

تأثير المضاد الحيوي Meropenem على مستوى خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوصة في علاج حالات تعفن الدم التجريبي بالمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* في الأرانب

ادبية يونس شريف حمو النعمان*، مقداد رحمة الله الجواري* و كوثر عبد المطلب محمد حسن الحديدي**

*قسم علوم الحياة، كلية العلوم، **فرع الأدوية، كلية الصيدلة، جامعة الموصل، الموصل، العراق

الخلاصة

تضمنت الدراسة التأثيرات الجانبية الناتجة عن استخدام المضاد الحيوي Meropenem لعلاج تعفن الدم بجرثومة المكورات العنقودية الذهبية التجريبي في الأرانب، إذ دُرس تأثيره على مستوى خضاب الدم وحجم الخلايا المرصوصة. أظهرت الدراسة ان المضاد الحيوي Meropenem بجرعة (10) ملغم/كغم من وزن الجسم لم يؤثر على مستوى الخضاب وعلى النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة، في حين أن الجرعة (20) ملغم/كغم من وزن الجسم من المضاد الحيوي Meropenem أدت إلى خفض مستواهما معنوياً.

Effect of the antibiotic meropenem on the level of hemoglobin and packed cell volume in experimental septicemia caused by *Staphylococcus aureus* in rabbits

A. Y. Sh. H. AL-Numan*, M. R. Al- Juwarey* and K. A. M. H. Al- Hadidi**

*Department of Biology, College of Biology, **Department of Pharmacology, College of Pharmacy, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

The study includes the side effects resulted after the use of the antibiotic meropenem in the treatment of experimental *Staphylococcus aureus* septicemia in rabbits, the effect of this antibiotic was studied on Haemoglobin level and packed cell volume. The study revealed that antibiotic in a dose of (10) mg meropenem/Kg body weight had no effect on Hb concentration and the percentage of PCV, while the dose of (20) mg/Kg body weight significantly decreases their concentrations.

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

المقدمة

استخدمت المضادات الحيوية لعلاج الكثير من الأمراض ومنها تعفن الدم، إذ استخدمت المضادات الحيوية Cefoxitin و sodium Meropenem و Imipenem / Cilastatin و Ciprofloxacin لعلاج تعفن الدم، كما استخدمت المضادات الحيوية Amikacin sulfate و Tobramycin sulfate لعلاج حالات تعفن الدم الجرثومي للخدج والاطفال (5).

وعلى الرغم من ان نسبة الوفيات التي تنتج عن حالات تعفن الدم كانت (90) ٪ قبل استخدام المضادات الحيوية، والتي بدأت تتناقص حتى وصلت (24-58) ٪ بعد استخدامها في العلاج (6)، لكنها سببت تأثيرات جانبية على الدم واجهزة الجسم

بعد تعفن الدم مسبباً رئيسياً للوفاة والأمراض، حيث سجل أكثر من (14) مليون حالة وفاة بهذا المرض في اطفال كانت اعمارهم اقل من خمس سنوات في البلدان النامية (1)، وخاصة بين الاطفال حديثي الولادة إذ بلغت نسبة الوفاة اعلى من 70٪ (2).

ان تعفن الدم الذي تسببه المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* يتواصل بكونه مشكلة عالمية شائعة (3)، حيث يحدث في كل الفئات العمرية ويسبب وفيات ملحوظة تبلغ نسبتها 20٪ - 35٪ (4).

اختبار زرع الدم Blood culture test

زرعت عينة الدم المأخوذة من الأرانب المحقونة بالمعلق الجرثومي في وسط نقيع المخ والقلب وبواقع (1) سم³ من الدم لكل 10 سم³ من وسط نقيع المخ والقلب ثم حضنت في درجة حرارة (37)°م لمدة (24-48) ساعة، ان ظهور العكارة في الوسط يعتبر دليل على إصابة الارانب بمرض تعفن الدم (9)، تم تلقيح قطرة من وسط نقيع المخ والقلب على وسط اكار الدم للتأكد من استمرار الإصابة، وقد اجري هذا الاختبار بشكل دوري كل (48) ساعة ابتداء من اليوم الاول من التجربة وحتى اليوم التاسع والحادي عشر حيث شفيت الارانب من الإصابة.

تحضير المضاد الحيوي Meropenem ودراسة تأثيره على الحيوانات المختبرية

تم تحضير المضاد الحيوي Meropenem اعتماداً على ما ورد في (10) وتم حقن الحيوانات المختبرية بجرعتي (10 و 20) ملغم/كغم من وزن الجسم منه.

تأثير المضاد الحيوي Meropenem على الحيوانات التجريبية
قسمت الحيوانات المصابة تجريبياً وغير المصابة الى اربعة مجاميع، المجموعة الاولى تمثل مجموعة السيطرة السالبة والتي شملت ارناب اصحاء حققت بمحلول الملح الفسلجي، اما المجموعة الثانية فتتمثل مجموعة السيطرة الموجبة والتي شملت ارناب مصابة تجريبياً بمرض تجرثم (تعفن) الدم تم حقنها بمحلول الملح الفسلجي، وشملت المجموعة الثالثة ارناب مصابة تجريبياً بمرض تعفن الدم ومعالجة بجرعتي المضاد الحيوي Meropenem، بينما شملت المجموعة الرابعة ارناب اصحاء تم حقنها بجرعتي المضاد نفسه.

الفحوصات المختبرية

جمعت (3) سم³ من عينات الدم عن طريق طعنة القلب من المجاميع الاربعة المذكورة اعلاه، وضع حوالي (1) سم³ من هذه الكمية في انابيب زرع الدم وذلك للتأكد من وجود الإصابة، في حين وضع حوالي (1.5 - 2) سم³ منه في انابيب بلاستيكية ذات اغطية محكمة حاوية على مادة مانعة للتخثر Ethylene Diamine Tetracetic Acid (EDTA) بمقدار (0.1) مللتر وذلك لاجراء فحوصات الدم الآتية اعتماداً على ماورد في المصدر (11)؛ فحص خضاب الدم Haemoglobin test بطريقة سيانميتهيموكلوبين Cyanmethaemoglobin، و تحديد حجم الخلايا المرصوفة Determination of Packed Cell Volume، تم إجراء الفحص بالطريقة الصغيرة او الدقيقة Micro-method وباستخدام الانابيب الشعرية Capillary tubes.

التحليل الإحصائي

المختلفة، فقد اوضح نابيسين (7) ان المضاد الحيوي Meropenem سبب نقصاً في خضاب الدم ونقصاً في حجم الخلايا المرصوفة في المرضى المعالجين به. وبناءً على ما تقدم ولاهمية علاج الإصابة بتعفن الدم على الانسان وصحته فقد ارتأت الدراسة الحالية بيان التأثيرات الجانبية لاستخدام المضاد الحيوي Meropenem في علاج تعفن الدم الناتج عن الإصابة التجريبية بجرثومة المكورات العنقودية الذهبية في الارانب على مستوى خضاب الدم (Hb) Haemoglobin والنسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوفة (PCV) Packed Cell Volume.

المواد وطرائق العمل

تحضير المعلق الجرثومي المستخدم في احداث الإصابة التجريبية للحيوانات المختبرية

لحق (5) سم³ من وسط المرق المغذي Nutrient broth في انبوبة زجاجية معقمة بعزلة نقية من جرثومة المكورات العنقودية الذهبية والتي عزلت من حالات مرضية وتم تشخيصها بالطرق الروتينية، وذلك بنقل مستعمرة منفردة من المزرعة الى وسط المرق المغذي تحت ظروف التعقيم. حضنت الانابيب بدرجة حرارة (37)°م لمدة (18 - 24) ساعة. بعد انتهاء فترة التحضين، تم فصل الخلايا الجرثومية بعملية الطرد المركزي للوسط المغذي عند سرعة (2000 دورة/دقيقة) ولمدة (10) دقائق، وتم غسل الخلايا باستخدام محلول الملح الفسلجي وذلك باضافة (2) سم³ منه الى الرايب ومزج جيداً، ثم اعيدت عملية الطرد المركزي عند نفس السرعة وب نفس الفترة الزمنية وتم التخلص من الرايش، اجريت هذه العملية ثلاث مرات، ثم اضيف (5) سم³ من المحلول الملحي الفسلجي الى الرايب. حضرت تخافيف عشرية للمعلق الجرثومي المحضر الى التخفيف 10⁻⁴ (الانبوب رقم 4). ضبط عدد الخلايا الجرثومية بين (5 × 10⁶ - 1 × 10⁷) cfu/سم³ بطريقة العد الحي للمستعمرات النامية على الطبق Viable plate count method (8).

الحيوانات المختبرية

استخدمت في الدراسة ارناب ذكور نوع (Albino) بيضاء وزنها يتراوح بين (1000 - 1600) غم وبعمر (6) اشهر، وبواقع (5) ارناب لكل مجموعة، وقد اجري اختبار النقاوة عليها للتأكد من خلو دمها من الاضداد للجرثومة قيد الدراسة.

الإصابة التجريبية للحيوانات المختبرية

حققت الأرناب بـ (1) سم³ من المعلق الجرثومي المحضر عند التخفيف (10⁻⁴) عن طريق الوريد الأذني، وبعد مرور (24) ساعة تم سحب الدم من الأرناب عن طريق طعنة القلب وتم إجراء اختبار زرع الدم للتأكد من إصابة الأرناب بمرض تعفن الدم.

حدث انخفاض معنوي في مستواه أيضاً، إذ انخفضت كمية الخضاب وقيمة PCV من (98) غم/لتر و (30.50) % على التوالي عند بداية الإصابة إلى (64.50) غم/لتر و (20) % على التوالي بعد خمسة أيام من الإصابة، أما عند مجموعتي الأرناب السليمة والمجرعة بنفس الجرعة من المضاد الحيوي Meropenem فلم يكن الانخفاض معنوياً في كلا من مستوى الخضاب وقيمة PCV، إذ كان مستواه (96.60) غم/لتر و (30) % على التوالي عند بداية التجريع ووصلت إلى (89.60) غم/لتر و (27.80) % على التوالي عند نهايته، ولم ينخفض مستواه معنوياً أيضاً عند مجموعة الأرناب السليمة والمجرعة بمحلول الملح الفسلجي كعينة سيطرة سالبة، مما يدل على عدم تأثير المضاد الحيوي Meropenem بجرعة (10) ملغم/كغم من وزن الجسم على مستوى خضاب الدم وعلى النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة وأن التأثير كان ناتجاً عن الإصابة الجرثومية بالدرجة الأولى.

اعتمدت الطرق الاحصائية القياسية لإيجاد المعدل، كما استخدم تحليل التباين الاحادي One Way Anova واختبار دنكن Duncan test في المقارنات بين الايام والمجاميع لإيجاد معامل الارتباط، وعدت نتائج الاختبارات معنوية عند مستوى احتمالية $P \leq 0.05$ (12).

النتائج

أظهرت نتائج الدراسة حدوث انخفاض معنوي في مستوى خضاب الدم وفي النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة عند مجموعتي الأرناب المصابة تجريبياً والمعالجة بالمضاد الحيوي Meropenem بجرعة (10) ملغم/كغم من وزن الجسم، إذ يبين الجدولين (1،2) أن كمية الخضاب وقيمة PCV كانت (102) غم/لتر و (31.67) % على التوالي عند بداية العلاج وانخفضت تدريجياً إلى أن وصلت (72) غم/لتر و (22.33) % على التوالي عند نهايته، وعند مقارنتها مع مجموعة الأرناب المصابة تجريبياً والمجرعة بمحلول الملح الفسلجي كعينة سيطرة موجبة لوحظ

الجدول (1): تأثير المضاد الحيوي Meropenem بجرعته (10 و 20) ملغم/كغم من وزن الجسم على مستوى خضاب الدم (غم/لتر).

المعدل ± الخطأ القياسي						المجاميع
اليوم الحادي عشر	اليوم التاسع	اليوم السابع	اليوم الخامس	اليوم الثالث	اليوم الاول	
100.30± 3.60 ab	95.70± 4.40 a-d	94.00± 7.40 bcd	101.00± 5.10 ab	102.40± 8.80 ab	109.00± 9.40 a	أرناب سليمة + ملح فسلجي
*	*	*	64.50± 5.60 i	93.00± 0.00 bcd	98.00± 2.20 abc	أرناب مصابة بمرض تعفن الدم + ملح فسلجي
72.00± 7.00 ghi	73.00± 4.80 f-i	68.70± 2.90 hi	84.70± 7.20 c-g	91.00± 0.60 bcd	102.00± 1.30 ab	أرناب مصابة بمرض تعفن الدم + 10 ملغم Meropenem / كغم من وزن الجسم
89.60± 5.50 bcd	88.40± 3.80 bcd	92.80±3.40 bcd	92.60± 2.90 bcd	90.80±2.40 bcd	96.60±2.30 a-d	أرناب سليمة + 10 ملغم Meropenem / كغم من وزن الجسم
**	82.50±0.70 d-g	85.00± 3.60 c-g	85.50±4.90 c-f	101.50± 2.00 ab	109.50± 1.60 a	أرناب مصابة بمرض تعفن الدم + 20 ملغم Meropenem / كغم من وزن الجسم
	79.70± 1.90 e-h	84.70± 3.50 c-g	89.30± 11.90 bcd	102.00± 4.90 ab	102.70± 3.10 ab	أرناب سليمة + 20 ملغم Meropenem / كغم من وزن الجسم
الحروف المختلفة أفقياً وعمودياً تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية $P \leq 0.05$. * أرناب ميتة، ** أرناب تم شفاؤها.						الجدول (2): تأثير المضاد الحيوي Meropenem بجرعته (10 و 20) ملغم/كغم من وزن الجسم على النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة (%).
المعدل ± الخطأ القياسي						المجاميع

اليوم الاول	اليوم الثالث	اليوم الخامس	اليوم السابع	اليوم التاسع	اليوم الحادي عشر
± 33.80 2.92 ab	± 31.80 2.75 a-e	± 31.40 1.57 a-e	± 29.20 2.31 a-h	± 29.71 1.77 a-h	± 31.13 1.83 a-f
أرانيب سليمة + ملح فسلجي					
± 30.50 0.87 a-f	± 29.00 0.00 a-h	± 20.00 2.31 k	*	*	*
أرانيب مصابة بمرض تعفن الدم + ملح فسلجي					
± 31.67 0.42 a-e	± 28.33 0.21 a-i	± 26.33 0.92 e-j	± 24.00 1.10 h-k	± 22.67 1.48 ijk	± 22.33 2.20 jk
أرانيب مصابة بمرض تعفن الدم + 10 ملغم Meropenem / كغم من وزن الجسم					
± 30.00 0.71 a-g	± 28.20 0.73 b-i	± 28.50 0.29 a-h	± 28.00 0.45 c-i	± 27.40 1.21 d-j	± 27.80 1.71 d-j
أرانيب سليمة + 10 ملغم Meropenem / كغم من وزن الجسم					
± 34.00 0.58 a	± 31.50 0.87 a-e	± 28.76 2.33 a-h	± 26.50 1.44 e-j	± 25.50 0.29 f-j	**
أرانيب مصابة بمرض تعفن الدم + 20 ملغم Meropenem / كغم من وزن الجسم					
± 33.67 1.65 abc	± 33.00 2.16 a-d	± 27.67 2.33 d-j	± 26.33 1.76 e-j	± 24.67 0.88 g-k	
أرانيب سليمة + 20 ملغم Meropenem / كغم من وزن الجسم					

الحروف المختلفة أفقياً وعمودياً تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية $P \leq 0.05$. * أرانيب ميتة، ** أرانيب تم شفاؤها.

الحيوي Meropenem بجرعة (10) ملغم والتي بلغت (7) غم /لتر و (2.2) ٪ على التوالي وعند المجموعتين المجرعتين بجرعة (20) ملغم والبالغة (23) غم/لتر و (9) ٪ (الجدول 1، 2) يتضح بان الجرعة (20) ملغم من المضاد الحيوي Meropenem كانت أكثر تأثيراً من الجرعة (10) ملغم وقد يعود السبب في ذلك الى كون الجرعة (20) ملغم جرعة عالية تسببت في تحفيز الجهاز المناعي لتكوين اعداد من نوع IgG تفاعلت مع كريات الدم الحمر المغلفة بالمضاد مما يسبب حدوث فقر دم تحلي (13)، كما اوضح الباحث نايسين (7) ان المضاد الحيوي Meropenem سبب نقصاً في مستوى الخضاب وفي حجم الخلايا المرصوصة في المرضى المعالجين به، إذ ان الجرعة العالية قد تعمل كمستضد ناقص مما يؤدي الى حدوث فقر الدم التحلي. وكذلك اوضحت النتائج ان الاصابة بجرثومة المكورات العنقودية الذهبية سببت حدوث انخفاض معنوي في كلاً من مستوى خضاب الدم والنسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة، وقد اتفقت هذه النتيجة مع نتيجة الباحث كاتو وجماعته (14) والباحث كراسيلينيكوف وجماعته (15) إذ اشاروا الى قدرة جرثومة المكورات العنقودية الذهبية على انتاج اليفان - الفا الذي سبب تحلل كريات الدم الحمر للارانب المصابة بها عن طريق ارتباطه بمستقبلات خاصة له على اغشية كريات الدم الحمر للارانب وتكوينه لمسامات عبر الغشاء مما يسبب تحلل الكرية.

المصادر

كما يلاحظ ايضاً من الجدولين (1، 2) ان هناك انخفاضاً معنوياً في مستوى خضاب الدم وفي النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة نتيجة استخدام المضاد الحيوي Meropenem بجرعة (20) ملغم/كغم من وزن الجسم، إذ يلاحظ ان مستوى الخضاب وقيمة PCV عند مجموعتي الارانب المصابة تجريبياً والمعالجة بالمضاد كانت (109.50) غم/لتر و (34)٪ عند بداية العلاج وانخفضت تدريجياً الى ان وصلت (82.50) غم/لتر و (25.50) ٪ عند نهايته، بينما انخفض مستواه من (102.70) غم/لتر و (33.67) ٪ على التوالي عند بداية التجريع الى (79.70) غم/لتر و (24.67) ٪ على التوالي عند نهايته ضمن مجموعتي الارانب السليمة المجرعة بالمضاد Meropenem، مما يوضح تأثير المضاد الحيوي Meropenem بهذه الجرعة في مستوى خضاب الدم وفي النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة فضلاً عن التأثير الناتج عن الاصابة الجرثومية.

المناقشة

تبين من خلال النتائج ان المضاد الحيوي Meropenem بجرعة (10) ملغم/كغم من وزن الجسم لم يؤثر على مستوى الخضاب وعلى النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة، في حين ان الجرعة (20) ملغم/كغم من وزن الجسم من هذا المضاد أدت الى خفض مستواه معنوياً، ومن مقارنة الانخفاض في مستوى خضاب الدم وفي النسبة المئوية لحجم الخلايا المرصوصة عند مجموعتي الارانب السليمة المجرعة بالمضاد

9. Vandepitte J, Engbaek K, Piot P, Heuck CC. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. WHO Geneva, 1991: 21-25.
10. الحديدي، كوثر عبد المطلب محمد حسن. (2006). التأثيرات الجانبية لبعض المضادات الحيوية على بعض المعايير البايولوجية في الحقن التجريبي بالمكورات العنقودية الذهبية في الارانب. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.
11. Dacie JV, Lewis SM. Practical Haematology. 4th ed. J & A Churchill, London, 1970: 19-77.
12. الراوي، خاشع محمود و خلف الله، عبد العزيز محمد. (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة الموصل.
13. Petz LD, Garratty G. Drug-induced haemolytic anemia. Clin Haematol 1975; 4(1): 181-97.
14. Kato I , Sakoda K , Saito M , Suzuki Y. Effects of lectins on the hemolysis of rabbit erythrocytes by Staphylococcal alpha toxin. Microbiol Immunol 1977; 21(9): 517-24.
15. Krasilnikov OV , Ternovsky VI , Merzliak PG, Zachidova LT, Hungerer KD. Effects of monoclonal antibodies on alpha-staphylotoxin action against erythrocytes and model phospholipid membranes. Biochim Biophys Acta 1993; 1182(1): 94-100.
1. Unicef. The State of the World's Children. Oxford University Press, Oxford, 1994.
2. Lindsay E. The Epidemiology of Perinatal Mortality. WH Statist Quart 1985; 38: 289-301.
3. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000: 2069-100.
4. Lautenschlager S, Herzog C, Zimmerli W. Course and outcome of bacteremia due to *Staphylococcus aureus*: evaluation of different clinical case definitions. Clin Infect Dis 1993; 16: 567-73.
5. Abou YZ, Alwan AAS. Guide to Chemotherapy and Chemoprophylaxis in Bacterial Infections. 2nd ed. WHO Alexandria, Egypt, 1998: 82 – 83.
6. Kaushik SL, Parmar VR, Grover N, Grover PS , Kaushik R. Neonatal sepsis in hospital born babies. J Commun Dis 1998; 30: 147-152.
7. Nissen D. Mosby's Drug Consulttm. Mosby Inc London, 2002: 491 – 494, 675 – 677, 1815 – 1820.
8. Yao L, Berman JW, Factor SM, Lowy FD. Correlation of histopathologic and bacteriologic changes with cytokine expression in an experimental murine model of bacteremic *Staphylococcus aureus* infection. Infect Immun 1997; 65(9): 3889-3895.