مجلة علوم ذي قار العدد (٣) المجلد ١ كانون الثاني/٢٠٠٩

الترقيم الدولي ٨٦٩٠ - ١٩٩١ ISSN 1991- 8690

Email:utjsci@utq.edu.iq Website: http://jsci.utq.edu.iq

تأثير بعض أدوية الأمراض السرطانية Cytotoxic Drugs على ضراوة جراثيم *E. coli* المحقونة في الفئران المختبرية

هديل توفيق الحديثي **يحيى عبد الرضا عباس**

كلية العلوم – جامعة البصرة المعهد التقني - الناصرية

الخلاصة

عرضت جراثيم *Escherichia coli* إلى تركيز أقل من المثبط الأدنى (Sub-MIC) من كل من Methotrexate (25µg/ml), 6-Mercaptopurin(50µg/ml) وVinicristine (200µg/ml) كل على حدة, لمدة ٤ أسابيع، بعدها حقنت في الفئران المختبرية (Balb/C) بجرعة مقدارها ٠,٥ مليلتر من العالق الجرثومي تركيز٥ × ١٠^٦ خلية/مليلتر في التجويف البريتون . أظهرت النتائج زيادة ضراوة الجراثيم المعرضة للMTX و6-MP أكثر من تلك المعرضة للVCR ومن الأخرى غير المعرضة للأدوية السامة خلويا، فقد ظهرت الأعراض المرضية على الفئران التي حقنت بعالق الجراثيم المعرضة لل MTX و 6-MP بعد ساعة واحدة من الحقن و أصيبت بتجرثم الدم بنسبة (١٠٠%) وماتت جميعها خلال ٣ أيام كما أظهرت الفحوصات النسيجية وجود علامات التهابية حادة. أما الفئران المحقونة بعالق الجراثيم المعرضة لل VCR فقد ظهرت عليها الأعراض بعد ٣ ساعات من الحقن وأصيبت بتجرثم الدم وبنسبة ٢/٥ ثم ماتت بينما لم تصب الفئران المحقونة بمعلقات الجراثيم غير المعرضة للأدوية السامة خلويا وبقيت جميعها حية.

المقــدمـــة

تعـد معظـم الأدويـة السـامة خلويـا مركبـات مسرطنة ومطفرة، وتعد مجموعة Alkylating Agents أكثر الأنواع خطورة في هذا المجال, اذ تضيف مجموعة Alkyl إلى ال DNA في موقع N7 للكوانين خلال دورة انقسام الخلية مما يؤدي إلى موت الخلية، وهذه السموم لا تفرق بين الخلايا الناشطة والخاملة في الانقسام وتضم Cyclophosphamide, Ifosfamide, Nitrosoureas, Busulphan , Chlorambucil ،و يمكن أن تؤدي إلى الإصابة بأمراض سرطانية أخرى مثل اللوكيميا الحادة. كما أن بعض من مضادات الأيض(Antimetabolites) مثل-6 , Mercaptopurineوهي مركبات تشابه مكونات الخلية الطبيعية وتتداخل مع تكوين نيوكليوتايدات البيورين والبريميدين من خلا ل تثبيط تصنيعها أو منافستها في تصنيع ال DNA وRNA ، تعد مركبات مسرطنة أيضا (1,2). وقد ثبت إن الدواء 6-Mercaptopurine يسبب قتل الأجنة بجرعات غير سامة للام، كما يحفز على حصول تشوهات خلقية ، وهو مطفر لخلايا الجراثيم ويسبب خللاً كروموسومياً في الفئران وفي خلايا اللبائن مثل كريات الدم البيضاء اللمفاوية في الإنسان (٣).كما أن الميثوتريكسيت(نظير الفوليت) يرتبط مع الأنزيم Dihydrofolate reductase في خلايا كل من الإنسان والجراثيم ويثبطه، إذ يتجمع داخل الخلايا ويؤدي إلى حصول الطفرات(4,5). إن الأدوية السامة خلويا من مجموعة المضادات الحيوية (Antibiotics) مثل Doxorubicin و Daunorubicin تعدّ هي الأخرى مركبات مطفرة و مسرطنة و يمكن أن تؤدي إلى الإصابة باللوكيميا و اللمفوما ، ويكمن الفعل السام خلويا لها بتداخلها مع ال DNA مؤدياً إلى تدميره أو تعطيل وظائفه وهي من النوع Cell Cycle Specific (2,6). تثبط القلويدات أو مثبطات الأنيبيبات الدقيقة Microtubule Inhibitors(Alkaloids) عملية الانقسام في طور Metaphase وتمنع تكوين خيوط الانعزال وتضم Vinicristine,Viniblastine,Paclitaxel,Navelbine(٧) . فضلا عما ذكر ،هناك أنواع أخرى من الأدوية السامة خلويا ومنها L-Asparaginase يحل مادة Asparagine في الدم ويحرم الخلية السرطانية منها، و Cisblantin ويشابه في عمله مجموعة الألكايل و Etoposide يوقف انقسام الخلية عند الطور(S-G2) و Procarbazine يثبط تكوين ال DNA وال RNA (2,7).

هدف البحث:

أجريت هذه الدراسة لإثبات دور ثلاثة من الأدوية السامة خلويا والمستخدمة في علاج الأمراض السرطانية ومنها اللوكيميا وهي: ميثوتريكسيت (MTX) Methotrexate والميركابتوبيورين (6MP) 6-Mercaptopurine وال فنكرستين (VCR) Vinicristine , في زيادة ضراوة جراثيم *E. coli* والتي هي جزء من النبيت الطبيعي في الأمعاء و تعد من المسببات الرئيسة للأخماج لدى هؤلاء المرضى.

المواد وطرائق العمل

استخدمت الفئران المختبرية Albino سلالة Balb/c ،إذ تمت تربيتها في أقفاص بلاستيكية(Cages) عند درجة حرارة ٢٥ْم وأصبحت جاهزة للحقن بعمر ٦-٨ أسبوع.

حسب التركيز المثبط الأدنى (MIC) من الأدوية السامة خلويا وهي VCR , 6-MP , MTX (Wellcome . England) ضد جراثيم *E. coli* (عزلت من براز أطفال أصحاء) باستخدام أطباق بلاستيكية نبيذة تحتوي ٩٦ حفرة (Plastic Microtitration Plates) (٨).

تنمية الجراثيم

عرضت جراثيم *E.coli* للأدوية السامة خلويا لمدة ٤ أسابيع من خلال تنميتها على الوسط TSB الحاوي على VCR , 6-MP , MTX (Wellcome England .) , كل على حدة , بتركيز أقل من التركيز المثبط الأدنى في قناني زجاجية صغيرة ذات غطاء لولبي محكم أعيد زرعها خلال هذه المدة عدة مرات (Sub Culture) كل ٩٦ ساعة

تحضير العالق الجرثومي للحقن

اتبعت طريقة Kashimoto وجماعته(٩) مع بعض التحويرات. إذ لقحت جراثيم *E. coli* المعرضة للأدوية السامة ,كل على حدة , في أنابيب تحتوي على ٥مليلتر من الوسط TSB وحضنت في درجة حرارة ٣٧ْم لمدة ١٨ ساعة. ضبط تركيز الخلايا الجرثومية بواسطة جهاز المطياف الضوئي و كانت قراءته ٠,٥ عند طول موجي(OD 600) . نقل ٠,١ مليلتر من المزرعة وأضيف إلى ٥ مليلتر من الوسط TSB. حضنت الأنابيب في درجة حرارة ٣٧ْم لمدة ساعتين للوصول إلى منتصف الطور اللوغارتمي للمزرعة.

بعدها بردت المزارع في الثلج لمدة ١٠ دقائق ثم جمعت الخلايا الجرثومية بواسطة جهاز الطرد المركزي بسرعة ٦٠٠٠ دورة/دقيقة. غسل الراسب بالمحلول الملحي الفسلجي المعقم (PBS) مرة واحدة ثم أضيف المحلول (pH 7.4) للحصول على تركيز ١٠^٧ خلية/مليلتر. ضبط تركيز الخلايا الجرثومية في العالق بقياس الكثافة الضوئية(0.5) عند طول موجي 600 . تم التأكد من دقة تركيز الخلايا الجرثومية باستخدام شريحة العدPetroff-Hausser Chamber

حقن العالق الجرثومي في الفئران المختبرية

قسمت الفئران المختبرية إلى خمس مجاميع كل مجموعة مكونة من خمسة فئران. حقنت ٤ مجاميع منها بالعالق الجرثومي بجرعة مقدارها ٠,٥ مليلتر تحوي ٥ ×١٠^٦ خلية في الخلب البريتوني، حقنت المجموعة الأولى بالعالق الجرثومي الذي سبق وان عرض إلى الدواء MTX وحقنت المجموعة الثانية بالعالق الجرثومي الذي عرض للدواء 6-MP بينما حقنت المجموعة الثالثة بالعالق الجرثومي الذي عرض إلى الدواء VCR وحقنت المجموعة الرابعة بالعالق الجرثومي غير المعرض لأي من الأدوية أعلاه. حقنت المجموعة الخامسة بجرعة مقدارها ٠,٥ مليلتر من محلول PBS المعقم (سيطرة).

الكشف عن حصول تجرثم الدم Bacteremia

أجري اختبار للكشف عن حصول تجرثم الدم في الفئران بعد مضي ساعتين على حقنها بالمعلقات الجرثومية وذلك بأخذ ١٠ μL من الدم الوريدي وزرع على وسط أكار الدم وحضنت الأطباق بدرجة حرارة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة. سجلت النتيجة الموجبة عند ظهور النمو ثم أعيد الإختبار بعد مرور ساعة (10) .

متابعة بقاء الفئران المحقونة حية

تمت متابعة الفئران المحقونة من وقت الصفر لغاية ٧ أيام وذلك بمتابعة نشاطها وظهور أعراض الإصابة مثل الانطواء وانعدام النشاط مع نفش الشعر وسجلت الملاحظات مع تثبيت أوقات موت الفئران المصابة.(11) .

تحضير الأنسجة للفحص المجهري

شرحت الفئران بعد موتها والتي لم تمت تم قتلها بالكلوروفورم بعد ٧ أيام من حقنها بالعالق الجرثومي وتم رفع الكبد . حضرت المقاطع النسيجية(في مختبرات فرع الباثولوجي- كلية الطب-جامعة البصرة) بإتباع طريقة شمع البرافين المستخدمة من قبل Luna (١٢) صبغت المقاطع بصبغة Haematoxylin-Eosin(H.E.)لغرض الفحص النسيجي ثم حملت بمادة Distrine Plastisizer(D.P.X) وفحصت باستخدام المجهر الضوئي ثم صورت.

النتائج

التركيز الأقل من المثبط الأدنى من الأدوية السامة خلويا

ظهر ان التركيز المثبط الأدنى من الأدوية السامة خلويا MTX و 6-MP و VCR لجراثيم *E. coli* كان ٣٢ ، ٦٤ ، ٢٥٦، على التوالي .واستخدم التركيز الأقل من المثبط الأدنى sub-MIC والذي عرضت له هذه الجراثيم واستطاعت ان تنمو بوجوده وهو ٢٥ ، ٥٠ ، ٢٠٠ مايكروغرام / مليلتر للأدوية اعلاه على التوالي.

ظهور الأعراض المرضية

تمت متابعة ظهور الأعراض المرضية منذ الساعة الأولى لحقن الفئران بالعالقات الجرثومية. لوحظ ظهور أعراض الإصابة في فئران المجموعتين الأولى(حقنت بالعالق الجرثومي المعرض للMTX) والثانية(حقنت بالعالق الجرثومي المعرض لل6-MP) بعد ساعة واحدة من الحقن تمثلت في ضعف كبير في نشاطها ثم الانطواء وانتصاب الشعر واستمرت الأعراض حتى موتها . أما فئران المجموعة الثالثة (حقنت بالعالق الجرثومي المعرض للVCR) فقد ظهرت عليها الأعراض بشكل أخف بكثير من المجموعتين الأولى والثانية, وذلك بدءاً من الساعة ٣ من حقنها بالعالق الجرثومي . اختفت الأعراض بعد اليوم الرابع من الفئران الثلاثة وبقيت حية وعادت إلى نشاطها الطبيعي واستمرت المتابعة لغاية أسبوع. انخفض نشاط فئران المجموعة الرابعة (حقنت بالعالق الجرثومي غير المعرض لأي من السموم أعلاه) ولم يحصل الانطواء ولا انتصاب الشعر وعادت إلى وضعها الطبيعي بعد ٤٨ ساعة واستمرت المتابعة لغاية أسبوع. أما المجموعة الخامسة والتي حقنت بالمحلول الفسلجي المعقم فقد استمرت بنشاطها المعتاد ولم تظهر عليها أية أعراض ومنذ لحظة الحقن ولغاية أسبوع.

تحديد الإصابة بتجرثم الدم

عند الكشف عن حالات الإصابة بتجرثم الدم (Bacteremia)في الفئران المحقونة بعالق جراثيم *E.coli* , ظهر أن المجموعتين الأولى والثانية قد أصيبتا (١٠٠%) بتجرثم الدم وقد عزلت جراثيم *E.coli* من دم ٤/٥ من فئران المجموعة الأولى و ٣/٥

من فئران المجموعة الثانية بعد مضي ٢ ساعة على حقنها وعزلت من دم الفئران الثلاثة الباقية من المجموعتين ١ و ٢ بعد مرور ٣ ساعات على الحقن . أما فئران المجموعة الثالثة فقد عزلت الجراثيم بنسبة ٢/٥ بعد مضي ٣ ساعات على الحقن. ولم تعزل الجراثيم من دم فئران المجموعة الرابعة ولغاية ٣ ساعات بعد الحقن(جدول رقم (١) .

معدل بقاء الفئران المحقونة حية

سجلت أعداد الفئران التي بقيت حية بدءاً من ساعة حقنها بالعالق الجرثومي لغاية ٧ أيام وأظهرت النتائج أن جميع فئران المجموعتين الأولى والثانية قد ماتت، إذ بقي ٣/٥ من فئران المجموعة الأولى بعد مضي ٢٤ ساعة و بعد مضي ٤٨ ساعة أصبحت نسبة الفئران الحية ١/٥ م ولم يتبقَ من المجموعة فأر حي بعد اليوم الثالث (٧٢ ساعة) . في حين كانت نسبة الفئران الحية في المجموعة الثانية ٤/٥ بعد مرور ٢٤ ساعة على حقنها وصارت ٢/٥ بعد مرور ٤٨ ساعة ولم يتبقَ منها فأر حي بعد اليوم الثالث، أما فئران المجموعة الثالثة فقد بقيت جميعها حية لغاية ٤٨ ساعة من الحقن بالجراثيم ثم أصبحت نسبة الفئران الحية ٣/٥ بعد اليوم الثالث وبقيت هذه النسبة ثابتة ولم تتغير لغاية اليوم السابع . أما فئران المجموعة الرابعة فقد بقيت جميعها حية لغاية اليوم السابع من حقنها بالجراثيم غير المعرضة للأدوية السامة خلويا، كذلك الحال مع فئران المجموعة الخامسة (السيطرة) فقد ظلت هي الأخرى حية لغاية اليوم السابع من الحقن (جدول رقم٢) .

امراضية جراثيم *E. coli* المحقونة في الفئران المختبرية

درست امراضية جراثيم *E. coli* المعرضة للأدوية VCR , 6-MP , MTX وغير المعرضة في داخل الجسم الحي من خلال مقدار الضرر الذي أحدثته في أنسجة الكبد للفئران التي حقنت بالعالقات الجرثومية وكانت نتائج الفحص كالآتي:

أولا : حصلت مجموعة من التغيرات النسيجية الالتهابية الحادة في أكباد الفئران التي حقنت بالعالق الجرثومي المعرض لكل من MTX و6-MP ،كل على حده. إذ حصل احتقان دموي شديد في الأوعية الدموية الكبدية (sever congestion)مع بداية تنخر خلايا الكبد (necrosis) وظهور خلايا التهابية حادة نوع Lymphocytes and Neutrophils حول الأوعية الدموية مع بداية تضبب خلوي (cloudy swelling) ، ولوحظ ظهور خلايا ذات أنوية صغيرة اصطبغت بصبغة غامقة تدعى Pyknotic cells.(لوحة رقم١).

ثانيا: أظهرت نتائج فحص أنسجة الكبد للفئران التي حقنت بعالق الجراثيم المعرضة لل VCR حصول علامات التهابية اقل حدة مما في المجموعتين الأولى والثانية تمثلت باحتقان دموي وظهور الخلايا الالتهابية مع بقاء النسيج الكبدي محتفظا بهيئته نسبيا.

ثالثا:أظهرت نتائج فحص أنسجة الكبد لفئران المجموعة الرابعة المحقونة بالجراثيم غير المعرضة لأي من الأدوية السامة خلويا وجود تغيرات نسيجية بسيطة ، لم تتعدَ التغيرات الدهنية (fatty changes) ، مع احتفاظ النسيج بتركيبته الطبيعية(لوحة رقم ٣).

رابعا: أظهر الفحص النسيجي لأنسجة الكبد المأخوذة من الفئران المحقونة بالمحلول الفسلجي المعقم عدم وجود أية تغيرات نسيجية تذكر وكانت جميع القراءات طبيعية إذ لم يحصل تنخر للنسيج أو تضبب خلوي مع عدم وجود الخلايا الالتهابية ولا تغيرات دهنية.(لوحة رقم (٤).

المناقشـــــة

تعد جراثيم *E.coli* من أكثر أنواع العصيات السالبة ترددا في إحداث تجرثم الدم في المرضى المصابين بسرطان الدم (١٣) .وقد ذكر Hvidberg وجماعته (١٤) أن لجراثيم *E.coli* مجموعة من عوامل الضراوة منها قابلية الالتصاق ، مقاومة عوامل المصل وإنتاج الهيمولايسين والقدرة على الحصول على الحديد وقد اختبروا ضراوتها في إحداث اخماج التهاب المجاري البولية في الفئران وبالتالي علاجها بالمضادات الحيوية. و أجريت عددا من الدراسات لبيان ضراوة جراثيم *E. coli* في الفئران المختبرية من خلال الكشف عن حصول تجرثم الدم ومعدل بقاء الفئران حية والتغيرات النسيجية (١٥،١٤،١١)

إن ظهور أعراض الخمج الشديد بعد ساعة واحدة من حقن فئران المجموعتين الأولى والثانية بالجراثيم المعرضة لكل من MTX و6-MP كل على حدة واستمرار تلك الأعراض حتى موتها قد يعزى الى ان جراثيم *E.coli* وبسبب تعرضها لهذه الأدوية ربما حصلت فيها طفرات زادت من ضراوتها، ويبدو أن تأثير ال VCR كان بدرجة أقل ومع ذلك فان الجراثيم المعرضة له قد أبدت ضراوة أكثر من تلك التي لم تعرض لأي من الأدوية السامة خلويا .وقد وجد Somerville وجماعته (١٥) ومن خلال تجربة على الفئران المختبرية أن الطفرة الحاصلة في الجين *msb*B في جراثيم *E.coli* تودي إلى زيادة تصنيع متعدد السكريات الدهنية (LPS) وتزيد من ضراوتها .

أبرزت النتائج (جدول ١) أن الإصابة بتجرثم الدم قد تركزت في فئران المجموعتين الأولى والثانية و عزلت جراثيم *E.coli* من دم أفراد هاتين المجموعتين

بعد مرور ٢ ساعة على الحقن ، ولم تعزل من فئران المجموعة الرابعة وهذا يؤيد ما توصلت إليه الدراسة الحالية من أن الجراثيم التي عرضت للأدوية السامة خلويا قد أصبحت أكثر ضراوة من تلك التي لم تعرض لها ، إذ استطاعت اختراق الحواجز والوصول إلى مجرى الدم بأقصر وقت وبالتالي تسببت في قتل جميع الفئران في هاتين المجموعتين. وهذه النتائج تتفق مع ما سجله Koh وجماعته (١٦) في بحثه عن ضراوة عزلات *Pseudomonas aeruginosa* في إحداث تعفن الدم Septicemia في الفئران بعد أن استوطنت هذه الجراثيم أمعائها وحقنت الأخيرة بعدة جرع من الدواء السام خلويا Cyclophosphomide فلاحظوا انتشار هذه الجراثيم إلى مختلف أعضاء الجسم. كما يظهر في الجدول (٢) إن بقاء ٣/٥ من فئران المجموعة الثالثة وجميع فئران المجموعة الرابعة حيه حتى وقت انتهاء التجربة قد يعود إلى تمكن الخلايا الملتهمة من القضاء على هذه الجراثيم الغازية والتخلص منها وعودة الفئران إلى نشاطها الطبيعي .

وجد Frasa وجماعته (١٠) أن 17من 24 فأر قد أصيبت بتجرثم الدم بعد مرور 90 دقيقة على حقنها بعالق جراثيم *E.coli* معرضة إلى تركيز تحت المثبط الأدنى من المضاد الحيوي Imipenem ولم تقتل منها إلا 5 فئران ، بينما تمكن Kashimoto وجماعته (٩) من عزل جراثيم *Vbrio vulnificus* من دم الفئران بعد ٣ساعات على حقنها بعالق هذه الجراثيم تحت الجلد وقد وصلت نسبة تجرثم الدم إلى 87.5% بعد مرور ٦ ساعات على الحقن. انخفضت هذه النسبة إلى 12.5% بعد ١٢ساعة وأعزى سببها إلى عمليات الالتهام من قبل الخلايا المناعية .

إن حصول التغيرات في أنسجة أكباد الفئران التي حقنت بعالقات الجراثيم المعرضة لكل من MTX و 6-MP, والمتمثلة بالإحتقان الدموي الشديد في الأوعية الدموية الكبدية مع بداية تنخر للخلايا وظهور خلايا التهابية حادة لمفاوية و متعادلة حول الأوعية الدموية وظهور خلايا Pyknotic تعد علامات التهابية حادة (١٧)، بينما ظهرت علامات التهابية أقل حدة في أنسجة الكبد المأخوذة من الفئران المحقونة بعالقات الجراثيم المعرضة لل VCR ولم تحصل إلا تغيرات نسيجية بسيطة لم تتعد التغيرات الدهنية في أنسجة الكبد المأخوذة من الفئران المحقونة بالجراثيم غير المعرضة للأدوية السامة خلويا مما يدعم الإستنتاج الذي خرجت به الدراسة الحالية بأن سبب حصول زيادة في ضراوة جراثيم *E. coli* قد تكون ناتجة عن طفرات عديدة في نظامها الوراثي بسبب تنميتها على أوساط زرعية تحتوي على الأدوية السامة خلويا ولمدة 4 أسابيع مقارنة مع جراثيم *E. coli* غير المعرضة لأي من الأدوية السامة خلويا. وقد وجد Hvidberg وجماعته (14) أن ٥٠% من الفئران التي أصيبت جراء حقنها بجراثيم *E. coli* سريرية قد أظهرت تغيرات نسيجية كبيرة في حين لم تظهر مثل هذه التغيرات في الفئران التي حقنت بالجراثيم ولم يحدث فيها خمج وهذا يتفق مع نتائج هذه الدراسة. ذكر Anderson(١٧) أن التنخر لا يحدث إلا بعد التحلل الذي يمكن أن يحصل بعد١٢-٢٤ ساعة و يتميز بموت أعداد كبيرة من الخلايا وفقدان أنويتها تدريجيا ويمكن ملاحظة ذلك في اللوحة (١). وأشار إلى العوامل التي تؤدي إلى حدوث التنخر والالتهاب وهي إنتاج السموم الجرثومية التي تسبب موت الخلايا وتعطل عمل الأنزيمات وبعضها يثبط تصنيع البروتينات الخلوية .

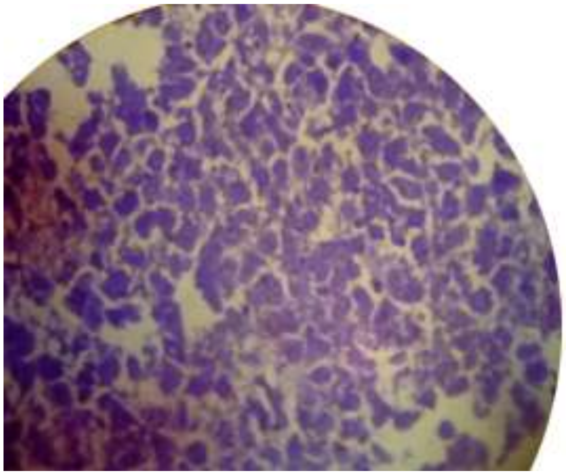
تصنف جراثيم *E. coli* اعتمادا على وجود جينات الضراوة على الكروموسومات أو البلازميدات في السلالات المرضية وعدم وجودها في السلالات المتعايشة (١٨). و وجد Picard وجماعته (19) ان سلالات *E. coli* التي تحتوي على المحددات الوراثية لعوامل الضراوة هي التي لها القابلية على قتل الفئران التي تحقن بها عكس تلك التي لا تحمل مثل هذه المحددات.

جدول رقم (١) .أوقات عزل جرثومة *E.coli* من الدم المحيطي بعد حقنها داخل غشاء الخلب البريتوني للفئران

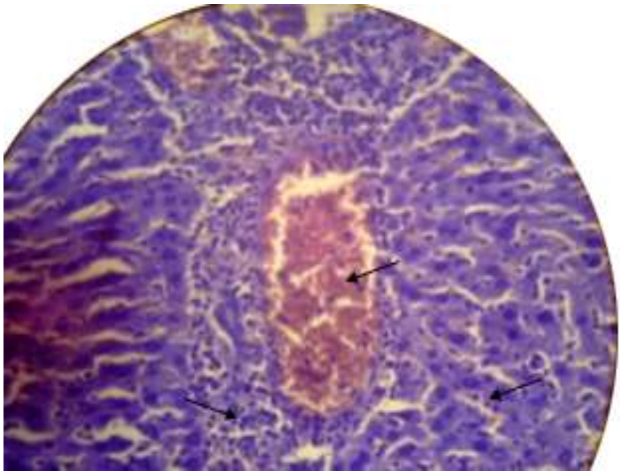
رقم المجموعة	أوقات عزل الجرثومة من الدم المحيطي للفئران		المجموع
	بعد ٢ ساعة	بعد ٣ ساعة	
١	4/5	١/٥	٥/٥
٢	3/5	٢/٥	٥/٥
٣	-	٢/٥	٢/٥
٤	-	-	-
٥	-	-	-

جدول رقم (٢) .أعداد الفئران الباقية حية بعد حقنها بجرعة ٠,٥ مل من العالق الجرثومي الحاوي على CFU 5×10^6 / مل *E .coli*

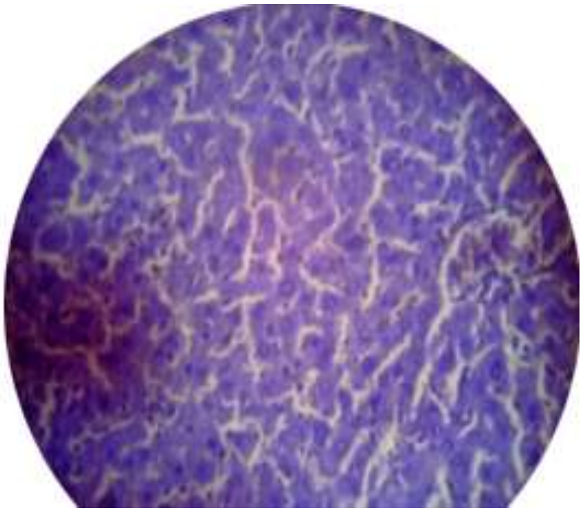
رقم المجموعة	عدد المجموعة	الدواء السام الذي عرضت له الجراثيم	أعداد الفئران الباقية حية						
			بعد يوم	بعد يومين	بعد ثلاثة أيام	بعد أربعة أيام	بعد خمسة أيام	بعد ستة أيام	بعد سبعة أيام
١	٥	MTX	٥/٣	٥/١	٥/٠	-	-	-	-
٢	٥	6-MP	٥/٤	٥/٢	٥/٠	-	-	-	-
٣	٥	VCR	٥/٥	٥/٥	٥/٣	٥/٣	٥/٣	٥/٣	٥/٣
٤	٥	-	٥/٥	٥/٥	٥/٥	٥/٥	٥/٥	٥/٥	٥/٥
٥	٥	سيطرة	٥/٥	٥/٥	٥/٥	٥/٥	٥/٥	٥/٥	٥/٥



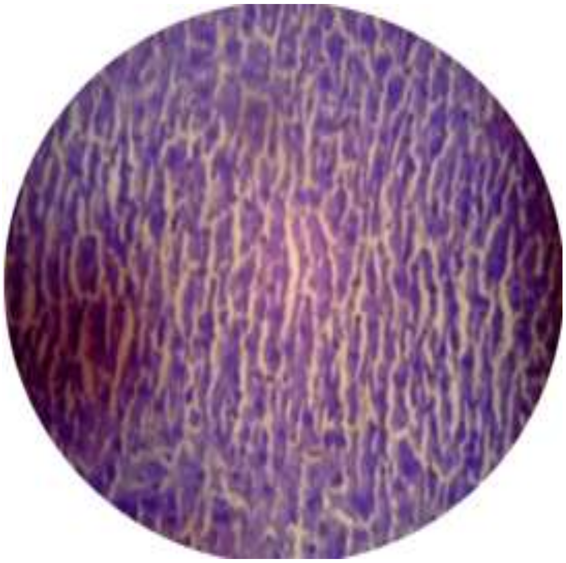
لوحة رقم (١) تنخر الخلايا necrosis في بعض مناطق نسيج الكبد للفئران المحقونة بالجراثيم المعرضة لكل من MTX و6-MP



لوحة رقم (٢) احتقان دموي في الأوعية الدموية وأعداد كبيرة من الخلايا الالتهابية حول الأوعية الدموية وظهور خلايا pyknotic



لوحة رقم (٣) تغيرات دهنية في نسيج كبد لفأر حقن بالجراثيم غيرالمعرضة للأدوية السامة خلويا



لوحة رقم (٤) نسيج كبدي سليم لفأر حقن بالمحلول الفسلجي المعقم

References

1. Mycek, M.J.; Harvey, R.A. and Champe, P.C.(2000). Lippincott's Illustrated Reviews : Pharmacology. 2nd ed. Lippincott-William & Wilkins. Philadelphia.
2. Laurence, D.R.and Bennett, P.N.(1987).Clinical Pharmacology. 6th ed. P.721-729. Churchill Livingstone. New York.
3. IARC Monographs. (1987). 6-Mercaptopurine(group-3). Supplement 7 . P.240.
4. Kopytek, S.J.; Dyer, J.C.D.; Knapp, G.S. and Hu, J.C.(2000). Resistance to methotrexate due to AcrAB-dependent export from *Escherichia coli*.Antimicrob.Agents Chemother., 44(11) :3210- 3212
5. Genther,C.S.;Schoeny,R.S.;Loper,J. C.; and Smith,C.C.; (1977). Mutagenic studies of folic acid antagonists. Antimicrob. Agents Chemother., 12(1).84-92.
6. Kacinski, B.M. and Rupp, W.D. (1984).Interactions of the UVRABC endonuclease *invivo* and *invitro* with DNA damage produced by antineoplastic anthracyclines.Cancer Res., 44(8): 3489-3492.
7. Rang, H.P.; Dale, M.M.; Ritter, J.M. and Moor, P.K. (2003). Pharmacology. P.696-710. Churchil Livingston. U.K .
8. Baron,E.J.and Finegold,S.M.(1994). Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology.8th ed.C.V. Mosby Company.
9. Kashimoto, T.;Ueno, S.;Hayashi, H..;Hanajima,M.; Yoshioka, K.; Yoshida, K.; Mutoh,K. and Susa, N.(2005). Depletion of lymphocytes , but not neutrophils, Via apoptosis in a murine model of *Vibrio vulnificus* infection.J.Med.Microbiol.,54:15-22.
10. Frasa, H.; Benaissa-Trouw, B.; Tavares, L. ;Kessel, K.; Hustinx, W. ; Schellekens, J.; Kraaijeveld, K. and Verhoef.(1996). Effect of imipenem on monoclonal antibody-mediated protection against Escherichia coli O18K5. Antimicrob. Agents chemother., 40(4): 999-1004.
11. Jeyarajah, D.R.; Kielar, M.L.;Frantz, N.;Lindberg,G. and Lu,C.Y. (2003). Infection by Gram-negative organisms via the biliary rout results in greater mortality than portal venous infection.Clin. & Diag. Lab. Immun.,10(4):664-669.
12. Luna, I.G. (1960). Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forced Institute of Pathology. 3rd ed. Pp.1-74. McGraw-Hill Book Company,New York, London.
13. O'Brien, S.N. ; Blijlevens, N.M.; Mahfouz, T.H. and Anaissie, E.J. (2003). Infections in Patients with Hematological Cancer: Recent Developments. Hematology. The American Society of Hematology.
14. Hvidberg,H.;Struve,C.;Krogfelt,K.A .;Christensen,N.;Rasmusse,N. and Frimodt- Moller ,N .(2000). Development of a long-Term a scending urinary tract infection mouse model for antibiotic treatment studies. Antimicrob. Agents Chemother., 44:156-163.
15. Somerville, J.R.; Cassiano, L.and Darveau, R.P. (1999). *Escherichia coli* msbB gene as a virulence factor and a therapeutic target. Infect. Immun., 67:6583-6590.
16. Koh, A.Y.; Priebe, G.P. and Pier, G.B. (2005). Virulence of *Pseudomonas aeruginosa* in a murine model of gastrointestinal colonization and dissemination in neutropenia. Infect. Immun., 73(4):2262-2272.
17. Anderson,J.R.(1980).Muir's Textbook of Pathology. 11th ed. Edward Arnold.
18. Nataro,J.P. and Kaper,J.B.(1998).Diarrheagenic

Escherichia coli. Clin. Microbiol. Rev., 11:142-201.

19. Picard,B.; Garcia,J.; Gouriou,S.; Duriez,P.; Brahimi,N.; Bingen, E.; Elion, J. and Denamur,E.(1999). The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. Infect. Immun., 67:546-553.

Effect of some medicine cancer Cytotoxic Drugs on virulent bacteria E. coli injected in laboratory rats

Hadeel Tawfiq Al-Hadithi Yahya Abdul Redda Abbas

College of Science-Univ. of Basrah Technical Institute- Nassiriyh

Abstract

Isolates of *E. coli* were exposed to sub-minimal inhibitory concentration of each of the cytotoxic drugs MTX, 6-MP, VCR for 4 weeks . Aliquots of 0.5 ml containing 5 x 10^6 CFU were injected in the peritoneal cavity of Balb/C mice . Results revealed that the bacteria exposed to either MTX & 6-MP were more virulent than those exposed to VCR or those not exposed to any cytotoxic drug . After one hour from injection, the mice demonstrated bacteremia at a ratio of 5/5 then died within 3 days; histopathological examination revealed signs of acute inflammation. Mice injected with bacterial suspension exposed to VCR, have demonstrated symptoms after 3 hours of injection and bacteremia was demonstrated by the ratio of 2/5 and the animals died subsequently, whereas no infection was recorded in mice injected with bacterial suspension not exposed to the cytotoxic drugs and all remained alive.