جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي وبحث علمي

جامعة القادسية كلية الطب البيطري

دراسة تأثير الحقن الوريدي لدواء الاوكسى تيتراسيكلين على بعض قيم الدم في الحملان

بحث مقدم من قبل

الطالب ضياء عباس طلال

كجزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس في الطب والجراحة البيطرية

اشراف

أ.م.د. أسعد جاسم

بِسْمِ اللَّـهِ الرَّحْمَـٰنِ الرَّحِيمِ

فَتَعَالَى اللَّهُ الْمَلِكُ الْحَقُّ ۗ وَلَا تَعْجَلْ بِالْقُرْآنِ مِن قَبْلِ أَن يُقْضَىٰ
إِلَيْكَ وَحْيُهُ ۖ وَقُل رَّبِّ زِدْنِي عِلْمًا

((صدق الله العظيم))

الإهـــــداء

إلى من علمني النجاح والصبر ...

والدي

وإلى من تتسابق الكلمات لتخرج معبرة عن مكنون ذاتها من علمتني وعانت الصعاب لأصل إلى ما أنا فيه وعندما تكسوني الهموم أسبح في بحر حنانها ليخفف من آلامي .....

أمي

الشكروالتقدير

شكري وتقديري الى والدي ووالدتي

وكل أفراد عائلتي

وشكري وتقديري إلى جميع أساتذتنا الأفاضل

وأخص بالشكر والتقدير الدكتور اسعد جاسم والدكتور كاظم حسن

وفرع الطب الباطني والوقائي

وكذلك نشكر كل من ساعد على إتمام هذا البحث وقدم لنا العون ومد لنا يد المساعدة وزودنا بالمعلومات اللازمة لإتمام هذا البحث

الخلاصـــة :

نظرا لأهمية الاوكسي تتراسايكلين كمادة دوائية ولعدم وجود بحوث كافية لتقيم المنتجات المستوردة وعدم معرفة تأثيرات هذا المضاد الحيوي على الصورة الدموية عند اعطاءه وريديا، لذا تم اجراء هذه الدراسة لمعرفة تأثير الدواء في عدد من القيم الدموية المهمة في الحيوانات الحقلية .حيث اختيرت خمس حملان من كلا الجنسين وبأعمار واوزان مختلفة فمن محطة حيوانات كلية الطب البيطري جامعة القادسية وقسمت هذه الحملان عشوائيا الى مجموعتين الاولى تألفت من 2 حمل كمجموعة سيطرة والثانية مجموعة المعاملة تكونت من ثلاث حملان اعطيت دواء الاوكسي بجرعتين (جرعة لكل يوم) حيث بلغت الجرعة 10 ملغرام \ كغم لتركيز 5% حيث حقنت وريديا ، بعد ذلك تم قراءه النتائج كما يلي: لم تلاحظ اي علامة سريريه بعد اعطاء الدواء على الحملان في مجموعة المعاملة، ولكن لوحظ نقصان في حجم خلايا الدم المرصوص بعد الحقن مباشرتا ب 24 ساعة حيث بلغ 2.9± 36.3 ولكن ازداد بعد 48 ساعة ليصبح6.0±46.6 اما مجموعة السيطرة لم تسجل اي زيادة او نقصان رغم الاختلاف الواضح لا يوجد هناك فرق احصائي مهم بين المجموعتين. ونفس النتائج لوحظت في تقيم تركيز الهيموغلوبين حيث انخفض في مجموعة المعاملة في 24 و 48 ساعة على التوالي والتي سجلت فارق بين الوقتين.

عدد كريات الدم الحمراء وسرعة تحللها كان واضح جدا في مجموة المعاملة مقارنتا بمجموعة السيطرة.

المــقدمـــــــة:

يعد الاوكسيتتراسايكلين من اكثر المضادات الحيوية استعمالا في الطب البيطري لعلاج الحيوانات المصابة بالامراض المعدية والدراسات السابقة اشارت الى ان الاوكسيتتراسايكلين من بين اكثر المضادات الحيوية استعمالا في الحيوانات المجترة (محمد والخفاجي ،2001). ينتمي الاوكسي الى مجموعة التتراسايكلينات التي تعد من المضادات الحياتية واسعة الطيف Broad spectrum anti biotics وتمتلك نواة تتكون من اربع حلقات وتنتجه بكتريا *Streptomyces rimosus* ومن صفاته الطبيعية انه عديم الرائحة ذو لون اصفر ويذوب في الماء بدرجة قليلة وله فعل مضاد للبكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام وكما انه له فعالية ضد المايكوبلازما والركتسيا والكلاميديا وكذلك بعض الطفيليات الدموية ولكن فعاليته تكون ضعيفة ضد الفطريات(Tripathi,1986).

ان معظم التتراسايكلينات صعبة الامتصاص من القناة الهضمية لذلك تعطى عن طريق الحقن وبعد الاعطاء تتوزع داخل الجسم على نحو واسع وتتركز في الكبد والطحال والعظام والاسنان ويتم طرحها عن طريق البول والبراز ووتتراكم في الجسم عند وجود قصور كلوي بالجسم.ان الية عمل التتراسايكلين تتم بتثبيط صنع البروتين من خلال الارتباط بالرايبوسوم 30 S ribosome مما يمنع تكون معقد الحامض الاميني الرايبوزي الناقلtRNA وبذلك لا تتكون السلسلة الببتيديه وبالتالي يتوقف صنع البروتين وبالتالي يتوقف نمو البكتريا(الخياط وشحاته 1989).

يؤدي العلاج لفترة طويلة بالاوكسيتتراسايكلين الى تغيرات في خلايا الدم ويسبب اذى للكبد والكلى وتكون هذه التغيرات اكثر وضوحا في فترة الحمل(Laurence and Bennet,1992) ووجد عند اعطاءه عن طريق الحقن بالوريد يسبب تحلل بكريات الدم الحمراء وبالتالي تحصل بيلة هيموغلوبينه مفاجئة. لذلك هدفت هذه الدراسة الى :

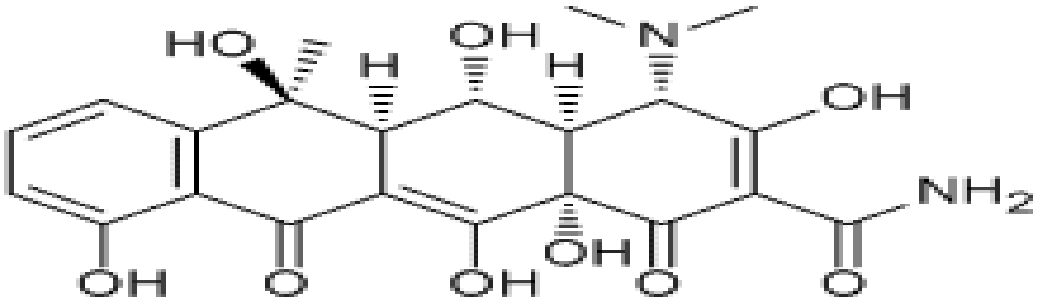
1-معرفة تأثير الاوكسيتتراسايكلين على الصورة الدمويه في الحملان بعد حقنة وريديا.

1: استعراض المراجع

1-1:الاوكسي تتراسيكلينOxytetracycline

1-2:التركيب والذوبان

أوكسي يترايكلين هو أقدم المضادات الحيوية التي لا تزال قيد الاستخدام في الطب البيطري ، وهو مركب بلوري أصفر ذو وزن جزيئي 460.44وله قابلية ذوبان منخفضة في الماء ومعامل octanol منخفض .يكون اكثر استقرارا في حاله وجوده كمسحوق ولهذا عند حقن الاوكسيي يجب ان يكون بشكل هيدروكلوريدات.(Treves-Brown, 2000)، شكل رقم(1-1).

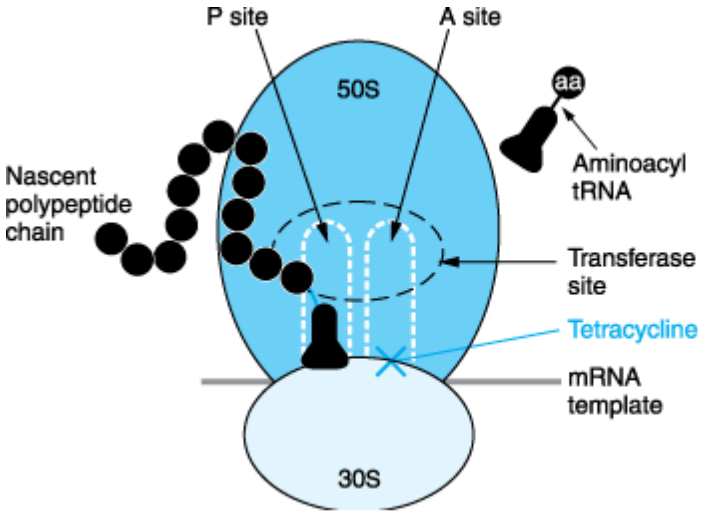


Oxytetracycline

شكل(1-1):يوضح التركيب الكيميائي للاوكسيتتراسايكلين

1-3: الية العمل: Mechanism of action

يمتلك أوكسي تيترايكلين نشاطا مضادا للميكروبات من خلال تاثيراته على رايبوسومات الخليه30 Sللكائنات الحية الحساسة وهذا التاثيرات تتداخل مع قدرة الحمض النووي الريبي الناقل في الارتباط مع الحمض النووي الريبي الرسول، وبالتالي منع تخليق البروتين البكتيري . (Treves-Brown, 2000). وبهذه الطريقة يكون تأثير مثبط لنمو الجراثيم.كما موضح في الشكل (1-2).



Picture obtained from Chambers et al. (2005)

Fig (1−2): Mechanism of action of the oxytetracyclines

4−1:الطيف ومدة النشاط واستخدام الأوكسيتتراسيكلين في الحيوانات المجترة

Spectrum, duration of activity and use of oxytetracycline in ruminants

أوكسي تتراسايكلين هو مضاد حيوي واسع الطيف ، مع فعالية جيدة ضد كل من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغةغرام (باستثناء الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*)(Boothe، 2001؛ Giguère et al. 2006). بالإضافة إلى ذلك ، oxytetracycline فعالة أيضا ضدChlamydia، Haemobartinella، Mycoplasma وكذلك الBoothe) Rickettsiae، 2001)، ايضا له تأثير على بعض الطفيليات الدمويه مثل*Ehrlichiaruminantium* و*Anaplasmamarginale*. و*theileria spp.*، ( )2004 Stoltz, .

5-1: اشكال الحقن**Formulations of parenteral oxytetracyclin**.

يستثنى الاوكسي تتراسايكلين عن باقي مجموعة التتراسيكلين من ناحية تأثيره كمضاد للجراثيم كونه يتوافق مع كل من المذيبات التقليدية في خصائص الطرح االسريع خارج الجسم ، وغيرها من المذيبات التي توضح خصائص إطلاقه أبطأ من خلال هذه الخصائص فقد وجد التأثير الطويل الامد لهذا العقار(Riviere&Spoo، 1995).

1-:6السمية والتوزيع والامتصاص

يعد الأوكسي تيترايكلين منخفض السمية وله قدرة عالية على الانتشار بسهولة في الدم ومعظم الأنسجة .(Ory, 1980; Barragry, 1994; Kapusnik-Uner et al., 1996)، على الرغم من هذه المزايا، أوكسيتيترايكلين لديه التوافر البيولوجي محدود نوعا ما (أي الإجمالي للدواء يمتص) لأنه يتحد مع الكاتيونات متعددة التكافؤ مثل as Ca^{++}, Fe^{++}, Al^{+++}, and Mg^{++} .(Riviere and Spoo, 1995)هذه المجمعات المشحونة كهربائيا، والتي هي خاملة ميكروبيولوجيا، ليست قادرة على اجتياز بسهولة الأغشية البيولوجية الغنية بالدهون مما تسبب في عدة أضعاف انخفاض في امتصاص أوكسيتيترايكلين (Riviere and Spoo, 1995; Treves-Brown, 2000).). .

1-7:الأيض والإفراز

لا يتم استقلاب الأوكسيتيترايكلين أو التحويل الأحيائي إلى حد كبير في الحيوانات .وهكذا تقريبا كل الجرعة التي تحقن بالحيوانات فأنها تطرح خارج جسم الحيوان (Cravedi et al., 1987; Treves-Brown, 2000).وبشكل أكثر تحديدا، يعتقد أن ما يقرب من 60٪ من أوكسيتيتراسيكلين يتم طرحة في البول عن طريق الترشيح الكبيبي مع إزالة 40٪ المتبقية في البراز .(Rivere and Spoo, 1995) ومن الجدير بالذكر أن درجة الحرارة البيئية تلعب دورا هاما في التأثير على معدل إفراز أوكسيتيترايكلين Salte Liestol (1983), and .

2: المواد وطرائق العمل

2-1: المواد

2-1-1: الحيوانات

استخدمت 5 حملان بعمر 7-9 اشهر من كلا الجنسين ويوزن من25-31كغم

2- 2-1:الاجهزة

ت	الجهاز/المنشأ
1	ثلاجه
2	مجهر ضوئي
3	مايكرو سنتر فيوج
4	جهاز سالي
5	سلايد
6	هيموسايتوميتر
7	انابيب زجاجية
8	انابيب EDTA
9	انابيب بلاستيكية
10	غطاء سلايد

2- المواد والمحاليل

ت	المادة
1	Nacl
2	Normal saline
3	Hclمخفف
4	اسرنجات3مل
5	قطن
6	معقم
7	Oxytetracycline(5%) ايراني

2-2 طريقة العمل

اجريت التجربة على الحملان التابعة لمحطة كلية الطب البيطري جامعة القادسية، هيئة الحيوانات للتجربة باعطائها مضاداً للطفيلات الداخلية Ivermectin 1مل /لكل حيوان بعد ذلك قسمت الحيوانات الى مجموعتين

1- المجموعة الاولى(مجموعة المعاملة):

استخدم ثلاث حملان واعطيت 10 ملغم /لكل كغم من وزن الجسم وريديا ولمدة 2 يوم

2-المجموعة الثانية(مجموعة السيطرة):

تتضمن 2 حمل تركت بدون اعطاء اي مادة.

3-2 جمع عينات الدم

تم سحب 3مل من كل حيوان من حيوانات التجربة، من الوريد الوداجي بعد تعقيم مكان السحب ووضعت في انابيب تحتوي مانع التخثر، حيث تم الجمع يوميا في الاوقات التالية(اليوم الاول والثاني والثالث من بدء التجربة).

2-4: اختبارات الدم.

2-4-1: اختبارحجم خلايا الدم المرصوصة او مكداس الدم Packed Cells Volume or Haematocret (P.C.V)

يتكون الدم من قسمين اساسيين هما بلازما الدم والكريات الدموية R.B.C وW.B.C والاقراص الدموية ،تكون خلايا الدم حوالي 45% من حجم الدم والباقي 55% تشغله البلازما ويطلق على نسبة الكريات بالدم اسم حجم الخلايا المتجمعة او المرصوصة واختصارها P.C.V وتسمى ايضا مكداس الدم حيث يعتبر هذا الفحص مقياس لاحتواء الدم على الهيموكلوبين فانخفاضه دليل على وجود فقر الدم اذ يتغير حجم الخلايا المرصوصة مع تغير عدد وحجم كريات الدم الحمراء وكذلك حجم البلازما .

يقاس P.C.V بواسطة انابيب شعرية Capillary tube طولها 75 ملم وقطرها 0.6-0.8 ملم حاوية على مادة مانعة للتخثر وهي معلمة باللون الاحمر دلالة على وجود الهيبارين وباستخدام جهاز الطرد المركزي Micro Haematocret Centrifuge وبعد عملية الطرد المركزي ينقسم الدم الى طبقتين هما:

1- طبقة سفلى حمراء اللون تتكون من تجمع خلايا الدم الحمراء فوق بعضها البعض وهي التي تسمى بحجم الخلايا المضغوطة او المرصوصة .
2- طبقة عليا هي البلازما اذ تكون على شكل سائل اصفر اللون وتوجد بين الطبقتين طبقة رقيقة جداً تحمل خلايا الدم البيضاء والأقراص الدموية تسمى Buffy Coat Layer .

العوامل المؤثرة على حجم الخلايا المرصوصة هي:

1- النزف Haemorrage.
2- الجفاف Dehydration.
3- الأمراض: يقل في بعض الأمراض مثل أمراض الطحال والكبد والكلية وفقر الدم والقلب ويزداد في حالة احمرار الدم Polycythemia.

القيم الطبيعية لحجم الخلايا المرصوصة هي للذكور 42-52 % أماالإناث 36-41 % .

طريقة العمل :

1- يتم ملئ الانابيب الشعريه من الدم المجموع حديثاً .
2- نضع طرف الأنبوبة الشعرية في الانابيب الحاويه على الدم بشكل مائل وتترك حتى يدخل الدم إلى ثلاثة أرباع الأنبوبة .
3- تغلق احد أطراف الأنبوبة بواسطة الطين الاصطناعي .
4- توضع الأنابيب الشعرية بشكل متقابل (يكون الطرف المغلق باتجاه محيط الجهاز) في جهاز الطرد المركزي للحفاظ على التوازن داخل الجهاز لمدة خمس دقائق على سرعة 2700 دورة .

5- بعد استخراج الأنبوبة من جهاز الطرد المركزي تثبت الأنبوبة على مسطرة خاصة بالجهاز بالشكل التالي:

أ- تكون بداية خلايا الدم الحمراء على الخط المستقيم الأسود الذي يصل الى الصفر.

ب- نهاية البلازما على الخط الاعلى المائل في مستوى الرقم 100.

ت- حرك الخط المثبت على العتلة المتحركة بحيث ينطبق الخط الفاصل بين الكريات الحمراء والبلازما وأاقرأ الرقم الذي يقابل هذا الخط ستحصل على النسبة المؤية لخلايا الدم الحمراء المضغوطة . (Coles, 1986)

1. جهاز Haemocytometer يتألف من

a. ماصة Red blood cells pipette وهي انبوبة شعرية مدرجة بالعلامات (0.5، 1، 101) وتحوي انتفاخ ما ببين العلامة 1 و101 يحوي كرة حمراء صغيرة تعمل على مزج الدم مع محلول التخفيف، كما تحوي الماصة على انبوب مطاطي من طرفها القريب من الرقم 101.

b. سلايد خاص يعرف Haemocytometer slide او Neubauer's chamber يحوي على اخدود في الوسط وعلى كل جانب من جانبي الاخدود يوجد مسطح مقسم الى مربعات مساحة كل منها 1 ملمتر مربع واحد، المربع الوسط مقسم الى 25 مربع وسطي وكل واحد من المربعات الوسطية مقسم الى 16 مربع صغير أي ان مجموع المربعات الصغيرة هي 25×16=400 مربع.

مساحة المربع الكبير= $1\ mm^2$

مساحة كل مربع من المربعات الصغيرة=$1/400\ mm^2$

سمك غطاء السلايد النموذجي=(Depth) 1/10 mm

حجم كل مربع من المربعات الصغيرة =1/400 ×1/10= $1/4000\ mm^3$

2. محلول تخفيف متعادل Isotonic diluting fluid ويمكن استعمال أي المحاليل التالية:-

1. محلول Ranbaxy او يعرف Sodium citrate solution

2. محلول Hayem's fluid الذي سوف يتم استعماله مختبرياً ويتكون من

1- كلوريد الزئبق (0.5 gm) Mercuric chloride

2- كلوريد الصوديوم (1 gm) Sodium chloride

3- كبريتات الصوديوم (5 gm)Sodium Sulphate

4- ماء مقطر Distilled water ويكمل الحجم به الى 200 ml.

الفائدة من استعمال هذا المحلول هو انه محلول متعادل يخفف الدم ويمنع تحلله ويمنع ظاهرة الرصيص كما ان لكبريتات الصوديوم تأثير في منع التخثر اما كلوريد الزئبق فيعد كمعقم Acts as antiseptic.

3. مجهر، قطن، Lancet، كحول للتعقيم

طريقة العمل

1.ينظف جهاز Haemocytometer ويجفف ويفحص تحت المجهر للتعرف على المربعات.

2. ياخذ الدم من الانابيب التي تحتوي مانع التخثر.

3. يسحب الدم بوساطة الماصة الخاصة الى العلامة 0.5 (وتمسك الماصة بشكل افقي).

4. ينظف طرف الماصة من الخارج ويوضع في محلول التخفيف ويسحب الى العلامة 101، بعدها تغلق الماصة بطوي الجزء المطاطي ومسك الماصة افقياً ثم يخلط المزيج عدة مرات لمدة ثلاث دقائق.

5. يوضع غطاء سلايدCover Slip على السلايدNeubauer chamber ويوضع السلايد تحت عدسة المجهر.

6. تترك القطرات الاولى من المحلول (ما السبب ؟) وتمسك الماصة بزاوية 45º وتوضع عند حافة الغطاء ثم يسمح لقطرة او قطرتين من المزيج بالنزول بعدها يترك السلايد لمدة 3 دقائق (لاكتمال انتشار القطرة حسب الخاصية الشعرية).

7. يفحص السلايد تحت العدسة الصغرى للتأكد من انتشار الخلايا

في المربعات بصورة متساوية ثم يحول بعدها على العدسة الكبرى.

8. تحسب الخلايا الحمراء في خمس مربعات وسطية فقط اذ يتم اختيار اربع مربعات تقع في الزوايا ومربع يقع في الوسط.

الحسابات

تم الحساب في خمس مربعات من المربع الوسطي المخصص لعد خلايا الدم الحمراء أي ان مجموع المربعات=5×16= 80 مربع، وبما انه حجم كل مربع $1/4000\ mm^3$ اذن الحجم في 80 مربع= $80\times1/4000 = 1/50mm^3$.

تم حساب عدد كريات الدم الحمراء في 1 ملمتر مكعب من الدم ولنفرض ان عددها في 80 مربع = N

أي

$$R.B.C.count = N \times \frac{1}{1/50}$$

وبما ان الدم تم تخفيفه 200 مرة

اذن عدد كريات الدم الحمراء في 1 ملم^3 من الدم

$$R.B.C.count = N \times 50 \times 200$$
$$R.B.C.count = N \times 10000$$

عدد خلايا الدم الحمراء الطبيعي (مليون/ملم^3 من الدم)

(Coles, 1986) .

قياس نسبة الهيموكلوبين في الدم The Estimation of Haemoglobin

الهيموكلوبين Haemoglobin هو الصبغة التي توجد في كريات الدم الحمراء والتي تعطي اللون الأحمر للدم وتشكل 95 % من مكوناته، يتكون داخل كريات الدم الحمراء في إحدى مراحل تكوينها من نخاع العظم ويحتاج الجسم لعدة مواد ضرورية لتكوين الهيموكلوبين منها الحديد والبروتوفايرينProtophyrin والحوامض الامينية والحوامض النووية الرايبوزية . ان قسماً من هذه المواد تصنعها الكريات والقسم الأخر تستلمه من نقي العظم ويكون الحديد والبروتوفايرين صبغة تدعى الهيم Haemتمثل 4 % من الهيموكلوبينوالكلوبينglobin ويمثل 96 % الباقية ويتحدان مع بعضهما لتكوين الهيموكلوبين الذي يتالف من الحديد ثنائي التكافؤ (حديدوز++Fe).

وظيفة الهيموكلوبين.

عند مرور الدم في الشعيرات الدموية المتواجدة في الرئة يتحد الهيموكلوبينبالأوكسجين ليكون مركب يسمى Oxyhaemoglobinبعملية تدعى Oxygenation يفقد الهيموكلوبين اوكسجينه عند مروره بالأنسجة المختلفة في الجسم وان خاصيته في حمل الأوكسجين تعود لاحتوائه على الحديد بصورة حديدوز++Feومن الممكن أن يتحد مع أربعة جزيئات اوكسجين ، اما اتحاد الهيموكلوبين مع ثنائي اوكسيد الكاربون CO2 يتكون مركب Carbaminohaemoglobin وعند اتحاده مع أحادي اوكسيد الكاربون CO يتكون Carboxyhaemoglobin والذي يتواجد في دم المدخنين والاشخاص العاملين في أماكن الاحتراق الداخلي ،اما اتحاده مع الكبريت ينتج مركب Sulfahaemoglobin وعندما يتأكسدالحديدوز الى حديديك +++Fe المركب الناتج هو Methaemoglobin ويعتبر هذا المركب اوكسيداً حقيقياً لايمكنه الارتباط مع O2 ،CO2 لذا يكون عديم الفائدة . تختلف نسبة الهيموكلوبين تبعا للعمر والجنس والتغذية والنشاط العقلي والإصابة بالأمراض المختلفة كما في حالات فقر الدم ، يكون في الأطفال حديثي الولادة أكثر من البالغين وفي الذكور أعلى من الإناث وفي المرتفعات أكثر من مستوى سطح البحر وفي الحوامل اقل من غير الحوامل.

(Coles, 1986) .

طريقة ساهلي لقياس نسبة الهيموكلوبين Sahli's method

وفيها يتحول الهيموكلوبين الى مشتق ذو لون داكن يدعى الهيماتين الحامضي acid haematin ومن ثم قراءة هذا اللون بالمقارنة مع لون الزجاجة القياسية وذلك بإضافة كمية من حامض HCl بعيارية 0.1. يتألف جهاز ساهلي من أنبوبة مدرجة تمثل أنبوبة قياس الهيموكلوبينMeasuring Haemoglobintube وماصة شعرية Capillary Hemoglobinpipette ذات سعة 20مل ومحرك زجاجي Class rode وزجاجة قياسية ملونة Color standard يعبر عن الهيموكلوبين بالنسبة المئوية لذا فان التقسيمات تبدأ من 10-140 من الأسفل إلى نهاية الأنبوبة العلوية اما بالغرامات فتقسم من 2-22غم .

طريقة العمل .

1-توضع كمية من حامض HClفي الأنبوبة المدرجة الى العلامة 10.

2- يسحب الدم بواسطة الماصة الى العلامة 20.

3- ينقل الدم للأنبوبة المدرجة التي تحوي الحامض ثم يسحب كمية من الحامض الى داخل الماصة لغسلها وتتكرر العملية عدة مرات.

4- يمزج المحلول جيدا بالمحرك الزجاجي ويترك 10 دقائق حتى يتم التفاعل ويتكون لون بني داكن .

5- يضاف الماء المقطر على شكل قطرات مع المزج بواسطة المحرك الزجاجي مع المقارنة بلون الزجاجة القياسية حتى يتساوى اللونان .

6-بعد ذلك تم قراءه النتائج .

(Coles, 1986) .

اختبار الهشاشة الكروية Osmotic Fragility test

عندما يوضع الدم في محلول ملحي تركيزه 0.85 % فان الماء لا يدخل إلى داخل الكريات الحمراء ولا يخرج منها لذلك تبقى الكريات الحمر محافظة على شكلها.

أما عندما يوضع الدم في محلول ملحي 0.30% فإن الماء يدخل إلى الكريات الحمراء وبالتالي فإن الكريات تنفجر وتنحل وتتعلق سرعة حدوث هذا الانحلال ببنية الكريه الحمراء.

فعندما تزداد سرعة الانحلال يقال إن هشاشة الكريات الحمراء زائدة أما عندما تنقص سرعة الانحلال يقال إن هشاشة الكريات الحمراء ناقصة.

يبدأ انحلال الكريات الحمر في الحالات الطبيعية في المحاليل الملحية التي تركيزها 0.44 % ويكون الانحلال تام في المحاليل الملحية التي تركيزها 0.34. %

طريقة العمل

يحضر أولا محلول ملحي 0.50 % وذلك بوضع 0.5 جمNaclفي وعاء وإضافة ماء مقطر حتى 100 مل

تحضر سلسلتين من الأنابيب تتألف السلسلة من 12 أنبوب واحدة تسمى الشاهد والثانية للعينة المطلوبة.

ترقم الأنابيب من اليسار إلى اليمين

14 – 15 – 16 – 17 – 18 – 19 --20 – 21 – 22 –23 – 24 – 25

يوضع في كل أنبوب عدد قطرات من % 0.50 Naclيماثل رقم الأنبوب مثلا الأنبوب رقم 14 نضع 14 قطرة والأنبوب رقم 16 نضع 16 قطرة ..... وهكذا.

نضع قطرات ماء مقطر من اليسار إلى اليمين كما يلي نبدأ من الأنبوب رقم 25 لا نضع فيه أي قطرة ثم الأنبوب رقم 24 نضع 1 قطرة ثم الأنبوب 23 نضع 2 قطرات وهكذا حتى نصل للأنبوب رقم 1 نضع فيه 11 قطرة.

فيكون لدينا التراكيز التالية

0.28% - 0.30% - 0.32% - 0.34% - 0.36% - 0.38% - 0.40% - 0.42% - 0.44% - 0.46% - 0.48% - 0.50% .

تضاف قطرة من دم مسحوب حديثا" من شخص سليم لكل أنبوب من أنابيب سلسلة الشاهد.

تضاف قطرة من دم المريض المطلوب إجراء التحليل عليه إلى أنابيب سلسلة العينة.

تترك السلسلتين على حامل لمدة ساعتين في درجة حرارة الغرفة.

يراقب الانحلال عينيا" في سلسلة الشاهد يجب أن يبدأ الانحلال في الأنبوب رقم 22 ويكون تاما" في الأنبوب 17 وفي جميع الأنابيب الواقعة على يمين الأنبوب 17 أي في كل من الأنابيب 16 – 15 – 14

يراقب الانحلال بالطريقة ذاتها في سلسلة أنابيب العينة ويسجل رقم الأنبوب الذي بدا فيه الانحلال وتركيزه ورقم الأنبوب الذي أصبح فيه الانحلال تام وتركيزه. . (Coles, 1986)

ثالثاً : التحليل الإحصائي The statistical analysis

تم استعمال البرنامج الإحصائي (SPSS) الإصدار السابع عشر في تحليل النتائج، الذي تضمن التحليل جزئين رئيسيين هما : الجزء الأول هو الإحصاء الوصفي والمتمثل باستخراج (المتوسط الحسابي والخطأ القياسي)، في حين الجزء الثاني يتمثل بعمل جداول اختبار تحليل التباين (ANOVA) لمعيار واحد لمعرفة معنوية المعاملات المختلفة واستخراج قيمة (F) لاختبار معنوية العوامل، كما استعمل المعامل المعنوي الاصغر Least Significance Difference (LSD) في المقارنة بين الفئات العمرية (الراوي ، 2000) .

.

4- النتائج:

4-1: نتائج العلامات السريرية:

تم ملاحظة العلامات السريرية في الحملان بعد اعطائها الاوكسيتتراسايكلين وريديا.، حيث لم تسجل اي علامة سريريه تذكر ، اما بخصوص فحوصات الدم فقد اظهرت نتائج التحليل الاحصائي كما موضح لكل اختبار.

ادى حقن الجرعة الاعتيادية من الاوكسيتتراسايكلين الى تغير واضح بالصورة الدموية بعد 24 ساعة من الحقن وريديا ، حيث امتازت مجموعة المعاملة بالتغير الواضح مقارنتا بمجموعة السيطرة .

4-2: نتائج حجم خلايا الدم المرصوص :

سجلت مجموعة المعاملة تغير ملحوظ بحجم خلايا الدم المرصوص بعد 24 ساعة من اعطاء الدواء حيث بلغ 36.3% مقارنة مع مجموعة السيطرة اما بعد 48 ساعة لوحظ زيادة مفرطة بحجم الخلايا مقارنة حيث بلغت 46.6 % مقارنه مع مجموعة السيطرة والتي بقيت ضمن المعدل الطبيعي لها. احصائيا لم يسجل اي فارق معنوي بين المجاميع وايضا بين الايام ضمن مستوى احتمالية $P \leq 0.5$ رغم الاختلاف الواضح بقيم حجم الخلايا المرصوص. كما موضح في جدول رقم (4-1):

جدول (4-1): يوضح تأثير الاوكسي تتراسايكلين على حجم خلايا الدم المرصوص (mean± SE)

الحيوانات	قبل الحقن (0)	24 ساعة	48 ساعة
مجموعة السيطرة	40±0.0 A	39.3 ±0.0 A	38±0.0 A
مجموعة المعاملة	38.3±2.3 Aa	36.3±2.9 Aa	46.6±6.0 Aa

*الحروف المختلفة الكبيرة ضمن العمود الواحد تدل على وجود فارق معنوي بين المجاميع

*الحروف المختلفة الصغير تدل على وجود فارق معنوي ضمن المجموعة الواحدة.

4-3: نتائج اختبار الهيموكلوبين الدم.

بعد حقن الحملان وريديا بالاوكسيتتراسايكلين سجل نقصان واضح بتركيز الهيموغلوبين بعد 24 و48 ساعة مقارنة مع مجموعه السيطرة رغم هذا النقص لم يسجل اي فارق معنوي مهم احصائيا بين المجموعتين رغم النقص الواضح بمعدل تركيز الهيموغلوبين في مجموعة المعاملة طيلة فترة التجربة. ولكن لوحظ وجود فرق مهم احصائيا ضمن مجموعة المعاملة بعد 48 ساعة من الحقن.

جدول (4-2): يوضح تركيز الهيموغلوبين في مجموعة السيطرة والمعاملة بعد اعطاء الاوكسيتتراسايكلين.(mean± SE)

الحيوانات	قبل الحقن (0)	24 ساعة	48 ساعة
مجموعة السيطرة	8.5±0.2 A	8±0.2 A	8±0.2878 A
مجموعة المعاملة	9.1±0.1 Aa	8.5±0.2 Aa	0.1± 8.1 Ab

*الحروف المختلفة الكبيرة ضمن العمود الواحد تدل على وجود فارق معنوي بين المجاميع

*الحروف المختلفة الصغير تدل على وجود فارق معنوي ضمن المجموعة الواحدة

4-4:عد كريات الدم الحمراء:

من خلال النتائج الموضح في جدول رقم (4-3) بين هناك تأثير واضح عند استخدام الاوكسي تتراسايكلين وريديا حيث حصل تناقص كبير في عدد كريات الدم الحمراء حيث سجل بعد 24 ساعة 5.8×10^{6} سم^{3} واستمر النقص حتى الساعة 48 وهذا النقص لم يسجل مع مجموعة السيطرة حيث كانت ضمن المعدلات الطبيعية.

جدول(4-3):العدد الكلي لكريات الدم الحمراء سم^3×10^6 في مجموعة المعاملة والسيطرة.

الحيوانات	قبل الحقن (0)	24 ساعة	48 ساعة
مجموعة السيطرة	7.27	7.3	6.9
مجموعة المعاملة	7.11	5.8	5.7

2-5: اختبار هشاشية كريات الدم الحمراء

بعد اجراء هذا الاختبار لوحظ زيادة في تحلل كريات الدم الحمراء في الانابيب التي تحتوي تراكيز مختلفة من المحلول الملحي مقارنتا بمجموعة السيطرة ومقارنتا مع المجموعة ذاتها قبل الحقن واستمر زيادة التحلل حتى في الساعة 48 من الحقن.

6-التوصيات والاستنتاجات

6-1: الاستنتاجات

من خلال الدراسة الحالية استنتج ما يلي:

1- يمكن اعطاء دواء الاوكسيتتراسيكلين ذو التركيز المنخفض عن طريق الوريد
2- من المشاكل المصاحبة لاعطاء الدواء وريديا هو انخفاض مستوى تركيز الهيموغلوبين وحجم خلايا الدم المرصوص ونقصان في عدد كريات الدم وزيادة تحللها بعد فتره 24 ساعة من الحقن.
3- لوحظ زياده مفرطة بحجم الخلايا الدم المرصوص بعد 48 ساعة

2-6: التوصيات

من خلال النتائج نوصي ب:

1- عدم استخدام دواء الاوكسيتتراسايكلين وريديا في الحيوانات التي تعاني من فقر دم شديد
2- دراسة سبب زيادة حجم خلايا الدم المرصوص بعد 48 ساعة من الحقن وريديا
3- اجراء دراسات حول تأثير الدواء على القيم الكيموحيوية الأخرى بمختلف الحيوانات.
4- مقارنة علاجية وتأثيرات جانبية للدواء باستخدام طرق الحقن المختلفة على المنتجات المستوردة في الاسواق العراقية.

المصـــادر :

1-. **الراوي ، خاشع محمود.(2000)**مدخل إلى الإحصاء. الطبعة الثانية، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

2-**الخياط، علي عزيز، حنيفه، مرسي عيسى، شحاتة، عبدالرزاق عبداللطيف(1989)**. علم الادوية والسموم البيطرية.الطبعة الاولى وزارة التعليم العالي.العراق.

3-**محمد،فؤاد قاسم"الخفاجي، نزار جبار(2001).** علم السموم البيطرية الطبعة الاولى ، جامعة الموصل.

4-**مصطفى،نشأت غالب(2005).** دراسة تأثير الجرع العالية من الاوكسيتتراسايكلين على بعض القيم الكيموحيوية والدموية في الجرذان.مجلة التربية والعلم .مجلد(17) العدد(3) الصفحة 91-98.

Bhutto, Z. A.,T. A. Qureshi1, S. Bughio1, S. A. Soomro1 and M. Malhi1 (2015). Effects of high dose of long acting oxytetracycline on some hematological indices in goats .Pak. Agri., Agril. Engg., Vet. Sci., 31 (1): 109-114

Booth, M.G., W.H. Jeff rey, and R.V. Miller. (2001). RecA expression in responseto solar UVR in the marine bacterium *Vibrio natriegens*. Microb. Ecol. 42:531‑539.

Boothe, D.M. (2001). Antimicrobial Drugs in *Small Animal Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 1st edition. Eds Kersey, R., Kilmer, David., pp. 158-170. W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Caroll, B. M. (2002). Toxicity of antibiotics on RBC's. N. Zealand J. Pharmacol., 4(6): 238-240.

Chambers, H.F. (2005). Protein Synthesis Inhibitors and Miscellaneous Antibacterial Agents. Chapter 46, in edsBrunton, L.L., Lazo, J.S., Parker, K.L. *Goodman and Gilman`s*: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th edition. McGraw-hill Medical Publishing, New York.

Coles, C.(1986). Veterinary of Clinical pathology,4ed, Academic Publishers, London.

Cravedi, J.P., Choubert, G., and Delous, G. (1987) Digestibility of chloramphenicol, oxolinic acid and oxytetracycline in rainbow trout and influence of these antibiotics on lipid digestibility. *Aquaculture*, **60**, 133-141.

Giguère, S., Prescott, J.F., Baggot, J. D., Walker, R.D., Dowling, P.M. (2006). Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. 4th edition. Ed Giguere, S et al. Blackwell Publishing. Pp 3-239.

Laurence D.R. and Bennet, P.N.(1992).Clinical pharmacology 7Th ed Churchill livingstone, Edinberg.

Marcus, B. S., M. D. J. Pryzbylik, M. D. Bruce and M. A. Denham. (1985). Hemolytic Anemia after tetracycline therapy. N. Eng. J. Med., 312: 840-842.

Potgieter, F.T., Stoltsz, W.H. (2004). Bovine Anaplasmosis. In Infectious Diseases of Livestock, 2nd edition. Eds Coetzer, J.A.W., Tustin, R.C. Pp 594610. Oxford University Press, New York.

Riviere, J.E., Spoo, J. (1995). Tetracycline / Aminoglycocide Antibiotics. In Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 7th edition. Ed Adams, H.R. Pp 797- 813. Iowa State University Press / Ames.

Salte, R., and Liestol, K. (1983) Drug withdrawal from farmed fish. Depletion of oxytetracycline, sulfadiazine, and trimethoprim from muscular tissue of rainbow trout (*Salmon gairdneri*). *Acta Veterinaria Scandinavica*, **24**, 418-430.

Treves-Brown, K.M. (2000) *Applied Fish Pharmacology*. Kluwer Academic Publishers, London.

Tripathi,K.D.,(1986). Essential of medical pharmacology 1stEd.Jaype,brother , Newdelhi.