المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٣، عدد إضافي ١، ٢٠٠٩ (٩-١٤)
وقائع المؤتمر العلمي الخامس، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل

إستخدام طريقة كهرومترية في قياس نشاط خمير الكولين أستراز في بلازما دم وأنسجة طائر الفاختة المحلي

أشرف صديق إلياس

فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والأدوية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

الخلاصة

كان الهدف من الدراسة الحالية الكشف عن دقة الطريقة الكهرومترية المحورة لاستخدامها في قياس نشاط خميرة الكولين أستراز في دم وأنسجة طيور الفاختة البرية الغير معاملة لتكون هذه القيم أساسا لمقارنتها مع قيم نشاط خميرة الكولين أستراز للطيور الفاختة البرية التي تتعرض للمبيدات الفسفورية العضوية والكاربميتية في البيئة الطبيعية. حيث كان معامل الاختلاف الذي يشير إلى دقة الطريقة في قياس نشاط خميرة الكولين استراز في بلازما الدم 3.95% وفي نسيج الدماغ 4.59%. كما لوحظ عدم وجود اختلاف معنوي في نشاط خميرة الكولين استراز في بلازما الدم ومجانسة الدماغ لطيور الفاختة التي تم قياس نشاط الخميرة باستخدام مادتي الأساس يوديد الاستيل ثايوكولين ويوديد الاستيل كولين. وتم قياس نشاط خميرة الكولين أستراز باستخدام يوديد الاستيل كولين كمادة الأساس في مزيج التفاعل فكان أعلى نشاط للخميرة في بلازما الدم (0.82 تغير في الداله الحمضية/30 دقيقة) وأقل نشاط في عضلة الصدر (0.06 تغير في الداله الحامضية/30 دقيقة) وأدى استخدام كبريتات الكويندين إلى تثبيط نشاط خميرة الكولين استراز الكاذبة في بلازما دم طيور الفاختة فكانت نسبة نشاط الخميرة الكاذبة 25% في حين كانت نسبة نشاط الخميرة الحقيقية 75%. أدى إضافة الدايكلورفوس بالتركيزيين (0.5 و1مايكرو مول/لتر) إلى مزيج التفاعل بلازما دم طيور الفاختة (في الزجاج) إلى تثبيط معنوي في نشاط خميرة الكولين استراز وبنسبة 38% و 94% على التوالي مقارنه مع مجموعة السيطرة. تشير هذه النتائج إلى أن الطريقة الكهرومترية الحالية تمتاز بالدقة والسهولة والكفاءة والشرعية لقياس نشاط خميرة الكولين استراز في طيور الفاختة.

The use of an electrometric method for measurement of cholinesterase activity in plasma and tissues of local doves

A. S. Alias

Department of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, College of Veterinary Medicine,
University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

The aim of present study A modified electrometric method was described and validated for measurement of cholinesterase (ChE) activity of plasma and tissues in normal wild bird (collared dove), for using the normal data of measured of ChE as comparison basis with data of ChE activity in bird which exposure to Organophosphorus and Crabmeats insecticide in wild environment. Replicate assay for the precision of the method produced a coefficient of variation 3.94 % in plasma and 4.59 % in the brain tissues. There was significant difference in plasma ChE activity by using acetylcholine iodide and acetylthiocholine iodide as substrates with no significant difference in bran. The maximum activity of ChE was in the plasma (0.82 ΔpH/30 min) whereas the minimum ChE activity in Pectorals muscle was (0.06 ΔpH / 30 min) when use acetylthiocholine iodide as substrates in the A modified electrometric method. Quinidine sulfate specifically inhibited pseudo ChE in the plasma, and it was estimated to be 25%, where as true ChE activity in the plasma was 75%. Dichlorvos at the concentration of (0.5, 1 µM/L) significantly inhibited plasma ChE in vitro by presenting 38%, 94%. These results indicate that the used of modified electrometric method its blind and subtle for measurement of ChE activities in (collared dove).

Available online at http://www.vetmedmosul.org/ijvs

المقدمة

يعد قياس نشاط خميرة الكولين استراز في الطيور البرية مصدراً من المصادر المعتمدة لمراقبة البيئة وتلوثها بالمبيدات الفسفورية العضوية والمبيدات الكارباميت (1-5). وذلك لأن الطيور تعد أكثر حساسية للكشف عن التلوث بهذه المبيدات في البيئة (7,6). حيث تساعد في الكشف عن التسمم وبخاصة في المراحل الأولى من التسمم والتي تكون فيها علامات التسمم غير واضحة (8). ويمكن عدَ نسبة الانخفاض25%-30% في نشاط خميرة الكولين استراز في البلازما أو كريات الدم الحمر دليلا على حدوث التعرض لإحدى مثبطات الكولين استراز(9,1). ولذلك فمن الضروري وجود معلومات كافية عن القيم الطبيعية لنشاط خميرة الكولين أستراز في الطيور البرية كافة الموجودة في البيئة المحيط في الإنسان لتكون مرجع للكشف عن التلوث بالمبيدات الفسفورية العضوية والكارباميت (10,4,3).

المواد وطرائق العمل

استخدمت في هذه التجربة طيور الفاختة collared dove (streptopelia d. decaocto) (11) بالغه ومن كلا الجنسين(12) وتراوحت أوزانها بين (75-94 غم) والتي تم اصطيادها من منطقتين في مدينة الموصل الجانب الأيمن حي الثورة ومن الجانب الأيسر حي السكر وتم وضعها في أقفاص مساحتها 80 × 60× 70 سم2 في درجة حرارة الغرفة.تم أخذ عشرة طيور بشكل عشوائي لكل تجربة وذبحت لغرض الحصول على عينات الأنسجة وكذلك الدم الذي تم الحصول عليه من الوريد الوداجي ثم وضعه في أنابيب تحتوي على محلول الهيبارين ـ صوديوم كمانع تخثر، Heparin – sodium (5000 وحدة دولية/مل) إنتاج شركة B.Braun Melsungen، المانيا والمخفف بنسبة (10:1) بالمحلول الملحي الفسلجي ثم وضعت في الثلج المجروش وبعد الحصول على عينات الدم تم مباشرتاً فصل البلازما عن باقي مكونات الدم باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/الدقيقة، لمدة 15 دقيقة، أما باقي العينات (الدماغ والكبد وعضلة الصدر) وضعت في الثلج المجروش أثناء الجمع ثم وضعت في أكياس نظيفة مع الترقيم على الأكياس لكل العينات ثم حفظت لمدة يومين في درجة20- ◦م، ثم تمت مجانستها في محلول دارئ الفوسفات ذي ألباها 8.1 المكون من أضافت هي 0.309 غم باربيتون الصوديوم Sodium barbiton شركة بي، دي، إج (B.D.H)، انكلترا و0.041 غم فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهدروجين KH2PO4 شركة بي، دي، إج(B.D.H)، انكلترا. و 8.768 غم من كلوريد الصوديوم Nacl شركة بي، دي، إج (B.D.H)، انكلترا. يكمل الحجم إلى 225 مل من الماء المقطر، وبعدها تم تعديل الدالة الحامضية للمحلول النهائي إلى 8.1 باستخدام حمض الهيدروكلوريك (0.1عياري) أو بمحلول هيدروكسيد الصوديوم (حسب الدالة الحامضية للمحلول)، وأكمل الحجم إلى 250 مل بإضافة الماء المقطر. بتركيز 3 مل/ 100 ملغم من وزن النسيج بجهاز المجانس Teflon homogenizer شركة Karl Kolb، المانيا وكانت المجانسة مغمورة بالثلج المجروش في إثناء عملية التجنيس بسرعة 25% من سرعة الجهاز ولمدة دقيقة واحدة لعينات (الدماغ و لعينات العضلة والكبد). التجربة الأولى تم استخدمت العينات في إجراء التجارب لتحديد الدقة Precision في قياس نشاط خميرة الكولين استراز في البلازما الدم ونسيج الدماغ في طيور الفاختة بالطريقة الكهرومترية المحورة (13) التي تشتمل على وضع 3 مل من الماء المقطر في إناء زجاجي سعته 10 مل، يليه إضافة 0.2 مل من عينة البلازما أو عينة النسيج المراد قياسه، ثم إضافة 3 مل من محلول دارئ الفوسفات ذو الدالة الحامضية 8.1، ويمزج، يتم بعد ذلك قياس الدالة الحامضية-1 (pH – 1) للمزيج بوساطة جهاز مقياس الدالة الحامضية PH meter شركة هانا HANNA، رومانيا، ثم يضاف 0.1 مل من محلول يوديد الاستيل كولين 7.5% شركة بي، دي، إج (B.D.H)، انكلترا (كمادة أساس)، ينقل المزيج إلى الحمام المائي شركة elektro. mag، تركيا، المضبوط عند درجة حرارة 37°م، ويحضن لمدة 30 دقيقة، يتم بعدها قياس الدالة الحامضية -2 2 – pH)) بعد إخراج العينة مباشرة من الحاضنة ثم يطرح منها الكفء blank ويحتوي لكفء على كافة المحاليل عدا عينة البلازما أو النسيج. يحسب مقدار التغيير في قيمة الدالة الحامضية حسب المعادلة التالية (13):

$$\Delta pH/30min = (pH2-pH1)- \Delta pH \text{ of blank}$$

تم اخذ عشر عينات من بلازما الدم ومجانسة نسيج الدماغ لحساب نشاط خميرة الكولين استراز بالطريقة الكهرومترية المحورة (13) حيث تم مزج (عشرة عينات) لكل مجموع من العينات على حده وتم قياس نشاط الخميرة في (عشرة أجزاء) من بلازما الدم وكذلك (عشرة أجزاء) من مجانسة نسيج الدماغ ولحساب معامل الاختلاف، الذي يشير إلى دقة الطريقة في قياس نشاط خميرة الكولين استراز لطيور الفاختة بالطريقة الكهرومترية المحورة(13). معامل الاختلاف Coefficient of variation كما يأتي (14):

$$\text{معامل الاختلاف} = \frac{\text{الانحراف القياسي}}{\text{المعدل}} \times ١٠٠$$

التجربة الثانية ولمعرفة تأثير نوع المادة الأساس المضافة إلى مزيج التفاعل في نشاط خميرة الكولين أستراز تم إضافة يوديد الاستيل ثايوكولين شركة بي، دي، إج (B.D.H)، انكلترا. ويوديد الاستيل كولين على حدا إلى مزيج التفاعل المذكور سابقاً في الطريقة الكهرومترية المحورة (13) كمادتي أساس في مزيج التفاعل، الذي يحتوي على 0.2 مل من بلازما الدم أو مجانسة نسيج الدماغ (15). التجربة الثالثة تم إيجاد القيم الطبيعية لنشاط

خميرة الكولين أستراز باستخدام الطريقة الكهرومترية المحورة (13) في بلازما الدم ومجانسة نسيج الدماغ والكبد وعضلة الصدر لطيور الفاختة البرية بعد يومين من أخذ العينات التي تم حفظها في درجة 20- ºم. التجربة الرابعة تقدير النسبة المئوية لنشاط خميرة الكولين استراز الحقيقية والكاذبة في بلازما دم الفاختة، تم إستعمال كبريتات الكويندين شركة سيكما Sigma، امريكا، لتثبيط نشاط خميرة الكولين استراز الكاذبة في بلازما الدم (16) وذلك بإضافتها إلى مزيج التفاعل المذكور أعلاه في الطريقة الكهرومترية بعد إضافة كل المكونات الطريقة وقبل قياس ألباها -1 تم حضن العينات في الحمام المائي لمدة 10 دقائق قيست ألباها-1 للعينات ثم تم إتمام القياس حسب الطريقة أعلاه. التجربة الخامسة تم قياس تثبيط نشاط خميرة الكولين استراز في بلازما الدم لطيور الفاختة في الزجاج In vitro بوساطة الدايكلورفوس50% بشكل مستحلب،من شركة Pacific Agriscience Pty LTD.، أستراليا حيث تم حضن خميرة الكولين استراز والمادة المثبطة معاً لقياس درجة تثبيط نشاط الخميرة في البلازما الدم لطيور الفاختة في الزجاج (15,17)وذلك بعد اخذ عينة البلازما من ستة طيور وتم مزجها مع بعضها لتكون مجموعة واحدة Pools(13). وتم إضافة (0.1 مل) من الدايكلورفوس بتركيز (0.5 و 1) مايكرو مول / لتر إلى مزيج التفاعل الذي يحتوي على بلازما الدم (0.2 مل) والماء المقطر(3 مل) ودارئ الفوسفات ذو الدالة الحامضية 8.1 (3 مل)، وحضنت العينات الستة بدرجة حرارة 37مº ولمدة عشر دقائق لإجراء عملية التثبيط، وتم قياس نشاط خميرة الكولين استراز المتبقي بالطريقة الكهرومترية المحورة، وحساب النسبة المئوية للتثبيط.

تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام اختبار تحليل التباين Analysis of variance ثم أخضعت النتائج إلى اختبار الفرق المعنوي الأدنى Least significant difference test أما قيم نشاط خميرة الكولين أستراز التي تم قياسها باستخدام مادتي أساس مختلفتين تم استخدام اختبارPaired sample T-test وقيم تثبيط نشاط الخميرة في الزجاج تم تحليلها إحصائياً باستخدام اختبار تحليل التباين One Way Analysis of (18,19). وكان مستوى الاختلاف المعنوي لجميع الاختبارات عند مستوى معنوي أقل من P< 0.05.

النتائج

تحديد الدقة Precision في قياس نشاط خميرة الكولين استراز في البلازما الدم والدماغ في طيور الفاختة بالطريقة الكهرومترية المحورة: كان معامل الاختلاف، الذي يشير إلى دقة الطريقة في قياس نشاط خميرة الكولين استراز، في البلازما 3.94% وفي نسيج الدماغ 4.59% (الجدول 1).

الجدول (١) تحديد الدقة في قياس نشاط خميرة الكولين استراز بالطريقة الكهرومترية المحورة الحالية.

العينة	عدد النماذج	المعدل	الانحراف القياسي	معامل الاختلاف
بلازما الدم	10	0.81	0.032	%3.95
الدماغ	10	0.37	0.017	%4.59

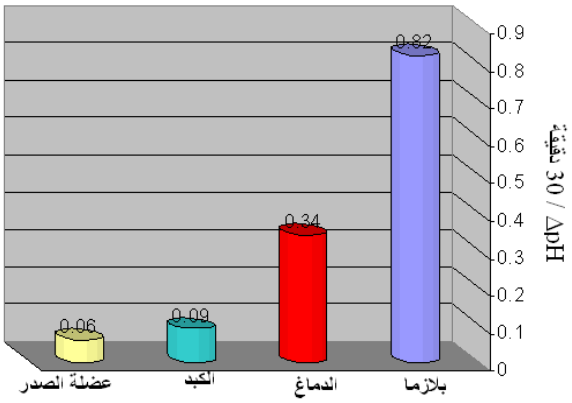
تأثير المواد الأساس المختلفة على فعالية الخميرة: عند مقارنة نشاط خميرة الكولين استراز باستعمال كل من يوديد الاستيل ثايوكولين ويوديد الاستيل كولين كماده أساس في مزيج التفاعل الحاوي على بلازما الدم أو نسيج الدماغ، لوحظ عدم وجود فرق معنوي في نشاط الخميرة بين المادتين في نسيج الدماغ أو في بلازما الدم (الجدول 2).

قياس نشاط خميرة الكولين استراز في بلازما الدم ونسيج الدماغ والكبد وعضلة الصدر لطيور الفاختة: يبين الشكل (1) معدل النشاط لخميرة الكولين استراز في بلازما الدم 0.82±0.036، الدماغ 0.34±0.022، الكبد0.09±0.006 وعضلة الصدر 0.06 ±0.006 لعشرة من طيور الفاختة البرية غير المعامل المستخدمة في التجربة وعلى أساس الحجم الداخل في التفاعل0.2 مل. وسجل في طيور الفاختة أعلى نشاط للخميرة (التغير في البأها /30 دقيقة) في بلازما الدم وبعدها في الدماغ والكبد ثم عضلة الصدر.

الجدول (٢) نشاط خميرة الكولين استراز (ΔpH / 30 دقيقة) في بلازما دم ونسيج الدماغ في طيور الفاختة باستخدام مادتي أساس مختلفتين.

القياسات	نشاط الخميرة في البلازما		نشاط الخميرة في نسيج الدماغ	
	يوديد الاستيل ثايوكولين	يوديد الاستيل كولين	يوديد الاستيل ثايوكولين	يوديد الاستيل كولين
المعدل	1.04	0.82	0.42	0.39
الخطأ القياسي	0.012	0.023	0.016	0.014
الانحراف القياسي	0.038	0.073	0.052	0.044
معامل الاختلاف	%3.65	%8.90	%12.4	%11.3

تمثل قيم القياسات لعشرة عينات في المجموعة الواحدة.



الشكل (1) النشاط الطبيعي لخميرة الكولين استراز في بلازما دم وأنسجة طيور الفاختة

تقدير النسبة المئوية لنشاط خميرة الكولين استراز الحقيقية والكاذبة في بلازما دم الفاختة: تم استخدام كبريتات الكويندين لتثبيط نشاط خميرة الكولين استراز الكاذبة في بلازما الدم، وأدى ذلك إلى تثبيط نشاط الخميرة الكلي في البلازما بنسبة 25%، وتمثل هذه النسبة ظاهريا نسبة خميرة الكولين استراز الكاذبة في بلازما الدم، في حين بلغت نسبة خميرة الكولين استراز الحقيقية 75% من النشاط الكلي للخميرة في البلازما (الجدول ٣).

قياس تثبيط نشاط خميرة الكولين استراز في البلازما الدم لطيور الفاختة في الزجاج In vitro بوساطة الدايكلورفوس: تم استخدام طريقة حضن خميرة الكولين استراز والمادة المثبطة معا لقياس درجة تثبيط نشاط الخميرة في البلازما الدم لطيور الفاختة في الزجاج بوساطة الدايكلورفوس باستخدام الطريقة الكهرومترية المحورة، وكان نسبة التثبيط في نشاط الخميرة بنسبة 38%، 94% مقارنة مع مجموعة السيطرة (الجدول ٤).

المناقشة

تعد الطريقة الكهرومترية المحورة المستعملة في هذه الدراسة والمحورة عن طريقة مايكل الأصلية (20) في قياس نشاط خميرة الكولين استراز في البلازما وكريات الدم الحمر، كونها طريقة موثوق بها ودقيقة وبسيطة وغير مكلفة، ويمكن تكرارها ولاتحتاج لأجهزة معقدة عدا مقياس الدالة الحامضية والحمام المائي (21,13-24) غير أن طريقة مايكل الأصلية (20) يمكن تطبيقها بصورة ناجحة على عينات مأخوذة من الإنسان (بلازما أو كريات دم حمر)، في حين لايمكن تطبيقها وبصورة مباشرة على عينات لمختلف فصائل الحيوانات وذلك بسبب الاختلاف الطبيعي في نشاط

الجدول (٣) تقدير النسبة المئوية لنشاط خميرة الكولين استراز الحقيقية والكاذبة في بلازما دم طيور الفاختة.

القياسات	ΔpH /30 دقيقة ± الخطأ القياسي	النسبة المئوية لنشاط خميرة الكولين استراز
الكولين استراز الكلي (بدون كبريتات الكويندين)	0.83 ±0.03	%100
الكولين استراز الحقيقي (مع كبريتات الكويندين)*	0.62±0.03	%75
الكولين استراز الكاذب	0.21 ±0.018	%25

* تم استخدام كبريتات الكويندين لتثبيط نشاط خميرة الكولين استراز الكاذبة.
تمثل القياسات المعدل ± الخطأ القياسي لعشر عينات.

الجدول (٤) نشاط خميرة الكولين استراز في البلازما الدم لطيور الفاختة في الزجاج بوساطة الدايكلورفوس.

تركيز الدايكلورفوس (مايكرو مول/لتر)	بلازما الدم	
	ΔpH/30 دقيقة	النسبة المئوية للتثبيط
0	0.86 ± 0.023	0
0.5	*0.53 ± 0.031	%38
1	» *0.008 0.05±	%94

القياسات تمثل المعدل ± الخطأ القياسي لستة عينات ضمن المجموعة الواحدة.
* القيم تختلف معنويا مقارنة مع قيم مجموعة السيطرة عند مستوى احتمال أقل من 0.05
» القيم تختلف معنويا مقارنة مع قيم مجموعة 0.5 مايكرو مول/لتر عند مستوى احتمال اقل من 0.05.

خميرة الكولين استراز في الدم والأنسجة بين فصائل حيث ينعدم نشاط خميرة الكولين استراز في كريات الدم الحمر في الدواجن والطيور الأخرى بعكس اللبائن (25-27). واعتمدت الطريقة الكهرومترية الحالية على التحويرات التي قام بها Silvestri 1977 (28) لقياس نشاط خميرة الكولين استراز في دم الحيوانات الحقلية مثل (الأبقار والأغنام والماعز)، واعتمد التحوير على زيادة درجة حرارة الحضن إلى 37م° وزيادة حجم عينة التفاعل وتقليص مدة الحضن إلى فترات مابين (15–45) دقيقة (28). وشملت التحويرات الأساسية الحالية على زيادة درجة التفاعل إلى 37م° وزيادة حجم عينة التفاعل 0.2مل وإستخدام دارئ

موحد لعينات البلازما وكريات الدم الحمر والأنسجة، وهو دارئ الفوسفات (ذو الدالة الحامضية 8.1) وتقليل مدة حضن العينة (بين 20 إلى 40دقيقة) (13).

تعد دقة الطريقة الكهرومترية الحالية ضمن الحدود المقبولة حيث أوضحت النتائج إن معامل الاختلاف في بلازما الدم 3.95% أما في نسيج الدماغ فقد كان 4.59%، وتأتي هذه النتائج متوافقة مع قياس دقة الطريقة في الديك (29) وأفراخ الدجاج (17)، وتمثل نسب معامل الاختلاف دقة الطريقة داخل المختبر الواحد.

يتضح من النتائج في التجربة الثانية إمكانية استخدام مواد أساس مختلفة في قياس نشاط خميرة الكولين استراز مثل يوديد الاستيل كولين ويوديد الاستيل ثايوكولين وهو يتفق مع الباحثين (30,29,22,21,17)، خاصة وان قياس نشاط خميرة الكولين استراز في بلازما الدم وأنسجة الطيور يعتبر مهم في تقييم وتشخيص حالات التسمم بالمبيدات الفسفورية العضوية والكاربميتية (24,31,1).

و باستخدام الطريقة الكهرومترية المحورة، تم تعيين القيم الطبيعية لنشاط خميرة الكولين استراز (ΔpH/30دقيقة) في بلازما الدم 0.82 تليها قيم نشاط الخميرة في نسيج الدماغ 0.34 ثم في الكبد وعضلة الصدر(0.09 ,0.06) على التوالي في طيور الفاختة. وهذا يتفق مع القيم التي كتبها البحثين (32,29). ويعد الكويندين مثبطاً نوعياً لنشاط خميرة الكولين استراز الكاذبة (16) وفي هذه الدراسة حيث أمكن استخدام الطريقة الكهرومترية المحورة لتقدير نسبة كل من خميرة الكولين استراز الكاذبة (12,13) والحقيقية في بلازما الدم لطيور الفاختة والتي كانت (25 و 75)٪ على التوالي وهذا يأتي متوافقا مع الدراسة التي أجريت على نشاط خميرة الكولين أستراز في بعض الطيور البرية إذ بلغت نسبة الحقيقية من (50%) في الصقور ذات الذيل الأحمر (30) وفي دراسة أخرى بلغة نشاط الخميرة الحقيقية في طيور السمان،القطا والزرزور والحمام مابين (69-77%) (32) وهذا يؤكد إن بلازما الطيور تحوي على خميرة الكولين أستراز الحقيقي ايضاً. تم إجراء تجربة لتثبيط نشاط خميرة الكولين أستراز في عينات من البلازما الدم لطيور الفاختة في الزجاج In vitro لتقييم كفاءة وحساسية الطريقة الكهرومترية المستخدمة في هذه الدراسة في قياس التثبيط الحاصل في نشاط خميرة الكولين استراز بفعل المبيدات الفسفورية العضوية الدايكلوروفوس حيث أدى حضن عينات البلازما الدم مع الدايكلورفوس (31) بتركيز (1,0.5) ماكرومول /لتر إلى تثبيط معنوي لنشاط خميرة الكولين استراز بنسبة 38% و94% على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة، وهذه النتائج متوافقة مع ما وجده الباحثون في تجربة التثبيط في الزجاج (31,13,2,1). نستنتج مما تقدم إمكانية استخدام الطريقة الكهرومترية المحورة في قياس نشاط خميرة الكولين استراز في طيور الفاختة لما تمتاز به من الدقة والسهولة والكفاءة والشرعية.

الشكر والتقدير

اشكر كل من ساعدني في إنجاز هذا البحث (كلية الطب البيطري/جامعة الموصل) التي زودتني بالأجهزة المختبرية والمواد الكيماوية وما قدمه الأستاذ الدكتور فؤاد قاسم محمد لما خصني به من الدعم والنصح.

المصادر

1. WHO. Organophosphorus Insecticide: Ageneral Introduction, Environmental Health Crtieria, World Health Organization, Geneva, 1986; No.63: 13-181.
2. WHO. Carbaryl., United Nation. Environment progrsmme, the International Labour Organization, and the World Health Organization, Geneva,1994.
3. Hill EF. Sex and storage affect cholinesterase activity in blood Plasma of Japanese Quail. J. Wild life Dis.1989 ;25: 580 - 585.
4. Wilson BW, Padilla S, Sanborn JR, Hederson JD. Billitti JE. Clinical blood cholinesterase measurement for monitoring pesticide. In: Quinn DM, Balasubromanian AS, Doctor BP. Taylor PE, Editore. Enzymes of the Cholinesterase Family. Plenum Press, New York, 1995; 329-336.
5. Katharine C. Parsons, Dngela C. Matz, Michael J. Hooper and Mark A. Pokras. Monitoring wading bird exposure to agricultural chemicals using serum cholinesterase activity. Environmental toxicology and chemistry. 2000, Vol. 19, No. 5. 1317-1323.
6. M. Cristina Fossi, Alberto Massi, Claudio Leonzio. Blood esterase inhibition in birds as an index of organophosphorus contamination: field and laboratory studies.Ecotoxicology.1994; 3, 11-20.
7. Brealey CJ, Walker CH, Baldwin BC. A-esterase activities in relation to the differential toxicity of pirimiphos-methyl to birds and mammals. Pesticide Sci. 1980; 11, 546-54.
8. Lotti M. Cholinesterase inhibition: complexities in interpretation. Clin. Chem.1995; 41 / 12: 1814 - 1818.
9. Wilson BW. Henderson JD. bloob esterase determinations as markers of exposure Rev. Environ. Contam. Toxicol.1992;128: 55- 69.
10. Fairbrother A. 1996. Cholinesterase-inhibiting pesticides. In Fairbrother A, Locke LN, Hoff GL, eds, Noninfectious Diseases of Wildlife. Iowa State University Press, Ames, IA, USA, pp 52– 60.
١١. اللوس. بشير. الطيور العراقية، الجزء الثاني، جامعة بغداد، العراق،1961.الجزء الثاني.200ص.
12. Alias AS. Efffect of dichlorvos on cholinesterase activity in pigeons. Iraqi Journal of Veterinary Sciences. Volum 20,No2,2006.PP 191-202.
13. Mohammad FK, Faris G A-M A1-Kasseim NA. Amodified electrometric method for measurement of erythrocyte acetycholinesterase activity in sheep. Vet. Hum. Toxicol.1997;36:337-339.
14. Petrie, A. (1978). Lecture Notes on Medical Statistics. Black well Scientific Publications, Oxford.
15. Mohammad FK, Al-Baggou' BKh. Electrometric cholinesterase determination in poultry treated with dichlorvos and carbaryl. Online J. Vet. Res., 2005; 9 (1) : 1 – 5.
16. Wilson B W , Henderson J D, Dass P D, Lanz D. Factors in standardizing automated cholinesterase assay. J. Toxicol. Environ. Health. 1996; 48: 187-195.
١٧. عباس، قاسم سكران. طريقة كهروميترية لقياس نشاط خميرة الكولين استراز في بلازما الدم والأنسجة في أفراخ الدجاج وتأثرها بمثبطاتها الدايكلورفوس والكاربارايل (رسالة ماجستير). الموصل: جامعة الموصل،2000.40-44 ص.

cholinesterase activity of the chicken. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1977; 39:229-237.
26. Fairbrother A, Bennett RS, Bennett JK. Sequential sampling of plasma cholinesterase in mallards (Anasplatyrhynchos) as an indicator of exposure to cholinesterase inhibitors. Environ. Toxicol. Chem. 1988; 2:117-122.
27. Wilson B W, Hooper M J, Hansen M E. Reactivation of organophosphates inhibited Acetylcholinesterase with Oximes. In: Chamber Academic Press, New York. 1992; pp. 110-135.
28. Silvestri G. New techniques to measure blood cholinesterase activity in domestic animals. Am. J. Vet. Res. 1977; 38: 659-662.
29. Faris G A, Al- Dewachi O S, Said MO M, Mohammad FK. Determination of plasma cholinesterase activity in cockerels by an electrometric method. Iraqi J. Vet. Sci. 1999;12: 255- 260.
30. Wilson B W. Cholinesterase Inhibition. In: Wexler, P. (editors). Encyclopaedia of Toxicology, Vol. 1. Academic Press, San Diego. 1998; pp. 326-340.
31. WHO. Carbamate Pesticides: A General Introduction, Environmental Health Criteria; 1986b.No. 64. Geneva.
32. Ashraf S. Alias, Fouad K. Mohammad. Electrometric measurement of plasma and tissue cholinesterase activities of four wild birds in Iraq. Journal of Biological Research. 2005; 4: 197 – 202.
18. Runyon RP. Non Parametric Statistics: Acotemporary Approach Addison–Wesley publishing Co., Reading, Massachusetts,1977; 42 – 44, 83 – 87.
19. Petrie A,Watson P. Statistics for Veterinary and Animal Sciences. Blackwell Science, Oxford. 1999.pp.90 - 140.
20. Michel H O. An electrometric method for the determination of the cell and plasma cholinesterase activity. J. Lab. Clin. Med. 1949; 34: 1564 - 1568.
21. Wills J H. The measurement and significance of changes in the cholinesterase activities of erythrocytes and plasma in man and animals. CRC Critical Rev. Toxicol. 1972; 1:153-202.
22. Mohammd F K, St Omer V E V. Modifications of Michel's electrometric method for rapid measurement of blood cholinesterase activity in animals: A mini review. Vet.Hum. Toxicol. 1982; 24: 119-121.
23. Fairbrother A, Marden B T, Bennett J K, Hooper M J.Methods used in determination of cholinesterase activity. In: Mineau, P. (editors), Cholinesterase- Inhibiting Insecticides. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V. 1991; pp. 35-71.
24. Faris G A M. The use of an electrometric method for measuring cholinesterase activity in rats treated with organophosphates and carbamate. Iraqi. J. Vet. Sci. 2003; 17:7-15.
25. Pickering CE, Pickering RG. The interference by erythrocyte "Acetylthiocholinesterase" in the estimation of the blood