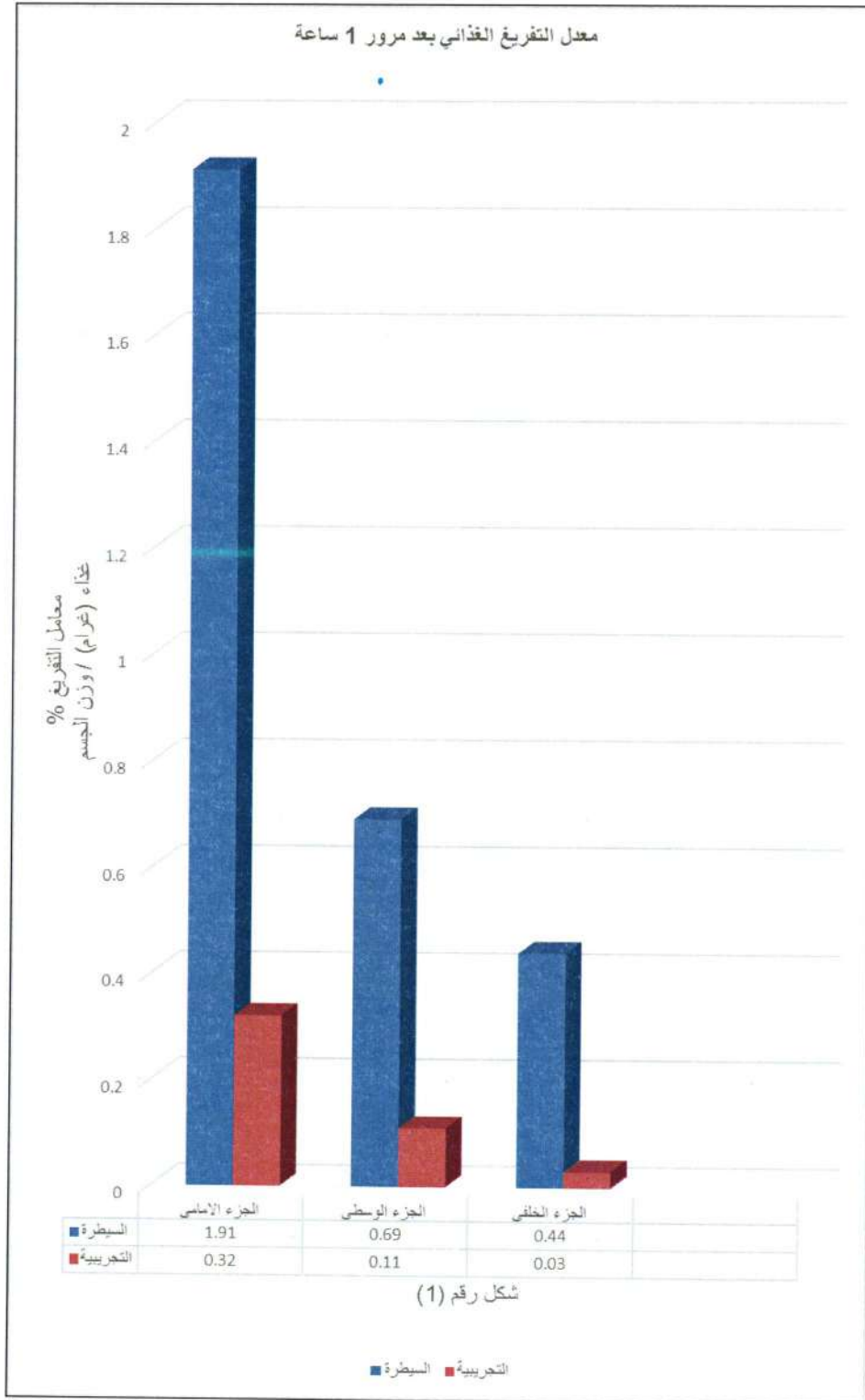
1. **FAO, (2012)**, The state of the world fisheries and aquaculture 2012. FAO, Rome Available from: [www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf](http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf).
2. **Kumar, V., Sinha, A.K., Makkar, H.P.S. De Boek, G. & Becker, K. (2012)** phytate in fish nutrition .J.Anim. Physiol. Anim. Nutr., 96, 335-364.
3. **Jiang, T.T., Feng, L., Liu, Y., Jiang, W.D., Jiang, J., Li, S.H., Tang, S.Y. % Zhou X.Q. (2014)** Effects of exogenous xylanase supplementation in plant protein-enriched diet on growth performance, intestinal enzyme activities and microflora of juvenile carp (*Cyprinus carpio* var.jian) Aquacult.Nutr., 20, 632-645.
4. **عبد الرحمن، نسرین محي الدين، (2008)**. انتاج معزز حيوي سمكي ودوره في نمو صغار اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة - جامعة السليمانية، عدد الصفحات 141 ص.
5. **البصام، نهى حميد صادق، (2011)**. تأثير إضافة مسحوق بذور البطيخ الشوكي *Cucumis melo* بنسب مختلفة على معامل الهضم في علائق اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* ، مجلة تكريت للعلوم الصرفة المجلد (16) العدد (3).
6. **البصام، نهى حميد صادق، (2016)**. تأثير إضافة مسحوق بذور الباباي *Carica papaya* المجففة في النسبة المئوية لمعامل الهضم ونسبة التفريغ الغذائي في أسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* ، مقبو للنشر في مجلة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (16) العدد (4).
7. **محيسن، عطا الله علي، (1980)** الأسماك البحرية (صناعة وغذاء)، المؤسسة العامة للأسماك / وزارة الزراعة، 158 صفحة.
8. **A.O.A.C 2000**, Association of Official Analytical Chemists, 14<sup>th</sup> ed. Official method of analysis. Inc.S. Willims, (ED). U.S.A. 1141.pp.
9. **Viola, S., Mokady, S., Rappaport, U., Arieli, Y. (1982)**: Partial and complete replacement of fishmeal by soybean meal in feeds for intensive culture of carp. Aquaculture 26:223-236.
10. **Furukawa, A. and Tsukahara, H., (1966)** on the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. Bull. Jap. Sci. fish. 32(6): 502-507.
11. **Talbot, C. (1985)** Laboratory methods in fish feeding and nutritional studies in fish engineering, tytler, p. and (eds) 125-155 pp.
12. **Hyslop .E.J.(1980)**. Stomach content analysis – are view of methods and their application .Fish Boil. 17,411-429.
13. **Talbot, C. and P.J. Higgins, (1982)**. Observations on the gall bladder of juvenile Atlantic salmon *Salmo salar* L. in relation to feeding. J. Fish Biol. 21:663-669
14. **الراوي، خاشع محمد وخلف الله عبد العزيز محمد، (1980)**. تصميم وتحليل التجارب الزراعية، دار الكتب والطباعة والنشر - جامعة الموصل، 488 صفحة.
15. **مريع، نجيب مهدي، (2016)**. اتصال شخصي - رسالة ماجستير غير منشورة - قسم الثروة الحيوانية - كلية الزراعة - جامعة تكريت.
16. **Yaldirim, Yasemin bircam and Fund Turan, (2010)**. Effects of Exogenous Enzyme Supplementation in Diet on Growth and Feed utilization in African catfish *Clarias garipinus*. Journal of Animal and Veterinary Advances 9(2): 327-331. 2010. ISSN:1680-5593.
17. **الحبيب، فاروق محمود كامل، نهى حميد البصام، (2011)**. دراسة معامل الهضم الكلي ومعامل هضم البروتين والدهن لأربعة أنواع من المواد العلفية في كفيات اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* ، مجلة تكريت للعلوم الصرفة المجلد (16) العدد (3).
18. **محمد، محمود احمد والصفو رغد جبار محمد، (2013)**. تأثير إضافة بعض المعززات الحيوية probiotic في العليقة على أداء اسماك الكارب الشائع في الاحواض الزجاجية. مجلة زراعة الراقدين، المجلد (1) العدد (2).
19. **Bogevik, Andre, S.. (2015)**. Xylanase supplementation in fish feed. Report Nutrition And Feed Technology p (10).
20. **Erum, Shazia, Rehana Kausar, Safia Ahmed, Zubair Anwar and Jabar Zaman Khan Khattak, 2014**. Effect of Enzyme Supplementation in Diet for the Growth of Channel Catfish. Department of Microbiology, Quaid-i-Azam University, Department of Bioinformatics and Biotechnology, International Islamic University, Islamabad, Pakistan. Current Research Journal of Biological Sciences 6(3): 112-116, 2014





المستخدمة (تعتبر اسماك هاضمة بشكل جيد لاحتواء قناتها الهضمية على انزيمات هاضمة للدهون والكربوهيدرات).

مع ما توصل اليه [20] ، أستخدم انزيم Lactase بتغذية أسماك الجري catfish في باكستان لتحسين القيمة الغذائية للعلائق وبالتالي خفض ثمنها من خلال زيادة معامل هضم المواد الأولية الخام



وانتقلت ايضا مع ما توصل اليه [16] عند استخدامه المكملات الانزيمية في علائق تغذية اسماك الجري الافريقي African catfish والتي أدت الى تحسن كبير في أداء النمو ، وتتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه [17] عند دراسة معامل الهضم الكلي ومعامل هضم البروتين والدهن لأربعة أنواع من المواد العلفية في كفيات اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* ، كما تتفق هذه النتائج الى ما توصل اليه [18] واللذان اشارا الى ان إضافة المعززات الحيوية في عليقة اسماك الكارب أدى الى تحسين معايير النمو من خلال تحسين معاملات الهضم. أدى هذا الاستخدام للانزيمات في معامل الهضم الى تحسين أداء العلائق وبالتالي زيادة الاستفادة من الغذاء المأكول والمهضوم وتقليل الخسائر في الغذاء غير المهضوم مما يحافظ على تقليل مخاطر التلوث البيئي وكذلك تقليل أسعار تكلفة تغذية الأسماك من خلال زيادة معامل الهضم وهذا يتفق مع ما توصل اليه [19].

#### ثانياً: معدلات التفريغ الغذائي

أوضحت نتائج معامل الهضم الكلي الظاهري زيادة في معامل الهضم بزيادة تركيز الانزيم حيث تم استخدام تركيز 5% من الانزيم في تجارب التفريغ الغذائي كما مبين في الجدول رقم (2) والشكل رقم (1) اذ ان محتوى القناة الهضمية في الجزء الامامي (المعدة) والوسطي والخلفي (الامعاء) لعينة السيطرة كان (1.91, 0.69, 0.44)% على التوالي ، في حين كانت معدلات العينة التجريبية منخفضة في الجزء الامامي والوسطي والخلفي اذ بلغت (0.32, 0.11, 0.03)% على التوالي وقد يعود ذلك الى عامل الاستساغة حيث يقل معدل الغذاء المتناول اذا شعرت الأسماك بوجود أي مادة مضافة ويحتاج وقت لأجل التأقلم على العليقة الجديدة مما يخفض من تناول الغذاء وينعكس ذلك على محتوى الأمعاء منه .

جدول رقم (3) نسب التفريغ الغذائي في اجزاء القناة الهضمية منسوبة الى وزن الجسم الرطب

الجزء الخلفي (الامعاء)	الجزء الواسطي (الامعاء)	الجزء الامامي (المعدة)		
من القناة الهضمية %	من القناة الهضمية %	من القناة الهضمية %		
f 0.44	d 0.69	a 1.91	سيطرة	1 ساعة
g 0.03	g 0.11	f 0.32	تجريبية	
f 0.55	c 0.78	b 0.98	سيطرة	4 ساعة
g 0.14	g 0.02	b 0.92	تجريبية	
f 0.43	d 0.66	c 0.8	سيطرة	16 ساعة
g 0.04	g 0.06	g 0.29	تجريبية	

\* الحروف المتشابهة لا توجد فروق معنوية.

\*\* الحروف المختلفة وجود فروق معنوية عند مستوى 0.05.

والوسطي والخلفي للعليقة التجريبية التي أظهرت انخفاض معنوي مقارنة بعليقة السيطرة ويعود ذلك الى ان الانزيم الهاضم المضاف عمل على زيادة هضم المواد الكربوهيدراتية في العلائق المستخدمة مما سرع من مرور الغذاء في القناة الهضمية ، في حين احتفظت الأسماك بكمية من الغذاء في الجزء الامامي والوسطي والخلفي للعليقة التجريبية ويعود ذلك الى انخفاض في معامل الهضم الذي أخر وقلل من سرعة مرور الغذاء في الأجزاء المختلفة من القناة الهضمية وتتفق هذه النتائج

جدول (2) نسب معامل الهضم الكلي الظاهري لعلائق التجربة

النسبة المئوية لمعامل الهضم الكلي الظاهري	النسبة المئوية للزيادة بعد الهضم	
c 50.013	0	مجموعة السيطرة
b 72.32	b64.64	المجموعة التجريبية
a 80.0	a 60	خليط أنزيم بنسبة 2.5%
		خليط أنزيم بنسبة 5%

الجدول رقم (2) يوضح نسب معامل الهضم الكلي الظاهري لعلائق اسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* الحاوية على بعض المصادر النباتية والميكروبية.

ان معامل الهضم الكلي الظاهري قد تحسن معنوياً عند إضافة خليط انزيم (SAFIZYN J.P 2500) التجاري مقارنة بعليقة السيطرة، حيث أظهرت النتائج ان معامل الهضم ارتفع عند إضافة تركيز 2.5 % من المضافات وبلغ نسبة 72.32 % مقارنة بعليقة السيطرة التي كان معامل هضمها 50.013 % ، تحسنت نسبة معامل الهضم الكلي الظاهري بزيادة نسبة الاضافة الى 5% من الانزيم وبلغ نسبة 80.0% في العليقة مقارنة بعليقة السيطرة التي كان معامل هضمها 50.013%.

أظهرت النتائج ان إضافة خليط المركز الأنزيمي ( SAFIZYN J.P 2500) التجاري بنسب ( 2.5 ، 5 ) % تحسن معامل الهضم بنسبة (44.6 ، 60) % وعلى التوالي ، تبين هذه النتائج ان تركيب خليط الانزيم هاضم جيد لبعض الكربوهيدرات المعقدة ، اذ أدت اضافته الى تحسين معامل هضم تلك العلائق ، وتتفق النتائج الى ما توصل [15] في تحسين معامل هضم اغنام العواسي بإضافة هذا الانزيم في الاعلاف المقدمة لها حيث تشير محتويات تركيبة الانزيم احتوائه على انزيم Cellulases وانزيم Xylanases اللذين يعملان على الكربوهيدرات المعقدة وخاصة الرابطة من نوع  $\beta$  (1-4) ،  $\alpha$  (1-6) ،

وخفف المحلول في دورق حجم 250 مل بواسطة الماء المقطر وتم قراءة الطول الموجي على 350 نانومتر وحسب النتائج النهائية بواسطة المعادلة التالية:

$$Y = 0.2089 X + 0.0032$$

حيث ان:

(Y) الامتصاصية على طول موجي (350 nm)

(X) تركيز اوكسيد الكروم ملغم/100 مل

تغذى الأسماك على العلائق في الصباح الباكر ويترك الغذاء لمدة ساعتين لإعطاء فترة زمنية كافية للأسماك لتناول غذائها، ثم يسحب الغذاء غير المأكول بطريقة السيفون وفي صباح اليوم الثاني تجمع الفضلات بطريقة السيفون أيضاً وتكرر هذه العملية لحين جمع أكبر كمية من الفضلات و يتم تجفيفها هوائياً لحين إجراء اختبار معامل الهضم عليها باستخدام الصيغ التي ذكرها [11] لاستخراج معامل الهضم الكلي الظاهري (TADC) Total Apparent Digestibility Coefficient وحسب المعادلة التالية:

معامل الهضم الكلي الظاهري = 100 -

$$\left( \frac{\text{تركيز Cr203 في الغذاء}}{\text{تركيز Cr203 في الفضلات}} \times 100 \right)$$

4- معدل الإفراغ الغذائي Evacuation Rate

استخدمت الاسماك المؤقلمة والمستخدمة في تجارب قياس معامل الهضم لإنتاج الشق الثاني من التجربة. اجريت عملية تجويع لها لمدة ثلاثة ايام لغرض افراغ القناة الهضمية من المحتويات السابقة للتجربة. قدم الغذاء لحد الاشباع والمحتوي على صبغة الكارمين الحمراء بنسبة 1% حسب الطريقة التي ذكرها [12] وتركت الاسماك لتناول غذائها لمدة ساعة، وسحب الغذاء غير المأكول بواسطة السيفون. اجريت عملية القتل المتتالي (Serial slaughter) وبمكررات ثلاث على فترات زمنية (16,4,1) ساعة.

جمدت الاسماك بعد القتل مباشرة على درجة (-18±2) م° للمساعدة في الحصول على الغذاء الموجود في القناة الهضمية بشكل كتلة واحدة يسهل جمعها ووزنها [13].

استخرجت القناة الهضمية وقسمت الى ثلاث مناطق متساوية تم وزن الغذاء المستخرج من كل جزء من القناة الهضمية واجريت عملية حساب وزن الغذاء الجاف الى وزن الاسماك الجاف ولقترات زمنية مختلفة وذلك لحساب معدل الإفراغ الغذائي.

#### التحليل الاحصائي

استخدم التصميم العشوائي البسيط لإنتاج التجربة وحللت النتائج احصائياً باستخدام اختبار دنكن وحسب ما ورد في [14] وتم اختبار الفروق باستخدام برنامج SAS-2000.

#### النتائج والمناقشة

أولاً: قياس نسب معامل الهضم الكلي الظاهري

استعملت الطرائق القياسية في تقدير النسبة المئوية للرطوبة، البروتين، الدهن والرماد لكل من العلائق المصنعة والمواد العلفية الأولية المستخدمة في تحضير تلك العلائق حسب ما ورد في [8].

#### 2- التغذية:

غذيت اسماك التجربة على علائق تم شرائها من السوق المحلي من انتاج معمل علف (هولير) في محافظة أربيل وكان تركيبها الكيميائي كما هو موضح في الجدول رقم (1) وحسب ما ذكر [9].

جدول (1) المكونات والتركيب الكيميائي للعليقة المستخدمة في التجربة

مكونات العليقة	النسبة المئوية %
مسحوق اسماك محضر من منهادين، 61% بروتين	25
فول الصويا ، 44% بروتين	17
حنطة	10
شوفان	47
مثيونين	0.15
معادن / فيتامينات	1
المجموع	100.15
التركيب الكيميائي	النسبة المئوية %
الرطوبة	13.0
بروتين	24.0
دهن	3.7
كربوهيدرات	59.3
المجموع	100

\* [9]

استخدم اوكسيد الكروم الأخضر Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> بنسبة 1% من وزن العلائق الجافة كدليل لاختبار معامل هضم العلائق المقدمة للأسماك وذلك بإعادة طحن العلائق مع اضافة كمية اوكسيد الكروم، ثم اضيف الماء بنسبة (35-40) % من الخليط واعيد تشكيل المصبغات باستخدام ماكينة ترم لحم كهربائية لتشكيل المصبغات (pellets) التي جففت هوائياً كعلائق سيطرة (control) خالية من أي إضافة انزيمية. اضيف انزيم (SAFIZYN J.P 2500) التجاري الى مكونات العليقة بمسئوتين (2.5، 5) % في اختبارات نسبة معامل الهضم، وبالمواصفات الآتية:

#### \* Main Activity:

B-gluconases (EC 3.2.1.6) : 1400 000 B-glu/kg

#### \* Additional Activities:

Xylanases (EC 3.2.1.8) : 640 000 Xyl/kg

Cellulases (FPases-EC 3.2.1.4) : 5 000 U.FPase/kg

في حين استخدمت نسبة 5 % في العلائق المستخدمة في تجارب معدل التفريغ الغذائي لإعطائها نتائج جيدة في معامل الهضم الكلي الظاهري.

#### 3- قياس نسبة معامل الهضم:

قدرت نسبة أوكسيد الكروم في الفضلات اعتماداً على المعادلة التي ذكرها [10] باستخدام جهاز كدال حيث تم إضافة 50 ملغم لكل 5 مل من حامض النتريك المركز في دورق الهضم وسخن لحين وصول المحلول الى لون رائق اخضر شفاف وبعد تبريده تم إضافة 3 مل من حامض البيروكلوريك ثم سخن المحلول الى ان تحول الى اللون الأصفر مع ظهور هالة حمراء في اعلى المحلول، بعد ذلك غسل

## تأثير إضافة خليط الانزيم التجاري (SAFIZYN J.P 2500) على النسبة المنوية لمعامل الهضم وفي نسبة التفريغ الغذائي لأسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio*

نهى حميد صادق البصام<sup>1</sup>، صدام محمد حسن<sup>1</sup>، فاروق محمود كامل<sup>2</sup>

<sup>1</sup>قسم الثروة الحيوانية، كلية الزراعة، جامعة تكريت، تكريت، العراق

<sup>2</sup>قسم علوم الاغذية، كلية الزراعة، جامعة تكريت، تكريت، العراق

\*[saddam.iraqi@yahoo.com](mailto:saddam.iraqi@yahoo.com) [nuhaalbassam@yahoo.com](mailto:nuhaalbassam@yahoo.com) [faroq1956@gmail.com](mailto:faroq1956@gmail.com)

### الملخص

تم قياس النسبة المنوية لمعامل الهضم الكلي الظاهري ونسبة التفريغ الغذائي لأسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio* بوزن (2±75) غم المرءة في احواض زجاجية في مختبر الاسماك التابع لقسم الثروة الحيوانية - كلية الزراعة - جامعة تكريت للفترة من 2013/4/1 ولغاية 2013/5/30. استخدم خليط الانزيم التجاري (SAFIZYN J.P 2500) بنسبة (2.5، 5) % في تجارب معامل الهضم، أظهرت النتائج ارتفاعاً معنوياً في معامل الهضم الكلي الظاهري للعلائق (72، 80) % التي اضيف لها خليط الأنزيم بتركيز (2.5، 5) % على التوالي. كان معامل الهضم الكلي الظاهري للعليقة التجريبية هو 54 %. تشير نتائج التجربة الى ان إضافة خليط الأنزيم بتركيز 5 % في تجارب التفريغ الغذائي حسن أداء العلائق بحيث انخفضت كميات الغذاء في الجزء الامامي والوسطي والخلفي من القناة الهضمية معنوياً في العلائق المعاملة بخليط الأنزيم وخاصة بعد مرور 16 ساعة لتعطي أفضل نتائج تفريغ مقارنة بعليقة السيطرة الخالية من أي إضافات انزيمية.

الكلمات المفتاحية: الانزيم التجاري SAFIZYN J.P 2500، معامل الهضم، اسماك الكارب

### المقدمة

#### مواد وطرائق العمل

#### موقع الدراسة

- أجريت التجربة في مختبر الاسماك التابع لحقل قسم الثروة الحيوانية في كلية الزراعة جامعة تكريت للفترة من 2013/4/1 ولغاية 2013/5/30.

- استخدمت ستة احواض زجاجية ابعادها (40×60×40) سم<sup>3</sup> مزودة بماء الاسالة عن طريق خزان كبير سعة (1000) لتر<sup>3</sup>، كما زودت بنظام تهوية وترشيح من خلال أربع مضخات هواء كهربائية Rselectrical لتأمين التهوية الجيدة، وأغطية مشبكة لمنع قفز الاسماك الى خارج الحوض.

- تم الحصول على (60) سمكة كارب شائع *Cyprinus carpio* وبوزن (2±75) غم من احواض التربية في مقياس اسماك الطارمية الأهلي في محافظة بغداد ومن امهات معروفة العوامل الوراثية، ونقلت الاسماك الى المختبر بحالة سليمة في حاويات الفلين وتمت مراعاة الاقلمة الحرارية بشكل جيد واجريت لها عملية تعقيم باستخدام محلول ملح الطعام بتركيز 3 % ولمدة خمس دقائق للتخلص من بعض المبيبات المرضية ان وجدت [7].

اجريت عملية تصويم (Starvation) الاسماك لمدة ثلاثة ايام قبل اجراء عملية التغذية ووزعت (10) سمكة لكل حوض وبمكررين وبعدها تم البدء بتجربة حساب معامل الهضم.

#### Digestibility and feeding experiments

1- التحليلات الكيمائية للعلف وفضلات الاسماك:

ظهرت الحاجة في مزارع تربية الاسماك الى زيادة الحاصل من خلال تحسين المواد الأولية الخام الداخلة في علائق الاسماك او إضافة المحسنات اليها. فمن المعروف ان مزارع الاسماك تجهز المستهلك بحدود 154 مليون طن سنوياً على مستوى العالم [1]، يستهلك منها بصورة مباشرة 128 مليون طن كاستهلاك بشري. يلاحظ ان تربية الاسماك قد وصلت الى ذروتها من خلال استخدام الوسائل الحديثة لتربية الاسماك. اتجهت الدراسات الى زيادة حاصل انتاج الاسماك من خلال زيادة حجم الصيد وحجم التربية، الا ان محدودية المواد الأولية العلفية الخام المتوفرة التي تستخدم في تغذية الاسماك دعت العديد من الباحثين الى استخدام المضافات الغذائية كمصادر لتحسين تلك العلائق من خلال استخدام المضافات الانزيمية الخارجية. بدأت العديد من الدراسات في عام 1993 باستخدام انزيم الفايترز في تحسين أداء المركبات الحاوية على الفسفور [2] كذلك تحسين أداء البروتين والمواد الكربوهيدراتية التي تشكل نسباً عالية من المواد الأولية الخام في غذاء الاسماك، كما هدفت العديد من الدراسات الى تقليل التلوث في البيئة نتيجة لقلّة الفضلات التي تطرحها الاسماك [3]

هنالك دراسات قليلة في العراق والتي استخدمت بعض المخلفات الحاوية على الانزيمات مثل المعززات الحيوية، وبذور البطيخ الشوكي *Cucumis melo*، وبذور الباباي *Cariea papayat* [4]، [5]، [6].

لذا دعت الحاجة الى استخدام خليط الانزيم التجاري لمعرفة تأثيره على نسبة معامل الهضم الكلي ونسبة التفريغ الغذائي لأسماك الكارب الشائع *Cyprinus carpio*.

- [13] S. Haskell, and T. Anttila, (2001). Small Ruminant Clinical Diagnosis and Therapy. 1st ed. Scott publish.
- [14] G. Taleni, (1976). Phosphorus Deficiency. Aust. Vet. J., 53:528.
- [15] M. Thrall, (2004). Veterinary hematology and clinical chemistry. Lippincott Williams and Wilkins. pp:329-355.
- [16] NRC. (2001). Nutrient requirements of Dairy cattle. 7th rev. ed. National Research Council. National Academic Press, Washington DC.
- [17] E. H. Coles (1986). Veterinary Clinical Pathology. 4th ed., WB Saunders Co. Philadelphia, London, Toronto. pp. 1-122.
- [18] I. D. P. Wooton, (1974). Microanalysis in medical biochemistry. 5th ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, pp.156-159.
- [19] A. R. Michell, (1985). Sodium and research in farm animals: problems requirement, deficit, and excess. Outlook Agric. 14, 179-82.
- [20] NRC. (2007). Nutrient requirement of Small Ruminants: sheep, goats, cervids and new world camelids. National Research Council. National Academic Press, Washington DC.
- [21] G. W. Bens, (1985). Trichostrongylosis in ruminant. In: S. M. Gaffar, W. E. Howard and R. E. Marsh, (eds.), World animal science, B2: Parasites, pests and predators. Elsevier Science Publishing Company Inc. New York. pp. 237-253.
- [22] J. E. Miller, M. Bahirathan, Lemarie, S. L., Hembry, F. G., Kearney, M. T. and Barras, S. R. (1998). Epidemiology of gastrointestinal nematode parasitism in Suffolk and Gulf Coast Native sheep with special emphasis on relative susceptibility to Haemonchus contortus infection. Vet. Parasitol. 74, 55-74.
- [23] M. M. Ghanem, (2010). A comparative study on TRP and TP in Egyptian cattle., Turk. J. Vet. Anim. Sci., 34(2):143-153.
- [24] C. Khan, (2005) "The Merck Veterinary Manual" 9<sup>th</sup> ed. Merck & Co. Ink. PUBLISH. USA.
- [25] L. Kusiluka and D. Kambarage, (1996). Disease Of Small Ruminants. 1st ed. Vetaid publish, Scotland.
- [26] J. P. Goff, (2004). Macromineral disorders of the transition cow. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract; 20:471-494.

## Investigation for the causes of the depraved appetite in local Caws

Omar Al-Thani Sh. Saed Al-Bayati

Veterinary Medicine College, Tikrit University, Tikrit, Iraq

E. mail: [Omer\\_med@yahoo.com](mailto:Omer_med@yahoo.com)

### Abstract:

The study was designed to determine the causes of the phenomenon of depraved appetite and the changes in a various biochemical parameters associated with this phenomenon in local cows. The study was divided into two parts the first part were conducted on (44) cows suffering from this phenomenon, the study results showed the presence of a significant decrease in the total protein and sodium concentration in the serum of caws, with this phenomenon compared with healthy cows, while the second part of the research (experimental part), which done on (32) cows, divided into four groups equally, and each group were fed on one type of diet (hay, barley, green grass, complete diet), respectively, and for four consecutive months with recording clinical signs, the study showed that all of the first group cows which fed with a hay were suffering from depraved appetite phenomenon (100%) and 50% of cows of the second group which fed on a diet of barley, while there were no appearance of this phenomenon on the third and fourth group cows which fed with green grass and complete diet, the study also clinically recorded other signs may be accompanied with the phenomenon of depraved appetite, such as Wight wasting, reduced milk production, lack of appetite, rough hair, pale mucous membranes and hair loss with different rates as 100%, 100%, 75%, 62.5%, 50%, 50%, respectively. Regarding to the biochemical parameters changes in serum of experimental animals, the study showed significant decrease concentration of total protein, glucose, phosphorus, sodium and chloride of cows of the first group also there were a significant decrease in calcium and sodium levels of cows of the second group comparing with control group, in regarding to third group animals of the study showed a significant decrease in magnesium, sodium levels while the study did not showed any significant changes in the potassium concentration in experimental groups comparing with control group.

ما بين المجاميع حيث كانت ضمن معدلاتها الطبيعية وهذا يتفق مع ما افاد به [26] من ان نسبة عنصر البوتاسيوم المتواجد في جميع العلائق تفوق احتياجات الحيوان لهذا العنصر. الجدول (4).

الحشائش تحتوي على كمية قليلة من الصوديوم والمغنيسيوم وزيادة بالبوتاسيوم وكما ذكر ان البوتاسيوم يعمل على اختزال وتقليل امتصاص و ايض المغنيسيوم في الجسم [25,8]. ومن نتائج الدراسة اليها لوحظ عدم وجود فروق معنوية في تركيز عنصر البوتاسيوم في

الجدول (4): التغييرات في معدل المعايير الكيموحيوية في مصل الابقار للمجاميع الثلاثة والمغذاة على ثلاثة انواع من العلائق (التين، حبوب الشعير، الحشائش الخضراء) مقارنة مع مجموعة السيطرة (عليقة متكاملة)

الخطأ القياسي ± المعدل				المعايير الكيموحيوية
مجموعة السيطرة (عليقة متكاملة)	المجموعة الثالثة (الحشائش الخضراء)	المجموعة الثانية (عليقة الشعير)	المجموعة الاولى (عليقة التين)	
7.33 ± 0.472	6.62 ± 0.563	6.62 ± 0.984	** 4.72 ± 0.205	البروتين الكلي (g/dL)
3.96 ± 0.783	3.53 ± 0.934	3.83 ± 0.683	* 2.5 ± 0.567	الكوكوز (mmol/L)
2.65 ± 0.527	2.11 ± 0.199	2.32 ± 0.783	* 1.5 ± 0.828	الفسفور (mmol/L)
3.00 ± 0.814	3.2 ± 0.256	* 1.90 ± 0.238	2.46 ± 0.489	الكالسيوم (mmol/L)
1.25 ± 0.231	* 0.8 ± 0.943	1.16 ± 0.676	1 ± 0.452	المغنيسيوم (mmol/L)
4.9 ± 0.471	5.3 ± 0.879	4.73 ± 0.557	4.22 ± 0.869	البوتاسيوم (mmol/L)
140 ± 0.681	* 125 ± 0.251	** 115 ± 0.824	* 130 ± 0.701	الصوديوم (mmol/L)
104 ± 0.451	98 ± 2.627	100 ± 0.467	** 82 ± 0.481	الكالور (mmol/L)

\* مستوى المعنوية (P < 0.05) \*\* مستوى المعنوية (P < 0.01)

مصل الابقار بسبب قلة نسب هذه المعايير في هذه العليقة، كما لوحظ هذه الظاهرة بنسبة 50% في الابقار التي كانت تتغذى على حبوب الشعير بسبب عوز عنصر الكالسيوم والصوديوم في حين لم تلاحظ هذه الظاهرة على الابقار التي كانت تتغذى على الحشائش والخضراء والعلائق المتكاملة.

ومن النتائج المتحصلة استنتجت هذه الدراسة ان من اهم اسباب ظاهرة الشهية المنحرفة في الابقار هو العوز الغذائي والمتمثل بنقص البروتين الكلي وعنصر الفسفور والصوديوم والكلور وان هذه الظاهرة لوحظت بنسبة 100% في الابقار المغذاة على التين والتي ادت الى عوز مستوى البروتين الكلي والكوكوز والفسفور والصوديوم والكلور في

#### المصادر

- [1] الجهاز المركزي للإحصاء ووزارة الزراعة، المسح الوطني للثروة الحيوانية سنة 2008.
- [2] N. G. Ducharme and S. L. Fubini, (2004). Sugary of Ruminant Fore stomach Compartments. In: Form Animal Surgery, Fib in: S.L and N.G. Ducharme .St. Louis ,W.B Saunders Co., pp: 186-188.
- [3] M. R. Garg, P.L. Sherasia, B.M. Bhandari, B.T .Phondba, S.K. Shelke. And H.P. Makkar, (2013) Animal Feed Science and Technology: 179: 24-35.
- [4] G. Gloria, (2007). Mineral Electrolyte Deficiency. Natural health practical puplish. USA. [5] M. Sharma, k. Pankaj, C. Joshi, and K. Harjeet, (2006).Status of Serum Minerals and Biochemical Paramenters in Cattle of organized farms and unorganized Farms of western uttar paradesh. Asian Journal of Animal and Veterinary, 1(1):33-41.
- [6] M. Abdul-Rahman, (2009).General Performance of Growing Shami Kids Fed High Energy and Protected Methionine. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances 4(2): 25-59.
- [7] J. W. Smith, E. A. Adebawale, F. I. Ogundola, A. A. Taiwo, S. O. Akpavie, A. Larbi and M. A. Jabbar, (2000). Influence of minerals on the aetiology of

- geophagia in periurban dairy cattle in the derived savannah of Nigeria. Trop. Anim. Hlth. Prod., 32(5): 315-327.
- [8] O. M. Radostits, C.C. Gay, K.W. Hinchcliff, and P.D. Constable, (2007). Veterinary Medicine. A Text-book of Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs, and Goats. 10th ed. Saunders Elsevier, USA.
- [9] S. Firyal, (2007). Depraved Appetits (Allotriophagia) in Domestic Animals and man. Pakistan Vet. J. 27(4):208-210.
- [10] D. J. Meyer and J. W. Harvey, (2004). Veterinary Labrotory Medicine: Interpretation And Diagnosis. 3rd ed., Saunders, Elsevier inc, USA. PP. 156-160.
- [11] K. J. Denniston, J. J. Topping, and R. L. Creat, (2007). Genenal organic and biochemistry. 5th ed. McGraw. Hill, Boston, Toronto. p:599.
- [12] I. Begum, A. Azim, S. Akhter, M. Anjum, and M. Afzal, (2010).Mineral Dynamics of Blood and Milk Buffaloes Fed on Calcium and Phosphorus Supplementation . Pak. Vet. J.30(20):105-109.

2- الجزء الثاني من الدراسة (الجزء التجريبي):

علامات اخرى ظهرت على المجموعة الاولى وينسب عالية 100% مثل انخفاض انتاج الحليب والهزال والعلامات الاخرى قلة الشهية وخشونة الشعر وشحوب الاغشية وتساقط الشعر بنسب 75 % و 62.5 % و 50 % و 50 % على التوالي , في حين كانت هذه العلامات في المجموعة الثانية والثالثة بنسب معدومة او ضئيلة جدا. وهذه النتائج التي ذكرت في هذا البحث تتفق مع ما اشار اليه [8] من ان الاعلاف الخشنة كالتبن التي تعتبر اعلاف مألوفة تكون فقيرة في محتواها من الناحية الغذائية ولاتسد حاجة الحيوان وبالتالي تسبب النقص والشهية المنحرفة, اما حبوب الشعير فان نسبة الصوديوم فيها قليلة جدا لاتعوض حاجة الحيوان من الاملاح, ونقص الاملاح هو من الاسباب الرئيسية للشهية المنحرفة, وان نقص الفسفور في المجترات يؤدي الى قلة الشهية وضعف النمو وان استمرار النقص لمدة طويلة يؤدي الى انخفاض إنتاج الحليب بنسبة 60% [24]. الجدول (3)

أما الجزء الثاني من البحث والذي اجري على (32) بقرة, قسمت الى اربعة مجاميع متساوية وكل مجموعة غذيت على نوع واحد من العليقة (تبن الشعير, حبوب الشعير, حشائش الشعير الخضراء) على التوالي اما المجموعة الرابعة فغذيت على عليقة متكاملة واعتبرت كمجموعة سيطرة, ومن خلال الفحص السريري للابقار بينت الدراسة معاناة جميع الابقار في المجموعة الاولى المغذاة على عليقة التبن فقط من ظاهرة الشهية المنحرفة وبنسبة 100 % وتراوحت مابين لعق الجلد والمعالف والحائظ ومضغ الحبال وبلعها واكل البراز وشرب البول في حين ظهرت هذه العلامة في اربعة ابقار فقط وبنسبة 50% في المجموعة الثانية المغذاة على عليقة حبوب الشعير ولم تلاحظ هذه الظاهرة في المجموعتين الثالثة والرابعة (مجموعة السيطرة) المغذاة على عليقة الاعشاب الخضراء وعليقة متكاملة على التوالي, وقد لوحظ ايضا

الجدول (3): العلامات السريرية التي ظهرت على المجاميع الثلاثة من الابقار بالمقارنة مع مجموعة السيطرة وعدد تكرارها ونسبها المئوية

الخطأ القياسي ± المعدل				العلامات السريرية
مجموعة السيطرة (عليقة متكاملة) (8 أبقار)	المجموعة الثالثة (الاعشاب الخضراء) (8 أبقار)	المجموعة الثانية (عليقة الشعير) (8 أبقار)	المجموعة الاولى (عليقة التبن) (8 أبقار)	
0 (0%)	0 (0%)	4 (50%)	8 (100%)	الشهية المنحرفة
0 (0%)	2 (25%)	1 (12.5%)	8 (100%)	الهزال والضعف العام
1 (12.5%)	0 (0%)	1 (12.5%)	8 (100%)	انخفاض انتاج الحليب
0 (0%)	0 (0%)	2 (25%)	6 (75%)	قلة الشهية
0 (0%)	0 (0%)	2 (25%)	5 (62.5%)	خشونة الشعر والجلد
0 (0%)	0 (0%)	1 (12.5%)	4 (50%)	شحوب الاغشية المخاطية
0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (50%)	سهولة تساقط الشعر
0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (37.5%)	الامسك
0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (25.5%)	الغك القطني
1 (12.5%)	3 (37.5%)	2 (25%)	0 (0%)	الاسهال

حين كانت النسبة طبيعية في المجموعة الثانية والثالثة مقارنة مع مجموعة السيطرة وانخفاض معنوي في عنصر المغنيسيوم في المجموعة الثالثة والتي تتغذى على الحشائش الخضراء بينما كانت طبيعية في المجموعة الاولى والثانية مقارنة مع مجموعة السيطرة وانخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في عنصر الكالسيوم في المجموعة الثانية التي تتغذى على حبوب الشعير, وهذه المعايير التي اظهرتها الدراسة الحالية تتفق مع ما اشار اليها مصادر اخرى اذ ذكر [8] ان مستوى الصوديوم ينقص عن (135 mmol/L) في مصل الابقار الحلوية التي ترعى في موسم الصيف على الاعلاف الخشنة في حالة عدم تزويدها بالاملاح مما يؤدي الى الشهية المنحرفة وكما بينت البحوث الاخرى ان الابقار التي ترعى على الحشائش الخضراء تعاني من نقص عنصري الصوديوم والمغنيسيوم وعزى الاسباب ان

أما فيما يخص التغييرات في المعايير الكيموحيوية في هذا الجزء من البحث فقد اظهرت نتائج الدراسة جدول (4) الى وجود انخفاض في بعض المعايير اذ لوحظ ان هنالك انخفاضا معنويا ( $P < 0.05$ ) في تركيز البروتين الكلي والكلوكوز والفسفور في مصل حيوانات المجموعة الأولى في حين كانت طبيعية في المجموعة الثانية والثالثة مقارنة مع مجموعة السيطرة, قد يعزى السبب الى ما أشار اليه [16] من ان انخفاض محتوى البروتين الكلي والكلوكوز والعناصر في اعلاف التبن يؤدي الى انخفاض نسبها في مصل دم الابقار التي تتغذى على تلك العلائق مما يؤدي الى ميلها الى فقدان وانحراف الشهية. كما لوحظ من خلال الدراسة وجود انخفاض معنوي في مستوى عنصر الصوديوم في المجاميع الثلاثة مقارنة مع مجموعة السيطرة وانخفاضا معنويا في عنصر الكلور في المجموعة الاولى في

الجدول (1): نسب العلامات السريرية الظاهرة على الابقار (44 بقرة) التي كانت تعاني من ظاهرة الشهية المنحرفة وعدد تكرارها ونسبها المنوية

العلامات السريرية	عدد التكرار	النسبة المئوية (%)
الشهية المنحرفة	44	100
الهزال والضعف العام	35	79.5
قلة الشهية	16	36.3
خشونة الشعر والجلد	14	31.8
شحوب الاغشية المخاطية (فقر الدم)	8	18.1
تجمع السوائل تحت الفك (الفك القطني)	6	13.6
سهولة تساقط الشعر	5	11.3
الاسهال	3	6.8
الامسك	2	4.5
النفاخ	2	4.5

أما بالنسبة فيما يخص التغييرات في المعايير الكيموحيوية لهذا الجزء من البحث فقد اثبتت الدراسة الى وجود تغييرات في بعض تلك المعايير حيث ان الابقار التي كانت تعاني من ظاهرة الشهية المنحرفة اظهرت انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في تركيز البروتين الكلي وعنصر الصوديوم وانخفاضاً غير معنوياً في تركيز الكلوكرز مقارنة مع ابقار مجموعة السيطرة، وهذا يتفق مع ما ذكره [8] ان من اهم الاسباب الرئيسية للشهية المنحرفة في الابقار سبب العوز الغذائي والمتمثل بنقص البروتين والطاقة والاملاح وبعض العناصر مثل عنصر الفسفور والحديد والكوبالت.

كما بينت الدراسة الى عدم وجود انخفاض في مستويات باقي المعايير كالفسفور والكالسيوم والمغنيسيوم والبوتاسيوم والكلور والتي كانت ضمن مستوياتها الطبيعية مقارنة مع مجموعة السيطرة، وهذا ما افاد به [8] من انه الشهية المنحرفة ليس من الضروري ان يكون لها اسباب متعددة قد يكون هنالك سبب واحد يعكس ظهور هذه العلامة او قد تكون اسباباً عصبية دون ظهور العوز في مستويات تلك العناصر.

الجدول (2).

الجدول (2): التغييرات في معدل المعايير الكيموحيوية في الابقار التي تعاني من ظاهرة الشهية المنحرفة مقارنة مع مجموعة السيطرة

المعايير الكيموحيوية	الخطأ القياسي $\pm$ المعدل	
	الابقار المصابة بالشهية المنحرفة	مجموعة السيطرة
البروتين الكلي (g/dL)	$5.1 \pm 0.145$ *	$6.62 \pm 0.465$
الكلوكوز (mmol/L)	$2.80 \pm 0.241$	$3.56 \pm 0.835$
الفسفور (mmol/L)	$1.21 \pm 0.156$	$1.60 \pm 0.653$
الكالسيوم (mmol/L)	$2.50 \pm 0.341$	$2.81 \pm 0.286$
المغنيسيوم (mmol/L)	$0.80 \pm 0.671$	$0.90 \pm 0.873$
البوتاسيوم (mmol/L)	$4.56 \pm 0.301$	$4.73 \pm 0.106$
الصوديوم (mmol/L)	$124 \pm 0.882$ *	$138 \pm 0.893$
الكلور (mmol/L)	$96 \pm 0.155$	$102 \pm 0.368$

\* مستوى المعنوية ( $P < 0.05$ )

أ- تقدير كمية البروتين الكلي في مصل الدم :

استخدمت طريقة بايوريت Biuret Method في تقدير البروتين الكلي لعينات مصل الدم [18].

ب- تقدير نسب العناصر والكلوكوز:

- تم قياس تركيز الكلوكرز وعنصر الفسفور والكالسيوم والصوديوم والبوتاسيوم والكلور والمغنيسيوم في مصل الدم باستخدام المحاليل القياسية الجاهزة Kits وحسب تعليمات الشركة المصنعة باستخدام جهاز المطياف الضوئي [10].

### النتائج والمناقشة

#### 1 - الجزء الاول من الدراسة (دراسة عشوائية):

من خلال دراسة الجزء الاول من البحث والذي اجرى على 44 بقرة كانت تعاني من ظاهرة الشهية المنحرفة ومقارنتها مع 10 ابقار كانت سليمة لا تعاني من هذه الظاهرة، من خلال الفحص السريري للابقار لوحظ ظهور عدد من العلامات السريرية المرافقة لظاهرة الشهية المنحرفة كالهزال والضعف العام وقلة الشهية ونسبة بلغت 79.5% و 36.3% على التوالي وهذا يتفق مع ما اشار اليه الباحثان [19,20] ان من احد اسباب نقص الشهية هو نقص عنصر الصوديوم والكلور والفسفور واللذان يعتبران من اهم الاسباب المؤدية للشهية المنحرفة، كما لوحظ من خلال الدراسة علامات اخرى مثل خشونة الشعر والجلد وشحوب الاغشية المخاطية وتجمع السوائل تحت الفك وسهولة تساقط الشعر وينسب 31.8% و 18.1% و 13.6% و 11.3% على التوالي وهذا يتوافق مع ما ذكره [8] من ان نقص البروتينات وعنصر الفسفور في الابقار يؤدي الى الشهية المنحرفة وبالتالي تجمع المواد الغريبة وغير القابلة للهضم في الكرش والشبكة مما يجعل الحيوان يحس بحالة الشبع وفقدان الشهية والانخفاض في كفاءة التمثيل الغذائي وقلة امتصاص المواد الغذائية مؤدياً الى قلة في تغذية بصيالات الشعر ونموه وسهولة نزعه و تساقطه، وازداد الى أن شحوب الأغشية وتساقط الشعر في الابقار قد يحدث بسبب فقر الدم والنتائج من نقص الفسفور. وأفاد كل من [21,22] الى أن ظاهرة تجمع السوائل تحت الفك تحدث بسبب التناقص في معدل البروتين في الجسم والذي يؤدي بدوره الى اختلاف الضغط الأزموزي مسبباً خروج السوائل التي عادة ما تتجمع في المناطق الواطنة من الجسم، فعندما يبدأ الحيوان بتناول الطعام تظهر هذه السوائل ما بين الفكين مسببة ما يسمى بالفك القطني (Bottle Jaw). كما اظهرت الدراسة علامات اخرى ولكن بنسب ضئيلة جداً مثل الاسهال والامسك والنفاخ وينسب 6.8% و 4.5% و 4.5% على التوالي، وقد تكون اسبابها انسدادات واضطرابات داخل تجويف الجهاز الهضمي والناجئة عن الشهية المنحرفة لمواد غريبة غير المواد الغذائية الطبيعية [8,23].

الجدول (1).

من البحث اعتمد على جمع عينات الدم من (44) بقرة كانت تعاني من ظاهرة الشهية المنحرفة وسجلت العلامات السريرية التي كانت ترافقها و(10) ابقار كانت سليمة وبصحة جيدة ولا تعاني من هذه الظاهرة واعتبرت كمجموعة سيطرة. اما الجزء الثاني من البحث فقد اجري لمدة اربعة اشهر في الفترة من بداية شهر كانون الثاني 2014 حتى نهاية شهر آذار 2015 اذ صممت التجربة على مجموعة من (32) بقرة تراوحت اعمارها ما بين (4-10) سنوات والتي تم فحصها قبل التجربة فكانت خالية من الامراض وبصحة جيدة وتتغذى على علائق متكاملة ومتنوعة اذ قسمت تلك المجموعة بالتساوي الى اربعة مجاميع ثمانية ابقار في كل مجموعة، غذيت المجموعة الاولى على التبن اما المجموعة الثانية فغذيت على الشعير والمجموعة الثالثة غذيت على الحشائش الخضراء في حين اعتبرت المجموعة الرابعة كمجموعة سيطرة والتي غذيت على عليقة متكاملة من الناحية الغذائية بحسب النسب الغذائية الموصى بها من قبل NRC وتم فحص الحيوانات سريري" اما الفحوصات الكيموحيوية فقد شملت الجزئين من البحث تم اجرائها من خلال سحب الدم ووضعها في انابيب خالية من مانع التخثر وعزل المصل لأجراء تلك الفحوصات عليها.

#### طرائق العمل:

#### 1- علائق التجربة : Experiment diets

تم تغذية المجموعة الاولى على عليقة تبن الشعير والمجموعة الثانية على عليقة حبوب الشعير والمجموعة الثالثة على عليقة حشائش الشعير الخضراء اما المجموعة الرابعة والتي اعتبرت كمجموعة سيطرة فقد تم تغذيتها على علائق متكاملة تتكونت من ( النخالة 35% ، كسبة فول الصويا 20% ، الشعير المجروش 20% ، الذرة الصفراء 15% ، سحالة 9% اضافة الى 1% من خليط الاملاح والمعادن) [16]. وتم اعطاء العليقة مرتين يوميا (صباحا ومساء)، كما تم توفير الماء النظيف طيلة مدة التجربة

#### 2- الفحص السريري: Clinical examination

أعدت استمارات خاصة لتسجيل معلومات عن الحالات التي شملتها الدراسة، وتضمنت رقم الحالة، ومعلومات عن الحيوانات وتاريخ الحالة، ونتائج الفحص السريري والكيموحيوي، وبعض الملاحظات الأخرى.

#### 3- جمع عينات الدم: Blood sampling

أخذت عينات الدم من الوريد الوداجي (Jagular Vein) باستخدام محاقن بلاستيكية ذات الاستعمال الواحد بعد تعقيم المنطقة بالكحول الايثيلي 70%، اذ تم سحب 15 مل من الدم من كل حيوان ووضعت في انابيب اختبار خالية من مانع التخثر وتركت بصورة مائلة وحفظت بدرجة حرارة الغرفة لمدة 2-3 ساعة ثم وضعت في الثلجة بدرجة 4 0م ولمدة 24 ساعة ثم فصل المصل باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق، وبعدها جمعت الامصال باستخدام ماصة باستور واجريت الفحوصات عليها [17].

#### 4- الفحوصات الكيموحيوية: Biochemical tests

التراب geophagia والفرشة والبراز coprophagia والصوف والجثث ورضاعة الحيوان نفسه وشرب البول. [9,8,7].  
واشار كثير من الباحثين الى اهمية البروتينات والعناصر والاملاح للجسم اذ يعد البروتين صنفاً مهماً من جزيئات الغذاء وينخفض مستواه في حالات العوز الغذائي وحالات فقدان بسبب النزف ، وأمراض الكلية وذلك بسبب فقدانه عن طريق الأدرار، وأمراض الكبد التي تؤدي إلى قلة تكوينه وفي حالة الاصابة الخمجية [11,10]. يعتبر عنصر الفسفور مهما في العديد من وظائف الجسم، فهو ضروري لإنتاج الحليب ولنمو الهيكل العظمي ويؤدي نقصه الى قلة الشهية (Anorexia) والشهية المنحرفة وضعف النمو [12]. وان نقص الفسفور قد يكون أولياً أو ثانوياً ، فالنقص الاولي ينشأ من قلة وجود العنصر في العلائق الغذائية التي يتناولها الحيوان، اما النقص الثانوي فيعود الى تناول الحيوان كميات كبيرة من عنصر الكالسيوم كما هو الحال في الحيوانات التي تتغذى على العلائق الخضراء ولمدة زمنية طويلة كون مواد العلف الاخضر يعد من المواد الغذائية الغنية بعنصر الكالسيوم، اذ يحصل تداخل واضطراب بالنسب الطبيعية بين مستوى كل من عنصر الكالسيوم والفسفور بالدم [13]. لذلك يجب ان يحصل التوازن في النسب الغذائية بين الكالسيوم والفسفور بمعدل 1.2- 1.5:1 على التوالي، لكون الاخلال في النسب يؤدي الى حالة انحراف الشهية [14,8]، وقد اشار الباحث Thrall الى ان عنصر الصوديوم والبوتاسيوم والكلور ودورهم المهم في تنظيم السوائل بالجسم، وفي التوازن الحامضي - القاعدي (Acid - Base Metabolism) والعديد من العمليات الايضية في الجسم والحفاظ على الضغط الازموزي (Osmotic Pressure) في الجسم. ويحدث النقص بتلك العناصر بسبب العوز الغذائي وامراض اخرى كالإسهال المستمر والجفاف وامراض الكلى [15].

ونظراً لأهمية و لقلّة الدراسات التي أجريت على العوز الغذائي في الابقار المحلية والذي يؤدي بدوره الى الشهية المنحرفة لدى الابقار في العراق ، فان هذه الدراسة تهدف الى:

- 1- البحث عن اسباب الشهية المنحرفة في الابقار ودراسة العلامات السريرية المرافقة للشهية المنحرفة في الابقار المحلية.
- 2- تسجيل مستويات البروتين الكلي والكلوكوز والفسفور والكالسيوم والمغنيسيوم والبوتاسيوم والصوديوم والكلور في الابقار المحلية المصابة بالعوز الغذائي والتي تعاني من الشهية المنحرفة.
- 3- تحديد اسباب النقص في الابقار المغذاة على عليقة (تبن الشعير والشعير وحشائش الشعير الخضراء والاعلاف المتكاملة) والمؤدية الى الشهية المنحرفة في الابقار المحلية.

#### المواد وطرائق العمل

قسمت الدراسة الحالية الى جزئين منفصلين واستهدفا الى ملاحظة العلامات السريرية والتغيرات الكيموحيوية والتي شملت البروتين الكلي، الكلوكوز، الفسفور، الكالسيوم، الصوديوم، البوتاسيوم، الكلور، المغنيسيوم والمرافقة لفقدان الشهية في الابقار المحلية. الجزء الاول

## التحري عن اسباب الشهية المنحرفة (Depraved appetite) في الابقار المحلية

عمر الثاني شريف سعيد البياتي

كلية الطب البيطري ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

E. mail: Omer\_med@yahoo.com

### الملخص

صممت الدراسة لمعرفة اسباب ظاهرة الشهية المنحرفة والتغيرات في عدد من المعايير الكيموحيوية المرافقة لهذه الظاهرة في الابقار المحلية. ففي الجزء الاول من البحث الذي درس على (44) بقرة كانت تعاني من هذه الظاهرة، بينت نتائج الدراسة الى وجود انخفاض معنوي في تركيز البروتين الكلي وعنصر الصوديوم في مصل الابقار التي تعاني من هذه الظاهرة مقارنة مع الابقار السليمة. اما الجزء الثاني من البحث (الجزء التجريبي) والذي اجري على (32) بقرة قسمت الى اربعة مجاميع بالتساوي و كل مجموعة غذيت على نوع واحد من العليقة (التبن، الشعير، الحشائش الخضراء، عليقة متكاملة) على التوالي ولمدة اربعة اشهر متتالية وتم مراقبة المجاميع الاربعة سريريا ولوحظ من خلال الدراسة معاناة المجموعة الاولى للابقار والمغذاة على عليقة التبن من ظاهرة الشهية المنحرفة وبنسبة 100%، وفي ابقار المجموعة الثانية والمغذاة على عليقة الشعير فقد كانت النسبة 50%، في حين لم تلاحظ هذه الظاهرة على المجموعة الثالثة والرابعة المغذاة على عليقة الحشائش الخضراء وعليقة متكاملة على التوالي، كما أظهرت الدراسة سريريا علامات اخرى قد رافقت ظاهرة الشهية المنحرفة مثل الهزال وانخفاض انتاج الحليب وقلّة الشهية وخشونة الشعر وشحوب الاغشية المخاطية وسهولة تساقط الشعر وينسب مختلفة 100%، 100%، 75%، 62.5%، 50%، 50% على التوالي. اما بالنسبة للتغيرات في المعايير الكيموحيوية في مصل مجاميع ابقار التجربة فقد بينت الدراسة الى وجود انخفاضاً معنوياً لمعايير البروتين الكلي والكلوكوز والفسفور والصوديوم والكلور في مصل ابقار المجموعة الاولى مقارنة لمجموعة السيطرة، كما لوحظ انخفاضاً معنوياً في عنصر الكالسيوم والصوديوم في ابقار المجموعة الثانية اما المجموعة الثالثة فقد عانت من انخفاض معنوي في معدلات عنصر المغنيسيوم والصوديوم في حين لم تلاحظ الدراسة اي تغيير معنوي في معدل عنصر البوتاسيوم في المجاميع الثلاثة الاولى مقارنة مع المجموعة الرابعة والتي اعتبرت كمجموعة سيطرة.

### المقدمة

وقد أكد Sharma وآخرون بأن العناصر الغذائية مسؤولة عن العديد من الوظائف في المجترات والنقص الغذائي فيها يؤدي الى خلل وظيفي يختلف تبعاً لنوع العنصر ومدة وشدة العوز الغذائي، ومن جهة اخرى يعتمد العوز الغذائي أيضا على عمر الحيوان وجنسه ونوعه [5]. وأن الاحتياجات اليومية للغذاء في الابقار تعتمد على السلالة والعمر وعلى الحالة الفسلجية للجسم [6].

وتعرف الشهية المنحرفة على انها علامة سريرية لتناول مواد غير مهضومة من غير المواد الغذائية المهضومة وتختلف شدتها ما بين اللعق والشرب واكل تلك المواد غير والتي دائما تتعلق بالعوز الغذائي كعوز البروتينات والعناصر المعدنية والالياف حيث ان هنالك العديد من الاسباب التي تؤدي الى انحراف الشهية في الابقار كنقص البروتينات والالياف وبعض العناصر مثل الفسفور والمغنيسيوم والكالسيوم والصوديوم والبوتاسيوم والكلور والكوبالت والنحاس والحديد والزنك واضافة الى اسباب اخرى مثل الام البطن المزمنة واضطرابات الجهاز العصبي مثل مرض الكيتوسز والاصابة ببعض انواع ديدان المعدة والامعاء او التسمم ببعض العناصر مثل الرصاص. حيث ينعكس هذا النقص على التصرف الشاذ للابقار بلعق او اكل المواد غير المهضومة مثل لعق الجدران والاسواخ وجلود الحيوانات الاخرى ومضغ مواد بلاستيكية وعظام الحيوانات الميتة osteophagia واكل

تشكل الثروة الحيوانية إحدى أهم المصادر الأساسية لتغذية الإنسان وجانباً مهماً من جوانب الاقتصاد في قطننا، وتعد الابقار احدی المصادر الرئيسية لانتاج الحليب واللحم والجلود وطبقاً للاحصائيات الخاصة بالثروة الحيوانية في العراق لعام 2008 فان اعداد الابقار في العراق بلغت (2552513) رأساً [1].

تصاب الابقار الى جانب الامراض المعدية بالامراض غير المعدية مثل العوز الغذائي والتي بدورها تؤثر في صحة الحيوان وإنتاجيته والمتمثلة بنقص في إنتاج الحليب وقلّة في الوزن، والتي تؤدي الى نفوق الحيوان في بعض الاحيان مما تسبب خسارة اقتصادية كبيرة للمربي فضلاً عن تكاليف السيطرة والعلاج [2]، ويعتبر امراض العوز الغذائي من المشاكل الشائعة في العالم وعلى رأسها عوز المعادن وعدم توازنها خاصة بالابقار، وان عملية توفير هذه العناصر الغذائية في العليقة تعد التحدي الأصعب أثناء فترة النمو، لكون اغلب المنتجات التي يتم توفيرها في العلائق لا تستطيع توفير الصيغة الدقيقة والتي تلبي احتياج جسم الحيوان، لذلك تبرز مشكلة النقص الغذائي والشهية المنحرفة لدى الحيوان في أحيان كثيرة [3].

ان مسببات العوز الغذائي لدى الكائن الحي عديدة تؤدي الى حدوث الشهية المنحرفة (depraved appetite)، أهمها فقر التربة وقلّة العناصر المعدنية الموجودة في العليقة والماء الذي يشربه الحيوان بالإضافة الى استهلاك الجسم لهذه العناصر في بناء الخلايا [4].

## Effect of Traumatic Reticuloperitonitis on Some Blood Biochemical Parameters in Local Cows

Khalid Ahmed Hadi Al-saeedi

*Department of physiology , College of Veterinary Medicine , University of Tikrit , Tikrit , Iraq*

### Abstract

The current study was designed to determine the changes in a various of biochemical parameters associated with infection of traumatic reticuloperitonitis in local cows. The blood samples were collected from 80 cows which divided into two groups, the first group included 16 normal animals which considered as control group, the second group included 64 animals suffering from traumatic Reticuloperitonitis which diagnosed by surgeons after undergoing process of rumenotomy. The results showed that the infection with traumatic reticuloperitonitis cause significantly increasing ( $P<0.05$ ) in total protein level, and globulin and cause a significant decrease ( $P<0.05$ ) in albumin level compared with control group. on the other hand traumatic reticuloperitonitis cause changing in oxidative stress parameters, the results showed significant increase ( $P<0.05$ ) in Malondialdehyde, and significant decrease ( $P<0.05$ ) in Glutathione. The conclusion of this study that the traumatic reticuloperitonitis impact adversely on antioxidants accompanied by an increase in the level Malondialdehyde. This indicates a case of oxidative stress that is a companion of the traumatic reticuloperitonitis.

**Key words:** traumatic reticuloperitonitis, local cows in Iraq

الكرب التأكسدي في مثل هكذا حالات .

واحدث زيادة في مستوى المالنوندايديهايد وهذا يدل على حدوث حالة

المصادر

- 1- Ducharme, N.G; Fubini, S.L. (2004). Surgery of Ruminant Fore stomach Compartments. In: Form Animal Surgery, Fib in : S.L and N.G .Ducharme .St. Louis ,W.B Saunders Co., pp : 186-188.
- 2- Gavedo, A. M.; Latimer, K. S.; Tarpley, H. L.; Bain, P. J. (2004). traumatic reticuloperitonitis in Cattle. Collage of Vit. Med. University of Gorgia, Athens, GA30: 7381-7388.
- 3- Tabrizi, B. A.; Hasanpour, A. and Mousavi, Gh. (2007). A survey on Biochemical parameters in Serum of the Azarbaijan Buffaloes with TRP. Italy. J . Anim. SCJ volume., 6 : 1022 – 1024.
- 4- السعد، كمال الدين مهلهل؛ والسعدي، حافظ ابراهيم؛ وعيسى، محمد جواد (2006). النواحي السريرية والمرضية للتهاب الخلب المرتبط مع التهاب الخلب والشبكية الكلبي والتهاب الكرش وانتفاخ الكرش في الجاموس المائي. المجلة العراقية للعلوم البيطرية. 2(20).
- 5- Ramprabhu, R.; Dhanapalan, P. and Prathaban, S. (2003). Comparative efficacy of diagnostic test in the diagnosis of TRP and allied syndromes in cattle. Israel Vet . Med . Assoc ., 58 : 2-3.
- 6- Ghanem, M. M., (2010). A comparative study on traumatic reticuloperitonitis and traumatic peritonitis in Egyptian cattle., Turk. J. Vet. Anim. Sci., 34(2) :143-153.
- 7- Tietz N .W.(1995) Text book of clinical chemistry 3<sup>rd</sup> Ed. C.A. Curtis, E.R. Silverman L. M. Christensen R. H. p. 523- 524.
- 8- Doumas, B. T. and Biggs G.(1972) Determination of serum albumin Standard methods of clinical chemistry – Acad. Press .N. Y. Vol. 7. pp: 175-188.
- 9- Roussel A. V., Whitney, M. S. and Cole, D. J. (1997). Interpreting a bovine serum chemistry profile: Part 1. Vet. Med. June : 553-558.
- 10- Burtis, C.A. and Ashwood, E.R. (1999). Tietz textbook of clinical chemistry. 3<sup>rd</sup> ed. W. B. Saunders Co., USA. Vol. 2 Ch. (33), pp: 1145-1150.
- 11- Wysocka, R.W., Wysocki, H., Buks., Zozulinskay, D., Wykretowicz, A. and Kazmierczak, M. (1995). Metabolic control quality and free radical activity in diabetic patients. Diab. Res. Clin. Prac., 27: 193-197.
- 12- Gunes, V.; Atalan, G.; Cital, M. and Erdogan H.M.(2008). Use of cardiac troponin kits for the qualitative determination of myocardial cell damage due to traumatic reticulo peritonitis in cattle. The veterinary record., 162: 514-517.
- 13- Hirvonen, J.; Pyorala, S.; (1998). Acute phase response in dairy cows with surgically treated abdominal disorders. Ve. J., 155: 53-61.
- 14- Gruys, E.; Obolo, M. J, and Toussaint, M.J.M. (1994). Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry : a review. Vet. Bull., 64: 1009-1018.
- 15- Jafarzadeh, S.R.; Nowrouzian, I.; Khaki, Z.; Ghamisari, S.M.; Adibhashemi, F. (2004). The sensitivities and specificities of total plasma protein and plasma fibrinogen for the diagnosis of traumatic reticuloperitonitis in cattle. Prev. Vet. Med., 65: 1-7.
- 16- قوال، كاميران حاجي (1989). دراسة سريرية تشخيصية لظاهرة الاجسام الغريبة في الأبقار المحلية . رسالة ماجستير، الطب الباطني والوقائي، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، العراق.
- 17- Khamis, E.; Ashour, E. and Hassanein A. (1985). The diagnostic value of some blood parameter in experimental Traumatic Reticulo peritonitis in buffaloes. Vet. Med. J. Cairo University., 33 (3) :139-154.
- 18- Yoshida, Y. (1991). Electrophoretic studies on serum proteins in cows with traumatic pericarditis. Jap. J. Vet. Sci., 53: 5-11.
- 19- Yoshida, Y. (1986). Levels of serum protein, protein fractions and minerals in dairy cows with traumatic gastritis of various conditions. Jap. J. Vet. Sci., 48: 1153-1159.
- 20- Thomas, J.S.(2000). Overview of plasma proteins. In: Feldman, B.F., Zinkl, J.G., Jain, N.C. (Eds.), Schalm's Veterinary Hematology, fifth ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia and Baltimore, pp: 891-898.
- 21- Kaneko, J.J.; Harvey, W.J. and Bruss, L.M (1997). Serum proteins and dysproteinemias. In: Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. (Eds.), Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 5<sup>th</sup> ed.. Academic Press, London, pp: 117-138.; 337-341.
- 22- Gokce, H.I.; Gokce, G., and Cihan, M. (2007). Alterations in Coagulation Profiles and Biochemical and Haematological Parameters in Cattle with Traumatic Reticuloperitonitis., Vet. Res. Com., 31: 529 -537.
- 23- Konukoglu, D.; Iynem, H.; Ziylan, E. (1999). Antioxidant status in experimental peritonitis: effects of alpha tocopherol and taurolin. Pharmacol Res 39:247-251.
- 24- El-Ashker, M. R.; El-Khodery, S. A.; El-Boshy, M. E. and Mohamed, A. M.(2011). Prognostic significance of lipid peroxide and antioxidant. levels in draft horses with peritonitis., Comp. Clin. Pathol., 20: 433-439.
- 25- Berg, J.M.; Tymoczko, L. and Stryer, L. (2007). Biochemistry. 6<sup>th</sup>ed. Freeman W.H. and Company, New York., pp: 777-779.
- 26- Halliwell, B.; Chirico, S. (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. Am. J. Clin. Nutr., 57:715S-725S.

الكلمي مقارنة مع حيوانات السيطرة ، وقد عزى سبب ذلك إلى حدوث موازنة ما بين النقص في تركيز الألبومين وحصول الزيادة في تركيز الكلوبيولين [17].

اظهرت نتائج الدراسة الحالية أيضاً حدوث انخفاض معنوي ( $P < 0.05$ ) في تركيز الألبومين في مصل الأبقار المصابة بالتهاب الخلب والشبكية الكلمي ، وجاءت النتائج متفقة مع دراسة أجريت على الأبقار [18] وقد يعود السبب في انخفاض تركيز الألبومين إلى وجود التهابات داخلية مما يؤدي إلى فقدان الألبومين من خلال الأوعية الشعرية [19] ، ويمكن ان يكون السبب الاخر إلى أن كميات البروتين المنتجة من قبل الكبد اثناء الالتهابات تتجه نحو الزيادة في صنع بروتينات الطور الحاد مع حصول انخفاض في تصنيع الالبومين الذي هو من ضمن بروتينات الطور الحاد السالبة [20] فضلاً عن حدوث فقدان انتقائي للألبومين من الجسم [21] واطهرت نتائج الدراسة الحالية أيضاً حصول ارتفاعاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في تركيز الكلوبيولين في مصل الأبقار المصابة بالتهاب الخلب والشبكية الكلمي واتفقت النتائج هذه مع دراسات أجريت في الأبقار المصابة بالتهاب الخلب والشبكية الكلمي [22]، وربما يعود سبب هذا الارتفاع إلى حدوث تحطم الانسجة وتحللها أو تفاعل الجهاز المناعي ضد المستضدات [19].

كما بينت نتائج هذه الدراسة حدوث انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في تركيز الكلوكتاتيون في مصل الأبقار المصابة مقارنة مع مجموعة السيطرة ، وهذا ما وجدته أيضاً [23] في دراسة اجراها على الجردان المصابة بالتهاب الخلب التجريبي اذ لاحظ حصول انخفاضاً معنوياً في تركيز الكلوكتاتيون ، كما اتفقت النتائج مع دراسة [24] التي أجريت على الخيول التي تعاني من التهاب الخلب . ويعد الكلوكتاتيون من أهم مضادات الاكسدة (Antioxidants) في الجسم [25] ، ويمكن أن يعزى السبب في انخفاض تركيزه في مصل الأبقار المصابة بالتهاب الخلب والشبكية الكلمي إلى زيادة الجذور الحرة (Free Radicals) نتيجة للجروح والكدمات (Trauma) داخل الجسم والتي تسهم بدورها في أكسدة الكلوكتاتيون المختزل [23].

لوحظ في الدراسة الحالية حصول ارتفاعاً معنوياً في مستوى المألوندايديهايد في مصل الأبقار المصابة بالتهاب الخلب والشبكية الكلمي بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ، وقد أشارت دراسة أجريت على الجردان المصابة تجريبياً بالتهاب الخلب إلى حصول ارتفاع معنوي في مستوى المألوندايديهايد [26]، قد يعزى السبب في ذلك إلى زيادة إنتاج جذور الأوكسجين الحرة ( $O_2$ ) بسبب الكدمات على أنسجة الجسم مما يؤدي إلى حصول بيروكسدة الدهون وإنتاج المألوندايديهايد [24].

#### الاستنتاجات

تستنتج من هذه الدراسة ان التهاب الخلب والشبكية الكلمي سبب انخفاضاً في مستوى مضادات الاكسدة في مصل الأبقار المصابة

قُدّر مستوى بيروكسدة الدهون في مصل الدم من خلال قياس كمية المألوندايديهايد MDA بوصفه ناتجاً نهائياً للدهون فوق المؤكسدة حسب الطريقة الموصوفة من قبل الباحثين [11] .

#### التحليل الاحصائي

حُلّت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Sigma State. For Copyright © 2004 Sytat, Windows Version 3.10 وتم تقدير الوسط الحسابي ، والانحراف القياسي . وتم تحليل البيانات باستخدام اختبار تحليل التباين الاحادي One Way analysis of variance ، وحُدّدت الفروقات بين المجاميع باستخدام اختبار دنكن Duncan multiple range test وكان الاختلاف المعنوي للاختبارات جميعها عند مستوى احتمالية ( $P < 0.05$ ) .

#### النتائج

الجدول التالي يوضح تأثير اصابة الأبقار بالتهاب الخلب والشبكية الكلمي في مستوى البروتين الكلمي والألبومين والكلوتاتايون والمألوندايديهايد.

المجموعة السليمة	المجموعة المصابة	المجاميع المعايير
0.162 ± 7.85 b	0.134 ± 8.73 a	البروتين الكلي (غم/مل)
0.082 ± 4.22 b	0.042 ± 3.12 a	الألبومين (غم/مل)
0.041 ± 3.43 b	0.023 ± 4.97 a	الكلوبيولين (غم/مل)
0.185 ± 3.23 a	0.132 ± 1.62 b	الكلوتاتايون (ملي مول/لتر)
± 82.92 3.528 b	± 127.32 6.901 a	المألوندايديهايد (مايكرو مول/لتر)

القيم معبر عنها بالمعدل ± الانحراف القياسي الأحرف المختلفة ضمن الصف الواحد تعني أن هناك اختلافاً معنوياً عند مستوى احتمالية ( $P < 0.05$ ).

#### المناقشة

لوحظ من نتائج الدراسة الحالية حدوث ارتفاع معنوي ( $P < 0.05$ ) في مستوى البروتين الكلمي في مصل الأبقار المصابة بالتهاب الخلب والشبكية الكلمي ، وجاءت النتيجة متفقة مع دراسات أجريت على الأبقار [12]. إذ قد تكون الزيادة في مستوى البروتينات مؤشراً قوياً إلى وجود التهاب الخلب والشبكية الكلمي في الأبقار [13] . كما أن التغيير في مستوى بروتينات الدم قد يحدث بسبب الالتهابات والأنسجة المحطمة أو المدمرة [14]، وقد يعزى السبب في ذلك إلى حصول ارتفاع في تركيز الكلوبيولين [15] في حين لم تتفق هذه الدراسة مع ما وجدته [16] في دراسة على الأبقار اذ لم يلاحظ اي تغيير في تركيز البروتين الكلمي في الأبقار المصابة بالتهاب الخلب والشبكية

## تأثير التهاب الخلب والشبكية الكلمي في الابقار المحلية على بعض معايير الدم الكيموحيوية

خالد احمد هادي السعيد

فرع الفلسفة والادوية والكيمياء الحياتية ، كلية الطب البيطري ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

Email: [dr.khalid8248@yahoo.com](mailto:dr.khalid8248@yahoo.com)

### الملخص

صممت الدراسة الحالية لمعرفة التغيرات في عدد من المعايير الكيموحيوية المرافقة للإصابة بالتهاب الخلب والشبكية الكلمي في الابقار المحلية. إذ سُحبت 80 عينة دم من ابقار محلية وزعت على مجموعتين ، المجموعة الأولى شملت 16 حيواناً سوياً مثلت مجموعة السيطرة ، والمجموعة الثانية شملت 64 حيواناً يعاني من التهاب الخلب والشبكية الكلمي بعد اجراء عملية فتح الكرش من قبل الجراحين الاخصائيين . بينت النتائج أن الإصابة بالتهاب الخلب والشبكية الكلمي قد أحدث ارتفاعاً معنوياً ( $P<0.05$ ) في مستوى البروتين الكلي ، والكلوبولينات وحصول انخفاضاً معنوياً ( $P<0.05$ ) في مستوى الالبومين بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. من ناحية اخرى أحدث التهاب الخلب والشبكية الكلمي تغييراً في بعض معايير الكرب التأكسدي إذ لوحظ ارتفاعاً معنوياً ( $P<0.05$ ) في تركيز المألوندايديهايد ، وانخفاضاً معنوياً ( $P<0.05$ ) في تركيز الكلوتاثايون . نستنتج من هذه الدراسة ان التهاب الخلب والشبكية الكلمي أثر تأثيراً سلبياً على مضادات الاكسدة رافقها زيادة في مستوى المألوندايديهايد وهذا يدل على حدوث حالة الكرب التأكسدي الذي يكون مرافقاً لالتهاب الخلب والشبكية الكلمي.

**الكلمات المفتاحية:** التهاب الخلب والشبكية الكلمي ، بروتينات الدم ، الالبومين ، الكلوبولينات ، المألوندايديهايد.

### المقدمة

جدار الشبكية بعد فتح الكرش، سحب ما يقارب 10 مليلتر دم من كل حيوان، ثم وضع الدم بعد عملية السحب في أنابيب زجاجية معقمة خالية من مانع التخثر محكمة الغلق في درجة حرارة الغرفة ، تمت عملية فصل المصل باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة (4000 دورة / دقيقة) ولمدة عشر دقائق، ثم وضع مصل الدم في أنابيب بلاستيكية معقمة محكمة الغلق لتحتفظ في المجمدة بدرجة (-20 م) لحين إجراء الفحوصات الكيموحيوية عليها.

#### 1\_ تقدير مستوى البروتين الكلي في مصل الدم

قُدِّر مستوى البروتين الكلي باستخدام عدة جَاهِزَة من قِبَل شركة (BIOLABO) ويحسب بطريقة بايوريت، التي تعتمد على طريقة [7].

#### 2\_ تقدير مستوى الألبومين في مصل الدم

قيس مستوى الألبومين بالاعتماد على طريقة [8] وذلك باستخدام غُدة التقدير المجهزة من قِبَل شركة (BIOLABO) الفرنسية لصناعة الكواشف المختبرية.

#### 3\_ تقدير مستوى الكلوبيولين في المصل

تم حساب مستوى الكلوبيولين عن طريق المعادلة الآتية [9].  
تركيز الكلوبيولين في المصل (غم/100مل) = تركيز البروتين الكلي - تركيز الألبومين.

#### 4\_ تقدير مستوى الكلوتاثايون (GSH) في مصل الدم

قُدِّر مستوى الكلوتاثايون باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من قِبَل الباحثين [10] .

#### 5\_ تقدير مستوى المألوندايديهايد في مصل الدم

تصاب الابقار بالعديد من الأمراض المعدية وغير المعدية التي بدورها تؤثر في صحة الحيوان وإنتاجيته والمتمثلة بنقص في إنتاج الحليب وقلة في الوزن، وفي بعض الأحيان قد ينفخ الحيوان مما يؤدي إلى حدوث خسارة اقتصادية كبيرة للمربي [1] ويعد التهاب الخلب والشبكية الكلمي Traumatic reticuloperitonitis أحد الأمراض غير المعدية التي تصيب الجهاز الهضمي للابقار وذلك نتيجة لتناولهما الأجسام المعدنية الغريبة وخاصة الحادة منها كالمسامير وقطع الأسلاك المعدنية التي يتجاوز طولها (2.5) سنتيمتر ومن ثم دخولها إما إلى الكرش أو الشبكية [2]، وعند حدوث عملية الاختراق يؤدي ذلك إلى حدوث التهاب الخلب Peritonitis مما يقود إلى ظهور علامات سريرية مختلفة تبعاً لشدة الالتهاب ونوعه [3]، وإن العلامات السريرية الملحوظة على الحيوان المصاب تشمل فقدان الشهية وقلة التبرز وتنفوس الظهر وعدم الرغبة في الحركة والبروك بصعوبة، فضلاً عن الارتفاع بدرجة الحرارة والنبض والتنفس وفقدان الوزن والهزال [4]، ويرافق ذلك حدوث زيادة في أعداد خلايا الدم البيض وخاصة العدلات (neutrophils) [5]، وحدثت قلة في أعداد كريات الدم الحمراء وتركيز خضاب الدم [6]. صممت هذه الدراسة للتعرف على تأثير التهاب الخلب والشبكية الكلمي في الابقار المحلية على بعض معايير الدم الكيموحيوية ومعايير الكرب التأكسدي.

### المواد وطرائق العمل

#### جمع عينات الدم:

جُمعت عينات الدم من الوريد الوداجي jugular vein باستخدام حقن (سرنجات) معقمة، بعد أن شخصت الحالات من قِبَل الأخصائيين في الجراحة والطب الباطني والوقائي فتم تحديد الحالات اعتماداً على ظهور على العلامات السريرية فضلاً عن التقب في

## Study the most bacterial isolates of the Otitis Media in Qurna and Al-mdiana districts

Kawakib I. Al-Zubaidy

Department Of biology, Education Collage /Qurna, University of Basra, Basra, Iraq

Email: tal.diwan @ gmail.com

### Abstract

This study was conducted from the period of October,2014 to April, 2015 in Qurna education college. During that period 35 swabs were taken from patients who are being questionable to otitis media from Qurna and Al-mdiana districts, and with different ages from 15 to 50 years and for both gender. The samples were cultured on different media for laboratory diagnosis .

Results showed domination of *pseudomonas aeruginosae* with percentage of 46.6% as a main causative and important for otitis media, especially for those whom ages less than 15 years old, then it comes *staphylococcus aureus* with percentage of 30%, *klebsiella sp.*, and *staphylococcus epidermedis* with percentage of 10%. Finally *E.coli* was isolated with 3.3% as it did not get any up growth for the remaining five samples.

Sensitivity test to Antibiotics also was performed for the most important causative bacterial isolations. Results showed that the *pseudomonas aeruginosae* was sensitive only for AMC (0.6mm), while its resistance was shown to the other antibiotic TMP(1.9mm), AMC, AX. On the contrary, *staphylococcus aureus* have shown the highest sensitivity to TMP (1.9mm), AMC(1.7mm), AX(1mm), and finally PG(0.5mm).

Also it has been studied for some effective factors on disease spread as age, gender, dwelling areas and educational level. The results showed a highly proportion of morbidity for ages less than 15 years old with percentage of 53.8% and 63.3% for un-educated patients, and also results showed an increase in morbidity for male ( 56.6%) in comparison with female (43.4%) .

- [23] Shyamala R, Reddy PS. The study of bacteriological agents of chronic suppurative otitis media: Aerobic culture and evaluation. J Microbiol biotech Res 2012;2:152-62.
- [24] Leach, A.J.; Morris, P.S.; Mathews, J.D. and COMIT 1 group (2008). Compared to placebo, long-term antibiotics resolve otitis media with effusion (OME) and prevent acute otitis media with perforation (AOMWip) in a high-risk population: A randomized controlled trial. BMC pediatrics 8:23.
- [25] Adhikari, P. Khanal, S.; Bhatta, R. Sigdel, S. and Baral, D. (2010). Status of contralateral Ear In Patients with Chronic Otitis Media. Inter. J. of Health: 10(2).
- [26] Al-Ubaydi, B.M. (2006). Bacterial otitis median in Diyala. M.Sc. thesis. collage of education Diayala university.
- [27] Paffrath, M.D. and Schwaber, T.P. (2000) Implications of drug resistant *P. aeruginosa* for otitis media. Infect. Dis. J.10953-956 .
- [28] Fauda, S.I.; Kadry, A.A. and Shibi, A.M. (2004). Beta – Lactam and macrolide resistance and sero type distribution among *Streptococcus pneumonia* isolates from Saudi Arabia. J. Chemother . 16(6): 517 -23.
- [29] Laraki, N.; Franceschini, N.; Rossolini; G. Santucci, P. Meunier, C. Pau w, E.A.; Micosante, G.; Frere. J. and Galleni, M. (1999). Biochemical characteristics of the *Pseudomonas aeruginosa* 101/1477 metallo  $\beta$ - Lactamase IMP-1 produce by E. Coli. J. Antimicrobial. Agents Chemother. 43(12): 902- 906.
- [30] Loundon, N.; Roger.; Thein, H.; Begue, P.(2000). Evaluation of the bacteriologic features of persistent otitis media compared with acute otitis media. Otolaryngol. Head-Neck- Surg United states. 125(10): 1134-40.
- [31] Hoyle, B. d.h.; Alcantar, J. and costeron, J.W. (1992). *Ps. aeruginosae* biofilm as a diffusion barrier to piperacilin Antimicrobe . Agent. Chemother. 36: 2054-2056.
- [32] 15- Dragojlovic, J.; Milosevic, B. and Sasic, M.(2002). Endocranial bacterial infections originating in the otorhinolaryngologic area. Srp. Arch. Celok Lek . 130(1): 16-21.
- Suppurative Otitis Media. J. Of Laryngology and Otolology. 1: 950 – 951.
- [14] Bauer, A. W.; kirby, W.M.; Sherris, J. C. and Turch, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. Americ. AM. J. Clin. Pathol. 45:493-496.
- [15] عبدالله , شيلان صلاح (2006). عزل وتشخيص مسببات التهاب الأذن الوسطى القححي المزمن للمرضى الوافدين الى مستشفى زكاري التعليمي في محافظة اربيل .رسالة ماجستير , كلية التربية .جامعة تكريت.
- [16] Burgos sunchez, A. ;Menaches, M.I.; Guardiol ,, J.R.; Gras Albert and. Talaveera Sanche, J.(2000). Descriptive study of infections ear disease in relation tosummer .Acta. otorrinl aring Esp.51(1) 19-24 .
- [17] الأمير,لينة عبدالكريم (1991). دراسة جزيئية لعوامل الضراوة في بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* . أطروحة دكتوراة ,كلية العلوم , جامعة بغداد .
- [18] Salih, A.M; Yassin, N.A. and. Ibrahim, A,M (2002). Bacterial agents causing otitis media among patients attending Azadi teaching hospital, Duhok, Iraq . Journal of Duhok University5(1)242-245.
- [19] Burton, M.; Leighton, S.; Robson, A. and n Russel, J. 2000. *Hall and Colmans diseases of the ear, nose and throat*. 15th. Ed. Churchill Livingstone. P.34.
- [20] Rodrigues, W. J.; Schwartz, R.H. and Thorne, M. M. 1995. Increasing incidence of penicillin-and ampicillin resistant middle ear pathogens. *Pediatr. Infect Dis. J.*14:1075-1078.
- [21] جعاز , أبتسام ثامر ومجهول ,أيناس محمد ( 2010). عزل وتشخيص بعض المسببات المرضية من حالات التهاب الأذن الوسطى الحاد (ASOM) عند الأطفال في مدينة الديوانية واختبار حساسيتها الدوائية تجاه بعض مضادات الحياة مختبريا. المجلة العراقية للعلوم, المجلد 51 , العدد (3) 351-359.
- [22] علي ,منى جلال (2011). عزل وتشخيص المسببات لالتهاب الاذن الوسطى البكتيرية للمرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى في مدينة الحويجة . مجلة تكريت للعلوم الصرفة, مجلد 16,العدد (1) 1662 – 1813.

إلى زيادة المقاومة لهذه المضادات الشائعة الاستعمال [33].

من الجدير بالذكر أن الاستخدام الواسع والعشوائي للعديد من المضادات الحيوية في معالجة حالات الالتهاب بالأذن الوسطى أدى



الشكل(10): فحص الحساسية للمضادات لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus*

- 2- بينت نتائج الدراسة أن أعلى نسبة كانت في الفئة العمرية (أقل من 15 سنة) بنسبة (53.8%).
- 3- أظهرت نتائج الدراسة ارتفاع في نسبة الأصابة بالمرض لدى الذكور (56.6%) مقارنة مع الإناث (43.4%).
- 4- أن أعلى نسبة للأصابة بالمرض كانت لدى غير المتعلمين (63.3%).
- 5- مقاومة *Pseudomonas aeruginosa* لأغلب المضادات الحيوية ماعدا AMC والذي أظهرت حساسيتها تجاهه.

#### 4- الأستنتاجات

- بناء على النتائج المستحصلة من هذه الدراسة نستنتج مايلي :
- 1- أظهرت النتائج أن أكثر الانواع البكتيرية المسببة لالتهاب الأذن الوسطى هي بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* بنسبة (46.6%) ، تلتها بكتيريا *Staphylococcus aureus* بنسبة (30%) ثم بكتيريا *Klebsiella pneumonia* بنسبة (30%) وأخيرا بكتيريا *Staphylococcus epidermidis* بنسبة (10%) و *E.coli* بنسبة (3.3%).

#### المصادر

- [1] Ponte, Carlos Cenjor, Araceli Parra , Eva Nieto, Gloria García-Clavo ,Mara Jose Giménez, Lorenzo Aguila and Francisco Sorian (1999): Ear infections. J Antimicrobial. 4:85-90.
- [2] الرماحي , سيوف خومان علوان (2006).دراسة بكتيرية ومناعية على مرضى خمج الأذن الوسطى في محافظة القادسية , رسالة دكتوراة , كلية التربية , جامعة القادسية .
- [3] الشويخ , رنا مجاهد (2002) .عزل وتشخيص بعض أنواع البكتيريا المسببة لالتهاب الأذن الوسطى المزمن مع دراسة جزيئية لبعض أنواعها .رسالة ماجستير بكلية العلوم , الجامعة المستنصرية .
- [4] Ferede, D.; Geyid, A. and Melaku, A(2001). Drug susceptibility pattern of bacterial isolates from children with CSOM. Ethiop. J. Health Dev.15(2) 89-96.
- [5] Kononen, E.; Jousimies – Somer, H.; Bryk, A.; Kilpi, T. and Kilian, M. (2002). Establishment of streptococci in the upper respiratory tract: longitudinal changes in the mouth and nasopharynx up to 2 years of age. J.Med. Microbiol. 51 (12): 723-730.
- [6] Vancauwenberge.p. B.; Vandermij nsbrugge and A. MandIng,k. J. AO. (1993): The microbiology of acute and chronic sinusitis and otitis media are view. Eur. Arch. Otorhinolaryngol., 250:53-56.
- [7] Mandel, E.M., Classibraot, M.L. and Kurs-lasky, m (1994): Acut Otorrhea bacteriology of common complication tympanostomytube. J Aonn. otol. Rhino.; laryngol.,103,713-718.
- [8] Roberts, S. Q. and Mackenzie, D. W. 1986. *Text book of dermatology*. Black Well. Scientific publication. London.
- [9] Parry, D. and Roland, D.S. (2002).Middle ear, chronic suppurative, medical treatment. medicine company. Inc. website. <http://www.medicine.com>.
- [10] Mattila, P. S. and Joki, E. V. 2003. Does adenoidectomy prevent recurrent otitis in young Children. *J. Medicine*. 128: 163- 168.
- [11] Ershewtz, R.A. 2003. Adjunctive treatment for (AOM) in chldren. *J. Medicine. pediatr*,2003.
- [12] Rovers, M. M.; Glaszion, P. and Appelman, C. L. 2006. Antibiotics for acute otitis media. *B. M. J.* 368: 1429-1435.
- [13] Indudharan, R. and Ashraful, J. H. 1996. Use of Pre-reduced swat in bacteriology of Chronic

بالأشخاص المتعلمين، وهي نتيجة مطابقة لما توصل اليه بعض الباحثين في دراسات سابقة [28].

أما فيما يخص عامل منطقة السكن فقد أشارت النتائج الى عدم وجود أي فرق في نسبة المصابين بالمرض لقضائي القرنة والمدينة والسبب يعود الى أوجه التشابه بين القضائين من ناحية الظروف البيئية والمعيشية وبالتالي التعرض الى نفس مسببات المرض .

حساسية أهم الأنواع البكتيريا المعزولة من إصابات التهاب الأذن الوسطى لبعض المضادات الحيوية :

أجري الفحص باستخدام 4 أنواع من المضادات الحيوية المستخدمة في علاج التهاب الأذن الوسطى لأهم الأنواع البكتيريا المعزولة من المصابين بالتهاب الأذن الوسطى الشكل (10)، حيث أظهرت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* حساسيتها فقط لـ AMC: amoxicillin with clavulanic acid (0,6 ملغم)، بينما أظهرت مقاومتها للمضادات الحيوية الأخرى Trimethoprim :TMP, P: Amoxicillin, Penicillin G AX: *Staphylococcus aureus* أعلى حساسية لها تجاه المضاد الحيوي TMP:Trimethoprim (1,9 ملغم)، ثم AMC: amoxicillin with clavulanic acid (1,7 ملغم)، تلاه AX:Amoxicillin (1 ملغم) وأخيرا P: Penicillin G (0,5 ملغم).

أظهرت النتائج إن بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* هي أكثر أنواع البكتيريا مقاومة لجميع المضادات الحيوية وقد يعود السبب إلى امتلاك البكتيريا آليات دفاعية متنوعة منها إنتاج إنزيمات  $\beta$ -lactamases والتي تحطم حلقة  $\beta$ -lactam في مضادات ال-  $\beta$  lactam لذا تعد مقاومة البكتيريا لهذه المضادات من المشاكل الطبية واحد لأسباب فشل علاج أغلب حالات التهاب الأذن الوسطى [29]. كما ويمكن أن يعزى سبب هذه المقاومة إلى حصول تحوير في واحد أو أكثر من الأنزيمات الخاصة للبتسيلين Penicillin binding protein (PBPs) والتي تمثل موقع هدف المضاد ويحدث مثل هذا النوع من المقاومة بفعل طفرات كروموسومية مما يؤدي إلى عدم وصول المضاد إلى هدفه داخل الخلية البكتيرية [30]. فضلا أن بكتيريا ال- *Pseudomonas aeruginosa* تمتلك عدد من المضخات الدافقة (efflux pumps) . التي تقوم بعملية سحب المضاد ودفعه إلى خارج الخلية البكتيرية. وما يجدر ذكره أن [31] أشار إلى إن المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية محمولة على بلازميدات متحركة بين البكتيريا خصوصا المقاومة للأجيال الجديدة من المضادات الحيوية . كما أشار [32] إلى إن بعض سلالات بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في حالات التهاب المزمن تنتج مادة مخاطية تحيط بالخلية البكتيرية تتكون من عديد السكريد المخاطي Mucoïd exopoly saccharide والتي تدعى بالاجينيت Alginate الذي يعمل على منع وصول الجرعة الفعالة لبعض المضادات الحيوية إلى داخل الخلية البكتيرية.

الإصابة عند انخفاض مقاومة الأذن الوسطى نتيجة لدجول مايكروبات أخرى أو نتيجة لاستخدام المضادات الحيوية .

كما تم عزل بعض اجناس البكتيريا المعوية مثل *Klebsiella pneumoniae* بأعداد قليلة حيث توافقت هذه النتائج مع ما توصل اليه [21] و [22] .

علاقة بعض العوامل مع نسبة الإصابة بالتهاب الأذن الوسطى:

العمر: قسمت مجاميع المرضى حسب الفئات العمرية إلى أربعة مجاميع، الأولى تضمنت الأعمار من (الأقل من 15) عام ، والثانية من (15-30) عام والثالثة من (30 - 40) عام ، أما المجموعة الأخيرة فتضمنت الأعمار من (40-50) عام ، حيث يوضح الجدول رقم (5) انتشار الإصابة في مختلف الفئات العمرية مع اختلاف نسب التوزيع .

جدول رقم (5): توزيع إصابات الأذن الوسطى حسب الفئات العمرية

الفئات العمرية	العدد	النسبة المئوية
أقل من 15	16	53.8%
30 - 15	10	33.3%
40 - 30	2	6.6%
50 - 40	2	6.6%
المجموع	30	100%

أظهرت النتائج أن أعلى نسبة للإصابة كانت في الفئة العمرية (أقل من 15) عام بنسبة (53.3%) وهذا يتفق مع ما أشار اليه [23] ولعل السبب في ذلك يعود إلى عدم اكتمال الجهاز المناعي وقلة الوعي الصحي إلى جانب ضعف البنية الجسدية [4]، في حين كانت نسبة الإصابة (33.3%) في الأعمار المتوسطة (15 - 30) ربما لكونها أعمار شابة تزول أعمال بنسبة أكبر وبالتالي كثرة التعرض إلى العوامل الخارجية وحصول التلوث وبدء الإصابة [25]، أما نسبة الإصابة في الفئات العمرية (30 - 50) عام قد يعود سببها إلى التقدم في السن وضعف المناعة من جراء الإصابة بأمراض أخرى، إضافة إلى قلة المراجعين للعيادات الاستشارية. وكانت نتائج الدراسة متوافقة مع كل من الرماحي [2] و [13].

الجنس : لوحظ من خلال النتائج ارتفاع نسبة الإصابة لدى الذكور (17) وبنسبة (56.6%) مقارنة مع الإناث (13) بنسبة (43.4%) . قد يعود السبب في ذلك إلى أن الذكور أكثر عرضة إلى عامل الخطر في حياتهم من الإناث كذلك الفرصة المتاحة لدى الذكور في ممارسة السباحة سواء كانت في المسابح أو غيرها من الأنهار والبرك ، حيث تتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه كل من [26] و [27]

المستوى التعليمي : بينت نتائج الدراسة الحالية أن نسبة انتشار المرض كانت عالية لدى غير المتعلمين بواقع 19 إصابة وبنسبة (63.3%)، في حين كانت نسبة الإصابة أقل لدى المتعلمين (11) إصابة وبنسبة (36.7%) وهي نسبة طبيعية متوقعة ويعود سببها إلى الوعي الثقافي والتعليمي المتدني لدى غير المتعلمين مقارنة

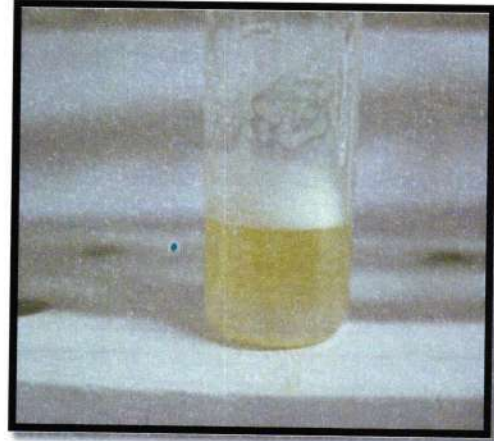


الشكل (9): فحص أنتاج الأندول لبكتيريا *E. coli*

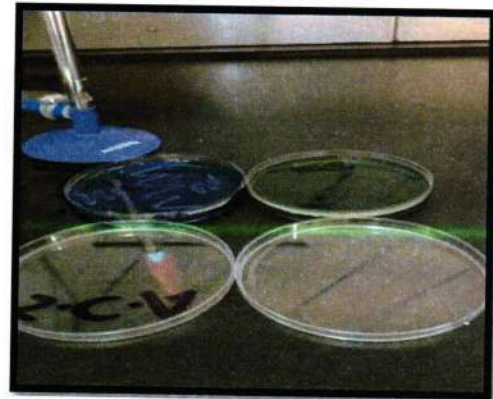
أن سبب سيادة بكتيريا الزوائف الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* قد يعزى ذلك كون هذه البكتيريا واسعة الانتشار في الطبيعة وتتواجد بكثرة في الماء والتربة فضلا عن أستيطانها لبيئات المستشفيات وأسرة المرضى والأجهزة الطبية المختلفة , كما أن لمقاومتها العالية لمضادات الحياة والمعادن الثقيلة الأثر المهم في أنتشارها وتسببها للأصابات خصوصا المكتسبة من المستشفيات [15]. ان مصدر التهاب الأذن الوسطى ليس من الضروري أن يكون عن طريق المجرى الأنفي البلعومي وإنما يمكن أن يكون عن طريق التلوث البرازي للمجرى السمي , إذ أن استخدام الطرق غير الصحيحة في تنظيف الأذن الخارجية يساعد على نقل الممرضات Pathogens الى الأذن الوسطى [16]. أما السباحة في الانهار والمستنقعات فتعتبر من المصادر المهمة للأصابة بالبكتيريا , إذ تكون هذه المصادر المائية عرضة للتلوث بفضلات الإنسان والحيوان والتي تعد مصدرا مهما من مصادر التلوث البيئي [5]. تفرز هذه البكتيريا أنزيمات تعتبر عوامل ضراوة مهمة لها منها Protease , Elastase [18].

تلتها الإصابة بالمكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* وهي نتيجة متوقعة كون هذه البكتيريا واسعة الانتشار في الطبيعة إضافة الى كونها تتواجد في تجويف الأنف وعلى جلود الأشخاص المرضى وان اي ثقب في الطبلة يمكن هذه البكتيريا من الوصول للأذن الوسطى عن طريق قناة السمع الخارجية أو عن طريق التهاب الأذن الوسطى إضافة الى أملاك البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية , كذلك أنتاجها لأنزيمات البيتا لاكتاميز  $\beta$ -lactamase (Salih,2002). ولقد عزلت هذه البكتيريا لدى الرماحي [2] بالمرتبطة الأولى بنسبة %52 في دراستها على أطفال مدينة الديوانية . كما عزلت هذه البكتيريا كمسبب مرضي لهذا النوع من الالتهاب في كثير من الدراسات [19] و [20] .

أما فيما يخص بكتيريا *Staphylococcus epidermidis* فقد طابقت نتيجة الدراسة ماتوصل اليه [10] فهي من الميكروبات غير الممرضة non pathogenic وإنما بكتيريا متعايشة على جلد غشاء طبلة الأذن والأذن الوسطى وتصبح هذه البكتيريا أنتهازية تسبب



الشكل (6): فحص الـ Catalase الموجب لبكتيريا *Staphylococcus sp.*



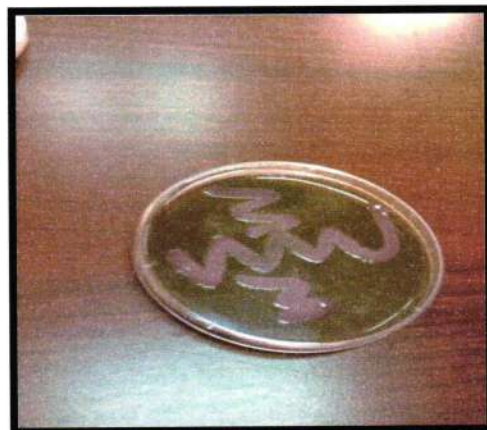
الشكل (7): فحص أستهلاك السترات Simmon citrate لـ *Klebsiella pneumoniae*



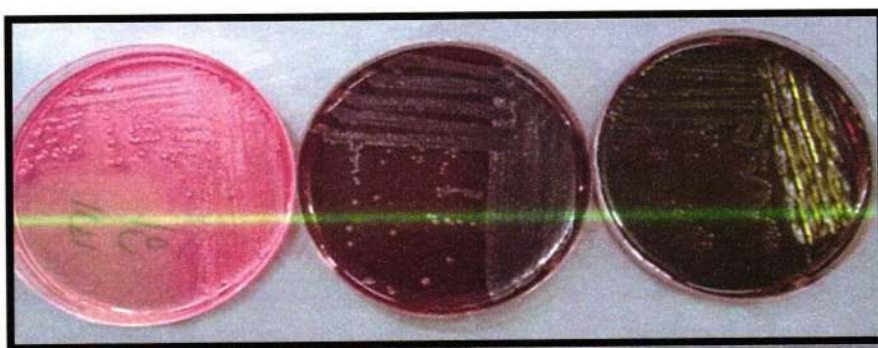
الشكل (8): فحص تخمر السكريات الثلاثي TSI مع أنتاج الـ H2S للبكتيريا السالبة لصبغة كرام



الشكل (4): بكتيريا *Staphylococcus epidermidis* على وسط  
Mannitol salt agar



الشكل (3): بكتيريا *Klebsiella pneumoniae* على وسط  
MacConkey agar



الشكل (5): بكتيريا *E. coli* على وسط MacConkey agar, Blood agar and EMB agar

تم تشخيص هذه العزلات البكتيرية اعتمادا على الشكل المظهري البايوكيميائية جدول (4), (الأشكال 6,7,8,9). للمستعمرات والفحص المجهرى وكذلك اجراء أهم الفحوصات

جدول (4) يوضح أهم الفحوصات البايوكيميائية للعزلات البكتيرية

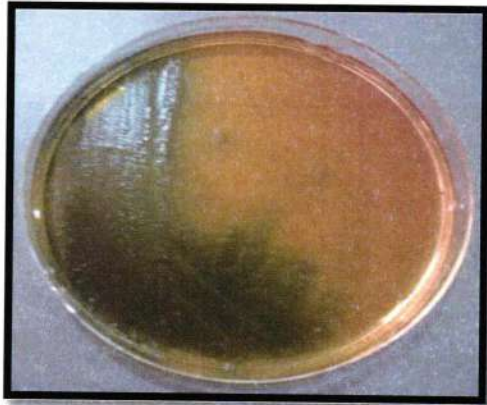
Bacterial isolates	Biochemical tests and identification							
	Gram stain	catalase	S.C	Indole	Motility	oxidase	TSI	Hemolysis on B.A
<i>Ps. aeruginosa</i>	-ve	+ve	+ve	-ve	V	+ve	R/R	β
<i>Staph. aureus</i>	+ve	+ve	+ve	-ve	+ve	-ve	/	β
<i>Kle. pneumoniae</i>	-ve	+ve	+ve	-ve	-ve	-ve	y/y or R	γ
<i>Staph. epidermidis</i>	+ve	+ve	+ve	-ve	+ve	-ve	/	β
<i>E. coli</i>	-ve	+ve	-ve	+ve	V	-ve	y/y, Gas	γ

+ve: positive / -ve: negative/ v: variable/ y: yellow / R:red / β: Beta/ γ:gamma

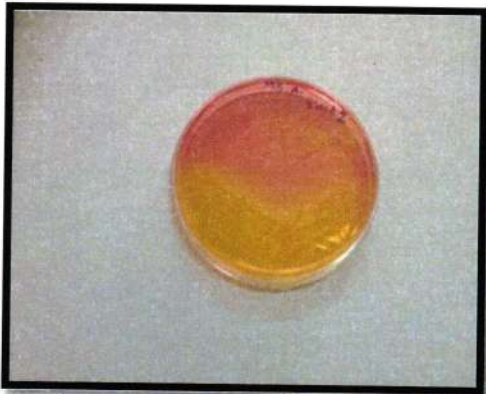
أظهرت نتائج الدراسة الحالية وكما مبين في الجدول (3) بأن بكتيريا *Pseudomonas aeruginosae* الشكل رقم (1) هي أكثر أنواع البكتيريا أنتشارا حيث تم عزلها من 14 أصابة مرضية بنسبة (46.6%)، تلتها بكتيريا البكتيريا العنقودية *Staphylococcus aureus* الشكل (2) بالمرتبة الثانية بواقع 9 أصابات وبنسبة (30%)، بينما كانت أعداد كل من بكتيريا *Klebsiella pneumoniae* الشكل رقم (3) و *Staphylococcus epidermedis* الشكل رقم (4) بواقع 3 أصابات وبنسبة (10%)، في الوقت الذي احتلت فيه بكتيريا *E.coli* المرتبة الأخيرة في سلم العزل البكتيري الشكل رقم (5) بواقع أصابة واحدة وبنسبة (3.3%) .

جدول(3): أعداد ونسب الأنواع البكتيرية المعزولة من التهاب الأذن الوسطى

النسبة المئوية	عدها	العزلات البكتيرية
46.6%	14	<i>Pseudomonas aeruginosae</i>
30%	9	<i>Staphylococcus aureus</i>
10%	3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
10%	3	<i>Staphylococcus epidermedis</i>
3.3%	1	<i>E.coli</i>



الشكل (1) : بكتيريا *Pseudomonas aeruginosae* على وسط Nutrient agar



الشكل (2): بكتيريا *Staphylococcus aureus* على وسط Mannitol salt agar

يستخدم للتفرقة بين بكتيريا *Staphylococcus aureus* والأنواع الأخرى من بكتيريا *Staphylococcus*. يتم إجراء هذا الفحص في أنابيب اختبار وذلك بتلقيح بلازما الدم بالبكتيريا ثم الحضان بدرجة 37 درجة مئوية ولمدة ساعة ونصف. بعدها تقرأ النتائج حيث يلاحظ تخثر البلازما على شكل قطع متجمدة إذا كانت النتيجة موجبة أما إذا كانت النتيجة سالبة يتم استمرار فترة الحضان 18 ساعة .

#### 6- فحص إنتاج أنزيم الأوكسيداز Oxidase

يتم إجراء هذا الفحص على ورق ترشيح بأخذ كميات كافية من المستعمرات النقية مع إضافة قطرات من الكاشف tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride مع ملاحظة التغيير الحاصل في اللون . يتم قراءة النتيجة بعد مرور 10-15 ثانية .

#### 2-3 : اختبار حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية

استخدمت طريقة [14] لتقدير مدى حساسية البكتيريا المعزولة من حالات التهاب الأذن الوسطى للمضادات الحيوية جدول (1) .

جدول(1): يوضح رمز وتركيز المضادات الحيوية المستخدمة

ت	المضاد الحيوي	رمزه	تركيز (مكغم/قرص)
1	Amoxicillin (clavulanic acid)	AMC	30(20-10) meg
2	Amoxicillin	AX	25 meg
3	Penicillin G	PG	10 IU
4	Trimethoprim	TMP	10 meg

أخذت 3-4 مستعمرات بكتيرية متشابهة ونقية ووضعت في 5 مل من Trypticose soya broth، حضنت من 2-8 ساعات بدرجة 37 درجة مئوية، بعد ذلك تم تلقيح أطباق وسط Muller Hinton agar بواسطة مسحات قطنية معقمة بأمرارها 3 مرات على سطح كل طبق. تترك الأطباق لمدة 15 دقيقة لتجف بعدها توضع أقراص المضادات الحيوية (Amoxicillin, Penicillin, Aoxicluve, Trimethoprim) على أن تكون المسافة بين قرص وآخر 5 ملم، حضنت الأطباق بدرجة 37 درجة مئوية لمدة 18-24 ساعة للحصول النمو وقراءة مناطق التثبيط للنمو Inhibition zone of Growth

#### 3 - النتائج والمناقشة

##### العزل البكتيري Isolation of bacteria

خلال فترة الدراسة تم أخذ (35) عينة، أعطت نتيجة موجبة في (30) عينة وبنسبة (85.71%) بينما لم يتم الحصول على أي نمو بكتيري في الـ 5 نماذج المتبقية بنسبة (14.28%)، وكما موضح في الجدول (2) .

جدول(2): نتائج العزل البكتيري لمسحات الأذن ونسبها المئوية

نتائج العزل	العدد	النسبة المئوية
نمو	30	85.71%
لا يوجد نمو	5	14.28%
المجموع	35	100%

الموصدة بوضعة في حمام مائي لحين وصول درجة حرارة الوسط  
45-50 درجة مئوية ، يتم إضافة الدم بنسبة 5% من الوسط .

#### 2-2:2: زرع العينات :

لقتح الاوساط الزرعية ، الوسط الغذائي Nutrient agar ، أكار الدم  
Blood agar ، أكار الماكونكي MacConkey agar ، أكار  
المانيتول Mannitol salt agar ، بمسحات العينات بطريقة  
التخطيط ثم حضنت بدرجة 37 درجة مئوية لمدة 18-24 ساعة . تم  
تشخيص المستعمرات النامية مبدئياً بالتعرف على صفاتها الشكلية .

#### 2-2:3: الفحص المجهرى :

تم إجراء الفحص المجهرى وذلك بعمل مسحة من مستعمرة بكتيرية  
منفردة لكل عذلة بواسطة الناقل الجرثومي المعقم ووضعت على  
شريحة زجاجية نظيفة ثم تثبتها وصبغها بصبغة كرام وبعد أن تجف  
يتم فحصها تحت العدسة الزيتية لملاحظة لون الصبغة وشكل وحجم  
وترتيب الخلايا البكتيرية.

#### 2-2:4: الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests :

##### 1-فحص استهلاك السترات (S.c) Simmon citrate

حضر وسط استهلاك السترات في أطباق بلاستيكية نبيدة وحسب  
تعليمات الشركة المصنعة ، لقتح الأطباق بالعزلات البكتيرية النقية ،  
حضنت بدرجة 37 درجة مئوية لمدة 18-24 ساعة .

##### 2- تخمر السكريات الثلاثية وأنتاج H2S Triple sugar iron (TSI)

حضر وسط تخمر السكريات الثلاثية مع أنتاج غاز H2S حسب  
تعليمات الشركة المصنعة بشكل مائل الأكار Slant في أنابيب  
اختبار . لقتح الأنابيب بالمستعمرات البكتيرية النقية بواسطة الناقل  
الجرثومي بطريقة الطعن في القعر والتخطيط على السطح Stabbing  
and Streaking ، حضنت الأنابيب بدرجة 37 درجة مئوية ولمدة  
18-24 ساعة .

##### 3- فحص الحركة وأنتاج الأندول Hydrogen-Sulfide, Indole (SIM) Motility test

حضر وسط SIM حسب تعليمات الشركة المصنعة بشكل شبة  
صلب Semisolid في أنابيب اختبار . لقتح الأنابيب بالمستعمرات  
البكتيرية النقية بواسطة الناقل الجرثومي بطريقة الطعن في  
القعر Stabbing ، حضنت الأنابيب بدرجة 37 درجة مئوية ولمدة  
18-24 ساعة . تم استخدام Kovacs reagent للدلالة على وجود  
حلقة الأندول.

##### 4-فحص الـ catalase

يتم إجراء فحص الكاتلاز بأخذ كمية قليلة من المستعمرات البكتيرية  
النقية بواسطة Wood stick وتوضع على سطح شريحة زجاجية  
نظيفة بعد ذلك تمزج مع قطرة من كاشف بيروكسيد الهيدروجين  
3% H2O2. كما يمكن إجراء هذا الفحص في أنابيب اختبار.

##### 5-فحص التجلط Coagulase

من البكتيريا المقاومة ضروريا لتقليل حدة المرض [9]. كما أشار [10]  
بان أعداد كبيرة من الأطفال المصابين بالتهاب الاذن الوسطى القيحي  
الحاد تمتلك عودة او رجوع للإصابة مرة أخرى. نتيجة لظهور معدلات  
عالية وغير مقبولة من الفشل العلاجي المستمر والمتكرر لهذا الالتهاب  
لدى الأطفال [11]. إذ ان اختيار المضاد الملائم الفعال يقلل من الفشل  
العلاجي لديهم كما ان الأطفال بعمر اقل من (2) سنة ممكن ان يحدث  
الفشل العلاجي لديهم أيضاً بفعل استعمال مضادات الحياة غير المنتظم  
[12].

هناك العديد من العوامل التي لها دور مهم في أحداث المرض  
كالجنس والعمر والعرق والعوامل الفسلجية المتمثلة بالنمو الجنيني  
والتغيرات الفصلية والمستوى التعليمي والاقتصادي والاجتماعي ، إذ أن  
للبيئة والمجتمع دور كبير في أحداث الإصابة فالسباحة في المياه  
الملوثة وعدم اتباع شروط النظافة يؤدي الى أنتشار المرض وزيادة  
حدته [3].

وبناء على ما سبق ذكره هدفت الدراسة الى :

1- عزل وتشخيص المسببات البكتيرية المرضية السائدة و المسؤولة عن  
التهاب الأذن الوسطى.

2- دراسة حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحياتية بغية التعرف  
على المضاد الأنسب للاستعمال.

3- دراسة تأثير بعض العوامل كالعمر والجنس ومنطقة السكن  
والمستوى التعليمي على أنتشار المرض .

#### 2- المواد وطرائق العمل

##### 2-1: جمع العينات specimens collection

جمعت 35 مسحة أذن من الاشخاص المشكوك بأصابتهم بالتهاب  
الأذن الوسطى حسب طريقة [13] . ولقنات عمرية مختلفة تتراوح  
ما بين (الأقل من 15 - 50 سنة) ولكلا الجنسين وتم تدوين المعلومات  
عن كل مريض من حيث الجنس والعمر والتأكد من عدم تناول المريض  
لأي مضاد حيوي قبل اخذ المسحة لمدة لا تقل عن اسبوع. تم تمرير  
المسحة القطنية المعقمة في القناة السمعية الخارجية الحاوية على  
المتبقي من القيح مع تدوير المسحة قليلا لتكون بتماس مع القيح .  
وضعت المسحة مباشرة في الوسط الناقل Transport media ونقلت  
الى المختبر لغرض أكمل خطوات الزرع البكتيري .

##### 2-2: عزل وتشخيص البكتيريا Isolation and diagnosis of bacteria

##### 2-2-1: تحضير الأوساط الزرعية :

حضرت الاوساط الزرعية كلا حسب تعليمات الشركة المصنعة وذلك  
بأذابة الوسط في الكمية المناسبة من الماء المقطر وأكمل عملية  
الأذابة بتمريرها على لهب بنزن بعدها يتم تعقيمها بواسطة جهاز  
الموصدة بدرجة حرارة 121 درجة مئوية وبضغط حوالي 15 باوند/أنج<sup>2</sup>  
ولمدة 15-20 دقيقة. أما وسط أكار الدم فيتم تحضيره بنفس  
الطريقة مع إضافة الدم عند تبريد الوسط بعد أستخراجة من جهاز

## دراسة أهم المسببات البكتيرية للمصابين بالتهاب الأذن الوسطى في قضائي القرنة والمدينة

كواكب ابراهيم محسن الزبيدي

قسم علوم الحياة ، كلية التربية-القرنة ، جامعة البصرة ، البصرة ، العراق

Email: tal.diwan @ gmail.com

### المخلص

أجريت هذه الدراسة للفترة من تشرين الأول 2014 ولغاية نيسان 2015 في كلية التربية /القرنة. هدفت الدراسة الى عزل وتشخيص أهم المسببات البكتيرية المرضية السائدة والمسؤولة عن التهاب الأذن الوسطى ودراسة حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية وكذلك دراسة تأثير بعض العوامل على انتشار المرض. جمعت خلال هذه الفترة (35) عينة بشكل مسحات أذن من المصابين المشكوك بإصابتهم بالتهاب الأذن الوسطى في قضائي القرنة والمدينة ولقنات عمرية مختلفة تراوحت ما بين (أقل من 15-50) عام ولكلا الجنسين. زرعت النماذج على أوساط زرعية مختلفة وشخصت مختبرياً.

أظهرت نتائج العزل البكتيري سيادة بكتيريا *pseudomonas aeruginosa* بنسبة (46.6%) كمسبب رئيسي ومهم لالتهاب الأذن الوسطى القيحي وبالتحديد لدى الفئات العمرية الأقل من (15) عام. تليها *staphylococcus aureus* بنسبة (30%) ، ثم *Staphylococcus klebsiella pneumonia , epidermidis* بنسبه (10%)، كما تم عزل الـ *E.Coli* بنسبه (3.3%). في حين لم يحصل نمو في الـ (5) نماذج المتبقية .

تم إجراء فحص الحساسية لأهم العزلات البكتيرية المسببة للمرض تجاة بعض المضادات الحيوية حيث أظهرت بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* حساسيتها فقط لـ AMC: amoxicillin with clavulanic acid (0,6 ملم).

بينما أظهرت مقاومتها للمضادات الحيوية الأخرى AX:Amoxicillin PG: PenicillinG, TMP:Trimethoprim (1.9 ملم) ، تلاه AX:Amoxicillin (1 ملم) وأخيراً PG: Penicillin G (0.5 ملم).

كما تم دراسة بعض العوامل المؤثرة على نسبة انتشار المرض مثل العمر والجنس ومنطقه السكن ومستوى التعليم حيث أظهرت النتائج إن أعلى نسبة للإصابة كانت في الفئة العمرية (أقل من 15) عام وبنسبه (53.8%) ، وبنسبة (63.3%) لدى المصابين غير المتعلمين ، كما أظهرت النتائج ارتفاع بنسبه الإصابة لدى الذكور (56.6%) مقارنة مع الإناث والتي تشكل (43.4%) .

من خلال النتائج المستحصلة من تلك الدراسة نستنتج أن أكثر الانواع البكتيرية المسببة لألتهاب الأذن الوسطى هي بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* تلتها بكتيريا *Staphylococcus aureus* ثم بكتيريا *Staphylococcus epidermidis , Klebsiella pneumonia ,* وأخيراً بكتيريا *E.coli* . كما بينت نتائج الدراسة أن أعلى نسبة كانت في الفئة العمرية (أقل من 15 سنة) مع ملاحظة ارتفاع في نسبة الإصابة بالمرض لدى الذكور مقارنة مع الإناث وأن أعلى نسبة للإصابة بالمرض كانت لدى غير المتعلمين.

### 1- المقدمة

من المسببات المرضية الشائعة لاصابات الاذن الوسطى هي البكتريا العنصوية السالبة لصبغة كرام وخاصة *Pseudomonas aeruginosa and Proteus sp. Klebsiella pneumoniae, E. coli* [6] وبعض الكرويات الموجبة لصبغة كرام مثل *Staphylococcus aureus Streptococcus pneumonia Moraxilla catarrhalis* [7] .

كما وتعد المبيضات (*Candida*) جزءاً من النبيت الطبيعي للجسم (Opportunistic pathogens) خاصة عند المرضى الذين يفرطون في تناول مضادات الحياة [8]. وقد تكون بعض انواع البكتيريا اللاهوائية سببا لأحداث المرض أو قد تكون الإصابة ناتجة عن الفطريات والفايروسات، إذ يكون المسبب للمرض كائننا مجهريا واحدا أو أكثر في حالة الإصابة نفسها ، أن ظهور سلالات بكتيرية متعددة المقاومة لعدة أنواع من المضادات الحيوية يعود الى الاستخدام العشوائي لهذه المضادات في علاج الامراض ومنها مرض التهاب الأذن الوسطى لذلك أصبح البحث عن علاجات جديدة لهذه الانواع

يعرف التهاب الاذن الوسطى (otitis media) على انه إصابة او التهاب الغشاء المبطن للاذن الوسطى كلياً او جزئياً بفعل انواع مختلفة من الاحياء المجهرية [1]. ويعد مشكلة صحية تعاني منها مناطق مختلفة من العالم ، وهو السبب الرئيسي لفقدان السمع ، الطرش الكامل ، شلل الوجه ، خراج الدماغ ، التهاب الأذن الداخلية والتهاب الغشاء المبطن لها [2] و[3].

يوجد هذا المرض بطورين رئيسيين هما الطور الحاد (Acute) والمزمن (Chronic) وقد يصاحب هذين الطورين تدفق للسائل القيحي مما يزيد من أهمية وخطورة هذا المرض خصوصا في فترة الطفولة [4] . أشارت العديد من الدراسات الى أن حصول حالة التهاب الأذن الوسطى بالبكتريا الموجبة لصبغة كرام يكون مصدرها التجويف الأنفي للبلعوم هو السائد ، أما مصدر البكتيريا السالبة لصبغة كرام المعوية فلا يكون التجويف الأنفي البلعومي وإنما تلوث القناة السمعية بهذه البكتيريا قد يكون هو السبب في حدوث حالة الإصابة [5] .

- 10- Sun H.; Lixin, W.; Lianfeng, A.; Shuxuan, L. and Hong, A. . (2010) A sensitive and validated method for determination of melamine residue in liquid milk by reversed phase high-performance liquid chromatography with solid-phase extraction. Food Control, 1(21): 686–691.
- 11- الجبوري, سعد ضامن عليوي, 2013. دراسة تلوث بعض أنواع الحليب المجفف وخلات الرضع بالأحياء المجهرية وبعض المعادن الثقيلة والميلامين في الأسواق العراقية, رسالة ماجستير جامعة تكريت.
- 12- El Rabey H. A.; Al- Sieni A. I.; and Majami A. A. (2013) The Toxic Effect of Melamine on the Kidney of Male Rats as Revealed by Biochemical and Histopathological Investigations, Life Sci. J. 10(1):2119-2130.
- 13- Son J. Y.; Kang Y. J.; Kim K. S.; Kim T. H.; Lim S. K.; Lim H. J.; Jeong T. C.; Choi D. W.; Chung K. H.; Lee B. M.; and Kim H. S. (2014) Evaluation of Renal Toxicity by Combination Exposure to Melamine and Cyanuric Acid in Male Sprague-Dawley Rats, Toxicol. Res. 30(2):99-107.
- 14- Garber E. A. E. (2008) Detection of Melamine Using Commercial Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Technology. J. of Food Prot., Vol. 71, No. 3, 590–594.
- 15- National Research Council Recommended (NAS-NRC). (2002) Dietary Allowance. 15th ed. Washington, DC. National Academy. Press.
- 16- Tietz Y. (2005) Clinical Biochemistry, 6 th ed., McGraw-Hill, New York , p. 825.
- 17- SAS (2001). SAS User's guide: Statistical system, Inc. Cary, NC. USA.
- 18- Duncan, D.(1955). Multiple range and Multiple F-Test. Biometrics. 11:1-42.
- 19- Wei F.; Robert, L.; Stacy, C.; Steven, L.; Dean, H. and Na, L. (2010) Rapid detection of melamine in whole milk mediated by unmodified gold nanoparticles. Appl. Phys. Letters 96:133-702 .
- 20- Sungsoo S. and Finocchiaro, E. (2010) Hand book of prebiotic and probiotic ingredients: health and benefits and food application 3<sup>rd</sup> ed., Taylor and Francis group LLC., printed in U.S.A.
- 21- Ou C.; Chiu, Y.; Lin, Sh.; Chang, Y.; Huang, H. and Lin, M. (2011) Hepatoprotective effect of lactic acid bacteria in the attenuation of oxidative stress from *tert*-Butyl-Hydroperoxide, J. of Food & Drug Ana. ,20(1):101-110.
- 22- Mohammed A. K. (2003) The effect of omega-3 fatty acids in early and advanced chronic liver diseases. M.Sc. thesis, El-Minia University.

## Assay of Melamine in Some Types of dairy products in Iraqi Markets and Determine its Impact on Growth Rate, Biochemical and Enzymatic Parameters in Rats

Mohammed J. Mohammed , Karkaz M. Thalij , Amin S. Badawy , Mohammed A. Jasim

Food Science Department , College of Agriculture , Tikrit University , Tikrit , Iraq

Email: m\_jamel68@yahoo.com

### Abstract

This study was conducted in the laboratories of the Food Science Department, College of Agriculture, Tikrit University. Samples were collected of the most commonly handled in local markets in Salah AL-ddin. Those samples were includes dairy products from different sources in local markets in order to estimate melamine. Also, the study emphasized on the evaluation of the effect(s) of melamine on physiological, biochemical, and enzymes parameters of experimental animal (Rats). Melamine were added to the drinking water over 21 days. The study also attempts to determine their effect on the microbial balance of natural flora as well as the appreciation of two types of Lactic acid bacteria *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* in limiting or decreasing the effect of melamine. The results showed that there were significant differences ( $p < 0.05$ ) in the concentrations of melamine in types of dairy products. Melamine concentrations in dairy products (2.7-58) , (4.4-33) , (3.6-13.1) , (4.2-74) ppm in milk powder, milk liquid, cheese and youghurt respectively. The effect of melamine concentrations in drinking water, led to significant reduction in animals body weight with the increasing of the concentration. The biochemical parameters for each of the Total protein, and Globulin did not vary significantly except in the case of adding melamine. Highly significant differences have been shown in the values of each of the Uric acid ,Creatinine ,and Urea with increased concentrations of melamine. Values of each (ALP), (ALT) and (AST) enzymes had been significantly increased with the increasing concentration of melamine.

However, the addition of *Lb. casei* and *Lb. acidophilus* as probiotics bacteria led to decreasing the negative effects of melamine on the values of all the parameters determined.

**Key words:** Benzoic acid, Lactic acid bacteria, Rats.

145 و 164 وحدة عالمية / لتر بالنسبة لبكتريا *Lb. casei* وبلغت قيمة الإنزيم ALT 32 و 42 وحدة عالمية / لتر، وللإنزيم AST بلغ 44 و 46 وحدة عالمية/لتر، وللإنزيم ALP بلغ 142 و 159 وحدة عالمية / لتر بالنسبة لبكتريا *Lb. acidophilus* مقارنة مع مجموعة السيطرة.

اتفقت النتائج مع ما ذكره [11] في حصول ارتفاع في قيم إنزيمات الكبد ALT ، AST ، و ALP عند تجريب الأرناب بالميلامين القياسي عند تراكيز 0.05 ، 0.1 ، و 0.2 ملغم/ حيوان / يوم مقارنة مع مجموعة السيطرة. واتفقت كذلك مع ماذكره [12] من ارتفاع في نشاط إنزيمات الكبد ALT ، AST ، و ALP مقارنة مع مجموعة السيطرة.

معنوي ( $P < 0.05$ ) في فعالية جميع قيم الإنزيمات ALT ، AST ، و ALP ولكل مجاميع الحيوانات المغذاة على الميلامين بالتركيز 25 و 50 ملغم / كغم مقارنة بمجموعة السيطرة التي بلغت فيها قيم فعالية الإنزيمات ALT ، AST ، و ALP هي 25 ، 42 و 138 وحدة عالمية/ لتر على التوالي، وبلغت قيم فعالية الإنزيم ALT (35 و 51) والإنزيم AST (48 و 55) والإنزيم ALP (157 و 173) وحدة عالمية / لتر. كما أظهرت النتائج حصول انخفاض معنوي في فعالية الإنزيمات عند إضافة الميلامين بتركيزه مع نوعي بكتريا حامض اللاكتيك إذ بلغت قيمة الإنزيم ALT 32 و 44 وحدة عالمية / لتر، وللإنزيم AST بلغ 43 و 47 وحدة عالمية / لتر، وللإنزيم ALP بلغ

جدول 4 تأثير تراكيز الميلامين في بعض المعايير الإنزيمية (IU/L) في إناث الجرذان بعد فترة 21 يوماً

المعاملات	التركيز ملغم / كغم	ALT	AST	ALP
السيطرة	0	25d	42c	138e
السيطرة + <i>Lb. casei</i>	2مل/حيوان/يوم	19e	32d	119f
السيطرة + <i>Lb. acidophilus</i>	2مل/حيوان/يوم	21e	34d	117f
الميلامين	25	35c	48b	157c
	50	51a	55a	173a
الميلامين + <i>Lb. casei</i>	25	32c	43c	145d
	50	44b	47b	164b
الميلامين + <i>Lb. acidophilus</i>	25	32c	44c	142d
	50	42b	46b	159c

a-e : الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود إختلافات معنوية عند مستوى إحصائية 0.05

ALT = Alanine amino transferase : AST = Aspartate amino transferase ALP = Alkaline phosphatase

الإيجابي في قيم الإنزيمات يمكن أن يعزى إلى أن بكتريا حامض اللاكتيك تعمل على تثبيط بعض المركبات المسؤولة عن حدوث تلف خلايا الكبد مثل الميلامين الذي تسبب إضافته خلل في وظائف الكبد [21]. وإن استهلاك المنتجات الغذائية الحاوية على بكتريا حامض اللاكتيك توفر حماية لخلايا الكبد [22].

إن زيادة نسبة النيتروجين الناتجة عن تحلل الميلامين المستهلك من قبل الحيوانات المختبرية يسبب في زيادة كل من إنزيمات ALT و AST اللذين يشيران إلى حصول خلل في وظائف الكبد، إن هذا الخلل يمكن أن يكون ناتجاً من زيادة النايروجين المتحلل الذي يكون أكثر من الحاجة الطبيعية أو طاقة الخلايا مما يؤدي إلى انتقال مكوناتها إلى الدم مسببة ارتفاع قيم تلك الإنزيمات [16]. إن التغيير

#### المصادر

- 1- Fengt W.; Changyin, L.; Liping, Y.; Jianlin, C. and Chengyan, Y.(2012) Determination of melamine concentrations in dairy samples. LWT - Food Sci. and Tech., 47:147-153
- 2- Gossner C., Schlundt J. , Embarek P. B., Hird S, Wong D., Beltran O., Teoh K. N., Tritscher A. (2009) The melamine incident: implications for international food and feed safety. Environ Health Perspect 117:1803-1808.
- 3- Hu P., Wang J. and John G., (2012) Liver Involvement in Melamine-associated Nephrolithiasis, Arch.Iran Med., 15(4):247-248.
- 4- Ingelfinger J.R. (2008) Melamine and the Global Implications of Food Int. J. Environ. Res. Public Health, 9:4150-4158.
- 5- Puschner B. Poppenga RH, Lowenstine LJ, Filigenzi MS, Pesavento PA. (2007) Assessment of melamine and cyanuric acid toxicity in cats. J Vet Diagn Invest. 19:616-624.
- 6- Chan Z.C.Y. and Lai, W. (2009) Revisiting the melamine contamination event in China: implications for ethics in food technology. Food Sci. Tech. 20:366-373.
- 7- Chu P.W.S.; Kimmy, M.C.; Samuel, T.C.C. and Yiu-chung, W. (2010) Review of analytical techniques used in proficiency-testing programs for melamine in animal feed and milk. Trends in Ana. Chem., 29:9-22.
- 8- Botha D. D.(2010) Melamine, from fertilizer to pasture to cow's milk, M.S.C Thesis, Department of Animal Sciences Faculty of Agri Science, Southe Africa, Stellenbosch University.
- 9- Dagmar S.(2010) Melamine Milk Powder and Infant Formula Sold in East Africa. J. of Food Prot., 73(9):1709-1714.

حيث انخفضت قيم حامض اليوريك معنويًا وبلغت (2.5 و 3.2) (2.6 و 3.0) مقارنة مع مجموعة السيطرة. أما قيم الكرياتينين فقد ارتفعت معنويًا عند إضافة الميلايين، حيث بلغت قيم الكرياتينين (1.4 و 2.0) عند التركيز 25 و 50 ملغم / كغم على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة التي كانت 0.71 ملغم / ديسيلتر. وبينت النتائج حصول انخفاض معنوي في قيم الكرياتينين عند إضافة بكتريا حامض اللاكتيك بنوعيتها عند التركيزين 25 و 50 ملغم / كغم مقارنة مع مجموعة السيطرة. كذلك فقد ارتفعت قيم اليوريا مع زيادة تركيز الميلايين من 25 الى 50 ملغم / كغم حيث كانت 28 و 33 ملغم / ديسيلتر على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة التي كانت عند 24 ملغم / ديسيلتر. وقد حصل انخفاض معنوي في قيم اليوريا في مجموعتي السيطرة المضاف إليها بكتريا حامض اللاكتيك بنوعيه *Lb. acidophilus* و *Lb. casei* حيث بلغت عند 21 و 22 ملغم / ديسيلتر على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة. وكان هناك تأثير إيجابي لبكتريا حامض اللاكتيك بنوعيتها في خفض تأثير الميلايين ولكلا التركيزين على قيم اليوريا.

بلغت 6.52 غم/ ديسيلتر وبينت النتائج حصول ارتفاع معنوي في قيم البروتين الكلي عند إضافة بكتريا حامض اللاكتيك *Lb. casei* و *Lb. acidophilus* مع الميلايين عند التراكيز 25 و 50 ملغم / كغم. أما قيم الألبومين فإنها لم تتأثر معنويًا ولكن قيم الكلوبولين انخفضت معنويًا عند إضافة الميلايين بتركيزين 25 و 50 (ملغم / كغم) إذ أصبحت عند 1.2 و 1.0 غم / ديسيلتر على التوالي. وحصول ارتفاع معنوي إيجابي عند إضافة بكتريا حامض اللاكتيك بنوعيتها *Lb. casei* و *Lb. acidophilus* عند التراكيز 25 و 50 ملغم / كغم وكانت (2.4, 2.5) و (1.6, 1.8) على التوالي غم / ديسيلتر على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة. كما ارتفعت معنويًا قيم حامض اليوريك عند إضافة الميلايين حيث سبب التركيز 25 ملغم / كغم ارتفاع مستويات حامض اليوريك في مصل دم الجرذان إلى 2.8 ملغم / ديسيلتر، أما التركيز 50 ملغم / كغم فقد ارتفعت قيمه إلى 3.4 ملغم / ديسيلتر مقارنة مع مجموعة السيطرة التي كانت 2.02 ملغم / ديسيلتر. وكان هناك تأثير معنوي لبكتريا حامض اللاكتيك بنوعيتها في خفض تأثير الميلايين عند التركيزين أعلاه على قيم حامض اليوريك

جدول 3 تأثير تراكيز الميلايين (ملغم / كغم) في بعض المعايير الكيموحيوية في إناث الجرذان بعد فترة 21 يوماً

المعاملات	التركيز ملغم / كغم	TP g/l	Alb g/l	Glob g/l	Uric acid mg/l	Criatenin mg/l	Urea mg/l
السيطرة	0	6.52a	3.72a	2.8a	2.0c	0.71bc	24c
السيطرة + <i>Lb. casei</i>	2مل/ حيوان/يوم	6.66a	3.75a	2.9a	1.9c	0.43c	21d
السيطرة + <i>Lb. acidophilus</i>	2مل/ حيوان/يوم	6.63a	3.74a	2.9a	1.9c	0.45c	22d
الميلايين	25	5.40b	4.22a	1.2c	2.8ab	1.4ab	28b
	50	5.15b	4.14a	1.0c	3.4a	2.0a	33a
الميلايين + <i>Lb. casei</i>	25	6.27a	3.82a	2.4a	2.5b	0.9b	26c
	50	6.25a	4.65a	1.6b	3.2a	1.5ab	28b
الميلايين + <i>Lb. acidophilus</i>	25	6.31a	3.80a	2.5a	2.6b	1.0b	25c
	50	6.23a	4.42a	1.8b	3.0a	1.5ab	27b

e-a : الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية عند مستوى إحصائية 0.05

TP = Total Protein : Alb = Albumine : Glob = Globuline

الكلى وزيادة نشاطية إنزيم الفوسفاتيز القاعدي ALP الذي تشير حالات ارتفاع نشاطيته إلى حصول خلل في الكلى [16]. كما إن زيادة تراكيز اليوريا والكرياتينين يمكن أن تعطي مؤشراً على ضعف وظيفة الكلية في الكائنات الحية [13].

إن تأثير بكتريا حامض اللاكتيك في تقليل التأثير السلبي لإضافة الميلايين إلى غذائها يمكن أن يكون من خلال قدرتها في ربط الميلايين أو استهلاك النتروجين المتحلل في الأمعاء ومنع زيادة لزوجة الدم مما يسبب في منع الضرر الذي يحصل عن زيادة تركيز النتروجين المتحلل من الميلايين فضلاً عن قدرتها في حجب مستقبلات الامتصاص في الأمعاء والتقليل من التأثير السليبي [20].

تأثير الميلايين في المعايير الإنزيمية

الجدول 4 يبين تأثير الميلايين بالتركيزين 25 و 50 ملغم / كغم على فعالية الإنزيمات في إناث الجرذان، بينت النتائج حصول ارتفاع

اتفقت النتائج مع ما ذكره [11] في حصول ارتفاع في قيم البروتين الكلي والألبومين والكلوبولين عند تجرع الأراناب بالميلامين القياسي عند تراكيز 0.05 ، 0.1 و 0.2 ملغم / حيوان / يوم مقارنة مع مجموعة السيطرة. كذلك اتفقت مع ما ذكره [12] في ارتفاع الكرياتينين واليوريا وحامض اليوريك في كل المجاميع عند تغذية الجرذان على عليفة تحتوي على الميلايين بتركيز (5000 ، 10000 ، 15000 و 20000 جزء بالمليون) مقارنة مع مجموعة السيطرة.

إن الزيادة المعنوية في تراكيز صور الدم الكيموحيوية التي أشارت إليها النتائج قد يعزى إلى ارتفاع قيمة النتروجين في تركيب الميلايين والبالغة 66.7 % . إذ إن جزيئة الميلايين يمكن أن يحصل لها تحلل بفعل بعض الإنزيمات مسببة في زيادة تركيز النتروجين بالدم وبالتالي حصول خلل في توازن مكوناته الذي يسبب حدوث خلل فسيولوجي في الخلايا والمغذيات المنقولة وزيادة لزوجة الدم مسبباً تكون الحصى في

حليب نورسوي وهي 5.9 ملغم / كغم. كذلك تطابقت النتائج مع ماذكره [14] الذي وجد أن تراكيز الميلايين في عينات الحليب المجفف كانت بين 29.1 – 39.7 ملغم / كغم. إن المحتوى العالي للميلايين من النتروجين ورخص ثمنه سهل في استعماله في العديد من البلدان التي يقل فيها أداء السيطرة النوعية والرقابة في غش المنتجات الغذائية , وأعلاف الحيوانات [19]. كما إن استعمال الميلايين في تصنيع العبوات المستعملة لحفظ بعض الأغذية جعله في أن يكون بتماس مباشر معها, وإمكانية انتقاله إلى الغذاء ولكن بتراكيز قليلة لا يمكن أن تشكل خطراً على الإنسان كونها تعد غير سامة [4].

#### تأثير الميلايين في معايير النمو

إن تأثير الميلايين عند إضافته ملوثاً لغذاء الجرذان بالتركيزين 25 و 50 ملغم / كغم على وزن الجسم بعد مدة 21 يوماً قد وضحاها الجدول (2). بينت النتائج حصول انخفاض معنوي عند ( $P \leq 0.05$ ) في الوزن المكتسب لمجاميع الجرذان التي اعطيت الميلايين, وسببت زيادة التركيز زيادة في نسبة الانخفاض في الوزن المكتسب, حيث بينت النتائج إن التركيز 50 ملغم / كغم كان الأكثر تأثيراً في انخفاض وزن الحيوانات وكان عند (- 5) غم مقارنة مع مجموعة السيطرة التي كانت عند 36.4 غم , كما بينت النتائج وجود ارتفاع معنوي ايجابي بين مجموعتي السيطرة الموجبة المضاف لها نوعي بكتريا حامض اللاكتيك *Lb. casei* و *Lb. acidophilus* إذ كانت في حالة بكتريا *Lb. casei* وللتراكيزين 25 و 50 ملغم / كغم عند زيادة مكتسبة 5.44 و 2.36 غم على التوالي , وفي حالة بكتريا *Lb. acidophilus* كانت الزيادة عند 5.51 و 3.05 غم على التوالي.

جدول 1: تركيز الميلايين (ملغم / كغم) في بعض منتجات الألبان

تركيز الميلايين (ملغم / كغم) في بعض منتجات الألبان		نوع العينة
تركيز الميلايين (ملغم / كغم)	العلامة التجارية	
58b	Lotto	حليب مجفف
24d	Celia 1	
22.5d	Guigos 1	
16.8f	AL-Marai	
15f	Nactalia 2	
8.1k	Dielac 2	
8k	Sunny baby 2	
5.1l	Isomil 2	
4.4j	Celia 2	
3.5m	Sunn abby 1	
3.48m	Novalac AD	
3.45m	Nido 1 plus	
3.35m	Dielac 1	
3.31m	Isomil 1	
2.7n	Novalac AR	
33c	Nada	حليب سائل
25.5d	Mersin	
10.7h	AL-Safi	
4.4j	KDD	
13.1g	Anchoor	جبين
10.2h	KRAFT	
6.3l	Kiri	
5.6l	Lavachqurite	
3.8j	Al-Rayan	
3.6j	Shallal	
74a	Siris	لين
15f	Mersin	
4.2j	RojHalat	

e-a: الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات

معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

تطابقت النتائج مع ما توصل إليه [11] الذي ذكر أن أعلى قيمة كانت في حليب كيكوز وهي 17.5 ملغم / كغم وكانت أقل قيمة في

جدول 2. تأثير تراكيز الميلايين (ملغم / كغم) في معايير النمو في إناث الجرذان بعد فترة 21 يوماً

المعاملات	التركيز (ملغم / كغم)	الوزن الابتدائي	الوزن النهائي	الزيادة الوزنية
السيطرة	0	155.54	191.94	36.4b
السيطرة + <i>Lb. casei</i>	2مل/ حيوان/يوم	144.30	185.5	41.5a
السيطرة + <i>Lb. acidophilus</i>	2مل/ حيوان/يوم	154.41	194.71	40.3a
الميلايين	25	158.29	155.49	- 2.8e
	50	147.46	142.46	-5.0f
الميلايين + <i>Lb. casei</i>	25	158.33	163.77	5.44c
	50	157.07	159.37	2.36d
الميلايين + <i>Lb. acidophilus</i>	25	161.43	166.94	5.51c
	50	160.18	163.23	3.05d

e-a: الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود اختلافات معنوية عند مستوى احتمالية 0.05

الجرذان بعد إضافتها إلى ماء الشرب ولمدة 21 يوماً يوضحه الجدول 3 , بينت النتائج حصول انخفاض معنوي في قيم البروتين الكلي عند ( $P \leq 0.05$ ) في مجاميع الجرذان المعطاة التركيزين 25 و 50 (ملغم / كغم) من الميلايين مع ماء الشرب, إذ كانت قيمها عند 5.40 و 5.15 غم/ديسليتر على التوالي مقارنة مع مجموعة السيطرة التي

اتفقت النتائج مع ماذكره [12] في انخفاض وزن الجسم في كل المجاميع عند تغذية الجرذان على عليقة تحتوي على الميلايين بتراكيز (5000 ، 10000 ، 15000 و 20000 جزء بالمليون).

تأثير الميلايين في المعايير الكيموحيوية: إن تأثير الميلايين في تركيزين عند 25 و 50 ملغم / كغم في المعايير الكيموحيوية في إناث

#### فحوصات الدم

#### فحوصات الدم الكيموحيوية (Blood Biochemical Assay)

استخدمت طواقم محاليل قياسية (Kits) مجهزة من شركة BIOLABO (فرنسا) لقياس البروتين الكلي Total Protein (غم/ديسلتر) والألبومين Albumin (غم/ديسلتر)، بينما تم قياس اليوريا Urea (ملغم/ديسلتر) وحامض اليوريك (ملغم/ديسلتر) والكرياتينين (ملغم/ديسلتر) باستخدام طواقم محاليل قياسية مجهزة من قبل شركة Biomaghreb (تونس)، وأجريت التحاليل بواسطة المطياف الضوئي Spectrophotometer وفق تعليمات الشركات المجهزة لكل طاقم كما ذكر في [16].

#### تقدير فعالية الإنزيمات

قدرت فعالية الإنزيمات التي شملت كلاً من Alanine amino transferase (ALT) و Aspartate amino transferase (AST) باستخدام طواقم قياسية مجهزة من شركة RANDOX (بريطانيا)، أما تقدير فعالية إنزيم Alkaline phosphatase (ALP) فقد تمت باستخدام طواقم قياسية مجهزة من شركة ROCHE (ألمانيا) وقراءة النتائج باستخدام جهاز Reflotron وفق تعليمات الشركات المجهزة لها كما ذكر في [16].

#### التحليل الإحصائي

حللت نتائج التجارب باستخدام النموذج الخطي العام (Linear Model General) ضمن البرنامج الإحصائي الجاهز [17] لدراسة تأثير العوامل على وفق التصميم العشوائي الكامل CRD كما أجري إختبار دنكن [18] لتحديد معنوية الفروق ما بين متوسطات العوامل المؤثرة على الصفات المدروسة عند مستوى (0.05).

#### النتائج والمناقشة

#### تركيز الميلايين في منتجات الألبان

يوضح الجدول (1) تركيز مادة الميلايين في عينات بعض منتجات الألبان. بينت النتائج وجود إختلاف معنوي في تركيز الميلايين في عينات منتجات الحليب، إذ تراوح تركيزها في عينات الحليب المجفف بين 2.7 الى 58 جزءاً بالمليون في عينات الحليب المجفف علامة Novalac AR و علامة Lotto على التوالي. أما في عينات الحليب السائل فقد تراوح تركيز مادة الميلايين بين 4.4 - 33 جزءاً بالمليون في علامات KDD و Nada على التوالي، كما كان التلوث في عينات الألبان من هذه المادة بين 3.6 الى 13.1 جزءاً بالمليون في كل من جبن علامة Shallal و Anchoor على التوالي، وفي عينات اللبن من 4.2 - 74 جزءاً بالمليون في كل من اللبن علامة Siris و Roj Halat على التوالي.

وحامض اليوريك عند التغذية على عليفة تحتوي على 63 ملغم / كغم من كل من الميلايين وحامض Cyanuric على إنفراد.

#### المواد وطرائق العمل

#### تقدير الميلايين في منتجات الألبان

تم تقدير الميلايين حسب طريقة [14] وباستخدام الطاقم المجهز من قبل شركة (Shenzhen Ivshiyuan Biotechnology Co.) الصين. تم استخلاص الميلايين حسب تعليمات الشركة المجهزة إذ تم وزن 2 غرام من العينة وإضيف إليها 10 مل من محلول الاستخلاص ميثانول : ماء (30:70) وحرك الخليط لمدة 3 دقائق وتركت العينة لتركد ثم رشحت باستخدام ورق ترشيح Whatman رقم 1. تم قراءة الكثافة الضوئية (Optical density) لكل شريحة باستخدام المطياف الخاص بأطباق الإليزا نوع Bio-tech كوري المنشأ في المختبر المركزي في جامعة تكريت على طول موجي 450 نانومتر.

#### تهيئة الحيوانات المختبرية

تم الحصول على الحيوانات المختبرية من كلية الطب البيطري / جامعة الموصل وهي إناث جردان Female Rats من النوع Albino Sprague- Dawleyweanling البالغة بعمر 8 - 9 أسابيع والوزن تراوح بين 140 - 165 غم، قسمت الحيوانات البالغة وعددها 45 حيواناً عشوائياً إلى 9 مجموعة كل مجموعة تضمنت 5 حيوانات كالتالي :-

- 1- مجموعة السيطرة 2- مجموعة الحيوانات المعطاة بكتريا *Lb. casei* 3- مجموعة الحيوانات المعطاة بكتريا *Lb. acidophilus* 4- مجموعة الحيوانات المعطاة الميلايين بتركيز 25 ملغم / كغم حيوان/ يوم 5- مجموعة الحيوانات المعطاة الميلايين بتركيز 50 ملغم / كغم حيوان/ يوم 6- مجموعة الحيوانات المعطاة الميلايين بتركيز 25 ملغم / كغم + بكتريا *Lb. casei* حيوان/ يوم 7- مجموعة الحيوانات المعطاة الميلايين بتركيز 50 ملغم / كغم + بكتريا *Lb. casei* حيوان/ يوم 8- مجموعة الحيوانات المعطاة الميلايين بتركيز 25 ملغم / كغم + بكتريا *Lb. acidophilus* حيوان/ يوم 9- مجموعة الحيوانات المعطاة الميلايين بتركيز 50 ملغم / كغم + بكتريا *Lb. acidophilus* حيوان/ يوم

تم إعطاء الحيوانات الميلايين مع ماء الشرب المعقم وبعد إذابتها بالتراكيز المشار إليها في المجاميع أعلاه. تم إضافة معلق بكتريا حامض اللاكتيك بنوعيه *Lb. casei* و *Lb. acidophilus* مع الماء وبأعداد عند  $10^8 \times 1.5$  / مل من وسط الحليب الفرز. وتم أخذ الوزن الإبتدائي بعد يوم من تغذية الحيوانات إنفرادياً وكانت درجة الحرارة عند 20 - 25 °م ومدّة الإضائة لا تقل عن 12 ساعة في اليوم ، وكان تقديم الغذاء الذي تم إعداده إعتماًداً على ماجاء في [15] خلال مدة التجربة التي استمرت لمدة 21 يوماً.

## تقدير وجود الميلايين في بعض منتجات الألبان في الأسواق العراقية وتحديد تأثيره في بعض المعايير الكيموحيوية والانزيمية في الجردان

محمد جميل محمد ، مركز محمد تلج ، امين سليمان بدوي ، محمد احمد جاسم

قسم علوم الاغذية ، كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

Email: m\_jamel68@yahoo.com

### الملخص

أجريت الدراسة لتقدير تركيز الميلايين في عينات بعض منتجات الالبان في الاسواق العراقية، وكذلك بيان تأثير بعض التراكيز من تلك المادة في بعض المعايير الفسلجية والكيموحيوية والانزيمية بعد اضافتها مع مياه الشرب للجردان لمدة 21 يوماً، وتحديد تأثيرها في التوازن الميكروبي للنبيت الطبيعي في أمعاء الحيوانات فضلاً عن تقدير دور أجناس بكتريا حامض اللاكتيك *Lactobacillus acidophilus* و *Lactobacillus casei* في الحد أو التقليل من تأثير تلك المادة في المعايير المذكورة أعلاه. بينت النتائج وجود اختلاف معنوي ( $p < 0.05$ ) في تراكيز الميلايين في أنواع منتجات الالبان المقطرة فيها حيث كانت تراكيز الميلايين في منتجات الالبان بين (2.7 - 58) و (4.4 - 33) و (3.6 - 13.1) و (4.2 - 74) جزء بالمليون في الحليب المجفف والحليب السائل والجبن واللبن على التوالي. وأظهرت النتائج ان اضافة الميلايين في ماء الشرب ادت الى حصول انخفاض معنوي في وزن الجسم لحيوانات التجربة مع زيادة تركيز تلك المادة، وكذلك حصول انخفاض معنوي في كل من البروتين الكلي والكلوبولين مع زيادة التركيز. وقد حصل ارتفاع معنوي في قيم كل من حامض اليوريك والكرياتينين واليوريا (Urea)، وازدادت معنوياً قيم كل من إنزيم (ALT) و (AST) و (ALP) مع زيادة تركيز الميلايين، وإن إضافة نوعي بكتريا حامض اللاكتيك *Lb. acidophilus* و *Lb. casei* قد أدت إلى انخفاض معنوي في التأثير السلبي للميلايين على جميع المعايير المقاسة. الكلمات المفتاحية: حامض البنزويك، بكتريا حامض اللاكتيك، المعايير الكيموحيوية، الجردان.

### المقدمة

المعنية بالغذاء والصحة في ضرورة إتلاف أي مادة غذائية ثبت إحتوائها على الميلايين مهما كانت نسبة وجوده [8]. وجد إن 6 % (3 من 49) من العينات التي تم فحصها تحتوي على الميلايين بتركيز تصل الى 5.5 ملغم / كغم من الحليب المجفف [9]. ووجد في دراسة اخرى إن تركيز الميلايين في عينات الحليب الخام والمطعم في الصين كان بين 3.89 - 5.17 و 0.102 - 3.64 ملغم / كغم حليب على التوالي [10]. وأشارت النتائج التي حصل عليها [11] إلى وجود تلوث من الميلايين في أكثر عينات مجاميع الحليب في الأسواق العراقية حيث إن أعلى تركيز كان موجوداً في مجموعة حليب كيكوز 17.5 ملغم / كغم فيما سجل أقل تركيز منه في حليب نورسوي عند 5.9 ملغم / كغم حليب، وكذلك حصول ارتفاع في قيم البروتين الكلي والألبومين والكلوبولين وأنزيمات الكبد ALT ، AST و ALP عند تجرع الأرناب بالميلامين القياسي بالتراكيز 0.05 ، 0.1 و 0.2 ملغم / حيوان / يوم في العراق. كما ذكرت دراسة اخرى حصول ارتفاع في قيم الكرياتينين واليوريا وحامض اليوريك وانخفاض وزن الجسم في كل المجاميع وارتفاع نشاط إنزيمات الكبد ALT ، AST و ALP وانخفاض وزن الجسم والبروتين الكلي والألبومين عند تغذية الجردان على عليقة تحتوي على الميلايين بتركيز (5000 ، 10000 ، 15000 و 20000 جزء بالمليون) في مصر [12]. أما [13] فقد وجدوا حصول ارتفاع وزن الجسم وانخفاض نشاط إنزيمات الكبد ALT و AST وانخفاض قيم الكرياتينين

الميلامين (1,3,5,- triazine \_ 2,4,6- triamine) مركب كيميائي واسع الإنتشار صيغته الكيميائية C3H6N6 يحتوي 66.7 % من وزن كتلته على النتروجين [1]. ذكرت دراسة بأن تناول الميلايين أو حامض Cyanuric ينتج عنه تكون الحصى في الكلية ، وتشمل المظاهر السريرية حصول التقيؤ والحصى والبول الدموي وانخفاض ضغط الدم وألم في منطقة الكلية [2]. كما أن ليس كل الأطفال الذين لديهم حصى في الكلية يظهرون بتلك الأعراض السريرية [3]. وجد إن الميلايين يمكن أن ينتقل إلى الغذاء ولكن بتركيز قليلة جداً لا تشكل خطراً على الإنسان وتعد غير سامة في حالة استعماله في تصنيع العبوات المستخدمة لحفظ الأغذية التي تكون بتماس مباشر معها، إن الحدود اليومية لمادة الميلايين وحامض Cyanuric المسموح بها هي عند 0.2 و 1.5 ملغم / كغم من وزن الجسم على التوالي [4]. أوصت منظمة الأغذية الأوروبية في الإتحاد الأوربي إن جميع المنتجات التي تحتوي على الميلايين أعلى من أو يساوي 2.5 ملغم / كغم يجب إتلافها [5]. كما ذكرت إدارة الدواء والغذاء الأمريكية (FDA) ومنظمة الأغذية الأوروبية إن الحدود المسموح بها من الميلايين في اليوم والتي لا تشكل خطراً على الإنسان بلغت عند 0.63 ملغم/كغم [6]. في حين أعلنت وزارة الصحة الكندية إن الحدود اليومية المسموح بها من الميلايين بلغت عند 0.35 ملغم/كغم من وزن الجسم في اليوم، وسمحت منظمة الأغذية الأوروبية لحد 0.5 ملغم/كغم في اليوم [7]. وقد أوصت مؤخراً جميع المنظمات

31. الطائي, هادي رحمن رشيد (2010). عزل *Proteus vulgaris* المنتجة لليوريز من اطفال مصابين بالتهاجات المجاري البولية. مجلة ديالى للعلوم الصرفة. المجلد 6 (2): 260-274.
32. Singh, P. and Balaji, R. (2012). Synergistic effect of silver nanoparticles with the cephalexin antibiotic against the test strains. *Bioresarch Bulletin*, 4: 171-179.
33. Julian, D. and Dorothy, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol.*, Rev 74(3):417-433.
34. Sondi, I. and Salopek-Sondi, B. (2004). Silver Nanoparticles as Antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci.*, 275:177-182.
35. Lin, X.; Li, J.; Ma, S.; Liu, G.; Yang, K. et al. (2014). Toxicity of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles to *Escherichia coli*: Effects of Particle Size, Crystal Phase and Water Chemistry. *PLOS ONE* 9(10): e110247.
36. Fayaz, A.M.; Balaji, K.; Girilal, M.; Yadav, R.; Kalaichelvan, P.T. and Venketesan, R. (2010). Biogenic synthesis of silver Nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: A study against gram-positive and gram negative bacteria. *Nanomedicine*. 6:103-109. (Abstract)
37. Batarseh, K.I. (2004). Anomaly and correlation of killing in the therapeutic properties of silver (I) chelation with glutamic and tartaric acids. *J Antimicrob. Chemother*, 54:546-8.
38. Li, P.; Li, J.; Wu, C.; Wu, Q. and Li, J. (2005). Synergistic antibacterial effects of  $\beta$ -lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. *Institute of Physics Publishing Nanotechnology*, 16: 1912-1917.
39. Li, W.; Xie, X.; Shi, Q.; Zeng, H.; OU-Yang, Y. and Chen, Y. (2010). Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnology*, 85:1115-1122.
40. Feng, Q. L J.; Wu, G. Q.; Chen, F. Z.; Cui, T. N. and Kim, J. O. (2000). A Mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J. Biomed. Mater. Res.*, 52:662-668.

## The Effect of silver and titanium dioxide nanoparticles on *Escherichia coli* isolates multi resistant to antibiotics and observed by Scanning electron microscopy

Payman A. Kareem<sup>1</sup>, Essra Gh. Alsammak<sup>2</sup>

<sup>1</sup> College of Agriculture, Salahaddin University, Arbil, Iraq

<sup>2</sup> Dept. of Biology, College of Sciences, Mosul University, Mosul, Iraq

[Payman\\_ali2006@yahoo.com](mailto:Payman_ali2006@yahoo.com), [essra\\_alsammak@yahoo.com](mailto:essra_alsammak@yahoo.com)

### Abstract

One hundred fifty six samples collected included: New man inflammation of the urinary tract, swabs wounds and pus from patients coming to Rizgary Teaching Hospital and Rozhawa Hospital in Erbil city from March to September 2013, pure and confirmed the diagnosis (65) strain which belongs to *Escherichia coli* and by (41.7%) based on cultural, microscopically characteristics, and biochemical tests and to the API -20E. These strains sensitivity to 12 types of antibiotics. It gave the isolated bacterial given a high resistance against the Ampicillin (88%) and Amoxicillin by (81%) were less resistant to Nitrofurantoin Ciprofloxacin, Chloramphenicol and Cefotaxime by (29.2,20,20,7.7%) respectively Ten isolates were selected according to their pattern of the highest resistance as these showing multi-drug resistances and tested to specify their minimum inhibitory concentration (MIC) for the antibiotics and two types of Nanoparticles include Silver in different sizes (20, 90)nm and titanium dioxide in different sizes (10, 50, 100)nm. The results showed that the MIC for Ag 20, 90 nm was between (1300 -2600)  $\mu\text{g/ml}$  and the MIC for TiO<sub>2</sub>10nm between (162.5-1300)  $\mu\text{g/ml}$ , MIC of TiO<sub>2</sub>50nm between (650-2600)  $\mu\text{g/ml}$ . MIC of TiO<sub>2</sub>50nm between (162.5-2600)  $\mu\text{g/ml}$ . Synergism effect between the antibiotics and the Nanoparticles when they integrate increased their effect of *Escherichia coli*. Morphological changes of bacteria found using light and scanning electron microscope (SEM) when treating with Nanoparticles. While there a pressure on the bacterial cell surface with losing of bacterial compound.

**Key words:** *Escherichia coli*, multi-resistant to antibiotics, silver nanoparticles, titanium dioxide and scanning electron microscopy.

4. Cho, K.H.; Park, J.E.; Osaka, T.; Park, S.G. (2005). The study of antimicrobial activity and preservative effects of Nanosilver ingredient. *Electrochim Acta*, 51:956-960.
5. Lok, C.N.; Ho, C.M.; Chen, R.; He, Q.Y.; Yu, W.Y.; Sun, H.; Tam, P.K.; Chiu, J.F.; Chen, C.M. (2006). Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *J. Proteome Res*, 5:916-924
6. Kim, J.S.; Kuk, E.; Yu, K.N.; Kim, J.; Park, S.J.; Lee, H.J.; Kim, S.H.; Park, Y.K.; Park, Y.H.; Hwang, C.Y.; Kim, Y.K.; Lee, Y.; Jeong, D.H. and Cho, M. (2007). Antibacterial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3: 95-100.
7. العبيدي، اياد محمد علي فاضل (2012). التقنية الحياتية النانوية وتطبيقاتها المتقدمة في الطب والهندسة الوراثية وعلم الاحياء الجزيئي. الطبعة الاولى، دار الكتب والوثائق في بغداد ص: 224.
8. Wang, C.; Liu, L.; Zhang, A.; Xie, P.; Lu, J. and Zou, X. (2012). Antibacterial effects of zinc oxide nanoparticles on *Escherichia coli* K88. *African Journal of Biotechnology*, 11(44): 10248-10254.
9. Atlase, R. M.; Brown, A. E. and Parks, L. C. (1995). *Laboratory Manual of Experimental Microbiology*. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis. p:563
10. Fayaz, A.M.; Balaji, K.; Girilal, M.; Yadav, R.; Kalaichelvan, P.T.; Venketesan, R. (2010). Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine*, vol. 6(1): 103-109.
11. Funke, G.; Von Graevenitz, A.; Glarridge, J.E. and Betnard, K.A. (1997). *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 10, American Society for Microbiology.
12. Gillespie, S. H. and Hawkey, P. M. (2006). *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*. 2<sup>nd</sup> ed., John Wiley and Sons, Ltd. England. P:457.
13. Winn, W.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G. and Schreckemberger, P. et al. (2006). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6<sup>th</sup> ed., Lippincott Williams and Wilkins, U.S.A. pp.318-321.
14. Parks, L. C.; Brown, A. E. and Atlas, R. M. (1995). *Laboratory Manual of Experimental Microbiology*, Mosby-Year Book, Inc., U.S.A.
15. CLSI, (Clinical & Laboratory Standards institute) (2011). *Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty -first Informational Supplement*. M100-S21.31 (1):1-163.
16. Amsterdam, D. (1996). Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media. In: Loman V., ed. *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, MD. , p.52-111.
17. Saginur, R.; Denis, M.S.; Ferris, W.; Aaron, S.D.; Chan, F.; Lee, C. and Ramotar, K. (2006). Multiple combination bactericidal testing of *Staphylococcal* Biofilms from implant-associated infections. *Antimicrobial Agents Chemother*, 50(1): 55-61.
18. السديمي، فاطمة إبراهيم سلطان (2006). التأثير التثبيطي لمستخلصات بعض النباتات الطبية والتأزر بين مكوناتها الفعالة والمضادات الحيوية في جرثومتي *Salmonella typhimurium* و *Staphylococcus aureus* المعزولتين من حالات التسمم الغذائي. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة الموصل، العراق.
19. S. AL-Bahry, N. Sivakumar and M. AL-Khambashi. Effect of Nalidixic acid on the morphology and protein expression of *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian pacific J. of typical Medicine*, (2012). 6: 265-269.
20. R.K.F. Al-Taesh and W.M. Ra'oof. Scanning electron microscope of disinfections exposed *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different types of infections. *International Journal of Technical Research and Applications*, (2014). 2(3):75-79.
21. Kahim, S.R.; Afrah, M.H.; Duaa, S.S. (2011). Antimicrobial susceptibility patterns against *Escherichia coli* and prevalence of extended spectrum  $\beta$  -Lactamase. *Mustansiriya Medical Journal*. 10 (1):47-50.
22. Salyers, A.A, Gupta, A. and Wang, Y. (2004). Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. *Trends. Microbiol.* 12(9): 412-416.
23. Hanaki, H. (2004). Epidemiology and clinical effect against beta-lactam antibiotic induce. *J. Antibiotic*, 78 (8): 204-216.
24. Nester, E. W.; Anderson, D. G; Roberts, C. E.; Pearsall, N. N. and Nester, M.T. (2001). *Microbiology a Human Perspective*. 3<sup>th</sup> Ed. , McGraw-Hill Companies, Inc. New York.
25. Baron, E.J.; Murray, P.R; Tenver, F.C and Yolk, R.H. (1999). *Manual of Clinical Microbiology*. 6<sup>th</sup> Ed .American Society for Microbiology .U.S.A.
26. Booth, M.C.; Pence, L.M.; Mahareshti, P. and Gilmore, M.S. (2001). Clonally associations among *Staphylococcus aureus* isolates from various sites of infection. *Infect.Immun.*, 69 : 345 - 352
27. Madigan, M.T.; Martinko, J.M. and Parker, J. (2003). *Pork Biology of Microorganisms*. 10<sup>th</sup> Ed .Prentice-Hall, Inc. London, Sydney, Pte. Ltd .Kong, Toronto, S.A. dec. V. Tokyo, Pte, Ltd, Upper Saddle River, New Jersey.
28. Fluit, A.C.; Visser, M.R.; and Schmitz, F.J. (2001). Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. Oct. 836-871
29. Mycek, M.J.; Harvey, R.A. and Champe, P.C. (2000). *Lippincott's Illustrated Reviews Pharmacology*. Second edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
30. BSAC. (2012). Report of the working party on antibiotic sensitivity testing of the British Society of Antimicrobial Chemotherapy. Version 11.1, PP: 1-91.

على سطح الخلية حدث بسبب زيادة النفاذية الناتج عند تعرضها لدقائق الفضة النانوية ، توضح الصور (C,D,E) حصول الضرر للخلية البكتيرية من خلال الضغط على السطح الخلية عند تعرض البكتريا لثاني اوكسيد التيتانيوم ذات الاحجام (10,50,100nm).

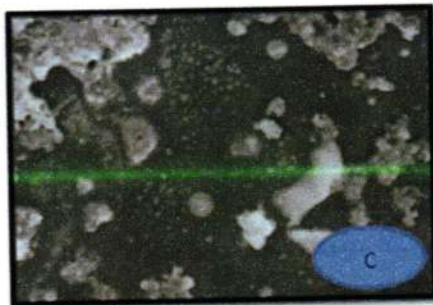
التغيرات الشكلية للبكتريا السالبة لصبغة كرام توضحه الصورة ( 2- A,B) حيث اظهرت خلايا النوع *E.coli* عند معاملتها بدقائق الفضة النانوية ذات الاحجام (20,90nm) تغيير في سطح الخلية البكتيرية وهذا ما أكدته [37] من خلال دراسته آلية تأثير دقائق الفضة النانوية على النوع *E.coli* وكذلك أكد الباحث [38] بأن التغيرات الشكلية



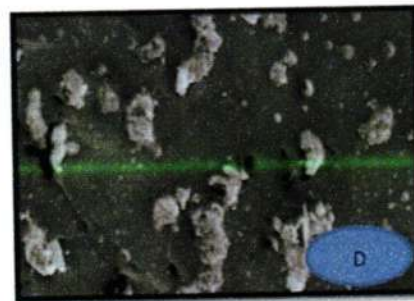
*E.coli*+Ag20nm 20µm



*E.coli* + Ag90nm 5 µm



*E.coli*+TiO<sub>2</sub>10nm



*E.coli*+TiO<sub>2</sub>50nm



*E.coli*+TiO<sub>2</sub>100nm

الصورة (4-13) التغيرات الشكلية للنوع *E.coli* عند ملاحظتها بالمجهر الالكتروني الماسح حيث ان (A) عند قوة التكبير 42066X، (B) عند 17782X، (C) عند 16033X، (D) عند 3671X، (E) عند 21652X.

#### المصادر

1. Dowling, A.; Clift ,R.; Grobert, N.; Hutton, D.; Oliver ,R.; O'Neill, O.; Pethica, J.; Pidgeon, N.; Porritt, J.; Ryan, J.; Seaton, A.; Tendler, S.; Welland, M. and Whatmore, R. (2004). Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. The Royal Society& the Royal Academy of Engineering, Latimer Trend Ltd, Plymouth, UK. pp. (112).

2. Duran, N.; Marcato, P.,D.; Conti ,R.D.; Alves, O.L.; Costa, F., M.;Brocchi, M.(2010). Potential use of silver nanoparticles on pathogenic bacteria, their toxicity and possible mechanisms of action. J. Braz. Chem. Soc. 21 (6):949-959.

3. Silver, S. (2003) Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. FEMS Microbiol Rev ., 27:341–353

MIC لدقائق ثنائي اوكسيد التيتانيوم النانوي (TiO<sub>2</sub>-NP) ذي الحجم 50nm كانت بين (2600-650) مكغم/مل، اما التركيز المثبط الالدي MIC لدقائق اوكسيد التيتانيوم النانوي (TiO<sub>2</sub>-NP) ذي الحجم 100nm كان بتركيز (2600-162.5) مكغم/مل، إن تأثير ثاني اوكسيد التيتانيوم النانوي على بكتريا *E.coli* يعتمد على حجم الدقائق حيث كلما صغر الحجم تجمعت بأعداد أكبر على سطح الخلايا مما يسبب الاجهاد التاكسدي وسمية أعلى على الخلايا البكتيرية [33].

يوضح الجدول (3) التركيز المثبط الالدي MIC لدقائق الفضة النانوية (Ag-NP) ذات حجم 20&90nm على عزلات بكتريا *E.coli* بتركيز بين (2600-1300) مكغم/مل، ان لصغر حجم الدقائق ومساحتها السطحية الكبيرة ومدى سميتها للكائنات الدقيقة من خلال تأثيرها على نفاذية الغشاء البلازمي للبكتريا وبالتالي موت الخلية [32].  
اما تركيز المثبط الالدي MIC لدقائق ثنائي اوكسيد التيتانيوم النانوي (TiO<sub>2</sub>-NP) ذو حجم 10nm على عزلات بكتريا *E.coli* كانت بتركيز بين (1300-162.5) مكغم/مل في حين تركيز المثبط الالدي

الجدول (3) التركيز المثبط الالدي MIC لدقائق النانوية المختلفة ضد عزلات النوع *Escherichia coli*

E10	E9	E8	E7	E6	E5	E4	E3	E2	E1	العزلات البكتيرية
MIC (µg/ml)										الدقائق النانوية
2600	2600	1300	2600	1300	1300	2600	2600	2600	1300	Ag20nm
1300	1300	1300	1300	1300	1300	2600	2600	2600	1300	Ag90nm
162.5	650	1300	650	650	1300	1300	650	1300	1300	TiO <sub>2</sub> 10nm
650	1300	1300	650	650	2600	2600	650	2600	1300	TiO <sub>2</sub> 50nm
162.5	650	1300	1300	1300	1300	2600	1300	2600	1300	TiO <sub>2</sub> 100nm

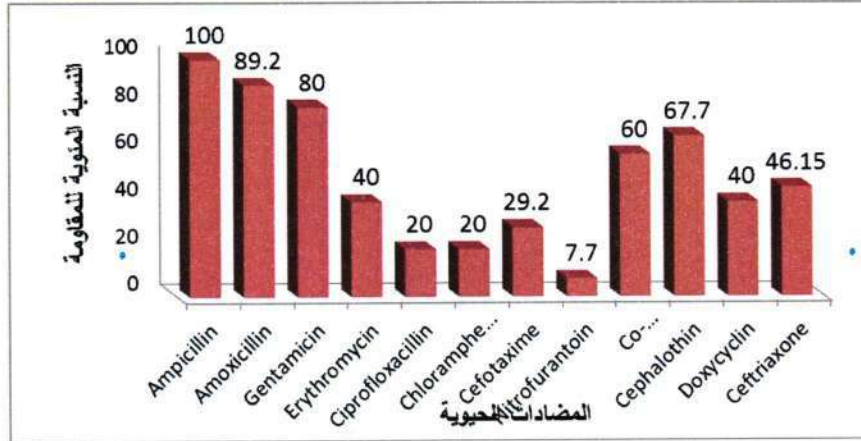
تأثير التآزري بين المضادات الحيوية والفضة النانوية الى ان جزيئات المضادات تحسوي على العديد من المجموعات النشطة مثل هيدروكسيل hydroxyl ومجموعات اميدو amido groups التي تتفاعل بسهولة مع الفضة النانوية [35]. وكذلك تتفق مع ما ذكره [36] عند المزج بين مضاد Amoxicillin والفضة النانوية ضد بكتريا *E.coli* والذي يؤدي الى كفاءة اكبر وتثبيط اكثر للبكتريا مما لو استخدم المضاد او الدقائق النانوية لوحدها. بينما توجد في نتائج الدراسة الحالية لم يحصل أي تغيير عند مزج كل من مضاد الامبسيلين والاموكسيسيلين مع الفضة النانوية وبحجمي 20,90 نانوميتر.

اما الجدول (4) يبين تأثير العلاقة بين المضادات الحيوية والدقائق النانوية على بكتريا النوع *Escherichia coli* حيث أظهرت النتائج بأن هناك زيادة ملحوظة في معدل قطر منطقة التثبيط عند المزج بين المضادات الحيوية والدقائق النانوية وبالأحجام المختلفة فيما لو استخدم المضاد او الدقائق النانوي لوحده وهذا ما يسمى حالة التآزر Synergism.

اتفقت نتائج الدراسة مع ما توصل اليه كل من [34,30] إذا تضمنت الدراسة الفعل التآزري بين دقائق الفضة مع عدد من المضادات ضد كل من بكتريا *E.coli* و *Staph.aureus* التي ازدادت حساسيتها للمضادات الحيوية بوجود الفضة النانوية، قد يكون السبب في زيادة

الجدول (4) تأثير المزج بين المضادات الحيوية والدقائق النانوية على النوع *Escherichia coli*

تأثير الدقائق النانوية لوحدها (ملم)					تأثير المضادات مع الدقائق النانوية (ملم)					تأثير المضاد لوحده	المضادات الحيوية
TiO <sub>2</sub> 100	TiO <sub>2</sub> 50	TiO <sub>2</sub> 10	Ag90	Ag20	المضاد+ TiO <sub>2</sub> 100	المضاد+ TiO <sub>2</sub> 50	المضاد+ TiO <sub>2</sub> 10	المضاد+ Ag90	المضاد+ Ag20		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Am
					0	0	0	0	0	0	AX
					7	8	8	13	0	12	GM
					10	12	14	12	12	13	E
					11	11	12	18	18	17	CIP
					22	18	16	18	19	20	C
					9	9	8	9	10	10	CTX
					9	10	9	0	12	6	NF
					0	0	0	0	0	0	COT
					0	0	0	0	14	0	KF
					11	11	12	12	14	11	DO
					8	8	8	12	10	9	CRO



الشكل (2) نسب مقاومة عزلات النوع *E. coli* تجاه المضادات الحيوية قيد الدراسة

كما اوضحت النتائج ان العزلات أظهرت مقاومة لل Gentamicin، حيث تراوحت قيم MIC بين (8-128) و (64-512) مكغم/مل على التوالي، بينما أظهرت جميع العزلات حساسية تجاه المضاد Nitrofurantoin وهذا ما أوضحه [30] هناك بشكل عام ارتفاع قيم التركيز المثبط الأدنى MIC للمضادات المختلفة وهذا يعود الى شيوع استعمال المضادات الحيوية مقارنة بالسنوات السابقة مما يؤدي الى ظهور عزلات ذات مقاومة عالية [31].

توضح النتائج لقيم MIC أن البكتريا تمتلك مقاومة عالية لهذه المضادات وإن تأثير هذه التراكيز يختلف حسب نوع المضاد اذ اعطى مضادات Doxycycline، Erythromycin، Ciprofloxacin أقل قيم مقارنة مع المضادات الأخرى.

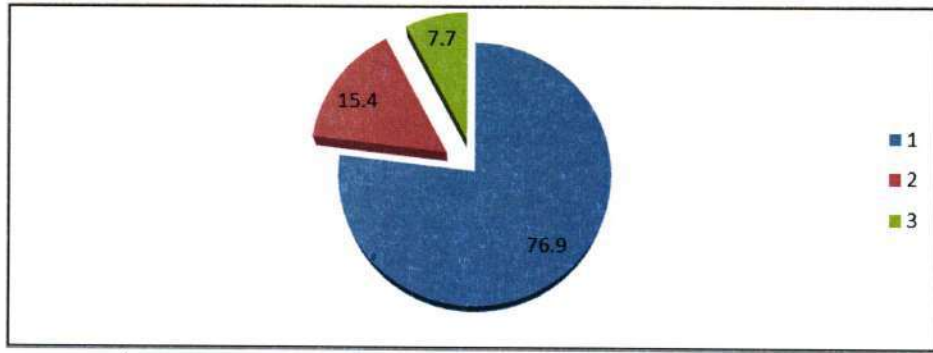
تم تحديد التركيز المثبط الأدنى MIC للمضادات المدروسة حيث اعتمدت نقطة التوقف (Break point) الموصوفة من قبل [28] كأساس لحساب الاستجابة لعزلات النوع *E. coli*. أظهرت العزلات جميعاً قيد الدراسة مقاومة لل Ampicillin و Amoxicillin أذ تراوحت قيم MIC ما بين (128-512) مكغم/مل مقارنة مع السيطرة ATCC 25922 *E. coli* وهذا وارد لكون معظم سلالات العائلة المعوية تمتلك انزيمات Penicillinase نوع TEM-1 والمشفّر بواسطة جينات محمولة على بلازميد R [29].

كما أظهرت العزلات مقاومة لمضادات Cefotaxime، Ceftriaxone، Cephalothin، وهم من السيفالوسبورينات أذ تراوحت قيم MIC ما بين (8-128) مكغم/مل وقد يعزى ذلك الى انتاج انزيمات واسعة الطيف [29].

الجدول (2) التركيز المثبط الأدنى MIC (مايكروغرام/مل) للمضادات الحيوية المختلفة ضد عزلات النوع *E. coli*

رقم العزلة المضادات الحيوية	نقاط التوقف مايكرو غرام/مل										
	E10	E9	E8	E7	E6	E5	E4	E3	E2	E1	نقاط التوقف مايكرو غرام/مل
<i>E. coli</i> ATCC 25922	(مايكروغرام /مل)										
Ampicillin	256	512	256	256	512	512	256	128	256	128	8<
Amoxicillin	512	256	256	128	128	256	512	256	256	128	8<
Gentamicin	64	64	64	32	64	128	128	16	32	8	4<
Erythromycin	16	8	32	16	8	32	32	16	8	4	1<
Ciprofloxacin	8	2	4	8	4	2	8	8	4	2	1<
Chloramphenicol	32	16	64	32	16	64	64	32	16	8	8<
Cefotaxime	128	64	128	64	64	32	128	64	32	32	2<
Nitrofurantoin	64	64	32	64	64	32	16	16	16	8	≤64
Co-Trimoxazole	128	256	256	256	64	512	128	128	128	64	4<
Cephalothin	8	16	16	16	64	64	128	8	32	8	2<
Doxycycline	16	8	16	16	8	16	16	16	8	8	2<
Ceftriaxone	64	64	64	128	32	128	64	64	32	16	2<

\* معتمدة على CLSI,2011



الشكل (1) يبين النسبة المئوية للنوع *Escherichia coli* المعزولة من مصادر المختلفة

شخصت العزلات اعتماداً على بعض الصفات الشكلية والأختبارات الكيموحيوية للمستعمرات الى (65) عزلة تابعة للنوع *Escherichia coli* والمبين في الجدول (1) واكد التشخيص اعتماداً على API-20E كما موضحة في الصورة (1)

الجدول (1) إختبارات التحري الاولى عن افراد النوع *Escherichia coli* قيد الدراسة

Test	Result	%	Test	Result	%
Gram stain	-	100	Indole	+	100
Catalase	+	100	Methyl red	+	97.6
Oxidase	-	100	Citrate	-	100
Voges proskour	-	95.2	Urease	+	92.8



الصورة (1) ليكتريا *Escherichia coli* API-20E

مضادى Ceftriaxone, Cefotaxime فقد وجدت نسبة مقاومة منخفضة اتجاهها وبنسبة 46.15%، 29.2% على التوالي اذ يمثلان الجيل الثالث ويمتازا بفعاليتها العالية وطيفهما الواسع ضد افراد العائلة المعوية [23]. كما بلغت المقاومة تجاه مضادى Erythromycin، Doxycycline اذ بلغت 40% لكل منهما، وقد تعود المقاومة لمضاد Erythromycin لاملاكها جينات مقاومة محمولة على بلازميدات تشفر لتحويل الموقع الهدف 50S كما يؤدي الى عدم قدرته على الارتباط به [24]. كانت العزلات اقل مقاومة تجاه مضادى Chloramphenicol، Ciprofloxacin اذ بلغت 20% لكل منهما وقد ترجع المقاومة لمضاد Chloramphenicol acetyl transferase [25] ان سبب مقاومة العزلات تجاه Ciprofloxacin قد يعود الى حدوث تغيير في GyrA الذي يعد من الوحدات البنائية لإنزيم DNA gyrase [26]، اما المضاد Nitrofurantoin فكانت نسبة المقاومة تجاه 7.7% ويعد هذا المضاد من المطهرات للقناة البولية إذ يوصف في حالة التهابات المجاري البولية المزمن الناجم عن بكتريا *E. coli* [27].

درست حساسية البكتريا المعزولة تجاه 12 مضاداً من خلال قياس منطقة قطر التثبيط ومقارنة النتائج مع ما ورد في [13] أظهرت النتائج في الشكل (2) ان هناك تبايناً في مقاومة العزلات قيد الدراسة تجاه المضادات المستخدمة حيث أظهرت مقاومة عالية لكل من مضاد Ampicillin و Amoxicillin اذ بلغت نسبة المقاومة 100%، 89.2% على التوالي والتي تتفق مع [19] ويعود السبب الى طبيعة تركيب جدارها الخلوي واملاكها آليات لمقاومة المضادات والى انتاجها لأنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف Extended- Spectrum beta Lactamase التي تحطم حلقة البيتا لاكتام المضاد ويجعله غير فعالة احيانياً [20]. كما أبدت افراد النوع مقاومة لمضادات Aminoglycoside والمتضمنة Gentamicin وبلغت 80% قد يعود سبب ذلك لوجود الجين المسؤول عن المقاومة لهذا المضاد الذي يشفر الى احداث تحويل بموقع الهدف 30S الذي يرتبط به المضاد مسبباً حدوث مقاومة [21]، اما مقاومة افراد النوع لمضاد Co-Trimoxazole بنسبة 60% فقد يكون سببه حدوث طفرات وراثية تؤثر في المسار الايضي الذي يعمل عليه هذا المضاد [22]. وجد أن كثرانم لها مقاومة عالية لمضادات السيفالوسبورينات كمضاد Cephalothin وبنسبة 67.7% كونه من مضادات الجيل الاول اما

### المواد وطرائق العمل

• اضيف الى الصف B مضاد اخر وهكذا بالنسبة للصفوف الاخرى.

• حضنت الاطباق بدرجة حرارة (37)°م لمدة (18-24) ساعة.  
• فحص وجود النمو مرئيا وثم ملاحظة ال MIC تركيز المثبط الادنى للمضاد

اما بالنسبة الى الدقائق النانوية استعملت نفس الطريقة السابقة باستخدام تركيز 5200 مايكروغرام / مل المحضر مسبقا الى الحفرة رقم A الصف A وبهذا نحصل على التراكيز (2600,1300,650,325,162.5,81.25,40.6,20.3,10.15,5.07 مايكروغرام/ مل).

كما قدر التأثير التآزري لكل من دقائق الفضة و اوكسيد الزنك على حدى مع المضادات الحيوية وذلك بإضافة 50 مايكروليتر من الدقائق بتركيزها المثبط الادنى الخاص بها مع 50 مايكروليتر من المضادات بتركيز المثبط الخاص بها الى الحفر ويقطر 5 ملم بعد تلقيح سطح الاطباق بالانواع النقية قيد الدراسة وحضنت الاطباق بدرجة 37°م لمدة 24 ساعة وقدر اقطار التثبيط حول الحفر مقاسة (بالملم) وكررت العملية مرتين واخذ المعدل [16].

فحصت التغيرات الشكلية للخلايا البكتيرية باستخدام المجهر الالكتروني الماسح حيث اتبعت الطرق الاتية [17,18]:-

1. اخذت 100 مايكروليتر من المعلق البكتيري التي حضرت من التراكيز المثبطة لكل من جزيئات الفضة واوكسيد الزنك وثاني اوكسيد التيتانيوم النانوية باحجامها المختلفة حيث ثبتت ب 100 مايكروليتر من الفورمالين بتركيز 10% في محلول دارى فوسفات (PH7.4) لمدة 10 دقائق.

2. اخذ ملء لوب من الخليط السابق (الخطوة الاولى) ووضعت على شريحة الزجاجية وتركت تجف لمدة 40 دقيقة.

3. غطت الشريحة بالذهب.

4. ثم وضعت على حامل للمجهر الالكتروني بقوة تكبير العالي فحصت والتقطت الصور.

### النتائج والمناقشة

يبين الشكل (1) النسبة المئوية للنوع *Escherichia coli* المعزولة من مصادر سريرية مختلفة وسيادة 50عزلة من التهاب المجاري البولية بنسبة (76.9%) .اختلفت نسب العزل من دراسة إلى أخرى وقد يعودالسبب في ذلك إلى الاختلاف في وقت جمع العينات وحسب موقع الاصابة.

جمعت (156) عينة من المرضى الوافدين الى مستشفى رزكاري وروزناوا في مدينة اربيل للفترة من آذار لغاية ايلول سنة 2013 اذ شملت العينات من حالات التهاب المجاري البولية ، مسحات الجروح و القيح.تم عزل وشخصت افراد النوع *Escherichia coli* من العينات المختلفة وفقا لما جاء في [10,11] اعتماداً على الصفات الشكلية والزربية والكيموحيوية منها API-20E المجهز من شركة BioMerieux وحسب مواصفاتها [12] .

اجري فحص الحساسية باستخدام طريقة الانتشار بالاقراص للمضادات الحيوية اذ استخدم لذلك (12) نوعا من المضادات الحيوية (Ampicillin (AM/10µg), Amoxicillin(AX/25µg), Gentamicin(GM/10µg), Erythromycin(E/15µg), Ciprofloxacin(CIP/5µg), Chloramphenicol(C/30µg), Cefotaxime(CTX/30µg), Nitrofurantoin(NF/300µg), Co-Trimoxazole(COT/25µg), Cephalothin(KF/30µg), Doxycycline(DO/30µg), Ceftriaxone(CRO/30µg) وباستخدام وسط مولر-هنتون الصلب اذ حضنت الأوساط في درجة 37 °م ولمدة 18 ساعة.قورنت النتائج مع ما ورد من قياسات عالمية حسب ما جاء [13].

استخدمت طريقة التخفيف بالمرق للتقدير الكمي لتوضيح تأثير فعالية المضادات الحيوية والدقائق النانوية. حيث استعملت microtiter plate وباستخدام 96 حفرة واجريت اعتماداً على طريقة [14,15] كالآتي:-

• اضيف 100 مايكروليتر من مرق هنتون الى كل حفرة.

• اضيف 100 مايكروليتر من المضاد المحضر مسبقاً بتركيز 1024 مايكروغرام لكل مل الى الحفرة رقم 1 من الصف A.مزج المضاد من خلال حركته الى اعلى واسفل 6-8 مرات وهذا جعل المخفف بتركيز ضعف اي يعادل 512 مايكرو غرام/ مل.

• نقل 100 مايكروليتر من الحفرة 1 الى الحفرة 2 ومزج بنفس الحركة وهكذا اصبح المخفف بتركيز 256 مايكروغرام/ مل.

• كررت العملية وصولا الى الحفرة رقم 10 وبعدها سحب منه 100 مايكروليتر واهمل وبهذا نحصل على تراكيز (512,256,128,64,32,16,8,4,2,1) مايكروغرام/ مل.

• اضيف 5 مايكروليتر من المعلق البكتيري وبعمر (24) ساعة الى كل الحفر.

• اضيف للحفرة رقم 11 المرق والمعلق البكتيري فقط واعد سيطرة موجبة

• الحفرة 12 اصبح سيطرة سالبة حاوي فقط على المرق والمضاد .

## تأثير الدقائق النانوية للفضة وثاني اوكسيد التيتانيوم على بعض من سلالات النوع *Escherichia coli* المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية وملاحظتها بالمجهر الالكتروني الماسح

بيمان علي كريم<sup>1</sup>، اسراء غانم السماك<sup>2</sup>

<sup>1</sup>قسم الصناعات الغذائية، كلية الزراعة، جامعة صلاح الدين، اربيل، العراق

<sup>2</sup>قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة الموصل، الموصل، العراق

### الملخص

جمعت 156 عينة شملت: التهاب المجاري البولية، مسحات الجروح والقيح من المرضى الوافدين الى مستشفى زركاري التعليمي وروزناوا في مدينة اربيل للفترة من اذار الى ايلول 2013، نقيت وأكد تشخيص (65) سلالة منها تعود للنوع *Escherichia coli* وبنسبة (41.7%) اعتماداً على الصفات الشكلية والزريعة والأختبارات الكيموحيوية واختبار Api20E. قدرت حساسية هذه السلالات تجاه 12 نوع من المضادات الحيوية. وقد اعطت العزلات البكتيرية مقاومة عالية ضد ال Ampicillin (AM/10µg) وبنسبة (100%) وقاومت Amoxicillin (AX/25µg) بنسبة (89.2%) وكانت اقل مقاومة تجاه Nitrofurantoin (NF/300µg)، Chloramphenicol (C/30µg)، Ciprofloxacin (CIP/5µg)، Cefotaxime (CTM/30µg) وبنسبة (7.7, 20, 2,20, 29.2) % على التوالي. اختيرت (10) سلالات ذات مقاومة عالية للمضادات وحدد التركيز المثبط الأدنى (MIC) تجاه المضادات قيد الدراسة اضافة الى نوعين من الدقائق النانوية بأحجام مختلفة (Ag20,90nm و TiO<sub>2</sub>10,50, 100nm)، اظهرت النتائج بأن MIC للفضة بحجمه 90 nm بين (2600-1300) مايكروغرام/مل بينما MIC لل TiO<sub>2</sub>10nm بين (1300-162.5) مكغم/مل و MIC لل TiO<sub>2</sub>50 nm بين (2600-650) مايكروغرام/مل و MIC لل TiO<sub>2</sub>100 nm بين (2600-162.5) مايكروغرام/مل. كما تم التحري عن تأثير مزج المضادات الحيوية مع الدقائق النانوية، وأظهرت تأثير تآزري بينهما وفعالية جيدة في تثبيط النمو البكتيري خاصة للسلالات المقاومة للمضادات الحيوية. كما ظهر تغيير واستطالة في شكل الخلايا البكتيرية المعاملة بالدقائق النانوية من خلال ملاحظتها بالمجهر الضوئي والالكتروني الماسح كما حصل ضغط على سطح الخلية وتسرب محتويات الخلية البكتيرية الى الخارج.

**الكلمات الدالة:** *Escherichia coli*، المقاومة المتعددة تجاه المضادات، دقائق الفضة النانوية، ثاني اوكسيد التيتانيوم النانوي، المجهر الالكتروني الماسح.

### المقدمة

الى مجرى الدم مؤدية الى زيادة الجهد التاكسدي oxidative stress ونتاج النواقل الحلوية cytokines مؤدية لموت الخلية [5,6]. يعد اوكسيد الزنك النانوي من أشهر أكاسيد المعادن التي تمتلك العديد من الخصائص واهمها خصائص شبه الموصل والنشاط المضاد للحياة المجهرية والذي حاز على اهتمام كبير عند استخدامه كعلاج [7].

أصبحت الجراثيم الممرضة التي تحثوي على بلازميدات متعددة المقاومة للمضادات الحيوية مشكلة أساسية في احداث الأمراض المعدية للإنسان كونها تقاوم عدداً من المضادات الحيوية، [8]. إن إضافة مضادات حيوية إلى الجسيمات النانوية قد أظهر تأثيرات تآزرية ضد البكتيريا، حيث أظهر استخدام الجسيمات لوحدها هبط النمو 40% منها، و قد ارتفعت النسبة كثيراً مع إضافة المضادات الحيوية [9].

وكان هدف الدراسة هو التحري عن نسبة انتشار *Escherichia coli* المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية والمسببة للعديد من الأمراض، وتقدير مدى تأثير الدقائق النانوية عليها واستخدامها كبدائل او كمساعد للعلاج بالمضادات الحيوية ومتابعة التغيرات الشكلية الناجمة عن تعرض البكتيريا للدقائق النانوية باستخدام المجهر الالكتروني الماسح.

تعرف الدقائق النانوية Nanoparticles بأنها تلك الفئة المتميزة من المواد الدقيقة التي يمكن انتاجها بحيث تتراوح مقاييس أبعادها او ابعاد حبيباتها بين 1- 100 نانومتر، وقد ادى صغر احجام ومقاييس تلك المواد الى ان تسلك سلوكا مغاير للمواد التقليدية كبيرة الحجم التي تزيد ابعادها على 100 نانومتر هذا يعني ان الجسيمات بالحجم النانوي تملك مواصفات كهربائية ومغناطيسية تختلف بدرجة مهمة عن الجسيمات كبيرة الحجم لنفس المركبات [1].

يمكن الحصول على الجسيمات النانوية المعدنية بالطرائق الحيوية والفيزيائية والكيميائية اذ أن هناك العديد من أنواع البكتيريا والفطريات لها القدرة على إنتاج الجسيمات النانوية المعدنية ذات خصائص ضد أحيائية مجهرية [2].

عرف منذ القدم أن للفضة ومركباتها تأثيرات مختلفة ضد الاحياء المجهرية ويعود ذلك لصغر حجم دقائقها التي تقل عن 5 نانومتر والتي تعمل على زيادة المساحة السطحية وبه يؤدي الى توليد نزعة للهجرة الى السطح الخارجي للدقائق النانوية وزيادة النشاط الكيمياوي لها وزيادة انتاج الاوكسجين المتفاعل بضمنها تكوين الجذور الحرة free radicals [3, 4] كما ان للدقائق الفضة النانوية قدرة على اجتياز الاغشية الحية كالجلد المصاب بالاكزيما او الحروق والوصول

المؤتمر العلمي الثالث لكلية الطب البيطري / جامعة تكريت للفترة 2 و 3 ايار 2016

90	14-	دراسة امراضية جراثيم <i>Salmonella bongori</i> والتغيرات العيانية والنسجية في الفئران ياسين حسين عويد الجبوري ، سناء سعود احمد
99	15-	تأثير إستخدام نسب مختلفة من دريس القصب البري ( <i>Phragmites Cummins</i> ) wild reed hay والعنف المركز في الاداء الانتاجي لعجول الفريزيان فلاح حسن صالح العباسي ، حامد أسحق إسماعيل الكتيبياني
108	16-	تأثير إضافة مسحوق بذور الكمون <i>Cuminum cyminum</i> L إلى العليقة في الصفات النوعية لبيض طائر السمان الياباني Japanese quail علي قيس جليل
113	17-	تأثير الماء المعالج مغناطيسيا في سمية خلاص الرصاص لبعض أعضاء فروج اللحم شيرين حامد قرحان
118	18-	تأثير إضافة مستويات مختلفة من مسحوق نبات الميرمية في الاداء الإنتاجي لدجاج البيض سلالة ISA Brown عبدالرزاق نبيل عبدالرزاق ، طارق خلف حسن الجميلي ، فراس مزاحم حسين الخيلاني
126	19-	إستخدام قياسات الصبغين الجنسي كمؤشر انتخابي لبعض صفات النمو وأبعاد الجسم في الماعز الشامي علي نجم عبدالله ، وسن جاسم محمد ، احمد علاء الدين طه
132	20-	تأثير استعمال الذرة المقطرة الخالية من الذوائب (DDG) والمعزز الحيوي العراقي والمعاملة بالتخمير في بعض الصفات النوعية للبيض والمبيض للدجاج البياض عبد الرحمن فؤاد عبد الرحمن الشخيلي ، معد عبد الكريم البدي ، سعد عبد الحسين ناجي
142	21-	تأثير الإحلال الجزئي لمسحوق عرق السوس بدل الشعير في نسب مخلفات الذبح في حملان العواسي احمد رمضان محميد الجبوري
146	22-	تقدير انزيم الاميليز في لعاب ادرار ومصل دم بعض الاصحاء والمرضى المصابين بالتهاب الكلية بالطريقتين اللونية القياسية (Kit) والاسكندنافية والمقارنة بينهما اسماء هاشم شاكر

## المحتويات

1	1- تأثير الدقائق النانوية للفضة وثاني اوكسيد التيتانيوم على بعض من سلالات النوع <i>Escherichia coli</i> المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية وملاحظتها بالمجهر الالكتروني الماسح بيمان علي كريم ، اسراء غانم السماك
9	2- تقدير وجود الميلامين في بعض منتجات الالبان في الأسواق العراقية وتحديد تأثيره في بعض المعايير الكيموحيوية والانزيمية في الجرذان محمد جميل محمد ، كركز محمد تلج ، امين سليمان بدوي ، محمد احمد جاسم
15	3- دراسة أهم المسببات البكتيرية للمصابين بأنتهاب الأذن الوسطى في قضائي القرنة والمدينة كواكب ابراهيم محسن الزبيدي
24	4- تأثير التهاب الخلب والشبكية الكلمي في الابقار المحلية على بعض معايير الدم الكيموحيوية خالد احمد هادي السعيد
28	5- التحري عن اسباب الشهية المنحرفة (Depraved appetite) في الابقار المحلية عمر الثاني شريف سعيد البياتي
34	6- تأثير إضافة خليط الانزيم التجاري (SAFIZYN J.P 2500) على النسبة المنوية لمعامل الهضم وفي نسبة التفريغ الغذائي لأسماك الكارب الشائع <i>Cyprinus carpio</i> نهى حميد صانق البصام ، صدام محمد حسن ، فاروق محمود كامل
42	7- دراسة بكتريولوجية كيمياوية وفيزيائية لمياه الشرب المعدنية المتداولة في الأسواق المحلية لمدينة تكريت حميد سلمان خميس ، ياسين حسين عويد ، اسراء حمود عبد
55	8- استخدام مستويات مختلفة من مسحوق جذور الزنجبيل ( <i>Zingiber officinale</i> ) في تغذية الحملان العواسية وتأثيره في الأداء الإنتاجي عبدالله عصام نعمان ، طاهر عبد اللطيف شجاع
59	9- تأثير إضافة مستويين من النياسين في إنتاج الحليب والسيطرة على مؤشرات الإصابة بالكيتونية لدى أبقار الفريزيان بعد الولادة عماد غايب عبد الرحمن العباسي
64	10- التحري عن قابلية المكورات العنقودية الذهبية على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز والمعزولة من المرضى الراقدين والوافدين لمستشفى سامراء العام أسماء عيسى محمود ، داوود سلمان داوود
69	11- دراسة تأثير راشحي الفطرين <i>Fusarium solani</i> و <i>Penicilliu chrysogenum</i> في نمو أنواع بكتيرية معزولة من اخماج مختلفة في مدينة سامراء رثما عبد العظيم ياسين ، عميدة علي عطية
74	12- دراسة نسجية لتأثير المستخلص المائي لنبات ورد لسان الثور <i>Borago officinalis Linn</i> على بعض المتغيرات الكيموحيوية المتعلقة بوظائف الكبد في اناث الارانب البيض المعرضة للإجهاد التأكسدي رغد حازم حمد العباسي
83	13- إضافة قشور الرمان تحت مستويين من العلف المركز إلى الخشن وأثره على بعض صفات الدم في الحملان العواسية مهيمن عبد السلام محمد الجبوري ، طاهر عبد اللطيف شجاع الراوي

## اهداف المؤتمر

- 1- دعم البحوث التطبيقية التي تشكل رافدا أساسيا في تطوير المسيرة العلمية في البلاد
- 2- النهوض بواقع الثروة الحيوانية من خلال التركيز على البحث العلمي التطبيقي في محاكاة مشاكل الثروة الحيوانية وإيجاد الحلول لها
- 3- إيجاد السبل الكفيلة التي تساهم في منع تفشي الأمراض الوبائية الشائعة في بلدنا العزيز
- 4- إبراز الدور الفعال للطبيب البيطري في الحفاظ على الثروة الحيوانية.
- 5- دور الطب البيطري في الرقابة على الغذاء و تكنولوجيا التعليم البيطري في الحد من التلوث و حماية البيئة

## مداول المؤتمر

- 1- انصحة العامة والأمراض المشتركة بين الانسان والحيوان
- 2- الأمراض وأمراض الدواجن
- 3- الجراحة والتوليد البيطري
- 4- الأحياء المجهرية والطفيليات
- 5- العلوم الأساسية ( الفسلجة والتشريح والكيمياء الحياتية )
- 6- الطب الباطني والادوية البيطرية

**المؤتمر العلمي الثالث لكلية الطب البيطري / جامعة تكريت للفترة 2 و 3 ايار 2016**

## رئيس المؤتمر

أ.م.د. نهاد عبدالحسين جعفر

## اللجنة العلمية

رئيساً	أ. د. اياد حميد ابراهيم
مقرراً	م. د. سعد توفيق رشيد
عضواً	أ. م. د. أميمة ابراهيم محمود
عضواً	أ.م. د. صلاح صديم صالح
عضواً	أ.م. د. ياسر احمد موفق
عضواً	أ.م. بثينة عبدالحميد عبدالله
عضواً	م. د. إدريس خلف ثامر
عضواً	م. د. بدر ختلان حميد
عضواً	م. د. سهام عجمي وادي
عضواً	م. د. موفق حسين علي
عضواً	م. د. حلا محمد مجيد
عضواً	م. د. ميثم عبدالاله اسماعيل

## اللجنة التحضيرية

رئيساً	م. د. احمد شاكر مرموص
مقرراً	م. د. بشار صادق نومي
عضواً	أ. م. د. زياد طارق عمر
عضواً	م. خالد احمد هادي
عضواً	م. دخيل حسين حدري
عضواً	م. م. سناء سعود احمد
عضواً	م. م. احمد عبدالله سلطان
عضواً	م. م. علي قيس جليل
عضواً	م. م. حسان هادي خورشيد
عضواً	م. م. عبدالجبار محمد حسين
عضواً	م. م. نوار علي جاسم
عضواً	م. م. منتصر محمد هلال

## اللجنة الفنية

رئيساً	م. م. علي حسن عواد
عضواً	م. م. سعد صبار نصيف
عضواً	السيد ناظر عباس الطيف
عضواً	الانسة صبا حسين رشيد

المؤتمر العلمي الثالث لكلية الطب البيطري / جامعة تكريت للفترة 2 و 3 ايار 2016

## وقائع المؤتمر العلمي الثالث

كلية الطب البيطري - جامعة تكريت



تحت شعار

"دور الطب البيطري في النهوض بالواقع الاقتصادي لعراقنا الحبيب"

للفترة 2 و 3 ايار 2016