

دراسة مقارنة لقياس نسبة السكر في دم الأغنام باستخدام طريقة الـ ACCU-CHEK و عدة التقدير الجاهزة

نشأت غالب مصطفى، محمد دخيل إبراهيم و محمد حسن سليمان

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

الخلاصة

تم في هذه الدراسة قياس نسبة السكر في دم ١٢٧ من الأغنام المحلية في محافظة نينوى والسليمة ظاهرياً باستخدام طريقة جهاز ACCU-CHEK وطريقة عدة التقدير الجاهزة الـ Kit في أعمار مختلفة من الأغنام المحلية ولكلا الجنسين حيث تم إجراء مقارنة لنسبة سكر دم الأغنام بكلا الطريقتين ولكلا الجنسين وحسب الفئات العمرية المختلفة. أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية ($P < 0.05$) في نسبة سكر الدم باختلاف طريقة القياس والعمر، وان النتائج بطريقة الـ Kit هي الاقرب للقيمة الطبيعية لنسبة السكر في الدم من طريقة الـ ACCU-CHEK التي ظهر انها الأسهل استخداماً، كما أظهرت النتائج أن نسبة سكر الدم بهذه الطريقة تقع ضمن المدى الطبيعي لنسبة السكر في دم الاغنام. كما أوضحت النتائج أن نسبة السكر في الدم تقل بتقدم العمر.

Comparative study of sheep blood glucose level determination using ACCU-CHEK and glucose kit

N. G. Mustafa, M. D. Ibrahim and M. H. Sulieman

Department of Physiology Biochemistry and Pharmacology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq
(E-mail for corresponding: nashaat_ghalib@yahoo.com)

Abstract

Our study was concerned on determination of blood glucose level in apparent healthy 127 local sheep in Nenavah province using ACCU-CHEK and Kit methods in different age groups and for both sexes. The results showed significant ($P \leq 0.05$) difference in blood glucose level between two methods, which Kit method appear more close to normal value in sheep, while ACCU-CHEK method was easy to use, and finally blood glucose level were decreased with progress in age.

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

المقدمة

الأمعاء والنتاج الكبدي: الكلوكون الناتج بهذه الآلية يكون بطريقتين؛ أولاً: تصنيع الكلوكون Gluconeogenesis من مصادر غير كربوهيدراتية مثل الأحماض الامينية (الناتجة من هدم البروتينات) والكليسيرول (الناتج من هدم الشحوم) في الحيوانات وحيدة المعدة، اما في المجترات فيتم امتصاص الأحماض الدهنية الطيارة (VFA) Volatile fatty acids أكثر من الكربوهيدرات (٤)، ثانياً: تحلل الكلايوجين Glycogenolysis أي التحلل المائي للكلايوجين المخزون في الخلايا الكبدية الى كلوكون.

يتم تنظيم نسبة السكر في جسم الحيوان من خلال تداخل العديد من العوامل والآليات منها: الوجبات الغذائية ونوعها

يعد الكلوكون احد أهم أنواع الكربوهيدرات في جسم الحيوان (١) يحدث امتصاص الكلوكون في الأغشية المخاطية للأمعاء الدقيقة وينتقل بعد الامتصاص عن طريق الوريد البابي إلى الكبد حيث يخزن على شكل كلايوجين او يطرح الى مجرى الدم على شكل كلوكون أو يدخل في تركيب البروتينات او الشحوم او الحوامض الكيتونية Ketoacids حسب حالة الجسم (٣،٢). وعموماً فإن ٥٠% من الكلوكون الممتص يخزن على شكل كلايوجين في الكبد و ٥٠% يستعمل من قبل الأنسجة لإنتاج الطاقة (١) اما مصادر كلوكون الدم فهي الامتصاص من

عن خلايا الدم (الراسب) أخذ من المصل 10µL وعومل مع الكاشف الموجود مع Kit (نوع Syrbio) حيث تم قياس نسبة السكر في الدم باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer (نوع PD303 ياباني المنشأ) عند طول موجي 500nm و تم استخراج نسبة السكر بالدم (mg/dl) اعتماداً على قراءة الجهاز ومقارنة ذلك مع قراءة المحلول القياسي للكلوكوز Standard Solution (6).



صورة (١) توضح جهاز ACCU-CHEK.



صورة (٢) توضح جهاز ACCU-CHEK في حالة الاستخدام.

تصميم التجربة والتحليل الإحصائي

وتركيبتها والفترة بين وجبة وأخرى وحاجة الأنسجة للطاقة والهرمونات مثل الأنسولين، الكلوكاكون Glucagon، هرمون الدرقية TSH، هرمون النمو GH، الكلوكوكورتيكويد Glucocorticoide، الكاتيكولامين Catecholamines، والهرمون المحفز لقشرة الكظر ACTH (٥).

ومنذ عشرات السنين استخدمت العديد من الطرق في قياس نسبة السكر في الدم، بعض هذه الطرق معقدة وتحتاج الكثير من الوقت والجهد والمواد الكيماوية وتسمى بالطرق اليدوية Manual methods بعدها استخدمت عدة التحليل الجاهزة الـ Kit حيث تتسم الطريقة بالدقة العالية والسرعة وتختلف طريقة العمل في Kit نسبياً تبعاً للشركة المصنعة. وأخيراً استخدم جهاز القياس المباشر الذي يعرف بـ ACCU-CHEK حيث يمكن قياس نسبة السكر في الدم خلال لحظات. وعموماً فإن معظم طرق قياس الكلوكوز في الدم (أو البول أو السوائل الجسمية الأخرى) تعتمد على الآلية الإنزيمية لأكسدة الكلوكوز وإنتاج بيروكسيد الهيدروجين H₂O₂ الذي يتفاعل مع مركبات خاصة بوجود إنزيم البيروكسيداز Peroxidase لإنتاج مركبات بالوان معينة يتم قياس شدتها باستخدام المطياف الضوئي Spectrophotometer.

ونظراً لشيوع استخدام جهاز ACCU-CHEK في قياس نسبة السكر في دم الإنسان ولسهولة الطريقة وكونها عملية واقتصادية ارتأينا إجراء هذه الدراسة لقياس نسبة السكر في دم الأغنام في أعمار مختلفة وفي كلا الجنسين ومقارنة ذلك مع نتائج القياس باستخدام الـ Kit لنفس الحيوانات ومعرفة إمكانية استخدامه في الأغنام بشكل خاص وفي باقي الحيوانات الحقلية مستقبلاً.

المواد وطرائق العمل

تم في هذه الدراسة جمع عينات الدم من ١٢٧ من ذكور وإناث الأغنام المحلية في مناطق مختلفة من محافظة نينوى وبأعمار مختلفة تراوحت بين (١ شهر - ٤ سنوات ونصف) وكانت الأغنام سليمة ظاهرياً حيث جمع الدم من الوريد الوداجي عن طريق محقنه طبية معقمة بسحب ١ مل من الدم حيث أخذ قطرة من الدم ووضع على شريط القياس Test strip بعد تشغيل جهاز ACCU-CHEK لمدة ١ دقيقة لضمان استقراره فظهرت قراءة نسبة السكر بالدم معبراً عنها بـ (mg/dl)، تم استخدام جهاز ACCU-CHEK المصنع من قبل شركة Roche (Roche Diagnostic Ltd. UK) لاحظ الصورتان ١ و ٢ (عند الاستخدام يجب ملاحظة نوعية الجهاز المستخدم وتاريخ انتاج وانتهاء صلاحية شريط القياس). أما الدم المتبقي فوضع في أنبوبة اختبار جافة ونظيفة تحوي مانع تخثر EDTA، ثم وضع في جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000g لمدة ١٥ دقيقة حيث تم فصل المصل (الراشح)

عمرية) لذكور وإناث الأغنام المحلية في محافظة نينوى، حيث بينت نتائج الدراسة أن نسبة السكر في دم الأغنام تختلف معنوياً ($P \leq 0.05$) باختلاف الفئة العمرية حيث تكون أعلى في الأعمار الصغيرة ونقل نسبة السكر في الدم بتقدم العمر (الجدول ١)، كما نلاحظ وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.05$) فردية عند مقارنة طريقتي القياس الـ ACCU-CHEK والـ Kit في الجنس الواحد وضمن نفس الفئة العمرية كما نلاحظ أن نتائج طريقة الـ ACCU-CHEK كانت متباعدة عن بعضها ولها مدى واسع عن المتوسط (لاحظ الخطأ القياسي في كل مجموعة)، وأخيراً نلاحظ من النتائج عدم وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.05$) بين ذكور وإناث الأغنام ضمن الفئة العمرية الواحدة عند استخدام نفس طريقة القياس (جدول ١).

تم تقسيم الحيوانات إلى مجموعتين حسب طريقة القياس المستخدمة (طريقة جهاز ACCU-CHEK وطريقة الـ Kit) ولكلا الجنسين وللأعمار المختلفة الجدول ١، تم تحليل النتائج باستخدام اختبار تحليل التباين ANOVA وإيجاد الفروقات المعنوية عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) باستخدام اختبار دنكن Duncan's test (7) تم إجراء التحليل الإحصائي باستخدام برنامج SPSS الإصدار (V.12) باستخدام الحاسوب.

النتائج

اعتماداً على نتائج التحليل الإحصائي لهذه الدراسة تم مقارنة نسبة السكر في دم الأغنام باستخدام طريقتي الـ ACCU-CHEK والـ Kit لفئات عمرية مختلفة (خمس فئات

جدول (١) يوضح نسبة السكر في دم الأغنام (mg/dl) في الأعمار المختلفة باستخدام جهازي ACCU-CHEK والـ Kit.

الطريقة	الجنس	العمر				
		٦-١ أشهر	٧-١٢ شهر	١٣-٢٤ شهر	٢٥-٤٨ شهر	أكبر من ٤٨ شهر
ACCU-CHEK	إناث	4.5Aa±67 (n=6)	3.3Aa±66 (n=8)	2.5Bb±62 (n=5)	3.8Cc±56 (n=7)	4.1Dd±51 (n=6)
	ذكور	3.7Aa±66 (n=6)	4.4Aa±64 (n=7)	4.6Bb±61 (n=6)	2.4Cc±55 (n=6)	4.8Dd±49 (n=5)
	إناث	2.7Aa±65 (n=6)	2.5Ba±63 (n=5)	1.9Cb±58 (n=6)	1.9Cc±54 (n=7)	2.6Dd±50 (n=7)
	ذكور	1.8Aa±65 (n=8)	2.7Bb±61 (n=6)	1.7Cb±58 (n=8)	1.1Cd±54 (n=5)	1.8Dd±51 (n=7)

الأرقام في كل مجموعة تمثل (Mean ±S.E) لمجموعة من الأغنام n (٥-٨ أغنام). الحروف الكبيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) عند المقارنة بين الطريقتين ACCU-CHEK والـ Kit في نفس الجنس والفئة العمرية. الحروف الصغيرة المختلفة بين الأعمدة تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى ($P \leq 0.05$) عند المقارنة بين الفئات العمرية باستخدام نفس الطريقة والجنس.

المناقشة

تغير اعتماد الحيوان من الحليب (خلال فترة الرضاعة) أو preruminant state الى الاعتماد على الاعلاف أو ruminant state حيث يتحول اعتماد الجسم على الطاقة من الكربوهيدرات الى الاحماض الدهنية الطيارة (VFA) Volatile fatty acid (١١)، وأخيراً فان نسبة السكر في دم اناث وذكور الاغنام لا تختلف معنوياً ($P \leq 0.05$) وهذا يتفق مع ما توصل اليه كل من Eshratkhan et al. (١٠) و (١٢) Gatford et al. نستنتج من هذه الدراسة أن طريقة الـ ACCU-CHEK أسهل استخداماً وأقل كلفة من طريقة الـ Kit ويمكن استخدامها في قياس نسبة السكر في دم الاغنام وخاصة عندما يتطلب الامر السرعة في التشخيص لاعداد كبيرة كما في قطاعان الاغنام في المناطق النائية.

من ملاحظة نتائج هذه الدراسة (جدول ١) نجد أن طريقة الـ Kit هي الاقرب للقيمة الطبيعية لنسبة السكر في دم الاغنام، بينما تميل النتائج بواسطة طريقة ACCU-CHEK الى كونها أعلى من نتائج طريقة الـ Kit ولها مدى واسع (لاحظ الخطأ القياسي في كل مجموعة) ولكن تقع جميع هذه النتائج ضمن المدى الطبيعي لنسبة السكر في دم الاغنام والبالغ 50-80 mg/dl حسب ما أورده Kaneko et al. (٢) و (٨) Khan و (٩) Meyer and Harvey بالمقابل فان طريقة الـ ACCU-CHEK كانت أسهل استخداماً وأقل كلفة من طريقة الـ Kit. أما انخفاض نسبة السكر في الدم بتقدم العمر في الاغنام فينتفق مع ما توصل اليه Eshratkhan et al. (١٠) وربما يشير ذلك إلى

المصادر

7. Steel RGD, Torrie JH. Principles and procedures of statistics. 2nd ed., McGraw-hill book co. Inc. New York.1980.
8. Khan CM. The Merck Veterinary Manual. 9th ed. Merck and Co. Inc, USA; 2005: 1340,1342.
9. Meyer DJ, Harvey JW. Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis. 2nd ed. Saunders Co. W.B; 1998:125-138.
10. Eshratkhan B, Sadaghian M, Khajeye M, Ahmadi H, Mostavafi H. Evaluation of Non-Electrolyte Normal Values in Blood of Makuei Sheep Breed. J Anim Vet Advanc. 2008;7(3):316-318.
11. Thivend P, Toullec R, and Guilloteau P. Digestive adaptation in the preruminant. In: Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants,(edited by Ruckebusch Y and Thivend P. Westport, CT: AVI), 1980; 561-585.
12. Gafford KL, Blasio M J De, Thavaneswaran P, Robinson JS, McMillen IC, Owens JA. Postnatal ontogeny of glucose homeostasis and insulin action in sheep. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2004;286: E1050-E1059.
1. Berg JM, Tymorko JL, Stryer L. Biochemistry. 6th ed. New York: W.H. Freeman and Company; 2007: 433-435.
2. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of domestic animals. 6th ed. California: Academic press; 2008: 45-81.
3. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. 11th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006:830-831.
4. Thrall MA, Baker DC, Campbell TW, DeNicola D, Fettman MJ, Lassen ED, Rebar A, Weiser G. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. 1st ed. Baltimore: Lippincott Williams &Wilkins; 2004: 431-443.
5. Murray RK, Grannies DK , Rodwell VM. Harper's illustrated Biochemistry. 24th ed. McGraw-hill, Lange. Boston; 2006:433-76
6. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann. Clin. Biochem. 1969;24-27.