الدور الوقائي لحليب الماعز في حماية القناة الهضمية للأرانب المعاملة بالتوليفة الدوائية ألاموكسيسلين – كلافولانك أسيد

حسين باعي خضر الجياشي
كلية الزراعة/ جامعة المثنى

كريم ناصر طاهر
كلية الطب البيطري /جامعة القادسية

علاوي لعيبي داغر الخزاعي
كلية الزراعة /جامعة القادسية

الخلاصة

أجريت هذه التجربة للفترة من 12-3-2011 ولغاية 29-4-2011 وذلك لدراسة التأثير الوقائي لحليب الماعز في القناة الهضمية للأرانب المعاملة بالتوليفة الدوائية Amoxicillin-clavulanic acid ، تم استخدام 32 أرنب من الإناث (سلالة محلية) تراوحت أعمارها بين 2-3 شهر وبمتوسط وزن ابتدائي 1706.250 غم وزعت عشوائيا إلى أربع مجاميع ضمت كل مجموعة 8 أرانب وكما يلي :
مجموعة السيطرة C غذيت عليقة أساسية فقط 12% بروتين حسب توصيات مجلس البحوث الوطني الأمريكي (1)، مجموعة المعاملة الأولى T1 غذيت نفس العليقة الأساسية + 5 mg مضاد حيوي Amoxicillin-clavulanic acid عن طريق الفم ، مجموعة المعاملة الثانية T2 غذيت نفس العليقة الأساسية + 5 mg مضاد حيوي Amoxicillin-clavulanic acid عن طريق الفم + 5 ml حليب ماعز خام على وجبتين ومجموعة المعاملة الثالثة T3 غذيت نفس العليقة الأساسية + 5 ml حليب ماعز خام على وجبتين . بينت نتائج الدراسة العيانية والنسيجية للقناة الهضمية في مجموعة المعاملة الأولى T1 (مجموعة المضاد الحيوي) وجود حالات قرحة في المعدة gastric ulcer بالإضافة إلى علامات التهاب واضح في الأمعاء الدقيقة والغليظة ناتجة عن زيادة نشاط الجراثيم الممرضة في نبيت الأمعاء على حساب الجراثيم النافعة بسبب استخدام المضاد الحيوي مقارنة بمجموعة السيطرة والمعاملة الثالثة T3 بينما مجموعة المعاملة الثانية T2 لم تظهر تغيرات مرضية مقارنة بمجموعة المعاملة الأولى .

المقدمة

يتميز حليب الماعز بصفات فيزياوية وكيمياوية وبايولوجية فريدة من نوعها مقارنة مع حليب باقي الأنواع حيث يحتوي على نسب أعلى من البروتين والرماد وفيتامين A المهم للأنسجة الطلائية إذا ما قورن مع حليب الأبقار ، بالإضافة إلى احتوائه على نسب عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة قصيرة ومتوسطة السلسلة والتي تكون ذات أهمية وقائية وعلاجية للعديد من الحالات المرضية (2), (3) . وقد اتجهت الأبحاث في السنوات الأخيرة نحو استخدام ما يسمى بالمركبات الطبيعية الفعالة حيويا Bioactive Natural Compounds لإيجاد بدائل وقائية وعلاجية طبيعية للتخلص من التأثيرات الضارة للأدوية الكيماوية المصنعة (4)، ويعتبر Amoxicillin-clavulanic acid مضاد حيوي واسع الطيف يؤثر على مجاميع عديدة من الجراثيم موجبة وسالبة صبغة كرام . كما إن الإسهال هو أحد التأثيرات الجانبية المهمة لاستعمال المضادات الحيوية واسعة الطيف ويسمى الإسهال المرتبط بالمضاد الحيوي (Antibiotic Associated Diarrhea AAD) حيث يعمل المضاد الحيوي على الإخلال في التوازن البيئي لنبيت الأمعاء مما يتيح الفرصة لتكاثر الجراثيم ا الممرضة على حساب الجراثيم النافعة بحيث تهاجم الحاجز الظهاري لبطانة الأمعاء محدثة التغيرات المرضية والإسهال، (5), (6) . ولغرض تقليل حدوث هذه الحالات والوقاية منها برز الاهتمام باستخدام حليب الماعز في المحافظة على الطبقة المخاطية وتقليل الالتهاب وإصلاح تحطيم الزغابات في الأمعاء المعرضة لعوامل الإجهاد المختلفة من خلال احتوائه على السكريات المتعددة التي تعمل كمضاد للالتهاب وكذلك لتشابه تركيبها الكيميائي مع تركيب جدار خلية الجراثيم فهي تعمل على منع التصاق الجراثيم بالحاجز المخاطي للأمعاء ، بالإضافة إلى عملها كسابق حيوي يساعد في نمو الجراثيم النافعة في الأمعاء على حساب الممرضة منها (7) . حيث يحتوي حليب الماعز أيضا على كميات عالية نسبيا من النيوكليوتيدات والأمينات المتعددة التي تلعب دورا مهما في تعجيل شفاء جروح الأمعاء الدقيقة والغليظة (8) ووجود عوامل النمو في حليب الماعز خاصة عامل نمو الأدمة EGF يضيف لحليب الماعز دور آخر للوقاية من التهاب الأمعاء من خلال دوره الفعال في زيادة تكاثر الخلايا الكأسية Goblet cells المسئولة عن إفراز المادة المخاطية في الأمعاء وبالتالي زيادة فعالية الحاجز المخاطي للأمعاء (9) . وتهدف الدراسة الحالية إلى معرفة أهمية حليب الماعز وتأثيراته الوقائية في القناة الهضمية للأرانب المعاملة بالتوليفة الدوائيةAmoxicillin-clavulanic acid .

المواد وطرائق العمل

1- حيوانات التجربة :-

تم شراء 32 أرنب أنثى يتراوح عمرها بين 3-2 أشهر وبمعدل وزن ابتدائي متقارب 1706.250 غم من الأسواق المحلية لمحافظة القادسية غذيت على عليقة أساسية 12% بروتين كمية العلف المخصصة لكل أرنب هي 50 غم من العليقة الأساسية وحسب

بحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الأول

توصيات (1)، لمدة أسبوعين قبل بداية التجربة لغرض تعويد الأرانب على العليقة الجديدة ، وزعت الأرانب عشوائيا إلى أربعة مجاميع بواقع 8 أرانب إناث لكل معاملة و وضعت في 4 أقفاص من الحديد المشبك بإبعاد 180 x 80 x60 لكل قفص وجهز كل قفص بمعلف ومنهل بلاستيكي، أعطيت العليقة الأساسية مرتين باليوم أما الماء فهو متوفر دائما ويتم تنظيف الأقفاص مرتين يوميا ، مدة التجربة 5 أسابيع .

2- حليب الماعز : –

اخذ الحليب الخام من عنزة سليمة عمرها 2.5 سنة بعد 56 يوم من الولادة في الموسم الثاني لها وذلك بعد التأكد من سلامتها وخلوها من مرض البروسيلا (فحص روز البنكال) والتهاب الضرع (California Mastitis Test) و العنزة مرباة في محطة الأبحاث والتجارب الزراعية ، كلية الزراعة ، جامعة المثنى حيث تم جمع الحليب على وجبتين صباحا ومساءا بعد غسل الضرع بالماء وتجفيفه ثم تعقيمه بالكحول الاثيلي 70 % وفي كل وجبة استخدمت طريقة الحلب اليدوي ووضع الحليب في قنينة معقمة سعة 500 ml وتم إجراء الاختبارات الجرثومية والفطرية على الحليب للتأكد من سلامة الحليب قبل استخدامه بشكل خام وبعد التأكد من خلو الحليب من التلوث تم إجراء تحليل لمكونات الحليب الكيمياوية والفيزياوية باستخدام جهاز السونار ECOMILK TOTAL حيث قدم لمعاملات التجربة بواقع2 x 5 ml صباحا ومساءا لمدة أسبوع ، و كما مبينة في الجدول التالي :

المكونات	الدهن %	البروتين %	اللاكتوز %	الرماد %	المواد الصلبة غير الدهنية SNF%	الحموضة PH	الكثافة النسبية غم/سم3
الكمية	3.55 ± 0.08	4.18 ± 0.06	4.27 ± 0.05	0.76 ± 0.01	9.12 ± 0.12	6.73 ± 0.01	0.029 ± 0.001

3-المضاد الحيوي Amoxicillin-clavulanic acid

استخدم المضاد الحيوي Curam® forte 321.5 mg/5ml (Amoxi-clavulanic acid) شراب من إنتاج شركة Sandoz GmbH , Kundl, Austria . بواقع 5 mg/kg. b.w. عن طريق الفم بواسطة سرنج 2.5 مل متصل بأنبوب مطاطي طوله 3 سم لغرض السيطرة على إدخال الدواء في فم أرانب المعاملة الأولى والثانية وأعطي المضاد الحيوي لمدة أسبوع على جرعتين صباحية ومسائية بينهما 12 ساعة.

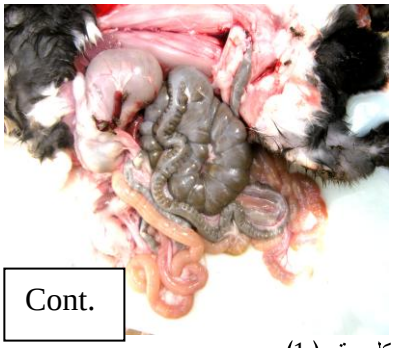
4-عينات التقطيع النسيجي : –

تم إجراء الصفة التشريحية على 4 من حيوانات كل معاملة في بداية الأسبوع الثالث ودراسة التغيرات المرضية العيانية والمجهرية من خلال أخذ عينات من الأمعاء الدقيقة والغليظة ووضعها في Phosphate buffer saline ثم الفورمالين 10% لغرض التقطيع النسيجي حسب الطريقة التي وصفها (10) .

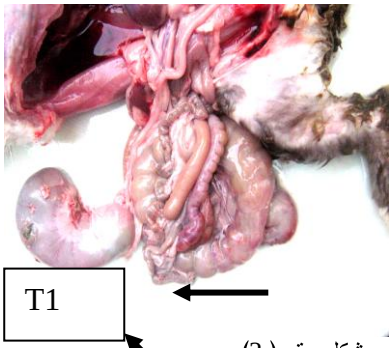
النتائج والمناقشة

تشير نتائج الفحص العياني لمجموعة المعاملة الأولى T1(مجموعة المضاد الحيوي) (شكل 2) وجود حالات قرحة في المعدة gastric ulcer (شكل 5) بالإضافة إلى علامات التهاب واضح وانزفة في السطح المصلي للفائيjejunum والصائم ileum (شكل 2) أما الأمعاء الغليظة فتركزت التغيرات المرضية في الأعور والقولون(شكل 8) حيث ظهرت بقع نزفية على بطانة الأعور مع وجود علامات خزب واضحة في كل من الأعور والقولون هذه التغيرات ناتجة عن دور المضاد الحيوي Amoxi-clavulanic acid وتأثيره في تغيير طبيعة بيئة النبيت المعوي كونه مضاد حيوي واسع الطيف يؤثر على الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة جرام الأمر الذي ينعكس على توازن النظام البيئي لنبيت الأمعاء محدثة هذه التغيرات التي تشبه التغيرات المرضية المرافقة لحالات الإسهال المرتبط بالمضاد الحيوي عند الإنسان (Antibiotic Associated Diarrhea (AAD) (5) (11),.وفي مجموعة المعاملة الثانية T2 (المضاد الحيوي + حليب الماعز) (شكل 3) حيث لم نجد أي علامات لقرحة المعدة في حيوانات هذه المعاملة نتيجة للفعل الدارئ Buffer action لحليب الماعز إذ يعتبر أفضل مادة طبيعية مضادة للحموضة (12) . وفي الأمعاء الدقيقة والغليظة لهذه المجموعة (شكل 9) برز الدور الوقائي لحليب الماعز مقارنة بمجموعة معاملة السيطرة C(شكل 7) والمعاملة الأولى T1 (شكل 8) إذ عمل على إصلاح التخريب والتغيرات المرضية نتيجة للفعل الجماعي لمكوناته الفعالة حيويا bioactive component حيث تعمل السكريات المتعددة فيه كمضاد للالتهاب وكسابق حيوي يعيد التوازن البيئي للنبيت المعوي وبسبب تشابه تركيبها مع تركيب Glycoprotein وGlycolipids للخلايا المبطنة للقناة الهضمية فهي تعمل على اختزال أعداد كبيرة من المسببات المرضية ومنع عملها على إحداث الحالة المرضية (7) .وقد أشار (14) إلى أن لدهن حليب الماعز دور وقائي مهم حيث إن بكتريا G +ve بشكل عام هي حساسة للدهن بينما G –ve بكتريا تكون غير حساسة ، كما إن الأحماض الدهنية C12: 0—C10 :0 ونتائج هضمSphingolipids تكون ذات خصائص قاتلة للجراثيم وتبرز أهميتها الصحية من خلال محافظتها على

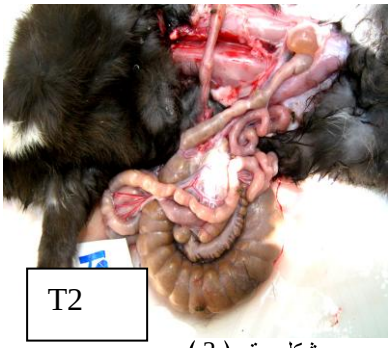
الأغشية الخلوية فهي تنظم عمل مستقبلات عوامل النمو Growth factors receptors وبروتينات المادة الأساسية خارج الخلايا ، وتعمل كموقع ارتباط لبعض الأحياء الدقيقة وسموم البكتريا والفيروسات مما يؤدي إلى منع ارتباط هذه المسببات المرضية في جدار القناة الهضمية وإحداث التخريب (15).وقد أوضح (8) أن النيوكليوتيدات المتواجدة في حليب الماعز تساعد في نمو ونضج القناة الهضمية وتعمل على تعجيل الشفاء من جروح الأمعاء الدقيقة والغليظة كما تحفز المناعة الخلطية والخلوية مما ساهم في عمليات إصلاح التخريب في القناة الهضمية . كما لاحظ (16) أن الأمينات المتعددة ومنها spermin يعمل على تطوير نمو الزغابات في أمعاء الجرذان الرضع مقارنة بتلك التي أعطيت محلول الملح الفسلجي . بينما وجد (9) أن عوامل نمو الأدمة EGF تعمل على زيادة تكاثر خلايا goblet cell في أمعاء الأرانب مما يؤدي إلى زيادة فعالية الحاجز المخاطي في الطبقة المخاطية للأمعاء ، ويقلل نشاط البكتريا المسئولة عن الاضطرابات المعوية في مرحلة الفطام . كما أوضح (17) إن الإفراز المستمر للـEGF في تجويف الأمعاء الدقيقة يسمى luminal surveillance peptide وهو مهم وأساسي في تحفيز شفاء الجروح في الأمعاء، أما (18) وجد أن اللاكتوفرين الذي هو عبارة عن كلايكوبروتين Glycoprotein متعدد الوظائف نسبته في حليب الماعز 20–200مايكرو غرام /مل حليب يؤدي إلى تفعيل دور لطخ باير وهذا يؤدي إلى تحفيز المناعة المخاطية Mucosal Immunity في القناة الهضمية



شكل رقم (1)

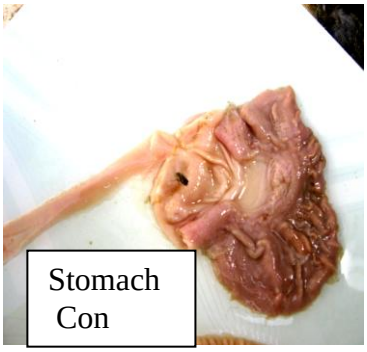


شكل رقم (2)

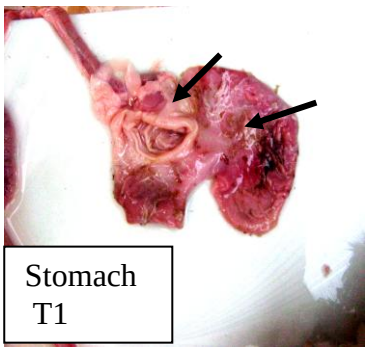


شكل رقم (3)

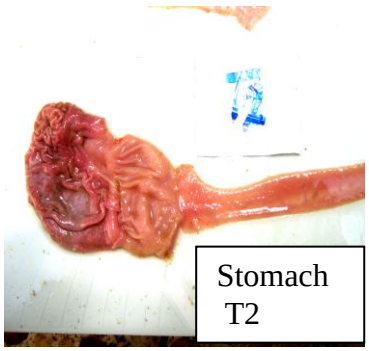
توذم الأعور مع وجود انزفة على السطح المصلي للأعور والقولون في المعاملة الأولى (T1) مقارنة مع السيطرة (C) والمعاملة الثانية (T2) .



شكل رقم (4)



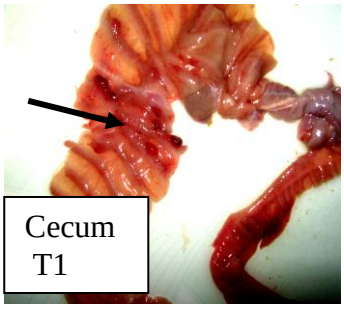
شكل رقم (5)



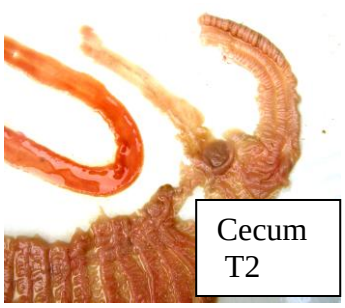
شكل رقم (6)

قرحة المعدة في المعاملة الأولى (T1) مع تهتك الغشاء المخاطي المبطن للمعدة مقارنة ببطانة المعدة في السيطرة (C) والمعاملة

شكل رقم (7)

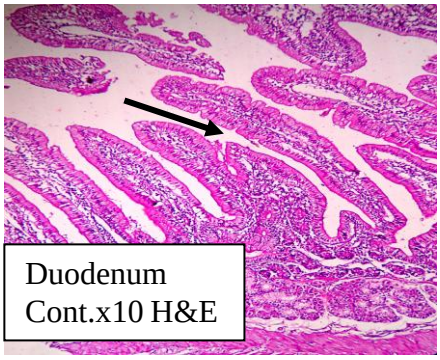


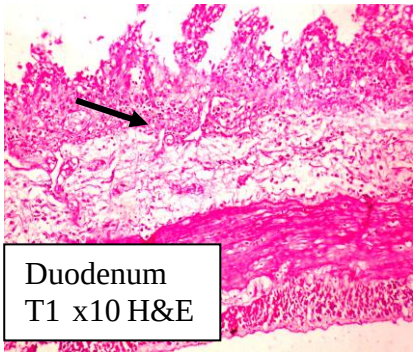
شكل رقم (8)

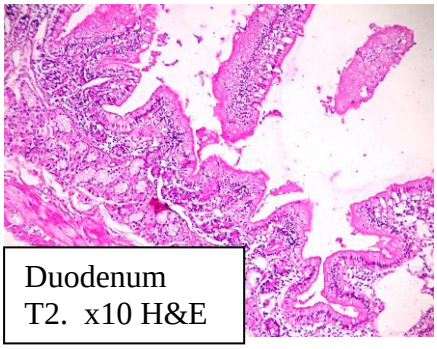


شكل رقم (9)

مقارنة التغيرات المرضية لبطانة الأعور والقولون والتي تبين وجود احتقان و انزفة مع وذمة في المعاملة الأولى (T1) بينما تظهر بطانة الأعور والقولون في المعاملة الثانية وذمة خفيفة أما معاملة السيطرة (C) فهي طبيعية و خالية من التغيرات المرضية .

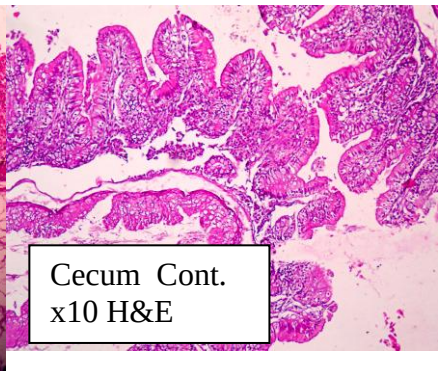


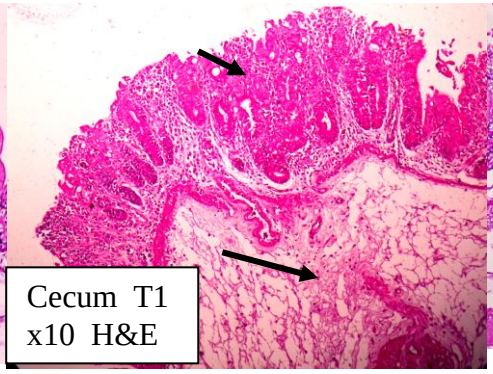


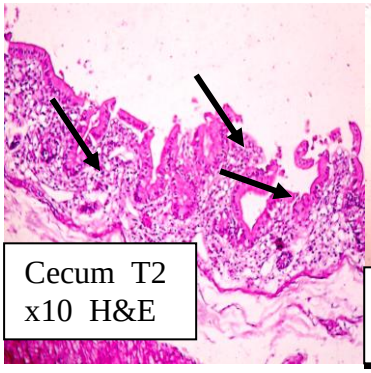


شكل رقم (10) شكل رقم (11) شكل رقم (12)

وكما موضح في(شكل 11) نلاحظ ضمور وقصر في زغابات العفج Duodenum villi في المعاملة الأولى T1 مع تنكس الخلايا الظهارية المبطنة للزغابات مقارنة بالمعاملة الثانية T2 (شكل 12) ومعاملة السيطرة C (شكل 10) التي تكون الزغابات فيها طبيعية .

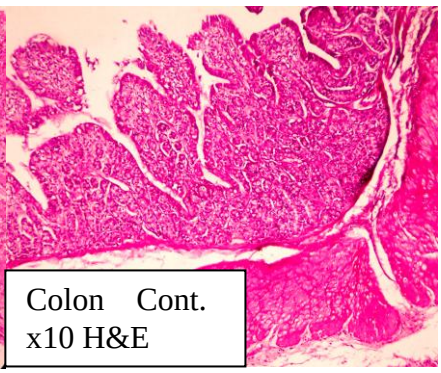


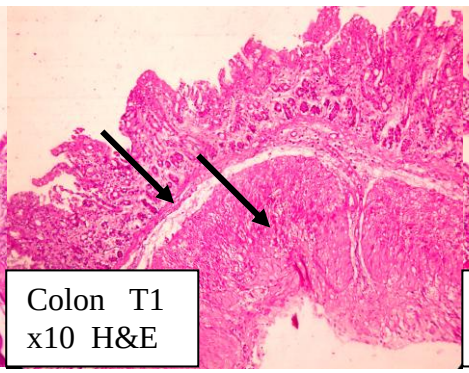


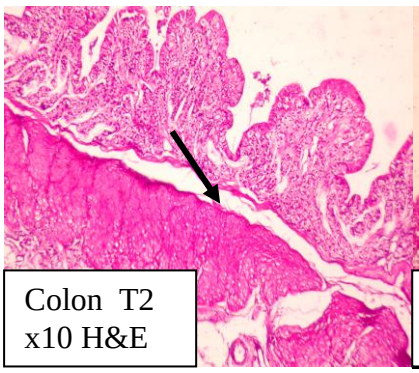


شكل رقم (13) شكل رقم (14) شكل رقم (15)

أما التغيرات النسيجية في منطقة الأعور Cecum في المعاملة الأولى T1(شكل 14) تمثلت بضمور شديد وقصر في حجم الزغابات مع وجود وذمة شديدة Sever edema في نسيج الأعور يقابله في مجموعة المعاملة الثانية T2 (شكل 15) نسيج أمعاء طبيعي مبطن بخلايا طلائية عمودية مع وجود وذمة قليلة وخلايا التهابية متناثرة scattered في نسيج الأمعاء وفي مجموعة السيطرة C (شكل 13) نسيج أمعاء طبيعي مبطن بخلايا طلائية عمودية .







شكل رقم (16) شكل رقم (17) شكل رقم (18)

وفي القولون Colon تتمثل التغيرات النسيجية في المعاملة الأولى T1 (شكل 17) بوجود تنخر واضح مع تكاثر في الخلايا الكأسية أما في المعاملة الثانية T2 (شكل 18) فنجد أن نسيج القولون طبيعي مع وجود زغابات طبيعية مبطنة بطبقة طلائية عمودية مقارنة بمجموعة السيطرة (شكل 16).

وتتفق هذه النتائج مع ما توصلت إليه(13) حيث وجدت أن الأرانب التي أخذت المضاد الحيوي Amoxicillin أظهرت علامات ضمور حاد مع تحطم الغشاء المخاطي المبطن للأمعاء بينما المجموعة التي أخذت الحليب المخمر + E coli + Amoxicillin عتره ممرضة ومقاومة للاموكسيسلين لم تظهر تغيرات مرضية في الأمعاء .

المصادر

1.NRC , (1966) . Nutrient requirement of Rabbits ,No.9 , First revised edn., National Academy of Sciences , Washington ,D.C.

2.Belewu M. and Adeule M., (2009) : Goat milk: A feasible dietary based approach to improve the nutrition of orphan and vulnerable children . Pakistan J of Nutri. 8: 1711-1714.

3.Haenlein, G.F.W.,(2004). Goat milk in human nutrition. Small Rumin. Res. 51, 154–163.

4.Subrata G. and Playford J. (2003): Bioactive natural compounds for the treatment of gastrointestinal disorders . Clinical Science 104, 547–556

5.Bartlett JG. Clinical Practice.(2002) :Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J. Med. 346:334–339 .

6.Hogenauer C, Hammer HF, Krejs GJ, Reisinger EC.(1998) : Mechanisms and management of antibiotic-associated diarrhea. Clin Infect Dis.;27:702–10.

7.Villoslada F., Debras E., Nieto A., Concha A., Galvez J., Lopez-Huertas E., Boza J., Obled C., Xaus J.(2006) : Oligosaccharides isolated from goat milk reduce intestinal inflammation in a rat model of dextran sodium sulfate-induced colitis. Clin. Nutr. 25, 477-488.

8.Carver J.O. (1999) : Dietary nucleotides : effects on immune and gastrointestinal system .Acta Paediatrica ,88 : 83-88 .

9.Okuyama, M., M. Urao, D. Lee, R. Drongowski and Coran A. (1998) : The effect of epidermal growth factor on bacterial translocation in newborn rabbits. Journal of Pediatric Surgery, 33, 225–228.

10. Luna ,L. G.(1968) : Manual of histological staining methods of the Armed Forces Institute of Institute of pathology Mc Graw Hill Book Company ,New York. Pp. 38-39 .

11. Hanna S. , Nicoletti C. and Sadoun Dj.(2008) : The effect of fermented milk with *Bifidobacterium infantis* on intestinal disorders in the case of antibiotherapy with amoxicillin and contamination with enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC). Afr. J. Biotechnol. 7, 4181-4191.

12. Park, Y.W.(1992) : Comparison of buffering components in goat and cow milk. Small Rumin. Res. 8:75.

13. Xu HT, Zhao YF, Lian ZX, Fan BL, Zhao ZH, Yu SY, Dai YP, Wang LL, Niu HL, Li N, Hammarstrom L, Boren T, Sjostrom R. (2004) :Effects of fucosylated milk of goat and mouse on Helicobacter pylori binding to Lewis b antigen. World J Gastroenterol; 10(14): 2063-2066 .

14. Sprong, R.C., Hulstein M.F.E. and Van der Meer R.,(2001) : Bactericidal Activities of Milk Lipids Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 45: 1298-1301.

15. Ebringer L., Ferencik M., Kragcovic J.(2008) : Beneficial Health Effects of Milk and Fermented Dairy Products – Review. Folia Microbiol. 53 (5), 378–394 .

16. Buts.J ,De Keyser N ,Kolanowski J ,Sokal E ,Van Hoof F ,(1993) : Maturation of villus and crypt cell function in rat small intestine . Role of dietary polyamines .Dig.Dis.Sci. 38 :1091-1098

17. Playford, R. J.,(1995) : Leading article: Peptides and gastrointestinal mucosal integrity. Gut, 37, 595–597.

18. Wang W.P., IIgo M., Sato J., Sekine K., Adachi I., Tsuda H. (2000): Activation of intestinal mucosal immunity in tumor-bearing mice by lactoferrin. Japan.J.Cancer Res. 91, 1022–1027 .

The Protective Role Of Goat Milk In Protection Of Digestive Tract Of Rabbits Treated With Amoxicillin – Clavulanic Acid

H. B. Kh. AL-Jiashi
Coll. of Agri./ AL-Muthena Unive.

K. N. Taher
Coll. of Vete. Med./ AL-Qadisiya Unive.

A. L. D. AL-Khauzai
Coll. of Agri./AL-Qadisiya Unive.

Abstract

This work was carried out during a period from 12- 3- 2011 to 29 -4- 2011 to study the protective role of raw goat milk in protection of digestive tract for rabbits treated with amoxi-clavulanic acid .A total of 32 female local breed rabbits aged (2-3) months with 1706.25 gm initial weight were used in this work, distributed randomly into 4 groups (8 rabbits) per each:

- control group(C) fed based diet without any addition .
- First treatment (antibiotic group) (T1) fed the same based diet + 5 mg/kg b.w.x 2 amoxi-clavulanic acid for one weak .
- Second treatment (antibiotic + goat milk group) (T2) fed the based diet + 5 mg/kg b.w.x 2 amoxi-clavulanic acid + 5ml x 2 raw goat milk for one weak .
- Third treatment (goat milk group) (T3) Fed the same based diet + 5ml x 2 raw goat milk for one weak.

The results of gross and histological study for digestive tract for (T1, T2) showed that there was gastric ulcer beside signs of infection in small intestine and large intestine resulted from increasing activity of pathogenic microbes in intestine culture as compared to utilize microbes due to using antibiotic in comparison with control group and third treatment group , while second treatment group don't appear pathological changes as compared with first treatment group .

Key word : goat milk , amoxicillin- clavulanic acid

This research adapted from Msc thesis for the first researcher.