

مقایسه اثرات ونکومایسین و انروفلوکساسین بر روی نسبت هتروفیل/لنفوسیت، تغییرات توکسیک هتروفیل‌ها و شمارش کلنی‌ها در استئومیلیت ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در خرگوش

علی تقی‌پور^۱، سیامک مشهدی‌رفیعی^{۱*}، محمد نصراله زاده‌ماسوله^۱

مقدمه

استئومیلیت یا التهاب استخوان از بیماری‌های مهم و حتی تهدید کننده زندگی در دامپزشکی و پزشکی است. بسته به دلیل اولیه ایجاد کننده، استئومیلیت به چند دسته تقسیم می‌شود. استئومیلیت می‌تواند به دلیل جایگزینی عامل عفونی پس از سپتی سمی، تروما و شکستگی‌ها، متعاقب عفونت بافت نرم همجوار استخوان و یا به دنبال عوارض ناشی از جراحی‌های ارتوپدی حادث شود (۸).

اغلب موارد استئومیلیت جنبه عفونی دارند و در بیماران دارای ضعف سیستم ایمنی شایع ترند. اگرچه که بافت استخوان ایمنی مناسبی نسبت به عوامل عفونی دارد ولی عواملی چون ضعف سیستم ایمنی، التهاب و کاهش خون‌رسانی مناسب به ناحیه درگیر و وجود اجسام خارجی زمینه را برای بروز بیماری فراهم می‌کنند (۲۴ و ۳۰، ۳۱).

از عوامل عفونی موثر در ایجاد بیماری می‌توان به انواع باکتری‌ها، قارچ‌ها، تک یاخته‌ها و حتی ویروس‌ها اشاره نمود ولی در این بین، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) عهده‌دار اکثر موارد استئومیلیت باکتریایی در پزشکی و دامپزشکی است (۲۲ و ۲۰، ۱۷، ۷).

چکیده

استئومیلیت از شرایط مهم و تهدید کننده زندگی است که در پزشکی و دامپزشکی متعاقب جایگزینی عامل عفونی پس از عفونت با باکتری و یا ناشی از تروما، تورم بافت نرم و یا حتی اعمال جراحی ارتوپدی و بخصوص در افراد دچار ضعف سیستم ایمنی مشکل‌ساز است. از بین عوامل عفونی متعدد ایجاد کننده استئومیلیت، استافیلوکوکوس اورئوس‌های حساس و مقاوم به متی‌سیلین نقش مهمی دارند. از آنجایی که امروزه گونه‌های مقاوم به ونکومایسین از گوشه کنار جهان گزارش شده‌اند و ونکومایسین به عنوان درمان خط اول موارد استئومیلیت حاد ناشی از گونه‌های مقاوم به متی‌سیلین می‌باشد، تلاش برای جستجوی درمان جایگزین از دغدغه‌های محققان است.

در این مطالعه ۱۸ سر، خرگوش سفید نیوزلندی در سه گروه کنترل، ونکومایسین و انروفلوکساسین قرار گرفتند. خرگوش‌ها با ۱۰^۶ واحد تشکیل دهنده کلنی از باکتری در دیافیز استخوان تیبیا آلوده شده و پس از دوهفته متعاقب اطمینان از ایجاد استئومیلیت حاد با توجه به رادیولوژی در سه گروه به شکل تصادفی تقسیم شدند. قبل و بعد از ایجاد استئومیلیت پارامترهای التهابی، نسبت هتروفیل به لنفوسیت و تغییرات توکسیک هتروفیل‌ها اندازه‌گیری شد. پس از دوهفته درمان در گروه‌های درمانی، دوهفته نیز به عنوان استراحت در نظر گرفته شده و خرگوش‌ها با تجویز مقادیر بالای داروی بیهوشی آسان‌کنشی و استخوان جهت بررسی میکروبیولوژی و شمارش کلنی ارسال شد. پس از تجزیه و تحلیل آماری تفاوت بین گروه کنترل و ونکومایسین و گروه کنترل و انروفلوکساسین در پارامترهای مورد مطالعه معنی دار بوده ($P < 0/05$) و در عوض تفاوت بین گروه ونکومایسین و انروفلوکساسین معنی دار نبود ($P > 0/05$).

به نظر می‌رسد انروفلوکساسین می‌تواند جایگزین مناسبی برای ونکومایسین در استئومیلیت حاد ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین می‌باشد.

واژگان کلیدی: استئومیلیت تجربی، استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین، ونکومایسین، انروفلوکساسین، نسبت هتروفیل به لنفوسیت.

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۰

* گروه بیماری‌های داخلی دامهای کوچک و رادیولوژی دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران smrafie@srbiau.ac.ir

باکتری است. باکتری از استافیلوکوکوس های کوآگولاز مثبت بوده که این مشخصه در حدت و بیماریزایی آن اثر دارد (۹ و ۱۳). ونکومایسین از آنتی بیوتیک های گلیکوپپتیدی موثر بر باکتری های گرم مثبت است که با مهار سنتز دیواره سلولی باکتری و افزایش نفوذپذیری غشاء باکتری باعث مرگ آن می شود. سالیانی است که ونکومایسین به عنوان داروی خط اول درمان استئومیلیت ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین استفاده می شود و اشکال تزریقی و گرانونول های موضعی داخل بافتی آن به شکل وسیعی نیاز بیماران مبتلا را برطرف می کنند (۱۲ و ۱۸).

ونکومایسین از ترکیبات آنتی بیوتیکی است که دارای عوارض سمی کلیوی و شنوایی است و همانطور که اشاره کردید در استئومیلیت های ناشی از MRSA نیاز به درمان طولانی مدت و با میزان زیادی از دارو وجود دارد که بر احتمال وقوع عوارض می افزاید. از طرف دیگر در سال های اخیر چیزی که محققین را نگران کرده شناسایی سویه مقاوم به ونکومایسین استافیلوکوکوس اورئوس (VRSA) است. بنابراین تمرکز بسیاری از مجامع علمی بر پیدا کردن جایگزینی مناسب برای ونکومایسین در درمان استئومیلیت ناشی از MRSA قرار گرفته است (۱۲ و ۱۸).

در عین حال به دلیل محدود بودن طیف اثر بر روی باکتری های گرم مثبت در عفونت های چندعاملی و همینطور در حیواناتی مثل جوندگان و خرگوش ها که از روند تخمیری توسط باکتری های ساکن دستگاه گوارش جهت هضم استفاده می کنند به تنهایی داروی مناسبی به نظر نمی رسد (۶).

انروفلوکساسین از آنتی بیوتیک های فلوروکینولونی است که با مهار آنزیم DNA-gyrase اثرات باکتریسیدال خود را روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی اعمال می کند. این آنتی بیوتیک به شکل مورد قبولی در دامپزشکی پذیرفته شده است. در تمام بدن قدرت انتشار مناسبی داشته و دفع کلیوی و غیر کلیوی دارد. بنابراین در بیماران مبتلا به نارسایی کلیوی با نگرانی کمتری استفاده می شود (۱۸).

در شرایط حاد بیماری به علت واکنش سریع التهابی و آغاز نشدن تخریب ساختار استخوان کنترل بیماری بسیار آسان تر صورت می گیرد، متعاقب گذشت زمان در موارد درمان نشده و یا تحت درمان ناقص قرار گرفته شده، روند مزمن بیماری آغاز می شود (۲۵).

در روند مزمن به دلیل تخریب بافت استخوان، ایجاد سکوئستروم و تولید استخوان جدید، گسترش ضایعه به قسمت های دیگر استخوان و مفصل مجاور و از همه مهمتر ایجاد بیوفیلم باکتریایی در محل و تولید بافت گرانوله از طرفی خونرسانی در ناحیه مبتلا کمتر شده و از طرف دیگر به غلظت بسیار بالایی از داروهای ضدباکتری جهت کنترل بیماری نیاز است (۲۵).

تجویز طولانی مدت مقادیر بالای آنتی بیوتیک ها برای ایجاد غلظت مناسب در بیوفیلم جهت از بین بردن سلول های سسیل، در عمل باعث بروز عوارض جانبی ناخواسته و تاثیر بر روی سیستم کلیوی و کبدی خواهد شد (۱).

از طرفی در روند مزمن بیماری به دلیل تولید بافت های استخوانی ناخواسته و نیاز به ترمیم شاید بهترین گزینه اعمال جراحی و کارگذاری واسطه های مصنوعی غنی شده با آنتی بیوتیک مثل گرانونول های پلی متیل متاکریلات حاوی ترکیبات ضد باکتری در موضع می باشد (۱۷).

بنابراین بهتر است در صورت مشکوک شدن به شروع استئومیلیت در شکستگی های باز و یا متعاقب اعمال ارتوپدی و یا تشخیص زودهنگام بیماری، اقدام فوری جهت کنترل آن با آنتی بیوتیک های مناسب صورت گیرد.

استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین یک کوکسی گرم مثبت بوده که به واسطه حضور دائم در محیط و حتی روی پوست، سطوح مخاطی و روده های باریک انسان و حیوانات می تواند از فرصت استفاده نموده و ایجاد شرایط بسیار وخیم نماید. مسئولیت بخشی مهمی از عفونت های بیمارستانی و زخم های عفونی ناشی از جنگ ها در سربازان به عهده این

در این مرحله میزان ۰/۱ میلی لیتر از محیط کشت تریپتیک سوی براث) Tryptic soy broth حاوی ۱۰^۶ واحد تشکیل دهنده کلنی (CFU) از MRSA سویه جدا شده از حیوانات در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران بوسیله سرسوزن فوق در استخوان وارد گردید و در ادامه مجدداً تزریق ۰/۱ میلی لیتر سالین جهت شستشوی سرسوزن و اطمینان از ورود کامل باکتریها به استخوان صورت پذیرفت.

پس از دو هفته زمان جهت ایجاد استئومیلیت در استخوان درشت نی خرگوشها در روز ۱۴، مورد تصویربرداری مجدد قرار گرفته و با مشاهده علائم رادیوگرافیک تورم بافت نرم و واکنش پریوست و همچنین وقوع لنگش و علائم بالینی دال بر ایجاد موفق استئومیلیت، ۱۸ عدد از خرگوشها جهت ادامه روند تحقیق انتخاب شده و به شکل تصادفی در سه گروه کنترل مثبت، ونکومايسين و انروفلوکساسين قرار گرفتند. از خرگوشها به روش قبل و دقیقاً در همان زمان از شبانه روز نمونه برداری خون صورت گرفت (میزان و درصد گلبولهای سفید در خرگوش در طول شبانه روز متفاوت است).

از روز ۱۴ تا روز ۲۸ به مدت دو هفته خرگوشهای گروه ونکومايسين هر ۱۲ ساعت ۳۰ mg/kg ونکومايسين و خرگوشهای گروه انروفلوکساسين هر ۱۲ ساعت mg/kg ۱۵ و خرگوشهای گروه کنترل هر ۱۲ ساعت ۰/۵ میلی لیتر سرم سالین دریافت نمودند.

در روز ۲۸ دارو درمانی قطع شده و از خرگوشها نمونه خون با شرایط ذکر شده اخذ و به آزمایشگاه هماتولوژی ارسال شد. به مدت دو هفته بعد نیز بدون درمان خرگوشها نگهداری شده و در روز ۴۲ نیز نمونه خون گرفته شده و خرگوشها با تزریق مقادیر بالای داروی بیهوشی آسان کشی شدند. تحت شرایط استریل استخوان درشت نی پای راست جدا شده و به آزمایشگاه میکروب شناسی جهت شمارش کلنی ارسال شد.

انروفلوکساسين وسیع الطیف بوده و در جوندگان و خرگوشها نیز به عنوان داروی انتخابی در عفونت‌های حساس مصرف می‌شود (۱۵).

در این مطالعه پیش رو، بررسی مقایسه ای ونکومايسين و انروفلوکساسين بر روی تغییرات شاخص های روند التهابی خرگوش که شامل افزایش نسبت هتروفیلها به لنفوسیتها و تغییرات توکسیک هتروفیلها می‌باشد در کنار کشت میکروبی بافت استخوان مبتلا و شمارش واحد های تشکیل دهنده کلنی پس از القاء استئومیلیت تجربی با MRSA انجام می‌گیرد.

مواد و روش کار

در این مطالعه از ۲۵ خرگوش سفید نیوزلندی که از انستیتو پاستور ایران با سن و جنس یکسان و با متوسط وزن ۲/۴۰۰ کیلوگرم تهیه گردید، استفاده شد. پس از یک هفته فرصت اقامت و عادت کردن به شرایط محیطی همه حیوانات مورد معاینه کامل بالینی قرار گرفته و سلامت آنها تایید گردید. در روز اول مطالعه که به عنوان مبدا زمانی و روز صفر محسوب می‌شود، از اندام های حرکتی خلفی رادیوگراف های نمای جانبی و قدامی خلفی تهیه شد تا از سلامت استخوانها اطمینان حاصل شود. همچنین نمونه برداری خون از ورید سفالیک به میزان ۰/۵ میلی لیتر در لوله محتوی EDTA به عنوان عامل ضدانعقاد جهت آزمون هماتولوژی اخذ گردید. در ادامه خرگوشها با ترکیبی از داروی کتامین به میزان ۳۵ mg/kg و زایلازین به میزان ۵ mg/kg از راه داخل عضلانی در پای چپ تحت بیهوشی قرار داده شدند. ناحیه اپی فیز بالایی استخوان درشت نی (Tibia) پای راست از دسترسی جانبی کاملاً تراشیده شده و به روش جراحی استریل گردید. در ادامه سرسوزن شماره ۱۸ از دسترسی جانبی وارد استخوان درشت نی شده و با ۰/۱ میلی لیتر سالین استریل داخل سرسوزن شستشو داده شد تا از باز بودن مسیر تزریق اطمینان حاصل شود.

تحلیل آماری

در بررسی آماری از نرم افزار SPSS ویرایش ۲۱ جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

در بررسی نسبت هتروفیل به لئوسیت (H:L Ratio) در روز صفر (روز القاء inoculation)، روز چهارده و روز بیست و هشت به دلیل عدم تابعیت داده‌ها از توزیع نرمال از آزمون کروسکال-والیس (Kruskal-Wallis) استفاده شد و در روز چهل و دو به دلیل نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (one way ANOVA) بهره بردیم و از آزمون تامهان (Tamhane) استفاده شد.

در روز چهل و دو از تحلیل واریانس یکطرفه و تست توکی post hoc Tukey جهت بررسی دو به دو استفاده شد. در تحلیل واریانس یکطرفه تفاوت نتایج بین سه گروه مطالعه به شدت معنادار بود ($P=0/001$).

در آنالیز آماری تغییرات توکسیک هتروفیل‌ها، تجزیه و تحلیل با آزمون مربع کای (χ^2) انجام شد.

جهت تحلیل آماری شمارش کلنی‌ها به دلیل عدم تبعیت از توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کروسکال-والیس استفاده و سپس جهت بررسی دو به دو از آزمون توکی بهره برده شد.

نتایج

نسبت هتروفیل به لئوسیت

در روز صفر و چهارده تفاوت معنی‌داری بین سه گروه مورد مطالعه مشاهده نشد ($P>0/05$) و در روز ۲۸ تفاوت به شدت معنی‌دار بود ($P=0/002$).

در روز بیست و هشتم نسبت هتروفیل به لئوسیت در گروه کنترل با گروه ونکومایسین تفاوت معنی‌دار ($P=0/045$)، بین گروه کنترل با انروفلوکساسین معنادار ($P=0/029$) و در عین

حال تفاوت گروه ونکومایسین با انروفلوکساسین معنی‌دار نبود ($P=0/995$) (نمودار ۱).

در روز چهل و دونیز تفاوت گروه کنترل با ونکومایسین معنی‌دار ($P=0/002$) گروه کنترل با انروفلوکساسین معنی‌دار ($P=0/005$) و بین گروه ونکومایسین و انروفلوکساسین معنی‌دار نبود ($P=0/995$) (نمودار ۱).

تغییرات سمی هتروفیل‌ها

در آنالیز آماری تغییرات توکسیک هتروفیل‌ها، تجزیه و تحلیل با آزمون مربع کای (χ^2) انجام شد. در روز صفر و چهارده تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف مشاهده نشد به ترتیب ($P=0/86$) ($P=0/64$).

در روز بیست و هشت تفاوت معنی‌داری بین سه گروه مشاهده شد ($P=0/016$). در بررسی دو به دو تفاوت بین گروه‌های مورد مطالعه، تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل با ونکومایسین ($P=0/027$) و گروه کنترل با انروفلوکساسین ($P=0/018$) مشاهده گردید ولی تفاوت بین گروه انروفلوکساسین و ونکومایسین معنی‌دار نبود ($P=0/558$). (جدول ۱)

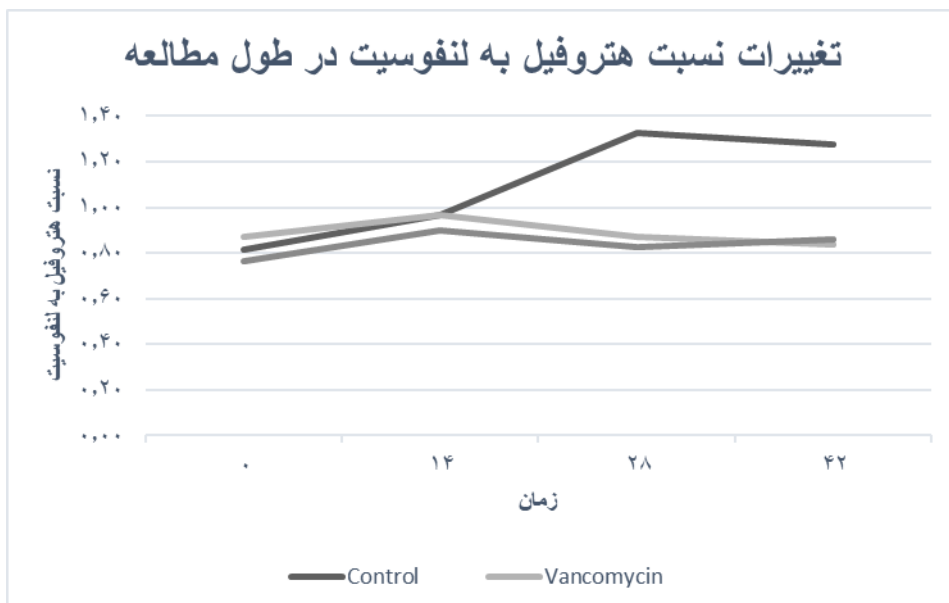
در روز چهل و دو نیز تفاوت در تغییرات سمی هتروفیل‌ها بین سه گروه مورد مطالعه معنادار نبود ($P=0/117$).

شمارش کلنی‌ها

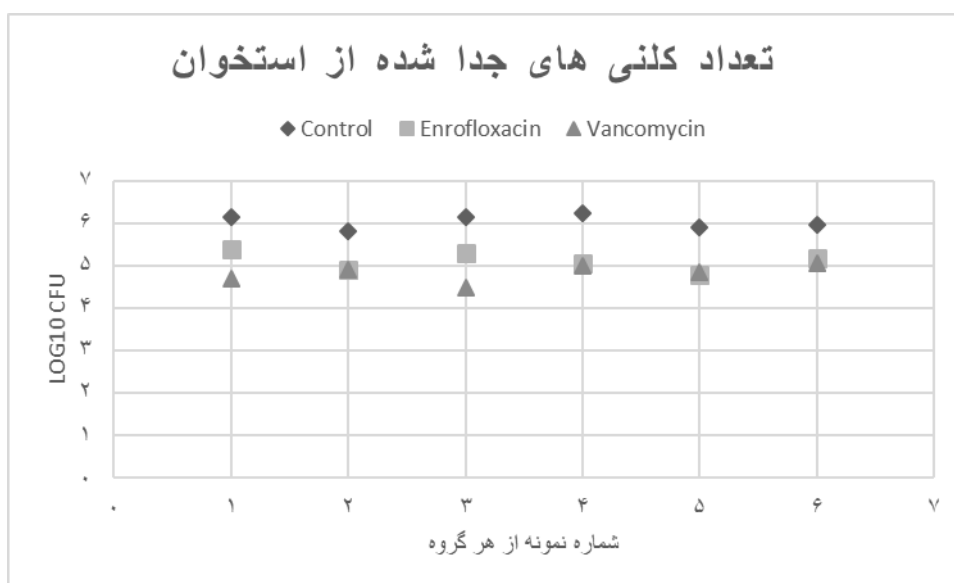
در تحلیل آماری انجام شده بر روی شمارش کلنی‌ها به دلیل عدم تبعیت از توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کروسکال-والیس (Kruskal-Wallis) استفاده شد که تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها

قابل ملاحظه بود ($P=0/002$). (نمودار ۲)

در بررسی دو به دو با آزمون توکی تفاوت بین گروه کنترل با ونکومایسین و گروه کنترل با انروفلوکساسین به شدت معنی‌دار بوده ($P=0$) و در عین حال تفاوت معنی‌داری بین گروه ونکومایسین با انروفلوکساسین مشاهده نشد ($P=0/476$).



نمودار ۱: تغییرات نسبت هتروفیل به لنفوسیت در طول مطالعه



نمودار ۲: تعداد کلنی‌های جدا شده از استخوان در هر نمونه گروه‌های مورد مطالعه

بحث

به نظر می‌رسد این اولین مطالعه انجام شده در مقایسه بین ونکومايسين به عنوان درمان خط اول استئومیلیت و انروفلوکساسين باشد که پارامترهای التهابی نسبت هتروفیل به لنفوسیت و تغییرات سمی هتروفیل‌ها (H:L ratio, Toxic changes) همزمان با شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلنی

جدول ۱- مقایسه تغییرات سمی هتروفیل‌ها در روز ۲۸

P-Value [#]	گروه ثانویه	گروه اولیه
۰/۰۲۷	ونکومايسين	کنترل
۰/۰۱۸	انروفلوکساسين	کنترل
۰/۵۵۸	انروفلوکساسين	ونکومايسين

در پژوهش پیش رو برای اولین مرتبه مقدار کمی تغییرات توکسیک هتروفیلها (toxic changes) مورد بررسی قرار گرفته است.

در مطالعه Odekerken در سال ۲۰۱۳ که از معدود مطالعات انجام شده بر روی تعداد لکوسیتها به همراه تفریق آنها می باشد در گروه کنترل مثبت تا هفته ششم هر هفته بعد از القاء کاهش معنی داری در تعداد لنفوسیتها نسبت به گروه کنترل منفی وجود داشت و همچنین افزایش میزان هتروفیلها تا هفته چهارم در گروه کنترل مثبت نسبت به گروه کنترل منفی تفاوت معنی داری نشان می داد (مقادیر P کمتر از ۰/۰۵) (۱۶).

با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش انروفلوکساسین به مانند ونکومایسین در کاهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت به عنوان یک شاخص التهابی موثر عمل کرده است.

مقایسه شمارش کلنی های جدا شده از استخوان مبتلا در اکثر تحقیقات قبلی انجام شده مرسوم بوده ولی ارتباط آن با یافته های التهابی قابل اعتماد خرگوشها و همچنین در مورد داروی انروفلوکساسین تا به حال مورد توجه قرار نگرفته است. در پژوهش Poeppl و دیگران در سال ۲۰۱۴ تفاوت معنی داری بین گروه کنترل و گروه ونکومایسین در شمارش تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی در بافت استخوان وجود دارد (P=۰/۰۰۲) (۱۹).

همچنین در مطالعه Shi و دیگران در سال ۲۰۱۴ نیز تفاوت معنی داری بین گروه کنترل و گروه ونکومایسین از نظر تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی وجود دارد (۲۱).

از آنجایی که در پژوهش پیش رو تعداد کلنی های جدا شده از استخوان در گروه انروفلوکساسین با گروه ونکومایسین تغییر معنی داری نشان نمی دهد، می توان نتیجه گرفت که عملکرد انروفلوکساسین در مقایسه با ونکومایسین به عنوان درمان استاندارد در کاهش بار میکروبی مغز استخوان تفاوتی ندارد. به شکل واضح در بررسی انجام شده مشخص می گردد که تاثیر

(colony count) را به طور همزمان مورد مقایسه قرار میدهد. مدل فوق علاوه بر راهگشا بودن در طب (دامپزشکی و پزشکی) در تحقیقات بعدی نیز می تواند به عنوان الگوی خوبی به کار گرفته شود و حتی می توان با همین روش به بررسی سایر آنتی بیوتیک ها در مقابل یکدیگر از نظر تاثیر بر روی پاسخ التهابی قابل اطمینان و مقایسه اثر ضدباکتری آنها پرداخت.

همانطور که قبلا اشاره شد، تاثیر ونکومایسین به عنوان بهترین روش درمانی در کنترل استئومیلیت حاد ناشی از MRSA اثبات شده است و در عین حال گزارشات فراوان مبنی بر ظهور VRSA باعث نگرانی مجامع پزشکی و دامپزشکی است که لزوم جایگزین مناسب در روند های حاد استئومیلیت را می طلبد (۱۲).

در خرگوشها، تعداد تام لکوسیتها در شرایط متفاوت دستخوش تغییرات غیرقابل پیش بینی می گردد به صورتی که ممکن است در شرایط سلامت بدن، متعاقب استرس، شرایط نمونه برداری و حتی تغییرات شبانه روزی (Circadian)، تغییرات قابل ملاحظه ای در تعداد تام لکوسیتها مشاهده گردد. این در حالی است که ممکن است متعاقب عفونت های حاد، واکنش التهابی به شکل لکوسیتوز در خرگوشها دیده نشود. بنابراین در این پژوهش نسبت هتروفیل به لنفوسیت های خون محیطی و تغییرات سمی هتروفیلها به عنوان دو شاخص مورد اطمینان التهابی در خرگوشها مورد بررسی قرار گرفتند (۲۳ و ۱۴، ۴، ۲).

در پژوهش Faber و دیگران نیز در سال ۲۰۰۷ تغییری در تعداد تام لکوسیتها در گروه کنترل قبل و بعد از القاء استئومیلیت تجربی با استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده نشده است (۵).

در تحقیق Helbing و همکاراندر سال ۲۰۱۳ تغییرات سلولهای سفید خون به طور کامل در روند استئومیلیت تجربی با MRSA مورد مطالعه قرار گرفته ولی نسبت هتروفیل به لنفوسیت محاسبه نشده است (۱۱).

4. Drozdowicz, C.K., Bowman, T.A., Webb, M.L., Lang, C.M. (1990): Effect of in-house transport on murine plasma corticosterone concentration and blood lymphocyte population. *Am. J. Vet. Research.* 51(11): 1841-48.
5. Faber, C., Hoogendoorn, R.J.W., Stallmann, H.P. (2007): In vivo comparison of Dhvar-5 and Gentamicin in Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis prevention model. *J. Antimicrob. Chemother.* 54:1078-1084.
6. Flecknell, P. (2000): Manual of rabbit medicine and surgery. British Small Animal Veterinary Association Pub. P: 95,98.
7. Godley, D.R. (2015): Managing musculoskeletal infections in children in the area of increasing bacterial resistance. *J. Amer. Acad. Physic. Assist.* (28):24-29.
8. Gomes, D., Pereira, M., Bettencourt, A.F. (2013): Osteomyelitis: an overview of antimicrobial therapy. *Braz. J. Pharma. Science.* 49(1):13-27.
9. Gordon, R.J., Lowy, F.D. (2008): Pathogenesis of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Oxford. J. Clin. Infect. Dis.* 46(5):350-8.
10. Griffon, D., Hamaide, A. (2016): Complications in small animal surgery, 1st ed. Wiley Blackwell. P: 28,29.
11. Helbing, L., Simank, H.G., Lorenz, H., Putz, C., Wlfi, C. (2013): Establishment of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* animal model of osteomyelitis. *J. Inter. Ortho.* 38:891-897
12. Howe, R.A., Bowker, K., Walsh, T.R., Feest, T.G., McGowan, A. (1998): Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet.* 352(9102) 602-621.
13. Markey, B., Leonard, F., Archambault, M. (2013): Clinical veterinary microbiology, 2nd ed. Mosby. P: 105-117.
14. Melillo, A. (2007): Rabbit clinical pathology. *J. Exo. Pet. Med.* 16(3):135-145.
15. Meredith, A. (2015): Small animal formulary (exotic pet), 9th ed. British Small Animal Veterinary Association Pub. P: 115,116.
16. Odekerken, J., Arts, J.C., Sutrel, D.A.M., et al. (2013): A rabbit osteomyelitis model for longitudinal assessment of early post-operative implant. *J. Ortho. Surg. Res.* 8:38.

انروفلوکساسین پس از دوهفته درمان تفاوتی با ونکومایسین از نظر تاثیر بر روی روند التهابی و کاهش تعداد باکتری‌ها نداشته است و به عنوان جایگزین مناسبی عمل کرده است.

در خرگوش‌ها به دلیل روند تخمیری موجود در دستگاه گوارش، استفاده از آنتی بیوتیک‌هایی که به طور ویژه روی گونه های گرم مثبت تاثیرگذار باشند، می‌تواند باعث وقوع اسهال یا سوء جذب شود (۱۵). در مطالعه انجام شده نیز در طول درمان به دلیل منحصر بودن اثر ونکومایسین بر روی باکتری‌های گرم مثبت موارد متعدد اسهال و کاهش وزن مشاهده شد که در گروه تحت درمان با انروفلوکساسین به مراتب وضعیت بالینی خرگوش‌ها بهتر بود.

با توجه به بررسی انجام شده، تاثیر انروفلوکساسین در درمان استئومیلیت حاد ناشی از MRSA در خرگوش‌ها به اندازه درمان با ونکومایسین از نظر تغییرات روند التهابی و همچنین تاثیر در کاهش میکروارگانیزم‌های مقیم در استخوان در به یک اندازه بوده و پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی آسیب شناسی و سایر پارامترهای التهابی مثل CRP نیز مورد بررسی قرار گیرند. از آنجایی که مصرف انروفلوکساسین در انسان به دلیل احتمال عوارض نورولوژیک ممنوع است شاید بتوان در تحقیقات بعدی انواع دیگری از فلوروکینولون‌ها را مورد آزمون قرار داد.

فهرست منابع

1. Anwar, H., Dasgupta, M.K., Costerton, J.W. (1990): Testing the susceptibility of bacteria in biofilms to antibacterial agents. *J. Antibact. Agents. Chemo.* 34(11): 2044-46.
2. Campbell, T.W. (2015): Exotic animal hematology and cytology, 4th ed. Wiley Blackwell. P: 28-30
3. Catellazzi, L., Mantero, M., Esposito, S. (2016): Update on the management of pediatric acute osteomyelitis and septic arthritis. *Int. J. Molec. Science.* 17(6):855-859.

17. Owen, M.R. (2004): Management of methicillin-resistant staphylococcus aureus septic arthritis in dog using gentamicin-impregnated collagen sponge. *J. smal. Anim. Prac.* 45(12): 609-612.
18. Plumb, D.C. (2011): *Plumb`s veterinary drug handbook*, 7th ed. Wiley Blackwell. P: 464-466, 1159-1160
19. Poepl, W., Lingscheid, T., Bernitzky, D. (2014): Efficacy of fosfomycin compared to Vancomycin in treatment of Implant-associated chronic Methicillin-resistant Staphylococcus aureus osteomyelitis in rat. *J. Antimicrob. Agents. Chemother.* 58(9):5111-5116.
20. Ratayanke, K., Davis, A.J., Brown, L., Young, T.P. (2015): Pediatric acute osteomyelitis in the post vaccine Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. *Am. J. Emerg. Med.* (33): 1420-4.
21. Shi, J., Mao, N.F., Wang, L., Zhang, H.B., Chen, Q., et al. (2014): Efficacy of Combined Vancomycin and Fosfomycin against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Biofilms in Vivo. *PLoS ONE* 9(12): e113133.
22. Siqueira, E.G., Rahal, S.C., Riberio, M.G. et al. (2014): Exogenous bacterial osteomyelitis in 52 dogs: a retrospective study of etiology and in vitro antimicrobial susceptibility profile (2000-2013), *J. Vet. Q.* 34(4): 201-4.
23. Vennen, K.M., Mitchel, M.A. (2009): Rabbits in: manual of exotic pet practice, Saunders. P: 375-405.
24. Wiesel, S.W., Delhang, J.N. (2011): *Essential of orthopedic surgery*, 4th ed. Springer pub. P: 75.
25. Zachary, J.F. (2016): *Pathology basis of veterinary diseases*, 6th ed. Elsevier. P: 983.