تأثير تركيز الأسبرين اليومي (Acetylsalicylic acid) المستخدم على صفات دم الدجاج في فصل الصيف

باسم إبراهيم مهدي

كلية العلوم، جامعة بغداد

الخلاصة:

استهدف البحث دراسة اثر الاستخدام اليومي للأسبرين **(**Acetylsalicylic acid**)** في بعض صفات دم الدجاج والتي شملت على تركيز خلايا الدم المضغوطة وتركيز الهيموغلوبين وأعداد خلايا الدم الحمر والبيض فضلا على تقدير تركيز عنصري الصوديوم والبوتاسيوم في الدم خلال فصل الصيف . استخدمت أفراخ الدجاج كحيوانات تجريبية حيث تم توزيع 180 فرخ بعمر أسبوع واحد على أربعة معاملات (45 فرخ / معاملة) ، وكانت المعاملة الأولى بدون إضافة الأسبرين (معاملة السيطرة) ، والمعاملة الثانية غذيت فيها الافراخ على عليقة مضافا لها 0.05 % من الاسبرين والمعاملة الثالثة غذيت فيها الأفراخ على عليقة مضافا لها 0.1 % من الأسبرين والمعاملة الرابعة غذيت فيها الأفراخ على عليقة مضافا لها 0.2 % من الأسبرين ، وتم تقسيم كل معاملة الى ثلاث مكررات وخصص قفص واحد بمساحة 1 متر مربع لكل مكرر . بينت النتائج ماياتي :

كانت قيم الصفات الخلوية للدم مرتفعة في أفراخ المعاملة الأولى (السيطرة) حيث بلغ تركيز خلايا الدم المضغوطة 35.4 و 36.8 % من الدم والهيموغلوبين 7.3 و 8.5 ملغم / 100 مل دم وأعداد خلايا الدم الحمر 34.7 و 36.9 مليون خلية / مل دم وأعداد خلايا الدم البيض 24.1 و 25.8 ألف خلية / مل دم عند عمر 4 و7 أسابيع على التوالي ، وقد ادت اضافة 0.2 % من الاسبرين (المعاملة الرابعة) الى إعادة التوازن للدم من خلال خفض تركيز خلايا الدم المضغوطة إلى 34.1 و 34.8 % والهيموغلوبين إلى 6.8 و 7.4 ملغم / 100 مل دم وأعداد خلايا الدم الحمر إلى 33.6 و 34.3 مليون خلية / مل دم وأعداد خلايا الدم البيض إلى 22.6 و 23.2 ألف خلية / مل دم عند عمر 4 و7 أسابيع على التوالي ، وفي نفس الوقت ادت اضافة الاسبرين الى حصول زيادة معنوية ($P<0.01$) في تركيز كل من عنصري الصوديوم والبوتاسيوم في دم الافراخ ، إلا إن إضافة 0.05 و 0.1 % من الأسبرين (المعاملتان الثانية والثالثة) لم تظهر اختلافات معنوية عن معاملة السيطرة ، يشير إلى أهمية التناول اليومي للأسبرين وبتركيز 0.2 % في المحافظة على توازن مؤشرات وثوابت الدم خلال الإجهاد الحراري في الصيف.

Effect of concentration of dietary Aspirin (Acetylsalicylic acid) on chickens blood parameters in summer season

Basim Ibrahim Mehdi

College of Sciences, Baghdad University

Abstract:

The objective of this study was to determine the effect of dietary aspirin on some chickens blood parameters includes Packed Cell Volume (PCV), Hemoglobin (Hb), Red Blood Cells (RBCs), White Blood Cells (WBCs), Sodium and Potassium concentrations in summer season. A 180 chicks 7 days old were used as an experimental animals and distributed into four treatments

(45 chicks per treatment), T1 chicks fed a diet without aspirin (control) , chicks in T2 fed a diet supplemented with 0.05 % aspirin, chicks in T3 fed a diet supplemented with 0.1 % aspirin, chicks in T4 fed a diet supplemented with 0.2 % aspirin. Each treatment subdivided into three replicates and each replicate reared in 1 X 1 m pen . The data obtained revealed the following :

T1chicks had high blood parameters values, PCV were 35.4 and 36.8 %, Hb were 7.3 and 8.5 mg /100 ml, RBCs were 34.7 and 36.9 million cell / ml, WBCs were 24.1 and 25.8 thousand cell / ml at 4 and 7 weeks of age respectively, adding 0.2 % of aspirin to the diet (T4) rebalance blood parameters values through decreased PCV which were 34.1 and 34.8 %, Hb were 6.8 and 7.4 mg /100 ml, RBCs were 33.6 and 34.3 million cell / ml, WBCs were 22.6 and 23.2 thousand cell / ml at 4 and 7 weeks of age respectively. Adding 0.2 % of aspirin to the diet increased significantly ($P<0.01$) blood serum sodium and potassium concentrations, no differences in blood parameters values were appeared due to adding 0.05 and 0.1 % of aspirin to the diet (T2 and T3), which indicated the importance of dietary 0.2 % of aspirin to rebalance blood parameters values and reducing heat stress during summer season.

المقدمة:

الأسبرين Acetylsalicylic acid احد المركبات الكيميائية المستخدمة على نطاق واسع لزيادة توسع الأوعية الدموية وتقليل لزوجة الدم وتخثره بالاضافة الى دوره في خفض درجة حرارة الجسم وازالة الالام وهذا يؤدي الى حدوث تغيرات في مؤشرات الدم حيث تقل لزوجة الدم نتيجة زيادة تخفيف الدم Hemodilution (1 و2) فضلا عن دوره في تقليل الأضرار الحاصلة للكبد نتيجة حماية الخلايا الكبدية من الالتهابات (3) وخفض الإصابة بالسرطان وخاصة سرطان القولون وسرطان الثدي (4 و 5).

يلعب الأسبرين دورا مهما في تثبيط البروستوكلاندينات وهذه الاخيرة هي المسؤولة عن تقلص وانبساط الاوعية الدموية (6) وتتم عملية التثبيط عن طريق استرة الحامض الاميني السيرين في الجزء الفعال للانزيم المصنع وهو Prostoglandin synthetase وبصورة غير عكسية (7) ، وقد لوحظ ان

تناول الاسبرين يعمل على ابطاء ثخثر الدم حتى عند حدوث النزيف الداخلي للقناة الهضمية (8) ، وان اعطاء افراخ اللحم المرباة في المرتفعات العالية تراكيز مختلفة من الاسبرين (0.05 – 0.20 %) عن طريق العلف ساهم وبنجاح في خفض تركيز هيموغلوبين الدم وكذلك ساهم وبنجاح في تقليل ظهور متلازمة الحبن وتعزيز الاداء الانتاجي (9) ، وأوصى ألعبيدي (10) بتناول الأسبرين يوميا لدوره في خفض الهلاكات الناتجة عن إجهاد الحرارة صيفا ، فضلا على دور الأسبرين في المساهمة باستقرار مؤشرات الدم الكيموحيوية من خلال موازنة تركيز البروتين الكلي ونشاط الإنزيمات (11).

لذا يهدف البحث الحالي اثر الاستخدام اليومي لتراكيز من الأسبرين **(**Acetylsalicylic acid**)** في بعض صفات الدم والتي شملت على تركيز خلايا الدم المضغوطة (PCV) وتركيز الهيموغلوبين وأعداد خلايا الدم الحمر والبيض فضلا على تقدير تركيز عنصري الصوديوم والبوتاسيوم في الدم خلال فصل الصيف.

المواد وطرق العمل:

حيوانات البحث:

تم تنفيذ هذا البحث خلال فصل الصيف باستخدام 180 فرخ لحم نوع لوهمان والمجهزة من احد المفاقس الاهلية في ابي غريب . ربيت الافراخ في اقفاص ذات مسافات ثابتة وخصص قفص واحد بمساحة 1 متر مربع لكل مكرر داخل مسكن واحد وبثلاث مكررات (15 فرخ / متر مربع) . وتمت تغذية الأفراخ على عليقة احتوت على 21.1% بروتين وطاقة ممثلة 2950 كيلوسعرة / كغم علف .

الأسبرين المستخدم :

استخدم الأسبرين التجاري (Acetylsalicylic acid) وتم الحصول عليه من السوق المحلية وتم اضافته بتركيز 50 و 100 و 200 غم / 100 كغم علف .

عينات الدم:

عند عمر 4 و 7 أسابيع ذبحت 3 طيور من كل مكرر وبصورة عشوائية وجمعت عينات الدم في أنابيب جمع الدم وبعد تخثر الدم وضعت الانابيب في جهاز الطرد المركزي وبسرعة 3000 دورة / الدقيقة لمدة 15 دقيقة لأجل فصل مصل الدم والذي حفظ في درجة حرارة -20 م^{o} لحين أجراء الفحوص المختبرية والتي تضمنت :

فحوصات الدم الخلوية:

استخدمت طريقة الأنابيب الشعرية وجهاز Hematocrite centrifuge الموصوفة من قبل (12) واعتمدت الطريقة التي أشار إليها (13) لتقدير تركيز الهيموغلوبين وقدر عدد الخلايا الدم الحمر والبيض وفقاً للطريقة التي أشار إليها (14) وتم تقدير العد التفريقي لخلايا الدم البيض بعد تحُضير مسحات من الدم على شرائح زجاجية وبعد جفاف الدم (حوالي 10 دقائق) صبغت الشرائح بمزيج من صبغتي Wright-Giemsa وفقاً لطريقة (15) ، وعدت باستعمال المجهر الضوئي ، وعلى قوة تكبير 100x بوضع قطرة زيت على الشريحة وحسب طريقة (16) .

تقدير عنصري الصوديوم والبوتاسيوم :

قدرت تراكيز كل من الصوديوم والبوتاسيوم وذلك بأخذ 0.1 مل من السيرم وخفف بإكمال الحجم بالماء المقطر إلى 5 مل وتم تقدير تركيزي الصوديوم والبوتاسيوم بجهاز Flame photometer نوع PGI 2000 Automatic flame photometer انكليزي المنشأ الذي أعطى تركيز الصوديوم والبوتاسيوم بصورة مباشرة بعد تقسيط القراءات على المنحنى القياسي الصوديوم والبوتاسيوم أليا ، بعده جرى ضرب التركيز النهائي في نسبة التخفيف (17) .

التحليل الإحصائي :

تم أجراء التحليل الإحصائي للصفات المدروسة باستخدام التصميم العشوائي الكامل (CRD) واختبرت معنوية الفروق بين المعاملات بأستخدم اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى معنوية 0.01 وباستخدام البرنامج الاحصائي الجاهز SAS (18).

النتائج:

يتضح من الجدول (1) تاثير اضافة الاسبرين في العلف في معدل نسبة حجم الخلايا المضغوطة لدم الأفراخ ، حيث نجد ان نسبة حجم الخلايا المضغوطة قد بلغت 35.4 و 36.8 % من دم أفراخ معاملة المقارنة عند عمر 4 و 7 أسابيع على التوالي ، وقد أدت إضافة 0. 2 % من الأسبرين إلى انخفاض عالي المعنوية في نسبتها وللعمرين قيد الدراسة حيث بلغ 34.1 و 34.8 % من دم الأفراخ ، في حين لم تظهر فروق معنوية بتأثير اضافة 0.05 و 0.1 % من الأسبرين.

الجدول (2) يبين تأثير إضافة الأسبرين في العلف في معدل تركيز الهيموغلوبين في دم الأفراخ ، حيث نجد إن تركيز الهيموغلوبين قد بلغ 7.3 و 8.5 ملغم / 100 مل دم أفراخ معاملة المقارنة عند عمر 4 و 7 أسابيع على التوالي ، وقد أدت إ إضافة 0. 2 % من الأسبرين إلى انخفاض عالي المعنوية في تركيز الهيموغلوبين وللعمرين قيد الدراسة حيث بلغ 6.8 و 7.4 ملغم / 100 مل دم ، في حين لم تظهر فروق معنوية بتأثير إضافة 0.05 و 0.1 % من الأسبرين.

يتبين من الجدول (3) تأثير معنوي لإضافة الأسبرين في العلف في معدل أعداد خلايا الدم

الحمر لدم الأفراخ مقارنة بأفراخ معاملة السيطرة ، حيث نجد ان معدل أعداد خلايا الدم الحمر قد بلغ 34.7 و 36.9 مليون خلية / مل دم في أفراخ معاملة السيطرة عند عمر 4 و 7 أسابيع على التوالي ، وقد أدت إضافة 0. 2 % من الأسبرين إلى انخفاض معنوي في معدل أعداد خلايا الدم الحمر وللعمرين قيد الدراسة حيث بلغ 33.6 و 34.3 مليون خلية / مل دم ، في حين لم تظهر فروق معنوية بتأثير إضافة 0.05 و 0.1 % من الأسبرين.

تأثير إضافة الأسبرين في معدل أعداد خلايا الدم البيض في دم الأفراخ موضح بالجدول (4) ، حيث نجد إن معدل أعداد خلايا الدم البيض قد بلغ 24.1 و 25.8 ألف خلية / مل دم لأفراخ معاملة السيطرة عند عمر 4 و 7 أسابيع على التوالي ، وقد أدت إضافة الأسبرين إلى انخفاض معنوي في معدل أعداد خلايا الدم البيض وللعمرين قيد الدراسة حيث بلغ 22.6 و 23.2 ألف خلية / مل دم ، في حين لم تظهر فروق معنوية بتأثير إضافة 0.05 و 0.1 % من الأسبرين.

يتبين من الجدول (5) إن تركيز الصوديوم قد بلغ 135 و 136 ملي مول / لتر من مصل دم أفراخ معاملة السيطرة عند عمر 4 و 7 أسابيع على التوالي ، وقد أدت إضافة 0. 2 % من الأسبرين إلى ارتفاع معنوي في تركيز الصوديوم وللعمر 7 أسابيع من الدراسة حيث بلغ 141 ملي مول / لتر مصل دم الأفراخ ، في حين لم تظهر فروق معنوية بتأثير إضافة 0.05 و 0.1 % من الأسبرين.

يتضح من الجدول (6) إن تركيز البوتاسيوم قد بلغ 3.6 و 3.7 ملي مول / لتر من مصل دم أفراخ معاملة السيطرة عند عمر 4 و 7 أسابيع على التوالي ، وقد أدت إضافة 0. 2 % من الأسبرين إلى ارتفاع معنوي في تركيز البوتاسيوم وللعمر 7 أسابيع من الدراسة حيث بلغ 4.8 ملي مول / لتر مصل دم الأفراخ ، في حين لم تظهر فروق معنوية بتأثير إضافة 0.05 و 0.1 % من الأسبرين.

الجدول (1) تأثير إضافة تراكيز من الأسبرين في العلف في معدل نسبة حجم الخلايا المضغوطة (%) لدم الأفراخ .

العمر (أسبوع)	0.0 % اسبرين	0.05 % أسبرين	0.1 % أسبرين	0.2 % أسبرين	المعنوية
4	35.4±0.89 a	35.4±0.77 a	35.3±0.82 a	34.1±0.86 b	**
7	36.8±0.78 a	36.8±0.79 a	36.5±0.84 a	34.8±0.78 b	**

الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير الى وجود فروق معنوية :
**** عند مستوى (P<0.01)**

الجدول (2) تأثير إضافة تراكيز من الأسبرين في العلف في معدل تركيز هيموغلوبين (ملغم / 100 مللتر) لدم الأفراخ .

العمر (أسبوع)	0.0 % أسبرين	0.05 % أسبرين	0.1 % أسبرين	0.2 % أسبرين	المعنوية
4	7.3±0.34 a	7.4±0.46 a	7.2±0.52 a	6.8±0.47 b	**
7	8.5±0.52 a	8.5±0.45 a	8.3±0.51 a	7.4±0.34 b	**

الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير الى وجود فروق معنوية :
**** عند مستوى (P<0.01)**.

الجدول (3) تأثير إضافة تراكيز من الأسبرين في العلف في معدل أعداد خلايا الدم الحمر (مليون خلية / مللتر) دم الأفراخ .

العمر (أسبوع)	0.0 % أسبرين	0.05 % أسبرين	0.1 % أسبرين	0.2 % أسبرين	المعنوية
4	34.7±0.91 a	34.5±0.87 a	34.6±0.98 a	33.6±0.83 b	**
7	36.9±0.88 a	36.8±0.89 a	36.6±0.87 a	34.3±0.87 b	**

الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير الى وجود فروق معنوية :
**** عند مستوى (P<0.01)**
N.S. عدم وجود فروق معنوية .

الجدول (4) تأثير إضافة تراكيز من الأسبرين في العلف في أعداد خلايا الدم البيض (ألف خلية / مللتر) دم الأفراخ .

العمر (أسبوع)	0.0 % اسبرين	0.05 % أسبرين	0.1 % أسبرين	0.2 % أسبرين	المعنوية
4	24.1 ±0.21 a	24.2±0.88 a	23.8±0.24 a	22.6±0.23 b	**
7	25.8 ±0.23 a	25.6±0.23 a	25.5±0.22 a	23.2±0.25 b	**

الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير الى وجود فروق معنوية :
**** عند مستوى (P<0.01)**

الجدول (5) تأثير إضافة تراكيز من الأسبرين في العلف في معدل تركيز الصوديوم (ملي مول / لتر) في دم الأفراخ .

العمر (أسبوع)	0.0 % اسبرين	0.05 % أسبرين	0.1 % أسبرين	0.2 % أسبرين	المعنوية
4	135±4.33 a	134±4.26 a	137±4.32 a	138±4.34 a	N.S.
7	136±4.36 b	136±4.29 b	137±4.28 b	141±4.25 a	**

الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير الى وجود فروق معنوية :
**** عند مستوى (P<0.01)**
N.S. عدم وجود فروق معنوية .

الجدول (6) تأثير إضافة تراكيز من الأسبرين في العلف في معدل تركيز البوتاسيوم (ملي مول / لتر) في دم الأفراخ .

العمر (أسبوع)	% 0.0 اسبرين	% 0.05 أسبرين	% 0.1 أسبرين	% 0.2 أسبرين	المعنوية
4	3.6±0.13 a	3.6±0.13 a	3.7±0.16 a	3.9±0.14 a	N.S.
7	3.7±0.14 b	3.8±0.20 b	3.8±0.13 b	4.8±0.15 a	**

الأحرف الصغيرة المختلفة ضمن الصف الواحد تشير الى وجود فروق معنوية :
**** عند مستوى (P<0.01)**
N.S. عدم وجود فروق معنوية .

المناقشة:

تؤدي ارتفاع درجات الحرارة البيئية خلال فصل الصيف إلى ظهور مشاكل صحية عديدة منها الإعياء والتعب وحصول الجفاف وقد تؤدي إلى زيادة في عدد الهلاكات نتيجة تأثر ثوابت ومكونات الدم (19) وهذا ما حصل في أفراخ المعاملة الأولى التي كانت قد سجلت ارتفاعا في تركيز الصفات الخلوية للدم والتي شملت على حجم خلايا الدم المضغوطة وتركيز الهيموغلوبين وأعداد خلايا الدم البيض والحمر كون هذه الصفات أو المؤشرات ترتفع عند حدوث الإجهاد الحراري Heat Stress نتيجة لانخفاض تركيز الماء في الجسم والدم ، إما أفراخ المعاملة الثانية التي غذيت على علف يحتوي 0.2 % من الاسبرين فنجد انها قد سجلت انخفاضا معنويا في حجم خلايا الدم المضغوطة وتركيز الهيموغلوبين وأعداد خلايا

الدم البيض والحمر مقارنة بأفراخ المعاملة الأولى ، كذلك ادت اضافة الاسبرين الى ارتفاع تركيز كل من الصوديوم والبوتاسيوم وبصورة معنوية أيضا عن أفراخ المعاملة الأولى وهذا ناتج عن دور الاسبرين في تثبيط عمل البروستوكلاندينات المسؤولة عن تقلص وانبساط الاوعية الدموية وتقليل حدوث الخثرة الدموية ويتم ذلك عن طريق استرة الحامض الاميني السيرين في الجزء الفعال للانزيم المصنع وهو Prostoglandin synthetase وبصورة غير عكسية (7) ومنه الإنزيمات التي تتغير بسبب الإجهاد الحراري أو بسبب نقص الاوكسجين ، وقد لوحظ ان تناول الاسبرين يعمل على عدم ثخثر الدم حتى عند حدوث النزيف الداخلي للقناة الهضمية (8) ، وهذا يتفق مع (9) اذ لاحظ إن إعطاء أفراخ اللحم المرباة في المرتفعات العالية تراكيز مختلفة من الاسبرين تراوحت بين 0.05 - 0.20 % عن طريق العلف ساهم وبنجاح في اعادة التوازن الى مؤشرات الدم وخاصة معاملة إضافة 0.2 % حيث انخفضت أعداد خلايا الدم الحمر وتركيز الهيموغلوبين بعد ان كانت مرتفعة نتيجة نقص الاوكسجين (6) ، إن عدم وجود فروق معنوية لإضافة 0.05 و 0.1 % من الأسبرين تتفق مع (10) إذ وجد إن التناول اليومي للأسبرين وبنسبة 0.2 % من العلف يسهم في خفض الإجهاد نتيجة الكثافة ويسهم في إعادة التوازن للجسم في دجاج اللحم مقارنة بالتراكيز الاقل ، أما التحسن في تركيز الصوديوم والبوتاسيوم عند عمر سبعة أسابيع فقد يعود إلى دور الأسبرين المتعاظم مع زيادة العمر مقارنة بالعمر الصغير ذلك ان الدجاج البالغ أكثر تأثرا بالحرارة المرتفعة مقارنة بالأفراخ الصغيرة نتيجة الحرارة المنتجة من الجسم (19) مما يشير إلى أهمية التناول اليومي للأسبرين لخفض الإجهاد الحراري وإعادة التوازن لثوابت الدم خلال فصل الصيف.

المصادر:

1. Feddle, M. R. and R. F. Wideman, 1996 . Blood viscosity in broilers: Influence on pulmonary hypertension syndrome. Poultry Sci. 75: 1261- 1267.

2. Yersin, A. G., W. E. Huff, L. F. Kubena, M. A. Elissalde, R. B. Harvey, D. A. Witzel and L. E. Giroir, 1992 . Changes in hematological, blood gas and serum biochemical variables in broilers during exposure to simulated high altitude. Avian Dis. 36:189-197.

3. Imaeda, A. B., W. Azuma, S. Muhammad, M. Shamail, M. Mehdi, S. Fayyaz, F. Richard, M. Wajahat, 2009 . Acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice is dependent on Tlr9 and the Nalp3 inflammasome. Journal of Clinical Investigation 119 (2): 305–14.

4. Chan, O.S., C.S. Fuchs, 2009 . Aspirin Use and Survival After Diagnosis of Colorectal Cancer. J.A.M.A. 302 (6): 649–658.

5. Holmes, M., 2010 . Aspirin intake and survival after breast cancer. Journal of Clinical Oncology (pre-publication). http://jco.ascopubs.org/cgi/content/abstract/JCO.2009.22.7918v1.

6. Weissmann, G., 1991. Aspirin. Sci. Am. 264:84-90.

7. Roth, G. R. and C. J. Siok, 1978 . Acetylation of the NH2 terminal serine of the prostaglandin synthetase by aspirin . J. Biol. Chem. 253:3782-2784.

8. McDaniel, C. D., J. M. Balog, M. Freed, R. G. Elkin, R. H. Wellenreiter and P. Y. Hester, 1993 . Response of layer breeders to dietary acetylsalicylic acid . 1. Effects on hen performance and eggshell quality. Poultry Sci. 72: 1084- 1092 .

9. Balog, J. M., G. R. Huff, N. C. Rath and W. E. Huff, 2000 . Effect of dietary aspirin on ascites in broiler raised in hypobaric chamber . Poultry Sci. 79: 1101- 1105.

10. ألعبيدي ، فارس عبد علي وشهرزاد محمد ألشديدي ، 2010 . تأثير إضافة الأسبرين في العلف لتقليل حالة الحبن (Ascites) وتحسين الأداء الإنتاجي لأفراخ اللحم المرباة بكثافة عالية . مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري ، 9 (1) :20 – 25 .

11. ألعبيدي ، فارس عبد علي وشهرزاد محمد ألشديدي وعمار طالب ذياب ، 2009 . تأثير إضافة الأسبرين في العلف لتحسين الأداء الإنتاجي والصحي لأفراخ اللحم المرباة بكثافة عالية. المجلة الطبية البيطرية العراقية .2009 ، 33 (1) : 56 – 64 .

12. Archer, R. K., 1965. Hematological Techniques for use on Animals. Black Well Scientific Publications , Oxford.

13. Varley, H., A.H. Gowenlock and M. Bell, 1980 . Practical Clinical Biochemistry . 5th ed. William Heinemann Medical Books Ltd., London .

14. Natt, M.P. and C.A. Herrick, 1952 . A new blood diluent for counting the erythrocytes and Leukocytes of the chicken. Poultry Sci. 31:735-738.

15. Shen, P.F. and L.T. Patterson, 1983 . A simplified Wright's stain technique for routine avian blood smear staining. Poultry Sci. 62:923-924.

16. Burton , R.R., and C.W. Guion, 1968 . The differential Leucocyte blood count : its precision and individuality in the chicken . Poultry Sci.47:1945-1949.

17. AOAC,1980. Official Methods of Analysis. 13th ed. Association of Official of Analytical Chemists. Washington, D.C.

18. SAS, 1989 . Statistical Analysis System. User's guide statistics (Version 5ed.) .SAS Institute, Inc. Vary, N.C.USA.

19. Sturkie, P. D., 1976 . Avian Physiology, 3 rd ed. Page:30-38, New York, AVI. Publishing Com. West Port, USA .