

مطالعه مقایسه‌ای اثر آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین جی، اکسی‌تتراسایکلین و انروفلوکساسین بر فعالیت نوتروفیل خون محیطی گوسفند (in vitro)

علی رضاپور^{*۱}

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی، تبریز، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: a.rezapour@gmail.com

(دریافت مقاله: ۸۹/۱۰/۱۷، پذیرش نهایی: ۹۰/۳/۱۸)

چکیده

به منظور تعیین اثر برخی آنتی‌بیوتیک‌های رایج در درمان عفونت‌های میکروبی گوسفند بر فعالیت نوتروفیل‌ها، آزمایش حاضر به صورت *in vitro* طراحی و اجرا شد. در این مطالعه نوتروفیل خالص گوسفند از نمونه خون محیطی جداسازی و با آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین و انروفلوکساسین (غلظت‌های صفر، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و پنی‌سیلین G (صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ واحد در میلی‌لیتر) به مدت یک‌ساعت در دمای آزمایشگاه انکوبه شد. سپس در هر نمونه آزمایش فاگوسیتوز مخمر و آزمایش احیای نیتروبلوتترازولیوم (NBT) انجام شد. از رویه آماری (Mixed model (REML) برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با روش LSMEAN و سطح معنی‌داری $p < 0/01$ در نظر گرفته شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، میانگین درصد فاگوسیتوز و درصد NBT غلظت‌های مختلف پنی‌سیلین G فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بود. میانگین درصد فاگوسیتوز و NBT در حضور داروی انروفلوکساسین به ترتیب تا غلظت ۱۰ و ۲۰۰ میکروگرم فاقد اثر معنی‌دار نسبت به گروه شاهد ولی درصد فاگوسیتوز از غلظت ۱۰۰ میکروگرم و بالاتر همچنین NBT در ۴۰۰ میکروگرم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0/01$). میانگین درصد فاگوسیتوز در حضور اکسی‌تتراسایکلین در غلظت ۱۰۰ mcg/ml و بالاتر به‌طور معنی‌دار به شدت کاهش یافت ($p < 0/0001$) ولی در آزمایش NBT اکسی‌تتراسایکلین به جز غلظت ۱-۰ mcg/ml، در سایر غلظت‌ها میزان احیای نیتروبلوتترازولیوم به‌طور معنی‌دار به شدت کاهش یافته بود ($p < 0/0001$). بنابراین در مطالعه حاضر از لحاظ فقدان آثار منفی آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه بر عملکرد نوتروفیل‌ها، در مجموع می‌توان گفت: پنی‌سیلین G کمترین اثر مهاری را بر فعالیت نوتروفیل‌های خون محیطی گوسفند دارد. در حالی که، اکسی‌تتراسایکلین فقط در سطح < 1 mcg/ml (که شاید از لحاظ بالینی در این غلظت حتی فاقد اثر درمانی باشد) فاقد اثر مهاری بر فعالیت نوتروفیل‌ها بود و لذا استفاده از این دارو، نباید در اولویت قرار گیرد.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دوره ۵، شماره ۲، پیاپی ۱۸، صفحات: ۱۱۶۹-۱۱۷۳.

کلید واژه‌ها: احیای نیتروبلوتترازولیوم، اکسی‌تتراسایکلین، انروفلوکساسین، فاگوسیتوز، فعالیت نوتروفیل، پنی‌سیلین جی

مقدمه

انسان و گاو حاکی از وجود آثار سوء آنتی‌بیوتیک‌ها بر فعالیت نوتروفیل‌هاست (۲، ۹ و ۱۰). نوتروفیل‌ها اولین خط دفاعی سلولی در سیستم ایمنی ذاتی می‌باشند (۵). بنابراین آثار سوء

امروزه آنتی‌بیوتیک‌ها کاربرد وسیعی در درمان عفونت‌های میکروبی مختلف دارند ولی نباید از نقش سیستم ایمنی ذاتی نیز در مقابله با عفونت‌ها غافل شد. برخی مطالعات انجام شده در

آنتی‌بیوتیک‌ها بر فعالیت و عملکرد نوتروفیل‌ها نباید نادیده گرفته شود. بدیهی است آنتی‌بیوتیکی که واجد بهترین اثر ضد میکروبی و همزمان دارای کمترین اثر سوء جانبی بر فعالیت نوتروفیل‌ها

سلول‌های دیگر موجود زنده باشد، می‌تواند به عنوان آنتی‌بیوتیک انتخابی، پیشنهاد شود. به عبارت دیگر به منظور اخذ راهبرد درمانی مناسب نه تنها به اثر ضد میکروبی آنتی‌بیوتیک‌ها بایستی توجه کرد، بلکه با دیدی جامع همه آثار مثبت و منفی آنتی‌بیوتیک مورد استفاده را مد نظر قرار داد و بر اساس تحلیل فایده و زیان، اقدام به پیشنهاد استفاده یا عدم استفاده از یک آنتی‌بیوتیک خاص نمود.

اگرچه حیوانات دارای توان فوق‌العاده‌ای در برخورد مؤثر با هجوم باکتری‌ها هستند و در بیشتر موارد عفونت‌ها فاقد علائم بالینی است ولی گاه عفونت به حدی شدید است که نیاز به درمان آنتی‌بیوتیکی دارد. پنی‌سیلین‌ها، تتراسایکلین‌ها و فلوروکینولون‌ها از متداول‌ترین داروهای ضد میکروبی در دامپزشکی هستند. مطالعات حاکی از وجود عوارض گسترده سمی این داروها در بدن میزبان است و مطالعات فراوانی در این خصوص انجام گرفته است (۱). ولی اثر آنها بر فعالیت نوتروفیل‌های خون محیطی مشخص نیست. در مطالعه حاضر به صورت *in vitro* اثر سطوح مختلف آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین، انروفلوکساسین و پنی‌سیلین G بر دو فعالیت اصلی نوتروفیل خون محیطی گوسفند (آزمایش فاگوسیتوز مخمر و آزمایش انفجار تنفس سلولی یا احیای نیتروبلوتترازولیوم) به عنوان شاخص‌های اصلی فعالیت نوتروفیل‌های خون محیطی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

الف. جداسازی نوتروفیل: جداسازی نوتروفیل‌های خون محیطی گوسفند با استفاده از روش (۲۰۰۹) Rezapour & Majidi انجام گرفت (۱۳). به طور خلاصه، ابتدا نمونه خون هپارینه با مقدار هم حجمی از سرم رینگر مخلوط و سپس به

آرامی روی محلول گرادیان مگلو مین ۲۵٪ لود شد و به مدت ۱۵ دقیقه در $1000 \times g$ سانتریفوژ گردید. رسوب حاصله که به صورت پلت سلولی بود، لیز هیپوتونیک شده و شستشوی نهایی سلول‌ها (۵ دقیقه در $300 \times g$) انجام شد. مایع رویی دور ریخته شده، سپس با افزودن سرم دکستروز ۵٪ تعلیق سلولی همگن گردید (دکستروز به میزانی اضافه می‌شود که ۱۰۷ - ۱۰۶ سلول نوتروفیل در هر ۱۰۰ میکرولیتر موجود باشد).

ب. انکوباسیون: یک‌صد میکرولیتر تعلیق سلولی در دمای آزمایشگاه درون لوله‌های آزمایش به مدت ۶۰ دقیقه با داروهای اشاره شده در ذیل انکوبه شد (با اضافه کردن سرم رینگر حجم نهایی هر لوله به ۱ میلی‌لیتر رسید):

تیمار شاهد حاوی فقط ۱۰۰ میکرولیتر PBS

انکوباسیون با غلظت‌های صفر، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی‌سیلین G

انکوباسیون با غلظت‌های صفر، ۱، ۱۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ (mcg/ml) اکسی‌تتراسایکلین

انکوباسیون با غلظت‌های صفر، ۱، ۱۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ (mcg/ml) انروفلوکساسین

ج. آزمایش فاگوسیتوز: بدین‌منظور از نمونه هپارینه هر تیمار آزمایش و مخمر کاندیدا آلبیکنس (*Candida albicans*) طبق روش Brousseau و همکاران (۱۹۹۹) و Gooi and Chapel در سال ۱۹۹۰ با اندک تغییرات استفاده شد (۳ و ۸).

چرا که روش ذکر شده در این منابع اساساً برای خون تام طراحی شده است ولی در آزمایش حاضر، از نوتروفیل خالص استفاده شده است. روش کار به طور خلاصه، کشت ۲۴ ساعته مخمر کاندیدا آلبیکنس در محیط آبگوشت مالتوز، به مدت ۵ دقیقه در $1000 \times g$ شستشو شده، سپس به منظور اِپسونیزاسیون، مخمر ۲۰ دقیقه با پلاسما در دمای اتاق انکوبه می‌شود. مقدار هم حجمی از سوسپانسیون مخمری انکوبه شده با پلاسما با تعلیق سلولی تیمارهای مختلف آزمایش بمدت نیم ساعت انکوبه شده و سپس چند گسترش شعله شمعی تهیه و پس از

جدول ۱- مقدار LSMEAN آزمایش‌های فاگوسیتوز (خطا=۵/۱۱۸۳) و NBT (خطا=۴/۱۹۸۱) در غلظت‌های مختلف پنی‌سیلین G ($p < 0.01$).

غلظت / آزمایش	فاگوسیتوز %	NBT %
صفر	۸۰/۸۳۳ ^a	۸۶/۳۷۵ ^a
IU/ml ۲۵۰	۸۷/۱۶۷ ^a	۸۶/۲۵۰ ^a
IU/ml ۵۰۰	۸۳/۹۱۷ ^a	۸۶/۷۵۰ ^a
IU/ml ۱۰۰۰	۸۱/۰۰۰ ^a	۸۵/۵۰۰ ^a
IU/ml ۲۰۰۰	۷۷/۴۱۷ ^a	۸۵/۰۰۰ ^a
IU/ml ۴۰۰۰	۸۰/۸۳۳ ^a	۸۲/۸۰۰ ^a

اعداد همنام بیانگر فقدان تفاوت آماری معنی‌دار است ($p > 0.01$).

جدول ۲- مقدار LSMEAN آزمایش‌های فاگوسیتوز (خطا=۵/۷۹۷۵) و NBT (خطا=۳/۴۸۷۷) در غلظت‌های مختلف انروفلوکساسین ($p < 0.01$)

غلظت / آزمایش	فاگوسیتوز %	NBT %
صفر	۸۳/۰۰ ^a	۸۳/۵۰۰ ^a
۱ mcg/ml	۸۰/۵۰ ^a	۸۰/۳۷۵ ^a
۱۰ mcg/ml	۷۹/۵۰ ^a	۸۱/۲۵۰ ^a
۱۰۰ mcg/ml	۶۷/۰۰ ^b	۸۰/۷۵۰ ^a
۲۰۰ mcg/ml	۵۷/۵۰ ^{bc}	۷۸/۱۲۵ ^{ab}
۴۰۰ mcg/ml	۵۱/۰۰ ^c	۷۵/۸۷۵ ^b

اعداد غیرهمنام بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار است ($p < 0.01$).

جدول ۳- مقدار LSMEAN آزمایش‌های فاگوسیتوز (خطا=۴/۵۶۰) و NBT (خطا=۳/۰۶۹۸) در غلظت‌های مختلف اکسی‌تتراسایکلین ($p < 0.01$)

غلظت / آزمایش	فاگوسیتوز %	NBT %
صفر	۷۲/۸۰ ^a	۸۶/۷۵۰ ^a
۱ mcg/ml	۷۲/۸۰ ^a	۸۲/۳۷۵ ^a
۱۰ mcg/ml	۷۹/۲۰ ^a	۷۹/۰۶۳ ^b
۱۰۰ mcg/ml	۲/۵۰ ^b	۷۷/۴۳۸ ^b
۲۰۰ mcg/ml	۱۰ ^{-۱۵b}	۷۴/۲۵۰ ^b

اعداد غیرهمنام بیانگر تفاوت آماری معنی‌دار است ($p < 0.01$).

رنگ‌آمیزی گیمسا، درصد نوتروفیل‌هایی که فاگوسیتوز مخمر انجام داده‌اند، مشخص می‌شود.

د. آزمایش احیاء نیتروبلوتترازولیوم (NBT): روش کار بر اساس منابع (۴ و ۸) به صورت خلاصه عبارت است از: ابتدا ۱۰۰ از سوسپانسیون سلولی انکوبه شده با ترکیبات مختلف (انواع آنتی‌بیوتیک در سطوح مختلف) با ۱۰۰ محلول NBT (محلول بافر فسفات + NBT + فوربول-۱۲- میریستات ۱۳- استات (PMA) که هر کدام به نسبت یکسان مخلوط شده‌اند) و محلول شاهد (محلول NBT فاقد PMA) به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷°C انکوبه شد. پس از سانتیفریژ (۵ دقیقه در ۳۰۰×g)، از رسوب حاصل گسترش سلولی تهیه و به روش گیمسا

رنگ‌آمیزی شد. سپس شمارش نوتروفیل‌هایی که احیاء NBT در آنها صورت گرفته است با مشاهده دانه‌های سیاه در نوتروفیل‌ها انجام و به صورت درصد گزارش شد.

ه. آنالیز آماری داده‌ها: پس از آزمون نرمالیت و یکنواختی واریانس داده‌ها، از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۲) و رویه (REML) Mixed Model استفاده شد. در مدل مورد استفاده علاوه بر میانگین و خطا که به ترتیب عوامل ثابت و تصادفی بودند، غلظت آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان اثر ثابت و روزهای مختلف انجام آزمایش به عنوان اثر تصادفی در نظر گرفته شد. برای مقایسه سطوح تیمار از میانگین حداقل مربعات (دستور pdiff) در سطح احتمال ۱٪ استفاده شد. برای هر یک از غلظت‌های آنتی‌بیوتیک در هر یک از آزمایش‌های فاگوسیتوز و NBT تعداد ۸ تکرار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج آزمایش‌های فاگوسیتوز و احیاء نیتروبلوتترازولیوم (NBT) در غلظت‌های مختلف هر آنتی‌بیوتیک و مقایسه میانگین‌ها در جداول ۱ تا ۳ ذکر شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

در جدول ۱، میانگین درصد فاگوسیتوز و درصد احیاء نیتروبلوتترازولیوم اختلاف آماری معنی‌دار در حد ۱٪ بین غلظت‌های مختلف پنی‌سیلین G وجود نداشت. در حالی که حتی غلظت‌های بالا (۴۰۰۰ IU/ml) نیز بررسی گردید ولی همچنان تفاوت آماری غیرمعنی‌دار بود. بررسی‌های به عمل آمده در مورد داروی هم‌خانواده پنی‌سیلین نظیر آمپی‌سیلین، نشان می‌دهد که نسبت آمپی‌سیلین کپسوله شده در نوتروفیل‌ها به آمپی‌سیلین آزاد، $5/4 - 1/4$ برابر به یک است و این موضوع ثابت کننده اهمیت این دارو در درمان عفونت‌های میکروبی درون سلولی است (۱۶). مطالعات Hoeben و همکاران (۱۹۹۸) نیز در مورد اثر آمپی‌سیلین بر کمیومینسانس نوتروفیل‌ها نشان داد که فقط حداکثر دوز مورد مطالعه (۳ M) - ۱۰) توانست موجب کاهش کمیومینسانس نوتروفیل‌ها گردد و در سایر غلظت‌ها اثر معنی‌داری حتی در حد $p < 0/05$ یافت نشد (۱۰).

میانگین درصد فاگوسیتوز و درصد احیاء نیتروبلوتترازولیوم در حضور داروی انروفلوکساسین به ترتیب تا غلظت ۱۰ و ۲۰۰ میکروگرم اثر معنی‌داری ($p > 0/01$) بر فعالیت نوتروفیل‌ها نسبت به گروه شاهد ندارد (جدول ۲). اگرچه درصد فاگوسیتوز از غلظت ۱۰۰ میکروگرم و بالاتر، همچنین درصد احیاء نیتروبلوتترازولیوم در ۴۰۰ میکروگرم بطور معنی‌داری کاهش یافته است ($p < 0/01$) ولی از دیدگاه کاربردی نمی‌تواند فاکتور منفی برای استفاده از این آنتی‌بیوتیک تلقی گردد. چرا که به صورت *in vivo* هیچگاه دارو در چنین غلظتی استفاده نمی‌شود و مشاهده این کاهش فقط در مطالعات *in vitro* امکان‌پذیر است. این نتایج مطابق با یافته‌های Schoevers و همکاران (۱۹۹۹) (۱۵) ولی در رد نتایج Paape و همکاران (۱۹۹۱) است (۱۲). براساس مطالعه Paape و همکاران (۱۹۹۱)، انروفلوکساسین اثری بر فعالیت فاگوسیتوزی گرانولوسیت‌های گاو ندارد ولی نتایج این مطالعه که به‌صورت

in vitro و در طیف وسیعی از غلظت‌های ۱ تا ۴۰۰ میکروگرم و در گوسفند انجام شد، خلاف نظر ایشان می‌باشد (البته تفاوت گونه دام مورد مطالعه نیز نباید نادیده گرفته شود). بر اساس یافته‌های Mukherjee (۲۰۰۶) انروفلوکساسین اگرچه نفوذپذیری سلول نوتروفیل و آزاد سازی آنزیم‌های مرتبط با انفجار تنفسی را افزایش می‌دهد ولی بر تولید آنیون سوپراکسید تأثیری ندارد. در مطالعه حاضر، فقط در غلظت اغراق آمیز (از دید بالینی) کاهش معنی‌دار در احیاء نیتروبلوتترازولیوم ملاحظه شد (۱۱). با توجه به یافته‌های حاضر و خاصیت تغلیظ انروفلوکساسین در نوتروفیل (۱۵) که موجب تقویت اثر میکروب کشی نوتروفیل‌ها خواهد شد، استفاده از این آنتی‌بیوتیک در درمان عفونت‌ها پیشنهاد می‌شود. میانگین درصد فاگوسیتوز در حضور اکسی‌تتراسایکلین در غلظت 100 mcg/ml و بالاتر به‌طور خیلی معنی‌دار کاهش یافت ($p < 0/0001$). از سویی درصد احیاء نیتروبلوتترازولیوم نیز به جز غلظت صفر و یک میکروگرم در میلی‌لیتر، در سایر غلظت‌ها به‌طور خیلی معنی‌دار کاهش یافت ($p < 0/0001$). تحقیقات Glette و همکاران (۱۹۸۴) نشان داد در غلظت کمتر از 100 mcg/ml تتراسایکلین اثری بر مهاجرت تصادفی نوتروفیل‌ها، کمیومینسانس و اکسیداسیون گلوکز ندارد. در این مطالعه، اثر مهارت تتراسایکلین به شلاته‌شدن کاتیون‌های دو ظرفیتی توسط تتراسایکلین و در نتیجه کاهش فعالیت سلولی نسبت داده شده است (۷).

بنابراین بر اساس یافته‌های این مطالعه، از لحاظ دارا بودن کمترین میزان اثر مهارت در آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه بر فعالیت یا عملکرد نوتروفیل خون محیطی گوسفند، در مجموع می‌توان اولویت نخست استفاده را به پنی‌سیلین G داد. انروفلوکساسین نیز در غلظت کمتر از 100 mcg/ml فاقد اثر منفی بر عملکرد نوتروفیل‌هاست. در حالی که اکسی‌تتراسایکلین تنها در غلظت کم (که شاید در این سطح حتی فاقد اثر درمانی

نیز باشد) اثر معنی‌دار بر فعالیت نوتروفیل‌ها ندارد و لذا پیشنهاد می‌شود استفاده از این دارو در اولویت درمان قرار نگیرد.

سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به شماره قرارداد ۹۸۸۲۵-۵-۱۷-۰۲ مورخ ۸۸/۷/۱۳ انجام شده است.

بدینوسیله از زحمات و همکاری‌های کلیه مسئولان و کارکنان ذریبست دانشگاه، به ویژه آقایان دکتر پرویز نام‌آور، مهندس جعفری و مهندس ایمان‌پور تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

- Adams, H.R. 2001. Veterinary pharmacology and therapeutics. 8th edition. Iowa state university press/Ames. pp 765-766.
- Braga, P.C., Dal Sasso, M., Bovio, C., Zavaroni, E. and Fonti, E. 2002. Effects of gatifloxacin on phagocytosis, intracellular killing and oxidant radical production by human polymorphonuclear neutrophils. International Journal of Antimicrobial Agents. 19:183-187.
- Brousseau, P., Payette, Y. and Tryphonas, H. 1999. Manual of Immunological Methods. 1st edition. CRC Press. pp:20-45.
- Chanarian, I. 1989. Laboratory haematology (an account of laboratory techniques). 1st edition. Churchill Livingstone. pp: 177-178.
- Farinacci, M., Colitti, M., Sgorlon, S. and Stefanon, B. 2008. Immunomodulatory activity of plant residues on ovine neutrophils. Immunology and Immunopathology. 126:54-63.
- Glette, J., Sandberg, S., Hopen, G. and Solberg, C. 1984. Influence of Tetracyclines on Human Polymorphonuclear Leukocyte Function. Antimicrobial agents and chemotherapy. pp 354-357.
- Glette J., Sandberg S., Hopen G. and Solberg C. 1984. Influence of tetracyclines on human polymorphonuclear leukocyte function. Antimicrobial agents and chemotherapy, pp 354-357.
- Gooi H.G. and Chapel H. 1990. Clinical immunology (a practical approach). 1st edition. Oxford University Press, pp 51-80.
- Gorrini, M., Lupi, A., Viglio, S., Pamparana, F., Cetta, G., Iadarola, P., Powers, J.C. and Luisetti, M. 2001. Inhibition of human neutrophil elastase by erythromycin and flurythromycin, two macrolide antibiotics. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 25:492-499.
- Hoeben, D., Burvenich, C. and Heyneman, R. 1998. Antibiotics commonly used to treat mastitis and respiratory burst of bovine polymorphonuclear leukocytes. J Dairy Sci. 81:403-410.
- Mukherjee, R. 2006. Assessment of reactive oxygen species and phagocytosis of milk leukocytes by alfa-tocopherol and enrofloxacin in bovine mastitis. Veterinarski arhiv. 76:1-9.
- Paape, M.J., Miller, R.H. and Zive J. 1991. Pharmacological enhancement or separation of phagocytosis by bovine neutrophils. Am. J. Vet. Res. 52:363-366.
- Rezapour, A. and Majidi, J. 2009. An improved method of neutrophil isolation in peripheral blood of sheep. Journal of Animal and Veterinary Advances. 8(1):11-15.
- SAS Institute 2002. SAS® User's Guide: Statistics. Version 9 Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Schoevers, E.J., Van Leengoed, L.A.M., Verheijden, J.H.M. and Niewold T.A. 1999. Effects of enrofloxacin on porcine phagocytic function. Antimicrobial agents and chemotherapy. pp 2138-2143.
- Yazar, E., Bas, A.L., Brande, Y.O., Yapar, K., Elmas, L. and Tras B. 2006. Determination of intracellular (neutrophil and monocyte) concentrations of free and liposome encapsulated ampicillin in sheep. Veterinarni Medicina. 51(2): 51-54.

Comparative study on effect of penicillin G, oxytetracyclin and enrofloxacin antibiotics on neutrophil function of the peripheral blood of sheep (in vitro)

Rezapour, A.^{1*}

1-Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*Corresponding author's email: a.rezapour@gmail.com

(Received: 2011/2/5, Accepted: 2011/5/18)

Abstract

The aim of this study was in vitro evaluation of the effects of some common antibiotics in treatment of microbial infections in sheep on in vitro function of neutrophils. Purified neutrophils of sheep incubated with different levels of oxytetracyclin and enrofloxacin (0, 1, 10, 100 and 200 mcg/ml) and penicillin G (0, 250, 500, 1000, 2000 and 4000 IU/ml) antibiotics for one hour in room temperature. Phagocytosis and nitro-blue tetrazolium reduction (NBT) percentage tested in every sample. Mixed model (REML) was used as a statistical procedure. Data means compared by LSMEAN and $p < 0.01$ considered statistically significant. The results showed that LSMEAN of phagocytosis and NBT percentage were not statistically significant in different levels of penicillin G. Phagocytosis and NBT percentage were statistically non-significant comparing to control group up to 10 and 200 mcg/ml (respectively) but, phagocytosis percentage from 100 mcg/ml to upper level and NBT percentage in 400 mcg/ml level were statistically significant ($p < 0.01$). LSMEAN of phagocytosis percentage in 100 mcg/ml (and upper) decreased dramatically for oxytetracyclin ($p < 0.0001$). With the exception of 0 and 1 mcg/ml of oxytetracyclin, other levels of oxytetracyclin decreased NBT percentage ($p < 0.0001$). Then according to the negative effects of those mentioned antibiotics on neutrophil function, we can introduce penicillin G as an antibiotic with minimum inhibitory effects on neutrophil functions (in vitro). But range of non-risk level for oxytetracyclin on neutrophil function was < 1 mcg/ml (that may be had not treating effect) then in this view, this drug is not recommended and it shouldn't be a number one antibiotic.

Keywords: Enrofloxacin, Neutrophil function, Nitroblue tetrazolium reduction, Oxytetracyclin, Penicillin G, Phagocytosis