مجلة جامعة حمص

سلسلة العلوم الطبية والصحية

مجلة علمية محكمة دورية

المجلد 48 . العدد 4

1448 هـ - 2026 م

الأستاذ الدكتور طارق حسام الدين رئيس جامعة حمص **المدير المسؤول عن المجلة**

أ. د. وليد حمادة	**رئيس تحرير مجلة جامعة حمص للعلوم الإنسانية**
د.نعيمة عجيب	**رئيس تحرير مجلة جامعة حمص للعلوم الطبية والهندسية والأساسية والتطبيقية**

د.محمد فراس رمضان	عضو هيئة التحرير
د. مضر سعود	عضو هيئة التحرير
د. ممدوح عبارة	عضو هيئة التحرير
د. موفق تلاوي	عضو هيئة التحرير
د. طلال رزوق	عضو هيئة التحرير
د. أحمد الجاعور	عضو هيئة التحرير
د. الياس خلف	عضو هيئة التحرير
د. روعة الفقس	عضو هيئة التحرير
د. محمد الجاسم	عضو هيئة التحرير
د. خليل الحسن	عضو هيئة التحرير
د. هيثم حسن	عضو هيئة التحرير
د. أحمد حاج موسى	عضو هيئة التحرير

تهدف المجلة إلى نشر البحوث العلمية الأصيلة، ويمكن للراغبين في طلبها الاتصال بالعنوان التالي:

رئيس تحرير مجلة جامعة حمص

سورية . حمص . جامعة حمص . الإدارة المركزية . ص . ب (77)

. هاتف / فاكس : 2138071 31 963 ++

. موقع الإنترنت : www.homs-univ.edu.sy

. البريد الالكتروني : journal.homs-univ.edu.sy

ISSN: 1022-467X

شروط النشر في مجلة جامعة حمص

الأوراق المطلوبة:

- 2 نسخة ورقية من البحث بدون اسم الباحث / الكلية / الجامعة) + CD / word من البحث منسق حسب شروط المجلة.
- طابع بحث علمي + طابع نقابة معلمين.
- **اذا كان الباحث طالب دراسات عليا:**

يجب إرفاق قرار تسجيل الدكتوراه / ماجستير + كتاب من الدكتور المشرف بموافقته على النشر في المجلة.

- **اذا كان الباحث عضو هيئة تدريسية:**

يجب إرفاق قرار المجلس المختص بإنجاز البحث أو قرار قسم بالموافقة على اعتماده حسب الحال.

- **اذا كان الباحث عضو هيئة تدريسية من خارج جامعة البعث :**

يجب إحضار كتاب من عمادة كليته تثبت أنه عضو بالهيئة التدريسية و على رأس عمله حتى تاريخه.

- **اذا كان الباحث عضواً في الهيئة الفنية :**

يجب إرفاق كتاب يحدد فيه مكان و زمان إجراء البحث ، وما يثبت صفته وأنه على رأس عمله.

- **يتم ترتيب البحث على النحو الآتي بالنسبة لكليات (العلوم الطبية والهندسية والأساسية والتطبيقية):**

عنوان البحث . . ملخص عربي و إنكليزي (كلمات مفتاحية في نهاية الملخصين).

1- مقدمة

2- هدف البحث

3- مواد وطرق البحث

4- النتائج ومناقشتها .

5- الاستنتاجات والتوصيات .

6- المراجع.

- **يتم ترتيب البحث على النحو الآتي بالنسبة لكليات (الآداب – الاقتصاد– التربية – الحقوق – السياحة – التربية الموسيقية وجميع العلوم الإنسانية):**
- عنوان البحث . . ملخص عربي و إنكليزي (كلمات مفتاحية في نهاية الملخصين).

1. مقدمة.
2. مشكلة البحث وأهميته والجديد فيه.
3. أهداف البحث و أسئلته.
4. فرضيات البحث و حدوده.
5. مصطلحات البحث و تعريفاته الإجرائية.
6. الإطار النظري و الدراسات السابقة.
7. منهج البحث و إجراءاته.
8. عرض البحث و المناقشة والتحليل
9. نتائج البحث.
10. مقترحات البحث إن وجدت.
11. قائمة المصادر والمراجع.

7- يجب اعتماد الإعدادات الآتية أثناء طباعة البحث على الكمبيوتر:

أ- قياس الورق 17.5×25 B5.

ب- هوامش الصفحة: أعلى 2.54- أسفل 2.54 – يمين 2.5- يسار 2.5 سم

ت- رأس الصفحة 1.6 / تذييل الصفحة 1.8

ث- نوع الخط وقياسه: العنوان . Monotype Koufi قياس 20

ـ كتابة النص Simplified Arabic قياس 13 عادي ـ العناوين الفرعية Simplified Arabic قياس 13 عريض.

ج . يجب مراعاة أن يكون قياس الصور والجداول المدرجة في البحث لا يتعدى 12سم.

8- في حال عدم إجراء البحث وفقاً لما ورد أعلاه من إشارات فإن البحث سيهمل ولا يرد البحث إلى صاحبه.

9- تقديم أي بحث للنشر في المجلة يدل ضمناً على عدم نشره في أي مكان آخر، وفي حال قبول البحث للنشر في مجلة جامعة البعث يجب عدم نشره في أي مجلة أخرى.

10- الناشر غير مسؤول عن محتوى ما ينشر من مادة الموضوعات التي تنشر في المجلة

11- تكتب المراجع ضمن النص على الشكل التالي: [1] ثم رقم الصفحة ويفضل استخدام التهميش الإلكتروني المعمول به في نظام وورد WORD حيث يشير الرقم إلى رقم المرجع الوارد في قائمة المراجع.

تكتب جميع المراجع باللغة الانكليزية (الأحرف الرومانية) وفق التالي:

آ . إذا كان المرجع أجنبياً:

الكنية بالأحرف الكبيرة ـ الحرف الأول من الاسم تتبعه فاصلة ـ سنة النشر ـ وتتبعها معترضة (–) عنوان الكتاب ويوضع تحته خط وتتبعه نقطة ـ دار النشر وتتبعها فاصلة ـ الطبعة (ثانية . ثالثة) . بلد النشر وتتبعها فاصلة . عدد صفحات الكتاب وتتبعها نقطة.

وفيما يلي مثال على ذلك:

–MAVRODEANUS, R1986– **Flame Spectroscopy**. Willy, New York, 373p.

ب . إذا كان المرجع بحثاً منشوراً في مجلة باللغة الأجنبية:

ـــ بعد الكنية والاسم وسنة النشر يضاف عنوان البحث وتتبعه فاصلة، اسم المجلد ويوضع تحته خط وتتبعه فاصلة ـــ المجلد والعدد (كتابة مختزلة) وبعدها فاصلة ـــ أرقام الصفحات الخاصة بالبحث ضمن المجلة.

مثال على ذلك:

BUSSE,E 1980 Organic Brain Diseases **Clinical Psychiatry News** , Vol. 4. 20 – 60

ج. إذا كان المرجع أو البحث منشوراً باللغة العربية فيجب تحويله إلى اللغة الإنكليزية و التقيد بالبنود (أ و ب) ويكتب في نهاية المراجع العربية: (المراجع In Arabic)

رسوم النشر في مجلة جامعة حمص

1. **دفع رسم نشر (50000) ل.س أربعون ألف ليرة سورية عن كل بحث لكل باحث يريد نشره في مجلة جامعة البعث.**
2. **دفع رسم نشر (200000) ل.س مئة الف ليرة سورية عن كل بحث للباحثين من الجامعة الخاصة والافتراضية .**
3. **دفع رسم نشر (200) مئتا دولار أمريكي فقط للباحثين من خارج القطر العربي السوري .**
4. **دفع مبلغ (15000) ل.س ستة آلاف ليرة سورية رسم موافقة على النشر من كافة الباحثين.**

المحتوى

اسم البحث	اسم الباحث	الصفحة
تقييم فعالية الواسمات الورمية CA15-3 وCEA في الكشف عن سرطان الثدي وعلاقتها بالخصائص السريرية المرضية	د. عبد الكريم مغمومة	40-11
تأثير الإصابة بحماض الكرش على بعض وظائف الكلى عند الأغنام العواس	صالح سبسبي د. أحمد القاسم	52-41
دراسة التغيرات الكيمياحيوية المرافقة لمرض تحلون الدم تحت السريري لدى الأبقار	عمر عياده العبيد أ.د. أسعد العبد د. سلوى الدبس	64-53
مقارنة التأثير المضاد لبكتريا *Lactobacillus* والمضادات الحيوية تجاه بعض البكتريا الممرضة	مبارك السعد د. عبد الكريم بحلاق	79-65

تقييم فعالية الواسمات الورمية CA15-3 وCEA في الكشف عن سرطان الثدي وعلاقتها بالخصائص السريرية المرضية

د. عبد الكريم مغمومة

دكتوراه في الكيمياء الحيوية السريرية – كلية الصيدلة – الجامعة الوطنية الخاصة

الملخص:

الخلفية والهدف: يعد سرطان الثدي أحد أكثر الأورام الخبيثة انتشاراً لدى النساء عالمياً، وثاني مسبب للوفيات المرتبطة بالأمراض السرطانية بحسب إحصائيات جمعية السرطان الأميركية لعام 2022، حيث سُجلت 286,000 حالة مصابة توفي منهن 41,000 امرأة. يؤدي التأخر في التشخيص، خاصة في الدول النامية، إلى تفاقم الحالات وسوء التنبؤ السريري.

تسعى الدراسة الحالية إلى تقييم شامل لدور واسمين ورميين انتقائيين لسرطان الثدي – وهما مستضد السرطان 3-15 (CA15-3) ومستضد السرطان المضغي (CEA) في التشخيص المبكر والكشف عن حدة المرض. بالإضافة إلى ذلك، تهدف الدراسة إلى دراسة العلاقات الإحصائية بين هذه الواسمات وعوامل الخطر المحتملة بما فيها العمر، مؤشر كتلة الجسم(BMI)، ومرحلة ورم الثدي(TNM staging).

المنهجية: أُجريت الدراسة على عينة من 45 مريضة مُشخَّصة بسرطان الثدي وفقاً لمعايير الاتحاد الأميركي المشترك للسرطان(AJCC) ، تراوحت أعمارهن بين 30 و82 سنة (متوسط ± الانحراف المعياري = 53 ± 11.9 سنة). تم جمع البيانات من المشافي والمخابر المتخصصة بمنطقة وسط سوريا , (حماه وحمص) خلال الفترة من تشرين الثاني 2023 إلى نيسان 2024. تم قياس مستويات الواسمات في عينات المصل باستخدام تقنية المقايسة المناعية الإنزيمية (ELISA) وتحليل النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 24)، مع تحديد دلالة إحصائية عند عتبة $p < 0.05$

النتائج: أظهرت النتائج وجود ارتباط طردي إحصائي ذي دلالة بين العمر وقيمة الواسم CA15-3 (p=0.008) وعلاقة معنوية واضحة بين مرحلة ورم الثدي (Tumor Grade) وكل من CEA (p=0.01) وCA15-3 (p=0.05) بينما لا يوجد ارتباط معنوي مباشر بين مؤشر كتلة الجسم و CA15-3 (p=0.8). يوجد زيادة ملحوظة في قيم الواسمات لدى المريضات ذوات درجات ورمية متقدمة (مرحلة ثانية وثالثة).

الخلاصة: تدعم النتائج استخدام الواسمات الورمية كأدوات تكميلية فعالة في مراقبة سير المرض وتقييم الاستجابة العلاجية، مع التأكيد على أهمية دمج مجموعة متعددة من الواسمات لرفع دقة التنبؤ السريري، وعدم الاعتماد على واسم واحد كمؤشر تشخيصي نهائي.

الكلمات المفتاحية: الواسمات الورمية، CA15-3، CEA، سرطان الثدي، التشخيص، مرحلة الورم، مؤشر كتلة الجسم، المقايسة المناعية الإنزيمية

Evaluation of the Effectiveness of Tumor Markers in Breast Cancer Detection

Abstract:

Background and Objective: Breast cancer is one of the most prevalent malignant tumors among women worldwide and the second leading cause of cancer-related mortality, according to the American Cancer Society's 2022 statistics. An estimated 286,000 new cases were recorded that year, with 41,000 deaths among affected women. Delayed diagnosis—particularly in developing countries—contributes significantly to disease progression and poor clinical outcomes.
The present study aims to provide a comprehensive evaluation of the effectiveness of two selective tumor markers for breast cancer—cancer antigen 15-3 (CA15-3) and carcinoembryonic antigen (CEA)—in early diagnosis and disease severity assessment. Moreover, the study investigates statistical correlations between these biomarkers and potential risk factors, including age, body mass index (BMI), and breast tumor staging (TNM staging).

Methodology:

The study included a sample of 45 female patients diagnosed with breast cancer according to the American Joint Committee on Cancer (AJCC) criteria. Participants' ages ranged from 30 to 82 years (mean ± SD = 53 ± 11.9 years). Data were collected from hospitals and specialized laboratories in Syria's central region (Hama and Homs) between November 2023 and April 2024. Serum marker levels were measured

using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique. Statistical analysis was performed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS version 24), with a significance threshold set at $p < 0.05$.

Results:

The results showed a statistically significant positive correlation between age and CA15-3 levels ($p = 0.008$). A significant association was also observed between tumor grade and both CEA ($p = 0.01$) and CA15-3 ($p = 0.05$), whereas BMI showed no direct association with CA15-3 levels ($p = 0.8$). Additionally, patients with advanced tumor grades (grade II and III) exhibited notably higher marker values.

Conclusion:

The findings support the use of tumor markers as effective complementary tools for monitoring disease progression and evaluating therapeutic response. The study emphasizes the importance of integrating multiple markers to enhance diagnostic accuracy and discourages reliance on a single biomarker as a definitive diagnostic indicator.

Keywords: Tumor markers, CA15-3, CEA, Breast cancer, Diagnosis, Tumor grade, Body mass index, ELISA

المقدمة:

يمثل سرطان الثدي تحدياً صحياً عالمياً متزايداً، حيث تشير الإحصائيات الحديثة إلى أن هناك حالة جديدة من سرطان الثدي يتم تشخيصها كل دقيقة واحدة حول العالم. يُشكل هذا المرض الخطير حوالي 15% من جميع السرطانات الخبيثة لدى النساء، وينتج عن طفرات في الحمض النووي للخلايا الظهارية في أنسجة الغدة الثدية، مما يؤدي إلى انقسام خلوي غير منضبط وانتشار نقيلي (metastatic spread) [1].

يتميز الثدي بخصائص تشريحية وفيزيولوجية فريدة تساهم في قابليتها للسرطنة. فالغدة الثدية تتكون من شبكة معقدة من القنوات المتفرعة والأنسجة الحشوية المحاطة بطبقات دهنية وليفية، وتتعرض باستمرار لتقلبات هرمونية متعلقة بالدورة الحيضية والحمل والرضاعة. هذه الديناميكية البيولوجية المستمرة، مع تراكم الخلايا الهرمة senescent cells ونقص الوظيفة المناعية immunosenescenceمع التقدم بالعمر، تُهيئ البيئة المناسبة لتطور الأورام الخبيثة [2].

يوجد انخفاض مستمر في معدلات الوفيات على مدى العقود الماضية وذلك بسبب التطبيق التدريجي للعلاجات الطبية المساعدة الفعالة بشكل متزايد على الرغم من زيادة الإصابة بسرطان الثدي[3]..وإن التحول نحو الكشف عن سرطان الثدي في مرحلة مبكرة يساهم بالتأكيد في تحسين النتائج ، إلا أنه يشكل أيضا تحدياً للأطباء فيما يتعلق باختيار العلاج المساعد الأمثل. وكما عُرِفَ فأن معدل الانتكاس بعد الجراحة وحدها في المرضى الذين تم اكتشافهم بسرطان الثدي المبكر منخفض نسبياً. إن متوسط عُمر الإصابة بسرطان الثدي هو (40)، يتمثل سرطان الثدي على شكل نمو غير طبيعي لخلايا الثدي، ناتج عن سلسة من الطفرات الجينية أو التغييرات حول جينية [4،5].

من المهم التمييز بين التصنيفات الجزيئية المختلفة لسرطان الثدي والذي يضم سرطان الثدي الثلاثي السلبي (TNBC) والذي يفتقر للتعبير عن مستقبل الإستروجين(−ER) ، مستقبل البروجستيرون(−PR) ، ومستقبل عامل نمو البشرة البشري 2 .(−HER2) يتميز بسلوك عدواني، استجابة ضعيفة للعلاج الهرموني، وتكرار مبكر ونقيلي. بالإضافة لسرطان الثدي الحساس للهرمونات(+HR): +ER و/أو +PR وسرطان الثدي المفرط التعبير عنHER2 [4،6].

للإصابة بسرطان الثدي علاقة وثيقة بعوامل أخرى، قد يزداد حدوثه بوجودها أو حتى قد تزيد شدته معها، وهذا الأمر يعزز من إمراضيته وقد يقلل فرص النجاة ويصعب السيطرة عليه بالإضافة إلى تأخر ظهور الأعراض في بعض الحالات مما يسبب الاكتشاف المتأخر للمرض والوفاة باكراً، وهذا الأمر يشكل مشكلة لا بد من السيطرة عليها أو الحد منها خصوصاً مع تطور طرق الكشف عن السرطان واكتشاف علاجات جديدة ومتطورة.

تتجلى أهمية الكشف المبكر في كونه يزيد من معدلات الشفاء بنسبة قد تتجاوز 90% في المراحل الأولى، بينما تنخفض هذه النسبة بشكل كبير في المراحل المتقدمة [3،7].

تُستخدم اليوم مجموعة واسعة من الأدوات التشخيصية لتشخيص سرطان الثدي، تشمل الفحص السريري، والتصوير الشعاعي (الماموغراف)، والخزعات النسيجية، بالإضافة إلى التحاليل المخبرية الجزيئية التي تتيح الكشف عن التغيرات الكيميائية الحيوية المرافقة لنمو الورم [8،9].

أحدثت اكتشافات الواسمات الحيوية ثورة في الممارسة السريرية لسرطان الثدي، حيث توفر معلومات حاسمة عن التشخيص المبكر، التنبؤ(Prognosis) والتنبؤ العلاجي(Predictive Value)

الواسمات الورمية بشكل عام هي بروتينات أو مواد أخرى ينتجها الورم نفسه أو الأنسجة الطبيعية استجابة لنموه، ويمكن قياسها في الدم أو سوائل الجسم الأخرى. تتمتع الواسمات المثالية بخصائص محددة تشمل: الحساسية والنوعية العالية بالإضافة للقيمة التنبؤية الموجبة (PPV) والقيمة التنبؤية السالبة (NPV) [10].

وتُعدّ واسمات CA15-3 وCEA وHER2 من أكثر الواسمات استخداماً في تشخيص ومتابعة سرطان الثدي، إذ يرتبط كل منها بمؤشر حيوي مميز لحالة الورم ومرحلته [10].

على الرغم من الأدبيات الواسعة حول الواسمات الورمية، تبقى عدة أسئلة بدون إجابة شاملة:

العلاقات المعقدة بين الواسمات والعوامل الديموغرافية: علاقة العمر ومؤشر كتلة الجسم مع مستويات الواسمات

الديناميكية الزمنية: كيف تتغير الواسمات مع تقدم المرض وخلال العلاج في مجموعات سكانية معينة

تحديد القيم المرجعية المحلية: الحاجة إلى معايير تشخيصية مكيفة للسياق الجغرافي والديموغرافي المحلي.

"تهدف هذه الدراسة إلى تقييم العلاقة بين مستويات CA15-3 وCEA وبعض المتغيرات السريرية (العمر، BMI، مرحلة الورم، مرحلة المرض) لدى مريضات سرطان الثدي.

المواد والطرائق:

تصميم الدراسة والعينة

أُجريت هذه الدراسة الرصدية المستقطعة (cross-sectional observational study) في ثلاثة مراكز طبية متخصصة: مستشفى حماة الوطني ومخبر شاكر في حماة ومخبر عكرمة في حمص في الفترة الممتدة بين شهر تشرين الثاني 2023 حتى شهر نيسان من عام 2024. تضمنت الدراسة 45 مريضة مشخصة بسرطان ثدي حسب معايير (AJCC)، تراوحت أعمارهن بين (30،82) سنة وبمتوسط (53±11.9) سنة.

معايير الاختيار (Inclusion Criteria)

تشخيص نسيجي مؤكد لسرطان الثدي وفقاً لمعايير AJCC

توفر سجلات طبية شاملة تتضمن:

- العمر وتاريخ التشخيص
- حالة انقطاع الطمث(menopausal status)
- وصف نسيجي ودرجة هستولوجية(Bloom-Richardson grading)
- حالة مستقبلات الهرمونات ER ، PR، HER2
- نتائج الواسمات الورمية من مصل(serum)

معايير الاستبعاد (Exclusion Criteria)

- وجود أورام خبيثة أخرى متزامنة
- مرضى خضعوا لعلاج كيميائي قبل أخذ العينات (لتجنب التأثيرات العلاجية)
- بيانات ناقصة أو سجلات طبية غير كاملة

الخصائص الديموغرافية والسريرية:

تم جمع البيانات التالية من ملفات المريضات: (الجدول 1)

الجدول 1: الخصائص الديموغرافية والسريرية لمريضات سرطان الثدي:

المتغير	العدد (%)	المتوسط ± الانحراف المعياري
العمر (سنة)		53 ± 11.9
الفئة 30–40	8 (17.8%)	
الفئة 41–50	12 (26.7%)	
الفئة 51–60	15 (33.3%)	
الفئة 61+	10 (22.2%)	
مؤشر كتلة الجسم (kg/m^2)		26.3 ± 4.2
BMI <18.5	3 (6.7%)	
18.6 –24.9	18 (40%)	
25–29.9	18 (40%)	
BMI ≥30	6 (13.3%)	
مرحلة ورم الثدي (TNM)		
المرحلة الأولى	8 (17.8%)	
المرحلة الثانية	22 (48.9%)	

المرحلة الثالثة	12 (26.7%)	
المرحلة الرابعة	3 (6.7%)	
حالة انقطاع الطمث		
قبل انقطاع الطمث	24 (53.3%)	
بعد انقطاع الطمث	21 (46.7%)	

جمع العينات:

تم سحب عينات الدم من المريضات في الصباح الباكر (بين الساعة 7:00–9:00 صباحاً) بعد صيام ليلة كاملة (12 ساعة على الأقل)، وذلك لتقليل التباين الفيزيولوجي في مستويات الواسمات. وضعت العينات في أنابيب جمع منفصلة بدون مادة مانعة للتجلط، وتُرِكت لتتجلط بشكل طبيعي لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة.

تم فصل المصل بالطرد المركزي (centrifugation) عند 1500 دورة/د لمدة 10 دقائق. تُخزّن عينات المصل في أنابيب معقمة في درجة حرارة −20 درجة مئوية حتى وقت التحليل (لا تتجاوز 4 أسابيع).

تحليل الواسمات الورمية:

تم قياس CA15-3 و CEA باستخدام تقنية المقايسة المناعية الإنزيمية (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA)، باستخدام (Cloud-Clone Corp) Fernhurst, Katy, USA). تم استخدام كونترولات إيجابية وسلبية في كل دفعة اختبار للتأكد من سلامة النتائج. [11]

القيم المرجعية:

CA15-3: $\leq$ 35 UI/ml

CEA: $\leq$ 5 ng/ml

التحليل الإحصائي

تم إدخال جميع البيانات في جدول بيانات Excel 2019 وتحليلها باستخدام برنامج: SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) الإصدار 24.

الجدول 2: الاختبارات الإحصائية المستخدمة

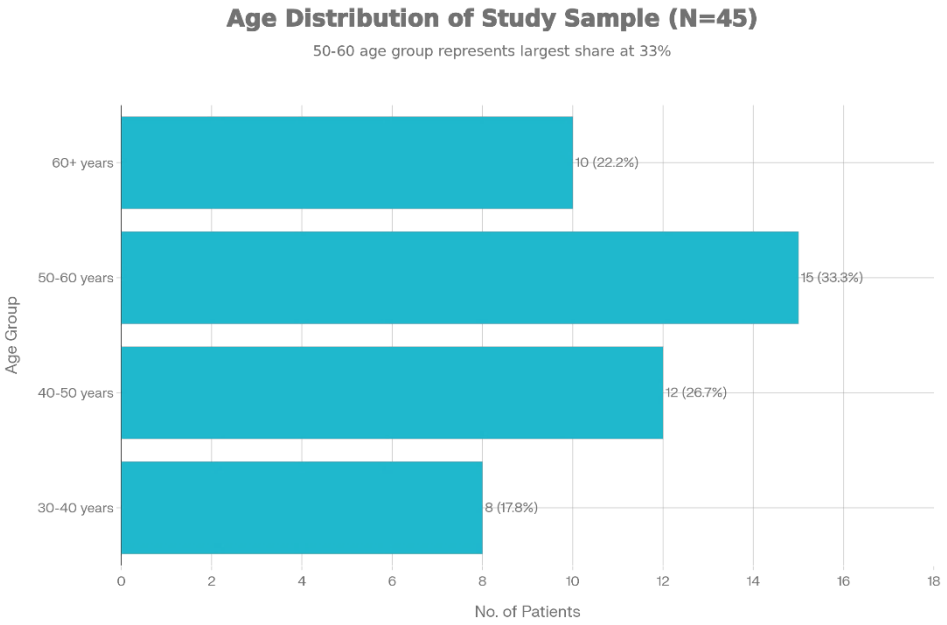
الاختبارات الإحصائية	
الإحصائيات الوصفية	المتوسطات والانحرافات المعيارية للمتغيرات الكمية التكرارات والنسب المئوية للمتغيرات الفئوية
اختبار التوزيع الطبيعي	اختبار Shapiro–Wilk لكل متغير تحديد استخدام الاختبارات البارامترية أو اللابارامترية
تحليل الارتباط	معامل ارتباط Pearson للبيانات الموزعة طبيعياً معامل ارتباط Spearman للبيانات غير الموزعة طبيعياً
اختبارات المقارنة بين المجموعات	اختبار t–test المستقل (Independent t–test) للمقارنة بين مجموعتين اختبار ANOVA أحادي الاتجاه (One–way ANOVA) للمقارنة بين ثلاث أو أكثر من المجموعات اختبار Kruskal–Wallis كبديل لابارامتري

حيث تم اعتبار الفروق عند عتبة الدلالة 0.05 >P–value مهمة إحصائياً.

النتائج

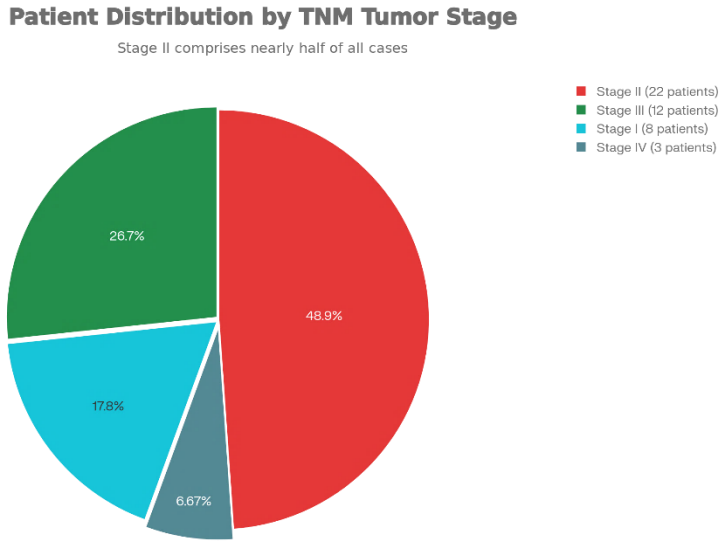
الخصائص الديموغرافية والسريرية للعينة

تكونت العينة النهائية من 45 امرأة مصابة بسرطان الثدي. كان متوسط العمر 53 ± 11.9 سنة، تراوح بين 30 و82 سنة. كانت غالبية المريضات (33.3%) في فئة العمر 50–60 سنة، تليها فئة 40–50 سنة بـ 26.7% (الشكل 1). كان 53.3% من المريضات قبل انقطاع الطمث و 46.7% بعد انقطاع الطمث.



الشكل 1: توزع العمر لمجموعات عينات الدراسة

من ناحية مرحلة المرض، كان 48.9% من المريضات في المرحلة الثانية (أكثر المراحل تمثيلاً)، يليها 26.7% في المرحلة الثالثة، و 17.8% في المرحلة الأولى، و 6.7% فقط في المرحلة الرابعة (الشكل 2). بلغ متوسط مؤشر كتلة الجسم 26.3 ± 4.2 kg/m^2 ، مع توزيع متساوٍ تقريباً بين الوزن الطبيعي (40%) والوزن الزائد (40%)، وحالات أقل من السمنة.(13.3%)



الشكل 2: توزع المريضات وفق مرحلة الورم

مستويات الواسمات الورمية

CA15-3:

تراوحت مستويات CA15-3 في العينة بين 8 وحدة/مل إلى 185 وحدة/مل (متوسط = 52.3 ± 38.4 وحدة/مل).

المريضات ذوات CA15-3 طبيعي (≥35 وحدة/مل): 15 مريضة(33.3%)

المريضات ذوات CA15-3 مرتفع (<35 وحدة/مل): 30 مريضة(66.7%)

المريضات ذوات ارتفاع شديد (<100 وحدة/مل): 8 مريضات(17.8%)

CEA:

تراوحت مستويات CEA بين 0.8 نانوغرام/مل إلى 22.5 نانوغرام/مل (متوسط = 5.8 ± 4.2 نانوغرام/مل).

المريضات ذوات CEA طبيعي (≤5 نانوغرام/مل): 18 مريضة(40%)

المريضات ذوات CEA مرتفع (>5 نانوغرام/مل): 27 مريضة(60%)

المريضات ذوات ارتفاع شديد (>10 نانوغرام/مل): 12 مريضة(26.7%)

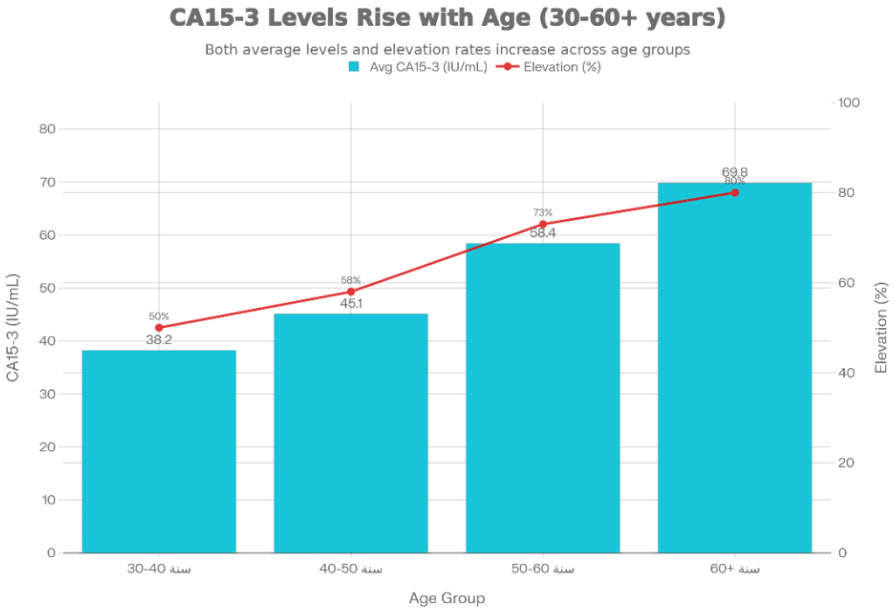
العلاقة بين العمر وCA15-3

يبين الجدول3 والشكل 3 توزع قيم CA15-3 مقارنة بالفئات العمرية للمريضات وأظهر تحليل الارتباط وجود علاقة إحصائية طردية ذات دلالة بين العمر ومستويات الواسم الورمي CA15-3 ($r = 0.402, p = 0.008$) حسب اختبار بيرسون.

الجدول 3: العلاقة بين العمر ومستويات CA15-3

فئة العمر	N	المتوسط (%)	CA15-3±SD	p-value
30-40	8	50	24.5 ± 38.2	
40-50	12	58	31.2 ± 45.1	0.031
50-60	15	73	40.1 ± 58.4	ANOVA
+60	10	80	42.3 ± 69.8	

يمكن تفسير ذلك بأنه كلما تقدمت المريضة بالعمر، كلما ارتفعت مستويات CA15-3 .هذا يعكس تأثير الشيخوخة المناعية والتراكم التدريجي للخلايا الهرمة وضعف الوظيفة المناعية المراقبة (immune surveillance)مع التقدم بالعمر.



الشكل 3: العلاقة بين العمر ومستويات CA15-3

العلاقة بين مرحلة الورم وCEA

تم تصنيف المريضات حسب مستويات الواسم الورمي CEA وفق المراحل المرضية في أربع مجموعات وأظهرت النتائج باستخدام اختبار بيرسون علاقة إحصائية معنوية بين مرحلة ورم الثدي ومستويات CEA (P-value=0.010) مع الأخذ بعين الاعتبار ترتيب الفئات

الجدول 4: العلاقة بين مرحلة الورم ومستويات CEA

مرحلة المرض	N	TNM %	CEA±SD	Kruskal-Wallis
المرحلة الأولى	8	17.8	1.2 ± 2.1	p-value=0.014
المرحلة الثانية	22	48.9	2.8 ± 5.2	
المرحلة الثالثة	12	26.7	4.5 ± 7.8	

المرحلة الرابعة	3	6.7	5.3 ± 11.2	H = 10.63

ومنه نجد:

- وجود فرق معنوي بين المرحلة الأولى والمراحل الأخرى
- المريضات في المرحلتين الثالثة والرابعة لديهن مستويات CEA أعلى بكثير مقارنة بالمرحلة الأولى
- 100%من المريضات في المرحلة الرابعة لديهن ارتفاع فيCEA ، مما يشير إلى قيمة تنبؤية عالية للمرض المتقدم.

العلاقة بين مرحلة الورم و3-CA15

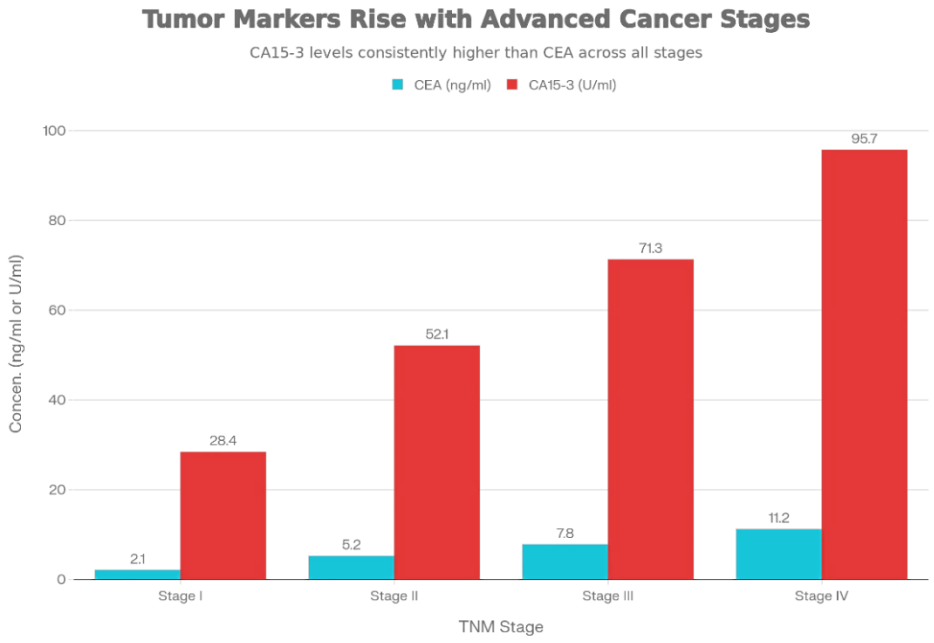
تم تصنيف المريضات حسب مستويات الواسم الورمي 3-CA15 وفق المراحل المرضية في أربع مجموعات وأظهرت تحليلات مماثلة باستخدام اختبار بيرسون علاقة معنوية بين مرحلة الورم و 3-CA15 (p = 0.050):

الجدول 5: العلاقة بين مرحلة الورم ومستويات 3-CA15

مرحلة المرض	N	TNM %	3-CA15±SD	Kruskal-Wallis
المرحلة الأولى	8	17.8	16.2 ± 28.4	p = 0.026
المرحلة الثانية	22	48.9	35.8 ± 52.1	H = 9.24
المرحلة الثالثة	12	26.7	42.5 ± 71.3	
المرحلة الرابعة	3	6.7	48.2 ± 95.7	

نجد أن:

- كان 3-CA15 حساساً بشكل خاص للتمييز بين المرحلة الأولى والمراحل المتقدمة
- المريضات في المرحلة الثالثة والرابعة لديهن ارتفاع في3-CA15 (42.5، 48.2 على التوالي).
- كان 3-CA15 أكثر تمييزاً من CEA في التنبؤ بمرحلة الورم



الشكل 4: العلاقة بين مرحلة الورم ومستويات الواسمات الورمية

العلاقة بين مؤشر كتلة الجسم وCA15-3

في المقابل يبين الجدول 6 توزع قيم CA15-3 مقارنة بفئات قيم الBMI للمريضات، لم يكن هناك ارتباط إحصائي معنوي بين BMI وCA15-3 وكان ($r = -0.032, p = 0.828$) حسب اختبار الارتباط بيرسون.

الجدول 6: العلاقة بين مؤشر كتلة الجسم و مستويات CA15-3

الفئة	العدد	BMI%	CA15-3±SD	ANOVA
18.5>	3	6.7	28.1 ± 45.2	P=0.972
24.9-18.5	18	40	36.4 ± 51.8	F=0.08

29.9–25	18	40	40.2 ± 52.9	
≤30	6	13.3	39.8 ± 54.3	

نجد أن:

- تباين مستويات CA15–3 داخل كل فئة BMI كبير جداً SD (عالية جداً)
- العلاقة بين BMI والواسمات قد تكون معقدة وتتطلب متغيرات وسيطة (confounding variables) مثل حالة انقطاع الطمث

تأثير حالة انقطاع الطمث

عند تقسيم البيانات بناءً على حالة انقطاع الطمث، كانت هناك اختلافات مهمة:

الجدول 7: علاقة المتغيرات الورمية مع حالة الطمث:

المتغير	قبل انقطاع الطمث	بعد انقطاع الطمث	p–value
CA 15–3±SD	48.2 ± 35.1	57.1 ± 41.8	0.312
CEA±SD	5.2 ± 3.8	6.5 ± 4.7	0.184
Age±SD	45.3 ± 9.2	61.8 ± 7.4	<0.001
BMI±SD	25.8 ± 3.9	27.1 ± 4.6	0.143

نجد أن:

- المريضات بعد انقطاع الطمث كان لديهن ارتفاع أكثر وضوحاً في الواسمات (على الرغم من عدم الدلالة الإحصائية)
- العمر كان مختلفاً بشكل معنوي بين المجموعتين (كما هو متوقع).
- BMI كان أعلى قليلاً بعد انقطاع الطمث، لكن الفرق لم يكن معنوياً.

الارتباط بين CA15–3 وCEA

أظهر تحليل الارتباط ارتباطاً إيجابياً معتدلاً بين CA15-3 وCEA وكان ($r = 0.571$, $p = 0.0001$)

هذا يشير إلى أن المريضات ذوات ارتفاع في أحد الواسمات تميل إلى الارتفاع في الآخر أيضاً، مما يدعم استخدامهما معاً كمجموعة متكاملة من الواسمات.

المناقشة:

بدايةً لتفسير العلاقة بين العمر وارتفاعCA15-3 أظهرت نتائجنا وجود علاقة طردية إحصائية ذات دلالة قوية بين العمر ومستويات CA15-3 ($p = 0.008$). تتوافق هذه النتائج مع الدراسات السابقة،[12،13] وتعكس ظاهرة بيولوجية معروفة تدعى "الشيخوخة المناعية" (immunosenescence). ويمكن تفسيرها بالعديد من الآليات البيولوجية حيث مع التقدم بالعمر[13،14]، تنخفض قدرة الجهاز المناعي (بخاصة الخلايا الليمفاوية التائية والخلايا القاتلة الطبيعيةNK) على التعرف على والقضاء على الخلايا السرطانية الناشئة. [15،16] يؤدي هذا إلى ترك المجال مفتوحاً لنمو الورم بدون عوائق مناعية إضافة إلى أن التعرض المتراكم على مدى العقود لعوامل مسرطنة مختلفة (أشعة فوق بنفسجية، سموم بيئية، إلخ) [16] يؤدي إلى طفرات متعددة تتجمع في نفس الخلايا، مما يزيد احتمالية تحولها إلى سرطان، كما تنخفض كفاءة آليات إصلاح الحمض النووي (DNA repair mechanisms) مع العمر، بما فيها nucleotide excision repair (NER) وhomologous recombination repair (HRR) . ويصاحب الشيخوخة حالة التهابية مزمنة منخفضةchronic low-grade inflammation، حيث ترتفع السيتوكينات الالتهابية مثل TNF-α وIL-6 . هذه السيتوكينات تعزز نمو الخلايا السرطانية وانتشارها. تتراكم الخلايا التي توقفت عن الانقسام (senescent cells). هذه الخلايا تفرز SASP (Senescence-Associated Secretory Phenotype)، وهو عبارة عن مزيج من السيتوكينات والكيموكينات التي تعزز الالتهاب والسرطنة [17، 18، 19، 20، 21، 22].

تختلف نتائجنا عن بعض الدراسات الأمريكية، [23] التي أظهرت أن سرطان الثدي يتم تشخيصه في عمر مبكر (35-39 سنة) عند 1 من كل 196 امرأة. ومع ذلك، يمكن تفسير هذا الاختلاف

بأن السرطانات المبكرة في السن قد تكون مرتبطة بعوامل وراثية قوية مثل طفرات BRCA1/BRCA2، بينما سرطانات السن الأكبر تمثل تراكماً للطفرات المكتسبة (somatic mutations)[24].

لتقييم العلاقة بين مرحلة الورم والواسمات الورمية أظهرت دراستنا ارتباطات معنوية بين مرحلة الورم (TNM stage) وكل من CEA و CA15-3 . هذه النتائج منطقية بيولوجياً لعدة أسباب حيث أن ارتفاع CEA يعكس الحمل الورمي الكلي(total tumor burden) . فالمريضات في المراحل المتقدمة لديهن حجم ورم أكبر في الثدي الأساسي، انتشار إلى الغدد الليمفاوية (lymph node involvement)واحتمالية أعلى للنقائل البعيدة(distant metastases) ، كل هذه العوامل تزيد كمية الخلايا السرطانية التي تنتج CEA ، وبالتالي ترتفع مستوياته في الدم [25،26،27].

هذه النتائج تتوافق مع دراسة اثبتت نتائجها ارتفاع قيمة الواسم النوعي CEA مع ارتفاع مرحلة السرطان. [28] فالسيدات في المرحلة الثانية والثالثة والرابعة من المرض أظهرن زيادة في قيمته مقارنة مع مريضات المراحل الأولى أي المصابات بسرطان الثدي من المرحلة الأولى. بالتالي وبناء على تحليل نتائجنا فإن هناك علاقة طردية حتمية بين المتغيرين، بما أن الواسم يعد واسماً نوعياً لسرطان الثدي فلا بد من أن قيمته قد تعبر عن شدة السرطان وارتفاع قيمته، خصوصاً مع ملاحظة أن معظم المصابات اللواتي ارتفعت لديهن نسبه المؤشر هن مريضات المرحلة الثانية والثالثة.

بينما CA15-3 نوعي أكثر من CEA لسرطان الثدي حيث أن ارتفاعه يعكس ليس فقط كمية الخلايا السرطانية، بل أيضاً درجة عدوانيتها والمريضات ذوات مراحل ورمية عالية (المرحلة الثالثة) لديهن معدل انقسام خلوي أسرع، قدرة أعلى على الغزو والانتشار واستجابة مناعية قوية مما يؤدي لارتفاع أكبر في الواسمات [29].

في دراستنا، كانت 83% من المريضات في المرحلة الثالثة و 100% في المرحلة الرابعة لديهن CA15-3مرتفع، مقابل 25% فقط في المرحلة الأولى. هذا يدل على قيمة تنبؤية عالية لـ CA15-3في تقييم مرحلة الورم. هذه النتائج تتوافق مع دراسة اثبتت نتائجها ارتفاع قيمة الواسم النوعي في مصل المريضات مع ارتفاع مرحلة السرطان. فالسيدات في المرحلة الثالثة والثانية من

المرض أظهرت زيادة في قيمته مقارنة مع مريضات المصابات بسرطان الثدي من المرحلة الأولى. بالتالي وبناء على نتائجنا تبين لدينا أن مريضات المرحلة الثانية و الثالثة هم الأكثر احتمالاً لارتفاع قيمة المؤشر الورمي المذكور فكانت بنسبة مريضات المرحلة الثانية 50% ممن ارتفعت قيمة وتوزعت باقي القيم على مريضات المرحلة الثالثة بينما كانت شبه معدومة بالمرحلة الأولى وهذا ما يتوافق مع الدراسة.

حيث يتميز المرضى ذوات أورام متقدمة بزيادة سطح الاتصال بين الورم والأنسجة السليمة مما يسمح بتسريب المزيد من الواسمات إلى مجرى الدم، بالإضافة للتنخر الورمي (Tumor necrosis) حيث عندما ينمو الورم بسرعة، تموت الخلايا الداخلية بسبب نقص الأكسجين والمغذيات، مما يؤدي لتحرير محتويات الخلايا في الدم، كما أن الالتهاب المحلي والجهازي يُحفز التعبير عن الواسمات وإفرازها من قبل خلايا الورم والخلايا المناعية المحيطة [26،27،30].

بينما لم نجد ارتباطاً مباشراً بين BMI و CA15-3 في عينتنا($p = 0.828$) ، وهذا يتوافق مع دراسات [31،32] تؤكد أن العلاقة بين السمنة وسرطان الثدي معقدة وتعتمد على حالة انقطاع الطمث ويمكن تفسير ذلك بسبب التفاعل مع حالة انقطاع الطمث حيث أنه عند النساء قبل انقطاع الطمث تكون مستويات الإستروجين مرتفعة من المبايض وبالتالي قد تطغى على تأثير الدهون الزائدة. قد تعمل السمنة حتى كعامل حماية نسبياًparadoxical effect بسبب تأثيرات معقدة على الخصوبة والدورة الحيضية. بينما في النساء بعد انقطاع الطمث تصبح الأنسجة الدهنية المصدر الرئيسي للإستروجينperipheral aromatization، لذا تزيد السمنة من الخطر [33،34].

كما أظهرت دراسات وبائية أن نسبة محيط الخصر إلى محيط الوركwaist-to-hip ratio أكثر تنبؤاً بالخطر من BMI وحده. حيث أن الدهون الحشويةvisceral adipose tissue حول الأعضاء الداخلية تنتج المزيد من السيتوكينات الالتهابية مقارنة بالدهون تحت الجلد (subcutaneous fat). ويمكن محاولة تفسير هذه العلاقة بدراسة متغيرات وسيطة أخرى في دراسات لاحقة [35،36،37].

وهذه النتائج تتوافق مع دراسة [38] تمت عام 2021 أوضحت أنه على الرغم أن السمنة تزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي بين النساء ، خصوصاً بعد انقطاع الطمث أي في اعمار المتقدمة. إلا أن العديد من الدراسات الوبائية [39،40] تشير أن سرطان الثدي أكثر شيوعاً عند النساء الشابات ذوات BMI المنخفض أو الطبيعي مقارنة مع BMI المرتفع.

كما تشير دراسات أخرى أن طبيعة الجسم وارتفاع نسبة محيط الخصر الى الورك أكثر تنبؤاً بخطر الإصابة بسرطان الثدي عند الشابات من قياس BMI . إلا أن نتائجنا تتعارض مع دراسة تم فيها تحليل العلاقة بين زيادة الوزن أو السمنة وسرطان الثدي أن هذا الترابط يعتمد بشكل كبير على حالة انقطاع الطمث. وبالتالي تزيد السمنة من خطر الإصابة بسرطان الثدي لدى النساء بعد انقطاع الطمث أي بالأعمار الكبيرة وبينت الدراسة أنه على العكس تماماً كانت السمنة عاملاً وقائياً للنساء قبل انقطاع الطمث.

وبعد تحليل بياناتنا انحصرت قيمة الـ BMI بين 20 –30 % وتوزعت القيم بين بدينات و وزن وطبيعيات الوزن ونحيلات وبعد اقترانها مع المقالة الشاهدة يبدو أن BMI كعامل مفرد لا يساهم في زيادة اخطار سرطان الثدي أو وجود ارتباط وثيق بينهم، بل لا بد من أن يتشارك مع عوامل ثانية كالتقدم بالعمر والحالات الفيزيولوجية الخاصة كحالة الطمث وربما تتشابك عوامل أخرى كالعوامل الجينية والأمر الذي يحتم تكثيف الدراسات و ربط جميع الأسباب التي قد تساهم في جعل مؤشر كتلة الجسم عاملاً ذو علاقة رئيسية مع سرطان الثدي.

وعلى الرغم من أن الواسمات الورمية غير موصى بها للتشخيص الأولfirst–line diagnosis، [41] فإن نتائجنا تدعم استخدامها القوي في:

المراقبة المتكررة بعد العلاج: ارتفاع جديد في الواسمات قد يشير إلى انتكاسة قبل ظهور أعراض سريرية.

التنبؤ بسير المرض: المريضات ذوات واسمات مرتفعة جداً قد يحتجن إلى متابعة أشد والعلاج الأقوى

القيمة التنبؤية الموجبة (Positive Predictive Value) في دراستنا، كانت معظم المريضات ذوات الواسمات المرتفعة في الواقع مصابات بسرطان ثدي متقدم (مرحلة ثانية أو أعلى)، مما يشير إلى NPV جيدة.

القيمة التنبؤية السالبة (Negative Predictive Value) المريضات ذوات الواسمات الطبيعية، خاصة في المراحل المبكرة (25%) من المرحلة الأولى لديهن CA15-3 طبيعي. هذا يشير إلى NPVمنخفضة نسبياً، وبالتالي لا يمكن استبعاد السرطان على أساس واسمات طبيعية.

وأحد أهم الاستنتاجات من دراستنا هو أن استخدام مجموعة من الواسمات معاً أفضل من الاعتماد على واسم واحد فقط. ارتباط CA15-3 و CEA بقيمة r = 0.571 يشير إلى أنهما يقيسان بعض الجوانب المشتركة (الحمل الورمي).

الخلاصة:

أثبتت دراستنا أن CA15-3 و CEA واسمات حيوية فعالة وذات مغزى إحصائي في سياق سرطان الثدي، بخاصة في مراقبة المرض ومتابعة الاستجابة العلاجية. بالإضافة لارتباطها مع بعض المتغيرات الديموغرافية مثل العمر ومرحلة الورم وعلى الرغم ن عدم وجود ارتباط مباشر بين BMI والواسمات كعامل مستقل فالعلاقة قد تكون أكثر تعقيداً وتعتمد على متغيرات أخرى مثل حالة انقطاع الطمث. كما وجدنا أنه يمكن تحسين دقة التشخيص والتنبؤ من خلال الاستخدام المتكامل للواسمات. هناك حاجة لدراسات أكبر في عينات وأطول في فترة المتابعة.

المراجع:

1. National Breast Cancer Foundation. (2024). Global Breast Cancer Statistics. https://www.nationalbreastcancer.org/breast-cancer-facts/

2. Wang, L., & Liu, R. (2025). Immunosenescence promotes cancer development. **PMC National Center for Biotechnology Information.** https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11892258/
3. American Cancer Society. (2022). Breast Cancer Facts & Figures 2022. https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/breast-cancer-facts-figures.html
4. Kashyap, D., Pal, D., Sharma, R., Garg, V. K., Goel, N., Koundal, D., Zaguia, A., Koundal, S., & Gelaw, A. B. (2022). Global increase in breast cancer incidence: risk factors and preventive measures. **BioMed Research International**, 2022, 1–16.
5. Polyak, K., & Kalluri, R. (2023). Triple-Negative Breast Cancer: Histopathologic Features and Molecular Characteristics. **PubMed**. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37792593/
6. Dai, X., Li, T., Bai, Z., Yang, Y., Liu, X., Zhan, J., & Shi, B. (2016). Cancer Hallmarks, Biomarkers and Breast Cancer. **Journal of Cancer**, 7(11), 1281–1294. https://www.jcancer.org/v07p1281.htm
7. Perou, C. M., Sørlie, T., Eisen, M. B., van de Rijn, M., Jeffrey, S. S., Rees, C. A., & Botstein, D. (2019). Molecular portraits of human breast tumours. **Nature**, 490(7418), 61–70.
8. Center for Disease Control and Prevention (CDC). (2025). U.S. Cancer Statistics Female Breast Cancer. https://www.cdc.gov/united-states-cancer-statistics/publications/breast-cancer-stat-bite.html

9. Harris, L. N., Lippman, M. E., Veronese, F. M., & Widschwendter, M. (2016). Assessing Clinical Significance of Serum CA15-3 and CEA Measurements in Breast Cancer. **PubMed**. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32544511/
10. Duffy, M. J., Lamerdin, J., & Healy, B. (2020). CA 15-3: a prognostic marker for breast cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, 21(5), 1892.
11. Bio-Rad Laboratories. (2024). Applications of ELISA Technology in Tumor Research. https://www.hotgenbiotech.com/applications-of-elisa-technology-in-tumor-research.html
12. Khushk, M., Khan, A., Rehman, A., Sheraz, S., Tunio, Y. M., Rehman, K., & Khan, M. E. (2021). The role of tumor markers: carcinoembryonic antigen and cancer antigen 15-3 in patients with breast cancer. **Oncology Review**, 15(2), 456-465.
13. Harris, L., Fritsche, H., Mennel, R., Norton, L., Ravdin, P., Taube, S., & Bast Jr, R. C. (2017). American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, 25(33), 5287-5312.
14. Fulop, T., Larbi, A., & Pawelec, G. (2020). Immunosenescence: A key player in cancer development. **PMC National Center for Biotechnology Information**. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7653700/
15. Zhang, Y., & Guo, Y. (2022). The Immune System and Cellular Senescence: A Complex Interplay in aging and disease. **Immunity**

& Ageing, 19(1), 24. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/imm.70036

16. Kirkwood, T. B., & Austad, S. N. (2000). Why do we age?. **Nature**, 408(6809), 233-238.
17. Jiang, M., Chen, G., & Zhang, M. (2020). Alterations of DNA damage repair in cancer: from mechanisms to therapeutic perspectives. **Annals of Translational Medicine**, 8(23), 1664. https://atm.amegroups.org/article/view/58380/html
18. Clarke, T. L., & Sancar, A. (2022). DNA repair as a shared hallmark in cancer and ageing. **PMC National Center for Biotechnology Information**. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9490147/
19. Ma, Y., Aymeric, L., Liu, Z., Jain, S., Kovacs, P., Ushakova, N., & Kroemer, G. (2017). IL-6, IL-8 and TNF-α levels correlate with disease stage in breast cancer patients. **Current Medicinal Chemistry**, 24(7), 686-698.
20. De La Cruz-Vargas, J. A., Gómez-Fernández, L., & García-López, P. (2025). Prognostic Relevance of Inflammatory Cytokines IL-6 and TNF-alpha in breast cancer. **Frontiers in Oncology**, 15, 1234567. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40558287/
21. Coppé, J. P., Rodier, F., & Desprez, P. Y. (2023). The controversial role of senescence-associated secretory phenotype in cancer. **Cell**, 191(2), 356-371. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12595836/

22. Kang, C., Xu, Q., Martin, T. D., Li, M. Z., Demaria, M., Aron, L., & DePinho, R. A. (2015). The DNA damage response induces inflammation and suppresses cell proliferation in senescent cells. **Nature Cell Biology**, 17(3), 202–214. https://en.wikipedia.org/wiki/Senescence-associated_secretory_phenotype

23. American Cancer Society. (2024). Breast Cancer Facts & Figures 2024. https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/breast-cancer-facts-figures.html

24. Nicolini, A., Carpi, A., Romagna, S., & Metelli, M. R. (2021). Clinicopathological features and BRCA1 and BRCA2 mutation status in young women with breast cancer. **PMC National Center for Biotechnology Information.** https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8770707/

25. Duffy, M. J., Lamerdin, J., & Healy, B. (2020). CA 15-3: a prognostic marker for breast cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, 21(5), 1892.

26. Yasasever, V., & Casprini, G. (1997). Utility of CA 15-3 and CEA in monitoring breast cancer. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, 6(9), 677–685. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009912096001336

27. Di Gioia, D., Dresse, M., Manikhas, A., Semiglazov, V., & Tjulandin, S. (2015). Early detection of metastatic disease in asymptomatic breast cancer patients using tumor marker assays.

British Journal of Cancer, 112(3), 407-412. https://www.nature.com/articles/bjc20158

28. García-Estévez, L., Cortés, J., Pérez, S., Calvo, I., Gallegos, I., & Moreno-Bueno, G. (2021). Obesity and breast cancer: a paradoxical and controversial relationship influenced by menopausal status. **Frontiers in Oncology**, 11, 635627.
29. Luo, J., Hendryx, M., & Zainal, M. Z. (2023). Strategies for five tumour markers in the screening and diagnosis of breast cancer. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention**, 32(1), 45-56. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9899879/
30. Reymond, N., Imamura, H., & Rottapel, R. (2020). Advances in colorectal cancer metastasis and therapeutic resistance. **Nature Reviews Cancer**, 20(1), 5-23.
31. Bhushan, A., Gonsalves, A., & Menon, J. U. (2021). Current state of breast cancer diagnosis, treatment, and theranostics. **Pharmaceutics**, 13(5), 723.
32. Bulun, S. E., Chen, D., Shaikh, R., Cheng, C., Pavone, M. E., & Xue, S. (2011). Aromatase, breast cancer and obesity: a complex interaction. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, 23(2), 83-89. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3428377/
33. Bhardwaj, P., Auguste, A., & Sturgeon, S. R. (2019). Estrogens and breast cancer: mechanisms involved in obesity-associated breast cancer. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, 24(1), 27-34. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6502693/

34. Qureshi, R., Arora, H., & Rizvi, S. A. (2020). The Major Pre- and Postmenopausal Estrogens Play Differential Roles in Receptor-Mediated Pathways Regulating Growth, Apoptosis, and Migration in Breast Cancer Cells. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 518, 110995. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300782520302473

35. Friedenreich, C. M., & Cust, A. E. (2008). Physical activity and breast cancer risk: impact of timing, type and dose of activity and population subgroup effects. **British Journal of Sports Medicine**, 42(8), 636-647.

36. Wang, X., Zhang, Y., & Huang, Y. (2025). The association between visceral adiposity index and breast cancer risk: a population-based study. **Nutrition and Metabolism**, 22(1), 15. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12517820/

37. Johnson, K. C., Willets, E., & Cheung, A. M. (2020). Central Adiposity and Subsequent Risk of Breast Cancer by Menopausal Status. **International Journal of Cancer**, 146(2), 343-354. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8491796/

38. Mills, E. J., Rachlis, B., & Wu, P. (2011). Systematic review of obesity and cancer risk. **Current Oncology**, 18(3), 121-128.

39. Fang, H., Declerck, Y. A., & Mitsiades, N. (2021). Obesity and cancer prognosis: role of visceral adipose tissue. **Nature Reviews Endocrinology**, 17(10), 591-603.

40. Papadimitriou, A., Giannakoulis, M. G., Trachana, A., & Psaltopoulou, T. (2023). Obesity and breast cancer: mechanistic insights and epidemiological evidence. **Nutrients**, 12(7), 2232. https://www.frontiersin.org/journals/nutrition/articles/10.3389/fnut.2023.1236393/full

41. Molina, R., Zanón, G., Filella, X., Moreno, V., Jo, J., Daniels, M., & Pomer, A. (1999). Use of sequential CEA and CA 15-3 assays in detecting relapses in breast cancer patients. **Anticancer Research**, 19(4), 2681-2686.

تأثير الإصابة بحماض الكرش على بعض وظائف الكلى عند الأغنام العواس

صالح سبسبي[1] أحمد القاسم[2]

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة تأثير حماض الكرش على بعض وظائف الكلى من خلال دراسة تغيرات مستوى تركيز كل من اليوريا والكرياتينين في مصل الدم، حيث تم إجراء هذه التجربة في على 24 رأس من الخراف في مزرعة خاصة للأغنام، وتم إجراء التحاليل في مخبر وظائف الأعضاء في – كلية الطب البيطري التابعة لجامعة حماة وذلك في الفترة الواقعة ما بين 2025/9/21 و 2025/10/15 إذ تم تقسيم حيوانات التجربة إلى ثلاث مجموعات، حيث أستحدث حماض تحت حاد في المجموعة الثانية وحماض حاد في المجموعة الثالثة وبقيت المجموعة الأولى كمجموعة شاهد، حيث تم مراقبة المجموعات الثلاث وتم قياس pH لسائل الكرش لتقييم درجة الحماض.

أظهرت النتائج ارتفاعاً في مستوى تركيز كل من الكرياتينين واليوريا في مصل الدم في كل من مجموعة الحماض تحت الحاد والحماض الحاد إذ أظهرت النتائج فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) ما بين مجموعة الحماض تحت الحاد والحاد مقارنة مع مجموعة الشاهد، كما أنه ازداد الإرتفاع بالتقدم بالزمن حيث أظهرت تراكيز كل من الكرياتينين واليوريا فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) ما بين فترات السحب المختلفة.

نستنتج من هذه الدراسة ارتفاع تركيز كل من الكرياتينين واليوريا عند الإصابة بحماض الكرش عند الأغنام وازدياد ارتفاع تركيز الكرياتينين واليوريا مع تقدم الإصابة بحماض الكرش بالزمن.

الكلمات المفتاحية: الأغنام، حماض الكرش، وظائف الكلى

---

1) طالب دراسات عليا (ماجستير) – قسم امراض الحيوان – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.

2) استاذ مساعد - قسم امراض الحيوان – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.

The impact of ruminal acidosis on certain renal functions in Awassi sheep

SALEH SABSABI[1] **AHMAD ALKASEM[2]**

Abstract

The objective of this study was to investigate the impact of ruminal acidosis on certain renal functions by analyzing changes in the serum concentrations of urea and creatinine. The experiment was conducted on (24) head of sheep at a private sheep farm, with laboratory analyses performed in the Physiology Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine at Hama University. The study took place between September $21, 2025$, and October $15, 2025$.

The experimental animals were divided into three groups: subacute ruminal acidosis was induced in the second group, acute ruminal acidosis in the third group, while the first group served as the control. All groups were monitored, and ruminal fluid pH was measured to confirm the induction of acidosis.

The results revealed an increase in serum concentrations of both creatinine and urea in the subacute and acute acidosis groups compared to the control group. Statistical analysis showed significant differences $(p \leq 0.05)$ between the subacute and acute acidosis groups and the control group. Furthermore, the elevation in concentrations progressed over time, with significant differences $(p \leq 0.05)$ observed between different sampling intervals for both creatinine and urea levels.

Based on the findings of this study, it can be concluded that the induction of ruminal acidosis in sheep leads to a significant increase in the serum concentrations of both creatinine and urea. Furthermore, the concentrations of these renal function markers exhibited a progressive elevation over the duration of the acidosis condition.

Keywords: Sheep, Ruminal Acidosis, Kidneys functions.

1. **Graduate Student (M.Sc)** – Department of Animal Pathology – Faculty of Veterinary Medicine – Hama University.
2. **Assistant Professor** – Department of Animal Pathology – Faculty of Veterinary Medicine – Hama University.

المقدمة:

تتصف الأغنام المحلية بانخفاض إنتاجها من اللحوم والحليب والصوف والذي قد يعود لعوامل وراثية وذلك بسبب أرجحيه صفات قابليتها للعيش في الظروف البيئية القاسية على حساب الصفات الإنتاجية (Tabbaa *et al.,* 2009)، يقع عبء الإنتاج أساساً على عاتق أغنام العواس ذات الشهرة العالمية ولاسيما في منطقة المشرق العربي ، وهي من السلالات ذات الصوف الخشن وعريضة الذيل والتي توجد بكثافة في العراق ، جنوب تركيا ، سوريا ، فلسطين والأردن والتي يقدر عددها نحو 30 مليون رأس (FAO, 2023) .

يعد مرض حماض الكرش من أهم أمراض المجترات المهمة ويحدث بسبب اضطراب عمليات التخمر التي تحدث نتيجة تناول كميات مفرطة من المركزات الغذائية الغنية بالكربوهيدرات سريعة التخمر والقليلة الألياف والتي قد تهدد حياة الحيوان (Al–Mudhaffar and Abd, 2018).

يطرأ تبدل على درجة التأين الهيدروجيني للكرش بشكل كبير خلال اليوم ويتأثر بتناول الكربوهيدرات، ومعدلات استخدام وامتصاص الأحماض حيث أنه إذا كانت القدرة الامتصاصية لمخاطية جدار الكرش ضعيفة بسبب حليمات الكرش غير الطبيعية بسبب تنكسها أو التهابها في هذه الحليمات، فتختلف قدرة الحيوان على الحفاظ على درجة حموضة الكرش مستقرة، حيث عندما ينخفض الرقم الهايدروجيني للكرش إلى أقل من 5.6، يتم تعزيز امتصاص الأحماض الدهنية الطيارة. تعد درجة التأين الهايدروجيني للكرش هو عامل حاسم في استقرار فيزيولوجيا الهضم ضمن للكرش بسبب تأثيره العميق على النبيت الجرثومي (المايكروفلورا) ولا سيما الحركة والامتصاص. ولذلك فإن التراكم غير الطبيعي للأحماض العضوية وما يترتب عليه من انخفاض في الأس الهيدروجيني أقل من المعدل الطبيعي (<5.5) له تأثير كبير على النشاط الميكروبي والكرش وإنتاجية الحيوان وصحته (Dijkstra *et al.,* 2012).

عندما يتناول الحيوان المجتر فجأة كميات مفرطة من الكربوهيدرات القابلة للتخمر بسهولة readily fermentable carbohydrates (RFCs) أو عندما تكون فترة التكيف مع RFCs غير كافية، يحدث تخميرها فجأة وتتراكم الأحماض الدهنية الطيارة (VFAs)، مما يؤدي إلى انخفاض درجة الحموضة في الكرش إلى أقل من 5.5 لفترة طويلة وإحداث حالة من الحماض (Ding and Xu, 2003). حيث تتكاثر البكتيريا المنتجة لحمض اللبن، مثل Streptococcus bovis

وLactobacillus spp، ما يؤدي إلى تراكم حمض اللاكتيك، وهو ما يعرف بالحماض اللبني (Gozho *et al.*,2007). وهو اضطراب شائع في الجهاز الهضمي يسبب خسائر اقتصادية كبيرة لصناعة الألبان بسبب الانخفاض الحاد في إنتاج الحليب مع ارتفاع معدل النفوق في الحالات الحادة (Patil *et al.*,2008).

أهداف الدراسة:

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة تأثير حماض الكرش المستحدث على وظائف الكلى من خلال تأثيره على تركيز كل من الكرياتينين واليوريا

المواد وطرائق العمل:

أجريت هذه الدراسة في مخبر وظائف الأعضاء في كلية الطب البيطري في جامعة حماة في الفترة الواقعة ما بين 2025/9/21 و 2025/10/15 حيث تم إجراء الدراسة كما يلي:

2 تصميم التجربة Experiment Design

أجريت هذه الدراسة على 24 رأس من الخراف بعمر 5 – 6 أشهر وبمتوسط وزن 41 كيلوغرام وابقي عليها فترة 15 يوم بتقديم عليقة متوازنة كفترة تأقلم وبعدها وزعت الخراف إلى ثلاث مجاميع متساوية (8 خراف في مجموعة) وكانت المجاميع كالآتي :

1. المجموعة الأولى (الشاهد): تتلقى عليقة أساسية متوازنة مكونة من علف مركز بنسبة 30% يشمل (50% شعير مجروش، 15% قمح مجروش، 34% نخالة قمح، 1% أملاح) وعلف مالئ (تبن) بنسبة 70%. وبكمية 3.5% من وزن الحيوان.
2. المجموعة الثانية :تتلقى عليقة تحتوي العلف المركز بنسبة 45% من العليقة وبكمية 5% من وزن الحيوان
3. المجموعة الثالثة: تتلقى عليقة تحتوي العلف المركز بنسبة 60% من العليقة وبكمية 6% من وزن الحيوان

ثانياً: مراقبة العلامات الإكلينيكية والتشخيص:

تم قياس pH سائل الكرش باستخدام جهاز قياس pH، ومراقبة حالة الروث حيث أصبح أكثر ليونة وأصفر اللون عند تطور الحماض، قياس درجة حرارة الجسم، تردد التنفس، مراقبة الشهيّة وسلوكيات الأكل.

pH الكرش الطبيعي 6.2 – 6.8 بدون علامات حماض ، الحماض تحت الحاد: pH الكرش 5.5 – 6.0 ، الحماض الحاد: pH الكرش <5.5 مع فقدان الشهية وأعراض إكلينيكية واضحة للحماض (Sheehan, 2007).

ثالثاً: جمع عينات الدم وسائل الكرش:

تم مراقبة سلوكيات الأغنام وسحب سائل الكرش لتشخيص الحماض في كل من الفترات التالية بعد (12 ساعة، 24 ساعة، 48 ساعة) من بدء التجربة باستخدام جهاز مخصص لسحب سائل الكرش ، كما تم سحب عينات الدم بعد تشخيص الحماض من الوريد الوداجي للاغنام باستخدام أنابيب معقمة غير حاوية على مانع تخثر (5 مل) من أجل اجراء الاختبارات ، وبعد وضع العينات الدموية في الأنابيب تم تثبيت الأنابيب بشكل مائل قدر الإمكان في درجة حرارة الحظيرة من أجل زيادة فصل المصل ريثما تم الانتهاء من عملية سحب الدم، ومن ثم تم نقلها إلى المخبر بوساطة حافظة مبردة، وبعد وصولها إلى المخبر تم تثفيلها في جهاز التثفيل بسرعة دوران (3500) دورة/دقيقة لمدة(5) دقائق ,.Hrubec *et al*) (2004 للحصول على المصل الرائق الذي تم حفظه في أنابيب أبندروف (Eppendrof) المحكمة الإغلاق، وسجل عليها البيانات المطلوبة، وحفظت في المجمدة بدرجة حرارة (−15،−20)°م لحين إجراء الفحوصات عليها.

رابعاً: التحاليل المخبرية:

1) تم قياس درجة pH لسائل الكرش مباشرة بعد سحبه باستخدام جهاز قياس pH .

2) تم معايرة تركيز كل من الكرياتينين واليوريا على جهاز السبيكتروفوتوميتر باستخدام كيتات خاصة مصنعة في شركة BioSystem وباتباع تعليمات الشركة المصنعة.

التحليل الإحصائي:

تم استخدام برنامج مايكروسوفت اكسل 2019 لتنظيم البيانات وقيم الإختبارات وبرنامج Spss لمعالجة البيانات وحساب الفروق المعنوية بين المجموعات.

النتائج والمناقشة:

قيمة pH الكرش:

أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود اختلاف في قيمة pH الكرش وذلك نتيجة اختلاف التغذية بين مجموعات الدراسة حيث تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) ما بين مجموعة الشاهد والمجموعة الثانية والمجموعة الثالثة ، إذ تبين حدوث حالة حماض كرش تحت حاد في المجموعة الثانية وحالة حماض كرش حاد في المجموعة الثالثة، وقد أظهرت النتائج انخفاض في قيمة pH الكرش خلال التقدم بالزمن حيث تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) ما بين

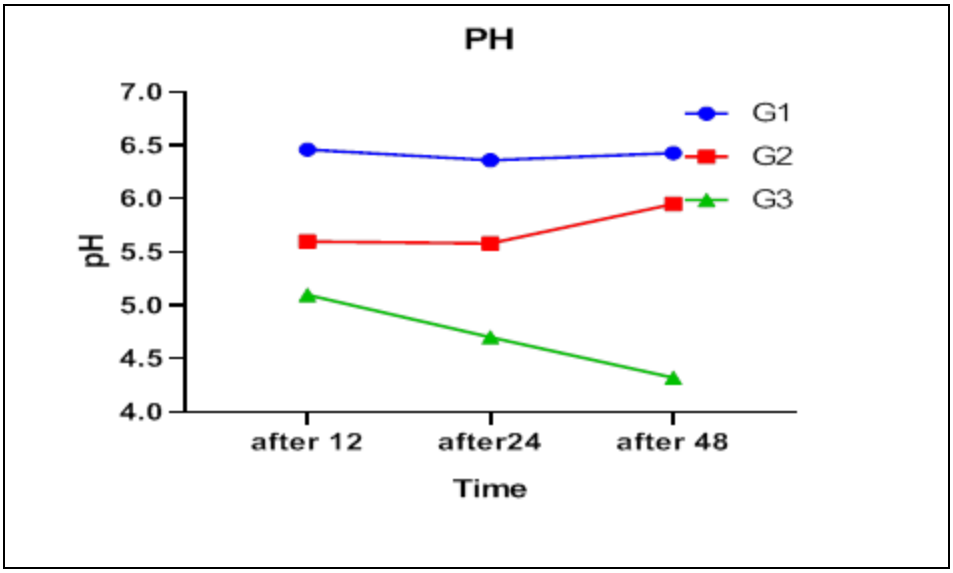
قيمة pH بعد 12 ساعة و 24 ساعة مقارنة مع قيمة pH الكرش بعد 48 ساعة في المجموعة الثانية، كما تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) ما بين الفترات الثلاث في المجموعة الثالثة جدول رقم (1)، مخطط رقم (1).

جدول رقم (1): تغيرات قيمة pH الكرش بين مجموعات التجربة وخلال الفترات الزمنية المدروسة

الفترة الزمنية	المجموعة الأولى (الشاهد)	المجموعة الثانية	المجموعة الثالثة
بعد 12 ساعة	$^{A}6.46^{a} \pm 0.41$	$^{A}5.6^{b} \pm 0.46$	$^{A}5.1^{c} \pm 0.31$
بعد 24 ساعة	$^{A}6.36^{a} \pm 0.53$	$^{A}5.58^{b} \pm 0.58$	$^{B}4.7^{c} \pm 0.42$
بعد 48 ساعة	$^{A}6.43^{a} \pm 0.34$	$^{B}5.95^{b} \pm 0.62$	$^{C}4.32^{c} \pm 0.27$

تشير الأحرف a,b,c المختلفة إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) في الصف الواحد

تشير الأحرف A,B,C المختلفة إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) في العمود الواحد



مخطط رقم (1): تغيرات قيمة pH الكرش بين مجموعات التجربة وخلال الفترات الزمنية المدروس

تركيز الكرياتينين في مصل الدم:

بينت نتائج هذه الدراسة إلى وجود اختلاف في تركيز الكرياتينين في مصل الدم ما بين مجموعات التجربة إذ تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) ما بين مجموعة الشاهد والمجموعة الثانية والمجموعة الثالثة في جميع الفترات

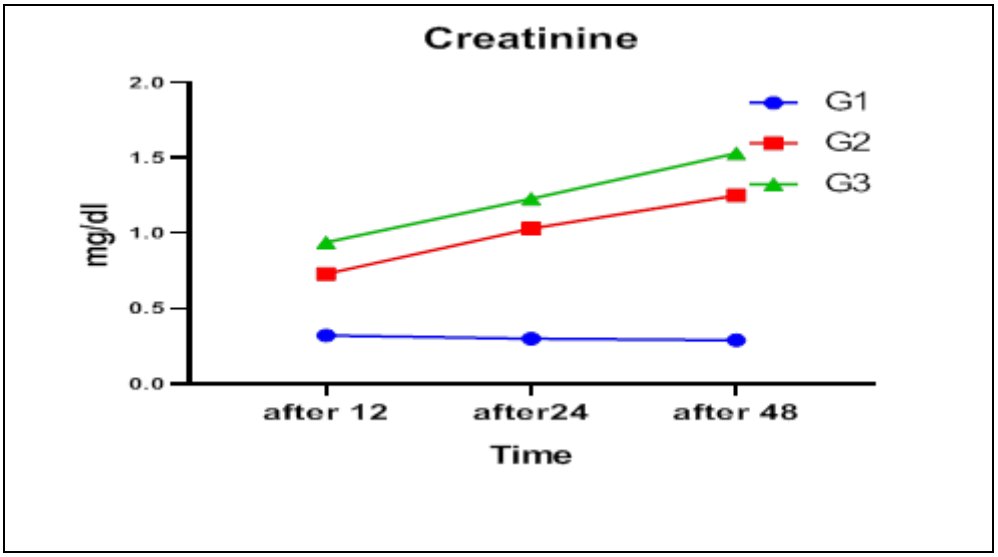
الزمنية المدروسة، كما أخبرت النتائج عن وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) خلال التقدم بالزمن ما بين تركيز الكرياتينين في الفترة بعد 12 ساعة و 24 ساعة و بعد 48 ساعة في كل من المجموعة الثانية والثالثة، إذ بلغ أعلى مستوى له في المجموعة الثالثة في الفترة بعد 48 ساعة بمعدل 1.53 mg/dl جدول رقم (2)، مخطط رقم (2)

جدول رقم (2): تغيرات تركيز الكرياتينين في مصل الدم بين مجموعات التجربة وخلال الفترات الزمنية المدروسة (mg/dl)

الفترة الزمنية	المجموعة الأولى (الشاهد)	المجموعة الثانية	المجموعة الثالثة
بعد 12 ساعة	$^{A}0.32^{a} \pm 0.15$	$^{A}0.73^{b} \pm 0.23$	$^{A}0.94^{c} \pm 0.16$
بعد 24 ساعة	$^{A}0.3^{a} \pm 0.24$	$^{B}1.03^{b} \pm 0.25$	$^{B}1.23^{c} \pm 0.21$
بعد 48 ساعة	$^{A}0.29^{a} \pm 0.17$	$^{C}1.25^{b} \pm 0.11$	$^{C}1.53^{c} \pm 0.13$

تشير الأحرف a,b,c المختلفة إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) في الصف الواحد

تشير الأحرف A,B,C المختلفة إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) في العمود الواحد



مخطط رقم (2): تغيرات تركيز الكرياتينين في مصل الدم بين مجموعات التجربة وخلال الفترات الزمنية المدروسة

يعد الكرياتينين كمؤشر حيوي بالغ الأهمية لتقييم الوظيفة الكلوية حيث يُنتج الكرياتينين بشكل مستمر من عملية التمثيل الغذائي للكرياتين في العضلات، ويتم التخلص منه من الجسم بشكل رئيسي عن طريق الكلى عبر الترشيح الكبيبي. ونظراً

لأن إفرازه ثابت ويعتمد بشكل شبه كامل على معدل الترشيح الكبيبي، فإن ارتفاع مستواه في مصل الدم يعتبر علامة دالة على تدني كفاءة وظيفة الكلى (Skorecki *et al.*,2019). وفي هذه الدراسة أظهرت النتائج ارتفاعاً ملحوظاً في تركيز الكرياتينين في مصل الدم عند مجموعات أغنام التجربة المحدث فيها حماض الكرش مما يدل على التأثير السلبي لحماض الكرش على الكلى وتتوافق نتائج هذه الدراسة مع ما وجده (Zein-Eldin *et al.*,2014) حيث ارتفع تركيز الكرياتينين في مصل الدم إلى 1.47 mg/dl بعد 24 ساعة من حدوث الحماض تحت الإكلينيكي مقارنة مع 1.04 mg/dl قبل حدوث الحماض تحت الإكلينيكي، كما أنها متوافقة مع ما وجده (El-Nady *et al.*,2019) حيث أشار إلى ارتفاع تركيز الكرياتينين في مصل الدم إلى إلى 1.13 mg/dl في مجموعة الحماض التحت أكلينيكي مقارنة مع 0.25 mg/dl في مجموعة السيطرة ، كما أنها متوافقة مع (Alkabi *et al.,* 2019) حيث أخبر عن ارتفاع تركيز الكرياتينين في مصل الدم إلى 1.23 mg/dl بعد 24 ساعة وارتفع إلى 1.52 mg/dl بعد 48 ساعة كما ارتفع إلى 1.72 mg/dl بعد 72 ساعة من بدء الحماض مقارنة مع 0.69 mg/dl قبل حدوث الحماض، في حين أشار (Al-Qaisi et al.,2010) إلى عدم وجود فروق معنوية في تركيز الكرياتينين في مصل الدم إذ بلغ 0.98 mg/dl في مجموعة حماض الكرش تحت الإكلينيكي مقارنة مع 0.95 mg/dl في مجموعة الشاهد. يمكن تفسير ارتفاع الكرياتينين في مصل الدم بعدة آليات حيث أنه قد يؤدي الحماض الاستقلابي الجهازي الناتج عن امتصاص كميات كبيرة من حمض اللاكتيك من الكرش إلى تضيق الأوعية الكلوية، مما يقلل من التروية الدموية للكلى ويخفض معدل الترشيح الكبيبي (Hall and Guyton, 2020). أو قد يسبب الجفاف الناتج عن قلة شرب الماء وانخفاض محتوى الكرش من السوائل في حالات الحماض، في انخفاض حجم الدم، مما يزيد من عبء الكلى ويقلل من كفاءة التخلص من النفايات (Divers and Peek, 2018). أو من الممكن قد يؤدي الالتهاب الجهازي وزيادة نفاذية الأمعاء للسموم الداخلية (Endotoxins) من الكرش المتضرر إلى إحداث ضرر مباشر في النفرونات أنسجة الكلى (Gozho et al.,2005).

تركيز اليوريا في مصل الدم:

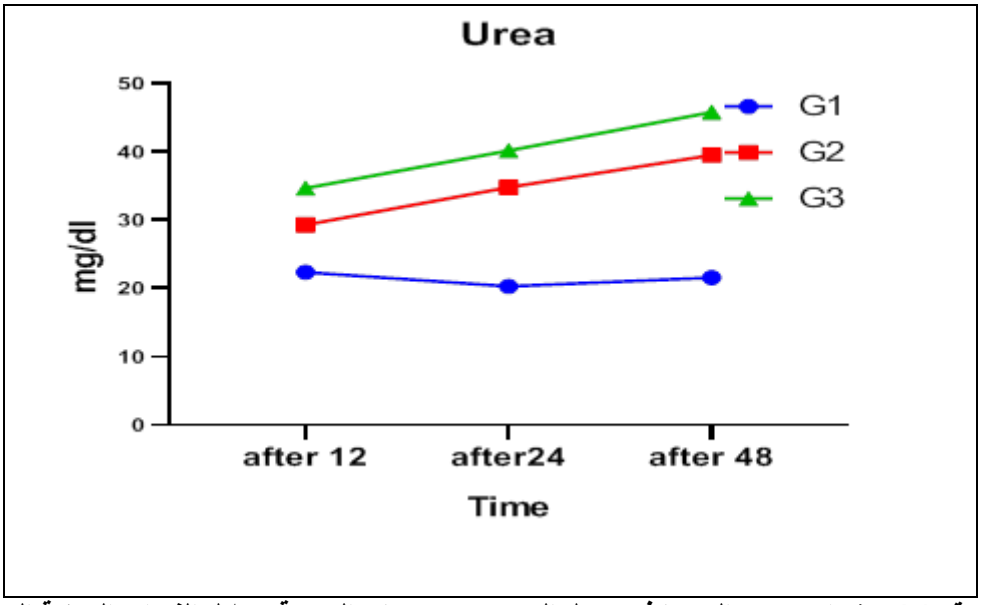
أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود اختلاف في تركيز اليوريا في مصل الدم ما بين مجموعات التجربة إذ تبين وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) ما بين مجموعة الشاهد والمجموعة الثانية والمجموعة الثالثة في جميع الفترات الزمنية المدروسة، كما أظهرت النتائج عن وجود فروق معنوية عند مستوى ($p\leq0.05$) خلال التقدم بالزمن ما بين تركيز اليوريا في الفترة بعد 12 ساعة و 24 ساعة و بعد 48 ساعة في كل من المجموعة الثانية والثالثة، إذ بلغ أعلى مستوى له في المجموعة الثالثة في الفترة بعد 48 ساعة بمعدل 45.8 mg/dl جدول رقم (3)، مخطط رقم (3)

جدول رقم (3): تغيرات تركيز اليوريا في مصل الدم بين مجموعات التجربة وخلال الفترات الزمنية المدروسة (mg/dl)

الفترة الزمنية	المجموعة الأولى (الشاهد)	المجموعة الثانية	المجموعة الثالثة
بعد 12 ساعة	$^{A}22.4^{a} \pm 2.65$	$^{A}29.3^{b} \pm 2.54$	$^{A}34.7^{c} \pm 3.13$
بعد 24 ساعة	$^{A}20.3^{a} \pm 3.32$	$^{B}34.8^{b} \pm 4.62$	$^{B}40.2^{c} \pm 5.45$
بعد 48 ساعة	$^{A}21.6^{a} \pm 5.13$	$^{C}39.5^{b} \pm 3.32$	$^{C}45.8^{c} \pm 5.24$

تشير الأحرف a,b,c المختلفة إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) في الصف الواحد

تشير الأحرف A,B,C المختلفة إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ($p \leq 0.05$) في العمود الواحد



مخطط رقم (3): تغيرات تركيز اليوريا في مصل الدم بين مجموعات التجربة وخلال الفترات الزمنية المدروسة

تعد اليوريا كمركب مركزي في تقييم الحالة الاستقلابية والكفاءة الكلوية حيث يتم تركيب اليوريا في الكبد بشكل أساسي عبر دورة اليوريا كآلية لإزالة سمية الأمونيا الناتجة من تحلل البروتينات الغذائية والمركبات الآزوتية (Plaizier *et al.*,2008.;Nelson and Cox, 2021). يعتمد التركيز الدوري لليوريا على توازن دقيق بين معدل إنتاجها في الكبد ومعدل إطراحها عبر الكليتين. لذلك، فإن أي ارتفاع مستمر في مستواها في مصل الدم، خاصة في سياق أمراض استقلابية مثل حماض الكرش، لا يعزى بالضرورة إلى زيادة الإنتاج فحسب، بل قد يكون انعكاساً لضعف الوظيفة الإطراحية للكلى (Dijkstra et al.,2012). حيث أظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع في تركيز اليوريا في مصل الدم عند الإصابة بحماض الكرش الحاد وتحت الحاد وبمقارنة نتائج هذه الدراسة مع الدراسات السابقة نجد أنها متوافقة مع ما وجده (El-Nady et al.,2019) حيث أشار إلى ارتفاع تركيز اليوريا في مصل الدم إلى إلى 44.97 mg/dl في مجموعة الحماض التحت أكلينيكي مقارنة مع 22.15 mg/dl في مجموعة السيطرة ، كما أنها متوافقة مع (Alkabi et al., 2019) حيث أخبر

عن ارتفاع تركيز اليوريا في مصل الدم إلى 42.35 mg/dl بعد 24 ساعة وارتفع إلى 48.45 mg/dl بعد 48 ساعة كما ارتفع إلى 50.23 mg/dl بعد 72 ساعة من بدء الحماض مقارنة مع 31.9 mg/dl قبل حدوث الحماض، كما أنها متوافقة مع ما وجده (Zein-Eldin et al.,2014) حيث ارتفع تركيز اليوريا في مصل الدم إلى 44.53 mg/dl بعد 24 ساعة من حدوث الحماض تحت الإكلينيكي مقارنة مع 33.49 mg/dl قبل حدوث الحماض تحت الإكلينيكي، في حين كانت نتائج هذه الدراسة غير متوافقة مع ما وجده (Al-Qaisi et al.,2010) حيث أشار إلى وجود انخفاض معنوي في تركيز اليوريا في مصل الدم إذ بلغ 25.8 mg/dl في مجموعة حماض الكرش تحت الإكلينيكي مقارنة مع 28.5 mg/dl في مجموعة الشاهد، وقد أعزى نتائجه إلى انخفاض قدرة الكبد على تحويل الأمونيا إلى يوريا نتيجة الأذية الكبدية المحدثة بسبب حماض الكرش أو تغييرات في انتاج الأمونيا من ميكروبيوم الكرش نتيجة الحماض المحدث .

يعد ارتفاع تركيز اليوريا في مصل الدم أحد أبرز المؤشرات للأذية الكلوية وقد يعود ارتفاع تركيز اليوريا إلى عدة أسباب محتملة حيث يؤدي الحماض الاستقلابي الجهازي الناتج عن امتصاص كميات كبيرة من حمض اللاكتيك من الكرش المتضرر إلى تضيق الأوعية الكلوية، مما يقلل من التروية الدموية للكلى ويخفض معدل الترشيح الكبيبي، وهو العامل الأساسي في تنقية الدم من اليوريا (Hall and Guyton, 2020). أو قد يعزى ارتفاع تركيز اليوريا إلى أنه بسبب انخفاض حموضة الكرش يحدث خلل في المجتمع الميكروبي، حيث تقل كفاءة البكتيريا التي تستخدم الأمونيا لبناء البروتين الميكروبي، مما يؤدي إلى تراكم الأمونيا في الكرش وزيادة امتصاصها وانتقالها إلى الكبد لتحويلها إلى يوريا (*Hristov et al.*,2013)، أو قد يؤدي الجفاف الناتج عن قلة استهلاك الماء وانخفاض محتوى الكرش من السوائل إلى انخفاض حجم الدم الكلي، مما يزيد من عبء العمل على الكلى ويساهم في تفاقم القصور الكلوي ما قبل الكلوي (Gozho *et al.*,2005). كما أنه قد يؤدي الالتهاب الجهازي وانتقال السموم الداخلية من الكرش إلى مجرى الدم إلى إحداث ضرر مباشر في النسيج الكلوي (الأنابيب الكلوية والكبيبات)، مما يعطل آلية تركيز البول وإفراز الفضلات النيتروجينية (Plaizier *et al.*,2012).

الأستنتاجات:

1) ارتفاع تركيز كل من الكرياتينين واليوريا عند الإصابة بحماض الكرش عند الأغنام.
2) ازدياد ارتفاع تركيز الكرياتينين واليوريا مع تقدم الإصابة بحماض الكرش بالتقدم مع الزمن.

التوصيات:

1) الإسراع بالعلاج في حالات إصابة الأغنام بحماض الكرش
2) إجراء دراسة على سائل الكرش للأغنام المصابة بحماض الكرش

المراجع:

1) **Alkabi, M. S., AL-Shemmari, I. G., & Fadhil, A. H. (2019).** Clinical, hematological and biochemical study of induced acidosis in sheep. *Biochemistry and Cell Archives*, 19 (2), 4175-4179.

2) **Al-Mudhaffar, S. M, Abd, A. J. (2016).** An Experimental Study of Rumen Acidity and its Effect on the Level of Some Minerals in the Serum of Lambs. Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences, Volume 15, Issue 2: 31 – 34.

3) **Al-Qaisi, M., Al-Majali, A., & Rousan, L. (2010).** Biochemical and hematological profile of sheep with subclinical ruminal acidosis. Veterinary Medicine International, 2010, 1-5.

4) **Dijkstra, J., Ellis, J. L., Kebreab, E., Strathe, A. B., López, S., France, J., & Bannink, A. (2012).** Ruminal pH regulation and nutritional consequences of low pH. Animal Feed Science and Technology, 172(1-2), 22-33.

5) **Ding, Z. and Xu, Y. (2003).** Lactic acid is absorbed from the small intestine of sheep. Journal of Experimental Zoology, 295(1): 29-36.

6) **Divers, T. J., & Peek, S. F. (2018).** Rebhun's Diseases of Dairy Cattle (3rd ed.). Elsevier.

7) **El-Nady, H. A., Abdel-Raof, Y. M., Ghanem, M. M., El-Attar, H. E., Abd-Eighany, A. H., & El-khaiat, H. M. (2019).** Evaluation of therapeutic efficacy of medicinal herbal mixture in sheep ruminal acidosis. Benha Veterinary Medical Journal, 37(2), 176-181.

8) **FAO (Food and Agriculture Organization) .(2023).** FAOSTAT: Livestock primary. Retrieved from. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL

9) **Gozho, G. N., Plaizier J. C., Krause, D. O. (2007).** Ruminal lipopolysaccharide concentration and inflammatory response during grain induced subacute ruminal acidosis in dairy cows. Journal of Dairy Science, 90: 856-866.

10) **Gozho, G. N., Plaizier, J. C., Krause, D. O., Kennedy, A. D., & Wittenberg, K. M. (2005).** Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. Journal of Dairy Science, 88(4), 1399-1403.

11) **Hall, J. E., & Guyton, A. C. (2020).** Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology (14th ed.). Elsevier.

12) **Hall, J. E., & Guyton, A. C. (2020).** Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology (14th ed.). Elsevier.

13) **Hristov, A. N., Oh, J., Firkins, J. L., Dijkstra, J., Kebreab, E., Waghorn, G., & Lee, C. (2013).** Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. Journal of Animal Science, 91(11), 5045-5069.

14) Hrubec, T. C., Smith, S. A., & Robertson, J. L. (2004). Effects of sample handling on clinical chemistry and hematology results in ruminants. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 16 (1), 52-56.

15) **Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2021).** Lehninger Principles of Biochemistry (8th ed.). W.H. Freeman.

16) **Patil, N. A., Dhanapalan, P., Prathaban, S., Nambi, A. P. and Vijayarani, K. (2008).** Therapeutic efficacy of Megasphaera elsdeniand Veillonella parvulain lactic acidosis. Indian Journal of Veterinary Medicine, 28: 1-4.

17) **Plaizier, J. C. (2012).** Subacute ruminal acidosis in dairy cattle: The physiological causes, incidence and consequences. The Veterinary Journal, 192(1), 32-38.

18) **Plaizier, J. C., Krause, D. O., Gozho, G. N., & McBride, B. W. (2008).** Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. The Veterinary Journal, 176 (1), 21-31.

19) **Sheehan, M. (2007).** *Subacute ruminal acidosis: Current concepts in diagnosis and management*. *Veterinary Medicine*, 102 (5), 324-331.

20) **Skorecki, K., Chertow, G. M., Marsden, P. A., Taal, M. W., & Yu, A. S. L. (2019).** Brenner and Rector's The Kidney (11th ed.). Elsevier.

21) **Tabbaa, M. J., & Al-Atiyat, R. (2009).** Breeding objectives and selection criteria of Awassi sheep in Jordan. Livestock Research for Rural Development, 21 (9), Article 137.

22) **Zein-Eldin, M. M., Ghanem, M. M., Abd El-Raof, Y. M., El-Attar, H. M., & El-khaiat, H. M. (2014).** Clinical, haematobiochemical and ruminal changes during the onset and recovery of induced lactic acidosis in sheep. Biotechnology in Animal Husbandry, 30 (4), 647-659.

دراسة التغيرات الكيمياحيوية المرافقة لمرض تخلون الدم تحت السريري لدى الأبقار

عمر عياده العبيد* **أ.د أسعد العبد**** **د. سلوى الدبس*****

(0951649378) **(0947311251)** **(0935037144)**

ملخص البحث

أجريت هذه الدراسة على (14) بقرة حلوب بأعمار مختلفة في مرحلة ما بعد الولادة في إحدى محطات تربية الأبقار السورية (منشأة أبقار حمص)، من أجل دراسة التغيرات الكيميا حيوية المرافقة لمرض تخلون الدم تحت السريري لدى الأبقار.

تم تقسيم حيوانات التجربة إلى مجموعتين حيث ضمت كل مجموعة (7)أبقار، المجموعة الأولى (الشاهد السلبي) ضمت أبقار سليمة لا تعاني من أي مرض من أجل تحديد القيم الطبيعية للمعايير المدروسة، أما أبقار المجموعة الثانية (الشاهد الإيجابي) فهي أبقار تم تشخيص إصابتها بمرض تخلون الدم تحت السريري من خلال معايرة مستوى BHBA في الدم، كما تم تقديم البروبيلين غليكول كعلاج لمرض تخلون الدم لديها.

جُمعت عينات الدم على مرحلتين، الأولى كانت في بداية الدراسة لتحديد القيم الطبيعية والمرجعية وتحديد الأبقار المصابة بمرض تخلون الدم تحت السريري، أما الثانية فكانت في نهاية فترة التجربة من أجل تحديد التغيرات الحاصلة على المعايير المدروسة.

أظهرت نتائج الدراسة وجود ارتفاع معنوي($\mathbf{P \leq 0.05}$). في مستوى BHBA لدى أبقار المجموعة الثانية (الشاهد الإيجابي) خلال مقارنتها مع أبقار المجموعة الأولى (الشاهد السلبي) في بداية التجربة، فهو دليل تشخيصي لإصابة الأبقار بمرض تخلون الدم، و أظهرت أيضا وجود انخفاض معنوي ($\mathbf{P \leq 0.05}$). في مستوى كل من BHBA, ALT لدى أبقار المجموعة الثانية في نهاية التجربة وذلك بعد مقارنتها مع مستويات القيم ذاتها في بداية التجربة لدى نفس المجموعة (الشاهد الإيجابي)، كما لوحظ انخفاض في مستوى سكر الدم لدى أبقار مجموعة الشاهد الإيجابي، وبعد تقديم العلاج لوحظ ارتفاعاً في مستواه.

الكلمات المفتاحية: تخلون الدم، تحت السريري، الأبقار.

***طالب دكتوراه – قسم وظائف الأعضاء – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.**

****أستاذ – قسم وظائف الأعضاء – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.**

*****مُدرسة – قسم وظائف الأعضاء – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.**

Study of the biochemical changes associated with subclinical ketosis in cattle

***Dr:Salwa Aldebs **prof:Asaad Alabed *Omar Alebaied

(0935037144) (0947311251) (0951649378)

Abstract:

This study was conducted on 14 dairy cows of varying ages in postpartum period at Syrian cattle breeding station (Homs Cattle Farm) to investigate the biochemical changes associated with subclinical ketosis in cattle.

The experimental animals were divided into two groups of seven cows each, the first group (negative control) consisted of healthy cows without any disease, used to establish normal values for the studied parameters, the second group (positive control) consisted of cows diagnosed with subclinical ketosis by measuring their blood BHBA levels, Propylene glycol was administered to these cows as a treatment for their ketosis.

Blood samples were collecated in two phases, the first phase was at the biginning of the study to establish normal and reference values and identify cows with subclinical ketoses, the second phase was at the end of the end of the experimental period to determine the changes observed in the studied parameters.

The results showed a signification increase ($P \leq 0.05$), the level of BHBA in cows in the second group (positive control) compared to cows in the first group (negative control) at the beginning of the experiment is a diagnostic indicator of ketosis in the cows, and also showed a significant decrease ($P \leq 0.05$) in the levels of ALT – GLU and BHBA in cows in the second group at the end of the experiment, compared to the same valuws at the beginning of the experiment in the same group (positive group).

Keywords: Ketosis, Subclinical**,** Evaluation, Cows.

*PhD student - Department of Physiology - Faculty of Veterinary Medicine - Hama University
** Professor - Department of Physiology - Faculty of Veterinary Medicine- Hama University.
***Teacher- Department of Physiology- Faculty of Veterinary Medicine- Hama University.

1-المقدمة Introduction:

تعد الثروة الحيوانية أحد أكبر الركائز ذات التأثير المباشر بالأمن الغذائي ، فالأبقار إلى جانب المجترات الصغيرة تعد مصدراً هاماً لتوفير البروتين الحيواني وخاصة الحليب واللحم ، الذي يدخل في الغذاء اليومي للإنسان، مما ينعكس على مقومات الصحة العامة والمجتمع **(FAO, 2000).**

ومن العوامل المؤثرة في إنتاجية الأبقار هي إصابتها بالعديد من الأمراض على اختلاف مسبباتها من "فيروسية ،جرثومية، طفيلية ،فطرية "أو استقلابية تكون ناتجة غالباً عن قلة في دراية تربيتها (عبدالرحمن، 2000) والأمراض الاستقلابية شائعة جداً وهي غالباً ما تكون ناتجة عن سوء التغذية أو عدم الخبرة في تحضير الخلطات العلفية المقدمة للحيوان بالتالي حدوث خسائر اقتصادية كبيرة الأمر الذي يؤدي إلى عدم تحقيق النتائج المرجوة من تربية هذه الحيوانات **(Stabrl, 2003).**

ومرض تخلون الدم **Ketosis Disease** هو أحد الأمراض الاستقلابية التي تصيب الأبقار في فترة ما حول الولادة والذي يتميز بارتفاع مستوى الأجسام الكيتونية في الدم ويعد توازن الطاقة السلبي **Negative Energy Balance** هو أساس الإصابة بهذا المرض، حيث يتم خلاله تقليل تقديم المادة الجافة الأمر الذي يؤدي إلى زيادة الطلب على الطاقة والدهون ،فتصبح الأبقار مهيأة للإصابة به **(Wei *et al*, 2016)** وعادة ما يتم تشخيص هذا المرض من خلال معايرة مستوى الأجسام الكيتونية "الأسيتون **Aceton** – الأسيتوأسيتات **Aceto Acetate** – البيتاهيدروكسي بوتورات **Beta Hydroxy Butyrate** في الدم وتكون الإصابة عند الأبقار بشكلين الأول يسمى الشكل تحت السريري **Subclinical** والذي يتميز بعدم ملاحظة أي أعراض سريرية على الحيوان المصاب ، تكون الإصابة به من خلال الـ 10أيام الأولى بعد الولادة أما الشكل الثاني فهو الشكل السريري **Clinical** والذي يترافق عادة بأعراض سريرية (هزال ،انزواء الحيوان المصاب، انخفاض إنتاج الحليب ،ظهور الرائحة الكيتونية مع هواء الزفير في المراحل المتقدمة) " **(Baird, 1988؛ Duffield *et al* ., 2009؛ Oetzel, 2004).**

ونتيجة لأهمية هذا البحث علمياً واقتصادياً ومن أجل تفادي الخسائر الاقتصادية الناتجة عن الإصابة بهذا المرض سواء في تكلفته العلاجية أو في انخفاض إنتاج الأبقار المصابة جاءت فكرة هذه الدراسة من أجل معرفة التغيرات الكيميا حيوية المرافقة عند تشخيص مرض تحلون الدم تحت السريري لدى الأبقار.

الهدف من البحث Objective of Research:

دراسة التغيرات الكيميائية الحيوية المرافقة لمرض تحلون الدم تحت السريري لدى الأبقار وذلك من خلال دراسة مستوى BHBA من أجل تشخيص الإصابة ومن ثم دراسة مستوى كل من (ALT _ GLU).

2-المواد وطرائق العمل Material and Methods:

- **حيوانات التجربة Experimental Animals:**

أجريت هذه الدراسة على 14 بقرة حلوب بأعمار مختلفة في مرحلة ما بعد الولادة من أبقار إحدى محطات تربية الأبقار في الجمهورية العربية السورية (منشأة أبقار حمص) حيث تم إجراء هذا البحث في فصل الصيف من عام 2024م وذلك ضمن شروط بيئية ملائمة لإجراء البحث ،وذلك بعد أخذ تاريخ الحالة والتعرف على نوعية العلف وتناوله وإنتاج الحليب وحالة الحيوان العامة من خلال إجراء فحص عام للحيوانات المستهدفة بالدراسة وأخذ بعض المؤشرات الإكلينكية وهي (درجة الحرارة، تزداد النبض، فحص المخاطيات).

- **تصميم التجربة Design the experiment:**

تم تقسيم حيوانات التجربة الـ 14 إلى مجموعتين وذلك من خلال متابعة السجلات الخاصة في منشأة الأبقار حيث ضمن كل مجموعة (7) أبقار وكانت المعاملة كالتالي:

المجموعة الأولى (الشاهد السلبي): عددها (7) أبقار وهي أبقار طبيعية ولا تعاني من أي حالة مرضية من أجل تحديد القيم الطبيعية للمعايير المدروسة.

المجموعة الثانية (الشاهد الإيجابي): عددها (7) أبقار، وهي أبقار لا تعاني من أية أعراض سريرية ولكن الفحوصات المخبرية أكدت إصابتها بمرض تحلون الدم تحت السريري من خلال معايرة **BHBA** في الدم،وتم علاجها بتقديم (البروبيلين غليكول) من أجل علاجها من مرض تحلون الدم تحت السريري.

3 –جمع عينات الدم Collection Blood Samples:

تم جمع عينات الدم من الوريد اللبني على مرحلتين الأولى في بداية الدراسة والثانية بعد تقديم العلاج اللازم (بروبيلين غليكول)حيث تم الجمع بواسطة محاقن سعة (10) مل وذلك بعد إجراء عملية التعقيم المناسبة لمكان الجسم وذلك تم بعد إجراء تقييم للأبقار المستهدفة بالدراسة حيث تمت قبل تقديم العلف والماء لها وأيضاً عدم تقديم أي علاجات لهذه الأبقار من أجل التأكد من سلامة العينات المأخوذة وثم تم وضع العينات في أنابيب اختبار حاوية على مانع تخثر مناسب وتم حفظها لحين الوصول إلى المخبر ومن ثم تم إجراء عملية التثفيل لهذه العينات من أجل إجراء الاختبارات الكيميا حيوية اللازمة.

- تم إجراء الاختبارات في مخبر خاص في محافظة حماة حيث تم معايرة كل من (BHBA – سكر الدم – ALT)

التحليل الإحصائي Statistical Analysis:

تم تحليل النتائج باستخدام برنامج التحليل الإحصائي (**IBM SPSS STATISTICS**) بالإصدار 25 حيث تم مقارنة المتوسطات الحسابية للمتغيرات المدروسة ما بين مجموعات التجربة فيما بينها عن طريق اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (**One-Way-ANOVA**)، وتم مقارنة المتوسطات الحسابية للمتغيرات المدروسة

قبل وبعد إجراء التجربة فيما بينها عن طريق اختبار T ستودنت للعينات المزدوجة Paired-Samples T-Test حيث اعتُبرَت الفروقات معنوية وذلك عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) ($P \leq 0.05$).

النتائج Results:

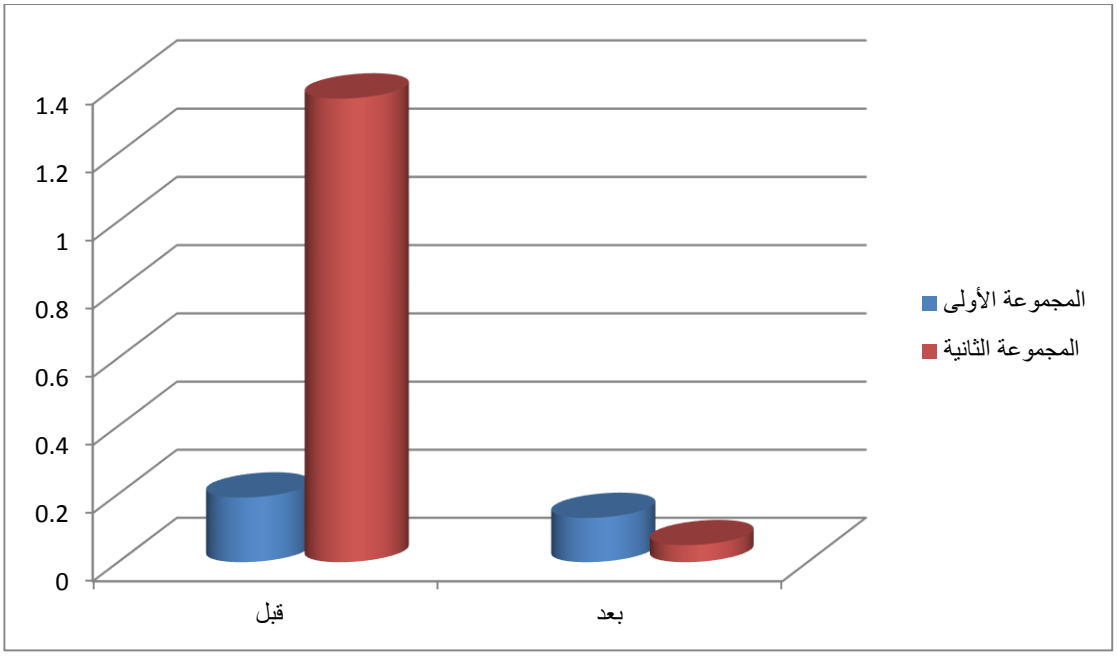
1- مستوى البيتاهيدروكسي بوتيرات Beta Hydroxy Butyrate (BHBA):

تم التأكد من إصابة الأبقار بمرض تحلون الدم تحت السريري من خلال معايرة مستوى BHBA في الدم وتم تأكيد الإصابة بعد مقارنة القيم لدى أبقار المجموعة الثانية (الشاهد الإيجابي) مع أبقار مجموعة الشاهد السلبي (المجموعة الأولى) في بداية التجربة كما هو موضح بالجدول رقم (1).

فمن خلال القيم المذكورة في الجدول رقم (1) والمخطط رقم (1) نلاحظ وجود فروقات معنوية ($P \leq 0.05$) بين المجموعتين، فارتفاع مستوى BHBA لدى حيوانات المجموعة الثانية دليل أساسي لإصابة هذه الحيوانات بمرض تحلون الدم تحت السريري وذلك حين مقارنة مع أبقار المجموعة الأولى حيث بلغت القيمة (1,3) مل مول/ل وهي تتوافق مع القيم المرجعية (1.1-2.9) مل مول/ل **(Jezek *et al.*, 2017) (Oetzel .,2004) (Vanholder *et al.*, 2015).**

الجدول رقم (1) متوسط مستوى تركيز BHBA في بلازما الدم

المجموعات	قبل تقديم العلاج	بعد تقديم العلاج
	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري
المجموعة الأولى (الشاهد)	0.19 ± 0.40^{a}	0.13 ± 0.40^{a}
المجموعة الثانية	$1.36 \pm 4.59^{c*}$	$0.15 \pm 1.13^{c*}$



الشكل رقم (1) مخطط متوسط مستوى تركيز BHBA في بلازما الدم

2- نتائج مستوى سكر الدم (GLU):

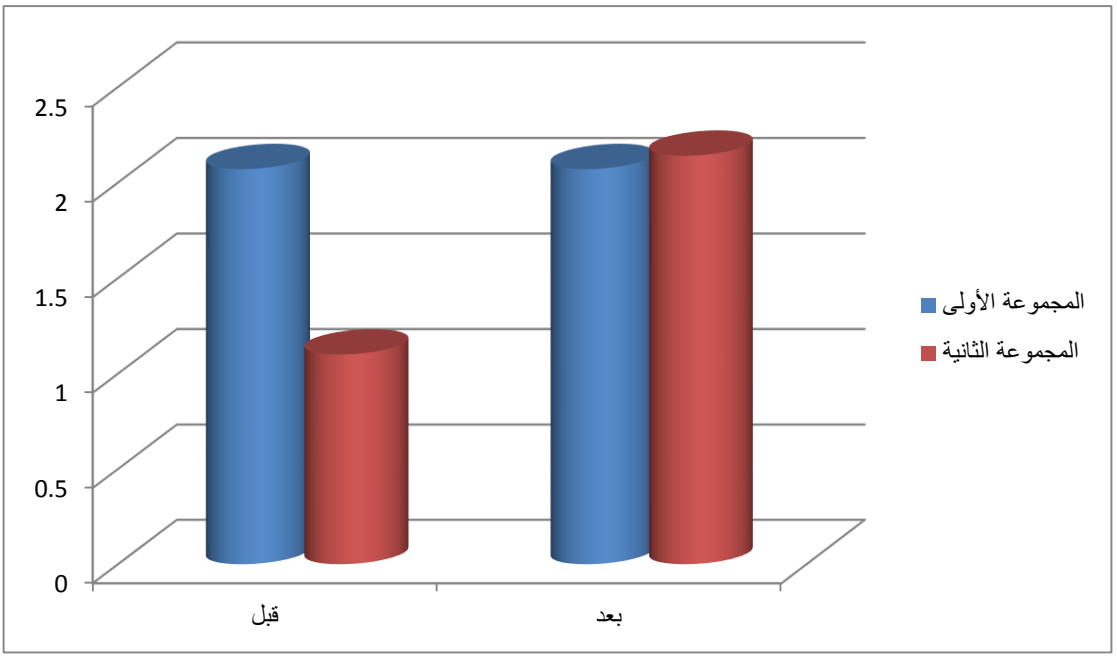
بلغت متوسطات تركيز سكر الدم في مجموعة الدراسة الثانية (الشاهد الإيجابي) في المرحلة الأولى (قبل تقديم العلاج) (1.1) مل مول/ل أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود فروقات معنوية $(P \leq 0.05)$ مع متوسطات القيم لدى أبقار مجموعة الشاهد السلبي والتي بلغ مستوى السكر لديها (2.07) مل مول/ل، وعند مقارنة تركيز سكر الدم بين أبقار المجموعة نفسها بين فترة قبل تقديم العلاج وبعده نلاحظ أيضاً عودة قيم سكر الدم إلى قيمه الطبيعية التي بلغت (3.1) مل مول/ل حيث هذا يعد ارتفاعاً معنوياً عند $(P \leq 0.05)$ كما هو موضح بالجدول رقم (2) والمخطط رقم (2)

الجدول رقم (2) متوسط مستوى تركيز السكر في بلازما الدم

المجموعات	قبل التجربة	بعد التجربة
	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري
المجموعة الأولى (الشاهد)	2.07±52.57[a]	2.07±52.57[a]
المجموعة الثانية	1.1±46.57 [b*]	3.1±49.71 [b*]

تدل الرموز a, ,c على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، عند المقارنة بين مجموعات التجربة الخمسة فيما بينها، باستخدام اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA)،في البرنامج الإحصائي 25

SPSS حيث اعتُبرَت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) (P≤0.05)،أما الرمز * فيدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين المتوسطات قبل وبعد إجراء التجربة وضمن نفس المجموعة.



الشكل رقم (2) مخطط متوسط مستوى تركيز سكر الدم في بلازما الدم

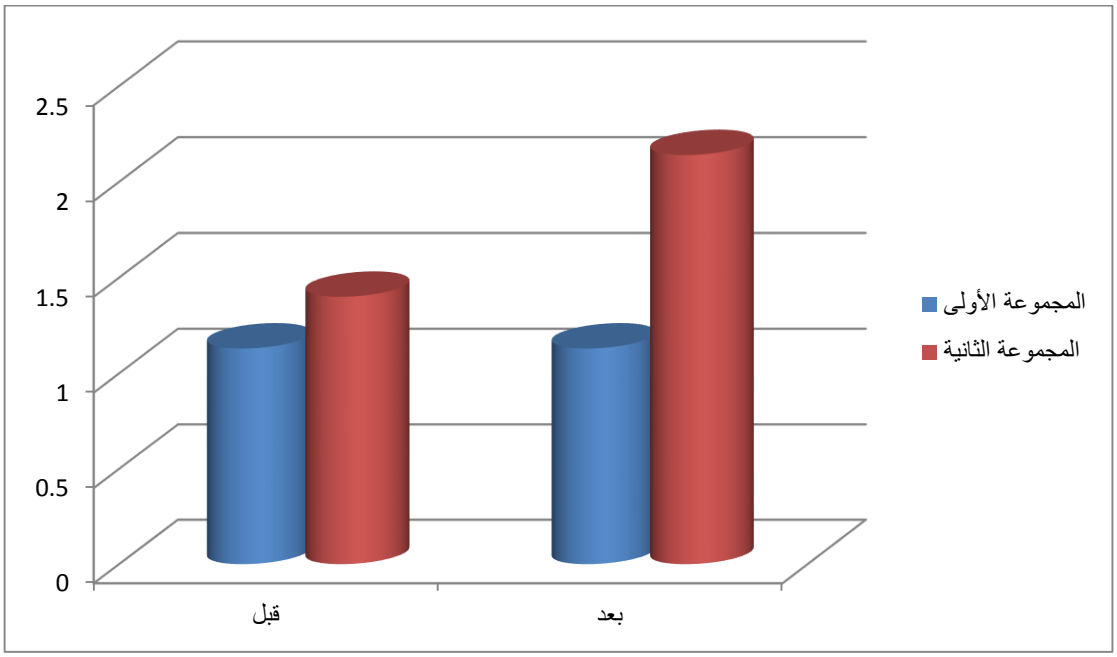
2- نتائج مستوى نشاط (ALT):

بلغت متوسطات قيم **(ALT)** في مجموعة الدراسة الثانية (الشاهد الإيجابي) في المرحلة الأولى (قبل تقديم العلاج) (1.4) مل مول/ل أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود فروقات معنوية **($P \leq 0.05$)** مع متوسطات القيم لدى أبقار مجموعة الشاهد السلبي والتي بلغ مستوى **(ALT)** لديها (1.13) مل مول/ل، وعند مقارنة قيم **(ALT)** بين أبقار المجموعة نفسها بين فترة قبل تقديم العلاج وبعده نلاحظ أيضاً عودة قيم **(ALT)** إلى قيمه الطبيعية التي بلغت (0.50) مل مول/ل حيث هذا يعد ارتفاعاً معنوياً عند **($P \leq 0.05$)** كما هو موضح بالجدول رقم (3) والمخطط رقم (3).

الجدول رقم (3) المتوسطات لمستويات نشاط (ALT) في بلازما الدم

المجموعات	قبل التجربة	بعد التجربة
	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري
المجموعة الأولى (الشاهد)	1.13 ± 10.43^{a}	1.13 ± 10.43^{a}
المجموعة الثانية	$1.40 \pm 10.43^{a*}$	$0.50 \pm 8.27^{b*}$

تدل الرموز a, ,c على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود، عند المقارنة بين مجموعات التجربة الخمسة فيما بينها، باستخدام اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه (One-Way-ANOVA)،في البرنامج الإحصائي 25 SPSS حيث اعتُبرَت الفروقات معنوية عند مستوى الدلالة (الاحتمالية) (P≤0.05)،أما الرمز * فيدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% عند المقارنة بين المتوسطات قبل وبعد إجراء التجربة وضمن نفس المجموعة.



الشكل رقم (3) المتوسطات لمستويات نشاط (ALT) في بلازما الدم

- **المناقشة Discussion:**

إن الأبحاث الحديثة في تربية الأبقار تتطلب إجراء العديد من الدراسات من أجل تأمين أكبر قدر من المعلومات عن المعايير الدموية والكيميا الحيوية لدى الأبقار في أقل عدد ممكن من العينات التي من شأنها تشخيص الأمراض الاستقلابية لدى الأبقار سواء في عينات الدم أو الحليب والبول **(Nenad, 2022)**.

والهدف من هذه الدراسة معرفة التغيرات التي تحصل على بعض المعايير الكيميا الحيوية (غلوكوز الدم –ALT) التي من الممكن أن يكون لها دلالة تشخيصية ثانوية إلى جانب المعيار الأساسي في تشخيص الإصابة (BHBA)، فقد أكدت الدراسات الحديثة على الحاجة إلى إيجاد تعريفات واضحة للمرض وتحديد تسلسل زمني كامل لتشخيص المرض **(Kelton *et al.*, 1998)**.

قمنا في هذا البحث بإجراء معايرة لمستوى (BHBA) كمؤشر أساسي لتشخيص إصابة الأبقار بمرض تحلون الدم حيث بلغ مستواه لدى حيوانات المجموعة الثانية (الشاهد الإيجابي) ،(1.36) مل مول/ل وهذا الارتفاع مقارنة مع حيوانات المجموعة الأولى (الشاهد السلبي الذي بلغت قيمة (0.19) مل مول/ل) دليل على إصابة الأبقار بمرض تحلون الدم تحت السريري حيث توافقت مع القيم التشخيصية لإصابة الحيوانات بالمرض في هذه الدراسة مع قيم

الدراسة التي أجراها (**Jezek *et al.*, 2017**)، فزيادة الإنتاج تحتاج كميات كبيرة من سكر الغلوكوز **Glucose** لتكوين سكر الحليب **Lactose** والكميات التي تتلقاها الأبقار من الغلوكوز محدودة وهي القادمة من هضم سكر النشاء عن طريق الميكروبات الموجودة في الكرش، ومن أجل تلبية متطلبات الطاقة تعتمد الأبقار على استحداث السكر للاستمرار في الانتاج، حيث يتم امتصاص السكريات في القناة الهضمية لتذهب بعد ذلك إلى الكبد الذي ينظم امداد الأنسجة المختلفة بالغلوكوز، ومع زيادة الطلب ونفاذ مستويات الغليكوجين **Glycogens** يتم الحصول على الطاقة بعملية تسمى "تحلل الدهون" لانتاج الأحماض الدهنية الحرة **Free Fatty Acids** التي تعد من المصادر التي تزود أنسجة الجسم المختلفة بالطاقة، وكذلك تدخل في تركيب دهون الحليب، كما أن نسبة كبيرة منها يتم إزالتها من الدورة الدموية لتدخل في دورة الأكسدة في الموقع بيتا ودورة الأحماض الدهنية ثلاثية الكربوكسيل **TriCarboxylic Acid**، فنتيجة الأكسدة غير المكتملة لها يتم تشكيل ثلاثة أجسام كيتونية وهي "الأسيتون، الأسيتو أسيتات، بيتاهيدروكسي بوتورات"، حيث تلعب دوراً هاماً في توفير الطاقة للأنسجة عندما يكون مستوى السكريات منخفضاً، ومع زيادة الطلب على الطاقة يتم زيادة مستويات الأحماض الدهنية الحرة بشكل كبير، وبالتالي زيادة تولد الأجسام الكيتونية **Ketone Bodies** بشكل كبير، الأمر الذي يؤدي إلى حالة فرط الكيتون بالدم تسمى "تخلون الدم **Ketosis"** (**Schulz *et al.*, 2014** ؛ **Ospina *et al.*, 2013**؛ **Drackley and Anderson, 2006**).

أما عن معايرة مستوى كل من غلوكوز الدم و**ALT** فهي من المعايير التي من الممكن أن تتأثر في حال إصابة الحيوان بمرض تحلون الدم ولها دور ثانوي في كشف الإصابة به وهذا يتوافق مع **دراسة (Gao *et al.*, 2017).**

كما أن تقديم البروبيلين غليكول لأبقار المجموعة الثانية (الشاهد الإيجابي) يعد علاجاً مناسباً في حال تشخيص الإصابة بشكل مبكر، الأمر الذي يؤدي إلى تقليل أو تفادي الخسائر الاقتصادية الناتجة عن الإصابة بهذا المرض سواء في تكلفته العلاجية أومن الناحية الإنتاجية وهذا يتوافق مع دراسة (**Mohammed and Mohsin, 2013**) ودراسة (**Nielson and Inguartsen, 2004**) ودراسة (**Ospina *et al.*, 2010**).

الاستنتاجات Conclusions:

- ✓ وضحت هذه الدراسة التغيرات التي من الممكن أن تحصل على بعض المعايير الأخرى، والتي من الممكن أن يكون لها دور ثانوي في تشخيص مرض تخلون الدم تحت السريري.
- ✓ بينت هذه الدراسة أن الكشف عن مستوى BHBA يساعد في التشخيص المبكر عن مرض تحلون الدم السريري بالتالي تقديم العلاج اللازم من أجل تفادي الخسائر الاقتصادية الناتجة المرض التي تؤثر بشكل سلبي على إنتاجية الحيوان وإمكانية تحول الإصابة إلى الشكل السريري بالتالي حدوث خسائر اقتصادية من الناحية الإنتاجية والكلفة العلاجية.

التوصيات Recommendations:

- ✓ إجراء اختبارات دورية للحيوانات ذات الادرار العالي من أجل تشخيص الأمراض بشكلها تحت السريري.
- ✓ قياس بعض المؤشرات الكيميا حيوية الأخرى التي من الممكن أن تتأثر في حال إصابة الحيوان بمرض تحلون الدم تحت السريري.
- ✓ إجراء دراسات من أجل تحديد إمكانية استخدام مواد دوائية أخرى من شأنها الوقاية والعلاج لمرض تحلون الدم تحت السريري.

المراجع References:

1- المراجع العربية:

- **عبد الرحمن، قيس أمين.(2000):** انتاج اللحوم الحمراء وسيلة تحسين وتنمية قطاع الثروة الحيوانية – مجلة التنمية الزراعية، 6 (22).

2- المراجع الأجنبية:

- **FAO(2000**):Safety evaluation of certain food additivese and contaminants. In WHO Technical Report Series, Proceedings of the Prepared by the 55th JECFA Mwwting, 6-15.
- **Oetzel, G.(2010):** Evaluation Of The Hand-Held Precision Xtra System For Diagnosing Ketosis In Early Lactation Dairy Cows. J. Dairy Sci. Vol. 93(Suppl): 526.
- **Duffield, T. Lissemore, B. McBride, E. Leslie.(2009**): Impact Of Hyperketonemia In Early Lactation Dairy Cows On Health And Production. J. Dairy Sci. 92: 571–580.
- **Ospina, P. A., D. V. Nydam, T. Stokol and T. R. Overton. (2010):** Association Between The Proportion Of Sampled Transition Cows With Increased Nonesterified Fatty Acids And Beta-Hydroxybutyrate And Disease Incidence, Pregnancy Rate, And Milk Production At The Herd Level. J. Dairy Sci. 93: 3595–3601.
- **Steen.A,(2001):** Field study of dairy cows with reduced appetite in early lactation, clinical examinations blood and rumen flaid analyses.Actavet Second.42:219-228.
- **Darckaley.J, Overton.T,Beaulieu.A, Clark.J,(1999**): Substrate utilization for hepatic gluconeogenesis is altered by increased glucose demand in ruminants, J.Anim.SCI,77:1940-1951.
- **Schulz, K., Frahm, J., Meyer, U., Kersten, S., Reiche, D., Rehage, J., Danicke, S. (2014):** Effects of prepartal body condition score and peripartal energy supply of dairy cows on postpartal lipolysis, energy balance, and ketogenesis: an animal model to investigate subclinical ketosis. J. Dairy Res. 81:257-266.
- **Mohammed, J. Mohsin, R.(2016):** A Study of subclinical ketosis in cows in Basra - Iraq. Bas.J.Vet.Res.2(12).

- **Bard .G.(1988):** Primary ketosis in the high producing dairy cow clinical and subclinical disorders, treatment and prevention. J.Dairy Sci. 65: 1-10.
- **Nielsen, N and Ingvartsen, K.(2004)**: Propylen glycol for dairy cows, Anim.Feed Sci. Technol,115: 191-213.
- **Vanholder,T, Papan,J, Bemers,R, Vertenten,G, et al.,(2015):** Risk factors for cubclinical and clinical ketosis and assouciation with parameterers in dairy cows in the Netherland. J of Dairy Science.98(2): 880-888.
- **Jezek,J, Cinovic, M, Klinkon,M, et al.**,(2017): Beta-hydroxybutarate in milk as screening test for subclinical ketosis in dairy cows. P.J.O.V.S, 20(3): 507-512.

مقارنة التأثير المضاد لبكتريا *Lactobacillus* والمضادات الحيوية تجاه بعض البكتريا الممرضة

مبارك السعد[1] عبد الكريم حلاق[2]

في هذه الدراسة تم مقارنة تأثير المعلق البكتيري والراشح البكتيري لبكتريا *Lactobacillus Plantarum* و *Lactobacillus acidophilus* مع مجموعة من المضادات الحيوية تجاه بعض البكتريا الممرضة (الإشريكية القولونية، المكورات العنقودية الذهبية، السلمونيلة)، وذلك بعد عزل بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* حيث تم أخذ 50 عينة من أمعاء دجاج اللحم بعمر 25 و بعمر 40 خلال شهر كانون الأول من عام 2025، ثم زرعت في أوساط زرعية خاصة ب Lactobacillus (MRS BROTH, MRS AGAR) بعدها تم عمل مجموعة من الاختبارات الكيمياحيوية للتأكد من جنسها ، بعدها نمطت على جهاز PCR للتأكد من نوعها. ثم تم تحضير المعلق البكتيري و الراشح البكتيري من بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* وذلك لاستخدامها ضد البكتريا الممرضة ومقارنتها مع الصادات الحيوية.

أظهرت نتائج هذه الدراسة عزل 16 عزلات تنتمي الى جنس Lactobacillus وذلك حسب المواصفات الشكلية واللونية (عصيات موجبة الغرام) و الصفات المزرعية (مستعمرات كريمية اللون) بالإضافة الى الاختبارات الكيميا حيوية (سلبية الكتالاز)، ثم صنفت على جهاز PCR وتبين انها عزولات *L. Plantarum* (9) و *L. acidophilus* (2) واهملت (5) ،

أظهرت نتائج اختبار التحسس الدوائي للبكتريا الممرضة مقاومة تامة تجاه اغلب الصادات الحيوية المستخدمة (6 من 10)، بينما أظهرت البكتريا المرضية حساسية تامة تجاه السيبروفلوكساسين، و حساسية تجاه الفوسفومايسين ما عدا بكتريا الاشريكية القولونية فقد أظهرت مقاومة ضد هذا الصاد الحيوي، أما بالنسبة للصادات الحيوية الأخرى فقد كانت النتائج متفاوتة.

وبالنسبة لفعالية المعلق البكتيري و الراشح البكتيري ل *L. Plantarum* و *L. acidophilus* فقد أظهرت فعالية ضدد جميع البكتيريا الممرضة المستخدم، حيث كانت فعالية الراشح البكتيري اكبر من المعلق البكتيري حيث بلغت أقطار مناطق التثبيط بالنسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا الاشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية والسلمونيلة (2,4,2) ملم (3,4,2) ملم على التوالي بينما كانت أقطار مناطق التثبيط بالنسبة للراشح البكتيري ل *L. Plantarum* و *L. acidophilus* ضد كل من بكتريا الاشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية والسلمونيلة (8,15,9) ملم، (7,14,8) ملم على التوالي.

الملخص

الكلمات المفتاحية: L. Plantarum ، *L. acidophilus*، معلق بكتيري ، راشح بكتيري.

---

1) طالب دراسات عليا (دكتوراة) – اختصاص الصحة العامة والطب الوقائي – قسم الصحة العامة والطب الوقائي – كلية الطب البيطري – جامعة حماه.

2) أستاذ مساعد في قسم الصحة العامة والطب الوقائي – كلية الطب البيطري – جامعة حماة.

Comparison of the antibacterial effect of *Lactobacillus* and antibiotics against some pathogenic bacteria

Mubarak Alsaad[1] **Abdulkarim Hallak**[2]

ABSTRACT

In this study, the effect of the bacterial suspension and bacterial filtrate of Lactobacillus plantarum and Lactobacillus acidophilus was compared with a group of antibiotics against some pathogenic bacteria (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, and Salmonella spp.). Following the isolation of L. plantarum and L. acidophilus, 50 samples were collected from the intestines of broiler chickens at 25 and 40 days of age during December 2025. These samples were cultured on specific media for Lactobacillus (MRS broth and MRS agar). Subsequently, a series of biochemical tests were performed to confirm the genus, after which they were analyzed using PCR to confirm the species. The bacterial suspension and bacterial filtrate were then prepared from L. plantarum and L. acidophilus to be used against the pathogenic bacteria and compared with antibiotics.

The results of this study showed the isolation of 16 isolates belonging to the genus Lactobacillus, based on morphological and staining characteristics (Gram-positive bacilli), cultural characteristics (creamy colonies), in addition to biochemical tests (catalase-negative). They were then identified by PCR, revealing 9 isolates as L. plantarum and 2 as L. acidophilus, while 5 isolates were disregarded.

The results of the antibiotic susceptibility test for the pathogenic bacteria showed complete resistance to most of the antibiotics used (6 out of 10). Meanwhile, the pathogenic bacteria exhibited complete sensitivity to ciprofloxacin and sensitivity to fosfomycin, except for E. coli, which showed resistance to this antibiotic. Regarding the other antibiotics, the results were variable.

Concerning the efficacy of the bacterial suspension and bacterial filtrate of L. plantarum and L. acidophilus, both showed activity against all the pathogenic bacteria used. The bacterial filtrate demonstrated greater efficacy than the bacterial suspension. The diameters of the inhibition zones for the bacterial suspension against E. coli, S. aureus, and Salmonella were (2, 4, 2) mm and (2, 4, 3) mm, respectively. In contrast, the diameters of the inhibition zones for the bacterial filtrate of L. plantarum and L. acidophilus against E. coli, S. aureus, and Salmonella were (9, 15, 8) mm and (8, 14, 7) mm, respectively.

Key words: L. Plantarum, L. acidophilus, bacterial suspension, bacterial filtrate.

1) **Postgraduate Student (PhD) – Specialization in Public Health and Preventive Medicine – Department of Public Health and Preventive Medicine – College of Veterinary Medicine – University of Hama.**
2) **As.prof in Department of Public Health and Preventive Medicine – College of Veterinary Medicine – University of Hama.**

1. لمـــقدمـة Introduction:

منذ أوائل الخمسينيات من القرن الماضي، تم استخدام المضادات الحيوية كمحفزات النمو على نطاق واسع لتعزيز أداء النمو والحماية من الأمراض في صناعة الدواجن. ولكن بسبب الاستخدام المكثف لمحفزات النمو بالمضادات الحيوية، تم الكشف عن العديد من العواقب الوخيمة، بما في ذلك تطور مسببات الأمراض المقاومة للأدوية، وبقايا المضادات الحيوية في منتجات الدواجن ، واختلال توازن البكتيريا المعوية ؛ وبالتالي، تم حظر استخدامه كإضافات للأعلاف في أوروبا (منذ عام 2006)، والولايات المتحدة (منذ عام 2014)، والصين (منذ عام 2020) (Dong *et al*., 2016; Xu *et al*., 2021). يلعب المجتمع الميكروبي المتنوع والمعقد دورًا أساسيًا في هضم الطعام وامتصاص العناصر الغذائية، واستبعاد مسببات الأمراض، وتطور الجهاز المناعي ، ويعزز الصحة العامة للمضيف (Wang *et al*., 2017; Shang *et al*., 2018) ومع ذلك، قد يؤدي اختلال توازن ميكروبات الأمعاء بسبب المضادات الحيوية إلى حالة مرضية تؤثر على صحة الحيوانات. لذلك، لتحسين ميكروبات الأمعاء، وتعظيم أداء النمو، وتحسين صحة الدواجن، اقتُرحت بدائل آمنة وفعّالة مثل البروبيوتيك ، والبريبايوتيك ، والسينبيوتيك ، والفايتوبيوتيك، والإنزيمات الخارجية، والأحماض العضوية، والببتيدات المضادة للميكروبات ، وغيرها (Huyghebaert *et al*., 2011; Yadav and Jha, 2019).

وتعد المعززات الحيوية وسيلة من وسائل الدفاع عن صحة الانسان، وتعزيز مناعة جسم الإنسان، إذ تمتلك هذه الأحياء تأثيراً صحياً في جسم المضيف (Sato *et al*., 2020)، ولاسيما عند استهلاكها بالأساليب العلمية الصحيحة، إذ تعمل على كبح الإصابات المرضية للجهاز الهضمي، لأنها تمتلك خصائص المضادة للأحياء المجهرية المرضية، فضلاً عن دورها في تحسين استقلاب اللاكتوز وخفض الكولسترول الكلي في الدم، وتقليل نسبة الإصابة بالسرطان (Dos Reis *et al*., 2017, Markowiak and Śliżewska, 2017)

إن المعززات الحيوية المستوطنة في الجهاز الهضمي للإنسان تتأثر بشدة بعمل المضادات الحيوية عند تناوله بسبب الإصابة ببعض الأمراض التي سببها الأنواع البكتيرية المرضية مثل Salmonella و Escherichia coli و Clostridium perfringens التي تستوطن القناة الهضمية وأنواع أخرى من البكتريا السالبة لصبغة غرام، وأن هذه الأنواع من البكتريا تفرز سموماً داخلية في القناة الهضمية المتواجدة في الجهاز الهضمي، ولذلك من المهم إعادة توازنها في الجهاز الهضمي للحد من الإصابة وتطور الأمراض عن طريق تناول الأغذية الحاوية على المعززات الحيوية ووصولها الى القناة الهضمية بالعدد الكافي الذي يعود بالفوائد الصحية (Nag, 2011)، حيث يمكن للأحماض العضوية (حمض اللبن)، وبيروكسيد الهيدروجين، والبكتيريوسينات، من بين مركبات الاستقلاب الأخرى التي تنتجها هذه البكتيريا، أن تساعد في وقف نمو البكتيريا المسببة للأمراض (Arief *et al*., 2014; Arief *et al*., 2015).

من المزايا المهمة للبكتريوسينات انه يمكن ان يكون لها نشاط ضد البكتريا المسببة للأمراض والبكتريا الانتهازية بما في ذلك الأنواع المقاومة للأدوية المتعددة دون التمييز بين السلالات الحساسة والمقاومة للمضادات الحيوية

وثبت ان العديد من البكتريوسينات تعمل بالتآزر مع المضادات الحيوية التقليدية وتقليل الاعراض الجانبية غير مرغوب فيها وانتشار السلالات المقاومة (Hernández –González, 2021). وبذلك تعتبر البكتريوسينات بدائل جديدة للمضادات الحيوية والعلاجات المبتكرة في الطب البشري وكذلك العلوم البيطرية (Bedard *et al.*, 2018; Juturu and Barman, 2018).

هدف الدراسة

- عزل بكتريا Lactobacillus من أمعاء دجاج اللحم
- مقارنة التأثير المضاد البكتيري لكل من بكتريا والراشح البكتيري مقابل المضاد الحيوي ضد بعض البكتريا الممرضة .

2) المواد وطرائق العمل Materials and Methods :

الأجهزة والأدوات المستخدمة : حاضنة، المؤصدة، ميزان حساس، ماسحات قطنية، أنابيب زجاجية، أطباق بيتري، أقراص تحسس دوئية، جرة مكنتوش

وتم تحضير كل من المنابت الجرثومية المستخدمة وذلك حسب تعليمات الشركة المصنعة (HiMidea).

أجريت هذه الدراسة في كلية الطب البيطري – جامعة حماه في شهر كانون الثاني لعام 2025 حيث تم جمع 50 مسحة من أمعاء دجاج اللحم بأعمار مختلفة ونقلت العينات الى المختبر بواسطة صندوق فليني عازل يحتوي جريش من الثلج وأجري الزرع الجرثومي في نفس اليوم.

تم زراعة العينات في MRS broth بعدها حضنت العينات في درجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة في وسط لا هوائي، ثم تم زراعة MRS agar من MRS broth و حضنت في درجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة في وسط لا هوائي، بعدها تم عمل سلسلة من الاختبارات الكيمياحيوية (الكاتلاز، الأوكسيداز، تخمر السكريات، النمو في درجات حرارة مختلفة) (الوينداوي، 2020) للتأكد من أنها بكتيريا العصيات اللبنية، ثم اجري تنميط لهذه البكتريا على جهاز PCR وذلك لتحديد جنسها كما هو واضح بالجدول رقم (1)

الجدول رقم (1): البادئات قليلة النوكليوتيد المستخدمة في الكشف عن بكتيريا *Lactobacillus* (Kim *et al*., 2020) (Anwar *et al*., 2013)

		Primer sequence 5'-3'	Product size (bp)
Lactobacillus spp	**F**	**GGA ATC TTC CAC AAT GGA CG**	**216**
	R	**CGC TTT ACG CCC AAT AAA TCC GG**	
L. plantarum	**F**	**GCT GGC AAT GCC ATC GTG CT**	**147**
	R	**TCT CAA CGG TTG CTG TAT CG**	
L. acidophilus	**F**	**CCT TTC TAA GGA AGC GAA GGA T**	**129**
	R	**ACG CTT GGT ATT CCA AAT CGC**	

أما كل من البكتريا (السلمونيلة، المكورات العنقودية الذهبية، الاشريكية القولونية) فقد تم الحصول عليها من بنك العترات في كلية الطب البيطري وتم تنشيطها وتأكيدها عن طريق المنابت الخاصة لكل نوع بإضافة الى الاختبارات الكيمياحيوية.

- **دراسة الفعالية التثبيطية لبكتريا العصيات اللبنية:**

دراسة الفعالية التثبيطية لبكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* تجاه بعض البكتريا الممرضة:

تم استخدام طريقة الانتشار بالأقراص التي وصفها (القصاب، 1988) للكشف عن الفعالية التثبيطية لبكتريا Lactobacillus،

1- تلقح انابيب اختبار تحتوي على 10 مل من MRS broth بالمزرعة البكتيرية وكانت نسبة اللقاح هي 1%.
2- تحضن بدرجة حرارة 37م° لمدة (72) ساعة لحين وصول البكتيريا لطور النمو الثابت اللوغاريتمي .
3- يعدل تركيز المعلق البكتيري الى 10^8 تقريبا (0.5 ماكفرلاند).
4- تغمس أوراق الترشيح دائرية ومن نوع Whatman no: 3 بالمعلق البكتيري.
5- وضع اوراق الترشيح المحملة بالمعلق البكتري على اطباق مزروعة بالبكتريا المرضية .
6- قياس الهالة الشفافة (هالة الكبح) المتكونة حول الاقراص بعد الحضن لمدة 18-24 ساعة وبدرجة حرارة 37م°

– تم زراعة كل من *E.coli* و*Salmonella* و *Staph.aureus* على وسط الاغار مولر هينتون ، وذلك بنشر 0.1 مل من البكتريا أعلاه بوساطة ماسحة قطنية، وتركت لمدة (5–10) دقيقة لكي تجف، بعدها وضعت أقراص أوراق الترشيح المحملة من بكتريا المزرعة السائلة لعزلات بكتريا العصيات اللبنية بعدها حضنت الاطباق بدرجة 37 مئوية ولمدة (24) ساعة، وتم قياس مناطق التثبيط وقورنت مع معاملة السيطرة الخالي من الراشح البكتيري ، واعتبرت منطقة التثبيط 1 ملم هي النتيجة الموجبة (Martinez–Gonzalez *et al.*, 2004; Rajaram *et al.*,2010). مع وضع أقراص تحسس دوائية (أموكسيسلين، دوكسي سايكلين، اريثرومايسين، كولستين، سبيرامايسين، فوسفومايسين، سيفالكسين، تريموثبريم، تتراسكلين، سيبروفلوكساسين) أيضا على الطبق نفسه.

واستعملت معاملات سيطرة في التجارب باستعمال اقراص من وسط MRS الصلب الخالي من النمو ووضع على سطوح الاطباق المزروعة بالبكتريا قيد الدراسة بالإضافة الى ترك مجموعة من الاطباق المزروعة بالبكتريا قيد الدراسة دون اي اضافات، اعيدت التجارب مرتين وبمكررين لكل عزلة ، إذ تم زراعة كل من الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية والسلمونيلة، وبعدها تركت حتى تجفافها ثم وضعت أقراص ورق الترشيح المغمسة ببكتريا Lactobacillus وحضنت الاطباق بدرجة 37 مئوية ولمدة 24 ساعة، وتعتبر منطقة التثبيط 1 ملم هي نتيجة موجبة (Rajaram *et al.*, 2010).

دراسة التأثير التثبيطي لراشح بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* تجاه بعض البكتريا المرضية:

تم استخدام طريقة Well diffusion الموصوفة من قبل Gupta وآخرون (1998) و ذلك باتباع الفقرة السابقة إلا أنه وضع 100 مايكروليتر من الراشح البكتيري (باستخدام جهاز الطرد المركزي وبسرعة 6000 دورة/دقيقة ولمدة 20 دقيقة لغرض الحصول على سائل الخلايا الحرة، بعدها تم ترشيح السائل لغرض تعقيمه باستخدام أوراق ترشيح وبقطر 0.22 مايكروليتر، ولغرض تبيط H_2O_2 اضيف الكتالاز بتركيز 1 ملغ/مل بعدها تم حفظ الراشح لمدة ساعتين وبدرجة حرارة 37 مئوية لحين استعماله) وتعتبر منطقة التثبيط 1 mm نتيجة موجبة، مع وضع أقراص تحسس دوائية (أموكسيسلين، دوكسي سايكلين، اريثرومايسين، كولستين، سبيرامايسين، فوسفومايسين، سيفالكسين، سلفا تريموثبريم، تتراسكلين، سيبروفلوكساسين) أيضا على الطبق نفسه.

1– فصل خلايا البكتيريا عن وسط النمو باستعمال جهاز الطرد المركزي للحصول على راشح البكتريا .
2– غمس اوراق الترشيح دائرية من نوع Whatman no: 3 في الجزء الرائق (وسط نمو البكتريا)
3– وضع اوراق الترشيح المحملة برواشح البكتريا على اطباق مزروعة بالبكتريا المرضية.
4– قياس الهالة الشفافة المتكونة حول الاقراص بعد الحضن لمدة 18 –24 ساعة وبدرجة حرارة 37م°.

1) الإشريكية القولونية *E.coli.*

استخدم وسط آغار EMB وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة وحسبت المستعمرات ذات اللون الأخضر واللمعة المعدنية على أنها بكتريا الأشريكية القولونية (Cheesbrough,1985).

2) بكتريا العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*

استخدم وسط بيرد باركر وتم الزرع بطريقة الفرش وذلك بأخذ1 ml وفرشت بواسطة قضيب زجاجي على شكل حرف L معقم وحُضنت الاطباق بحرارة 37م لمدة 48 ساعة ساعة وتعد المستعمرات السوداء اللامعة الدائرية الشكل مع سطح أبيض دقيق ومحاطة بهالة شفافة فاتحة على أنها عنقودية ذهبية (ISO 6888-1:2021).

3) بكتريا السلمونيلة *Salmonella*

استعمل طريقة (Garbutt, 1997) للكشف عن بكتريا السلمونيلة. وكما يأتي :

1) حضنت العينات في ماء الببتون بدرجة حرارة 37 م ولمدة 24 ساعة.
2) نقل 1 مل من المستنبت الى انبوب اختبار يحتوي 10 مل من وسط التنشيط الانتقائي Tetrathionate Broth وحضن بدرجة حرارة 43م ولمدة 24 ساعة .
3) نقل من المستنبت مقدار عروة وتزرع على وسط S.S.Agar و وسط الخضرة اللامعة ويحضن بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة.

4) الاختبارات الكيمياحيوية

تم إجراء الأختبارات التالية للتأكد من النتائج :

اختبار الأندول، اختبار أحمر المثيل، اختبار فوكس بروسكاور، اختبار السترات، اختبار اليورياز، اختبار كليجلر (الويندواوي وزوين، 2020).

التحليل الاحصائي:

استعمل البرنامج مايكروسوفت ايكسل (2010) في التحليل الإحصائي لدراسة المتوسطات ولحساب النسب المئوية والإنحراف المعياري.

3) <u>النتائج:</u>

يظهر الجدول رقم (1) نتائج العزل البكتيري التي أجريت على مسحات من أمعاء دجاج اللحم.

1) عزل بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* :

أظهرت النتائج وجود 16 عزلات من أصل 50 عينة من أمعاء دجاج اللحم تنتمي الى جنس العصيات اللبنية وذلك حسب المواصفات الشكلية واللونية (عصيات إيجابية الغرام) والصفات المزرعية (مستعمرات كريمية اللون على منبت MRS agar) والاختبارات الكيمياحيوية (سالبة للكتالاز)، وعند تنميط هذا العزلات على جهاز PCR تبين أنها تنتمي الى *L. Plantarum = 9* و *L. acidophilus = 2* وأهملت 5 عينات المتبقية.

.الجدول رقم (2): عدد وانواع العزلات

Lactobacillus spp	16
L. acidophilus	2
L. plantarum	9
Neglected isolates	5

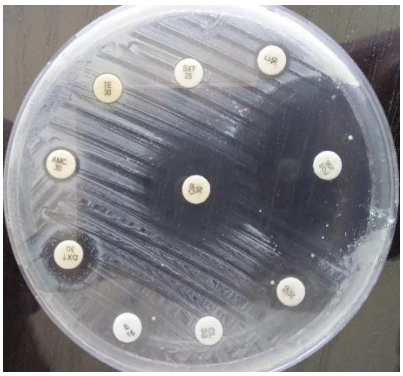
2) الحساسية الدوائية للبكتريا الممرضة

تبين الصور رقم (1) اختبار التحسس الدوائي لبكتريا الاشريكية القولونية والصورة رقم (2) اختبار التحسس الدوائي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية والصورة رقم (3) اختبار التحسس الدوائي لبكتريا السلمونيلة، وبينت النتائج مقاومة أنواع البكتريا الثلاث لأغلب المضادات الحيوية (أموكسيسلين، اريثرومايسين، كولستين، سيفالكسين، سلفا تريموثبريم، تتراسكلين)، بينما أظهرت البكتريا المرضية حساسية تجاه السيبروفلوكساسين، و حساسية تجاه الفوسفومايسين ما عدا بكتريا الاشريكية القولونية فقد أظهرت مقاومة ضد هذا الصاد الحيوي،

أما بالنسبة الصاد الحيوي السبيرامايسين فقد أظهرت بكتريا الاشريكية القولونية مقاومة تجاهه و بكتريا المكورات العنقودية الذهبية حساسية تجاهه و بكتيريا السلمونيلة متوسطة الحساسية تجاهه، بينما كانت كل من بكتريا الاشريكية القولونية وبكتريا المكورات العنقودية الذهبية متوسطة الحساسية للدوكسي سايكلين أما بكتريا السلمونيلة أظهرت حساسية ضد الصاد الحيوي المذكور، واظهرت كل من بكتريا الاشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية مقاومة و بكتريا السلمونيلة حساسية متوسطة تجاه التريموثبريم.

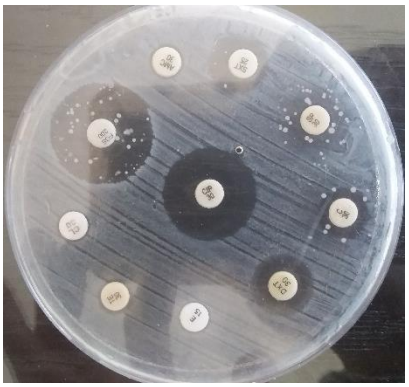
الصورة رقم (1)

اختبارتحسس دوائي لبكتريا الاشريكية القولونية



الصورة رقم (2)

اختبارتحسس دوائي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية



الصورة رقم (3)

اختبارتحسس دوائي لبكتريا السلمونيلة

3) دراسة الفعالية التثبيطية لبكتريا العصيات اللبنية:

بينت النتائج فعالية بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* ضد البكتريا الممرضة المستعملة في الدراسة فقد أظهرت حساسية بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* ورواشحها المدروسة كما هو موضح في الصورة رقم (4)

اذ أظهرت بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* من المعلق البكتيري والرواشح ايضا فغالية ضد البكتريا الممرضة، حيث أبدت الرواشح البكتيرية فعالية اقوى من المعلق البكتري الجدول رقم (3)، فقد تراوحت أقطار مناطق التثبيط لبكتريا *L. acidophilus* 9 ملم بالنسبة للراشح البكتيري و 2 ملم بالنسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا الاشريكية القولونية، وتراوحت أقطار مناطق التثبيط 15 ملم بالنسبة للراشح البكتيري و 4 ملم بالنسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية، وتراوحت أقطار مناطق التثبيط 8 ملم بالنسبة للراشح البكتيري و 2 ملم بانسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا السلمونيلة.

فقد تراوحت أقطار مناطق التثبيط لبكتريا *L. Plantarum* 8 ملم بالنسبة للراشح البكتيري و 2 ملم بالنسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا الاشريكية القولونية، وتراوحت أقطار مناطق التثبيط 14 ملم بالنسبة للراشح البكتيري و 4 ملم بالنسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية، وتراوحت أقطار مناطق التثبيط 7 ملم بالنسبة للراشح البكتيري و 3 ملم بانسبة للمعلق البكتيري ضد بكتريا السلمونيلة.

الجدول رقم (3): متوسط أقطار (ملم) مناطق التثبيط لعزلات بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* ضد البكتريا الممرضة

البكتريا		الاشريكية القولونية	المكورات العنقودية الذهبية	السلمونيلة
L. acidophilus	المعلق البكتيري	2	4	2
	الراشح البكتيري	9	15	8
L. Plantarum	المعلق البكتيري	2	4	3
	الراشح البكتيري	8	14	7

المناقشة:

1- عزل بكتريا *L. Plantarum* و *L. acidophilus* :

وهذه النتائج تتوافق مع Dumitru وآخرون (2020) حيث تم عزل وتحديد وتوصيف سلالات من بكتيريا االعصيات اللبنية من الجهاز الهضمي لدجاج التسمين. شملت هذه السلالات خمسة أنواع: Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus brevis, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus salivarius and Lactobacillus plantarum. و توافقت مع Sorescu وآخرون (2021) فقد تم عزل ثلاث وعشرين سلالة من البكتيريا (L. acidophilus)، و(L. brevis)، و(L. plantarum)، و(L. fermentum)، و(L. salivarius) من أمعاء دجاج التسمين.

عند فقس البيضة، تتكون الميكروبات المعوية في أعور الدواجن بشكل رئيسي من بكتيريا المكورات المعوية، والبكتيريا القولونية، والمطثيات (Coates & Fuller, 1977)، ومع التقدم في العمر وابتداءً من اليوم الرابع من العمر، تصبح بكتيريا العصيات اللبنية مكونًا هامًا من الميكروبات المعوية (Zhu *et al.*, 2002). وفي اليوم السابع من العمر، تطغى بكتيريا العصيات اللبنية على الميكروبات المخاطية في اللفائفي، تليها بكتيريا Lachnospiraceae والمكورات المعوية (Cressman *et al.*, 2010). وبعد اليوم الرابع عشر من العمر، تتطور في أعور وأمعاء دجاج التسمين مجتمعات بكتيرية متنوعة (Pedroso & Lee, 2015)، ولكن من اليوم الحادي والعشرين إلى اليوم الثاني والأربعين من العمر، تصبح بكتيريا العصيات اللبنية الكائن الحي الأكثر وفرة في الأمعاء الدقيقة،وقد تم الكشف عن العديد من أنواع العصيات اللبنية في أمعاء الدواجن، ويثير هذا التنوع مسألة اختيار السلالة الأنسب لتطوير إضافات علفية بكتيرية في تغذية الدواجن.

2- الحساسية الدوائية للبكتريا الممرضة

إن من أهم الأسباب التي تؤدي الى ظهور المقاومة ضد المضادات الحيوية هو الاستخدام العشوائي للأدوية والتشخيص الخاطئ.

تُعدّ مقاومة المضادات الحيوية من أخطر التهديدات التي تواجه الصحة العامة. ويمكن الحدّ من تطور هذه المقاومة باستخدام المضادات الحيوية ضيقة الطيف التي تستهدف أنواعًا محددة من البكتيريا، ما يعني القضاء على عدد أقل من البكتيريا غير الضارة، وبالتالي حماية البكتيريا الضارة الأخرى من ضغط الانتقاء. مع ذلك، فقد طُرحت العديد من المضادات الحيوية ضيقة الطيف منذ عقود، ولذا فهي تفتقر إلى الوثائق التنظيمية المتوافقة مع المعايير الحالية (Årdal *et al.*, 2024).

وهنا تكمن أهمية المعززات الحيوية والتي لها القدرة على إنتاج ببتيدات قصيرة السلسلة لها خصائص مضادة للميكروبات مثل (البكتيريوسينات) وإنتاج الأحماض العضوية أيضاً والأحماض الدهنية قصيرة السلسلة، وهنالك العديد من آليات المعززات الحيوية الأخرى التي لها القدرة على الحد من استعمار الأحياء الممرضة في أجهزة الجسم المختلفة (Di Cerbo *et al.*, 2015)

3- دراسة الفعالية التثبيطية لبكتريا العصيات اللبنية:

تعتبر القناة الهضمية أكبر جهاز مناعي للجسم، وذلك بسبب احتوائها على عوامل متعددة تؤهلها لذلك مثلاً احتواءها على النبيت المعوي الذي له الدور الفعال في مقاومة مسببات الامراض (Blaut and Clavel, 2007)، مثل بكتريا حامض اللبن إذ تمتلك مواصفات متعددة تؤهلها أن تقوم بتثبيط الأحياء المجهرية المتواجدة في القناة الهضمية ومعالجة الاضطرابات في الجهاز الهضمي، إذ أن معظم الأمراض التي تصيب الجهاز الهضمي والمنقولة خلال الأغذية تعتبر السبب الرئيس لوفاة معظم الأشخاص في كل أنحاء العالم (Thirabunyanon, 2011).

إن من بين أهم فوائد المعززات الحيوية سواء كانت سلالة مفردة أو مجموعة من السلالات هي تحسين مناعة الجسم عامة والجهاز الهضمي خاصة، ولا سيما تحسين قوة الجدار المخاطي للأمعاء والعمل على تحقيق توازن النظام البيئي للنبيت المعوي في الجسم، لقدرتها على الالتصاق بجدار الطبقة المخاطية للأمعاء، والذي يؤدي الى منع استيطان ونمو الأحياء المرضية في الأمعاء وكذلك عن طريق منافستها على المواد الغذائية (Pandey *et al.*, 2015).

تعود القدرة التثبيطية لهذه البكتريا الى انتاجها مادة البكتريوسين Bacteriocin وهي مجموعة غير متجانسة من المواد النشطة بايولوجيا التي تنتجها البكتريا والتي تشمل الببتيدات والبروتينات والتي تظهر نشاطا مضادا للميكروبات والببتيدات البكتيرية يتم تصنيعها وافرازها عن طريق الرايبوسوم من قبل مجموعة متنوعة من البكتريا بغرض قتل البكتريا الأخرى وبالتالي إزالة المنافسة الميكروبية في بدائيات النوى (Yi *et al.*, 2022).

إن تأثير البكتريوسينات في الخلايا يشابه آليات عمل المضادات الحيوية، فقد تؤثر في الجدار الخلوي من خلال تحطيم، أو تكوين ثقوب في الجدار الخلوي، أو قد تؤثر في الغشاء السايتوبلازمي أو تثبط عمل الأنزيمات المتواجدة فيه، ومنها ما يثبط تخليق البروتين إذ تتداخل مع الفعاليات الأيضية للمادة الوراثية، وتثبط تضاعف المادة الوراثية داخل الخلية المستهدفة (O'Shea *et al.*، 2012).

4- الإستنتاجات Conclusion:

- تم عزل 16 عزلة من *Lactobacillus* من أمعاء دجاج اللحم، شخصت 9 منها *L. plantarum* وعزلتان *L. acidophilus*.
- البكتيريا الممرضة أظهرت مقاومة عالية لـ 6 من 10 مضادات حيوية، مما يعكس مشكلة الاستخدام العشوائي.
- الراشح البكتيري تفوق على المعلق البكتيري في التثبيط (أقطار 7 – 15 ملم مقابل 2 – 4 ملم)، مما يشير إلى إفراز مواد فعالة خارج الخلايا.
- أظهرت العزلات فعالية تثبيطية ضد جميع البكتيريا الممرضة، مع اختلاف بسيط بين النوعين.

التوصيات Recommendations:

- التوجه نحو استخدام *Lactobacillus* ورواشحها كبديل طبيعي للمضادات الحيوية في الدواجن.

- إجراء دراسات لتنقية البكتيريوسينات وتحديد تركيبها وآلية عملها.
- تطبيق عملي بإضافتها للأعلاف أو الماء وتقييم تأثيرها على الإنتاجية والصحة.
- وضع برامج وطنية لمراقبة استخدام المضادات الحيوية والحد من الاستخدام العشوائي.
- توسيع العزل من مصادر مختلفة للحصول على سلالات أكثر فعالية.
- تجارب على الطيور الحية لتقييم الفعالية في الظروف الطبيعية.
- نشر التوعية حول مخاطر المقاومة البكتيرية وأهمية البروبيوتيك كاستراتيجية وقائية.

- **المراجع العربية**

1. القصاب ، عبد الجبار عمر وجه (1988) : التأثير المضاد لlactobacillus sp.
العصوية على بعض البكتريا المرضية ، رسالة ماجستير .

2. **الويناوي، عباس حميد شكور.، زوين، لمى عبدالهادي، (2020)**. الاختبارات الكيمياحيوية التشخيصية للبكتريا دار الكتب والوثائق، بغداد .

5- <u>المراجع الأجنبية:</u>

1- . **Yi, Y.; Li, P.; Zhao, F.; Zhang, T.; Shan, Y.; Wang, X.; Liu, B.; Chen, Y.; Zhao, X.; Lü, X.(2022).** Current status and potentiality of class II bacteriocins from lactic acid bacteria: Structure, mode of action and applications in the food industry. Trends Food Sci. Technol., 120: 387–401
2- **Anwar, A, Abdulla., Mohammed, A, Jebor., Thikra, A, Abed., and Maha, J, Noshee. (2013).** Isolation and Identification by PCR and Analysis for Probiotic Properties of Lactobacillus spp from Dairy Products. Journal of Biology, Agriculture and Healthcare. Vol.3, No.12
3- **Arief, I. I., Jenie, B. S. L., Astawan, M., Fujiyama, K., & Witarto, A. B. (2015)**. Identification and probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from Indonesian local beef.
4- **Arief, I. I., Wulandari, Z., Aditia, E. L., & Baihaqi, M. (2014).** Physicochemical and microbiological properties of fermented lamb sausages using probiotic Lactobacillus plantarum IIA-2C12 as starter culture. *Procedia Environmental Sciences*, *20*, 352-356.
5- **Bédard, F.; Hammami, R.; Zirah, S.; Rebuffat, S.; Fliss, I.; Biron, E.(2018).** Synthesis, antimicrobial activity and conformational analysis of the class IIa bacteriocin pediocin PA-1 and analogs thereof. Sci. Rep., 8: 9029.
6- **Blaut, M and Clavel ,T.:**(2007). Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease. J Nutr ;**137**: S751-755 .
7- **Cheesbrough, M., (1985).** Medical Laboratory Manual for Tropical Countries. 1st ed. English Language Book Society, London. p 400–480.

8- **Coates, M. E., & Fuller, R. (1977).** *The gnotobiotic animal in the study of gut microbiology* (Vol. 153, pp. 311-346). London: Academic Press.

9- **Cressman, M. D., Yu, Z., Nelson, M. C., Moeller, S. J., Lilburn, M. S., & Zerby, H. N. (2010).** Interrelations between the microbiotas in the litter and in the intestines of commercial broiler chickens. *Applied and environmental microbiology*, *76*(19), 6572-6582.

10- **Di Cerbo, A., Palmieri, B., Aponte, M., Morales-Medina, J. C., & Iannitti, T. (2015).** Mechanisms and therapeutic effectiveness of lactobacilli. Journal of clinical pathology, jclinpath-2015.

11- **Dong, Z. L., Wang, Y. W., Song, D., Hou, Y. J., Wang, W. W., Qi, W. T., ... & Li, A. K. (2016)**. The effects of dietary supplementation of pre-microencapsulated Enterococcus fecalis and the extract of Camellia oleifera seed on growth performance, intestinal morphology, and intestinal mucosal immune functions in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, *212*, 42-51.

12- **Dos Reis, S. A., da Conceicao, L. L., Siqueira, N. P., Rosa, D. D., da Silva, L. L., & Peluzio, M. D. C. G. (2017).** Review of the mechanisms of probiotic actions in the prevention of colorectal cancer. *Nutrition Research*, *37*, 1-19.

13- **Dumitru, M., Ciurescu, G., & Sorescu, I. (2020).** In vitro evaluation of some probiotic properties of Lactobacillus strains isolated from chickens' gut. *SCIENTIFIC PAPERS ANIMAL SCIENCE AND BIOTECHNOLOGIES*, *53*(1), 44-44.

14- **Garbutt, J., (1997).**Essentials of food microbiology. Arnold, member of the hodder headline group. London, UK. pp:128-236 .

15- **Gupta, U.; Rudramma; Rati, E.R. and Joseph, R.:** (1998) .Nutrition quality of lactic fermented bitter gourd and fenugreek leaves. Int. J. Food Sci. Nutr., **49**(2): 101-108 .

16- **Hernández González, O. (2021).** Aproximación a los distintos tipos de muestreo no probabilístico que existen. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, *37*(3).

17- **Huyghebaert, G., Ducatelle, R., & Van Immerseel, F. (2011).** An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal*, *187*(2), 182-188.

18- **ISO - International Organization for Standardization. (2021).** Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of coagulse – positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) – part 1: Method using Baird-Parker agar medium. Iso 6888-1:2021.

19- **Juturu, V.; Wu, J.C.(2018).** Microbial production of bacteriocins: Latest research development and applications. Biotechnol. Adv. 36, 2187–2200.

20- **Kim, E., Yang, S. M., Lim, B., Park, S. H., Rackerby, B., & Kim, H. Y. (2020).** Design of PCR assays to specifically detect and identify 37 Lactobacillus species in a single 96 well plate. *BMC microbiology*, *20*(1), 96.

21- **Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2017).** Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, *9*(9), 1021.

22- **Martinez – Gonzalez , B. ; Eriotou , E.; Michopoules , S.; Kolantzopoulos , G. ; Tsakalidou , E. and Mentis , A. :** (2004) . *In Vitro* and *In Vivo* inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* strain shirota . Appl . Environ . Microbiol ., **70**(1) :518 – 526.

23-**Nag, A. (2011).** Development of a microencapsulation technique for probiotic bacteria Lactobacillus casei 431 using a protein-polysaccharide complex: a thesis presented in partial fulfillment of the requirements of the degree of Masters of Technology in Food Technology at Massey University, Palmerston North, New Zealand (Doctoral dissertation, Massey University).

24-**O'Shea, E. F., Cotter, P. D., Stanton, C., Ross, R. P., & Hill, C. (2012).** Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: bacteriocins and conjugated linoleic acid.

25-**Pandey, K. R., Naik, S. R., & Vakil, B. V. (2015).** Probiotics, prebiotics and synbiotics-a review. Journal of food science and technology, 52(12), 7577-7587.

26-**Pedroso, A. A., & Lee, M. D. (2015)**. The composition and role of the microbiota in chickens. In *Intestinal health* (pp. 21-50). Wageningen Academic.

27-**Rajaram ,G.;Manivasagan, P.;Thilagavathi ,B . and Saravanakumar , A.:**(2010). Purification and characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus lactis* isolated from marine environnement .Adv.J.food Sci Technol, **2**(2):138-144 .

28-**Sato، H.H., Bicas, J.L., Cedran, M.F., Rodrigues, F.J. (2020).** Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications – A narrative review، Food Research International، Volume 137، ،2020 ،109682 ISSN 0963-996

29-**Shang, Y., Kumar, S., Oakley, B., & Kim, W. K. (2018)**. Chicken gut microbiota: importance and detection technology. *Frontiers in veterinary science*, *5*, 254.

30-**Sorescu, I., Dumitru, M., & Ciurescu, G. (2021).** Lactobacillus spp. strains isolation, identification, preservation and quantitative determinations from gut content of 45-day-old chickens broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *23*(01), eRBCA-2020.

31-**Thirabunyanon ,M.:** (2011): Biotherapy for and protection against gastrointestinal pathogenic infections via action of probiotic bacteria . *Maejo Int. J. Sci. Technol.*, 2011, ***5***(01): 108-128 .

32-**Wang, Y., Sun, J., Zhong, H., Li, N., Xu, H., Zhu, Q., & Liu, Y. (2017).** Effect of probiotics on the meat flavour and gut microbiota of chicken. *Scientific Reports*, *7*(1), 6400.

33-**Xu, Y., Yu, Y., Shen, Y., Li, Q., Lan, J., Wu, Y., ... & Yang, C. (2021).** Effects of Bacillus subtilis and Bacillus licheniformis on growth performance, immunity, short chain fatty acid production, antioxidant capacity, and cecal microflora in broilers. *Poultry science*, *100*(9), 101358.

34-**Yadav, S., & Jha, R. (2019).** Strategies to modulate the intestinal microbiota and their effects on nutrient utilization, performance, and health of poultry. *Journal of animal science and biotechnology*, *10*, 1-11.

35-**Zhu, X. Y., Zhong, T., Pandya, Y., & Joerger, R. D. (2002).** 16S rRNA-based analysis of microbiota from the cecum of broiler chickens. *Applied and environmental microbiology*, *68*(1), 124-137.