المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد 23، عدد إضافي 2، 2009 (555-558)
وقائع المؤتمر العلمي الخامس، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل

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

نشأت غالب مصطفى، محمد دخيل إبراهيم و محمد حسن سليمان

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

الخلاصة

تم في هذه الدراسة قياس نسبة السكر في دم 127 من الأغنام المحلية في محافظة نينوى والسليمة ظاهريا باستخدام طريقة جهاز ACCU-CHEK وطريقة عدة التقدير الجاهزة الـKit في أعمار مختلفة من الأغنام المحلية ولكلا الجنسين حيث تم إجراء مقارنة لنسبة سكر دم الأغنام بكلا الطريقتين ولكلا الجنسين وحسب الفئات العمرية المختلفة. أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية ($P\leq0.05$) في نسبة سكر الدم باختلاف طريقة القياس والعمر، وان النتائج بطريقة الـKit هي الاقرب للقيمة الطبيعية لنسبة السكر في الدم من طريقة الـACCU-CHEK التي ظهر انها الأسهل استخداماً، كما أظهرت النتائج أن نسبة سكر الدم بهذه الطريقة تقع ضمن المدى الطبيعي لنسبة السكر في دم الاغنام. كما أوضحت النتائج أن نسبة السكر في الدم تقل بتقدم العمر.

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

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

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

Abstract

Our study was concerned on determination of blood glucose level in apparent healthy 127 local sheep in Nenavah province using ACCU-CHEK and Kit methods in different age groups and for both sexes. The results showed significant ($P\leq0.05$) difference in blood glucose level between two methods, which Kit method appear more close to normal value in sheep, while ACCU-CHEK method was easy to use, and finally blood glucose level were decreased with progress in age.

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

المقدمة

يعد الكلوكوز احد أهم أنواع الكاربوهيدرات في جسم الحيوان (1) يحدث امتصاص الكلوكوز في الأغشية المخاطية للأمعاء الدقيقة وينتقل بعد الامتصاص عن طريق الوريد البابي إلى الكبد حيث يخزن على شكل كلايكوجين او يطرح الى مجرى الدم على شكل كلوكوز أو يدخل في تركيب البروتينات او الشحوم او الحوامض الكيتونية Ketoacids حسب حالة الجسم (2،3). وعموما فان 50% من الكلوكوز الممتص يخزن على شكل كلايكوجين في الكبد و 50% يستعمل من قبل الأنسجة لإنتاج الطاقة (1) اما مصادر كلوكوز الدم فهي الامتصاص من الأمعاء والنتاج الكبدي: الكلوكوز الناتج بهذه الآلية يكون بطريقتين؛ أولاً: تصنيع الكلوكوز Gluconeogenesis من مصادر غير كاربوهيدراتية مثل الأحماض الامينية (الناتجة من هدم البروتينات) والكليسيرول (الناتج من هدم الشحوم) في الحيوانات وحيدة المعدة، اما في المجترات فيتم امتصاص الأحماض الدهنية الطيارة Volatile fatty acids (VFA) أكثر من الكاربوهيدرات (4)، ثانياً: تحلل الكلايكوجين Glycogenolysis أي التحلل المائي للكلايكوجين المخزون في الخلايا الكبدية الى كلوكوز.

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

وتركيبها والفترة بين وجبة وأخرى وحاجة الأنسجة للطاقة والهرمونات مثل الأنسولين، الكلوكاكون Glucagon، هرمون الدرقية TSH، هرمون النمو GH، الكلوكوكورتيكويد Glucocorticoide، الكاتيكول امين Catecholamines، والهرمون المحفز لقشرة الكظر ACTH (5).

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

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

المواد وطرائق العمل

تم في هذه الدراسة جمع عينات الدم من 127 من ذكور وإناث الأغنام المحلية في مناطق مختلفة من محافظة نينوى وبأعمار مختلفة تراوحت بين (1 شهر- 4 سنوات ونصف) وكانت الأغنام سليمة ظاهرياً حيث جمع الدم من الوريد الوداجي عن طريق محقنه طبية معقمة بسحب 1 مل من الدم حيث أخذ قطرة من الدم ووضع على شريط القياس Test strip بعد تشغيل جهاز ACCU-CEHK لمدة 1 دقيقة لضمان استقراره فظهرت قراءة نسبة السكر بالدم معبراً عنها بـ (mg/dl)، تم استخدام جهاز ACCU-CEHK المصنع من قبل شركة Roche (Roche Diagnostic Ltd. UK) لاحظ الصورتان 1 و 2 (عند الاستخدام يجب ملاحظة نوعية الجهاز المستخدم وتاريخ انتاج وانتهاء صلاحية شريط القياس). أما الدم المتبقي فوضع في أنبوبة اختبار جافة ونظيفة تحوي مانع تخثر EDTA، ثم وضع في جهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000g لمدة 15 دقيقة حيث تم فصل المصل (الراشح) عن خلايا الدم (الراسب) أخذ من المصل 10µL وعومل مع الكاشف الموجود مع الـKit (نوع Syrbio) حيث تم قياس نسبة السكر في الدم باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer (نوع PD303 ياباني المنشأ) عند طول موجي 500nm وثم استخراج نسبة السكر بالدم (mg/dl) اعتمادا على قراءة الجهاز ومقارنة ذلك مع قراءة المحلول القياسي للكلوكوزStandard Solution (6).

صورة (1) توضح جهاز ACCU-CHEK.

صورة (2) توضح جهاز ACCU-CHEK في حالة الاستخدام.

تصميم التجربة والتحليل الإحصائي

تم تقسيم الحيوانات إلى مجموعتين حسب طريقة القياس المستخدمة (طريقة جهاز ACCU-CHEK وطريقة الـKit) ولكلا الجنسين وللأعمار المختلفة الجدول 1، تم تحليل النتائج باستخدام

اختبار تحليل التباين ANOVA وإيجاد الفروقات المعنوية عند مستوى احتمالية (P≤0.05) باستخدام اختبار دنكن Duncan's test (7) تم أجراء التحليل الإحصائي باستخدام برنامج SPSS الإصدار (V.12) باستخدام الحاسوب.

النتائج

اعتمادا على نتائج التحليل الإحصائي لهذه الدراسة تم مقارنة نسبة السكر في دم الأغنام باستخدام طريقتي الـ ACCU-CHEK والـ Kit ولفئات عمرية مختلفة (خمس فئات عمرية) لذكور وإناث الأغنام المحلية في محافظة نينوى، حيث بينت نتائج الدراسة أن نسبة السكر في دم الأغنام تختلف معنوياً (P≤0.05) باختلاف الفئة العمرية حيث تكون أعلى في الأعمار الصغيرة وتقل نسبة السكر في الدم بتقدم العمر (الجدول1)، كما نلاحظ وجود فروقات معنوية (P≤0.05) فردية عند مقارنة طريقتي القياس الـ ACCU-CHEK والـ Kit في الجنس الواحد وضمن نفس الفئة العمرية كما نلاحظ أن نتائج طريقة الـ ACCU-CHEK كانت متباعدة عن بعضها ولها مدى واسع عن المتوسط (لاحظ الخطأ القياسي في كل مجموعة)، وأخيراً نلاحظ من النتائج عدم وجود فروقات معنوية (P≤0.05) بين ذكور وإناث الأغنام ضمن الفئة العمرية الواحدة عند استخدام نفس طريقة القياس (جدول1).

جدول (1) يوضح نسبة السكر في دم الأغنام (mg/dl) في الأعمار المختلفة باستخدام جهازي ACCU-CHEK والـKit.

الطريقة	الجنس	العمر				
		1-6 أشهر	7-12 شهر	13-24 شهر	25-48 شهر	أكبر من 48 شهر
ACCU-CHEK	إناث	4.5Aa±67 (n=6)	3.3Aa±66 (n=8)	2.5Bb±62 (n=5)	3.8Cc±56 (n=7)	4.1Dd±51 (n=6)
	ذكور	3.7Aa±66 (n=6)	4.4Aa±64 (n=7)	4.6Bb±61 (n=6)	2.4Cc±55 (n=6)	4.8Dd±49 (n=5)
Kit	إناث	2.7Aa±65 (n=6)	2.5Ba±63 (n=5)	1.9Cb±58 (n=6)	1.9Cc±54 (n=7)	2.6Dd±50 (n=7)
	ذكور	1.8Aa±65 (n=8)	2.7Bb±61 (n=6)	1.7Cb±58 (n=8)	1.1Cd±54 (n=5)	1.8Dd±51 (n=7)

الأرقام في كل مجموعة تمثل (Mean ±S.E) لمجموعة من الأغنام n (5-8 أغنام). الحروف الكبيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية (P≤0.05) عند المقارنة بين الطريقتينACCU-CHEK والـKit في نفس الجنس والفئة العمرية. الحروف الصغيرة المختلفة بين الاعمدة تعني وجود فروقات معنوية عند مستوى (P≤0.05) عند المقارنة بين الفئات العمرية باستخدام نفس الطريقة والجنس.

المناقشة

من ملاحظة نتائج هذه الدراسة (جدول 1) نجد أن طريقة الـKit هي الاقرب للقيمة الطبيعية لنسبة السكر في دم الاغنام، بينما تميل النتائج بواسطة طريقة ACCU-CHEK الى كونها أعلى من نتائج طريقة الـKit ولها مدى واسع (لاحظ الخطأ القياسي في كل مجموعة) ولكن تقع جميع هذه النتائج ضمن المدى الطبيعي لنسبة السكر في دم الأغنام والبالغ 50-80 mg/dl حسب ما أورده Kaneko *et al.* (2) و Khan (8) و Meyer and Harvey (9) بالمقابل فان طريقة الـ ACCU-CHEK كانت أسهل استخداماً وأقل كلفة من طريقة الـ Kit. أما انخفاض نسبة السكر في الدم بتقدم العمر في الاغنام فيتفق مع ما توصل اليه Eshratkhan *et al.* (10) وربما يشير ذلك إلى تغير اعتماد الحيوان من الحليب (خلال فترة الرضاعة) أو preruminant state الى الاعتماد على الاعلاف أو ruminant state حيث يتحول اعتماد الجسم على الطاقة من الكاربوهيدرات الى الاحماض الدهنية الطيارة Volatile fatty acid (VFA) (11)، وأخيراً فان نسبة السكر في دم اناث وذكور الاغنام لا تختلف معنوياً (P≤0.05) وهذا يتفق مع ما توصل اليه كل من Eshratkhan *et al.*(10) و Gatford *et al.* (12). نستنتج من هذه الدراسة أن طريقة الـ ACCU-CHEK أسهل استخداما وأقل كلفة من طريقة الـ Kit ويمكن استخدامها في قياس نسبة السكر في دم الاغنام وخاصة عندما يتطلب الامر السرعة في التشخيص لاعداد كبيرة كما في قطعان الاغنام في المناطق النائية.

المصادر

1. Berg JM, Tymorko JL, Stryer L. Biochemistry. 6th ed. New York: W.H. Freeman and Company; 2007: 433-435.
2. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of domestic animals. 6th ed. California: Academic press; 2008: 45-81.
3. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. 11th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006:830-831.
4. Thrall MA, Baker DC, Campbell TW, DeNicola D, Fettman MJ, Lassen ED, Rebar A, Weiser G. Veterinary Hematology and Clinical

Chemistry. 1st ed. Baltimore: Lippincott Williams &Wilkins; 2004: 431-443.
5. Murray RK, Grannies DK , Rodwell VM. Harper's illustrated Biochemistry. 24th ed. McGraw-hill, Lange. Boston; 2006:433-76
6. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann. Clin. Biochem. 1969;24-27.
7. Steel RGD, Torrie JH. Principles and procedures of statistics. 2nd ed., McGraw-hill book co. Inc. New York.1980.
8. Khan CM. The Merck Veterinary Manual. 9th ed. Merck and Co. Inc, USA; 2005: 1340,1342.
9. Meyer DJ, Harvey JW. Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis. 2nd ed. Saunders Co. W.B; 1998:125-138.
10. Eshratkhan B, Sadaghian M, Khajeye M, Ahmadi H, Mostavafi H. Evaluation of Non-Electrolyte Normal Values in Blood of Makuei Sheep Breed. J Anim Vet Advanc. 2008;7(3):316-318.
11. Thivend P, Toullec R, and Guilloteau P. Digestive adaptation in the preruminant. In: Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants,(edited by Ruckebusch Y and Thivend P. Westport, CT: AVI) , 1980; 561–585.
12. Gatford KL, Blasio M J De, Thavaneswaran P, Robinson JS, McMillen IC, Owens JA. Postnatal ontogeny of glucose homeostasis and insulin action in sheep. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2004;286: E1050-E1059.