

Effectiveness of every other day gentamicin injection in treatment of urinary tract infection in rat

F.Emamghoraishy, MD¹ M.Ojy, MD² Y.Kohanteb, PhD³ N.Tanideh, D.V.M⁴.

Assistant professor, Department of pediatrics, Jahrom Faculty of Medical Sciences¹, Assistant professor Departments of pathology², Microbiology³, Instructor Department of pharmacology⁴, Shiraz university of medical sciences.

ABSTRACT

Introduction: Aminoglycoside is a common antibiotic in treatment of urinary tract infection. Their dosages and interval were changed during years. The last recommendation is daily administration. In the present study, we evaluated effectiveness of every other day Gentamicin usage in treatment of urinary tract infection in experimental model.

Methods: In this experimental study, 48 Sprague Dawley rats were infected by inoculation of 0.1 ml E-coli suspension 10^9 to left kidney. Gentamicin was administered intraperitoneal in different dosages and interval as 10mg/kg daily, 10mg/kg and 20mg/kg every other day. Responses were evaluated after one week by colony forming units/ml and percent of sterile kidney. Chi-Square and analysis of variance statistical tests were used for data analysis and $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: The result showed no significant difference between responses in various groups. Colony counts and percent of sterile kidney were not different in groups. Histological changes showed no difference in scar formation between three first groups, but severe scar formation in the fourth group ($P < 0.0001$).

Conclusion: Gentamicin usage with every other day interval could be effective as daily injection, without increase in scar formation. More studies on this use is recommended.

Key words: Urinary Tract Infection – Rats - Gentamicin

Correspondence:
F.Emamghoraishy, MD
Ostad Motahary Hospital
Jahrom Faculty of Medical
Sciences
Jahrom, Iran
Tel: +98 791 3331520
Email:
ghoraishy@yahoo.com

اثربخشی تزریق جنتامایسین یک روز در میان در درمان عفونت ادراری در موش صحرائی

دکتر فاطمه امام قریشی^۱، دکتر محمود اوجی^۲، دکتر جمشید کهن طب^۳، دکتر نادر تنیده^۴
^۱ استادیار گروه کودکان دانشکده علوم پزشکی جهرم^۲، استادیار گروه پاتولوژی^۳، استادیار گروه میکروبیولوژی^۴، مربی گروه فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

مجله پزشکی هرمزگان، سال نهم، شماره دوم، تابستان ۸۴، صفحات ۱۳۰-۱۳۶

چکیده

مقدمه: آمینوگلیکوزیدها از آنتی بیوتیک های رایج در درمان عفونت ادراری هستند. روشهای درمانی با این داروها طی سالها تغییر کرده است. این دارو به علت اثر طولانی، به صورت روزانه نیز استفاده می شوند. در مطالعه حاضر اثربخشی تزریق جنتامایسین یک روز در میان در درمان عفونت ادراری در مدل آزمایشگاهی بررسی شده است.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۴۸ موش نژاد *Sperague Dawley* مورد مطالعه قرار گرفتند. مقدار ۰/۱ سی سی از محلول باکتری اشرشیاکلی با غلظت ۱۰^۹ /ml به کلیه چپ تزریق و بعد از ۲۴ ساعت، جنتامایسین با مقادیر روزانه ۱۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم و ۱۰ و ۲۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم یک روز در میان استفاده شد. پاسخ به درمان بر اساس شمارش کولونی و درصد کلیه استریل بررسی شد. تغییرات هیستولوژی جهت بررسی اثرات نفروتوکسیستی استفاده شد. نتایج با استفاده از آزمونهای کای اسکوئر و آنالیز واریانس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $P < ۰/۰۵$ معنی دار تلقی گردید.

نتایج: پاسخ به درمان در گروههای مختلف دارویی تفاوت معنی داری را نشان نداد. تعداد کولونی ارگانسیم و درصد کلیه استریل در گروههای مختلف مشابه بوده اند. اثرات هیستولوژیک نفروتوکسیک دارو در گروه مصرف دارو به صورت ۲۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم یک روز در میان به صورت معنی دار بیشتر از بقیه بوده است ($P < ۰/۰۰۱$).

بحث و نتیجه گیری: با توجه به اثر طولانی آمینوگلیکوزیدها مصرف یک روز در میان آنها نیز به اندازه مصرف روزانه مؤثر می باشد. با توجه به نفروتوکسیستی بیشتر در مقادیر یک روز در میان، باید مطالعه بیشتر در یافتن مقادیر مناسب در حالت یک روز در میان انجام شود.

کلیدواژه ها: عفونت مجاری ادراری - موشها - جنتامایسین

نویسنده مسئول:
دکتر فاطمه امام قریشی
بیمارستان استاد مطهری
دانشکده علوم پزشکی جهرم
جهرم - ایران
تلفاکس: ۳۳۳۱۵۲۰ - ۷۹۱ - ۹۸
پستالکترونیکی:
ghoraishy@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۸۳/۱۰/۲۰ اصلاح نهایی: ۸۴/۳/۲ پذیرش مقاله: ۸۴/۳/۲۳

مقدمه:

سیستماتیک و یکسانی وجود ندارد (۱،۲). آمینوگلیکوزیدها به طور وسیع در درمان عفونت ادراری استفاده می شود. البته به علت عوارض و مسمومیت دربرخی موارد مصرف آن محدود می شود (۳). به هر حال به دلیل قیمت ارزان، اثرات طولانی بعد از مصرف، اثرات مضاعف با بقیه آنتی بیوتیکها، هنوز جایگاه خود را در درمان عفونت ادراری حفظ کرده است. یکی از جالبترین تغییرات در استفاده از آمینوگلیکوزیدها، تزریق روزانه به جای تزریق ۲-۳ مرتبه در روز می باشد که

عفونت ادراری یکی از عفونت های شایع در کودکان و بزرگسالان و از علل شایع نارسایی مزمن کلیوی می باشد. درمان سریع و موثر آن می تواند نقش موثری در جلوگیری از عوارض ثانویه داشته باشد. اگرچه آنتی بیوتیک ها بیش از ۶۰ سال است که مورد استفاده قرار می گیرد ولیکن با توجه به مطالعات متعدد و روش های درمانی مانند مقدار و فاصله و نوع داروهای مورد استفاده درحال تغییر می باشد و هنوز روش درمان

ضمن کاهش هزینه و استرس درمانی دارای همان اثر بخشی با کاهش مسمومیت بوده است (۸،۴).

آمینوگلیکوزیدها بعد از تزریق و بعد از اینکه غلظت آنان در محل عفونت پائین آمده، اثرات آنها تا مدتی ادامه می‌یابد (post antibiotic effect). همچنین غلظت بالا و یک مرتبه آمینوگلیکوزیدها در محل عفونت به مراتب موثرتر و دارای عوارض کمتر به نسبت غلظت های کم و مکرر است (۹). این خصوصیات آمینوگلیکوزیدها باعث شده است که این گروه از داروها را بتوان در فواصل زمانی طولانی تر استفاده کرد بدون اینکه اثر بخشی آنان تغییر کند.

هدف از مطالعه حاضر استفاده از روش جدید تزریق جنتامایسین به صورت یک روز در میان با مقادیر مختلف و مقایسه آن با روش رایج تزریق روزانه در مدل آزمایشگاهی است.

روش کار:

در این مطالعه تجربی تعداد ۴۸ موش صحرایی ماده بالغ نژاد Sprague Dawley با وزن ۲۷۰-۱۴۰ گرم (متوسط $231/2 \pm 176/9$) استفاده شد.

تزریق باکتری: ارگانیسیم مورد استفاده اشرشیاکلی اوروپاتوزن جدا شده از ادرار بیمار مبتلا به عفونت ادراری بوده است. بعد از خالص کردن باکتری و اطمینان از حساسیت آن به جنتامایسین، محلول باکتری با غلظت 10^9 تهیه گردید. بعد از بیهوش کردن موش‌ها با استفاده از کتامین ۳۵ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم و زایلازین ۵ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم، سپس در شرایط استریل با ایجاد برش در پهلوئی چپ حیوان، کلیه در معرض قرار داده شده و مقدار $0/1$ میلی‌لیتر از محلول باکتری با غلظت 10^9 میلی‌لیتر در هر دو قطب کلیه تزریق گردید (۱۰،۱۱). ۲۴ ساعت بعد از تلفیح باکتری جنتامایسین (ساخت شرکت زهرا، ایران) به موش‌ها تزریق شد. بر اساس تزریق دارو، حیوانات به چهار گروه تقسیم شدند:

- ۱- تزریق داخل صفاقی ۱۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن روزانه
- ۲- تزریق داخل صفاقی ۱۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن یک روز در میان

۳- تزریق داخل صفاقی ۲۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن یک روز در میان

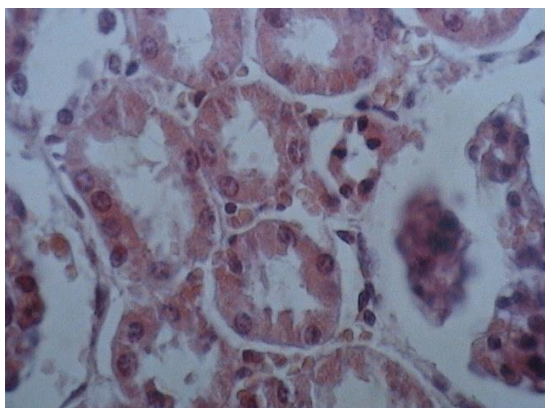
۴- بدون تزریق دارو

مدت درمان هفت روز ادامه یافت. بعد از هفت روز درمان، موش‌ها با استفاده از اتر و روش decapitation کشته شدند. با برش استریل در پهلوئی چپ، کلیه به صورت استریل خارج گردید.

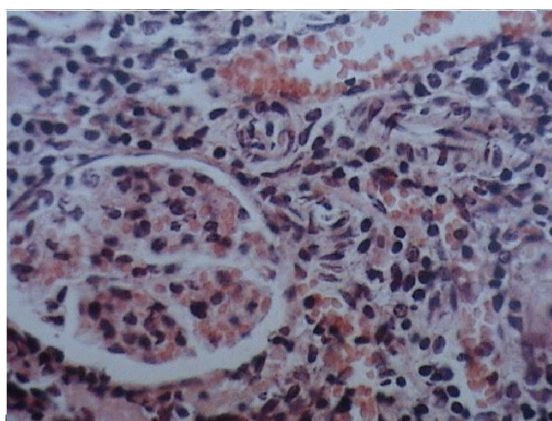
میکروب شناسی: نیمی از کلیه جهت بررسی میکروب‌شناسی در ظروف استریل به آزمایشگاه انتقال یافت. کلیه‌ها در ۳ سی سی سرم فیزیولوژیک در ۴ درجه سانتی گراد هموژنیزه شدند. سپس ۱۰ میکرولیتر از محلول در محیط کشت مک کانکی در ۲۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. تعداد کولونی به ازای میلی‌لیتر (CFU/ml) اندازه گیری شدند. در موارد کشت منفی در هر گروه به صورت درصد تعداد کلیه استریل بیان شدند (۱۲).

هیستولوژی: نیمه دیگر کلیه در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شدند. سپس با استفاده از قالب پارافین برش‌هایی به ضخامت ۵ میکرون داده شد. از رنگ آمیزی هموتوکسیلین - ائوزین برای رنگ‌آمیزی نمونه‌ها بافت‌شناسی و میکروسکوپ نوری جهت بررسی استفاده گردید. کورتکس و مدولای کلیه شامل گلومرول، توبول، بافت بینابینی و عروق برای حضور التهاب بررسی شدند. میزان التهاب به صورت خفیف، متوسط، شدید و برجسته با توجه به درصد فیلتر سلول‌های التهابی در هر برش تقسیم بندی شدند (IIC=Interstitial inflammatory cell).

جهت بررسی اثرات نفروتوکسیک جنتامایسین تغییرات هیستولوژیک به شکل زیر مورد مطالعه قرار گرفت (۱۲). در هر منطقه در برش کروئال کلیه در بزرگنمایی ۴۰۰ تعداد کل توبول‌های پروکسیمال شمارش شدند. نکروز توبولولار (زمانی که بیش از ۵۰ درصد سلول‌های توبول نکروز شدند) به عنوان NPT = necrotic proximal tubule و دسکواماسیون توبول (زمانی که صددرصد سلول‌های توبول نکروز شدند) به عنوان DPT = Desquamated proximal tubule بیان شدند. به علت کلفتی برش‌ها نکروز مجزای سلول‌ها بررسی نشدند. در مواردی که توبول هیچگونه تغییرات نکروز نداشت UPT = Unremarkable proximal tubule (توبول‌های دارای نکروز tubule تلقی شدند. سپس تعداد توبول‌های دارای نکروز



شکل ۱- تصویر بافت شناسی طبیعی توبول های رت، هسته طبیعی و سیتوپلاسم ائوزینوفیلی. (H & E * 400)



لنفوسیت ها) در کورتکس کلیه (H&E * 400)

بررسی تغییرات التهابی بر اساس شدت فیلتر سلولی های التهابی در پایان درمان اختلاف معنی داری را بین گروه ها نشان داده است ($P < 0/0001$) بطوریکه در گروه اول التهاب خفیف بوده است و مواردی از التهاب متوسط یا شدید مشاهده نشد. در گروه دوم ۸/۳ درصد موارد التهاب متوسط، گروه سوم ۳۳/۳ درصد التهاب متوسط و ۸/۳ درصد التهاب شدید و در گروه چهارم صددرصد التهاب شدید نشان دادند.

اختلاف معنی داری بین گروه های مختلف از نظر علائم نفروتوکسیستی جنتامایسین نشان داده شد (جدول شماره یک) استفاده از آزمون دانکن نشان داد که اختلاف معنی دار بین گروه بدون دارو و مصرف روزانه از نظر NPT وجود ندارد ولیکن بین گروه هایی با مصرف یک روز در میان جنتامایسین و روزانه اختلاف معنی دار مشاهده شده است ($P < 0/05$) بطوریکه گروهی که

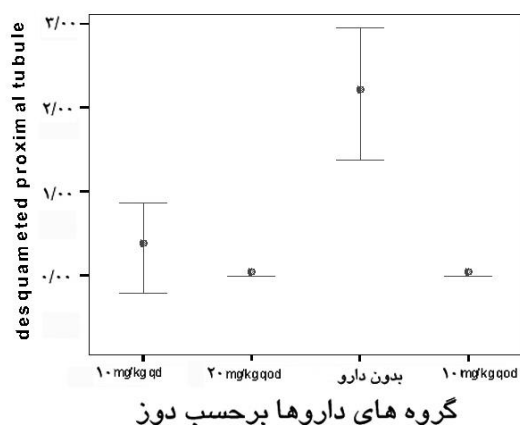
به نسبت کل توبول های پروکسیمال در هر منطقه به صورت درصد محاسبه و امتیاز بندی شد. نحوه امتیاز بندی به این صورت بود که ۹-۰ درصد امتیاز یک، ۱۹-۱۰ درصد امتیاز دو، ۲۹-۲۰ درصد امتیاز سه و بقیه تا امتیاز ۱۰ داده شد. کلیه مطالعات هیستولوژیک توسط متخصص پاتولوژی بدون آگاهی از گروه های مورد آزمایش صورت گرفته است. بررسی آماری: بعد از گذار و امتیاز بندی کلیه اطلاعات وارد کامپیوتر شده و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ آنالیز شدند. جهت بررسی ارتباط متغیرها از آزمون کای اسکور و آنالیز واریانس استفاده گردید. برای نشان دادن تفاوت های بین گروهی از آزمون دانکن استفاده شد. $P < 0/05$ به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج:

مطالعه حاضر بر روی ۴۸ موش با وزن متوسط ۱۷۶/۳۱±۹/۲ گرم انجام گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده بعد از درمان به طور متوسط ۶۷/۴ درصد از موارد کشت منفی شده است. با مقایسه گروه های مختلف از نظر درصد استریل شده کلیه (کشت منفی) اختلاف معنی دار مشاهده نشد بطوریکه در گروهی که دارو به صورت روزانه داده شده بود ۶۰ درصد و در دو گروه تجویز یک روز در میان به ترتیب ۹۰/۹ و ۶۰ درصد از موارد منفی شده بودند در صورتیکه گروه بدون دارو در انتهای یک هفته درمان ۱۰۰ درصد کشت مثبت بوده است. همچنین اختلاف معنی دار بین تعداد کولونی در موارد کشت مثبت بین گروه های مختلف مشاهده نشد.

مقاطع هیستولوژیک فیلتر سلول های التهابی را به صورت خفیف تا شدید نشان داد. فیلتر سلول های التهابی اساساً لنفوسیت و در هر دو کورتکس و مدولا بوده است. برخی از توبول ها حاوی تجمع از سلول های پلی مرف در داخل مجرای خود بودند. گلومرول ها و عروق سالم بودند (شکل ۱، ۲).

نمودار شماره ۱- مقایسه میزان نکروز توبولها (NPT) در گروه‌های مختلف براساس امتیاز بندی ۰-۱۰



نمودار شماره ۲- مقایسه نکروز کامل توبول (DPT) در گروه‌های مختلف تحت مطالعه براساس امتیاز بندی ۰-۱۰

بحث و نتیجه‌گیری:

در خصوص استفاده از جنتامایسین در درمان عفونت ادراری و سایر عفونت‌ها مطالعات متعددی صورت گرفته است. جنتامایسین یکی از آنتی‌بیوتیک‌های باکتریوسیدال از گروه آمینوگلیکوزیدها می‌باشد. این آنتی‌بیوتیک در پارانشیم کلیه تغلیظ می‌شود و تا مدت‌ها بعد از اینکه از سرم پاک می‌شود اثرات آن در کلیه و ادرار می‌ماند. بیش از ۲۵ مطالعه مختلف در مورد استفاده از مقادیر مؤثر جنتامایسین و تغییر روش استفاده ۳ بار در روز به روزانه انجام گرفته است (۹،۱۰). این مطالعات هم در عفونت ادراری و هم در عفونت ادراری نوزادی، بیمارستانی و غیره است (۸،۱۳،۱۴). نتایج اثرات خوب و مؤثر تزریق روزانه را همراه با کمتر بودن اثرات سمی کلیوی و گوشی نشان داده است. با توجه به طولانی بودن اثرات جنتامایسین در ادرار و کلیه و اینکه اثرات باکتریوسیدال آن وابسته به غلظت می‌باشد، برخی مطالعات نشان می‌دهد که غلظت کم و متوالی باعث ایجاد مقاومت تطابقی در میکروب‌ها می‌شود و استفاده از مقادیر بالاتر با فواصل بیشتر که باعث ایجاد غلظت بالاتر در ادرار و کلیه می‌شود اثرات بهتری را در از بین بردن ارگانیزم و کاهش شانس مقاومت دارا می‌باشد (۹). یکی دیگر از اثرات مهم این گونه تجویز کاهش هزینه بیمار و پرستاری می‌باشد (۱۵).

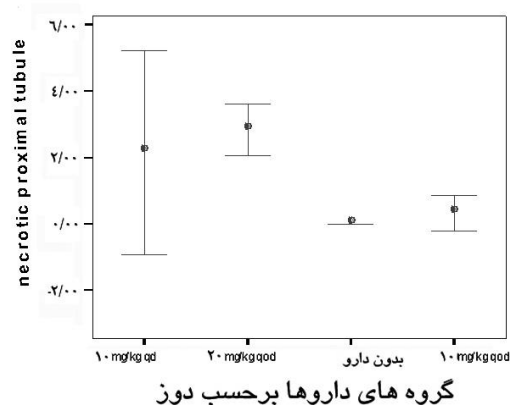
دارو با مقادیر دوبرابر و یک روز در میان استفاده شده است دارای بیشترین تغییرات نفروتوکسیستی بوده‌اند (۲). همچنین تغییرات هیستولوژیک به صورت نکروز کامل (DPT) نیز اختلاف معنی داری نشان داده است ($P < 0.05$)، بطوریکه در گروه با مصرف دارو با مقادیر دوبرابر و یک روز در میان اثرات شدید نفروتوکسیک بیشتر از سایر گروه‌ها بوده است (جدول شماره ۲، ۳ و نمودار شماره ۱).

جدول شماره ۲- مقایسه میزان نکروز توبولها (NPT) در گروه‌های مختلف براساس امتیاز بندی ۰-۱۰

| آزمون | گروه‌های مختلف دارویی | alpha = 0.05 |
|-----------|-----------------------|--------------|
| دانکن (a) | بدون دارو | 0.000 |
| | ۱۰ mg/kg qod | 0.333 |
| | ۱۰ mg/kg qd | 2/16 |
| | ۲۰ mg/kg qod | 2/83 |
| | Sig | 0.46 |

جدول شماره ۳- مقایسه نکروز کامل توبول (DPT) در گروه‌های مختلف تحت مطالعه براساس امتیاز بندی ۰-۱۰

| آزمون | گروه‌های مختلف دارویی | Subset for alpha = 0.05 |
|-----------|-----------------------|-------------------------|
| دانکن (a) | ۱۰ mg/kg qod | 0.000 |
| | بدون دارو | 0.000 |
| | ۱۰ mg/kg qd | 0.333 |
| | ۲۰ mg/kg qod | 2/16 |
| | Sig. | 1/00 |



معنی‌داری را نشان داده است. بطوریکه در گروهی که دارو به صورت یک روز در میان استفاده شده است شدت التهاب بیشتر از گروه با تزریق روزانه بوده است.

مقایسه اثرات نفروتوکسیک جنتامایسین در گروه‌های مختلف بیانگر شدت بیشتر اثرات در گروهی بوده است که دارو با مقادیر دو برابر و یک روز در میان استفاده می‌شده است.

مطالعات نشان می‌دهد که مقادیر بالا و یک مرتبه جنتامایسین اثرات سمی کمتری نسبت به استفاده مقادیر پایین و مکرر دارند ولیکن محدودیت در دوزاژ نیز باید در نظر گرفته شود. با توجه به نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که مقادیر یک روز در میان جنتامایسین با همان دوزاژ روزانه می‌تواند اثربخشی مشابه در درمان عفونت ادراری بدون تغییر در نفروتوکسیستی داشته باشد.

پاسخ به این سوال که اثرات جنتامایسین بعد از تزریق تا چه مدت می‌ماند و میتواند در از بین بردن ارگانسیم مؤثر باشد را می‌توان با مطالعه حاضر پاسخ داد. این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از جنتامایسین یک روز در میان می‌تواند اثرات مشابه با روش تزریق روزانه داشته باشد. بطوریکه میزان موارد کلیه استریل بعد از تزریق روزانه ۶۰ درصد بوده که مشابه با حالت یک روز در میان با مقدار مشابه و با مقدار دو برابر است (بترتیب ۹۰/۹ و ۶۰ درصد). همچنین صددرصد موارد کلیه‌ها در گروه بدون مصرف دارو کشت مثبت داشته اند. در مواردی که کشت هنوز مثبت بوده است تفاوتی معنی‌دار بین تعداد کولونی در گروه‌های مختلف مصرف دارو مشاهده نشد. به نظر می‌رسد که اثرات باکتریوسیدال جنتامایسین تا مدت طولانی بعد از تزریق می‌ماند. با وجود آنکه پاسخ به درمان بعد از یک هفته در گروه‌های مختلف مشابه بوده است، ولیکن بررسی شدت واکنش التهابی تفاوت

References

منابع

- 1- Bergeron M G. Treatment of pyelonephritis in adults. *Med Clin North Am.* 1995; 79: 619-649.
- 2- Stamm W E, and Hooton TM. Management of urinary tract infections in adults. *N Engl J Med.* 1993; 329:1328-1334.
- 3- Michael M, Hodson EM, Craig JC, Martin S, Moyer VA. Short versus standard duration oral antibiotic therapy for acute urinary tract infection in children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003; (1): CD003966.
- 4- Brown PD. Antimicrobial selection in the treatment of pyelonephritis. *Curr Infect Dis Rep.* 2004; 6(6): 457-461.
- 5- Kahlmeter G, Dahlager JI. Aminoglycoside toxicity. A review of clinical studies published between 1975 and 1982. *J Antimicrob. Chemother.* 1984; 13(Suppl. A):9-22.
- 6- Fantin B, Pangon B, Potel G, M. Vallois JM, Caron F, Bure A, etal. Ceftriaxone-netilmicin combination in single-daily-dose treatment of experimental *Escherichia coli* endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1989; 33:767-770.
- 7- Francioli PB, M Glauser P. Synergistic activity of ceftriaxone combined with netilmicin administered once daily for treatment of experimental streptococcal endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37: 207-212.
- 8- Nordstrom L, Ringber GH, Cronberg S. Dose administration of an aminoglycoside in a single daily affect its efficacy and toxicity? *J Antimicrob Chemother.* 1990; 25(1): 159-173.
- 9- Puljevic D, Gasparovic V. Effectiveness and adverse effects of single dose gentamicin versus twice daily administration. *Lijec Vjesn.* 1995; 117(1-2): 33-38.
- 10- Kasper GJ, Teunissen PC, Holl H. Gentamicin administration in newborn: once daily. *Ned Tijdsahr Geneesk.* 1998; 142(11): 583-586.
- 11- Barelay ML, Begg EJ, Hichling KA. What is the evidence for once daily aminoglycoside therapy? *Clin Pharmacokinetic.* 1994; 27(1): 32-48.

- 12- Trapoto MA, Arevalo MA, Lanao JM, Pharmacokinetic and nephrotoxic study of gentamicin in rabbit, using a new dosage regimen. *Eur J Drug Metab Pharmacokinetic*. 1989; 14(2): 189-194
- 13- Kaye D. The effect of water diuresis on spread of bacteria through the urinary tract. *J Infect. Dis.* 1971; 124: 297-305.
- 14- LeBrun M, Grenier L, Gourde P. Effectiveness and toxicity of gentamicin in an experimental model of pyelonephritis: Effect of the time of administration. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999; 43(5): 1020-1026.
- 15- Thureen PJ, Reiter PD, Greores A, Once versus twice daily gentamicin dosing in newborn > 34 weeks gestation: cost- effectiveness analysis. *Pediatrics*. 1999; 103(3): 594-8.