Assiut Vet. Med. J. Vol. 60 No. 140 January 2014

THE IMPACT OF PROBIOTIC ADDITIVE ON SOME CELL BLOOD COMPOSITION AND ON CHOLESTEROL IN LAMBS

MOUSA AL HAMOUD; SHARIF SHAHIN and AHMED H. MOKRESH
Faculty of Veterinary Medicine, Albaath University.
Email: rosealhamod@yahoo.com

ABSTRACT

Received at: 31/12/2013

Accepted: 3/3/2014

This study was conducted to evaluate the effect of Probiotic (primalac®) on Cell Blood picture and on Cholesterol in lambs. Thirty lambs from the Syrian Awassi lambs, aged approximately 5 months with average body weight (32±0.7 kg) Were used in this experiment. The experiment of animals were devided into three groups: (T0, T1 and T2). All groups were fed on a traditional diet each animal of group T1 was received, in addition to this traditional diet, 2g of Probiotic, and animal of group T2 were received 4g of Probiotics for each. Blood was collectedfrom the groups at the endofthe experiment tocarry blood picture (RBC, WBC, PCV, HB, DWBC and Cholesterol). The results of the search to a bloody and Cholesterol changes in the groups compared to the control. Our results showed the following: An increase in the value of (RBC, HB, PCV) compared to the control, but did not reach the increase to the level of significance. (WBC, DWBC) was not affected by adding probiotics to the diet of the Lambs. A significant decrease in the concentration of The cholesterol in groups (T1, T2) compared to the control (P<0.05).

***Key Words**: Primalac®, Probiotic, Awassi lambs, Cholesterol, Cell Blood Composition, total differental leukocytescount.*

تأثير إضافة البروبيوتيك على بعض مكونات الدم الخلوية والكولسترول عند الحملان

موسى الحمود ، شريف شاهين ، أحمد حمدي مقرش
Email: rosealhamod@yahoo.com

أجري البحث لدراسة تأثير إضافة البروبيوتيك (البريمالاك) على بعض مكونات الدم الخلوية والكولسترول عند الحملان ، حيث استخدم في هذه التجربة (30) حملاً من حملان العواس السورية ، متوسط وزن الواحد منها (0.7 ± 32) وقد تم توزيعها على ثلاث مجموعات، ضّمت كل مجموعة (10) حملان (الشاهد T0,T1T2) ، غذيت حملان المجموعات على علائق تقليدية ، مع إضافة البروبيوتيك بمعدل2 غ باليوم للرأس للمجموعة T1 و4غ باليوم للرأس للمجموعة T2 ولمدة شهرين متتالين. تم سحب الدم من المجموعات في نهاية التجربة لأجراء التحاليل الدموية (RBC, WBC, DWBC, PCV, HB, Cholesterol).

أشارت نتائج البحث إلى حدوث تغيرات دموية وبيوكيميائية في المجموعات مقارنة بالشاهد الأمر الذي يعزز ويؤكد دور البروبيوتيك في تربية لحملان. وكانت النتائج زيادة في قيمة (PCV, HB, Cholesterol, RBC) مقارنة بالشاهد ، ولكن لم تصل هذه الزيادة إلى مستوى المعنوية. ولم تتأثر (WBC, DWBC) بإضافة البروبيوتيك إلى عليقة الحملان. وانخفاض معنوي في تركيز الكولسترول في مجموعات التجربة (T2،T1) مقارنة بالشاهد عند قيمة (p<0.05).

INTRODUCTION
المقدمـة

يشهد العالم يوماً بعد يوم تقدماً هائلاً في التكنولوجيا عموماً والتقانة الحيوية خصوصاً ولاسيما في مجال الإنتاج الحيواني ، هذا الإنتاج الذي ينبغي علينا أن نطوره كماً وكيفاً ليلبي حاجات المستهلك وذوقه ، ويعزز في نفس الوقت أمننا الغذائي ويحمي صحة المستهلك عندنا من احتمالات مرضية تنجم عن استهلاك هذه المنتجات. ولقد اعتادت بعض المؤسسات المشتغلة بتربية الحيوان وكذلك بعض الأفراد ولسنوات طويلة على أن تضيف الصادات الحيوية إلى العلائق الغذائية كمحسنات نمو(GP (Growth promoters وكمثبطات لنمو العضيات الممرضة في الجسم وكمعززات للأداء الإنتـاجي وكواقيـات من الإصابـة ببعض الأمـراض المعويـة لهذه الحيـوانات بغيـة تسـريع نمـوها ووقايتـها من الأمراض (Truscott and Alsheikhly, 1977). إلا أن الباحثين في هذا المجال اكتشفوا أن لهذه الصادات تأثير تراكمي على نوعية المنتج المعد للاستهلاك البشري والسبب في ذلك عائد إلى ثمالاتها (Residues) المضرة وظهور أنواع من البكتيريا المقاومة للعديد من الصادات الحيوية في آن

واحد (Philips,1999). ولذلك قامت منظمة الصحة العالمية باستصدار تعليمات ونصائح تمنع إضافة بعض الصادات الحيوية إلى العليقة الغذائية (Woodward, 2005).

يتأثر نمو الحملان وتطوره بالبنية الوراثية (El-Barody *et al.*, 2002) والظـروف البيئيـة وبشـكل خـاص طريقـة التغذيـة ومعـززات النمو (Abd El-Gawad *et al.,* 2002, Andrighetto *et al.,* 1993) حيث تؤثر التغذية بشكل مفيد في إنتاج حملان تجارية من خلال إدخال المستنبتات الحية (live culture) بشكل نسبي في غذاء الحملان والذي هو أمر عَصْرِيّ ومبشر بالنجاح (El-Barody *et al.,* 2002) إن أحد أهم هذه المستنبتات (الإضافات الغذائية) ليس فقط لعليقة الأغنام وإنما لعلائق كل المجترات هي مركبات البروبيوتيك DFM Fed (Direct Microbial)، التي يتم استعمالها حديثاً كبدائل مناسبة (Gibson and Fuller, 2000) من أجل زيادة الإنتاج وتخفيض النفقات في تربية الحيوان وتتصف بقلة خطورتها وانعدام ثمالاتها وقدرتهاعلى أن تلعب دوراً محفزاً للنمو ومعيقاً لنمو العضيات الممرضة دون أن تتسبب في تكوين ذراري جرثومية مقاومة في جسم الكائن الحي (Chichlowski *et al.,* 2007). إحدى أهم هذه البدائل مركبات البروبيوتيك (Probiotics) وهي مجموعة من الأحياء الميكروبية النافعة والتي تعمل على الحفاظ على التوازن المرغوب والمفضل للكائنات الحية المجهرية القاطنة في القناة الهضمية (Fuller, 1989). وقد تم اختيار مركب من مركبات البروبيوتيك وهو مركب البريمالاك (Primalac®) المتوفر في الأسواق وهو من إنتاج شركة (Star-Labs, USA) لرصد واستقصاء التأثيرات المحتملة له على نمو الحملان ، وهو يحتوي على المكونات التالية:

- 1 x 10^9 CFU/Gram = Billion Organisms/g
- Lactobacillus acidophilus fermentation product dehydrated 2.5 x 10^8 = 250,000,000
- Lactobacillus casei fermentation product dehydrated2.5 x 10^8 = 250,000,000
- Bifidobacteriumbifidium fermentation product dehydrated2.5 x 10^8 = 250,000,000
- Enterococcus faecium fermentation product dehydrated2.5 x 108 = 250,000,000
- Rice mill by product
- Calcium carbonate

لذلك فقد رأينا البحث في تأثير هذا المركب (البروبيوتيك) على مكونات الدم الخلوية وعلى الكولسترول عند الحملان في ضوء وجوده وغيابه كون دراسته ضئيلة عند الحملان أو حتى في المجترات الأخرى ، ونظراً لكون الأغنام تشكل العماد الأساسي في ثروتنا الحيوانية ، كما أن المستهلك عندنا يفضل لحمها على لحوم الحيوانات الأخرى الموجودة في القطر.

OBJECTIVES
أهداف البحث

١- دراسة تأثير إضافة البروبيوتيك (البريمالاك) على مكونات الدم الخلوية
٢- دراسة تأثير إضافة البروبيوتيك (البريمالاك) على الكولسترول عند الحملان

MATERIALS and METHODS
مواد وطرائق البحث

حيوانات التجربة

تم اختيار ثلاثين حملاً من حملان العواس السورية ، بلغ متوسط وزن الواحد منها (32±0.7 kg) في مزرعة خاصة في قرية معرشحور التابعة لمحافظة حماه ثم وزعت الحملان على ثلاث مجموعات (الشاهد T0, T1, T2) وقد تضمنت كل مجموعة عشرة حملان.

التغذية

تمت تغذية حملان التجربة على عليقة معتادة للتسمين الجدول رقم (1) كما تم تجريع حملان التجربة مركب البريمالاك العلفي الذي تم وضعه ضمن كبسولات بمقدار (2g) للمجموعة (T1) و(4g) للمجموعة (T2) الشكل (1 ، 2) يوضحان نموذجاً لهذه الكبسولات يومياً في الصباح لضمان وصول المركب إلى كل حيوان من حيوانات المجموعة الواحدة وبالجرعة المطلوبة حسب خطة التجربة الموضحة في الجدول رقم(2).

شكل رقم ١: نموذج للكبسولات المعطاة للمجموعةT1 المحتوية 2g بريمالاك

شكل رقم ٢: نموذج للكبسولات المعطاة للمجموعة T2 المحتوية 4g بريمالاك

جدول ١: مواد العلف الأولية المستعملة في تركيب العليقة الأساسية للتجربة %.

المادة العلفية	نسبة المادة العلفية المستعملة في العليقة %
شعير	62
ذرة صفراء	17
كسبة قطن مقشورة 44%	2
كسبة صويا 48%	3
نخالة	15
فوسفات ثنائية الكالسيوم	0.4
ملح طعام	0.5
فيتامينات وأملاح	0.1
المجموع	100

جدول ٢: مجموعات التجربة ووزن جرعة البريمالاك المضافة يومياً.

مجموعات التجربة	عدد الحملان	جرعة البريمالاك
T0	**10**	**-**
T1	**10**	**2g للرأس يوميا**
T2	**10**	**4g للرأس يوميا**

جمع عينات الدم والتحاليل المجراة عليها

من أجل دراسة مكونات الدم الخلوية عند حيوانات التجربة، تم سحب الدم من الوريد الوداجي في نهاية التجربة ، التي استمرت شهرين بسيرنغ قياس 5 مل بعد تعقيم مكان السحب ، وبعد ذلك تم وضع 2 مل من الدم المسحوب في أنبوب سعة 2.5 مل يحتوي على مانع تخثر هو(EDTA) من أجل دراسة مكونات الدم الخلوية و3 مل في أنبوب زجاجي معقم وخالي من الهواء لا يحتوي على مانع تخثر من اجل الحصول على مصل الدم من أجل دراسة الكولسترول (Cholesterol)

- تم تقدير قيمة (PCV %) بطريقة الأنابيب الشعرية Microhematocrit – method باستخدام أنابيب دقيقة طولها 75ملم وقطرها/1/ ملم ومفتوحة الطرفين وخالية من أي مادة مانعة للتخثر.
- تم تقدير التعداد الكلي للكريات الدموية الحمراء RBC والبيضاء WBC بطريقة العد التقليدية وباستخدام عدادة نيوباور المعدلة.
- تم معايرة الخضاب الدموي HB باستخدام مجموعة جاهزة (Kits) من صنع شركة Biosystem وباستخدام جهاز Spectrophytometer BTS-310 من صنع شركة Bio-system.
- تم تحضير فيلم دموي بطريقة الشريحتين لمعرفة الصيغة التفريقية لكريات الدم البيضاء total anddifferental leukocytes (countDWBC) ومن ثم تم صباغة الفلم الدموي المحضر بواسطة صبغة جيمزا.
- تم معايرة الكولسترول Cholesterol باستخدام مجموعة كيت جاهزة وحسب توصيات الشركة المصنعة (Human) وباستخدام جهاز Spectophotometer

التحليل الإحصائي: Statistical analysis

للتحليل الإحصائي للمعطيات تم استخدام برنامج حاسوبي من نوع (SPSS14.0) حيث قمنا بتحليل التباين لمعيار واحد (One Way ANOVA). وذلك للتقصي عن وجود فروق معنوية في قيم المتوسطات الحسابية للمعطيات الرقمية التي تمخضت عنها التجربة.

RESULTS
النتائج

بينت النتائج أن إضافة البروبيوتيك (البريمالاك) إلى العليقة أفضت إلى إحداث تغيرات في تراكيز بعض المكونات الخلوية للدم ولكن بصورة غير معنوية. أما بالنسبة للكولسترول فقد أظهرت نتائجنا وجود انخفاض معنوي جداً (P<0.01) في قيمته حيث بلغ تركيزه في المجموعة (T1=60.60) mg/dl والمجموعة (T2=79) mg/dl بالمقارنة مع مجموعة الشاهد (84.40mg/dl). كما هو موضح بالجدول رقم (٣) والجدول رقم (٤).

جدول رقم ٣: تأثير البريمالاك على مكونات الدم الخلوية والكولسترول عند الحملان.

المؤشرات	مجموعات التجربة		
	T0 الشاهد	T1	T2
	Mean ±SD	Mean ±SD	Mean ±SD
RBC×10^6 µL	8.79± 0.71	9.19± 0.64	8.74 ±0.86
WBC×10^3 µL	9.42 ± 0.48	9.04± 0.39	9.16± 0.40
HB g/dl	9.60 ± 0.56	9.96 ± 0.26	9.74± 0.61
PCV %	29.8± 1.78	29.40 ±1.14	29.20± 2.16
Cholesterol mg/dl	84.40±3.20 B	60.60±19.32 Aa	79±5.78 b

- وجود فرق معنوي عند قيمة (p<0.05) عند وجود الأحرف a,b بشكل مختلف في الصف الواحد.
- وجود فرق معنوي جدا عند قيمة (p<0.01) عند وجود الأحرف A,B بشكل مختلف في الصف الواحد.

جدول رقم ٤: تأثير إضافة البريمالاك على الصيغة التفريقية للكريات البيض عند الحملان.

المؤشرات	مجموعات التجربة		
	T0 الشاهد	T1	T2
	Mean ±SD	Mean ±SD	Mean ±SD
Lymphocyte %	80.60± 3.91	77.80± 3.34	80.40± 2.40
Monocytes %	2.20± 0.44	2.60± 0.89	2.40± 0.89
Neterophils	15.60± 3.78	18± 2.91	15.80± 2.16
Basophils %	0.4± 0.54	0.4± 0.54	0.4± 0.54
Eosinophils %	1.2± 0.44	1.2± 0.44	1.2± 0.44

DISCUSSION
المناقشة

الصورة الدموية مؤشر هام على صحة الحيوان (Cheesborough, 1991) وقد وجد أن صورة الدم تتأثر بواسطة المصادر المختلفة من البروبيوتيك (Aboderin and Oyetayo 2006) إن إضافة البروبيوتيك (البريمالاك) إلى عليقه الحملان أدت إلى زيادة في قيم (RBC, PCV HB,) ولكن هذه الزيادة لم تصل إلى مستوى المعنوية وهذا يناقض ماذكره (Sayed, 2003) بأن إضافة البروبيوتيك إلى عليقة الجدايا لها تأثير معنوي على قيم (RBC , PCV , HB). وتتوافق مع ماذكره الباحث (Morrill *et al.,* 1995) بأن إضافة البروبيوتيك لغذاء العجول لم يكن لها أي تأثير معنوي على تعداد كريات الدم الحمراء والبيضاء وتتوافق أيضاً مع (Sadiek and Boehm, 2001) اللذان وجدا النتيجة نفسها عند إضافة البروبيوتيك لغذاء الأغنام.

أما بالنسبة إلى كريات الدم البيضاء والصيغة التفريقية لها والهيموغلوبين فلم تتأثر بإضافة البروبيوتيك بالجرعتين (2g ,4g) بالمقارنة مع مجموعة الشاهد T0 وهذا يتوافق مع ما أخبره (Galip, 2006) الذي ذكر بأنه لا يوجد اختلافات في قيم الهيموغلوبين Hb الخلايا القاعدية basophils، الحمضات eosinphils ، ووحيدات النوى monocytes بين الشاهد والمجموعة التي أضيف إلى عليقتها الخميرة.

ويتوافق مع كلاً من (Aboderin and Oyetayo, 2006) حيث وجدا بأن وحيدات النوى monocytes والخلايا القاعدية basophils والهيموغلوبين hemoglobin لم تتأثر بالمستويات المختلفة من البروبيوتيك بالمقارنة مع مجموعة الشاهدT0.

أما بالنسبة للخلايا اللمفاوية فقد ازدادت بالمقارنة مع مجموعة الشاهد ولكن أيضاً لم تصل هذه الزيادة إلى مستوى المعنوية ، وهذا يتناقض مع (Belewu *et al.,* 2008). وكذلك أشارت نتائجنا الى وجود انخفاض معنوي في تركيز الكولسترول في المجموعتين المضاف اليهما البروبيوتيك (T2=79mg/dl, T1=60.60mg/dl) بالمقارنة مع مجموعة الشاهد (84.40mg/dl) وهذا ما يوافق كلاً من الباحثين (Alp, and Kahraman, 1996, Lubbadeh *et al.,* 1999). ويعزى انخفاض تركيز الكولسترول في مجموعات التجربة مقارنة مع مجموعة الشاهد إلى انخفاض امتصاص الدهن (lipid) من الأمعاء بواسطة Deconjugation وبالتالي ربما هذا ما أدى إلى انخفاض كولسترول الدم. وربما تفكيك عصارة المرارة في الأمعاء ، وبالتالي منع إعادة الامتصاص للكوليسترول.

ولكن يجب الاعتراف بأن العثور على الآليات الفعالة التي تؤدي إلى خفض كوليسترول الدم تحت تأثير إضافة البريمالاك إلى العليقة ، يحتاج إلى أبحاث رصينة أخرى تركز على هذا الموضوع.

CONCLUSIONS and RECOMMENDATIONS
الاستنتاجات والتوصيات

- أثبتت نتائج هذه التجربة أن إضافة مركب البريمالاك إلى عليقة الحملان أفضت إلى انخفاض الكوليسترول في المجموعتين (T1 , T2) بالمقارنة مع مجموعة الشاهد (T0).
- إن المجموعات المضافة إلى عليقتها البريمالاك لم تحتاج إلى الصادات الحيوية خلال فترة التجربة وهذا يؤمن للمستهلك منتجاً (لحماً) صحياً خال من الثمالات الدوائية التي يحمل وجودها في الجسم مخاطر لا تحمد عقباها.
- نوصي بأن تخضع أمثال هذه المركبات لمزيد من الاستقصاءات التي تستهدف الكشف عن آلية عمل هذه المركبات وكذلك معرفة ذروة حدودها المحسنة للإنتاج وتأثيراتها الجانبية في حال وجودها.
- نوصي أيضاً بدراسة تأثير هذا المركب على المناعة النوعية (الجلوبيولينات المناعية) عند الحملان.

REFERENCES
المراجـع

Abd El-Gawad, Eman, I.; Maharm, G.M.; Faten, F. Abou Ammo and Fathia A. Ibrahim. (2002): Effect of yeast culture (Lacto-Sacc) supplementation on growth, some blood parameters and carcass quality of goats. Egypt. J. Appl. Sci., 17 (7): 375-388.

Aboderin, F.I. and Oyetayo, V.O. (2006): Haematological Studies of Rats Fed Different doses of Probiotics, Lactobacillus plantarum, Isolated from Fermenting Co Slurry. Pak. J. Nutr. 5(2): 102-105.

Alp, M. and Kahraman, R. (1996): Utilization of probiotics in animal nutrition. Istanbul Üniv. Vet. Fak. Derg., 22: 1-8.

Andrighetto, J.; Bailoni, L.; Cozzi, G. and Berzaghi, P. (1993): Effect of yeast culture addition on digestion in sheep fed a highconcentrated diet. Small ruminant research.12.27-34.

Belewu, M.A.; Yahaya, A.A. and Adeyina, A.O. (2008): Study on some haematological parameters of goats fed aspergillus treated and untreated shea-butter cake. Rev. J. Anim. Sci. 2(5): 154-156.

Cheesborough, M. (1991): Medical laboratory manual for tropical countries. 2nd edition Tropical Health Technology and Butterworth Scientific limited. 1: 494-526.

Chichlowski, M., Croom, J.; McBride, B.W.; Havenstien, G.B. and Koci, M.D. (2007): Metabolic and physiological impact of Probiotics or direct –fed microbes on poultry: A brief review of current knowledge. Int. J. Poult. Sci. 6(10): 694-704.

El-Barody, M.A.A.; Abdalla, E.B. and Abd El-Hakim, A.A. (2002): The changes in some blood metabolites associated with the physiological responses in sheep. Livestock Prod. Sci., 75: 45-50.

El-Shamaa, I.S. (2002): Onset of puberty, semen production and blood constituents in crossbred male lambs as affected by dietaryyeast culture addition. J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 27(7): 4589-4598.

Fuller, R. (1989): Probiotics in man and animals. J. Appl. acterial., 66: 365-378.

Galip, N. (2006): Effect of supplemental yeast culture and sodium bicarbonate on ruminal fermentation and blood variables in rams. J. Anim. Phys. and Anim. Nutri. 90: 446-452.

Gibson, G.R. and Fuller, R. (2000): Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. J. Nutr., 130: 391-395.

Lubbadeh, W.; Haddadin, M.S.Y.; Al-Tamimi, M.A. and Robinson, R.K. (1999): Effect on cholesterol contentof fresh lamb of supplementing the feed of Awassiewes and lambs with Lactobacillus acidophilus. Meat Sci., 52: 381-385.

Morrill, J.L.; Morrill, J.M.; Feyerherm, A.M. and Laster, J.F. (1995): Plasma proteins and a probiotic as ingredients in milk replacer. J. Dairy Sci. 78: 902-907.

Philips, I. (1999): Assessing in the evidence that antibiotics growth promoters influence human infection. J. Hospital Infections,43: 173-178

Sadiek, A. and Boehm, J. (2001): Influence of pronifer as a probiotic on the rumen fluid and blood parameters of sheep fed different roughage concentrate based diets. Wiener Tieraztliche Monatscshrift, 88: 4-10.

Sayed, A.S. (2003): Studies of the influence of pronifer as a probiotics on the clinical, hematological and biochemical status of the goat's kids. Assiut. Vet. Med, J. 99(98): 131-143.

Truscott, R.B. and Alsheikhly, F. (1977): The production and treatment of necrotic enteritis in broilers. AM. J. Vet. Res. 38: 857-861.

Woodward, P. (2005): Impact of a ban on animal by- products and antibiotic growth promoters – European experience. Page 46-57. In: Proceeding, Thirty second annual Carolina Poultry Nutrition Conference, North Carolina, October, 26-27.