* دراسة التغيرات في بعض المعايير الكيموحيوية لمصل الدم الناجمة عن الإصابة التجريبية بطفيلي *Eimeria tenella* في أفراخ الدجاج المحلي والأجنبي

تاريخ الاستلام 2015/1/18 تاريخ القبول 2015/3/1

خيري عبد الله داود العكَيلي
فرع الأحياء المجهرية/ كلية الطب

خالد ثامر مطر الشيباني
قسم علوم الحياة/ كلية التربية

جامعة القادسية
khbio7@gmail.com

الخلاصة:

أجريت هذه الدراسة للمدة من 2013/9/1 ولغاية 2014/9/1 ، بهدف التحري عن طفيلي *Eimeria tenella* في الدجاج المصاب طبيعياً بهِ وعزلهِ من الحالات المصابة الواردة الى المستشفى البيطري والعيادات البيطرية من حقول تربية الدواجن حيث تم تشخيصها مبدئياً بواسطة المجهر الضوئي وتسجيل الحالات الموجبة ومن ثم تشخيصهِ جزيئياً بتقنية تفاعل السلسلة المتبلمرة الأعتيادي (PCR) Conventional- Chain Reaction Polymerase حيث تم تحديد الجين(IST-1) الخاص بالنوع وبعدها تم تقدير بعض المعايير الكيموحيوية لمصل الدم لأفراخ الدجاج المحلي والأجنبي بعد أحداث الأصابة التجريبية فيها بالطفيلي المعزول بعد تبويغهِ .

من خلال الدراسة الحالية تم فحص 315 حالة دجاج مصابة بطريقة المسحة المباشرة ومن ثم الفحص بطريقة الـ PCR وقد بينت النتائج أصابة (186من أصل315)عينة براز وبنسبة 59 % , الدراسة التجريبية تضمنت إحداث الإصابة التجريبية بالطفيلي في نوعين من أفراخ الدجاج هما أفراخ دجاج الروزRoss الأجنبي وأفراخ الدجاج المحلي *Gallus gallus* بعمر 21 يوماً بجرعة (5×10^4) كيس بيض ناضج / طائر لطفيلي *E.tenella* , حيث تم أصابة 30 فرخ دجاج من كل نوع على حدى كما أستخدمت مجموعتين من الأفراخ غير المصابة كمجموعة سيطرة لأجل المقارنة.

أظهرت نتائج المعايير الكيموحيوية لمصل الدم لأفراخ الدجاج الأجنبي حصول إنخفاض معنوي ($P<0.05$) في مستوى تركيز الكلوكوز (156.98 ملغم/100 مل) في الإسبوع الرابع للإصابة وتركيز الكولستيرول (62.11 ملغم/100 مل) وتركيز البروتين الكلي (1.92 ملغم/100 مل) في الإسبوع الخامس للإصابة ، بينما اظهر حامض اليوريك ارتفاع معنوي ($P<0.05$) ليصبح (10.19 ملغم/100مل) عند الإسبوع الرابع للإصابة مقارنة بأفراخ مجموعة السيطرة.

أما نتائج المعايير الكيموحيوية لمصل دم أفراخ الدجاج المحلي فقد بينت حصول انخفاض معنوي($P<0.05$) في مستوى تركيز الكلوكوز (169.60 ملغم/100 مل) في الاسبوع الخامس للاصابة وتركيز الكولستيرول(70.89 ملغم/100 مل) وتركيز البروتين الكلي(2.25 ملغم/100 مل) في الاسبوع الرابع للاصابة بينما اظهر حامض اليوريك ارتفاعاً معنوياً($P<0.05$) إذ بلغ(7.62 ملغم/100 مل) في الاسبوع الخامس للاصابة مقارنةً بأفرخ مجموعة السيطرة.

Biology Classification QR1 **99.5**

كلمات مفتاحية: الدجاج, الأيميريا تنلا، المعايير الكيموحيوية.

* بحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الثاني.

المقدمة Introduction

إزداد الطلب في الاعوام الاخيرة على اللحوم البيضاء نتيجة للزيادة السنوية في عدد سكان العالم ولأن تلك اللحوم صحية جداً ورخيصة الثمن مقارنةً باللحوم الحمراء غالية الثمن والتي تسبب مشاكل صحية خصوصاً عند استهلاكها بكميات كبيرة , اضافة الى ان اللحوم الحمراء لاتكفي لسد حاجة السكان المتزايدة , لذلك اصبح من الضروري زيادة انتاج اللحوم البيضاء. وهذا ادى الى حصول تطورات استثنائية في انتاج الدواجن اذ بلغ انتاجها حوالي 25% من الإنتاج العالمي للحوم [1], ان هذا التوسع الكبير والسريع في صناعة الدواجن قد واجه تحديات كبيرة اهمها هو تعرضها للاصابه بالعديد من الامراض الطفيلية المعدية التي تسببت بحدوث خسائر اقتصادية كبيرة جداً تقدر بملايين الدولارات سنوياً جراء هلاك اعداد كبيرة منها, ولعل اهم ابرز هذه الامراض هي داء الاكريات [2]. الذي يتسبب بواسطة اوالي طفيلية تعود الى صنف البوغيات Sporozoa جنس الايميريا *Eimeria* الذي يتميز بالخصوصية العالية للمضيف والعضو الذي يتطفل عليه إذ يتطفل في القناة الهضمية للطيور الداجنة مسبباً لها أضراراً بالغة نتيجةً لتكاثر الطفيلي في خلايا المضيف [3]. وهذا الضرر يتداخل مع هضم الغذاء وامتصاص العناصر الغذائية ويسبب أيضا فقدان الدم والجفاف [4]. أكتشف طفيلي الايميريا من قبل العالم Leevwen Hock عام 1674 اذ وجد اكياس البيض في قنوات الصفراء لأرنب مصاب بطفيلي *Eimeria* , وفي عام 1879 وضع العالم Leukart طفيلي الايميريا في صنف البوغيات Sporozoa التي بدورها تنتمي الى عائلة الاوالي الحيوانية Protozoa [5].

إن داء الاكريات يمتاز بسرعة حدوثهِ وانتشارهِ بين قطعان الدجاج في أي مرحلة من مراحل حياتهِ على مدار السنة في جميع أنحاء العالم [6] وهو شائع الحدوث في أفراخ الدجاج عادة في الأعمار الفتية الأكثر من اسبوعين وتصل ذروتها من الأسبوع الرابع وحتى العاشر مع توفر الظروف المناسبة له من رطوبة وقلة التهوية والتربية المكثفة فضلاً عن سوء الأدارة [7] مسبباً خسائر اقتصادية كبيرة جداً لتأثيرهُ المباشر على الحالة الصحية والأنتاجية للدجاج المصاب فضلاً عن نسب الهلاكات العالية بين الأفراخ المصابة في القطيع [8]. ان اهم ما يميز هذا المرض ظهورهُ المفاجئ ودورة حياته القصيرة والمعقدة التي تتطور داخل وخارج جسم المضيف , فضلاً عن المقاومة الدوائية المتولده للطفيلي نتيجة الأصابات المتكررة التي ساهمت في انتشار وبقاء الأصابة [9]. يعد النوع *E.tenella* من أكثر الأنواع شيوعاً وأنتشاراً في العالم إذ يصيب الايميريا تنيلا الاعورين في افراخ الدجاج وهواكثر واشد الانواع ضراوة وتعزى هذه الضراوة الشديدة الى تطور الجيل الثاني من المفلوقات في الصفيحة الاساسية للاعورين مسببة تقرحات وتنخرات عميقة في الطبقة الظهارية للاعورين [10] ومن اهم مايميز الاصابة بهذا النوع في افراخ الدجاج هو الانخفاض الشديد في كفاءة التحويل الغذائي واستهلاك العلف و اوزان الطيور المصابة [11].

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

الافراخ وإدارتها Birds and Management

تم أجراء التجارب في غرف البيت الحيواني التابع لكلية التربية في جامعة القادسية للمدة من 2013/9/1 ولغاية 2014/9/1 , أستعمل في التجارب أفراخ دجاج بعمر يوم واحد تعود الى نوعين هما المحلي *Gallus gallus* والاجنبي سلالة روز Ross التركية , إذ تم الحصول على النوعين من مفقس الديوانية (من تفقيس بيض مخصب), وربيت كل الأفراخ على الفرشة من عمر يوم واحد ولحين انتهاء فترة التجربة (في نهاية الاسبوع السابع) وقد خضعت الافراخ في كل المجاميع منذ اليوم الاول الى نفس الظروف البيئية من تغذية واضاءة والنظام الوقائي والصحي , إستعملت نشارة الخشب كفرشة للأرضية وبسمك 5 سم قسمت الغرفة التي أبعادها (3 × 3) م^2 إلى أكنان أرضية Pens مقسمة بحواجز سلكية مشبكة وبأبعاد (1.5 × 1.5) م^2 وقسم كل كَن الى مكررين وجهزت الأكنان بمستلزمات التربية الأساسية مثل المناهل البلاستيكية المقلوبة وأواني العلف وبواقع منهل ومعلف لكل مكرر يتم رفعها تدريجياً مع تقدم عمر الطائر لكي تكون بمستوى صدرهِ. أستخدم ماء الصنبور العادي وتم تغذية جميع طيور المعاملات على عليقة البادئ (من عمر يوم واحد إلى ثلاث أسابيع) والعليقة النهائية (من عمر أربعة أسابيع فأكثر)

عزل الطفيلي Parasite Isolation

تم الحصول على عينات طفيلي الإيميريا من الحالات المصابة الواردة الى المستشفى البيطري والعيادات البيطرية حيث تم إجراء الصفة التشريحية لها وفتح الأعورين للطائر بواسطة مقص حاد , بعدها تم قشط الغشاء المخاطي المبطن لهما بواسطة شريحة زجاجية نظيفة , أخذت منها نماذج لغرض التشخيص بتقنية الـ PCR ووضعت مواد القشط مع المحتويات والبرازالدموي المائي المتبقية في محلول ثنائي كرومات البوتاسيوم Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$) بتركيز 2.5 %, بعد اتمام عملية تشخيص النوع *E.tenella* تم ترشيح العالق ومن ثم اجراء عملية التبويغ حسب [13] بعدها تم غسل وتنقية وتعقيم الاكياس المتبوغة حسب [14] و [15] بعدها تم حساب عدد اكياس البيض لجرعة التحدي Oocyst count حسب [16] و [15].

تشخيص الطفيلي

تم تشخيص طفيلي *E.tenella* جزيئياً باستعمال تقنية الـ PCR إذ تم اجراء استخلاص الحامض النووي DNA من عينات البرازالمعزولة من حالات الدجاج المريضة الواردة

وذلك بإستعمال عدة الاستخلاص الخاصة بالبراز Stool Genomic DNA extraction kit المجهزة من شركة Bioneer الكورية , تم الكشف عن الحامض النووي الـ DNA المستخلص من عينات البراز وذلك من خلال إستخدام جهاز Nanodrop spectrophotometer الخاص بالكشف وقياس تركيز الاحماض النووية , حيث تم الكشف عن الحامض النووي DNA من خلال تحديد تركيزه وقياس نقاوتهِ من خلال قراءة الامتصاصية بطول موجي يتراوح بين 280/260 nm , كما تم تصميم البادئ الخاص بالجين (ITS1) Internal transcribed spacer المستعمل في تشخيص طفيلي *E. tenella* في عينات البراز وذلك بالأعتماد على طريقة (12)

وأستعمالهِ في فحص الـ PCR , كما تم تجهيز البادئ من شركة Bioneer الكورية , بعدها تم تحضير مزيج التفاعل لسلسلة البلمرة بأستعمال عدة الـ PCR المجهزة من شركة Bioneer الكورية وبعد وضع المزيج في انابيب الـ PCR المجهزة مع العدة تم غلق الأنابيب ومزجت بعناية بجهاز المازج لمدة 10 ثوانٍ , بعد ذلك نقلت الى جهاز PCR Thermo Cycler وبعد أنتهاء الوقت اللازم أجري الترحيل الكهربائي على هلام الأكاروز بنسبة 1 % ومن ثم قراءة نتيجة تفاعل سلسلة البلمرة بواسطة جهاز الأشعة فوق البنفسجية UV لتحديد النتائج الموجبة بمطابقتها مع الحامض النووي القياسي DNA Ladder.

البادئ المستعمل للكشف عن طفيلي *E.tenell*

Primers	Sequence(5'-3')		Product size
E.tenella	F	AGCAGGTAGTCGTCGGTGTT	409 bp
	R	AGCAAAGTTCCAAGCAGCAT	

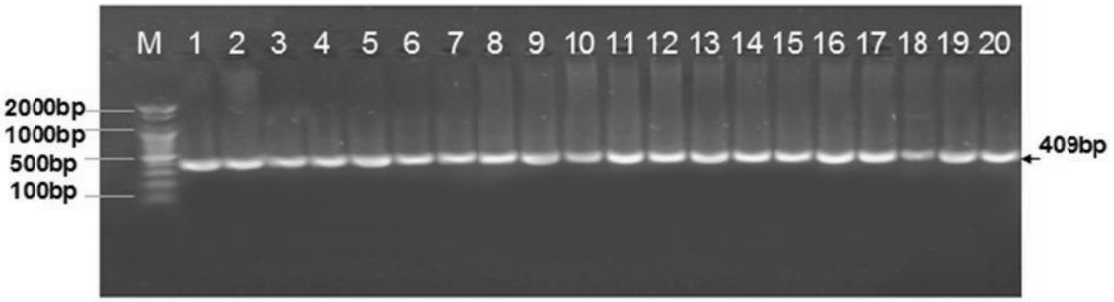
الفحوصات المرضية الدميّة Hematological Tests

تم جمع نماذج الدم من الوريد الجناحي Wing vein من الأفراخ المصابة بالاكياس الناضجة لطفيلي الايميريا تنلا والأفراخ غير المصابة (مجموعة السيطرة)في نهاية كل اسبوع ابتداءاً من الأسبوع الرابع والخامس والسادس بأستعمال محاقن طبية سعة 3 مل و وضع الدم في انابيب غير حاوية على مانع تخثر لغرض الحصول على مصل الدم Blood Serum حيث يترك فتره من الزمن حتى يتكتل الدم وبعدها يوضع في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة , بعدها عزل مصل الدم في انابيب اخرى معقمه ومعده لهذا الغرض وحفظ المصل في المجمدة بدرجة حرارة - 20 مْ لحين اجراء فحوصات مصل الدم الفسلجيه مثل قياس تركيز البروتين الكلي Total protein وتركيز الكلوكوز Glucose وتركيز الكولسترول Cholesterol وتركيز حامض اليوريك Uric acid . تم قياس تركيز الكلوكوز في المصل حسب ما ذكره [19] وقياس تركيز الكولسترول حسب [20] وقياس تركيز البروتين الكلي حسب [19] و قياس تركيز حامض اليوريك حسب [21].

النتائج Results

نتائج فحص الـ PCR

تم الحصول على نتائج التضخيم للجين (IST-1) بنجاح في 186 عينة براز موجبة من أصل 315 وبنسبة (59%) للنوع *E.tenella* فقد أظهر البادئ المستعمل حزم الأحجام المطلوبة بعد أجراء عملية الترحيل الكهربائي بهلام الأكاروز 1% , إذ أظهر زوج البادئ (E.tpF - E.tpR) حزمة بحجم (409 bp) زوج قاعدي كما في الشكل (1).



الشكل (1): الترحيل الكهربائي بهلام الأكاروز 1% ، لنواتج تقنية PCR لجينITS1 الخاص بطفيلي *E.tenella*, حيث يمثلM الدليل الحجمي لناتج PCR (100- bp2000) DNA ladder , والعينات (1- 20) تمثل النتائج الموجبة للجين المتضخم (409 bp).

كما بينت نتائج الدراسة الجزيئية أن طريقة أستخلاص الـ DNA المستعملة في هذه الدراسة هي طريقة ناجحة وجيدة للحصول على تركيز ونقاوة مناسبة لأستعمال الـ DNA الناتج كقالب Templet في تقنية الـ PCR من خلال الأستخلاص المباشر للـ DNA من عينات البراز المأخوذه من الحالات الواردة لغرض تشخيص طفيلي *E.tenella* .

نتائج الفحوصات الدموية

تركيز الكلوكوز في مصل الدم: توصلت النتائج الموضحة في الجدول (1) إلى حصول انخفاض معنوي بمستوى ($P<0.05$) في تركيز كلوكوز دم افراخ مجاميع الدجاج المصابة بطفيلي الايميريا فقد كانت النسبة في أدنى مستوياتها مقارنةً بأفراخ مجاميع السيطرة السليمة والتي قد اظهرت تفوقاً ملحوظاً في مستويات تركيز كلوكوز الدم , كما بينت نتائج الجدول أعلاه ايضاً ظهور فروقات معنوية بمستوى ($P<0.0l5$) في مستوى تركيز كلوكوز الدم بين أفراخ مجاميع السيطرة السليمة لصالح أفراخ الدجاج المحلي التي سجلت أعلى القيم ، افراخ المجاميع المصابة أظهرت تبايناً معنوياً في مستوى تركيز كلوكوز الدم خلال أسابيع الدراسة الحالية, فقد سجلت أفراخ دجاج الروز الأجنبي المصابة أدنى القيم (156.98 ملغم/100 مل مصل دم) في الأسبوع الرابع من العمر, تلتها أفراخ مجاميع الدجاج المحلي المصابة أذ أحرزت أرتفاعاً طفيفاً في تركيز كلوكوز الدم مقارنة بما سجلتهُ بقية الأفراخ المصابة في الدراسة الحالية .

تركيز الكولسترول في مصل الدم : تبين من النتائج في الجدول (2) ان مستوى تركيز الكولسترول بالدم قد بلغ أقصاه في مجاميع السيطرة السليمة وبفارق معنوي بمستوى ($P< 0.05$) في تركيز الكولسترول مقارنة بمجاميع الأفراخ المصابه *E.tenella* ، فقد أكدت النتائج إن أفراخ مجموعة السيطرة السليمة للدجاج المحلي قد سجلت في الأسبوع السابع من العمر في الدراسة الحالية أعلى القيم (146.37 ملغم/100 مل مصل دم)في تركيز كولسترول الدم تلتها افراخ دجاج الروز الأجنبي, في حين كانت أدنى قيمة لتركيز الكولسترول لأفراخ مجاميع السيطرة من نصيب أفراخ دجاج الروز الأجنبي وهي 100.24 ملغم/100 مل مصل دم في الأسبوع الرابع من العمر. أفراخ المجاميع المصابة سُجلت أدنى القيم لتركيز الكولسترول فقد أظهرت النتائج فروقاً احصائية بين أفراخ مجموعتي الدجاج المحلي والأجنبي المصاب بالنوع *E.tenella* لصالح أفراخ مجموعة الدجاج المحلي التي أحرزت قيماً أعلى مما سجلتهُ أفراخ دجاج الروز الاجنبي.

جدول (1): معدل مستوى تركيز الكلوكوز لأفراخ مجاميع دجاج الروز الاجنبي والمحلي خلال أسابيع الدراسة (ملغم/100 مل مصل دم)

نوع الدجاج	المجموعة	الاسبوع الرابع	الاسبوع الخامس	الاسبوع السادس	الاسبوع السابع
الاجنبي	سيطرة	**194.86**±3.2 B b	**201.97**±1.66 A b	**202.70**±2.11 A b	**203.05**±2.99 A b
	مصابة	**156.98**±1.75 C d	**168.87**±2.16 A c	**162.42**±3.11 B d	**169.72**±1.99 A d
المحلي	سيطرة	**202.87**±1.11 B a	**207.67**±3.11 A a	**208.15**±3.10 A a	**209.35**±2.31 A a
	مصابة	**169.66**±0.99 B c	**169.60**±2.16 B c	**170.97**±1.77 B c	**178.44**±0.99 A c

جدول (2): معدل تركيز الكولسترول لأفراخ مجاميع دجاج الروز الاجنبي والمحلي خلال أسابيع الدراسة (ملغم/100 مل مصل دم)

نوع الدجاج	المجموعة	الاسبوع الرابع	الاسبوع الخامس	الاسبوع السادس	الاسبوع السابع
الاجنبي	سيطرة	**100.24**±2.3 C b	**108.84**±3.10 B b	**100.05**±2.11 C b	**128.12**±0.75 A b
	مصابة	**62.64**±1.01 C d	**62.11**±4.40 C d	**78.63**±3.11 A d	**70.85**±0.81 B d
المحلي	سيطرة	**108.22**±1.20 C a	**114.39**=2.01 B a	**115.36**±0.99 B a	**146.37**±0.57 A a

مصابة	**70.89**±2.01 C c	**77.33**±2.12 B c	**85.69**±1.02 A c	**78.29**±0.12 B c

تركيزالبروتين الكلي في مصل الدم : بينت النتائج في الجدول (3) ان هناك فروقاً معنويةً بمستوى (P< 0.05) في تركيز البروتين الكلي في مصل الدم بين افراخ مجاميع السيطرة السليمة و افراخ المجاميع المصابة , حيث لوحظ ان افراخ مجاميع السيطرة السليمة في التجربتين الاولى والثانية قد سجلت اعلى القيم لتركيز البروتين الكلي مقارنة بأفراخ المجاميع المصابة , كما ظهرت ايضاً فروقات احصائية بين افراخ مجاميع السيطرة نفسها في قيم تركيز البروتين الكلي إذ احرزت افراخ مجموعة الدجاج المحلي قيماً اعلى بقليل مما سجلته افراخ مجموعة دجاج الروز الاجنبي في الدراسة الحالية ,فقد كانت اعلى القيم من نصيب افراخ الدجاج المحلي في الاسبوع السابع من العمر وهي (4.62 ملغم/100مل مصل دم) ، في حين كانت أقصى قيم لتركيز البروتين الكلي المسجلة من قبل افراخ مجموعة الروز الاجنبي في الاسبوع السابع ايضاً وهي (4.11 ملغم/100مل مصل دم) اما بالنسبة لافراخ المجاميع المصابة , ففي التجربة الاولى سجلت افراخ مجموعة الروز الاجنبي المصاب بالنوع *E.tenella* ادنى قيم تركيز البروتين الكلي في مصل الدم اذ بلغت (1.93 و1.92 ملغم/100مل مصل دم) في الاسبوعين الرابع والخامس على التوالي ثم جاءت بعدها افراخ مجموعة الدجاج المحلي وبفارق معنوي إذ سجلت قيماً اعلى من ذلك.

تركيز حامض اليوريك في مصل الدم : اشارت النتائج الموضحة في الجدول (4) زيادة عالية المعنوية بمستوى (P<0.05) في مستوى تركيز حامض اليوريك في مصل دم الأفراخ المصابة بطفيلي *E.tenella* مقارنة بما سجلتهُ أفراخ مجاميع السيطرة السليمة إذ أحرزت أدنى القيم ، ومن جانب آخر اكدت نتائج التحليل الأحصائي وجود أرتفاعاً معنوياً (P<0.05) بتركيز حامض اليوريك في مصل دم أفراخ دجاج الروز الأجنبي المصاب فقد أحرزت مجموعة أفراخ الدجاج

الأجنبي المصابة اقصى قيمة لها(10.19 ملغم/100 مل مصل دم)في الأسبوع الرابع من العمر يقابلها (7.62 ملغم/100 مل مصل دم) لافراخ الدجاج المحلي في الأسبوع الخامس من العمر.

جدول (3): معدل تركيز البروتين لأفراخ مجاميع دجاج الروز الاجنبي والمحلي خلال أسابيع الدراسة (ملغم/100 مل مصل دم)

نوع الدجاج	المجموعة	الاسبوع الرابع	الاسبوع الخامس	الاسبوع السادس	الاسبوع السابع
الاجنبي	سيطرة	**3.26**±0.25 C b	**3.81**±0.12 B a	**3.93**±0.11 B b	**4.11**±0.18 A b
	مصابة	**1.93**±0.24 C d	**1.92**±0.26 C c	**2.13**±0.06 C d	**2.31**=0.24 A d
المحلي	سيطرة	**3.76**±0.19 C a	**3.85**±0.06 C a	**4.08**±0.15 B a	**4.62**±0.46 A a
	مصابة	**2.25**±0.39 C c	**2.28**±0.29 C b	**2.53**±0.29 B c	**2.98**±0.29 A c

جدول (4): معدل تركيز حامض اليوريك لأفراخ مجاميع دجاج الروز الاجنبي والمحلي خلال أسابيع الدراسة (ملغم/100 مل مصل دم)

نوع الدجاج	المجموعة	الاسبوع الرابع	الاسبوع الخامس	الاسبوع السادس	الاسبوع السابع
الاجنبي	سيطرة	**3.13**±0.10 C c	**3.51**±0.31 B c	**4.05**±0.77 A c	**3.95**±0.46 A c
	مصابة	**10.19**±0.52 A a	**9.68**±1.08 B a	**8.75**±0.47 C a	**7.79**±0.47 D a
المحلي	سيطرة	**2.72**±0.41 B d	**2.93**±0.85 B d	**3.47**±0.49 A d	**3.62**±0.57 A c
	مصابة	**7.09**±0.39 B b	**7.62**±0.90 A b	**5.95**±0.35 D b	**6.64**±0.44 C b

المناقشة Discussion

تشخيص الطفيلي *E.tenella*

اشارت نتائج أستخدام تقنية الـ PCR للكشف عن الجين IST1 الخاص بطفيلي *E.tenella* في 315 عينة براز لدجاج مريض , تضمنت تشخيص النوع *E.tenella* بنسبة59% (186عينة براز موجبة) ، أن نسبة تواجد الجين IST1 المسجلة في الدراسة الحالية هي أعلى من النسبة المسجلة في الدجاج المحلي الايراني من قبل [12] والبالغة 31.5% في مدينة خوزستان الايرانية بأستعمال نفس الجين المستهدف فضلاً عن عن تشخيص خمسة انواع من طفيلي الايميريا هي *E.tenella* , *E.maxima* , *E.acervulina* , *E.mitis* و *E.necatrix* بنسب 31% , 24.6% , 23% , 12.7% و 8.73% على التوالي . واقل من النسبة التي أشار إليها [22] والتي بلغت 64% لـ 128 عينة براز موجبة من مجموع 200 عينة مفحوصة في مدينة شيراز الايرانية ومشخصاً اربعة انواع لطفيلي الايميريا ممرضة للدواجن هي *E.tenella* , *E.acervulina* , *E.necatrix* و *E.maxima* بنسب 24% , 18% , 12% و 10% على التوالي وقد يعزى سبب الأختلاف في النسب المسجلة بالدراسة الحالية والدراسات الاخرى الى أختلاف عدد العينات المفحوصة وظروف التجربة وأختلاف الظروف المناخية لكون اكياس بيض هذه الطفيليات

تحتاج الى رطوبة ودرجة حرارة لضمان حصول عملية التبوغ ومن ثم حصول الاصابة .

كذلك بينت النتائج ايضاً ان طريقة استخلاص الـ DNA المستعملة في الدراسة الحالية كانت ناجحة وجيدة جداً في الحصول على تركيز ونقاوة مناسبة لأستعمال الـ DNA كقالب Templet في تقنية الـ PCR كما ان نجاح البادئ المتخصص المستعمل في كشف وتضخيم الـ DNA للنوع *E.tenella* قد يعود الى حقيقة ان البادئ المستعمل قد صمم بشكل خاص ودقيق لأستهداف الجين IST1, لذلك فقد اظهرت النتائج ان التضاعف الذي تم الحصول عليه بأستعمال هذا الجين ذو خصوصية عالية جداً في تشخيص طفيلي الـ *Eimeria* وهذا ما توصل اليه [23] الذي اكد على اهمية طرق استخلاص الـ DNA من العينات المفحوصة في الحصول على النتائج المطلوبة , في حين أكد الباحثين [24] و [25] على أن كسر اغلفة اكياس البيض مهم جدا لضمان نجاح عملية الاستخلاص وهذا يتطلب زيادة في عدد ساعات التجميد لأكياس البيض او اتباع طرق اخرى كالحضن في الفينول الساخن .

المعايير الكيموحيوية لمصل الدم

تركيز الكلوكوز في مصل الدم

تستخدم الدواجن كلوكوز دمها في كثير من الوظائف منها أنتاج الطاقة والأكسدة الخلوية وبناء الكلايكوجين في الكبد والعضلات [26] , من خلال نتائج التحليل الأحصائي لوحظ حصول أنخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى تركيز الكلوكوز البلازمي لأفراخ الدجاج في المجاميع المصابة بطفيلي *E.tenella* التي سجلت أدنى القيم مقارنة بأفراخ مجاميع السيطرة (غير المصابة) التي سجلت أعلى القيم وهذا يتفق مع توصل إليه كل من الباحثين [27] و [28] و [29] ان هذا الأنخفاض في مستويات تركيز الكلوكوز البلازمي قد يعزى الى حالات الخمول وأنعدام الشهية التي تصيب الأفراخ المصابة وتسببها بقلة تناولها للعلف والماء فضلاً عن الأضطرابات الشديدة في الجهاز الهضمي نتيجة الألتهاب والتلف الكبير الحاصل في القناة الهضمية وملحقاتها سبباً ضعف أمتصاص الكلوكوز والمواد الغذائية الأخرى مما يؤدي الى استهلاك الكلايكوجين المخزون في الكبد .

كذلك أظهرت النتائج حصول أنخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في مستوى تركيز الكلوكوز في دم أفراخ دجاج الروز الأجنبي المصابة وبفارق معنوي عن أفراخ الدجاج المحلي المصابة وهذا ربما يعود الى قلة مقاومة أفراخ دجاج الروز الأجنبي وحجم التلف والأضطراب المعوي الحاصل جراء الاصابة فضلاًعن الضراوة والشدة الأمراضية العالية التي يتميز بها النوع *E.tenella*, اما [30] فقد عزا ذلك الى أن الأصابة الشديدة بالنوع *E.tenella* قد تسبب قلة في العمليات الأيضية وتثبيط عملية تحول الكلايكوجين الى كلوكوز في الكبد Glycogenolysis بسبب الفشل في وظائف الكبد .

تركيز الكولستيرول في مصل الدم

يعد الكولستيرول من المواد الدهنية ضمن مجموعة الدهون المشتقة وهو موجود في كافة الأنسجة الحيوانية وهو من المكونات المهمة لمصل الدم , إذ ينتقل من نسيج لآخر بواسطة مصل الدم من خلال أرتباطهِ ببروتينات خاصة تدعى البروتينات الدهنية , الكولستيرول يصنع في الكبد ويحصل علية الجسم أيضاً من الغذاء [31] أن قيم مستوى تركيز الكولستيرول في الدم يعكس الحالة الصحية والفسلجية للطائر , كما أن قياس تركيز الكولستيرول في مصل الدم يستخدم على نطاق واسع لدراسة تأثير المرض على الكبد لاسهامهِ المباشر في بناءهِ وان أغلب الأمراض الطفيلية التي تصيب الطيور تسبب التهاب وتلف الكبد وبالتالي حصول خلل في عملية بناء الكولستيرول المصلي (32) وهذا ما أظهرتهُ نتائج الدراسة الحالية إذ ان أصابة أفراخ الدجاج بنوعيها الأجنبي والمحلي بطفيلي *E.tenella* قد سبب أنخفاضاً ملحوظاً في تركيز كولستيرول مصل الدم لهذهِ الأفراخ المصابة وعلى مدى فترة الدراسة وقد يعود سبب ذلك الى التأثير المباشر لهذا الطفيلي على أداء الكبد لوظائفهِ الحيوية مما أنعكس سلباً على عملية بناء الكولستيرول في الخلايا الكبدية وهذا يتفق مع ما اشار اليه الباحث [33] الذي أفاد ان هذا الأنخفاض في تراكيز كولستيرول مصل دم الأفراخ المصابة بداء الأكريات ناجم عن فشل وقصور تخليقه في الكبد بسبب الأصابة الطفيلية, علاوة على ما تقدم لابدَ من الأشارة الى احتمال آخر يفسر هذا الأنخفاض في مستويات تركيز كولستيرول مصل الدم وهو الخلل الحاصل في عمليتي الهضم والأمتصاص المعوي جراء الأصابة بطفيلي الـ *Eimeria* لاسيما النوع *E.tenella* شديد الأمراضية.

تركيز البروتين الكلي في مصل الدم

ان قياس تركيز البروتين الكلي في مصل الدم مهم جدا في تحديد الحالة الصحية والفسلجية للكائن الحي , اذ ان بروتينات مصل الدم توجد بنسب ثابتة في الحالات الطبيعية للطيور, الا ان تعرضها الى اي تغيير في الظروف الصحية والبيئية يؤدي الى حدوث تغيرات في نسب هذه البروتينات [34] فضلا عن عوامل الاجهاد الصحي والتغذية [35].

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في قيم التركيز الكلي للبروتين في مصل دم الافراخ المصابة بالنوع *E.tenella* مقارنة بأفراخ مجاميع السيطرة السليمة التي سجلت ارتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في مستويات

تركيز البروتين الكلي وقد جاءت هذه النتائج مقاربة جدا لما توصل [27].

ان سبب انخفاض مستويات التركيز الكلي لبروتينات مصل دم افراخ الدجاج المصابة بطفيلي *E.tenella* ربما يعود الى فقدان الشهية وقلة استهلاكها للعلف والماء وانخفاض مدخولات الغذاء الطاقة , فضلاً عن سوء الهضم والامتصاص الناجم عن التلف الكبيروالألتهاب الحاصل في البطانة المعوية مما نتجَ عنهُ انخفاض معدلات هضم وامتصاص المواد الغذائية مثل الاحماض الامينية والدهنية وبالتالي الاعتماد على المركبات البروتينية المخزونة في الجسم لتعويض النقص الحاصل وتوليد الكلوكوز كمصدر للطاقة اما [36] فقد اعتبر هذا الانخفاض الحاصل في تركيز البروتين البلازمي في الافراخ المصابة هو مؤشر الى حصول تغيراً مهماً واضطراباً في العمليات الايضية للجسم مما انعكس سلباً على مستويات البروتين الكلي في الدم , في حين قد بينَ الباحث [37] ان من الممكن أن يعود انخفاض البروتين الكلي الى التلف الكبير في القناة الهضمية والتغيرات الحاصلة في الكبد جراء الأصابة .

تركيز حامض اليوريك في مصل الدم

أظهرت نتائج الدراسة زيادةً عالية المعنوية ($P<0.05$) في مستوى تركيز حامض اليوريك في مصل أفراخ الدجاج المصابة بطفيلي *E.tenella* مقارنةً بأفراخ الدجاج المحلي وقد أتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه [37] ان هذه الزيادة العالية في مستوى تركيز حامض اليوريك في مصل الدم ربما يعود الى الآفات المرضية الشديدة الحاصلة في الكلية بسبب الأصابة بالأنكّاز الشديد الذي يحدث نتيجة الاسهال وفقدان كميات كبيرة من الدم والسوائل الجسمية والتوقف عن تناول العلف والماء , أما [38] فقد عزى سبب هذا الارتفاع في مستوى تركيز حامض اليوريك الى إن حامض اليوريك هو احد النواتج النهائية لنواتج الأيض البروتيني التي تزداد بسبب الإجهاد المرضي الذي يسببه هذا الطفيلي , إذ انه الناتج النهائي لهدم البيورين Purine في الطيور وعن طريقه يتم طرح المجاميع الأمينية (الفا) خارج الجسم .

يُعد حامض اليوريك ناتج الهدم الرئيسي للبروتين والنيتروجين غير البروتيني ونتيجة الزيادة في مستوى الأحماض الأمينية في الدم يتم تمثيل بروتينات العضلات بفعل هرمون الكورتيستيرون المفرز من قشرة الكظرية والذي يزيد من معدل انتقال الأحماض الأمينية من خلايا الكبد لغرض تحويلها إلى سكر كلوكوز لانتاج الطاقة والذي يسبب زيادة في مستوى حامض اليوريك والمواد النيتروجينية في مصل الدم [39].

من خلال النتائج لوحظ وجود تناسب عكسي بين نسبة تركيز البروتين الكلي في الجسم ونسبة تركيز حامض اليوريك , إذ أن أنخفاض تركيز البروتين في مصل الدم يقابلها أزدياد تراكيز حامض اليوريك لأن حامض اليوريك يعد هو الناتج النهائي الرئيسي للبروتين المتهدم .

المصادر References

1- FAO (2000). Statistics on Meat Production. Rome, Italy.

2- De Gussem, M. (2007). Coccidiosis in Poultry: Review on Diagnosis, Control, Prevention and Interaction with Overall Gut Health. Proc. 16th ed. Symp. Poult. Nutr. World's PoultryScience Association, Beekbergen, Netherlands. PP: 253–261.

3- Augustine, P. C. (2001). Cell: sporozoite interactions and invation by apicomplexan parasites of genus *Eimeria*. J. Parasitol., 31(1): 1-8.

4- Julie, D. H. (1999). Coccidiosis in Poultry. Clemson University livestock Health Programs POB 102406, Columbia, SC 29224 (803) 788-2260. Scientific article. jhelm@clemson. edu www.clemson. Edu/LPH.

5- Long, P. L. and Millard, B. J. (1978). Coccidiosis in broiler: the effect of monensin and other anticoccidial drug treatments on Oocyt output. Avian pathology., 7(3): 373-381.

6- Farooq, M.; Durranil, F. R.; Waheedullah, W.; Sajjad, A.; Sohail, A. and Asghar A. (1999). Prevalence of Coccidiosis in Broilers in the Subtropical Environment, ARS Parasite Biology, Beltsville, Md.

7- Nematollahi, A.; Moghaddam, G. h. and Niyazpour, F. (2008). Prevalence of *Eimeria* sp. among broiler chicks in Tabriz (Northwest of Iran). Res. J. Poult. Sci. 2(3): 72–74.

8- Shirzad, M. R., S.; Seifi, H. R.; Gheisari, B. A.; Hachesoo, H.; Habibi, and Bujmehrani H. (2011). Prevalence and risk factors for subclinical coccidiosis in broiler chicken

الايميريا تنيلا في أفراخ فروج اللحم. مجلة علوم الرافدين. 21 (4):27 - 40 .

18- Allen, P. C., Danforth H. D., and. Levander O. A.(1997). Interaction of Dietary Flaxseed with Coccidia Infections in Chickens. Poultry Sci., 76: 822–827.

19- Tietz, N.W. (1982). Fundamental of Clinical Chemistry. 2nd ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia., PP: 70- 510.

20- Richmond, W. (1973). Preparation and properties of cholesterol oxidase from *Nocard sp.* and its application to the enzymatic assay of total cholesterol. Clin. Chem., 19: 1350-1356.

21- العمري، محمد رمزي (1986). الكيمياء السريرية العملي، دار التقني الطباعة والنشر مؤسسة المعاهد الفنية. 34- 40.

22- Hadipour, M. ; Olyaie, A.; Naderi, M.;Azad, F. and Nekouie, O. (2011). Prevalence of *Eimeria* species in scavenging native chickens, Shiraz, Iran,Aft. J. Microbiol.Res., 5: p 3296-3299.

23- Carvalho, F.S.; Wenceslau, A.A.; Teixeira, M.and Albuquerque, G.R. (2011). Molecular diagnosis of *Eimeria* species affecting naturally infected *Gallus gallus* . Genetics and Molecular Research 10 (2): 996-1005.

24- Jinneman, K.C.; Wetherington, J. H.; Hill, W. E.; Adams, A. M.; Johnson, J. M.; Tenge, B. J.; Dang, N. L.; Manger, R. L. and Wekell, M. M. (1998). Template preparation for PCR and RFLP of amplification products for the detection and identification of *Cyclospora sp.* and *Eimeria spp.* oocysts directly from raspberries. J. Food Protect., 61(11): 1497-1503.

25- Zhao X., DuszynskiD.W. and Loker E.S.(2001). A simple method of DNAextraction for *Eimeria* species, J. Microbiol Methods., 44(2): 131-137.

26- Tokushima , R. ; B.sulistiyanto, ; Takahashi K. and Akiba, R. (2003).Insulin-glucose interactions characterized in newly hatched broiler chicks . British poultry sci., 44:p 776- 751.

farms in Mazandaran Province, Iran. Trop. Anim. Health Prod., 43: 1601-1640.

9 - شوقي، ربى احمد وشبر ، اسماعيل كاظم ويعقوب ، عالية يوسف (2001) . تقييم الكفاءة التمنيعية للقاح *Eimeria tenella* المضعف بالاشعاع في أفراخ دجاج اللحم .وقائع المؤتمر العلمي الاول للهيئة الوطنية لبحوث التقنيات الاحيائية، جامعة النهرين.

10- Williams, S. (1998). Survey into Nicarbazin drug residue in poultry eggs using SFE-HPLC, South bank University, London.

11- Saif, Y.M.; Barnes, H.J.; Glisson, J.R.; Fadly, A.M.; Mc Douglad, L.R. and Swayne, D.E.(2003). Diseases of poultry.11th.ed. lowa state press: p 974-1071.

12- Hamidinejat H.; Seifiabad *S.* M.R..; Mayahi M.;and Pourmehdi B. M.(2010). Characterization of *Eimeria* Species in Commercial Broilers by PCR Based on ITS1 Regions of rDNA. Iranian J. Parasitol. 5(4)*:* 48-54

13- Ryley, J.F.; Meade, R.; Judith H. H. and Thelma, E. R. (1976): Methods in coccidiosis research: separation of oocyst from faeces. Parasitol., 73: 311-326.

14- Barwick, W. M.; Stevenson, G. T.; Johnson, R. V.; Casores, D. R. and Hymas, T. A. (1970). Coccidiosis evalution of techniques for battery testing of field collected *Eimeria* Oocysts . Exp. Parasitol., 28: 37-41.

15- Jorgensen, W. K. ;Stewart, N. P. ;Jeston, P. J. ; Molloy, J. B. ;Blight, G. W. and Dalgliesh, R. J. (1997). Isolation and pathogenicity of Australian strain of *E. praecox* and *E. mitis* Animal Research Institue , Moorooka; Queensland., 4105: 10-18.

16- AL-Attar, M. A. (1981). Factors Affecting the pathogenesis of *E.necatrix* infections in chicken. Thesis Ph.D. Dissertation.University of Guelph. Canada.

17- زكريا, إحسان كوركيس و الطائي, أحلام فتحي و عبد الله, دنيا عبد الرزاق.(2010). دراسة التغييرات النسجية في الأعورين للإصابة التجريبية بجرثومة السالمونيلا وطفيلي

27-الشمري، مجيد حميد عبود (2010). تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية في الأداء الإنتاج والفسلجي لفروج اللحم المخمج بطفيلي *Eimeria tenella*. رسالة ماجستير، الكلية التقنية , المسيب, هيئة التعليم التقني .117ص.

28- السلطاني، زياد كمال عبد الكاظم (2011). تأثير تراكيز مختلفة من مستخلص خلايا النحل Propolis الكحولي في خمج طفيلي *Eimeria tenella* لدى فروج اللحم. رسالة ماجستير، الكلية التقنية,المسيب، هيئة التعليم التقني. 172 ص .

29- مشتت , سكينة جبار . (2013) . تأثير فيتامين A و فيتامين E على الافراخ المخمجة بطفيلي الايميريا الحية والمضعفة حرارياً . اطروحة دكتوراه , كلية التربية للعلوم الصرفة , جامعة كربلاء . 153 ص.

30- Hirani, N. D.; Hasnani, J. J.; Dhami , A. J. and Khanna, K. (2007). Haemato-biochemical profile of broilers affected with coccidiosis . J. Vet. Parasitolo., 21(1): 1-2.

31- الكيلاني، قيس عطوان و حسن ,عيسى عبد .(1986) . الكيمياء الحيوية. دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل.

32 -Machado, C.M.; Macari, M.; Surlam, R.L.; Gonzales, E.and Fisiologia, (2002). Crescimendo do Tecido Adiposo In: Aviara aplicada a frangos de corte. Jaboticabal. FUNEP-UNESP., P:375.

33- Mondal, D. K.; Chattopdhyay, S.; Batabyal, S.; Bera, A. K. and Bhatteechrya, D.(2011).Plasma biochemical indices at various stages of infection With a field isolate of *E. tenella* in broilar chicken. Vet. World., 4: 404-409.

34- Jain, N. C.(1989). Acute phase protein.. In Current veterinary therapy x small practice, R.W.Kirk, ed. W.B. Sanders Co. Philadelphia., p 468-471.

35-الجنابي، منيف صعب احمد ساجت.(2001) . تأثير التانين في بعض الجوانب الفسلجية والكيميوحيوية في افراخ الدجاج . رسالة ماجستير، كلية الزراعة ، جامعة تكريت .

36-كريم , سامية خليل .(2006). تحسين المقاومة والاداء الانتاجي لفروج اللحم لأمراض النيوكاسل والكمبور و بأستخدام بذور الحبة السوداء والحلبة والثوم. أطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.

37- Patra, G.; Rajkhowa, T. K.; Ali, M. A.; Tiwary, J. G. and Sailo, L. (2009).

on clinical, gross, histopathological and bioch parameters in broiler birds suffered from *E. necatrix* infection in Aizawl District of Mizoram, Indian. International J. of Poul. Sci., 8 (11): 1104-1106.

38- الخليل، محمد فاضل محمد علي (2003). تأثير الإجهاد الحراري في بعض الصفات الإنتاجية والفسلجية في أمهات فروج اللحم والنسل الناتج. أطروحة دكتوراة, جامعة الموصل, كلية الزراعة والغابات, 114ص.

39- Coles, E.H. (1986). Veterinary Clinical Pathology. 4th ed.W. B. Saunders Co.

*A Study Changes of Some Bichemical Parameters During Experimental Infection with *Eimeria tenella* in Local and Foreign Breeds of Chicken

Receved :18/1/2015 **Accepted :1/3/2015**

Dawood, K. A. **AL-Shaibany, K. T.**
Dept. Microbiology/ Medicine College **Dept. Biolgy/College of Education**
Al-Qadisiya University
khbio7@gmail.com

Abstract:

The study conducted in Animal house of the department of Biology, College of Education, Al-Qadisiya University during the period from 1/9/2013 to 1/9/2014. The study diagnosed the parasite of *E.tenella* in naturally infected chickens in poultry farms. *E.tenella* was isolated from the infected cases in Vet. hospital and Vet. clinics.Then,the cases diagnosed initially in the laboratory direct examining stool by ordinary microscope and the positive cases were recorded and diagnosed by yusing the technique of Conventional Polymerase Chain Reaction(PCR). There are 315 cases of infected chicken which examined and the results showed that (186 out of 315) stool Samples,59%, The experimental infection for each experiment was done in age 21 day with dosage of (5×10^4) grown oocysts/chicken for *E.tenella* in two types of chickens(Ross and local breed) Also,two groups of uninfected chickens (control)for the sake of comparison.

The biochemical parameters of blood serum in Ross chickens showed that significant decrease ($p<0.05$) in glucose concentration (156.9811mg/100ml in the fourth week of infection), cholesterol concentration and total protein concentration (62.11, 1.92 mg/ 100ml respectively in the fifth week of infection).Also, Uric acid increased significantly ($p<0.05$) to reach(10.19mg / 100ml) in the fourth week of infection in comparison of uninfected chickens of the control group. The biochemical parameters of blood serum in local breed chicken showed the significant decrease ($p<0.05$) in glucose concentration (169.60mg/100ml in the fifth week of infection) , cholesterol concentration and total protein concentration (70.89 , 2.25mg/100ml respectively in the fourth week of infection). Uric acid increased significantly ($p<0.05$) to reach (7.62mg/100ml) in the fifth week of infection in comparison with the control group.

Key words: Chiken, *Eimeria tenella*, Biochemical parameters.

*The research is apart of on Ph.D. Thesis in the case of the second research.