

تأثير الدقائق النانوية للفضة في خمج الكلية التجريبي
المتسبب عن بكتريا
Staphylococcus haemolyticus في الجرذان المهق

رؤى رعد محمد فرحان
أ.م. د. رسمية عمر سلطان
م. سري ابراهيم خضر
قسم علوم الحياة
كلية التربية للبنات
جامعة الموصل

Email : rasmiaomar@uomosul.edu.iq *

الخلاصة :

تم اختبار التأثير العلاجي والسمية المحتملة والتغيرات النسجية في كلية ومثانة الجرذان المعاملة بدقائق الفضة النانوية بعد إحداث الخمج التجريبي في المسالك البولية ببكتريا المكورات العنقودية الحالة للدم *Staphylococcus haemolyticus*. إذ جرعت اناث الجرذان (عدد 20) بالمادة النانوية بتركيز 5 ملغم\كغم مرتين يومياً لمدة خمسة أيام مقارنةً بمعلق الريفادين بتركيز 5 ملغم\كغم مرتين يومياً ولنفس المدة خمسة ايام. ثم شُرِحت الحيوانات في اليوم السادس لحساب عدد البكتريا في نسيج الكلية وُجِعت عينات الدم لقياس مستويات اليوريا والكرياتينين وأنزيم الفوسفاتيز القاعدي والحمضي في أمصال الجرذان لتحديد التأثيرات المحتملة للمادة النانوية المذكورة. أظهرت النتائج قدرة الفضة النانوية على تقليل أعداد البكتريا في أنسجة الكلية بنسبة 35%، مقارنة بمعلق الريفادين الذي قلل اعداد البكتريا في انسجة الكلية بنسبة 43.9%. إلا أن مؤشرات وظائف الكلى أظهرت خلل في وظائفها تمثلت بارتفاع مستوى اليوريا والكرياتينين وأنزيم الفوسفاتيز القاعدي. اما بعد المعاملة بالمادة النانوية، فقد أظهرت الدراسات النسجية للكلية والمثانة تغيرات تمثلت بوجود ضمور خفيف في الكبيبات وتكوين الكيس الكلوي وتمدد محفظة بومان في المجموعة المخمجة بالبكتريا المعاملة بدقائق الفضة النانوية .

الكلمات المفتاحية : دقائق الفضة النانوية , بكتريا المكورات العنقودية الحالة للدم

Abstract

The current study aimed to investigate the role of Silver nanoparticles (AgNps) as a therapy in preventing kidney and bladder damage induced by *Staphylococcus haemolyticus* the potential toxicity and histological changes were examined in both organs 20 adult male rats were used and orally treated with 5mg/kg from (AgNps) twice_ daily for five days ,On day six , the animals then were dissected to calculate the number of bacteria in the kidney tissue . In addition, blood samples were collected to measure the levels of urea, creatinine, alkaline and acid phosphatase in rat sera to determine the possible effects of the nanopracticles of the current work . The present study showed that silver nanoparticles has a potential role in reduction of bacteria number in the kidney tissues by 35%, compared to Rifadin suspension, which reduced the number of bacteria to 43.9%.

However, indicators of kidney function showed a defect in its functions, represented by an increase in the level of urea, creatinine, and the enzyme alkaline phosphatase.

Microscopically, kidneys and bladder showed changes in their tissues after treatment with nanoparticles. The effects were represented in the group infected with bacteria treated with silver nanoparticles, the appearance of mild atrophy in the glomeruli, the formation of a renal cyst, and expansion of Bowman's capsule.

Key words: Silver nanoparticles (AgNps), *Staphylococcus haemolyticus*.

المقدمة :

يعرف خمج المسالك البولية بأنه استجابة التهابية لخلايا الظهارة البولية، وتشمل العوامل المسببة لهذا الخمج البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام والفطريات التي لها القدرة على غزو أنسجة المسالك البولية (الكلى والمثانة والحالب والإحليل)، وتصنف بكتريا المكورات العنقودية الحالة للدم *Staphylococcus haemolyticus* الموجبة لصبغة كرام من المسببات لهذا الخمج (Farid et al., 2015)، إذ تعد من الممرضات الانتهازية لخمج المسالك البولية المكتسبة من المستشفيات (Nimmo and Coombs, 2008) وتسبب العديد من الأمراض الأخرى للإنسان مثل التهاب البريتون Peritonitis والتهاب الإذن Otitis (Fredheim et al., 2009).

أدى الاستخدام العشوائي والمتكرر للمضادات الحيوية إلى زيادة مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية مما شكل قلقاً في قطاع الرعاية الصحية (Laxminarayan et al., 2013) مما دفع الباحثين للبحث عن بدائل للمضادات الحيوية لمواجهة هذه المشكلة المتزايدة.

وتعد تقنية النانو طريقة جديدة مضادة للجراثيم غير التقليدية تسمى بالمضادات النانوية الحيوية. وتعتبر علاج فعال للعديد من الأمراض مقارنة بالمضادات الحيوية التقليدية. لأنها تؤدي إلى خلل ميكانيكي في الغشاء البكتيري، فضلاً عن سميتها المنخفضة وقدرتها في التغلب على المقاومة البكتيرية للمضادات وانخفاض التكلفة (Guzman et al., 2012).

وتعدّ دقائق الفضة النانوية Silver nanoparticles (AgNps) أحد المركبات اللاعضوية وتستخدم في العديد من المجالات مثل التحفيز الخلوي (Tan et al, 1999) وكذلك في التشخيص والكشف البيولوجي الجزيئي وكمضادات للميكروبات وكثير من الأنشطة العلاجية أيضاً بسبب طبيعتها الصديقة للبيئة (Chun-Hao and Chun-Yung, 2007). إذ تؤثر جزيئات الفضة النانوية في البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام المقاومة للمضادات الحيوية، وتعتمد فعاليتها على حجمها وتركيزها، ويؤدي التركيز العالي إلى المزيد من النشاط المضاد للميكروبات، في حين أن الجزيئات الصغيرة ذات الأحجام الصغيرة تقتل البكتريا بتركيز أقل، وتكون دقائق AgNps أكثر تأثيراً على بكتريا *Escherichia. coli* وبكتريا *Staphylococcus. aureus* (Li et al., 2005).

وتستخدم دقائق الفضة في علاج أخماج المسالك البولية وعلاج الحروق وعدوى القسطرة والتهابات العظام المزمنة. إن ميكانيكية عمل جزيئات الفضة النانوية تعتمد على تغيير سيولة

الغشاء البلازمي من خلال إحداث تغير كيميائي في الغشاء الخلوي البكتيري مما يؤدي إلى عدم القدرة على التحكم في المواد الداخلة والخارجة من وإلى داخل الخلية البكتيرية وهذا يؤدي إلى موت الخلية (Naidu *et al.*, 2015).

لذلك كان الهدف من الدراسة هو :

1- عزل وتشخيص بكتريا *Staphylococcus haemolyticus* المسببة لخمج المسالك البولية وتشخيصها بجهاز VITEK 2.

2- استخدام الفضة النانوية لعلاج خمج المسالك البولية التجريبي ومقارنتها بالمضادات الحيوية من خلال دراسة تأثيرها التثبيطي لنمو البكتريا وتحديد تأثير المادة النانوية في مؤشرات وظائف وتشخيص التغيرات النسجية التي تحدث في نسيج الكلية والمثانة.

مواد وطرائق العمل

(1) تصميم التجربة :

استخدمت اناث الجرذان من عمر 6 إلى 8 أسابيع ذات وزن 150 ± 5 جم. وكان مكان تربية الحيوان يحتوي على 5 جرذان وتم السماح لهم بالتكيف لمدة 24 ساعة على الأقل قبل احداث العدوى ببكتريا *S. haemolyticus*. وكذلك حرية الوصول إلى الطعام والماء في أي وقت (العكدي, 2002).

استخدم 20 جرذاً في الدراسة الحالية قسمت الى اربعة مجاميع اثنان منها مثل مجموعة السيطرة. تم تحفيز التهاب المسالك البولية عن طريق الحقن في المثانة وتركها لمدة 48 ساعة لضمان العدوى ثم علاجها لمدة 5 أيام كما هو موضح في الجدول (1). تم بعدها تشريح الفئران للحصول على الكلى والمثانة والدم .

الجدول (1) المعاملات المختلفة التي أجريت على الحيوانات قيد الدراسة

المجموعات	العدد	المعاملة
السيطرة (صفر)	5	غير معاملة
السيطرة السالبة (بكتريا فقط)	5	1.2×10^8 <i>Staphylococcus</i> CFU/Cm ³ <i>haemolyticus</i>
حيوانات معاملة بالبكتريا والفضة النانوية	5	5 ملغم \ كغم من وزن الحيوان \ مرتان في اليوم لمدة 5 أيام

تأثير الدقائق النانوية للفضة في خمج الكلية التجريبي المتسبب عن بكتريا *Staphylococcus haemolyticus* في الجرذان المهيئ-البحوث المحكمة

السيطرة الموجبة الريفادين (حيوانات معاملة بالبكتريا والمضاد الحيوي الريفادين)	5	5 ملغم \ كغم من وزن الحيوان \ مرتان في اليوم لمدة 5 أيام
---	---	---

(2) البكتريا المرضية واحداث العدوى :

تم عزل بكتريا *Staphylococcus. haemolyticus* من مرضى خمج المسالك البولية في مستشفى الزهراوي/ الموصل- العراق. تم تشخيص البكتريا وفقاً للاختبارات البكتريولوجية والكيميائية الحيوية بواسطة نظام VITEK2.

ولأحداث العدوى في الحيوانات المختبرية تم تحضير معلق بكتيري اذ نُقِلَت مستعمرات بكتيرية من المزرعة النقية وزرعت في المرق المغذي وحضنت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة ثم أُجري لها الطرد المركزي بسرعة 2000 دورة/ دقيقة لمدة 20 دقيقة ثم عُلقت بمحلول دارئ الفوسفات الملحي للحصول على معلق بتركيز $10^8 \times 1.2$ CFU/cm³ وذلك بقراءة الكثافة الضوئية في جهاز المطياف الضوئي على الطول الموجي 597 نانوميتر (Hagberg et al., 1983).

(3) احداث خمج المسالك البولية في الجرذان المختبرية بالطريقة الصاعدة :

عُطِشَت الحيوانات المختبرية لمدة 4 ساعات قبل وبعد إحداث العدوى وقبل الحقن بالبكتريا ضُغِطَ ضغطاً خفيفاً على البطن لتفريغ المثانة من الإدرار، ثم خُدِرَت الحيوانات بالايثر وُحِقَنَ 50 مايكروليتر من معلق البكتريا المحضر الحاوي على $10^8 \times 1.2$ CFU/cm³ في المثانة من خلال فتحة الإحليل باستخدام أنبوب قسطرة لين مصنوع من البولي أثلين، إذ صُهِرَت نهاية الأنبوبة بعناية فوق لهب الغاز لتصبح ناعمة ولا تسبب إصابة للأنسجة أثناء الحقن واستمرت عملية الحقن 5 ثوانٍ لتجنب ارتجاع المحلول (Enitan et al., 2016).

(4) تجريع الحيوانات المختبرية :

عومِلَت الحيوانات المختبرية بالمواد قيد الدراسة عن طريق التجريع الفموي وذلك بعد 48 ساعة من إحداث العدوى بواقع مرتين يومياً ولمدة خمسة أيام اعتماداً على (Hvidberg وجماعته). (2000)

(5) فحص مؤشرات معايير ووظائف الكلية :

تم جمع عينات الدم من الجرذان بواسطة الأنابيب الشعرية من الزاوية الداخلية لثقب الجيوب الأنفية في محجر العين. تم جمع الدم في أنابيب خالية من مضادات التخثر ، ثم أُجري لها طرد مركزي بسرعة 4000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة وُثم فصل الدم عن الجزء المتخثر منه لغرض إجراء الفحوصات الكيموحيوية (Bartels and Bohmer, 1971). وحفظ المصل بدرجة حرارة - 20 درجة مئوية، واستخدم لعمل فحوصات وظائف الكلية وهي اليوريا والكرياتنين وأنزيم

الفوسفاتيز القاعدي بوساطة جهاز Cobas C311، أما فحص أنزيم الفوسفاتيز الحامضي فقد تم قياسه بوساطة ادوات خاصة من نوع BioLabo الفرنسي المنشأ.

(6) تشريح الحيوانات المختبرية وعد البكتريا :

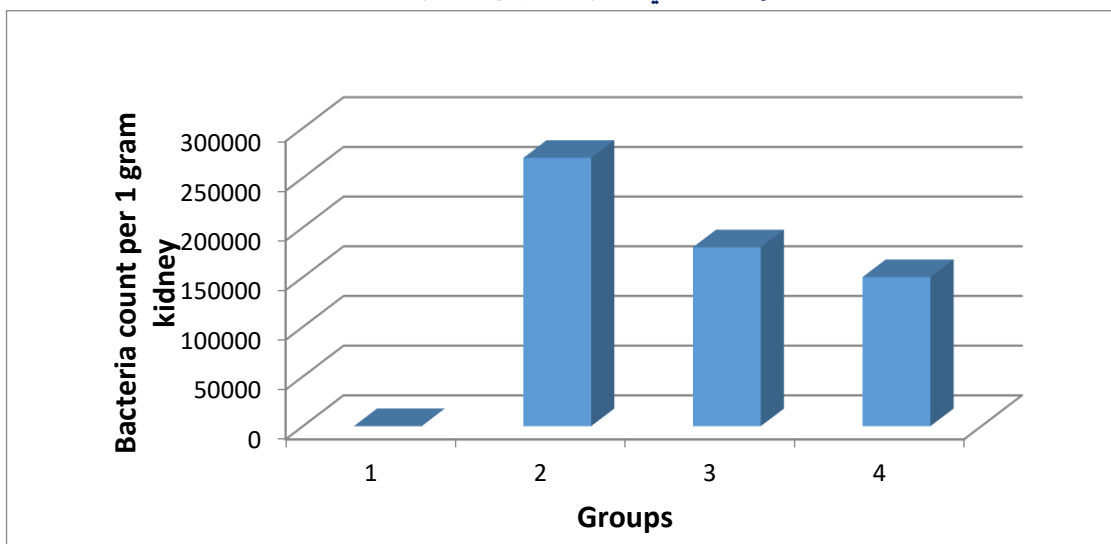
تم تخدير الحيوانات المختبرية باستخدام مادة الايثر ثم تشريحها ، وتم الاحتفاظ بالكلية اليسرى والمثانة للفحص النسجي بينما تم عدّ البكتريا الموجودة في الكلية اليمنى وذلك بعد ان تم مجانسها وطحنها مع 1 سم³ من دارئ الفوسفات الملحي واخذ 1 سم³ من المتجانس واجراء تخفيف عشرية متسلسلة شملت 10⁻¹ – 10⁻⁴ وزرع 1 سم³ من كل تخفيف في وسط اكار المانيتول الملح وبواقع ثلاث مكررات لكل تخفيف وحضنت الاطباق في 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة. تم بعدها حساب عدد المستعمرات النامية في كل طبق وضرب العدد في مقلوب التخفيف للحصول على عدد البكتريا لكل 1 غم من الكلية. تم تثبيت الكلى اليسرى في الفورمالين 10% ثم اجريت الخطوات المتبعة في التحضيرات النسجية من ترويق ثم طمر في البارافين. . تم تقطيع العينات باستخدام جهاز المايكروتوم ثم صبغت بالهيماتوكسلين والايوسين وذلك لتهيئتها للفحص النسجي باستخدام المجهر الضوئي (Bancroft, 1975).

النتائج والمناقشة

(1) نتائج اختبار تأثير المادة النانوية في خمج الكلية التجريبي المتسبب عن عزلة بكتيريا S. haemolyticus في الجرذان المهق:

من خلال الشكل (1) نلاحظ أنه بعد حقن الجرذان المختبرية بـ 50 مايكروليتر من المعلق البكتيري بتركيز 1.2×10⁸ CFU/سم³ وعند سحق الكلى اليمنى كان العد البكتيري 27.3×10⁴ خلية بكتيرية/غم- كلية. لكن عند المعالجة لمدة خمسة أيام بواقع مرتين في اليوم بدقائق الفضة النانوية انخفض العدد البكتيري إلى 17.6×10⁴ خلية/غم- كلية أي بنسبة تخفيض 35% مقارنة ايضا بالمضاد الحيوي الريفادين (عينة السيطرة الموجبة) اذ لوحظ قلة العدد البكتيري الى 15.3×10⁴ خلية /غم كلية أي بنسبة تخفيض بلغت 43.9 %.

تأثير الدقائق النانوية للفضة في خمج الكلية التجريبي المتسبب عن بكتريا *Staphylococcus haemolyticus* في الجرذان المهيء-البحوث المحكمة



الشكل (1) تأثير المواد النانوية في خمج الكلية التجريبي المتسبب عن عزلة *Staphylococcus haemolyticus* في الجرذان المهيء. 1- السيطرة , 2- السيطرة السالبة (مخمجة بكتيريا فقط) 3- الفضة النانوي , 4- : السيطرة الموجبة (مخمجة بكتيريا ومعاملة بالمضاد الحيوي) مؤشرات ونتائج فحص وظائف الكلية بعد المعالجة بدقائق الفضة النانوية :
 يبين الجدول (2) ارتفاعاً معنوياً للكرياتينين من 0.26 إلى 0.34 ملغم/ديسلتر وارتفاعاً بمستوى أنزيم الفوسفاتيز القاعدي من 244.0 إلى 255.3 وحدة/لتر وانخفاض مستوى أنزيم الفوسفاتيز الحامضي من 496 إلى 277 وحدة/أنزيم وانخفاضاً معنوياً لليوريا من 37.833 إلى 37.66 ملغم/ديسلتر في الجرذان المعاملة بدقائق الفضة النانوية بتركيز 5 ملغم/كغم وبنفس الفترة المحددة. اتفقت نتائج هذه الدراسة مع ما لاحظته (Bahrami et al., 2015) من خلال تجربته ايضاً ارتفاعاً معنوياً في مستوى الكرياتينين عند استخدام دقائق الفضة النانوية بجرعة 5 ملغم/كغم للفئران لمدة 15 يوماً.

الجدول (2) يوضح الوصف الإحصائي لمؤشرات وظائف الكلية لعينات الدراسة وكما يأتي:

المعاملات	G1			G2			G3			G4		
	المعدل	الخطأ القياسي	معامل التغير	المعدل	الخطأ القياسي	معامل التغير	المعدل	الخطأ القياسي	معامل التغير	المعدل	الخطأ القياسي	معامل التغير
اليوريا/ ملغم/ديسلتر	37.83	0.307	a	48.433	1.958	b	37.66	0.918	a	41.37	2.301	a
الكرياتينين ملغم/ديسلتر	0.260	0.003	ab	0.2633	0.054	ab	0.34	0.013	bc	0.253	0.023	a
انزيم الفوسفات القاعدي وحدة/لتر	244	21.3	a	325.0	35.97	b	255.3	6.57	ab	286.67	43.7	ab
انزيم الفوسفات الحامض وحدة/لتر	496	47.6	c	398.3	54.2	bc	227.0	53.8	a	177.8	52.13	a

اليوريا/ ملغم/ ديسليلتر	37.83	0.307	a	48.433	1.958	b	37.66	0.918	a	41.37	2.301	a
----------------------------	-------	-------	---	--------	-------	---	-------	-------	---	-------	-------	---

G1: السيطرة (بدون معاملة)

G2: السيطرة السالبة (مخمجة بكتيريا فقط)

G3: الفضّة النانوية

G4: السيطرة الموجبة (مخمجة بكتيريا ومعاملة بالمضاد الحيوي)

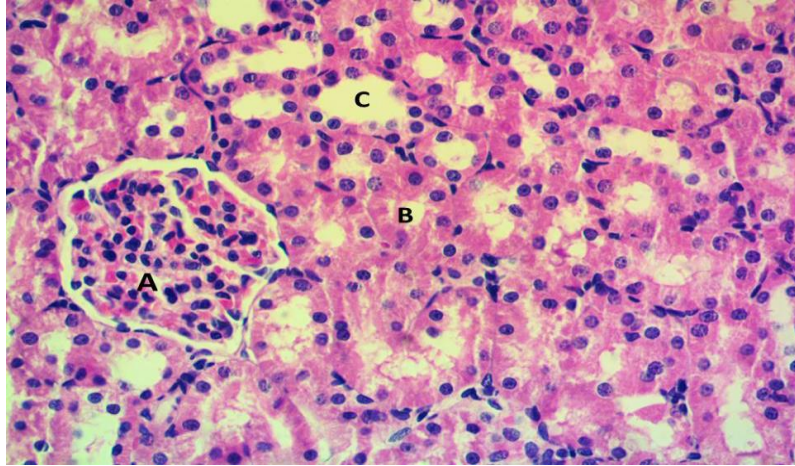
وبين Al-Rubaei وجماعته (2015) أن سبب انخفاض مستوى أنزيم الفوسفاتيز الحامضي هو أن الدقائق النانوية الذهب والفضة تعمل على تثبيط نشاط الفوسفاتيز الحامضي في الأشخاص الأصحاء وأعلى تثبيط يكون عند استخدام تركيز 10 ملغم/كغم. كذلك تعتبر المعادن الثقيلة سامة وتتفاعل مع البروتينات إذ ترتبط بالمجموعات الفعالة للبروتين مثل مجموعة الثايول الموجودة في الإنزيمات الحيوية وتعطل عملها (Chudasama et al., 2010). وهناك دراسات أخرى أشارت إلى أن دقائق الفضّة النانوية ترتبط بالمجموعة الوظيفية من البروتينات فتؤدي إلى تعطيل عملها. (Raffi et al., 2008; Elechiguerra et al., 2005)

(3) نتائج فحص وظائف الكلية بعد المعالجة بالمضاد الحيوي الريفادين

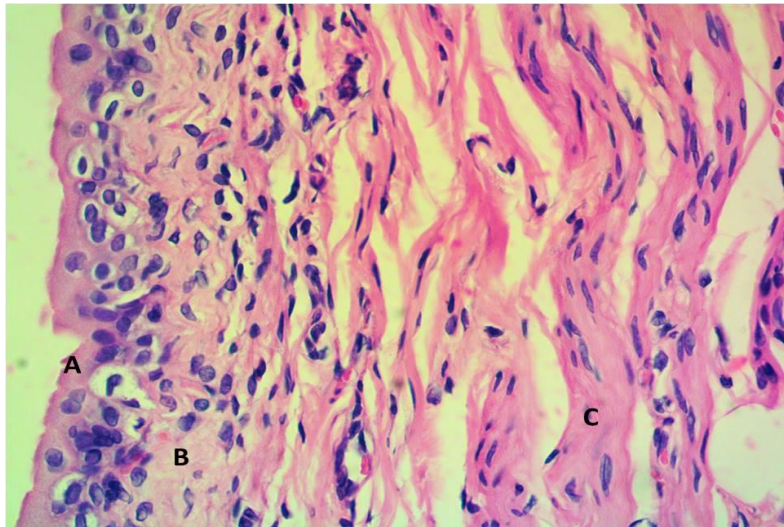
يبين الجدول (2) أن المعالجة بالمضاد الحيوي الريفادين بتركيز 5 ملغم/كغم مرتين يوميا لمدة خمسة أيام للجردان في علاج خمج الكلية التجريبي المحدث في الجردان سببت انخفاضا معنويا في مستوى الكرياتينين من 0.2600 إلى 0.253 ملغم/ديسليلتر وأنزيم الفوسفاتيز الحامضي من 469.00 إلى 177.800 وحدة/لتر وارتفاعا معنويا في كل من اليوريا من 37.833 إلى 41.37 ملغم/ديسليلتر وأنزيم الفوسفاتيز القاعدي من 244.00 إلى 286 وحدة/إنزيم. اتفقت نتائج الدراسة الحالية والمتعلقة بارتفاع أنزيم اليوريا مع ما وجدته (Peters et al., 2013) اللذين سجلوا ارتفاعا في مستوى اليوريا عند استخدام المضاد الحيوي الريفادين بتركيز 4.5 ملغم/كغم للجردان فمويا لمدة 20 يوما. كما هو معلوم، فإن المضادات الحيوية تعمل على منع نمو البكتيريا وقتلها عن طريق تثبيط بناء جدار الخلية البكتيرية أو بناء البروتين، أو تثبيط تضاعف ال DNA وهذه كلها تعرقل نمو البكتيريا (Shehabi et al., 2004). كما ويعتبر الريفادين مضاداً عاماً للجراثيم، ويستخدم لعلاج إصابات بكتيريا المكورات العنقودية (Shetty et al., 2020).

وبين الباحث Geo وجماعته (2010) أن الريفادين يثبط نمو البكتيريا من خلال الارتباط بالحامض النووي الرايبوزي RNA في الخلايا بدائية النواة. كما وضح Haddad و Winchester 1983 أن السمية الكلوية للريفادين مرتبطة بتفاعل فرط الحساسية وعادة تحدث عند المرضى الذين يتناولون الدواء بصورة متقطعة ويعمل على حدوث خلل في امتصاص خلايا الكبد مما يؤدي إلى حدوث ركود صفراوي في قنوات الكبد.

بينت نتائج الفحص النسيجي للكلية والمثانة كما في الشكلين (2) و (3) عدم وجود تغيرات في التركيب النسيجي لأجزاء الكلى والمثانة والبنية الطبيعية للأنسجة الكلوية التي تتميز بالكبيبات والأنابيب الكلوية الدانية والقاصية والبنية الطبيعية للمثانة تظهر الطبقة المخاطية mucosa والطبقة تحت المخاطية submucosa والطبقة العضلية muscular layer.



شكل (2) صورة مجهرية لكلى جرذ مجموعة السيطرة تظهر البنية الطبيعية للأنسجة الكلوية التي تتميز بالكبيبات (A) والأنابيب الكلوية الدانية (B) والأنابيب الكلوية القاصية (C) عند قوة تكبير 400X باستخدام صبغتي H&E

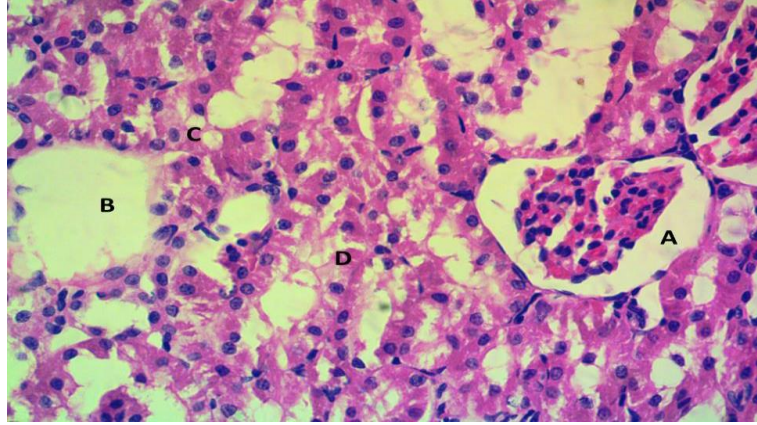


شكل (3) صورة مجهرية لمثانة جرذ مجموعة السيطرة تظهر الطبقة المخاطية (A) والطبقة تحت المخاطية (B) والطبقة العضلية (C) عند قوة تكبير 400X باستخدام صبغتي (H&E).

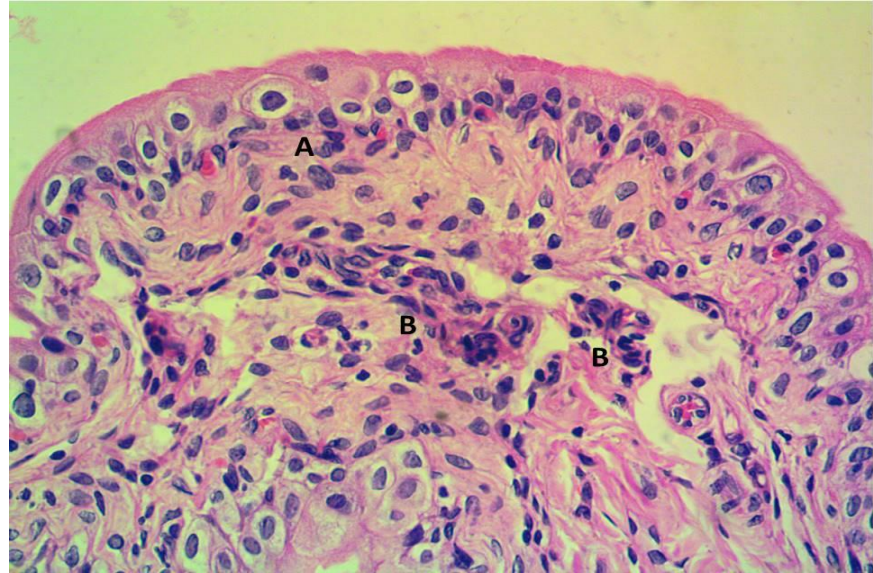
التأثير النسيجي في مجموعة السيطرة السالبة

ان حقن الحيوانات بالطريقة الصاعدة ببكتريا *S. haemolyticus* لمدة سبعة أيام فقط ادى الى حدوث تغيرات نسيجية في كل من الأعضاء الكلى والمثانة. إذ حدث ضمور الكبيبات وتمدد محفظة

بومان وتنخر النيبات الكلوية المبطنة لظاهرة وارتشاح الخلايا اللمفية أحادية النواة (الشكل 4). اتفقت هذه النتائج مع الدراسة التي اجراها حمادي (2017) اذ وجد عدة تغيرات نسيجية بعد خمسة أيام من الحقن بـ *Staphalococcus xylosus* بتركيز 10^8 خلية مكونة للمستعمرة /سم³. إذ لوحظ وجود تنخر Necrosis في الخلايا المبطنة للكبيبات الكلوية ونزف شديد واحتقان دموي Congestion في الأوعية الدموية الشعرية في داخل النسيج الكلوي مع انكماش في الكبيبة الكلوية. أما في نسيج المثانة فقد ظهر تضخم الغشاء المخاطي والتهاب الغشاء تحت المخاطي ونخر الألياف العضلية (الشكل 5).



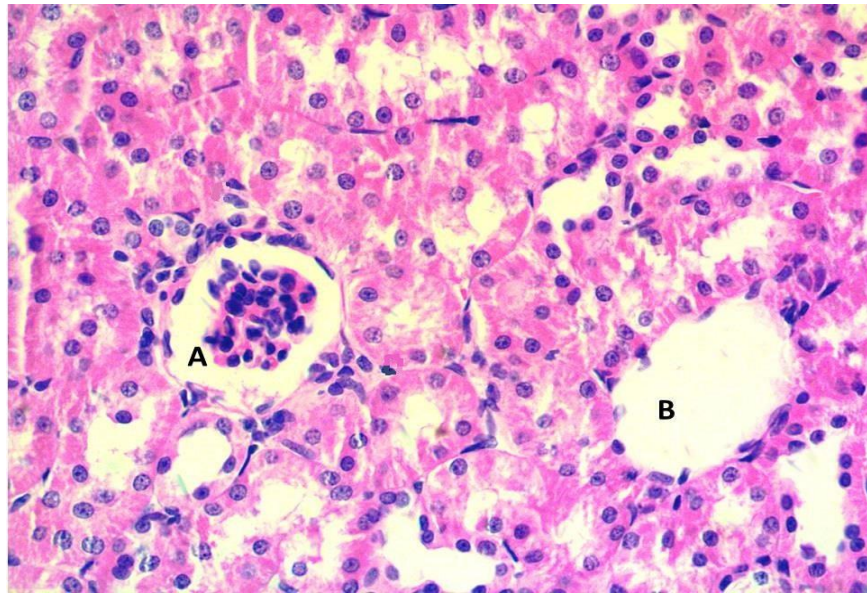
شكل (4) صورة مجهرية لكلى جرذ مجموعة السيطرة السالبة المخمجة بكتيرياً، تظهر ضمور الكبيبات توسع محفظة بومان (A) وتكوين الكيس الكلوي (B) والتنكس (C) وتنخر النيبات (D) عند قوة تكبير 400X باستخدام صبغتي (H&E)



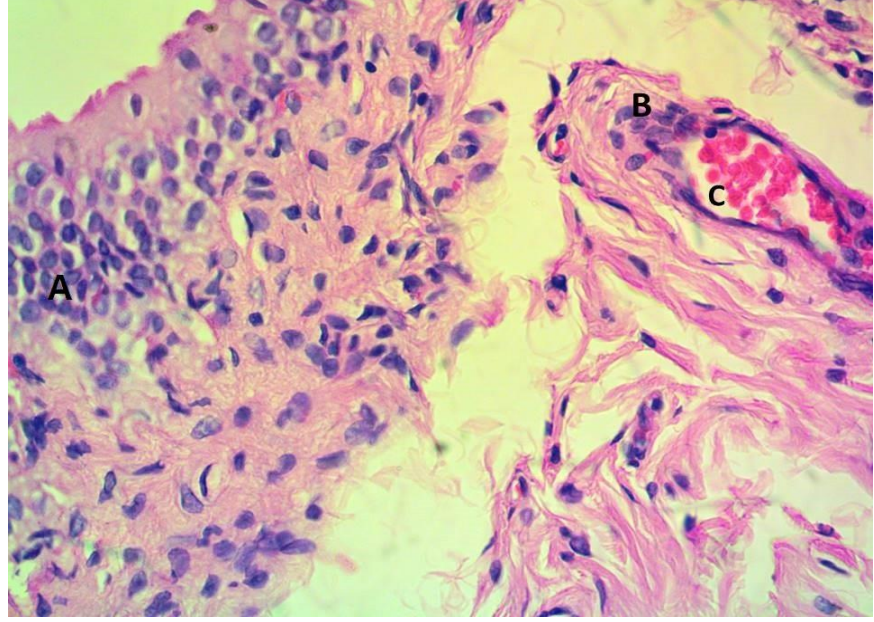
شكل (5) صورة مجهرية لمثانة جرذ مجموعة السيطرة السالبة المخمجة بكتيرياً، تظهر تضخم الغشاء المخاطي (A) والتهاب في الغشاء تحت المخاطي (B) عند قوة تكبير 400X باستخدام صبغتي (H&E).

واوضح الباحثون (Roelofs *et al.*, 2006; Tawfiq, 2007) أن الديدانات البكتيرية تغير مستوى الايونات في الدم والنسج مما ينتج حالة نقص الأوكسجين الوارد إلى الخلية ، وحصول تنخر النسج وهذا يؤدي إلى تحفيز إفراز وسائط كيميائية وجذب الخلايا الالتهابية المتمثلة باللمفية والبلعمية مما يسبب التهاب الكلية وحدوث تغيرات إمراضية للخلايا الالتهابية ووجود حالة النزف تشير إلى وجود تغيرات في النسيج من خلال زيادة النفوذية.

لتأثير النسيجي في المجموعة المخمجة بكتيريا والمعاملة بدقائق الفضة النانوية أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود تغيرات نسيجية في الكلى والمثانة. إذ لوحظ ضموراً خفيفاً في الكبيبات الكلوية وتوسع محفظة بومان (كما في الشكل 6). أما في نسيج المثانة فقد حدث تضخم الغشاء المخاطي والتهاب الغشاء التحت المخاطي وأحتقان الأوعية الدموية (كما في الشكل 7).



شكل (6) صورة مجهرية لكلية جرد مخمجة بكتيريا والمعاملة بالفضة النانوية لمدة خمسة أيام تظهر ضموراً خفيفاً في الكبيبات الكلوية وتوسع محفظة بومان (A) وتكوين الكيس الكلوي (B) عند قوة تكبير X400 باستخدام صبغتي (H&E)



شكل (7) صورة مجهرية لمثانة جرد مخمجة بكتيريا والمعاملة بالفضة النانوية لمدة خمسة أيام تظهر تضخم الغشاء المخاطي (A)، والتهاب الغشاء تحت المخاطي (B) واحتقان الأوعية الدموية (C) عند قوة تكبير 400X باستخدام صبغتي (H&E)

وهذا كله يتفق مع ما وجدته Sayyd (2021) من حدوث انسلاخ للخلايا الظهارية للأنايب الكلوية مع وذمة الكبيبات الكلوية عند استخدام دقائق الفضة النانوية بتركيز 5ملغم/كغم. وبينت دراسة Sardari وجماعته (2012) أن تجريع الفئران فمويًا بدقائق الفضة النانوية بمقدار 1 و2 ملغم/كغم من وزن الجسم لمدة 30 يوما أدت إلى حدوث آفات في نسيج الكلية والكبد والطحال وظهور النخر الخلوي وزيادة موت الخلايا المبرمج apoptosis والنزف الدموي مع ارتشاح الخلايا الالتهابية.

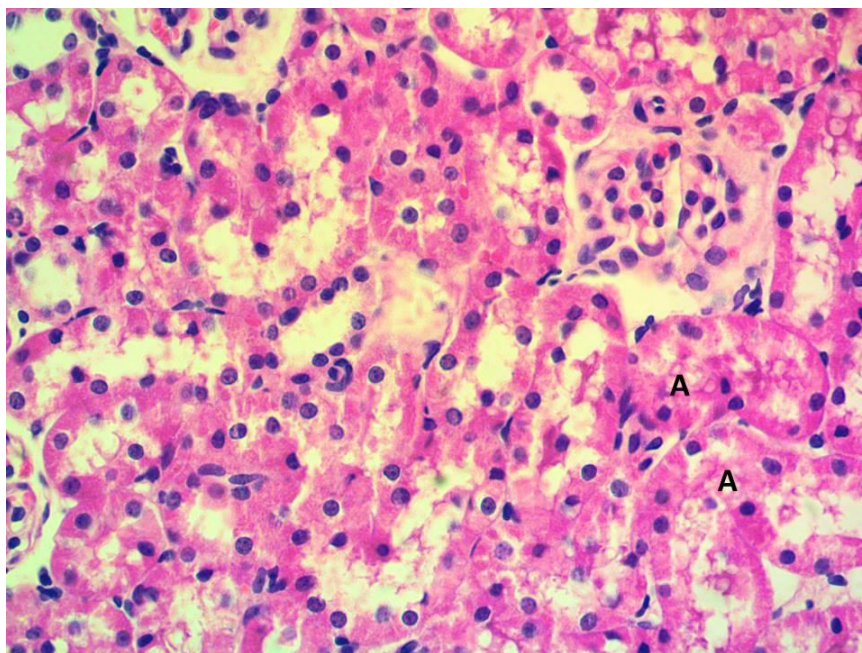
وأوضح Park وجماعته (2010) أن دقائق الفضة النانوية الصغيرة الحجم أكثر فعالية في أحداث الاستجابة السمية والالتهابية عند تجريع الحيوانات المختبرية بها بصورة متكررة.

التأثير النسيجي في الجرذان المخمجة بكتيريا والمعاملة بالمضاد الحيوي الريفادين أظهر الفحص المجهرى حدوث تغيرات نسيجية في كلا العضوين (الكلى والمثانة) كما مبين في الشكلين (8) و(9) على التوالي. إذ ظهر تورم في بطانة الخلايا الظهارية للنيبيبات الكلوية اما في المثانة فظهر احتقان الأوعية الدموية.

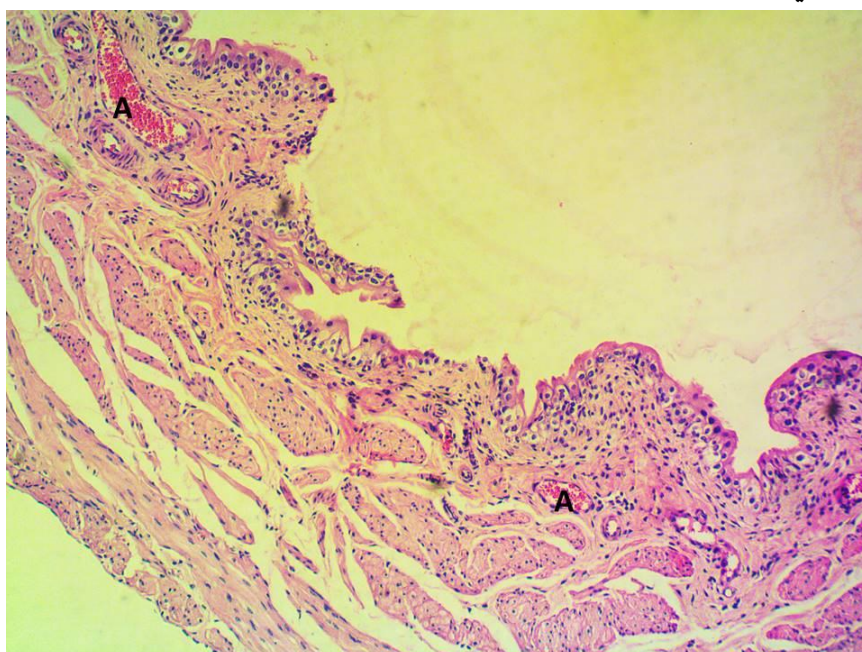
وأظهرت دراسة Kohno وجماعته (2000) أن التهاب الكبيبات يحصل بعد اليوم السادس عشر من العلاج بالريفادين. وأوضح Haddad (1983) أن علامات السمية الكلوية للريفادين تظهر بشكل متقطع عند المرضى الذين يستأنفون الدواء بعد فترة طويلة.

وأشار Shetty وجماعته (2020) أن السمية الكلوية للريفادين مرتبطة بتفاعل فرط الحساسية حيث تشكل الاجسام المضادة للريفادين معقدات مناعية تترسب في الأوعية الدموية والبطانة

تأثير الدقائق النانوية للفضة في خمج الكلية التجريبي المتسبب عن بكتريا *Staphylococcus haemolyticus* في الجرذان الملقح-البحوث المحكمة
الكبيبية. كما أوضح Shabana وجماعته (2012) حدوث تنكس في الكبيبات الكلوية عند استخدام الريفادين كعلاج.



شكل (8) صورة مجهرية لكلية جرذ مخمجة بكتيريا ومعاملة بالمضاد الحيوي لمدة خمسة أيام تظهر تورماً في بطانة الخلايا الظهارية للنبيبات الكلوية وتنكساً عند قوة تكبير X400 باستخدام صبغتي (H&E).



شكل (9) صورة مجهرية لمثانة جرذ مخمجة بكتيريا ومعاملة بالمضاد الحيوي لمدة خمسة أيام تظهر احتقان الأوعية الدموية عند قوة تكبير 100X باستخدام صبغتي (H&E).
المصادر :

المصادر العربية :

حمادي، علي حسون، (2017)، "دراسة التأثيرات المرضية النسيجية لبكتريا Staphylococcus xylosus في الفئران، مجلة جامعة الأنبار للعلوم الصرفة، المجلد 11، العدد 2، ص ص: 5-11.

العكيدي، وعد صبري شاهر، (2002)، "تأثير ثمار شجرة السبحيح Melia azedarach L. في بعض الأنسجة والخصوبة في الجرذان Rattus norvegicus"، أطروحة دكتوراه في علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

المصادر الاجنبية

AL-Rubaei, E. A., Ali, A. K., Salman, A. A., & Salman, Z. A. (2015). Inhibition effect of noble metals nanoparticles on acid Phosphate activity in sera of healthy subject. Eng. & Tech. Journal, B, 33(1), 1-11.

Bahrami, A. M., Hosseini, E., & Shaddel, M. (2015). Effects of Silver Nanoparticles on the Serum Parameters in Mice. Annals of Military & Health Sciences Research • Vol, 13(4).

Bancroft, J. D., & Stevens, A. (1975). Histopathological stains and their diagnostic uses. Churchill Livingstone. Edinburgh-London-New York, 77.

Bartels, H., & Bohmer, M. (1971). Creatinine standard and measurement of serum creatinine with picric acid. Clin. Chem. Acta, 32, 81-85.

Chudasama, B., Vala, A. K., Andhariya, N., Mehta, R. V., & Upadhyay, R. V. (2010). Highly bacterial resistant silver nanoparticles: synthesis and antibacterial

Chun-Hao T. and Chun-Yung C., (2007), "Growth of Ag nanoparticles using plasma-modified multi-walled carbon nanotubes, nanotechnology; 19: (3) 477-486.

Elechiguerra, J. L., Burt, J. L., Morones, J. R., Camacho-Bragado, A., Gao, X., Lara, H. H., & Yacaman, M. J. (2005). Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. Journal of nanobiotechnology, 3(1), 1-10.

Enitan, S. S., Digban, K. A., Olley, M., Otuneme, O. G., Faloye, T. G., & Adediji, I. O. (2016). Curative and nephrotoxic potential of methanolic leaf extract of Plukenetia conophora Mull arg. in rats challenged with Pseudomonas aeruginosa urinary tract infection. International Journal of Herbal Medicine, 4(4), 49-58.

Farid, A., Naz, I., Ashraf, A., Ali, A., Rehman, A. U., Sarwar, Y., & Haque, A. (2015). Molecular detection of antimicrobial resistance in local isolates of Staphylococcus

epidermidis from urinary tract infections in Faisalabad region of Pakistan. EXCLI journal, 14, 697.

Fredheim, E. G. A., Klingenberg, C., Rohde, H., Frankenberger, S., Gaustad, P., Flægstad, T., & Sollid, J. E. (2009). Biofilm formation by *Staphylococcus haemolyticus*. Journal of Clinical Microbiology, 47(4), 1172-1180.

Geo F. B., Karen C. C., Butel J. S., Morse S. A. and Timothy A. M., (2010), "Melnick and Alderberg's Medical Microbiology: McGrawhill"

Guzman, M., Dille, J., & Godet, S. (2012). Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. Nanomed Nanotechnol Biol Med 8 (1): 37–45.

Haddad L. and Winchester J., (1983), "Clinical Management of poisoning and drug overdose", WB Saunders Co.

Hagberg, L., Engberg, I., Freter, R., Lam, J., Olling, S., & Svanborg Eden, C. (1983). Ascending, unobstructed urinary tract infection in mice caused by pyelonephritogenic *Escherichia coli* of human origin. Infection and immunity, 40(1), 273-283.

Hvidberg, H., Struve, C., Krogfelt, K. A., Christensen, N., Rasmussen, S. N., & Frimodt-Møller, N. (2000). Development of a long-term ascending urinary tract infection mouse model for antibiotic treatment studies. Antimicrobial agents and chemotherapy, 44(1), 156-163.

Kohno, K., Mizuta, Y., Yoshida, T., Watanabe, H., Nishida, H., Fukami, K., & Okuda, S. (2000). Minimal change nephrotic syndrome associated with rifampicin treatment. Nephrology Dialysis Transplantation, 15(7), 1056-1059.

Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., Zaidi, A. K., Wertheim, H. F., Sumpradit, N., & Cars, O. (2013). Antibiotic resistance—the need for global solutions. The Lancet infectious diseases, 13(12), 1057-1098.

Li, J., Nation, R. L., Milne, R. W., Turnidge, J. D., & Coulthard, K. (2005). Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram-negative bacteria. International journal of antimicrobial agents, 25(1), 11-25.

Naidu, K. S. B., Adam, J. K., & Govender, P. (2015). Biomedical applications and toxicity of nanosilver: a review. Medical technology SA, 29(2), 13-19.

- Nimmo G., Coombs G., (2008), "The Australian Society for Microbiolog Inc.", 29(3): 6-10.
- Park, E. J., Yi, J., Kim, Y., Choi, K., & Park, K. (2010). Silver nanoparticles induce cytotoxicity by a Trojan-horse type mechanism. *Toxicology in vitro*, 24(3), 872-878
- Peters, D. E., & Chike, A. O. (2013). Effect of rifampicin on the kidney of albino rats. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 17(1), 125-131
- Raffi, M., Hussain, F., Bhatti, T. M., Akhter, J. I., Hameed, A., & Hasan, M. M. (2008). Antibacterial characterization of silver nanoparticles against *E. coli* ATCC-15224. *Journal of materials science and technology*, 24(2), 192-196..
- Roelofs, J. J., Rouschop, K. M., Leemans, J. C., Claessen, N., de Boer, A. M., Frederiks, W. M., ... & Florquin, S. (2006). Tissue-type plasminogen activator modulates inflammatory responses and renal function in ischemia reperfusion injury. *Journal of the American society of nephrology*, 17(1), 131-140.
- Sardari, R. R. R., Zarchi, S. R., Talebi, A., Nasri, S., Imani, S., Khoradmehr, A., & Sheshde, S. A. R. (2012). Toxicological effects of silver nanoparticles in rats. *African Journal of Microbiology Research*, 6(27), 5587-5593.
- Sayyid N. H., (2021), "Effects of Silver Nanoparticles Used in Treatment Against Infection with *Klebsiella pneumoniae* Isolated from Human and Animals", M.SC. Thesis, department of Public Health/Zoonotic Disease, College of Veterinary Medicine, University of Baghdad, Iraq.
- Shabana, M. B., Ibrahim, H. M., Khadre, S. E., & Elemam, M. G. (2012). Influence of rifampicin and tetracycline administration on some biochemical and histological parameters in albino rats. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 65(5), 299-308.
- Shehabi, A. A., Mahafzah, A. M., & Al Khalili, K. Z. (2004). Antimicrobial resistance and plasmid profiles of urinary *Escherichia coli* isolates from Jordanian patients. *EMHJ- Eastern Mediterranean Health Journal*, 10 (3), 322-328, 2004.
- Shetty, M.S., ChetanC, S., Prasad, S., KiranK, K., Manoj, C., Shastry, V., Pss, R., Suchitha, S., & Vani, K. (2020). Rifampicin Induced Pigment Nephropathy-A Rare Case Report.
- Tan, Y., Li, S., Pitt, B. R., & Huang, L. (1999). The inhibitory role of CpG immunostimulatory motifs in cationic lipid vector-mediated transgene expression in vivo. *Human gene therapy*, 10(13), 2153-2161.

تأثير الدقائق النانوية للفضة في خمج الكلية التجريبي المتسبب عن بكتريا *Staphylococcus*

haemolyticus في الجرذان المهيأ-البحوث المحكمة

Tawfiq H. K., (2007) "comparative Pathogenicity of peptidoglycan extracted from *Staphylococcus xylosum* and Standard Lipopolysaccharide Extract from *E. coli*" M.Sc. thesis, College of Science, University of Baghdad, Baghdad, Iraq.