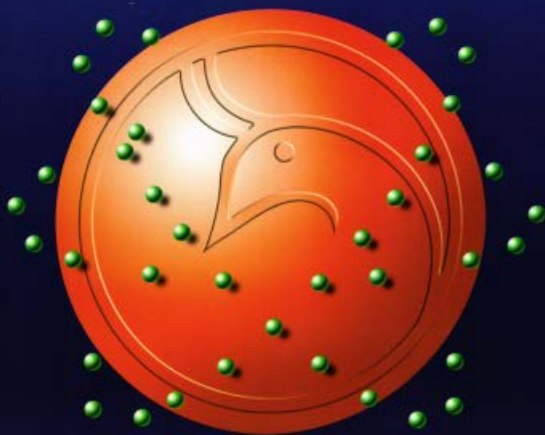




Al-Mustansiriyah
ISSN 1814 - 635X

Journal of Science

Vol. 24, No. 2, 2013



Issued by College of Science - Mustansiriyah University

Vol. 24
No. 2
2013

Al-Mustansiriyah Journal of Science

Issued by College of Science, Al-Mustansiriyah
University, Baghdad, Iraq

Editor -in-chief
Prof. Dr. Redha I. AL-Bayati

Editorial Board

Dr. Inaam Abdul-Rahman	Member
Dr. Fatin Fadhil	Member
Dr Iman Natiq	Member
Dr. Ahmed Azeez	Member
Dr. Muneam Hakeem	Member
Dr. Omar Abbas	Member
Dr. Kareem Qasim	Member
Dr. Saad Owaid	Member

Consultant Committee

Dr. Tariq Salih Abdul-Razaq	Member
Dr. Hasan Hashim	Member
Dr. Tariq Suhail Najim	Member
Dr. Ali Hussein Dehya	Member
Dr. Abd Al-Muneam Salih	Member
Dr. Layla Salih	Member

INSTRUCTION FOR AUTHORS

1. The journal accepts manuscripts in Arabic and English languages. Which had not been published before.
2. Author (s) has to introduce an application requesting publication of his manuscript in the journal. Four copies (one original) of the manuscript should be submitted. Should be printed by on the computer by laser printer and re produced on A4 white paper in three coppice with floppy disc should be also submitted.
3. The title of the manuscript together with the name and address of the author (s) should typed on a separate sheet in both Arabic and English. Only manuscripts title to be typed again with the manuscript.
4. For manuscripts written in English, full name (S) of author (s) and only first letters of the words (except prepositions and auxiliaries) forming title of the manuscript should be written in capital letters. Author (s) address (es) to be written in small letters.
5. Both Arabic and English abstracts are required for each manuscript. They should be typed on two separate sheets (not more then 250 words each).
6. References should be denoted by a number between two bracket on the same level of the line and directly at the end of the sentence. A list of references should be given on a separate sheet of paper, following the interactional style for names and abbreviations of journals.
7. Whenever possible, research papers should follow this patten: INTRODUCTION, EXPERIMENTAL (MATERIALS AND METHODS), RESULTS AND DISCUSSION, and REFERENCES. All written in capital letters at the middle of the page. Without numbers or underneath lines.
8. The following pattern should be followed upon writing the references on the reference sheet: Sumame (s), initials of author (s), title of the paper, name or abbreviation of the journal, volume, number, pages and (Year). For books give the author(s) name(s), the title, edition, pages, publisher, place of publication and (Year).
9. A publication fees in the amount of ID. 50 thousand is charged upon a Receipt of the paper and 25 thousand upon the acceptance for publication for their ID. 75 thousand should be paid for the editorial board.

CONTENTS

ITEM	Page No.
The Population Abundance Of Blow Flies Adults (Family: Calliphoridae) In Some Iraqi Governorates By Yellow Sticky Traps Razzaq SH. Augul, Hayder B. Ali, H.H. Al-Saffar, and M. S. Abdul – Rassoul	1-10
The Effect of High Insulin Resistance and Obesity on serum level of IL-12 in a sample of Iraqi patients with Type 2 Diabetes Mellitus Refif S. Al-shawk, Isam N. Salman, Yahya D. Saihood, Khalifa A. Khalifa, Ali H. Ad'hiah	11-20
Antimicrobial Agent Study Of Bacterial Isolates Isolated From Acute Ear Infection In Iraqi Patients Raya E. AL Saade, Nihad Kh. AL Zubaide, Alaa N. Mahammed, Raghad J. fayad	21-26
Prevalence of Hepatitis B virus infection in al-Taji district Abbas Arrak Abbas al-Tamimi	27-32
Correlation Between Lymphocytes CD3, CD8 In Patients With Gastric Adenocarcinoma By Using Immunohistochemical Assay Noor Al-Huda Ali A. H. Saeed	33-40
The Susceptibilities of <i>Gardnerella vaginalis</i> Isolates from Iraqi Hospitals Towards Various Antibiotics and New Mixed Ligand Complexes of 5,5-diphenyl-imidazolidine-2,4-dione with transition metals(II) Suzan S. Hussin, Saadi M. D. Al-Nuzal, and Rawaa Abdul-Jabbar	41-56
<i>Helicobacter pylori</i> and Glycemic Control in Iraqi Patients With Type 2 Diabetes Fatin Fadil AL-Kazzaz, Khalid Abraham Al-Iuheabi, Shathaa Hamad Ateamash	57-68
Preparation and Identification of Some Chelate Complexes with New Heterocyclic Azoligand Abid Allah. M. Ali, Tahir. A. Tahir and Raheem. T. Mahdi	69-78
Synthesis of New Chalcones and Pyrazoles Derived from Dehydroacetic Acid Redha I. H. Al-Bayati and Sajida M. Thamir	79-88
A Comparative Study of Third-Order Electronic and Thermally Induced Optical Nonlinearity in Rodamin 610 Doped PMMA Thin Film Amal	89-102
Density Effect of Crystal on Energy Electronic Stopping of Ions above 10mev Bydaa Mohsen Ahmed	103-108
Study The Physical And Mechanical Properties Of (Un Plasticized Polyvinyl Chloride) Pipes	109-114

Suroor N. Esmeel, Hazim F. Hassan, Muna N. Ismail	
A Function Of Two Or Three Cost Criteria To Be Optimized Tariq S. Abdul-Razaq and Doha A. Abbas	115-134
Preliminary Test Shrinkage Techniques in the Weibull Lifetime Model using Prior Information A. Ameer A. Ali and Z.A. Al-Hemyari	135-148
Weather Forecast Simulation in the Middle East Region Using Single-Level Primitive Equations Model Thaer O. Roomi , Kais J. Al-Jumaily and Rasheed H. Salih	149-160
Improve Entity Relationship Table (ERT) by Using Primary Key Maitham A. Naji	161-176

The Population Abundance Of Blow Flies Adults (Family: Calliphoridae) In Some Iraqi Governorates By Yellow Sticky Traps

Razzaq SH. Augul¹ Hayder B. Ali² H.H. Al-Saffar³, and M. S. Abdul – Rassoul⁴

^{1,3,4} Baghdad University /Iraq Natural History Museum

² Baghdad University/ College of science/ Department of Biology

Received 17/4/2012 – Accepted 25/12/2012

الخلاصة

هدفت الدراسة للتعرف على بالغات الذباب المعدني المنجذبة للمصائد اللاصقة الصفراء و كذلك دراسة انتشار هذه الانواع في بعض المحافظات العراقية. وأظهرت النتائج أن *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) النوع كان اكثر الانواع انتشارا في جميع المحافظات المدروسة خلال شهر نوفمبر عام 2010 كما سجلت محافظة النجف اعلى تواجد للانواع المدروسة حيث بلغت 50.2% ، اما محافظة ميسان سجلت اقل نسبة خلال هذا الشهر فقد كانت 15.2% . بينما النوع كان اكثر الانواع انتشارا خلال شهر نيسان 2011 *Lucillia sericata* (Meigen, 1826) 44.1% والأقل نسبة في محافظة النجف فقد سجلت محافظة بابل اكثر نسبة تواجد للانواع حيث بلغت 0.2%

ABSTRACT

The aims of this study are to identify the adults of blow flies that attracted to the yellow sticky traps and the prevalence of these species in some Iraq governorates was studied. The results showed that *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) was the most abundant species caught in all studying governorates, and highly existence among the studying species was 50.2% in Najaf, the lowest was 15.2% in Missan during November 2010; while *Lucillia sericata* (Meigen, 1826) the most abundant species, and highly existence was (44.1%) in Babylon, lowest was (0.2%) in Najaf during April 2011.

INTRODUCTION

Calliphoridae (blow flies) have numerous species and subdivided into a number of subfamilies and tribes. A great number of species develop in decomposing organic matter, some are obligatory parasites in vertebrates and many breed in invertebrates , especially in other arthropods ; blow flies is beside the oestroid flies , the most important with respect to myiasis and it comprises those members which have the greatest economic importance compared with all other families [1].

Blow flies are forensically important taxa commonly used for informing post-mortem interval estimates of human remains by inferring carcass age from maggot growth rates plus preoviposition period [2,3]. Because the immature growth rates vary between species, it can be important to know how abundant different species are in a region. This is often done using sticky traps, which catch adult blow flies present at crime scenes. For regional surveys [4-7], various trap configurations have been used, including sticky traps in conjunction with odour baits [8] or animal carcasses [9,10].

Blow fly species are behaviorally distinct, and can specialize in carcass colonization and/or habitats. Because of this, each method of trapping has inherent biases that affect which species, sex, or

physiological stage is caught [11]. A naive approach to trap catch data will misrepresent which species are potentially available for colonizing carcasses due to the behavioral difference of each species at different trap types [12]. Sticky traps can be configured based on colour [13,14], height [15], and trap angle [16]. These configurations can act to target specific behavioral responses such as wind protection , thermo - regulation , mating stations [17], and resting sites [18].

On the other hand; the adult flies are therefore of greatest hygienic importance as potential vectors of bacteria, viruses, protozoan and helminthes causing various enteric disease [19-23].

Of the same interest it is the fact that blowflies dominate carrion communities and are among the first insects to arrive on dead bodies , including humans and are therefore of great significance in forensic medicine [24,25] .

Despite the importance of flies that cause myiasis to livestock in Iraq in last years, little is known about their distribution and abundance. Therefore, a study deals with their foundation in some governorates was done.

MATERIALS AND METHODS

Many samples were collected by using 50 x 24.5 cm yellow sticky traps (Starkeys products) of Iraq State Company for Veterinary Services (figure 1) at November 2010 and April 2011,. These traps consist of attractive substances which composed as table 1. all these substances mixed together as amounts showed in this table [11].

The samples were collected from different areas of some Iraqi governorates. They are: region Tagi in Baghdad governorate; region Alexandria in Babylon governorate; region Al – Kifal in Najaf governorate; region Ali Al- Gharbi. In Missan governorate.

The samples were examed with the aid of dissecting microscope and isolate flies which removed from traps by xylol and using keys for diagnosed them such as [26,27 and 28] in addition they compared with specimens which kept at Iraq Natural History Museum .

The temperature and relative humidity through this study (Table 2) obtained from Iraqi meteorological office. The prevalence of flies was recorded.



Figure-1: yellow sticky trap (Starkeys products)

Table-1: The amounts of attractive substances

No.	Compounds	Amounts
1	Benzoic acid	12gm
2	Indole	gm 12
3	Sec- Butyl Alcohol	187 ml
4	Iso- Butyl Alcohol	187 ml
5	Acetic Acid (1.7N)	102 ml
6	Butyric acid	82 ml
7	Valeric acid	82 ml
8	Phenol	50 ml
9	P-cresol	50 ml
10	Dimethyl Disulfid	187

RESULTS AND DISCUSSION

Four species of Calliphoridae were caught (Table 2); *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819); *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794); *Calliphora vicina* Robineau-Desvoidy, 1830 and *Lucilia sericata* (Meigen, 1826) by using yellow sticky trap from some Iraq governorates .

In November 2010, the highly occurrence of all studied species was 50.2% in Najaf and the lowest was 15.2% in Missan, as showed in table 2, whereas in Baghdad and Babylon were 18.4, 16.2 % respectively. While in April 2011 the occurrence was 44.1 % (highly) in Babylon ; 43.3 % in Missan ; 12.4% in Baghdad and 0.2% (lowest) in Najaf .

Table -2: Species record of blow flies in some governorates of Iraq through November 2010, April 2011

Province	Species	November/2010				April/2011					
		NO.	Temp. °C		RH%	%	NO.	Temp. °C		RH%	%
			Min.	Max.				Min.	Max.		
Baghdad	<i>Chrysomya albiceps</i>	126	10.1	27.7	46	18.4	31	17.0	30.2	37	12.4
	<i>Chrysomya megacephala</i>	34					30				
	<i>Calliphora vicina</i>	5					2				
	<i>Lucilia sericata</i>	7					1				
Babylon	<i>Ch. albiceps</i>	115	11	27.8	49	16.2	27	15.9	31.0	42	44.1
	<i>Ch. megacephala</i>	35					110				
	<i>C. vicina</i>	0					12				
	<i>L. sericata</i>	1					78				
Najaf	<i>Ch. albiceps</i>	423	12.9	28.3	41	50.2	0	18.3	31.3	39	0.2
	<i>Ch. megacephala</i>	41					0				
	<i>C. vicina</i>	1					1				
	<i>L. sericata</i>	4					0				
Missan	<i>Ch. albiceps</i>	114	12.2	29.4	51	15.2	0	17.8	32.6	38	43.3
	<i>Ch. megacephala</i>	28					1				
	<i>C. vicina</i>	0					71				
	<i>L. sericata</i>	0					151				

The most abundant species in November 2010 was *Ch. albiceps* followed by *Ch. megacephala*; *L. sericata* and *C. vicina* respectively.

Whereas the greatest abundance in April 2011 was *L. sericata* followed by *Ch. megacephala*; *C. vicina* and *Ch. albiceps* respectively. (figure 2).

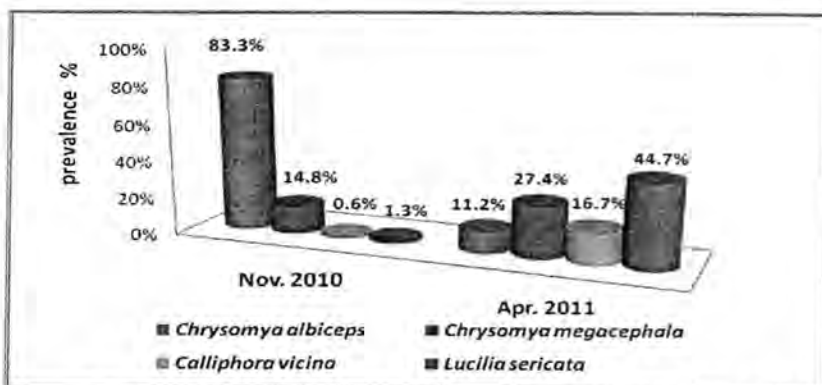


Figure-2: The whole percentage of prevalence of blow flies which attractive to sticky traps in some governorates of Iraq in November 2010, April 2011

The prevalence of blow flies in studied governorates as in figure 3 showed that in Baghdad *Ch. albiceps* was the highest abundant species followed by *Ch. megacephala*; *L. sericata* and *C. vicina* respectively in November 2010; in April 2011 the lowest abundant species ; *L. sericata* followed by *C. vicina* .

In Babylon *Ch. albiceps* was the most abundant species in November 2010 followed by *Ch. megacephala*; *L. sericata* and *C. vicina* respectively while in April 2011 *Ch. megacephala* was highly number followed by; *L. sericata*, *Ch. albiceps* and *C. vicina* respectively.

In Najaf the most abundant species *Ch. albiceps* followed by *Ch. megacephala*; *L. sericata* and *C. vicina* respectively in November 2010 whereas in April 2011 no flies were recorded except single sample for *C. vicina*.

In Missan *Ch. albiceps* was at first rank followed by *Ch. megacephala* only while in April the highest number was belongs to *L. sericata* then *C. vicina* and *Ch. megacephala* respectively, no *Ch. albiceps* was recorded.

This result agree with [29], they observed lowest abundant of *Ch. albiceps* during the period from February to May, and highly abundant of *L. sericata* and *C. vicina* through rain season, except in Baghdad this result was differ in recent study may be due to the deferent method of caught, Generally *Ch. albiceps* is usually associated with warm weather was found as well as [30], also this species the most abundant species of Diptera found in Autumn while in Winter its presence is extremely rare [31], so in our study we can easily observed that this species was the most abundant species caught in all studying governorates during Autumn (November) in contrast with spring season (April). while *C. vicina* was well represented in carrion in Winter only [32], and started with high population during February to May [29].

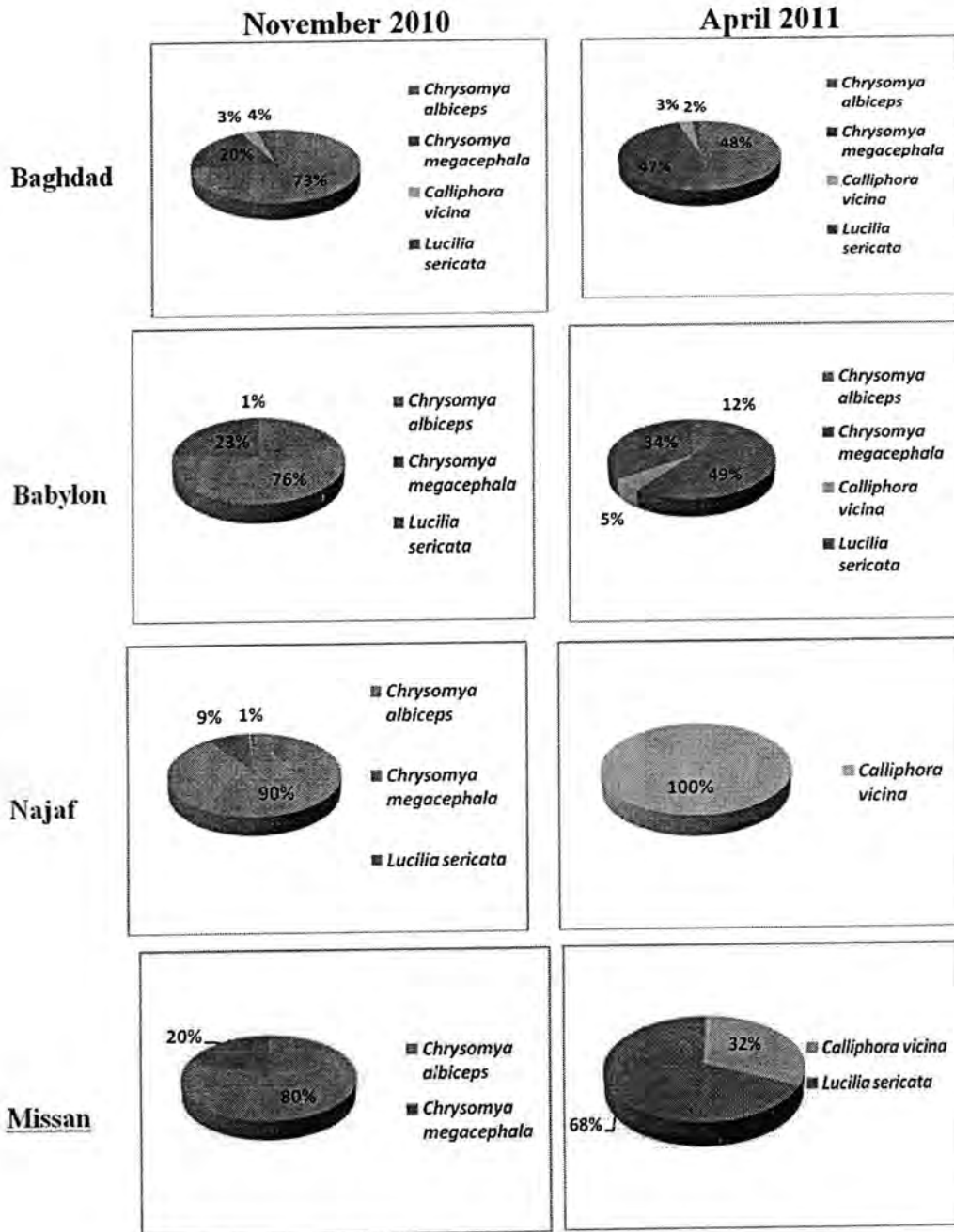


Figure-3: The prevalence of Blow flies in some governorates of Iraq in November 2010, April 2011

REFERENCES

1. Zumpt , F . 1965. Myiasis in Man and animals in the world, London: Butterworth's 267pp.
2. Smith K.G.V. A manual of forensic entomology. London, Trustees of the British Museum of NaturalHistory, 1986.
3. Catts E.P. and Haskell N.H. 1990. Entomology and Death: A procedural guide. Clemson, SC, Forensic Entomology Specialties, 121pp.

4. Sukontason K., Sukontason K.L., Piangjai S., Tippanun J., Lertthamnontham S., Vogtsberger R.C., and Olson J.K. 2003. Survey of forensically-relevant fly species in Chiang Mai, northern Thailand. *J. Vector Ecol.*; 135: 135–128.
5. Judd W.W. 1956. Results of a survey of calyptrate flies of medical importance conducted at London, Ontario during 1953. *Am. Mid. Nat.*; 56: 388–405.
6. Cragg J.B. and Hobart J. 1955. A study of a field population of the blowflies *Lucilia caesar* (L.) and *L. sericata* (MG.) *Ann. appl. Biol.*; 43: 645–663.
7. Grassberger M. and Frank C. 2004. Initial study of arthropod succession on pig carrion in a Central European urban habitat. *J. Med. Entomol.*; 41: 511–523.
8. Hayes E.J., Wall R., and Smith K.E. 1998. Measurement of age and population age structure in the blowfly, *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae). *J. Insect Physiol.*; 44: 895–901.
9. Shah Z.A. and Sakhawat T. 2004. The effect of flesh age, trap colour, decomposition stage, temperature and relative humidity on the visitation pattern of blow and flesh flies. *Int. J. Agri. Biol.*; 6: 370–374.
10. Aak A., Birkemoe T., and Mehl R. 2010. Blowfly (Diptera, Calliphoridae) damage on stockfish in northern Norway: pest species, damage assessment and the potential of mass trapping. *J. Pest. Sci.*; 83: 329–337.
11. Muirhead-Thomson R. C. 1991. *Trap Responses of Flying Insects: The Influence of Trap Design on Capture Efficiency*. New York, Academic Press.
12. Hall M.J.R., Hutchinson R.A., Farkas R., Adams Z.J.O., and Wyatt N.P. 2003. A comparison of lucitrapsR and sticky targets for sampling the blowfly *Lucilia sericata*. *Med. Vet. Entomol.*; 17: 280–287.
13. Wall R. and Smith K.E. 1996. Colour discrimination by the sheep blowfly *Lucilia sericata*. *Med. Vet. Entomol.*; 10: 235–240.
14. Beresford D.V. and Sutcliffe J.F. 2006. Studies on the effectiveness of CoroplastR sticky traps for sampling stable flies (Diptera: Muscidae), including a comparison to Alsynite. *J. Econ. Entomol.*; 99: 1025–1035.
15. Beresford D.V. and Sutcliffe J.E. 2008. Stable fly (*Stomoxys calcitrans*: Diptera, Muscidae) trap response to changes in effective trap height caused by growing vegetation. *J. Vector Ecol.*; 33: 40–45.
16. Nansen C., Phillips T.W., and Sanders S. 2004. Effects of height and adjacent surfaces on captures of indianmeal moth (Lepidoptera:

The Effect of High Insulin Resistance and Obesity on serum level of IL-12 in a sample of Iraqi patients with Type 2 Diabetes Mellitus

Refif S. Al-shawk¹, Isam N. Salman², Yahya D. Saihood³, Khalifa A. Khalifa⁴, Ali H. Ad'hiah⁵

^{1,2,3}National Diabetes Center for treatment and research, Al-Mustansyria University.

⁴Department of Microbiology, college of Medicine, Al-Mustansyria University.

⁵Tropical-Biological Research Unit, College of Science, University of Baghdad.

Received 13/1/2013 – Accepted 29/4/2013

الخلاصة

يلعب IL-12 دورا حاسما في التسبب بالاصابة في النوع الأول والنوع الثاني لداء السكري، ولكن أهمية التغيرات الحاصلة لـ IL-12 في دم المرضى الذين يعانون من هذا المرض بنوعه الثاني مازالت غير واضحة لحد الان. ومع ذلك، من غير المعروف ما إذا كانت العوامل المتصلة أثناء الاصابة بداء السكري النوع الثاني كتعويض التمثيل الغذائي، ضعف دور خلايا بيتا، وتأثير مقاومة الأنسولين تؤثر على مستوى تركيز IL-12. أجريت الدراسة لتحديد مستوى المصل من IL-12 في عينة من المرضى العراقيين المصابين بالسكري النوع الثاني T2DM. وكان التقييم في ضوء وجود السمنة (كدالة كتلة الجسم BMI) ومقاومة الانسولين (بنموذج التقييم الاستتبابي HOMA).

أجريت الدراسة على 50 شخص مصابين بداء السكري النوع الثاني (29 انثى و 21 ذكر) والذين تراوحت اعمارهم بين (28-60)، ولغرض المقارنة اعتمد 30 شخص من الاصحاء (السيطرة) المتوافقين بالعمر (33-59 سنة) والجنس (16 انثى و 14 ذكر) مع المرضى المصابين بداء السكري النوع الثاني. قياس سكر بلازما الدم الصائم و المستوى المصلي لهرمون الانسولين قد اجري لتحديد مقاومة الانسولين بواسطة نموذج مقاومة الانسولين. المستوى المصلي لانترالوكين IL-12 ودالة كتلة الجسم قيست ايضا. اظهر المستوى المصلي لهرمون الانسولين زيادة معنوية وهي (12.4 مقابل 8.3 مايكرووحدة عالمية/ملييلتر) ($P \leq 0.01$) ومقاومة الانسولين HOMA (5.5 مقابل 1.8) ($P \leq 0.001$) في المرضى مقابل السيطرة. المستوى المصلي لانترالوكين IL-12 اظهر ارتفاعا معنويا (19.3 مقابل 6.0 بيكو غرام/ملييلتر) ($P \leq 0.001$) في المرضى مقابل السيطرة بينما لم تكون هناك اي فروق معنوية بين نسبة هذا الانترالوكين مع مجموعات الثلاثة من السمنة (عادي، زيادة الوزن والبدانة) بينما اظهر التأثير الصافي و المستقل لمقاومة الانسولين HOMA بعد ضبط فروقات المرضى و السيطرة على النتائج المنقطة (المستقل)، قيم معنوية لمستوى المصلي IL-12. ان الزيادة في مؤشر مقاومة الانسولين HOMA مع زيادة في نسبة IL-12 كان قادر على شرح 26.7% من التباين الملحوظ في النتائج المتغيرة و بالتالي هذا الترتولوكين قد يلعب دورا حاسما في التسبب بمضاعفات السكري النوع الثاني.

ABSTRACT

The IL-12 plays a critical role in the pathogenesis of type I and type II diabetes mellitus, but the significance of IL-12 changes in the blood of patients with type 2 diabetes mellitus T2DM remains unclear. However, it is not known whether factors related to the course of T2DM, such as metabolic compensation, beta cell secretory dysfunction, and insulin resistance affect IL-12 concentrations.

To determine the serum level of IL-12, in a sample of T2DM obese type 2 diabetic patients. This determination was interpreted on the ground of obesity (body mass index; BMI) and insulin resistance (homeostatic model assessment; HOMA).

The study was conducted on 50 type 2 diabetic patients, 29 females and 21 males, the age range within 28-60 years. For the purpose of comparisons, Thirty control subjects comparable to diabetic patients in respect to age (33-59 year) and gender (16 females and 14 males), were included in the study. Fasting plasma glucose, Insulin and serum IL12 was determined to assess Insulin resistance by using HOMA model. Also body mass index was measured.

The mean of insulin serum level (12.4 vs. 8.3 μ IU/ml) or HOMA (5.5 vs. 1.8) was significantly increased in T2DM patients as compared to controls. The serum level of IL-12, (19.3 vs. 6.0 pg/ml) showed significant ($P \leq 0.001$) increase in

geometric mean in T2DM patients as compared to controls. IL-12 showed a non-significant variation between the three groups of obesity (normal, overweight and obese). The HOMA had the most important impact on the outcome variable, after adjusting for BMI and study group. An increase in HOMA index was associated with a proportional increase in serum IL-12 and able to explain 26.7% of the observed variation in the outcome variable therefore this cytokine may play a critical role in the pathogenesis and complication of T2DM.

INTRODUCTION

Inflammation is emerging as an important mechanism for micro- and macrovascular complication of diabetes. The macrophage plays a key role in the chronic inflammatory response in part by generating particular cytokines. IL-1 β , IL-6, IL12, IL-18, TNF- α , and interferon- γ are produced primarily in macrophages and have been associated with accelerated atherosclerosis and altered vascular wall function. Recent investigations have suggested the role in the aetopathogenic mechanism of type 2 diabetes mellitus T2DM, directly or indirectly, or through their interaction with adipose-derived factors [1,2,3]. Interleukin-12, a cytokine produced by antigen presenting cells like dendritic cells (DC), macrophages also by natural killer (NK) cells. It plays a critical role in cell-mediated immunity [4]. A significance of IL-12 changes in the blood of patients with T2DM remains unclear. It has been observed that IL-12 plasma concentrations are elevated in T2DM [5], and that IL-12 contributes to the process of atherosclerotic plaque formation and probably accelerates the development of macro vascular complications in T2DM, as well [6]. Additionally, it has been noted that elevated glucose levels in diabetic animals stimulates inflammatory reactions related to IL-12 cytokine gene expression [7]. However, it is not known whether factors related to the course of T2DM, such as metabolic compensation, beta cell secretary dysfunction, and insulin resistance affect IL-12 concentrations [1]. Based on the forthcoming presentation, the present study was planned to determine the serum level of IL-12 and insulin in a sample of T2DM patients. These determinations were interpreted in the ground of obesity (body mass index; (BMI) and insulin resistance (homeostatic model assessment ;(HOMA).

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted on 50 patients with T2DM, 29 females and 21 males, the age range within 28-60 years randomly selected from those attending the National Diabetes Center / Al-Mustansiriyah University between October 2010-March 2011. Patients were fully examined and were free of acute illness or infection at time of study and with no known diseases which are associated with disordered glucose metabolism. For the purpose of comparisons, 30 control subjects, age

(33-59 year) and gender (16 females and 14 males), were included in the study. The controls were selected among subjects who were healthy in terms of non-diabetic, non-hypertensive, no other endocrine disorders or metabolic kidney diseases and were free of acute illness or infection at time of sampling. Also, they had no history of smoking or alcohol drinking. The T2DM and controls were categorized in terms of age, gender, family history of diabetes, BMI and HOMA. The patients were also determined for duration of disease, fasting plasma glucose (FPG) and glycosylated hemoglobin (HbA_{1c}). HOMA was determined using the equation of Wallace *et al.* [8]: $HOMA = (FPI \times FPG)/22.5$, Where FPI is fasting plasma insulin concentration (μ IU/ml) and FPG is fasting plasma glucose (mmol/L). ELISA kits for quantitative determination of IL-12 (USBiological Company, USA) and Insulin level (Monobind Inc. Company, USA) in human serum were used.

The data were translated into a computerized database structure, and the statistical analyses were carried out using the computer programme SPSS version 13 (Statistical Package for Social Sciences).

RESULTS AND DISCUSSIONS

The mean age of diabetic patients was (49.48±1.03). While that of controls was (45.40±1.31). According to BMI, Obese individuals accounted for 66.0% of T2DM patients compared to 50.0% of controls, the rest were overweight (16.0% vs. 30.0%) and normal weight (18.0% vs. 20.0%) in diabetics and controls respectively (P=0.277). The duration of disease in T2DM patients was 10 years and more in 22% of patients while rest were 20, 48 & 10% for 5-9 years, 1-4 years & less than 1 year respectively. The T2DM patients showed a slightly increased mean of BMI in comparison with controls (31.80 vs. 29.70 kg/m²) and the difference was not significant (Table 1).

The FPG showed a significant (P ≤ 0.001) increased mean in patients as compared to controls (191.50 vs. 88.50 mg/dL). The HbA_{1c} also showed a significant (P ≤ 0.001) increased percentage mean (9.50 vs. 5.80%)(Table 1).

Table-1: means of body mass index, fasting plasma glucose and HbA_{1c} in T2DM patients and controls.

Parameter	Mean±SE (Range)		P value ≤
	Patients (n=50)	Controls (n=30)	
Body Mass Index (kg/m ²)	31.80 ± 0.80	29.70 ± 0.71	N.S.
Fasting Plasma Glucose (mg/dL) (Range)	191.50 ± 9.37 (77.0-347.0)	88.50 ± 1.92 (72.0-115.0)	0.001
HbA _{1c} (%) (Range)	9.50 ± 0.25 (6.0-13.2)	5.80 ± 0.12 (4.4-6.7)	0.001

N.S.: Not significant (P > 0.05).

The mean of insulin serum level (12.4 vs. 8.3 μIU/ml) and HOMA (5.5 vs. 1.8) were significantly increased in T2DM patients as compared to controls (Table 2).

The serum level of IL-12, (19.3 vs. 6.0 pg/ml) showed significant (P ≤ 0.001) increase in geometric mean in T2DM patients as compared to controls (Table 2).

Table-2: medians (geometric means) of serum insulin level, HOMA and IL-12 in T2DM patients and controls.

Parameter	Patients (n=50)	Controls (n=30)	P value ≤
Serum Insulin (μIU/ml) Mean±SE (Range) Median (Geometric mean)	14.65±1.51 (4.8-65.0) 11.3 (12.4)	9.75±1.15 (3.5-32.5) 7.5 (8.3)	0.01
HOMA Mean±SE (Range) Median (Geometric mean)	6.66±0.71 (2.02-31.66) 5.35 (5.5)	2.14±0.27 (0.73-7.22) 1.65 (1.8)	0.001
IL-12 (pg/ml) Median (Geometric mean)	18.2(19.3)	5.3(6)	<0.001

Obesity (BMI) Impact on Investigated Parameters:-

To investigate the impact of obesity, as defined by BMI, on the investigated parameters (FPG, HOMA, insulin, IL-12), statistical differences between means or medians of these parameters were assessed among the three groups of obesity; normal (< 25 Kg/m²), overweight (25 - 29.9 Kg/m²) and obese (30 - 40 Kg/m²). Such differences were assessed independently for T2DM patients and control subjects. IL-12 (Table 3) showed a non-significant variation between the three groups of obesity (normal, overweight and obese). The HOMA means of T2DM did not show a significant variation or correlation in

the three groups of obesity (normal, overweight and obese),. In contrast, it showed different means in the control groups, and the difference was significant ($P \leq 0.001$) (Table 4).

Table-3: Interleukin-12 serum level in diabetic patients and controls defined by obesity (body mass index).

Subjects	Serum Level of IL-12 (pg/ml)	Obesity by BMI (kg/m ²)		
		Normal <25	Overweight 25 - 29.9	Obese 30-40
Patients	Number	9	8	33
	Range	4.1-79	2.9-504.1	0.1-427.6
	Median(geometric mean)	14.9 (15.9)	20.9 (27.38)	18.5 (18.46)
	Kruskal-Wallis Probability > 0.05 (not significant)			
	$r = -0.02$; $P > 0.05$ (not significant)			
Controls	Number	6	9	15
	Range	(2.9-9.3)	(4-648.1)	(1.3-19.3)
	Median(geometric mean)	3.1(4.6)	8.9(13.38)	4.6(4.13)
	Kruskal-Wallis Probability > 0.05 (not significant)			
	$r = -0.151$; $P > 0.05$ (not significant)			

Table-4: homeostatic model assessment in diabetic patients and controls defined by obesity (body mass index).

Subjects	Homeostatic Model Assessment	Obesity by BMI (kg/m ²)		
		Normal <25	Overweight 25 - 29.9	Obese 30-40
Patients	Number	9	8	33
	Range	2.3-10.6	2.4-14.0	2.0-31.7
	Median (geometric mean)	7.15 (6.18)	7.10 (6.20)	4.40 (5.20)
	Kruskal-Wallis Probability > 0.05 (not significant)			
	$r = -0.057$; $P > 0.05$ (not significant)			
Controls	Number	6	9	15
	Range	0.9-1.5	0.8-4.3	1.1-7.2
	Median (geometric mean)	1 (1.06)	1.5 (1.78)	2 (2.32)
	Kruskal-Wallis Probability ≤ 0.01			
	$r = 0.568$; $P \leq 0.001$			

Parameter Impact on HOMA:-

To evaluate the impact of IL-12 on the median or mean of HOMA, each parameter was first classified into ordered categories (quartiles) based on the cut-off value of each parameter in the patients and controls. Accordingly, each parameter was classified into three categories; lowest quartile (the subjects had the lowest data values), inter-quartile (the average range or central 50% of data values), and highest quartile (the subjects had the highest data values). Based on this classification, comparisons were made between the three quartiles of T2DM patients and control subjects independently for each parameter to assess statistical differences between medians or geometric means of HOMA, and at the same time the correlation was also assessed. The lowest quartile of serum IL-12 level recorded the lowest HOMA mean in T2DM, while it was leveled at the range 5.6-5.8 in the inter-quartile and highest quartile groups. Such variation failed to reach a significant level, and the r value also did not score a significant correlation. In controls, the HOMA mean showed a gradual increase (1.5, 2.1 and 3.1, respectively) in the three quartiles of IL-12, but also without a significant difference. However, r value contradicted the picture, and a significant ($P \leq 0.01$) correlation between these means was recorded in the controls (Table 5).

Table-5: homeostatic model assessment (HOMA) in diabetic patients and controls divided by serum IL-12 quartiles.

Subjects	Homeostatic Model Assessment	Serum IL-12 quartiles (pg/ml)		
		Lowest	Inter-quartile	Highest
Patients	Number	5	26	19
	Range	2.7-8.4	2.3-16.9	2.0-31.7
	Median (geometric mean)	3.9 (4.0)	5.8 (5.8)	5.7 (5.6)
	Kruskal-Wallis Probability > 0.05 (not significant)			
	$r = 0.086$; $P > 0.05$ (not significant)			
Controls	Number	15	14	1
	Range	0.7-4.9	1-7.2	3.1-3.1
	Median (geometric mean)	1.3 (1.5)	1.9 (2.1)	3.1 (3.1)
	Kruskal-Wallis Probability > 0.05 (not significant)			
	$r = 0.462$; $P \leq 0.01$			

Adjusted Effect of BMI and HOMA:-

Using serum IL-12 as the dependent outcome variable, it was shown that being a diabetic is associated with an increase (although not significant statistically) in serum IL-12 level compared to controls, after

adjusting for BMI and HOMA (SPRC = 0.193). An increase in BMI was expected to be associated with a slight and a non-significant reduction in IL-12 after adjusting for HOMA and study group. The HOMA had the most important impact on the outcome variable, after adjusting for BMI and study group. An increase in HOMA index was associated with a proportional increase in serum IL-12 (SPRC = 0.250). The regression model was statistically significant and able to explain 26.7% of the observed variation in the outcome variable (serum IL-12) (Table 6).

Table-6: multiple linear regression models with investigated variables (Log^{10}) as the dependent (response) variable and age, gender, HOMA, BMI and case-control group membership as the independent variables.

Parameter- Log^{10}	Standardized Partial Regression Coefficient (SPRC)			R^2 (Model)
	Being a Case with T2DM Compared to Controls	HOMA	BMI	
IL-12 (pg/ml)	0.193	0.250*	-0.077	0.267*

* Significant ($P \leq 0.05$) correlation

Inflammation is emerging as an important mechanism for micro- and macro vascular complication of diabetes. The macrophage plays a key role in the chronic inflammatory response in part by generating particular cytokines. IL-1 β , IL-6, IL12, IL-18, TNF- α are produced primarily in macrophages and have been associated with accelerated atherosclerosis and thought to be the major cause of vascular disease as well as hyperglycemia[9,10].

Obesity is associated with moderate but chronic increase of many inflammatory markers including IL12 which is an important factor, the observation that many contradict the thought that IL12 is involved with other inflammatory markers in pathogenesis of T2DM as pro inflammatory marker[11].

In present study IL12 in controls showed positive correlation with HOMA suggesting that an inflammatory state may lead to impairment of Insulin signaling and then Insulin resistance which both are involved in the pathogenesis of T2DM.

This study showed a significant increased level in IL-12 in T2DM patients as compared to control and the multiple linear regression models revealed that the HOMA had the most important impact on IL-12. An increase in HOMA index was associated with proportional increase in serum IL-12. Wegner *et al.*, [1] demonstrated that elevated serum IL-12 levels in T2DM was related to the high fasting insulin

concentration in serum, high HOMA and c-peptide serum concentration, therefore, this cytokine may play a critical role in the pathogenesis of T2DM, but the significance of IL-12 changes in the blood of patients with T2DM remains unclear. However, it has been observed that IL-12 plasma concentrations were elevated in T2DM [5,12], and the IL-12 contributes to the process of atherosclerotic plaque formation and probably accelerates the development of macro vascular complications in the disease, as well [6,13]. Additionally, it has been noted that elevated glucose levels in diabetic animals stimulates inflammatory reactions related to IL-12 cytokine gene expression [7]. However, it is not known whether factors related to the course of T2DM, such as metabolic compensation, beta cell secretory dysfunction and insulin resistance affect IL-12 concentrations, but in a recent study, a multiple regression analysis revealed that the IL-12 serum level in T2DM primarily was dependent upon fasting pro-insulin concentration [1]. Their results demonstrated that elevated IL-12 serum levels in T2DM treated with sulphonylureas were induced especially by peripheral insulin resistance and beta cells dysfunction, as expressed by fasting serum pro-insulin levels. This finding gave the hope that treatment to decrease peripheral insulin resistance and to avoid excessive pro-insulin secretion might be successful in the prevention of IL-12-induced atherosclerosis. The study clarifies the non existence of any correlation between obesity and IL-12 in both diabetics and controls suggesting its relation to the disease process per se. However other worker demonstrated higher serum level of IL-12 in obese T2DM [14]. Additionally, it has been noted that increase level of IL-12 in DM is due to complicate interaction of insulin resistance ,hsCRP ,LDL& HDL-c from visceral fat and the adipose tissue are known for production of different pro-inflammatory cytokines [11]. It seems that the release of IL-12 and other inflametory cytokines from various cell types which may activate the production of hsCRP from liver consequently these may further enhance the progression of T2DM and cardiovascular disease.

CONCLUSIONS

Considering the BMI and HOMA in the studied groups showed that an increase in only HOMA index was associated with a proportional increase in serum IL-12 and able to explain 26.7% of the observed variation in the outcome variable therefore further considerations have to be defined to include the clinical course of disease, response to medications and nutrition regimen, as well as, the complications of T2DM; for instance, retinopathy, nephropathy, hypertension and atherosclerosis. These estimations can be further explored in metabolic syndrome. Furthermore, it will be

fruitful to interpret these augmentations in the ground of other inflammatory cytokines.

REFERENCES

- 1- Wegner, M.; Winiarsk, H.; Bobkiewicz-Kozlowski, T. & Dworacka M. IL-12 serum level in patients with type 2 diabetes treated with sulphonylureas. *Cytokine*, 2008; 42: 312-16.
- 2- Miyauchi, K.; Takiyama, Y.; Honjyo, J. & Tateno, M. Upregulated IL-18 expression in type 2 diabetic subjects with nephropathy: TGF- β 1 enhanced IL-18 expression in human renal proximal tubular epithelial cells. *Diab. Reser. Clin. Prac.* 2009; 83: 190-99.
- 3- Nosratabadi, R.; Arababadi, M. K.; Hassanshahi, G.; Yaghini, N.; Pooladvand, V.; Shamsizadeh, A.; Zarandi, E. R. & Hakimi, H. Evaluation of IFN-gamma serum level in nephropatic type 2 diabetic patients. *Pak. J. Biol. Sci.*, 2009; 12: 746-49.
- 4- Kang, B.Y.; Kim, E.; & Kim, T.S. Regulatory mechanisms and their therapeutic implications of interleukin-12 production in immune cells. *Cell Signal*, 2005; 17: 665-73.
- 5- Winkler, G.; Dworak, O.; Salamon, F.; Salamon, D.; Speer, G. & Kcseh, H. Increased interleukin-12 plasma concentration in both, insulin-dependent and non-insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetologia*, 1998; 41: 488.
- 6- Hauer, A.; Vyttenhore, C.; deVos, P.; Stroobant, V.; Renauld, I. & Van Berkel, T. Blockade of IL-12 function by protein vaccination attenuates atherosclerosis. *Circulation*, 2005; 112: 1054-62.
- 7- Wen, Y.; Cu, J.; Li, S.; Reddy, M.; Natarajan, R. & Nadler, J. Elevated glucose and diabetes promote IL-12 cytokines gene expression in mouse macrophages. *Endocrinology*, 2006; 147: 2518-25.
- 8- Wallace, T.M.; Levy, J.C. & Matthews, D.R. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 2004; 27 (6): 1487-95.
- 9- Bakker W.; Eringa, E.C.; Sipema, P.; van Hinsbergh, V.W. Endothelial dysfunction and diabetes: role of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. *Cell Tissue Res.* 2009; 335: 165-89.
- 10- Silswal, N.; Singh, A.K.; Aruna, B.; Mukhopadhyay, S.; Ghosh, S.; Ehtisham, N.Z.. human resistin stimulate the pro-inflammatory cytokines TNF-alpha and IL-12 in macrophage by NF-kB pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 344: 1092-101.
- 11- Canello, R. & Clement, K.. Is obesity an inflammation? Role of low grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue, *BJOG Intern. J. Obstet. Gyn.* 2006; 113: 1141-47.
- 12- Mirshra, M.; Kumar, H.; Bajpai, S.; Singh, R.K.; Tripathi, K.. Level of serum IL-12 & its correlation endothelial dysfunction

The Effect of High Insulin Resistance and Obesity on serum level of IL-12 in a sample of Iraqi patients with Type 2 Diabetes Mellitus

Refif, Isam, Yahya , Khalifa, Ali

insulin resistance proinflammatory cytokine & lipid profile in newly diagnose of type 2 DM. *Diabetes Research & clinical prach* .2011; 94 :255-261.

- 13- Thorand, B.; Baumer, J.; Chambles, L.; Meisinger, C.; Kolb, H.; Doring, A. et al. Elewated markers of endothelial dysfunction predict type 2 Diabetes mellitus in middle-aged men and women from the general poplulate. *Arterioslcr Thromb Vasc Biol.*, 2006 ; 26 : 398-405.
- 14- Wang, J. Adiponectin and metabolic syndrome in middle-aged and elderly Chinese. *Obesity (Silver Spring)*, 2008; 16:172–78.

Antimicrobial Agent Study Of Bacterial Isolates Isolated From Acute Ear Infection In Iraqi Patients

Raya E. AL Saade, Nihad Kh. AL Zubaide, Alaa N. Mahammed, Raghad J. fayad

¹Collage of Health and Medical Technology / Foundation of Technical Education

²Collage of Science / Ministry of Higher Education

Received 30/9/2012 – Accepted 25/12/2012

الخلاصة

ثمانية واربعون مسحة اذن جُمعت من مستشفى الكندي التعليمي في بغداد ز أُختبرت المسحات بواسطة زراعتها على وسط الدم ووسط الشوكولاتة ووسط ماكونكي لعزل البكتريا المسببة للخمج، 40 عينة اعطت نتيجة موجبة للفحص البكتريولوجي والبكتريا المسببة كانت

Proteu sp ; β-hemolytic Streptococci; Streptococcus pneumonia ; Klebsiella and E. coli

بنسب (20 و 15 و 10 و 7.5 و 5 و 2.5%) على التوالي . ومعظم الاصابات كانت بعمر 1-10 سنوات في 17 عينة بنسبة (35.41%) . هذه الدراسة تضمنت 26 رجل بنسبة (54.16%) ونساء بنسبة (45.84%) . اظهرت نتائج فحص الحساسية ضد الميكروبية ان جميع العزلات كانت حساسة للجنتاميسين و الارينثرومايسين والسيفترازيدين بينما العزلات السالبة لصبغة كرام كانت مقاومة للاموكسيسلين وسيفتاكسيم .

ABSTRACT

Forty eight swabs sample have been collected from AL-Kandy hospital for teaching in Baghdad . The swabs were tested by culturing on blood agar , chocolate agar and Mac Conkey agar for bacterial pathogens , where 40 (83.33%) was positive bacteriological test . The causative agent was *Pseudomonas aeruginosa* with 16 (40%) followed by *Staphylococcus aureus* , *Proteus sp* , *β-hemolytic Streptococci* , *Streptococcus pneumonia* , *Klebsiella sp.* and *E. coli* with total occurrence (20 , 15 , 10 , 7.5 , 5 and 2.5%) respectively , Based on age group found that 1 – 10 years were more infected 17 (35.41%) . The study includes 26(54.16%) male to 22(45.84%) female . Antimicrobial sensitivity test showed that bacterial isolates were susceptible to gentamicin , erythromycin and ceftrazidine, while gram negative bacteria was resistant to amoxicillin and ceftaxon .

INTRODUCTION

Acute Otitis Media (OAM) is the most frequent bacterial infection and the most frequent cause of antibiotic use in children. Despite of the use of appropriate antibiotic, middle ear fluid occurring after AOM may persist for weeks or months. That may lead to repeated use of antibiotics and eventually surgical intervention [1]. Then the normal ear canal contains many organisms such as diphtheroids, coagulase negative *Staphylococci* (CNS) and *Neisseria sp.*[2] and is more prone to bacterial infections than any other part of the body, these organisms can cause opportunistic infection in immune compromised persons[3,4] . Infection of the ear may be categorized into otitis external (infection of external ear) and otitis media (infection of middle ear). Because ear infections are apparently innocuous to begin with, minimum mortality is incurred by ear disease in comparison to other diseases and the ignorance of the consequences of the disease; ear infections are not

taken seriously. However, infections of the middle ear cavities may lead to grave sequelae if spread occurs to the bony labyrinth, the nerves, venous sinuses or even the brain. They may also end up by permanently handicapping the host by disabling hearing. Though the sense of hearing may not be given due importance, the dual role that it plays by aiding the development of speech in children must not be overlooked [5]. Fortunately, the external auditory canal has some special defenses. Cerumen creates an acidic coat containing lysozymes and other substances that probably inhibit bacterial and fungal growth. In addition , a little cerumen can predispose the ear canal to infection, but cerumen that is excessive or too viscous can lead to obstruction, retention of water , debris and infection [6,7] The identification of the causative agent or predominant organism and the determination of its sensitivity to the antibiotic chosen may serve as useful guides in planning the treatment of a patient. Moreover, the bacteriology of otitis, like other infections, may be appear important variations [5]. Over 50 percent of the cases of otitis media involve *Streptococcus pneumoniae* as the aetiological agent, *Haemophilus influenzae* and *streptococcus pyogenes* are also frequently involved [8].

MATERIALS AND METHODS

Fourty eight ear swab collected from patients who reported in Al – Kandy Hospital in Baghdad . The swabs were taken before the commencement of antibiotics treatment so as to prevent antibiotics from affecting of bacterial growth . All swab samples were examined by direct smear in both wet preparation and Gram staining , then inoculated onto blood agar, chocolate agar and Mac Conkey agar . The blood agar and chocolate agar plates were incubated in 2-5 % carbon dioxide at 37 C for 24 hours and extended to 48 hours if there was no bacterial growth . Mac Conkey agar plates were incubated at 37 C for 24 hours . The bacterial isolates diagnosed by Epi 20 system for Gram negative bacteria . *Staphylococcus aureus* was diagnosed by catalase test , coagulase test and cultured on Mannitol salt agar , β - hemolytic Streptococci diagnosed by Optochin disk, while *pseudomonas aeruginosa* diagnosed by gram stain , oxidase test , pyosine and green pigment significant on cetramide medium.

The susceptibility testing of the bacterial isolates were carried out by using Kirby- Bauer method and standardized filter paper disk demonstrated in (9), the bacterial isolates inoculated on Muller Hinton agar, while β - hemolytic *Streptococci* incubated on blood agar .

RESULT AND DISCUSSION

This study included using 48 samples , 40 (83.33%) samples revealed bacterial growth while 8 (16.67%) samples showed no growth . The patients recruited for this study were between one year to 40 years of ages since 26(54.16%) were male and 22 (45.84%) were female . The results in the table (1) showed that high frequency of ear infection in age 1-10 year with high percentage 17(35.41%) because of middle ear condition are probably the most important relatively to the upper respiratory tract with 75% of all cases of acute otitis media (AOM) occurring in children under the age of 10 years referred to as glue ear is very high [12], the male more affected than female (38.46 , 31.8)% respectively , the leading risk factors are male gender may be due to lack of breastfeeding , the number of the persons living in the house , smoking in the house , living in the a region of air pollution , missing vaccination and nutritional mistake [10,11].While female high affected than male in 31 -40 years with31.8% . Table -2- showed that bacterial isolates from ear infection as a causative agent in 40(83.33%) patients . The results in this study appeared that *Pseudomonas aeuroginosa* and *Staphylococcus aureus* with high percentage (40 , 20%) respectively. The comparison of this study with others found that *Staphylococcus aureus* had highest percentage (49.4)% and *Pseudomona s aeuroginosa* (21%) with the maximum isolates were recovered from the patients with age group 11-20 years [5,8] while our study found that the most common bacterial isolates from patients with age group 1-10 years indicating that the disease incidence was high in the patients of the first decade of life . The isolation of *Pseudomonas aeuroginosa* , *Proteus sp* and *Staphylococcus aureus* are usually encountered during otitis external [13] among them , *Pseudomonas aeuroginosa* is more indicative of otitis external malignant [14] . While *Pseudomonas aeuroginosa* , *E. coli* , *Klebsiella sp* , and *Proteus sp.* are organism usually encountered chronic otitis media [15]. The result in table 3 and 4 was observed that causative agent as mixed from ear infection , these tables appeared high percentage of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* with (37.5 , 25 %), respectively. Moreover, these situations of mixed microbial superinfection often result in increased morbidity or mortality over that caused by the primary viral or bacterial infection and are founded on synergistic processes in which specific diseases exist only if several microbes are present [16] . The comparison of direct examination with bacterial isolates denoted that all bacterial isolates related with direct smear positively .Table [5] showed that many antimicrobial agent such as augmentin ,ampicillin ,erythromycin ,chloramphincol and tetracycline are normally prescribed for the treatment of bacterial otitis media [17] The antibiotics sensitivity

pattern of gram positive isolates showed the most sensitive antibiotics was erythromycin and gentamycin . On the other hands , the most effective antibiotics for gram negative isolates was found gentamycin , this finding similar to [5] and ceftrazidine effective against *Pseudomonas aeuroginosa* and *Proteus* sp. The least effective antibiotics for both gram positive and gram negative isolates was amoxicillin , cholarmphincol and ceftaxon . We conclude that *Pseudomonas aeuroginosa* and *Staphylococcus aureus* are a causative agent in ear infection in this study and showed sensitivity to gentamycin , erythromycin and cefatrazidine .

Table-1:Distribution of samples according to age and gender

Age interval (years)	Total NO.of sample		Gender	
	NO	%	Male NO	Female NO
1-10	17	(35.41)	10 (38.46)	7 (31.8)
11-20	12	(25)	7 (26.92)	5 (22.7)
21-30	8	(16.6)	6 (23.07)	2 (9.09)
31-40	10	(20.88)	3 (11.53)	7 (31.8)
>40	1	(2.08)	---	1 (4.54)
Total	48	(100)	26 (54.16)	22 (45.84)

Table-2 : Single cultured isolated from ear infection

Bacterial isolate	NO	%
<i>Pseudomonas aeuroginosa</i>	16	40
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	20
β hemolytic streptococcus	4	10
<i>Streptococcus pneumonia</i>	3	7.5
<i>Proteus</i> sp	6	15
<i>Klebsiella</i> sp	2	5
<i>E. coli</i>	1	2.5
Total	40	83.33

Table-3 : Prevalence mixed bacterial culture isolated from ear infection

Mixed bacterial culture	Type of bacteria
β hemolytic streptococcus + <i>Staphylococcus epidermidis</i>	1+1
β hemolytic streptococcus + <i>Pseudomonas aeuroginosa</i>	1+1
β hemolytic streptococcus + <i>Klebsiella</i> sp	1+1
β hemolytic streptococcus + <i>Staphylococcus aureus</i>	1+1
β hemolytic streptococcus + <i>Staphylococcus epidermidis</i>	1+1
β hemolytic streptococcus + <i>Staphylococcus aureus</i>	1+1
<i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Pseudomonas aeuroginosa</i>	1+1
<i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Klebsiella</i> sp	1+1
Total	16

Table-4 : The percentage of mixed culture isolated from ear infection

Organisms	NO.	%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	12.5
<i>β-hemolytic Streptococcus</i>	6	37.5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	25
<i>Klebsiella sp</i>	2	12.5
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-
Total	(8)16	100

Table-5 : Percent antibiotic resistance of bacterial isolates

Antibiotics bacteria	AMX R<14 mm	GEN R< 12 mm	CAZ R< 14mm	CHL R<_12 mm	ERY R<_13 mm	TX R<_14 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	65	50	10	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	30	10	30	45	0
<i>β-hemolytic treptococcus</i>	0	60	10	10	5	10
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	65	20	10	65	15
<i>Proteus sp</i>	10	50	30	20	15	0
<i>Klebsiells sp</i>	0	100	0	0	0	0
<i>E. coli</i>	0	50	0	0	0	0

AMX: amoxicillin , GEN : Gentamycine , CAZ Ceftrazidine , CHL : Chloramphenicol , ERY: Erythromycin TX: Cefotaxoime

REFERENCES

- 1- Aydemir G. , Meral C , Suleymanoglu S. Karademir F. and Senger T . Bacterial etiology of acute middle ear infection . African Journal of Microbiology Research, Vol .4, No.4 , 289-292 (2010)
- 2- Ahmed N . , Etherdge C. , Farrington M . , and Daguley D.M . Prospective study of the microbiological flora of hearing and moulds and the efficacy of current cleaning techniques . J . Laryngol. Otol , Vol. 121, 110-113 (2007)
- 3- Kemp R.J . and Bankaitis A.E . Infection control for audiologists .In : Handbook of Audiology . Dunn H. , Roesser R. and Valente M . (eds) Thieme Publishing , p. 257-272 , 2000 , New York.
- 4- Bankaitis A.U . What's growing on your patients hearing aids ? A study give you an idea . Hearing J, Vol. 44, 48-54 (2002)
- 5- Arjyal C . , Adhikari S. , and Shrestha J. Bacteriological study of ear discharge in Bir Hospital . Journal of Nepal Medical Association , Vol. 41 , 318-322 (2002)
- 6- Kelly K.E . , and Mohs C.C . The external auditory canal . Anatomy and Physiology . Otolaryngol . Clin , VOL. 29 , p. 725- 739 , 1996 , North . Am .

- 7- Nichols A.W. Non orthopedic problems in the aquatic athlete .Clin . Sports . Med,Vol. 18 , p. 395-411, 1999
- 8- Shamsuddeen U. , Usman A.D , Bukar A. , and Safiya I.A . Bacterial agents of Otitis media and their sensitivity to some antibiotics in Aminu Kano Teaching Hospital , Kano State . Bayero Journal of Pure and Applied Sciences,Vol. 3 ,No.1, 191-194 (2010)
- 9- Morello J.A . , Mizer H.E . and Granato P.A . Laboratory Manual and Workbook in Microbiology Application to Patient Care . 8th (ed) . Mc Graw Hill , Higher Education, p. 95-97, 2006 , New York
- 10- Rovers M.M . , Dekok I.M . and Schilder A. Risk factor for otitis media : An international prespective . Int . J. Pediat. Otorhynolaryngol,Vol.(70) , 1251- 1256 (2006)
- 11- Daly K.A. , Rovers M.M. ,Hoffman H.J. ,Uhari M. , Casselbrant M.L. ,Zeilhuis G . ,and Kvaerner K.J . Recent advances in otitis media : Epidemiology natural history and risk factors . Ann . Otol. Rhino. Laryngol ,Vol. 194 ,p. 8-15, 2005
- 12- Scottish Intercollegiate Guidelines Network . Diagnosis and Management of Childhood Otitis Media in Primary Care . National Clinical Guideline , p. 1-2 , 2003.www.sign .ac.UK .
- 13- Singer D.E . , Freeman E. , Hoffert W.R . , Keys R.J . , Mitchell R.B . and Hardy A.V . Otitis external bacteriological and mycological studies . Annals of otology . Rhinology and Laryngology ,Vol. 61, p. 317-333, 1952
- 14- Chandler J.R. Malignant external otitis :Further considerations . Annals of otology , Rhinology and Laryngology,Vol. 86 , p.417-428 , 1997
- 15- Noone P. Anatomy of the ear . In :Scott Brown`s Disease of the Ear , Nose and Throat . 4th ed. .Ballantyne J .and Groves J . (eds) . Vol .1 . Basic Sciences , p.1-65 , 1984
- 16- Mackowiak P. A. Microbial synergism in human infections (first of two parts) , Vol. 298, p.21-26 , 1978 , N. Engl. J. Med..
- 17 – Pichichero ME . Dialogues in acute otitis media . In : Abbott Laboratory 1:1 . Senuturia BH . , Gessert CF. , Carr CD . AND Baumann ES . Studies concerned with tubotympanitis ,Vol. 67, p. 440-67, 1968.

Prevalence of Hepatitis B virus infection in al-Taji district

Abbas Arrak Abbas al-Tamimi

Biology dept., college of science, Al-Mustansiriyah University

Received 16/9/2012 – Accepted 25/12/2012

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة المقطعية لبحث مدى انتشار الإصابة بفايروس التهاب الكبد نمط ب في قضاء التاجي، محافظة بغداد. تم جمع 378 عينة دم عشوائياً من مراجعين لعيادات خاصة ولمراكز الرعاية الصحية في القضاء للفترة من كانون الثاني 2011 لغاية آذار 2012. تم فحص العينات للكشف عن وجود المستضد السطحي لفايروس التهاب الكبد نمط ب (HBsAg) ومن ثم أجريت فحوص الكشف عن مستوى البيليروبين وإنزيمات الكبد الأخرى على العينات الموجبة. كشفت الدراسة عن وجود سبعة مصابين بالتهاب الكبد نمط ب وأن معدل انتشار الإصابة كان 1.8% في هذه الدراسة. لقد وجدت الدراسة بأن انتشار الإصابة بفايروس التهاب الكبد نمط ب كان أعلى من ذلك المسجل من قبل قطاع الرعاية الصحية في التاجي لكنه أقل من النسبة المسجلة من قبل منظمة الصحة العالمية أو من باحثين آخرين.

ABSTRACT

This cross-sectional study was conducted to investigate the prevalence of Hepatitis B virus (HBV) infection in al-taji district, Baghdad governorate. 378 blood samples were collected randomly from visitors of private and public health clinics from January 2011 to March 2012. Samples obtained were examined for HBsAg presence and the positives were further tested for the level of bilirubin and liver enzymes (serum glutamic-oxaloacetic transaminase (SGOT), serum glutamic-pyruvic transaminase (SGPT), and alkaline phosphatase). Seven HBsAg positive patients found and the prevalence of HBV infection was 1.8% in this study. HBV prevalence found to be higher than that recorded by the local healthcare center but it is lower than the range recorded for Iraq by other researchers and world health organization.

INTRODUCTION

Hepatitis B virus infection presents a global health problem. Worldwide, at least 2 billion people or one third of the world's population have been infected with HBV (1). Approximately 378 million people are chronic carriers and around one million persons die of HBV-related causes annually (2, 3). Furthermore, 4.5 million new HBV infections occur worldwide each year, of which a quarter progresses to liver disease (4).

It is estimated that 40% of the world's population has had contact with or are carriers of the hepatitis B virus (2). Thus, HBV infection is one of the most important infectious diseases worldwide (5). Hepatitis B virus (HBV) can cause both acute and chronic infection and HBV carriers are at risk for the development of cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC), and patients with chronic infection require life-long monitoring (6). There is a wide range of HBV prevalence rates in different parts of the world. HBV prevalence varies from 0.1% up to 20%. Low prevalence areas (0.1-2%) are Western Europe (with wide variation within Europe), United States and Canada, Australia and New Zealand; intermediate prevalence (3-5%) are the Mediterranean countries, Japan, Central Asia, the Middle East, and Latin and South America; and high prevalence areas (10-20%) southeast Asia, China, and sub-Saharan

Africa (3,7). This diversity is probably related to differences in the age at infection, which correlates with the risk of chronicity. The progression rate from acute to chronic HBV infection decreases with age. It is approximately 90% for an infection acquired perinatally, and is as low as 5% (or even lower) for adults (8). HBV is transmitted parenterally through blood and body fluids, and perinatal infection or horizontal transmission in infancy or childhood is responsible for the high carrier rate in endemic areas (9). Infected carriers are prone to major morbidity and mortality if chronic hepatitis progresses to cirrhosis and HCC, highlighting the need for a focused global effort on developing global vaccination programs and effective antiviral therapy (10).

Several factors will increase the likelihood of developing liver damage and HCC in chronic HBV infection. Viral factors include HBV genotype; persistently elevated HBV DNA levels; and specific mutations in the HBV genome, including mutations in the precore (PC) and core promoter regions of the virus (11).

Ten hepatitis B virus (HBV) genotypes (A-J) and 34 HBV subgenotypes have been identified so far. HBV genotypes and subgenotypes have distinct geographical distributions, and have been shown to differ with regard to clinical outcome, prognosis, and response to interferon treatment (12). Genotype D is found in the Mediterranean countries, Eastern Europe, the Middle East (11) and Iraq (13), and the Indian subcontinent and has been associated with chronic anti-HBe-positive hepatitis B (14). Comparison studies have suggested that genotype D is associated with a more adverse outcome than other genotypes like genotype A2 (15). Subgenotype D1 is predominant in Moslem ethnicity (12) and also in Iraq (16). Spontaneous HBeAg seroclearance (an indicator of recovery) was significantly higher in genotype A carriers than in carriers of genotypes B, C, D, and F (12). Data from India have shown that HBV subgenotype D1 is significantly associated with chronic liver disease (17). Moreover, Genotypes A and B are more sensitive to interferon treatment than genotypes D and C, respectively (12).

Diagnosis of HBV infection includes determination of virological markers: viral antigens (HBsAg, HBeAg), specific antibodies (anti-HBc, anti-HBe, anti-HBs) and study of HBV-DNA for its detection and quantification and determination of genotypes and viral variants (18).

Very little is known about the real numbers of HBV prevalence in Iraq, however, there are few researches reported that HBV prevalence ranges from 4 to 5% in Iraq, while the numbers vary in the neighbor countries as it is 0.8 to 7% in Iran, 2 to 5% in the UAE, 2.3 to 10% in Oman, 2.6 to 10% in Jordan, 5 to 6% in Palestine, 5 to 10% in Turkey, 7.4 to 17%

in Saudi Arabia, 12.7 to 18.5% in Yemen (19, 20). Because of the high prevalence of HBV infection and the severity of the predominant genotype in Iraq, as the data mentioned before, which necessitate the demand for real treatment, this study was conducted to investigate the prevalence of HBV infection in al-Taji district.

Al-Taji district, 30 km to the north of Baghdad inhabited by about 600,000 before occupation, then decreased to the half during the years followed the occupation because of the immigration of many families as a result of sectarian violence and security reasons. The total number of al-taji population now is about 175000 persons according to the local authority (personal communication) while the number recorded by al-Taji healthcare sector is 135000 persons. Like other districts at Baghdad extremities, citizens gather between rural and urban life styles. Al-taji is covered by six public health care centers. For security reasons, people who inhabited along Dijlah River (about 12731 individuals according to al-Taji healthcare sector data) are not included in this study.

MATERIALS AND METHODS

A total of 378 blood samples collected randomly from individuals at different ages lived in different locations in al-Taji district. Blood samples were tested for the presence of HBsAg by rapid ultra HBsAg strips (Acon laboratories). Positive results were confirmed by ELISA (HBsAg ELISA kit, plasmatec, UK) and further evaluated for the level of bilirubin and liver function tests (Serum Glutamic-Oxalocetic Transaminase (SGOT), Serum Glutamic-Pyruvic Transaminase (SGPT), alkaline phosphatase) (Biolabo SA Maizy, France). Other related informations about each HBsAg positive cases were recorded. The percentage of infection was calculated as a measure of prevalence.

$$\text{Prevalence} = \frac{\text{Number of subjects having the disease at a time point}}{\text{Total number of subjects in the population}} \%$$

RESULTS AND DISCUSSION

Out of 378 samples tested, 7 samples found to be HBsAg positive by rapid test. These samples were confirmed by ELISA and further tested for liver functions (total serum bilirubin, SGPT, SGOT, and alkaline phosphatase) as shown in table (1).

Table -1: Results of liver function tests of HBV patients.

No.	Age (year)	sex	SGPT (iu/l)	SGOT (iu/l)	ALT (iu/l)	TSB (mg/dl)
1	70	M	655	535	170	9.3
2	45	M	40	25	33	0.7
3	30	F	345	250	190	4.8
4	15	F	80	55	120	2.8
5	13	F	65	55	100	3.0
6	10	M	35	30	90	1.4
7	8	M	30	30	85	1.2
Normal values			Infants=13-45 Men=10-40 Women=7-35	Newborn=39-117 Infant=23-94 Adult=13-31	Infant=71-142 Adults=21-92	0.2-1.4

Notes: SGOT=Serum Glutamic-Oxaloacetic Transaminase, SGPT=Serum Glutamic-Pyruvic Transaminase, ALP = alkaline phosphatase, TSB= total serum bilirubin, F= female, M = male.

Other related informations about each HBsAg positive cases such as ultrasound reports and the Suspected Source of infection acquisition were also recorded. These results are shown in table (2).

Table-2: Descriptions of HBV infected patients in the study group.

No.	Age (year)	sex	occupation	Suspected Source of infection	remarks
1	70	M	driver	nosocomial	cirrhotic
2	45	M	butcher	unknown	carrier
3	30	F	Housewife	nosocomial	splenomegaly
4	15	F	-	maternal	splenomegaly
5	13	F	-	maternal	splenomegaly
6	10	M	-	maternal	normal
7	8	M	-	maternal	normal

Two HBsAg positive cases (numbers 1 and 3) suspected to be hospital acquired infections since there is no history of surgery (minor or major) or blood transfusion or any other known risk factor of infection acquisition. Case number one was HBsAg negative, then he subjected for a surgery in al-Kadhimiya Teaching Hospital and after one year he developed jaundice and confirmed as HBsAg positive.

The second case was a housewife subjected for a cesarean operation 16 years ago at the same hospital and became infected and transmitted the infection to her following four children (numbers 4, 5, 6, and 7). It is noteworthy to mention that the fifth child found to be HBsAg negative since he received a vaccine shot at the delivery. Some members (at least) of this family are not recorded in the data of HBV incidence of the local healthcare sector. The source of infection in the other HBsAg positive cases was unknown.

The percentage of HBV infection was 1.8%. This percentage is lower than that published by the world health organization and other researchers.

Hepatitis B virus infection is 95% preventable with proper use of the hepatitis B vaccine. Following the implementation of a nationwide hepatitis B vaccination program in Taiwanese infants and children (for

example), HBV carrier rates declined from almost 9.8% in 1984 to 0.7% in 1999 among adolescents (21). Although universal childhood immunization has been adopted in over 80 countries, there will continue to be new cases of HBV infection in countries with hyperendemic rates of hepatitis B. This is especially problematic in developing countries that either cannot afford the vaccine or are unable to access large parts of their population.(3)

Although there is no data of HBV prevalence in al-Taji, the new infections (incidence) recorded by the local healthcare sector during the same time of this study proceeding was 0.0029%. The prevalence of HBV infection in al-Taji district is low in comparison to that recorded by the national health organization for the whole of the country during the years of occupation and this difference is due to many reasons such as:

- The immigration of many families out of al-Taji to other governorates.
- Risk factors responsible for infection acquisition (like tattoo, drug injections, multi-partner sexual relationships, etc) are little or within narrow limits in comparison to that in the large cities.
- Because of their slightly hard life style, most of the people do not visit health care centers or just in emergency cases.

However, we found that hospital acquired infection is an important route, in spite of the limited numbers of infections reported, and the need for the proper treatment , as well as public educational programme is required.

REFERENCES

1. Forbi JC, Vaughan G, Purdy AM, Campo DS, Xia GL, Ganova-Raeva LM, Ramachandran S, Thai H, and Khudyakov YE. "Epidemic History and Evolutionary Dynamics of Hepatitis B Virus Infection in Two Remote Communities in Rural Nigeria". *PLoS One.*, 5(7): e11615 (2010).
2. Goldstein ST, Zhou F, Hadler SC, Bell BP, Mast EE, *et al.* " A mathematical model to estimate global hepatitis B disease burden and vaccination impact" . *Int J Epidemiol.*, 34:1329–1339 (2005). [PubMed]
3. Lee WM. "Hepatitis B virus infection". *N Engl J Med.*, 337:1733–1745 (1997). [PubMed]
4. Zanetti AR, Van Damme P, and Shouval D. "The global impact of vaccination against hepatitis B: a historical overview". *Vaccine*, 26:6266–6273 (2008). [PubMed]
5. Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C, and Wedemeyer H. " Hepatology 2009 a clinical textbook. www.Hepatologytextbook.com Chapter 2: Hepatitis B - Epidemiology, transmission and natural history", P 25 (2009) Flying Publisher, USA .

6. Coffin CS, and Lee SS, "Chronic Hepatitis B – Who Should Be Treated?" *MedGenMed.*, 8(1): 75 (2006).
7. Lok A. "Hepatitis B infection: Pathogenesis and management". *J Hepatol.*, 32:89–97 (2000). [PubMed]
8. Wasley A, Grytdal S, and Gallagher K. "Surveillance for acute viral hepatitis--United States", 2006. *MMWR Surveill Summ* 2008; 57(2):1.
9. Fattovich G. "Natural history of hepatitis B". *J Hepatol.*, 39:S50–S58 (2003). [PubMed]
10. Ganem D and Prince A. "Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences". *N Engl J Med.*, 350:1118–1129 (2004). [PubMed]
11. McMahon BJ, "Natural History of Chronic Hepatitis B – Clinical Implications". *Medscape J Med.*, 10(4): 91 (2008).
12. Cao GW. "Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations". *World J Gastroenterol.* December 14; 15(46): 5761–5769 (2009).
13. Baig S, Siddiqui A, Chakravarty R, and Moatter T. "Hepatitis B virus subgenotypes D1 and D3 are prevalent in Pakistan". *BMC Res Notes.*, 2: 1 (2009).
14. Hadziyannis SJ and Vassilopoulos D. "Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B". *Hepatology*, 34:617–624 (2001). [PubMed]
15. Fung SK and Lok AS. "Hepatitis B virus genotypes: do they play a role in the outcome of HBV infection?" *Hepatology*, 40:790–792 (2004). [PubMed]
16. Chandra PK, Biswas A, Datta S, Banerjee A, Panigrahi R, Chakrabarti S, De BK, and Chakravarty R. "Subgenotypes of hepatitis B virus genotype D (D1, D2, D3 and D5) in India: differential pattern of mutations, liver injury and occult HBV infection". *J Viral Hepat.*, 16:749–756 (2009). [PubMed]
17. Bläckberg J, Braconier JH, Widell A, and Kidd-Ljunggren K. "Long-term outcome of acute hepatitis B and C in an outbreak of hepatitis in 1969–72" *Europ J Clin Microbiol Infect Dis.*, 19:21-26 (2000).
18. Rodriguez-Frias F and Jardi R. "Molecular virology of the hepatitis B virus". *Enferm Infecc Microbiol Clin.*, Dec; 26(10):675 (2008).
19. Poustchi H, Sepanlou SG, Esmaili S, Mehrabi N, and Ansarymoghdam A. "Hepatocellular Carcinoma in the World and the Middle East". *Middle East Journal of Digestive Diseases*, Vol.2, No.1, January (2010).
20. Qirbi N and Hall AJ. "Epidemiology of hepatitis B virus infection in the Middle East". *East Mediterr Health J.*, 7:1034-45 (2001).
21. Chang MH, Chen CJ, Lai MS, *et al.* "Universal hepatitis B vaccination in Taiwan". *N Engl J Med.*, 336:1855–1859 (1997). [PubMed]

Correlation Between Lymphocytes CD3,CD8 In Patients With Gastric Adenocarcinoma By Using Immunohistochemical Assay

Noor Al-Huda Ali A. H. Saeed

Dept. of Biology, College of Science, University of Al-Mustansiriya

Received 18/1/2013 – Accepted 29/4/2013

الخلاصة

صممت هذه الدراسة لتوضيح علاقة المرشح اللمفاوي CD3, CD8 لبعض المرضى المصابين بسرطان المعدة. ولأختبار هذان المرشحين اللمفاويان وعلاقتهم ببعض العوامل مثل (العمر، الجنس، الحالة المرضية ودرجة التمايز الورمي) لهؤلاء المرضى. ان تعبير العلاقة بين هذان المرشحين وسرطان المعدة قيم بأستخدام تقنية التصبغ المناعي. الخزعات النسيجية المأخوذة في هذه التجربة 46 مريض مصاب بسرطان المعدة ممن خضعوا لعملية استئصال المعدة. هذه العينات تم جمعها خلال الفترة ما بين ايلول 2010 لغاية اب 2011 وقد اوضحت النتائج ان المرشح اللمفاوي CD3 تم تشخيصه بطريقة التصبغ المناعي في 28 عينة من اصل 46 عينة (60.86%) بينما تم تشخيص CD8 في 19 عينة من اصل 46 عينة مرضية (41.30%). شملت هذه العينات النسيجية 24 عينة ضعيفة التمايز و18 عينة جيدة التمايز و4 عينات متوسطة التمايز على الترتيب. تم ايجاد علاقة عالية المعنوية بين CD3 وكل من العمر، الجنس، الحالة المرضية ومستوى التمايز الورمي. كما وجدت علاقة ذات معنوية عالية ايضا بين CD8 وكل من الجنس والتمايز ومستوى الورم. بينما لم توجد أي علاقة معنوية بين CD8 والعمر ولأنك المرضى. حوالي اكثر من ضعف العينات التي درست وقعت في وسط واول مستويات المرض 0, I, II ونسبة عدد المرضى الرجال للنساء بلغت 2:1.

ABSTRACT

This study was designed to characterized the correlation of lymphocytes CD3 and CD8 in gastric adenocarcinoma patients and to determine these two markers in relation with some aspects (age, gender, grade and stage) of those patients. The expression of correlation between CD3, CD8 and gastric cancer was assessed by immunohistochemistry assay. Results revealed that gastric tissue sections were collected from 46 patients with gastric adenocarcinoma who had undergone gastrectomy. These samples were collected during the period between September 2010 to August 2011. lymphocytes marker CD3 was detected immunohistochemically in 28 patients (60.86%) out of 46. So, the CD8 was detected in 19 (41.30%) out of 46 and the histological grade included 24, 18 and 4 (poor, well and moderate) differentiated respectively and double of the malignancies were localized to the middle and lower third of the stomach stage 0, I and II. Also, results indicated that the positive results of CD3 was significantly higher related to each of age, gender, histological grade and stage of the tumor, whereas the positive results in cytotoxic T-lymphocyte CD8 was significantly higher related to each of grade, gender and histological stage of the tumor, but there was no significant correlation between CD8 expression and the age of these patients.

INTRODUCTION

Gastric cancer is the second most common cancer worldwide [1]. Stomach cancer or gastric cancer refers to cancer arising from any part of the stomach, it is causes about 800000 deaths worldwide per year [2]. Stomach cancers are classified according to the type of tissue where they originate, the most common type of stomach cancer is adenocarcinoma, which starts in the glandular tissue of the stomach and accounts for 90% to 95% of all stomach cancer [3]. Lauren, classified

gastric adeno into two histological types, intestinal and diffuse according to morphological features of tumor [4,5].

Recently , incidence and mortality rates of gastric carcinoma have declined overall. In Asian contries, gastric carcinoma remains the most common form of cancer [6,7]. It is may often be multifactorial , involving both inherited predisposition and environmental factors. Environmental factors implicated in the development of gastric cancer include diet, *Helicobacter pylori* infection, previous gastric surgery, atrophic gastritis and radiation exposure[8,9].

The determining of prognosis for a patient with gastric carcinoma has not yet been well studied, It is generally agreed that there is a correlation between the infiltration of immune cells within a tumor and tumor development. Therefore , the distribution of various types of immune cells detected in gastric carcinoma may provide useful information for patients prognosis [6,7].

T- lymphocytes are crucial cellular components of the adaptive immune system. They are activated by specific antigens that stimulate them to exert their helper, effector or regulatory functions to mount and orchestrate an efficient immune response and to establish immunological memory [10].

Recent studies have shown the several types of tumor infiltrating lymphocyte (TIL) are associated with better disease out come for various human cancers [11,12], CD8 T-cells mostly play a role in killing antigen bearing cells that are infected or cancerous [10]. The number of CD8 T-cells within the cancer cell is a significant prognostic factor in gastric carcinoma patients[13].

CD3 is an important marker in the classification of malignant, also this marker is useful in the identification of T-cells[14]. CD3 impairment has been detected not only in peripheral blood lymphocytes (PBL), but also in tumor infiltrating lymphocytes (TIL)[15]. CD3 antigen, formerly thought to be specific for T-lymphocytes , has been found on gastric parietal cells in animal and humans [16].

MATERIALS AND METHODS

Paraffin embedded block samples were obtained from 46 iraqi patients with gastric adenocarcinoma . Whom already undergone surgical operations at Baghdad Medical City between 2010-2011. None of those patients had received anticancer therapy before the surgery . The male – female ratio 2:1 with 32 male and 14 female with mean age 54 years ranged between (30-72)years . Compared with 18 apparently healthy

control where there ages and sex were matched to patients group. CD3 and CD8 were determined in specimens using immunohistochemistry and performed as recommended in leaflet with kits.

- The detection system used for CD3 and CD8 was Immunohistochemistry(IHC).

Universal Dakocytomation labeled Streptavidin-Biotin 2 system, Horseradish Peroxidase (LSAB-2 system. HRP). Ready to use detection system, code no. K0673 (CA.USA). for (IHC).

- Ready to use primary antibody (polyclonal Rabbit Anti Human CD3. code no. Nr. A0452. Dakocytomation. Denmark.

Ready to use primary antibody (Monoclonal Mouse Anti Human CD8. Clone:C8/ 144B. code no. Nr. M7103. Dako.Denmark.

Immunohistochemical assay:

Paraffin embedded block were sectioned in 4 μ m thickness by using microtome. All these sections were deparaffinized and dehydrated. These specimens were dewaxed in xylene, a series of (100,90,70) and D.W respectively, then placed in an endogenous peroxidase block for 25 min., added CD3 or CD8 as a primary Ab in each of samples for 90 min., washing with PBS , secondary Ab was added and incubated for 1 hr. in humid chamber, streptavidin for 30 min. counterstained by Mayer's hematoxyline , dehydration by using serial of ethanol(70,90,100)% and xylene.

Statistical analysis:

The statistical analysis system –SAS [17] was used to effect of differences factors in study parameters. The chi-square χ^2 test at the comparative between percentage in this study.

RESULTS AND DISCUSSION

The total number of (46) specimens of gastric adenocarcinoma were studied immunohistochemically by using monoclonal antibody to detect for CD8 cytotoxic T-lymphocyte and polyclonal antibody to detect CD3 TIL.

Results showed that the mean age for our patients was 54 years ranged between (30-72)years. Our results were consistent with several previous reports [18,19] who reported that the mean age was 58 and 57 years respectively, and the male to female ratio in our study was 2:1 with 32 male and 14 female. This finding results was confirmed with [20] who

reported that male to female ratio was 2:1 with 14 male and 8 female. In our study there was highly significant and highly percentage in the tumor occurrence in stage I,II in both of CD3 and CD8 , this finding confirmed with [22] who found that CD3 in patients with stage IV lower than that with stage I,II and III, but the difference was not statistically significant, and [18]who found that CD8 significantly related to the staging at ($P=0.012$).Also results indicated that the poor differentiated carcinoma were detected in 24 cases out of 46 , this finding agree with [21] who reported that gastric cancer was an extremely cellular tumor composed of poorly differentiated carcinoma cells.

As shown it table (1) the positive results for CD3 in total number of 46 cases was detected in 28 samples (60.86%) this finding results confirmed with Sumiya *etal*, [23] and Kim *etal*, [24] who reported that CD3 expression in PBL in gastric cancer had significantly higher levels. The highly significant correlation between CD3 TIL and gastric adenocarcinoma patients age, sex, grade and histological stage of the tumor (0.0093),(0.0093),(0.0128) and (0.0014) respectively at ($P < 0.01$). The finding of the present study came in occurance to [25] who reported that the populations of CD3+ T- lymphocytes in patients with stomach cancer were significantly higher in comparison with healthy donors.

As we shown in table (2) the positive results of CD8 was detected in 19 cases out of 46 (41.30%) this finding was disagree with Ju- gao Chen *etal*., [18] who reported that 96.9% was detected from his study.

As results in table (2) showed that no significant correlation found between CD8 and the age of the patients at ($P= 0.0934$) it was agreed with [26] who found that CD8 ratio had no significant correlation with sex ,tumor location and histologic differentiation.

Its conclude from this study there are highly significant relation between CD8 and CD3 with histological grade and stage of gastric cancer, so, it was useful in clinical evaluation of patients with gastric adenocarcinoma.Tumor removal may improve the celluler immunity of patients.

Table -1 : The distribution of gastric adenocarcinoma patients according to their age, sex, grade and histological stage in relation with tumor infiltrating lymphocyte (TIL) CD3

The factor	CD3 positive% Total No.=28	CD3 Negative% Total No.=18	p-value($p \leq 0.01$) and χ^2 value
Age			
≤ 50	9(32.14)	10(55.56)	0.0093
> 50	19(67.86)	8(45.44)	$\chi^2= 9.463$ **
Grade			
Well	10(35.71)	8(45.44)	0.0128
Moderate	4(14.29)	0(0.00)	$\chi^2= 7.833$ **
Poor	14(50)	10(55.56)	
Gender			
Male	19(67.86)	13(72.33)	0.0093
Female	9(32.14)	5(27.67)	$\chi^2= 9.463$ **
Stage			
0 , I , II	20(71.43)	12(66.67)	0.0014
III , IV	8(28.57)	6(33.33)	$\chi^2= 9.960$ **

P < 0.01

** Highly significant

Table -2 : The distribution of gastric adenocarcinoma patients according to their age, sex, grade and histological stage in relation with tumor infiltrating lymphocyte (TIL) CD8

The factor	CD8 positive% Total No.= 19	CD8 Negative% Total No.= 27	p- value($p \leq 0.01$) and χ^2 value
Age			
≤ 50	9(47.37)	9(33.33)	0.0934
> 50	10(52.63)	18(67.67)	$\chi^2= 2.153$ * NS
Grade			
Well	7(36.84)	11(40.74)	0.0027
Moderate	1(5.26)	3(11.11)	$\chi^2= 8.427$ **
Poor	11(57.89)	13(48.15)	
Gender			
Male	13(68.42)	19(70.37)	0.0091
Female	6(31.58)	8(29.63)	$\chi^2= 9.577$ **
Stage			
0 , I , II	13(68.42)	21(77.78)	0.0091
III , IV	6(31.58)	6(22.22)	$\chi^2= 9.577$ **

P < 0.01

** Highly significant

*No significant

REFERANCES

- 1- Bozzetti F. , Marubini E., and Bonfanti G. , Subtotal versus total gastrectomy for gastric cancer : five- year survival rates in a multicenter randomized Italian trial. Italian Gastrointestinal Tumor Study Group. Ann Surg. 230 : 170-178,(1999).
- 2- “ Cancer (Fact sheet N° 297)” World Health Organization. February (2009).

- 3- Gore R. , *Gastrointestinal Cancer. Radiol Clin North Am.* ; 35:295-310, (1997).
- 4- Lauren P., The two histological main types of gastric carcinoma : diffuse and so-called intestinal-type Carcinoma. *Acta pathol . Microbiol. Scand.*, 64:31-49, (1965).
- 5- Correa P. , and Cheu V. W., Gastric cancer. In: R. Doll, J. F. Fraumeni, Jr. , and C. S. Muir (eds.), *Trends in Cancer Incidence and Mortality*, pp. 55-75. plainview, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press,(1994).
- 6- Jemal A., Siegel R., Ward E. etal. *Cancer Statistics, CA Cancer J clin.*; 57 (1):43-66,(2007).
- 7- Parkin D M., Bray F., Ferlay J. etal . *Global Cancer Statistics*, (2002).*CA Cancer J Clin.*; 55(2):74-108, (2005).
- 8- Bertuccio P. , Chatenoud L. , Levi F., etal ., “ Recent patterns in gastric cancer : a global overview” , *International Journal of Cancer*, vol. 125, no. 3, pp.666-673, (2009).
- 9- Chen J., Bu X. L. , Wang Q., Hu P. J. , and Chen M. H., “ Decreasing seroprevalence of helicobacter pylori infection during 1993-2003 in Guangzhou, Southern China” *Helicobacter*, vol. 12, no. 2, pp.164-169,(2007).
- 10- Castellino F., Germain R. N., Cooperation between CD4+ and CD8+ T cells : when, where, and how. *Annu. Rev. Immunol.* 24, 519-540,(2006).
- 11- Clemente CG., Mihm MC. Jr., Bufalino R., Zurrida S., Collini P., Cascinelli N., Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. *Cancer*; 77:1303-1310,(1996).
- 12- Taylor RC., Patel A., Panageas KS., Busam KJ., Brady MS., Tumor infiltrating lymphocytes predict sentinel lymph node positivity in patients with cutaneous melanoma. *J Clin Oncol*; 25:869-875,(2007).
- 13- Ohno S., Tachibana M., Fujii T., Ueda S., Kubota H., and Negasue N., Role of stromal collagen in immunodulation and prognosis of advanced gastric carcinoma . *Int J Cancer* 97:770-774,(2002).
- 14- Chetty R., Gatter K., CD3: Structure , Function, and role of immunostaining in clinical practice. *J Pathol.*, 173 (4):1 , (1994).
- 15- De Gruijl TD., Bontkes HJ., Peccatori F., Gallee MP., Helmerhorst TJ., Verheijen RH., Aarbiou J., Mulder WM., Walboomers JM., Meijer CJ., Van de Vange N. and Scheper RJ., Expression of CD3

- zeta on T-cells in primary cervical carcinoma and in metastasis positive and negative pelvic lymph nodes . *Br J Cancer* 79 : 1127-32, (1999).
- 16- Banner B., Spicer Z., Alroy J., Expression of CD3 epsilon subunit in gastric parietal cells : a possible role in signal transduction. *Pathol Res Pract.*; 199(3): 137-43(2003).
 - 17- SAS. Statistical Analysis System , User's Guide. Statistical. Version 7th ed. SAS . Inst. Inc. Cary. N. C. USA.(2004).
 - 18- Ju- gao C., Jian C. X., Xiao-ting L., Ke Pan, W. W., Lin L., Jing – Jing Z., Qi-J. W. , Yong qiany L., Shi ping C., Jia H., Li X.H., Miao-l. , Yi-bing C., Hai-qing M., Zhen- W. Z., Zhi-wei Z., Alfred E C., Qiao L., Intratumoral Expression of IL-7 and Its Prognostic Role in Gastric Adenocarcinoma Patients. *Int J Biol Sci* ; 7(1):53-60,(2011).
 - 19- Lee HE., Chae SW., Lee YJ., Kim MA., Lee HS., Lee BL. And Kim WH. , Prognostic implications of type and density of tumor infiltrating lymphocytes in gastric cancer. *Br J Cancer.* 99 (10):1704-1711(2008).
 - 20- Vida M. , Grapina P., Violeta N., Renata J., Eugenijus S., Janina D., T- lymphocytes subset and lipid peroxidation in relation to survival among advanced gastric cancer patients. *Acta Medica Lituanica.* Vol.11 , no. 4, p. 19-23 (2004).
 - 21- Toshinari M., Kishichiro W., Masayoshi M., Akishi O., Tokuji K., Yutaka T., Hiroshi U., Tomomi O. and Isao N., Clinico pathologic study of 27 cases and Immunohistochemical Analysis of the Subpopulations of infiltrating lymphocytes in the tumor. *Medullary Carcinoma with Lymphocytic Infiltration of the Stomach.* Vol.66 no. 5 p. 948(1990).
 - 22- Cancer Reserch Center. Phenotypes and Clinical Significance of CD3 bright T-lymphocytes in Patients with gastric cancer.(2012).
 - 23- Sumiya I., Shoji N., Futoshi M., Koki T., Akihiro N., Masataka M., Hiroshi O., Sabura N., Shuichi H., Ikuro M. and Takashi A.. CD3 Expression of Regional Lymph Node and Peripheral Blood Lymphocytes in Gastric Cancer. *Anti Cancer Reserch* 24:2123-2126(2004).
 - 24- Kim CW., Choi SH., Chung EJ., Lee MJ., Byun EK., Ryu MH. And Bang YJ:Alteration of signal transducing molecules and phenotypical characteristics in peripheral blood lymphocytes from gastric carcinoma patients. *Patho biology* 67:123-128(1999).

- 25- Osada J., Kamocki Z., Rusak M., Dabrowska M., Kedra B., The effect of surgical and nutritional treatment on activation parameters of peripheral blood T-lymphocytes in stomach cancer patients in postoperative period. *Pol Merkur Lekarski*; 24 (141):231-6(2008).
- 26- Lee WJ., Chang KJ., Lee CS., Chen KM., Selective depression of T-lymphocyte subsets in gastric cancer patients : an implication of immunotherapy. *J Surg Oncol.*:55 (3):165-9(1994).

The Susceptibilities of *Gardnerella vaginalis* Isolates from Iraqi Hospitals Towards Various Antibiotics and New Mixed Ligand Complexes of 5,5-diphenyl-imidazolidine-2,4-dione with transition metals(II)

Suzan S. Hussin¹, Saadi M. D. Al-Nuzal², and Rawaa Abdul-Jabbar³

^{1,3}Biology Department, College of Science, Al-Mustansyria University, Baghdad, Iraq.

²Environmental Research Center, The University of Technology, Baghdad, Iraq.

Received 2/9/2012 – Accepted 6/11/2012

الخلاصة

ميزت ثلاث عشر عزلة لبكتيريا الغاردينيليا المهبلية *Gardnerella vaginalis* من أصل 250 مسحة مهبلية عميقة من أنث مصابات في مستشفيات منطقة بغداد، مع نسبة تواجد تصل الى 5.2 % . تعود هذه العينات الى مريضات تتراوح اعمارهم بين 14 - 48 سنة ومعظمهن غير حوامل ويعانون من الحكاك ومن افرازات مهبلية ملونة. درست حساسية هذه العزلات للمضادات الحيوية المختلفة بطريقتين: طريقة الأقرص وطريقة التخفيف بالمرق وتبين هذه العزلات 100 % حساسة الى المضادات: ampicillin، erythromycin، cefotaxime، rifampicine، lincomycin، cloxacillin، gentamycin، chloramphenicol. بقية العزلات أظهرت 100 % مقاومة الى: neomycin، colistin، metroinazole، nalidixic acid وهذا يمكن أن يعزى الى المبالغة في استخدام هذه المضادات في العراق. تم تحديد التركيز المثبط الأدنى لبعض هذه المضادات لبكتيريا *G. vaginalis* وظهر اختلاف معتبر لقيمها مقارنة بتلك المذكورة في المصادر. أن مقاومة هذه العزلات المحلية تكون أكبر عند تنميتها في المرق مقارنة بتنميتها على الأكار في حالة المضادات: gentamycin، erythromycin، chloramphenicol، streptomycin، co-trimaxazole وفسر ذلك على أساس دقة قياسات الطريقة. حضرت معقدات مختلطة الليكاندات لـ 5،5-ثنائي فنيل إيميدازولين-2،4-دايون والبيريدين، $[(C_{15}H_{12}N_2O_2)_2(C_5H_5N)_2M(II)]$ حيث $(M(II) = Cu, Ni, Zn, Cr, Mn, Fe, \text{ and } Co)$ وجرى تشخيصها بالطرق الفيزيائية والكيميائية الشائعة. تتناسق جزئيتين من البيريدين وجزئيتين من 5،5-ثنائي فنيل إيميدازولين-2،4-دايون من خلال ذرة النايتروجين في البيريدين والنايتروجين رقم-3 المنزوعة الهيدروجين على التوالي. تم تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى لهذه المعقدات وتبين أنها تثبط نمو *G. vaginalis* بتركيز 10⁻⁶ M. ومن نتائج هذه الدراسة يمكن الاستنتاج أن هذه المعقدات يمكن أن تستخدم على شكل مستحضرات صيدلانية خارجية لمنع نمو هذه البكتيريا في حالة الأصابات المهبلية بهذه البكتيريا.

ABSTRACT

Thirteen isolates of *Gardnerella vaginalis* isolates distinguished out of 250 of high vaginal swabs from female patients collected from Baghdad area hospitals, with an incidence of presence 5.2 %. These specimens belong to patients aged between 14 - 48, most of them where non-pregnant suffering from itching and vaginal discharge color. The susceptibilities of the isolates against various antibiotics were studied by using two methods; the disc diffusion and broth dilution methods. It was found that isolates were 100 % sensitive to: ampicillin, gentamycin, cloxacillin, lincomycin, rifampicine, cefotaxime, erythromycin, and chloramphenicol. Other isolates were 100 % resistance to: neomycin, colistin, metroinazole, and nalidixic acid, which can be attributed to the exaggerated use in Iraq. The MIC's of some antibiotics against *G. vaginalis* were determined, and it was found that there is significant variations in these values compared to that reported in the literature. The resistance of *G. vaginalis* local isolates was increased on broth

growing compared to that on agar, for the following antibiotics: gentamycin, erythromycin, chloramphenicol, streptomycin and co-trimoxazole, and it was explained on the basis of the measurement method accuracy. Mixed ligand complexes of 5,5-diphenyl-imidazolidine-2,4-dione and pyridine, $[(C_{15}H_{12}N_2O_2)_2(C_5H_5N)_2M(II)]$ ($M(II) = Cu, Ni, Zn, Cr, Mn, Fe, \text{ and } Co$) were synthesized, and characterized by common physicochemical techniques. Two molecule of pyridine and two molecule of 5,5-Diphenyl-imidazolidine-2,4-dione were coordinated through pyridine nitrogen and deprotonated nitrogen at position-3, respectively. The MIC and MBC of these complexes were determined and it was found that they inhibit the growth of *Gardnerella vaginalis* at 10^{-6} M concentration. From the findings of this study, we can conclude that these complexes can be used in topical pharmaceutical formulation to inhibit the growth of *G. vaginalis* bacteria in case of female bacterial vaginosis.

INTRODUCTION

Bacterial vaginosis (BV) has been associated with serious sequelae such as spontaneous abortion, preterm delivery, and increased susceptibility to human immunodeficiency virus (HIV) and other sexually transmitted infections (STIs). However, more than 50 % of women with BV are asymptomatic, despite an increasing the understanding of the pathogenesis, and the etiology of BV remains unknown. Although BV has been associated with certain hormonal factors and sexual practices commonly observed with STIs it remains unclear whether BV is the result of a sexually transmitted agent, or a number of bacterial organisms have been implicated in the etiology of BV, including *Gardnerella vaginalis* and *Mobiluncus spp.* [1].

The presence of certain bacterial species, such as *Gardnerella vaginalis*, has been considered as an indicator for BV [2-4]. *G. vaginalis* was found to be the most common BV-related microorganism, isolated from the chorioamnion of women in preterm labor. *G. vaginalis* is equipped with a variety of virulence factors including biofilm formation, prolidase, sialidase, β -galactosidase, and vaginolysin, although healthy women can be vaginally colonized [5-6]. Analysis of vaginal biopsies revealed that BV is characterized by a dense biofilm dominated by *G. vaginalis* and other fastidious anaerobes on the vaginal epithelium [7]. In an analysis of vaginal adherence, the ability to form biofilms and cytotoxicity, *G. vaginalis* was shown to have a greater potential for virulence than other BV associated anaerobes [8]. It was suggested that other BV associated bacteria represent a virulent opportunists that colonize the vagina after an initial infection by *G. vaginalis*. BV is also associated with a high rate of recurrence after standard metranidazole

therapy and can be difficult to clinically manage [9]. Recurrent BV has been linked with persistence of *G. vaginalis* [10]. It is therefore surmised that the uptake/internalization of *G. vaginalis* by vaginal epithelial cells may contribute to the high recurrence rate of BV. Recent studies suggest that *G. vaginalis* is the predominant anaerobe found in BV and is more virulent than other BV associated anaerobes [6].

The objectives of this study were to isolate and identify of *Gardnerella vaginalis* from genital infections among women in Baghdad area/Iraq hospitals, and to determine the most effective antibiotics in its treatment. It also aimed to synthesize and evaluates the possible biological effect of some newly mixed ligands: 5,5-diphenyl-imidazolidine-2,4-dione and pyridine with some transition metal complexes, on the local strains of *Gardnerella vaginalis*. The 5,5-diphenyl-imidazolidine-2,4-dione, is present in a wide range of biologically active compounds including antiarrhythmics [11], anticonvulsant [12] and antitumor agents [13], and epileptic seizures [4]. Nowadays, it has found new applications due to the neuro- and cardioprotective properties [14-16]. The literature survey shows that only few metal complexes with phenytoin have been obtained and characterized. What is more that phenytoin when present in the systems containing zinc ions exhibits also toxic properties, which was related to its binding to this metal ion [17]. Complexes of Ni(II) and Co(II) of the formulae $[\text{Ni}(\text{H}_2\text{O})_4(5,5\text{-diphenyl-imidazolidine-2,4-dione})_2]$, and $[\text{Co}(\text{H}_2\text{O})_4(5,5\text{-diphenyl-imidazolidine-2,4-dione})_2]1.5\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ were obtained and characterized by X-ray single crystallography. The environment around the nickel and cobalt ions can be described as a distorted octahedron. The cobalt complex precipitates with the additional solvent molecules: one and a half of ammonia and one water[18].

MATERIALS AND METHODS

Instruments and measurements:

Melting points (mp) were determined in open capillaries using Stuart/UK apparatus and are uncorrected. UV-visible absorption spectra were recorded by using Varian Cary 100 spectrophotometer/US with quartz 1.0 cm cell. Infrared (IR) spectra were recorded using a Shimadzu FT-IR-8300 spectrometer/Japan, in the wave length range of (400-4000) cm^{-1} by pressing samples as KBr disc.

Chemicals:

All reagents were purchased from commercial sources of analytical grade reagent, were obtained from BDH/UK and were used without further purification. Solvents were of analytical grade such as ethanol, diethyl ether and pyridine.

a. 5,5-Diphenyl-imidazolidine-2,4-dione:

Prepared according to literature [19], and the resulting product was collected, dried and recrystallized from ethanol to give yield of 60 %, m. p 296-300° C of WHO Pharmacopeia specification.

b. General method for the preparation of metal complexes:

An amount of pyridine (0.300 g, 0.307 ml, 3.97 mmol) was added to a refluxing solution of phenytoin (7.0 g, 3.97 mmol) in methanol (30 ml), and the solution was treated with a solution of (1.98 mmol) of the transition metal sulphate (1.95 mmol) in minimum amount of water. The mixture was refluxed for 5 hours, cooled to room temperature and precipitate formed was filtered under vacuum. The precipitate was washed with ethanol (2 × 5 ml), and ether (1 × 5 ml), and then was dried at 70°C for 5 hours. Physical properties of the obtained *Bispyridine bis(5,5-diphenyl-imidazolidine-2,4-dionato) metal(II)* complexes were presented in Table-1.

Biological measurements:

a. Patients and specimens collection:

To examine the local *G. vaginalis*, high vaginal swab from Baghdad area hospitals, and Women's specialized clinic for the time period of 12/12/2010 to 17/9/2011 was collected (250 Specimens). These specimens were obtained from female patients, aged between 14 - 48, most of them where non-pregnant suffering from itching and vaginal discharge color. The distribution of the 250 of the collected specimens according to the color secretions, were presented in Table-2.

b. Culture and diagnosis of *G. vaginalis*:

The characteristics of *G. vaginalis* colonies surrounded by zones of clear β -hemolysis with diffuse edges on Columbia blood agar, the typical appearance of Gram-stained cells and a negative catalase and oxidase [20], wet mount and appearance Clue cell with *G. vaginalis* cell [21], highly pH of vaginal secretion [22]. These tests provide a presumptive identification of *G. vaginalis* and it is minimal criteria may be sufficient for strains isolated from vaginal fluids [20]. Two swabs was taken, the first one with transport media for culture, while the second was placed in normal saline for immediate microscopic wet mount examination and KOH testing.

c. The measurements of *Gardnerella vaginalis* sensitivity towards antibiotics:

The sensitivity of *G. vaginalis* towards different locally available antibiotics was examined by using broth dilution and Kirby-Bauer methods [23]. The following antibiotics were examined: ampicillin, cefotaxime, gentamicin, erythromycin, nalidixic acid, tetracycline,

rifampicin, colistin, chloramphenicol, cloxacillin, co-trimoxazol (Sulphamethoxazole/trimethoprim), lincomycin, neomycin, metronidazole, nitrofurantoin, penicillin G, and streptomycin. The susceptibilities of 13 isolate of *G. vaginalis* towards locally available antibiotic measured were presented in Table-3 and Table-4.

In the broth dilution method the results were expressed as the Minimum inhibitory Concentration (MIC) in $\mu\text{g/ml}$ [23]. A quantity of BHI broth (2.0 ml) was equally distributed in many previously sterilized glass test tubes (5.0 ml). Serial dilutions of each antibiotic were prepared by transferring different volumes of the stock solution (containing 10 mg/ml of antibiotic) to the broth tube.

BHI broth solution (5.0 ml) was inoculated with pure colonies of *G. vaginalis*, previously cultured in Colombia blood agar. The tubes were incubated at 37°C for 24 hours, and a mixture with Normal saline solution was freshly prepared to match the same turbidity of McFarland standard solution.

Control BHI broth tubes were prepared according to the following:

1. Positive control: 2.0 ml BHI broth without antibiotic, and 0.1 ml inoculent.

2. Negative control: 2.0 ml BHI broth without antibiotic and inoculent. Bacterial inoculants (0.1 ml) were added to each antibiotic containing tube, and the tubes were incubated together with the control tubes at 37°C for 24 h. Measurements were made by comparing the turbidity of the antibiotic containing tubes with that of the positive and negative control tubes. The lowest concentration of the antibiotic containing tubes, which showed no turbidity can be considered as the MIC concentration, and presented in Table-5.

On using an aseptic technique of the disk diffusion method, the inhibition zone was measured in mm, by following the method described by Brown [23]. A sterile swab was placed on the broth culture of *G. vaginalis*. The inoculate was transferred to Mueller-Hinton agar plate by streaking. The plate was left for 5 minutes, and antibiotic discs were dispensed onto the agar using flame-sterilized forceps. Plates should be incubated overnight at an incubation temperature of 37° for 24 hours.

d. The measurements of *G. vaginalis* sensitivity towards the new complexes:

Broth dilution method was used to determine MIC and MBC of the new mixed 5,5-Diphenyl-imidazolidine-2,4-dione complexes. Stock solutions of these complexes were prepared by dissolving the required weight in 25 ml volumetric flask in 95 % ethanol to give 10⁻² M concentration. The following dilutions were prepared from each stock solution: 10⁻³, 0.5 × 10⁻³, 10⁻⁴, 0.5 × 10⁻⁴, 10⁻⁵, 0.5 × 10⁻⁵, and 10⁻⁶

M in 5 ml BHI broth test tube. The resulting broths were inoculated by adding 0.1 ml of the above mentioned solution, and tubes were incubated at 37°C for 24 hours. Measurements were made by observing the turbidity of solutions by eye sighting. The tubes which showed no sign of growth were further smeared on a culture of BHI agar plate to determine MIC and MBC.

The disk used (5 mm) in disc diffusion method were prepared from Whatmann No. 1 filter paper, sterilized by autoclave under 121°C at 15 psi. The following dilutions were prepared by using stock solutions of phenytoin complexes in 25 ml ethanol: 10^{-3} , 0.5×10^{-3} , 10^{-4} , 0.5×10^{-4} , 10^{-5} , 0.5×10^{-5} , and 10^{-6} . A volume of 0.005 ml solution of each dilution were dropped on the ready disks located firmly on an empty marked plates, the they were dried at 37°C for 30 minutes. A culture BHI plates, and the sterile disks were incubated at 37°C for 48 hours. The results of the measurements of the two methods were presented in Table-6, and Table-7.

RESULT AND DISCUSSION

Phenytoin, 5,5-Diphenyl-imidazolidine-2,4-dione B.P, was prepared according to the literature procedure and purified by repeated recrystallization from ethanol to meet WHO pharmacopeia specification [24]. UV-visible absorption spectrum showed broad peak at λ_{max} at 200 nm, and FT-IR absorption spectrum was obtained as in KBr disc. The spectrum showed strong peaks at 3200-3273 cm^{-1} for N-H stretching, at 1714-1772 cm^{-1} for C=O stretching.

Identification of metal complexes

Complexes were prepared by following the general procedure mentioned in the experimental part, to get fine precipitates of faint colors in moderate yields. The physical properties such as melting points, colors, UV-visible absorption maxima were presented in Table-1, Most UV-visible absorption spectrum of *Bispyridine bis*(5,5-diphenylhydantoinato) metal complexes, showed additional broad multippeak shoulder at λ_{max} at 205-255 nm that stand for the two molecules of 5,5-diphenylhydantoino and pyridine coordinated to the metal ion as well as the forbidden d-d absorption due to the coordination to the transition metal ions. The melting point and the UV-visible and FT-IR absorption spectra were obtained for the complexes. The measured melting points of the complexes were ranged within 282-288°C. The elemental analyses were in good agreement with expected structure shown in Table-1. The physicochemical analyses of these mixed complexes, presented in Table-1, were in good agreement with the structure presented in Figure-1. Two molecule of pyridine and two

molecule of 5,5-Diphenyl-imidazolidine-2,4-dione were coordinated through pyridine nitrogen and deprotonated nitrogen at position-3, respectively.

The FT-IR spectra of the mixed ligand complexes showed broad strong absorption at 2700-3500 cm^{-1} for $\nu(\text{N-H})$ and the $\nu(\text{C-H})$ stretching vibration. Complicated pattern was observed due to the presence of two pyridine molecules, with slight shift was observed upon complexation. Weak absorption bands at 1720 - 1723 and 1775 - 1768 cm^{-1} were assigned for asymmetric and symmetric C=O bonds stretching respectively. The absence of observed shifts C=O absorption bands possibly means that this functional group are not involved in coordination.

Diagnosis of *G. vaginalis*

In this study, 250 specimens were collected from pregnant and non pregnant females from Baghdad area hospitals, and Women's specialized clinic for the time period of 12/12/2010 to 17/9/2011. They were examined and classified according to color, odor, pH of the vaginal secretions and the presence of Clue cells. The results showed that the colors of vaginal secretion ranging from white, yellow and greenish yellow (60 %, 28 %, and 12 %, respectively). The pH of vaginal secretions was in the range (5.0 - 7.0), while all the specimens gave positive Clue cells examination and Whiff test. The presence of Clue cell is strong evidence to the presence of *G. vaginalis* [25]. The color of vaginal secretion is an indication of the presence of *G. vaginalis* [26], they refer to an incidence of presence of 49 %. Clue cells in wet amounts and Gram stains of vaginal secretion are an adjective diagnostic to insure the presence of *G. vaginalis*. Yellow secretions were reported to form 30 % of the total cases, while greenish-yellow secretions were reported to be only 1 %.

Thirteen isolates of *G. vaginalis* distinguished out of 250 specimens, with an incidence of presence 5.2 %. Among 150 specimens (60 %) with white secretions, only eight isolates (5.3 %) belong to *G. vaginalis*, with a pH range of 5 - 6.5. Specimens with yellow secretions were 70 (28 %), only three isolates (4.3 %) belong to *G. vaginalis*, with a pH range of 6.0 - 7.0. Among secretions with greenish yellow color were 30 specimens (12 %), only two isolates (6.7 %), belong to *G. vaginalis* with pH 6.5.

The incidence of presence of *G. vaginalis* bacteria isolates was found to be 5.2 % from total collected specimens in this study, while the literature mentioned much higher values. Bradshaw refer to a value of 28 % [1], and a value of 45 % was given by [27]. As a matter of fact a very high value of 92 % was reported by Gardner, the scientist who

distinguished *G. vaginalis* [27]. This big difference in the incidence of presence of *G. vaginalis* bacteria may be related to the preservative relationships in the Iraqi society.

Agriculture and phenotypic character:

G. vaginalis colonies that grow on Columbia blood agar with Nalidixic acid (15 µg/ml) under 10 % CO₂, at 37°C for 24 h is so small (pin point), circular, gray to white, and surrounding with β-hemolysis. To distinguish these colonies from that of *Haemophilus ssp.* They are cultured on Chocolate agar and under the same conditions, to show the same colonies but not surrounded by green zone [29]. Microscopic examination of *G. vaginalis* showed that they are polymorphic cells to double bacilli or single, Gram negative to variable to gram stain [25].

Biochemical and physiological test:

The following biochemical and physiological tests were performed and found to be positive: Sodium hippurate test, methyl red test, Lactose fermentation, Maltose fermentation, Starch hydrolysis, hemolysin production and MR test. Negative results were obtained with the following test: catalase test, oxidase test, indole test, urease production test, Vp test, nitrate reduce test, raffinose fermentation and mannitol fermentation. No growth was observed for *G. vaginalis* on Kliglar agar. These results were in good agreement with that reported in Bergey's Manual Determinative Bacteriology [25], which is a key reference for the diagnosis of *G. vaginalis*.

Susceptibility of *G. vaginalis* to antibiotic:

a. Disk diffusion method (Kirby Bauer test):

The susceptibilities of *G. vaginalis* against various antibiotics were studied, and results were presented in table-3. The results showed that bacteria isolates were 100 % sensitive to: ampicillin, gentamycin, cloxacillin, lincomycin, rifampicine, cefotaxime, erythromycin, and chloramphenicol. Other bacteria isolates were 100 % resistance to: neomycin, colistin, metroinazole, and nalidixic acid. Genetic study performed by Al-Saady [30] showed that *G. vaginalis* isolates were 100 % metroinazole resistant, a similar results was obtained here. Reports in the literature referred to sensitivity of 36.1, and 32 % of *G. vaginalis* against metroinazole [31-32]. The difference between the literature and local isolates susceptibility can be attributed to the exaggerated use of metroinazole in Iraq. It has been used to treat many parasitic and anaerobic bacterial infections for 47 years for *Ameba dysenteria*, *Gardensis*, *Trichomoniasis*, possibly for its low price and the absence of side effects [33].

G. vaginalis isolates was found to be 100 % resistant to neomycin, which is different from both of that of the literature and that of [30]. This result can be related with indiscriminate use of this antibiotic taking into account the mechanism of antibiotic action. Neomycin is working to change structure of ribosome's (target site of neomycin), which in turn, leads to increase the resistance the bacterial cell, that contain mutagens ribosome. Nalidixic acid and colistin were found to have similar resistivity for both of the local isolates and that reported by the literature [25].

G. vaginalis isolates was found to be sensitive towards the following antibiotics: ampicillin, cefotaxime, gentamycin, erythromycin, cloxacillin, lincomycin, rifampicine, and chloramphenicol. Similar results were in good agreement with that reported by Al-Saady [30], due to the lack of plasmid in these bacteria, which is responsible for the transfer of antibiotic resistance genes between bacterial cells [20].

The rest of bacteria the isolates were found to show different response against streptomycin, tetracycline, co-trimaxazol, pencillin G, and nitrofurantoin. Table-3, showed that: isolate No. 13 was resistant to eight antibiotics; isolate No. 4 resistant to seven antibiotics; isolates No. 8, 9, 10, 11, and 12 resistant to six antibiotics; isolates No.1, and 7 resistant to five antibiotics; and isolates No. 2, 3, 5, and 6 resistant to four antibiotics. These results were in good agreement with that reported by the literature [30, 34].

b. Determination of MIC:

The MIC's of the some antibiotics against *G. vaginalis* were determined and presented in Table-4. The values of MIC for penicillin-G and tetracycline against local isolates of *G. vaginalis* were ranged between 0.3 - 0.5, and 47 - 74 µg/ml, respectively. The reported value for both antibiotics was very close to the reported (0.5 µg/ml and 64 µg/ml, respectively [35]). A higher value of MIC was reported by local measurement of 0.5 and 32 - 128 µg/ml, respectively [30]. Rifampicine value of MIC's was determined and found to be 1 - 2 µg/ml (literature 2.0 µg/ml [35]). For co-trimaxazole it was between 52 - 64 µg/ml (literature 64 µg/ml). Gentamycin MIC ranged between 5 - 6 µg/ml, while literature reported a value of 4 µg /ml [36].

Some values of MIC's of some antibiotic were higher than reported by the literature, e. g, for metroinazole it was within the range of 119 - 128 µg/ml (reported 16.0 µg/ml, and 64 µg/ml [35]). Much higher values of MIC were reported by a local study within the range 512 - 1042 µg/ml [30]. Chloromephenicol, and neomycin showed a measured values of MIC's of *G. vaginalis* isolates within the range 0.8 - 1.4, and 115 - 120 µg/ml, higher values than that of the literature, viz. 0.2 [35], and 64

$\mu\text{g/ml}$ [36]. Erythromycin, cefotaxime, and streptomycin showed a measured values of MIC's of *G. vaginalis* isolates within the range 0.2 - 0.3, 1.75 - 2.75, and 13.0 - 16.0 $\mu\text{g/ml}$, fourfold higher values than that of the literature, viz. 0.06, 0.02 [35], and 2.0 $\mu\text{g/ml}$, [36] respectively. The measured value of MIC for lincomycin was within the range 0.13 - 0.9 $\mu\text{g/ml}$ for all the isolates, compared with the locally measured value of 8.0 $\mu\text{g/ml}$ [30]. No value of MBC of lincomycin was reported in the literature.

It was observed that the resistance of *G. vaginalis* local isolates was increased on broth growing compared to that on agar, for the following antibiotics: gentamycin, erythromycin, chloramphenicol, streptomycin and co-trimoxazole. This observation was previously reported by other workers, and is explained on the basis of the measurement method accuracy. The MIC Method is more accurate than that of the disc method, possibly due storage circumstances, as well as moisture content of the disc, thickness of agar, and the type of bacteria tested [36, 38].

c. Sensitivity towards the new complexes:

The suggested structures for the complex *Bispyridine bis(5,5-diphenyl hydantoinato) metal (II) complexes* will be similar to that presented in Figure-8. The bactericidal effect of the prepared *bispyridine bis(5,5-diphenyl hydantoinato) metal (II)* were measured by using two methods viz the disc diffusion and broth dilution methods. The result of the measurements was presented in table 5, and 6. From this table we can draw the following observations:

1. The bactericidal effect measured by disc method of these metal complexes showed a concentration dependency, i.e. higher concentration showed higher bactericidal effect (highest inhibition zone in mm), Table-7.
2. Pyridine showed the lowest value of inhibition, with no observed inhibition at all at low concentrations of 0.5×10^{-6} and 10^{-6} M.
3. Uncomplexed phenytoin showed the highest inhibition zone with a value of 25.5 mm.
4. Table-8 showed that on increasing the concentrations of the metal complexes from 10^{-6} to 10^{-3} M, there were no growth for this microorganism. Although, the MIC value obtained was ranged within 10^{-5} to 10^{-4} M.
5. Pyridine showed no growth and higher values for the MIC, but it showed growth at lower concentration of 10^{-6} M. The table showed that phenytoin showed MIC with lower concentration.

CONCLUSIONS

It is not possible to diagnose the presence of *G. vaginalis* on judging the color of the vaginal secretions only. Odor and pH of the secretions can be of better help to diagnose the presence of these bacteria. Hippurate hydrolysis test is very helpful to distinguish between *G. vaginalis* and other bacteria having similar clinical symptoms. It was found *G. vaginalis* is sensitive to a wide number of locally available antibiotics.

The results showed that bacteria isolates were 100 % sensitive to: ampicillin, gentamycin, cloxacillin, lincomycin, rifampicine, cefotaxime, erythromycin, and chloramphenicol. Other bacteria isolates were 100 % resistance to: neomycin, colistin, metroinazole, and nalidixic acid. There are many cases in which the MIC concentrations of the local isolate were different from that reported by the litterateur. The difference can be attributed to the exaggerated use of these antibiotics to treat many parasitic and anaerobic bacterial infections for 47 years for *Ameba dysenteria*, *Gardensis*, *Trichomoniasis*, possibly for its low price and the absence of side effects.

It was observed that the resistance of *G. vaginalis* local isolates was increased on broth growing compared to that on agar, for the following antibiotics: gentamycin, erythromycin, chloramphenicol, streptomycin and co-trimaxazole. Mixed ligand complexes of Bispyridinebis(5,5-diphenyl hydantoinato) metal (II) complexes (Metal = Cu, Ni, Zn, Cr, Mn, Fe, and Co) showed very good inhibiting effect and medium killing effect to *G. vaginalis*. This behavior can make these complexes as possible candidates as topical ointments to inhibit the growth of these bacteria.

Recommendations:

It is recommended to study the observed variations in *G. vaginalis* isolates response towards Gram Stains may provide valuable information's, the symbiotic relationships between *G. vaginalis* and other anaerobic bacteria in vaginal area. It is also recommended to study the reason of Clue cell formation and the relationship between *G. vaginalis* and Clue cells. *G. vaginalis* does not have plasmids; hence the study of their genetic transfer system will provide very important information about their pathogenicity. Studying the virulence factors of *G. vaginalis* and the possibility of the existence new virulence factors in these bacteria, hence, it is recommended that the General health authority must emphasize on organizing the vaginal swab test in women clinics to detect for BV pathogenicity.

It is also recommended to study the other derivatives and phenytoin, 5,5-diphenylhydantoin mixed ligand complexes,

The Susceptibilities of *Gardnerella vaginalis* Isolates from Iraqi Hospitals Towards Various Antibiotics and New Mixed Ligand Complexes of 5,5-diphenyl-imidazolidine-2,4-dione with transition metals(II)

Suzan, Saadi and Rawaa

$[(C_{15}H_{12}N_2O_2)_2(C_5H_5N)_2M(II)]$, where (M(II) = Cu, Ni, Zn, Cr, Mn, Fe, and Co), in pharmaceutical preparations as antivaginosis agents, and in the presence and absence of other symbiotics antibiotics. The antibacterial and antifungal effect of these new mixed metal complexes can be extended for other bacteria and fungi.

Table-1: Physical properties of the *Bispyridine bis(5,5-diphenyl-imidazolidine-2,4-dionato) metal(II) complexes* (Metal = Cu, Ni, Zn, Cr, Mn, Fe, and Co).

No.	Formula	Mol. Wt.	U.V		M. p (°C)	C %		H %		N %		Yield (%)
			λ (nm)	ϵ (l.mol ⁻¹)		Meas.	Calc.	Meas.	Calc.	Meas.	Calc.	
I	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₂	252.27	207	3042.0	298-299	71.78	71.42	4.91	4.79	10.05	11.10	60.0
II	C ₄₀ H ₃₂ N ₆ O ₄ Cu	724.26	227 369	3111.0 61.0	283-286 (d)	66.45	66.33	4.65	4.45	10.95	11.6	73.5
III	C ₄₀ H ₃₂ N ₆ O ₄ Ni	719.4	226 349	3136.0 43.0	282-287 (d)	67.11	66.78	4.66	4.48	11.54	11.68	76.0
IV	C ₄₀ H ₃₂ N ₆ O ₄ Zn	726.1	226 351	3266.0 50.0	282-285 (d)	66.54	66.16	4.55	4.44	11.33	11.57	73.5
V	C ₄₀ H ₃₂ N ₆ O ₄ Cr	712.7	228 369	3374.0 146.0	285-289 (d)	67.43	67.41	4.63	4.53	11.66	11.79	55.5
VI	C ₄₀ H ₃₂ N ₆ O ₄ Fe	716.6	233 317	33546.0 12.0	282-286 (d)	67.23	67.05	4.55	4.50	11.75	11.73	78.0
VII	C ₄₀ H ₃₂ N ₆ O ₄ Co	719.65	217 525	2417.0 7.0	283-287 (d)	67.11	66.76	4.53	4.48	11.63	11.68	55.5

Table-2: The distribution of the 250 of the collected specimens according to the color secretions.

secretion Color of	Collected specimens		Isolates of <i>G. vaginalis</i>	
	Number	Percentage	Number	Percentage
White	150	60 %	8	5.3 %
Yellow	70	28 %	3	4.3 %
Greenish- yellow	30	12 %	2	6.7 %

Table-3: The susceptibilities of 13 isolate of *G. vaginalis* towards locally available antibiotic measured by using Kirby-Bauer method where S = sensitive, and R = resist (23).

Antibiotic	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Ampicillin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Cefotaxime	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Gentamicin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Erythromycin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Cloxacillin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Lincomycin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Rifampicin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Chloramphenicol	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Streptomycin	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	R
Tetracycline	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R
Co-trimaxazol	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Penicillin G	S	S	S	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R
Nitrofurantoin	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R
Metronidazole	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Neomycin	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Nalidixic acid	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Colistin	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Table-4: The variable susceptibility of *G. vaginalis* isolates towards different locally available antibiotic.

Antibiotic	% Resistance	% Sensitivity
Streptomycin	23,1 %	76.9 %
Tetracycline	23,1 %	76.9 %
Co-trimaxazole	7.6 %	92.3 %
Penicillin-G	53.8 %	46.1 %
Nitrofurantoin	38.4 %	61.5 %

Table-5: The Minimum Inhibitory Concentration of the locally available antibiotic measured for 13 isolate of *G. vaginalis* by using broth dilution method.

Antibiotic	The Minimum Inhibitory Concentration (µg/ml)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Metronidazole	128	119	119	128	128	128	128	128	119	119	128	128	128
Cefotaxime	2.75	1.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	1.75	1.75	2.75	2.75	2.75
Tetracycline	74	47	65	74	74	56	56	74	56	74	65	74	65
Co-trimaxazole	64	58	58	52	58	52	52	52	52	52	58	52	52
Gentamycine	6	6	5	6	6	6	4	5	5	5	5	5	5
Neomycine	115	121.5	121.5	121.5	121.5	115	121.5	121.5	121.5	121.5	121.5	121.5	121.5
Streptomycine	14	14	15	15	13	14	16	14	13	13	13	13	15
Ampicilline	0.6	0.6	0.4	0.4	0.4	0.6	0.4	0.4	0.4	0.6	0.4	0.4	0.4
Pencilline G	0.4	0.3	0.3	0.4	0.4	0.3	0.3	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Erythromycine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Chloramphenicole	1	0.8	0.8	1	1	1	1	1.4	1	1	1	1	1.4
Rifampicine	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
lincomycine	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.17	0.17	0.9	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13

Table-6: The radius of inhibition zone of the complexes *Bispyridine bis(5,5-diphenyl-imidazolidine-2,4-dionato) metal(II) complexes (M = Cu, Ni, Zn, Cr, Mn, Fe, and Co) solutions of different concentrations on the bacteria Gardnerella vaginalis by using disk method.*

Conc. (M)	Radius of inhibition zone (MM)1								
	Py.2	Phen.3	Cu2+	Ni2+	Zn2+	Cr2+	Mn2+	Fe2+	Co2+
10 ⁻³	12.5	25.5	20.5	21.5	23	22	19.5	18	22.5
0.5 × 10 ⁻³	11.5	24	20	20.5	21.5	19.5	19	17.5	21
10 ⁻⁴	10.5	20.5	19.5	19	20	19.5	18	16	20
0.5 × 10 ⁻⁴	8.5	19.5	17.5	19	18	16.5	16.5	16	18
10 ⁻⁵	6.5	17	17	17.5	16	15.5	16	14.5	15.5
0.5 × 10 ⁻⁵	R	16.5	16	15.5	11	15	13.5	12.5	15
10 ⁻⁶	R	14.5	14.5	13.5	9.5	14	13	10	14

1 Average of two measurements, 2 Py = pyridine, and 3Phen = phenytoin.

Table-7: The killing, MBC, MIC, and inhibition concentrations of the complexes *Bispyridine bis(5,5-diphenyl-imidazolidine-2,4-dionato) metal(II) complexes (M = Cu, Ni, Zn, Cr, Mn, Fe, and Co) solutions of different concentrations on the bacteria Gardnerella vaginalis by using broth dilution method.*

Conc. (M)	Radius of inhibition zone1								
	Py.2	Phen.3	Cu2+	Ni2+	Zn2+	Cr2+	Mn2+	Fe2+	Co2+
10 ⁻³	K	K	K	K	K	K	K	K	K
0.5 × 10 ⁻³	MBC	K	MBC	K	K	K	K	MBC	K
10 ⁻⁴	MIC	K	MIC	MBC	MBC	K	MBC	MIC	MBC
0.5 × 10 ⁻⁴	I	MBC	I	MIC	MIC	MBC	MIC	I	MIC
10 ⁻⁵	I	MIC	I	I	I	MIC	I	I	I
0.5 × 10 ⁻⁵	I	I	I	I	I	I	I	I	I
10 ⁻⁶	R	I	I	I	I	I	I	I	I

1 Average of two measurements, 2 Py = pyridine, 3 Phen = phenytoin, k = killing concentration, and I = inhibition concentration.

REFERENCES

1. Bradshaw, C. S, Morton, A.N., and Garland, S. M., "Behavioral practices associated with bacterial vaginosis in comparison to vaginal candidiasis: Implications for a sexually transmitted pathogen.", *Obstet. Gynecol.*, (106):105-114, 2005.
2. Smayevsky J, Canigia LF, Lanza A, and Bianchini H., "Vaginal microflora associated with bacterial vaginosis in nonpregnant women: reliability of sialidase detection.", *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.*, 9:17-22, 2001.
3. Verstraelen H., and Verhelst R., "Bacterial vaginosis: an update on diagnosis and treatment." *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.*, 7:1109-24, 2009.
4. Hillier, S., Martius, J., Krohn, M., Kiviat, N., Holmes, K. K., and Eschenbach, D., "A case control study of chorioamnionitis infection and histologic chorioamnionitis in prematurity.", *N. Engl. J. Med.*; 319:972-8, 1988.
5. Santiago, L., Deschaght, P., El Aila, L., Kiama, T. N., Verstraelen, H., Jefferson, K. K., Temmerman, M., and Vaneechoutte, M., "Gardnerella vaginalis comprises three distinct genotypes of which only two produce sialidase", *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 204:450.e1-7, 2011.
6. Patterson, J. L., Stull-Lane, A., Girerd, P. H., and Jefferson, K. K., "Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of *ardnerella vaginalis* relative to other bacterial-vaginosis-associated anaerobes.", *Microbiol.*, 156: 392-9, 2010.
7. Harwich M. D. Jr., Alves, J. M., and Buck, G. A., , "Drawing the line between commensal and pathogenic *Gardnerella vaginalis* through genome analysis and virulence studies.", *BMC Genomics*;11:375, 2010.
8. Fredericks, D. N., Fiedler, T. L., and Marrazzo, J. M., "Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis", *N. Engl. J. Med.*, (353) 1899-1911, 2005.
9. Hay, P., "Recurrent bacterial vaginosis.", *Curr. Infect. Dis. Rep.*, 2(6): 506-512, 2000.
10. Bannnatyne, R. M., and Smith, A. M., "Recurrent bacterial vaginosis and metranidazole resistance in *Gardnerella vaginalis*.", *Sex. Transm. Infect.*, 74, 455-466, 1998.
11. Knabe, J., Baldauf, J., and Ahlhem, A., "Racemates and Enantiomers of Basic Substituted 5-Phenylhydantoins. Syntheses and Antiarrhythmic Activity.", *Pharmazie*, 52, 912-919, 1997.
12. Sholl, S., Koch, A., Henning, D., Kempter, G., and Kleinpeter, E., "The influence of Structure and Lipophilicity of Hydantoin Derivatives on Anticonvulsant Activity", *Struct. Chem.*, 10, 355-366, 1999.

13. Rodgers, T. R., LaMontagne, M. P., Markovac, A., and Ash, A. B., "Hydantoins as antitumor agents.", *J. Med. Chem.*, 20, 591–594, 1977.
14. Taylor, C. P., "Voltage-gated Na⁺ channels as targets for anticonvulsant, analgesic and neuroprotective drugs.", *Curr.Pharm. Des.*, 2(4):375-379, 1996.
15. Hayward, R. C. J., "Synthesis of the anticonvulsant drug 5,5-diphenylhydantoin: an undergraduate organic chemistry experiment.", *J. Chem. Ed.*, 60, 512, 1983.
16. Dunnivant, W. R., and James, F. L., "Molecular rearrangements. I. The base- catalyzed condensation of benzil with urea.", *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 2740-2743, 1956.
17. Puszyn'ska-Tuszkaw, M., Daszkiewicz, M., Maciejewska, G., Adach, A., and lak-Golonka, M. C., "Interaction of hydantoins with transition metal ions: synthesis, structural, spectroscopic, thermal and magnetic properties of [M(H₂O)₄(phenytoinate)₂]M⁵ Ni(II), Co(II).", *Struct. Chem.*, 21:315–321, 2010.
18. Roszak, A. W., Milne, P., and Weaver D. F., "Diamminebis(5,5-diphenylhydantoinato)zinc(II) Hemihydrate.", *Acta Cryst.* C51, 1297-1300, 1995.
19. Furniss, B. S., A. J. , Hannaford, P. W., P. W. G. Smith, and A. R., and Tatchell, "*Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry.*", 5th Edition, John Wiley and Sons Incs, New York, 1989
20. Catlin, B. W., "*G. vaginalis*: Characteristics, Clinical Considerations, and Controversies.", *Am. Soc. for Microbiol.*, 5:(3)213-237, 1992.
21. Schlosser, B. J., and Mirowski, G. W., "Approach to the patient with vulvovaginal complaints.", *Dermatologic Therapy*, 23:(5) 438-484, 2010.
22. Khan, S. A., Amir, F., Altaf, S., and Tanveer, R., "Evaluation of common organisms causing vaginal discharge.", *J. Ayub Med. Coll. Abbottabad*, 21(2):90-3, 2009.
23. Brown A. E. "*Benson,s Microbiological Application. Laboratory Manual in General Microbiology.*", 10th edition, New York: McGraw-Hill Companies, 2007.
24. WHO The International Pharmacopoeia (Ph.Int.) on-line. (<http://www.who.int/medicines/publications/pharmacopoeia/en/>).
25. Holt, J. G., Krieg, N. R, Sneath, R. H. A., Staley, J. T., and Williams, S. T, "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology", 9th. Ed, Williams and Wilkins, Baltimore, USA, 1994.
26. O,Dowd, T. C., and West, R. R., "Clinical prediction of Gardnerella vaginalis in general practice.", *J. Royl Coll. Gen. Pract.*, 37(295): 59–61, 1987.
27. Tabrizi, S. N., Fairley, C. K., Bradshaw, C. S., and Garland, S. M., "Prevalence of Gardnerella vaginalis and Atopobium vaginae in

- Virginal Women.”, *Sexually Transmitted Diseases*, 33(11):663-665, 2006.
28. Gardner, H. L., and Dukes C. D., “Haemophilus vaginalis vaginitis: A newly defined specific infection previously classified "non specific"vaginitis.”, *Am. J. Obstet. Gynec.*, 69(5): 962-976, 1955.
 29. Chattopadhyay, B., “The role of Gardnerella vaginalis in non-specific vaginitis.”, *J. Infect.*, 9:113-125, 1984.
 30. Al-saady, R. E. “Bacteriological and Genetic study for Gardnerella vaginalis (local isolates)”, *M. Sc. Thesis*, Baghdad University, 2001.
 31. Aroutcheva A. A., Simoes, J. A., Behbakht, K., and Faro, S., “Gardnerella vaginalis isolated from patients with bacterial vaginosis and from patients with healthy vaginal ecosystems.”, *Clin. Infect. Dis.*, 1;33(7):1022-7. 2001.
 32. Tomusiak, A., Strus, M., and Heczko, P. B., “Antibiotic resistance of Gardnerella vaginalis isolated from cases of bacterial vaginosis.”, *Ginekol. Pol.*;82(12):900-4, 2011.
 33. Lofmark, S., Edlund, C., and ErikNord, C., “Metronidazole Is Still the Drug of Choice for Treatment of Anaerobic Infections.”, *Clin. Infect. Dis.*, 50,1:16-23, 2010.
 34. Shanker, S., Toohey, M., and Munro, R., “In vitro activity of seventeen antimicrobial agents against *Gardnerella vaginalis*”. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 1(5):298-300, 1982.
 35. Kharsany, A. B., Hoosen, A. A., and Van den Ende, J., “Antimicrobial susceptibilities of *Gardnerella vaginalis*.”, *Antimicrob. Agents Chemother.* ; 37(12): 2733–2735, 1993.
 36. McCarthy, L. R., Mickelsen, P. A., and Smith, E. G., “Antibiotic susceptibility of *Haemophilus vaginalis* (*Corynebacterium vaginalis*) to 21 Antibiotics.”, *Antibacterial Agent and Chemotherapy*.16(2):186-189, 1979.
 37. Stokes, E. J., and Ridgway, G. L., “*Clinical Bacteriology*”, 5th Ed., Edward Arnold Publication, 1980.
 38. Madico, G., Quinn, T. C., Rompalo, A. Jr., McKee, K. T. and Gaydos, C. A., “Detection of *Trichomonas vaginalis* infection by polymerase chain reaction (PCR).”, *J. Clin. Microbiol.*. 36:3205-3210, 1998.

Helicobacter pylori and Glycemic Control in Iraqi Patients With Type 2 Diabetes

Fatin Fadil AL-Kazzaz¹, Khalid Abraham Al-luheabi², and Shathaa Hamad Ateamash³

^{1,3}AL-Mustansirya University, Collage of science. Chemistry Department

²Endocrinology and Diabetic Center

Received 21/1/2013 – Accepted 26/2/2013

الخلاصة

الهدف من البحث: تعد بكتريا الهيليكوباكتر بايلوري من اكثر الاسباب شيوعا المسببه للالتهابات البكتيرية المزمنة للمرضى المصابين بخلل في الجهاز الهضمي في العالم. اقترح مؤخرا ان هذه البكتريا قد يزداد انتشارها ما بين المرضى بداء السكري. هدفت الدراسة الحالية الى فحص سرعه انتشار التهاب بكتريا الهيليكوباكتر بايلوري وتأثيراتها على السيطرة الكليزية لدى المرضى المصابين بداء السكري من النوع الثاني. قام الباحثين بجمع 60 عينة من امصال مرضى داء السكري (29 ذكور، 31 اناث) تراوحت اعمارهم (35-75) سنة تمت مقارنتهم مع 30 من امصال المتطوعين الاصحاء كمجموعه سيطره. تم اختيار المجاميع بنفس المدى من العمر، الجنس، الظروف الاجتماعيه. تم قياس وحساب معامل كتله الجسم. مستوى الكليوز الصائمي بطريقه اكسده الكليوز، النسبه المنويه للهيموكلوبين السكري بطريقه كروموتوغرافيا التبادل الايوني في حين تم تشخيص وقياس الالتهاب البكتيري بحساب المضادات المناعيه باستخدام طريقه الاليزا.

وجد احصائيا ان التغييرات لم تكن ملحوظا بين التهاب بكتريا الهيليكوباكتر بايلوري مع معامل كتله الجسم، العمر، الجنس، تاريخ التدخين. بينما كان هناك ارتفاع معنوي عالي مع مستوى السكر الصائمي ونسبه هيموكلوبين السكري وفترة المرض ما بين المرضى السكري من النوع الثاني. في الواقع ان الالتهابات البكتيرية لبكتريا الهيليكوباكتر بايلوري لها علاقه بمرض السكر من النوع الثاني مع ارتفاع نسبه الهيموكلوبين السكري والسكر الصائمي. وجد ان اكثر من 50% (51.42) للمرضى المصابين بداء السكري من النوع الثاني يعانون من الاصابه ببكتريا الهيليكوباكتر بايلوري ولهم زياده في الوزن (25-30) كغم/م².

نستنتج ان الاصابه بالتهاب بكتريا الهيليكوباكتر بايلوري تنتشر بين المرضى المصابين بداء السكري وغير المصابين في الواقع ان اكثر من 50% من المرضى العراقيين بداء السكري من النوع الثاني هم مصابون بالتهابات البكتيرية الهيليكوباكتر بايلوري والتي يمكن ان تعد من العوامل الخطره التي يجب ان ياخذ لها بعين الاعتبار في تقييم مرضى السكري.

كلمات مفتاحيه: الالتهابات البكتيرية لبكتريا الهيليكوباكتر بايلوري، داء السكري من النوع الثاني، النسبه المنويه للهيموغوبين السكري، معامل كتله الجسم

ABSTRACT

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is one of the most common cause of chronic bacterial infections in patients with gastrointestinal disorders in the world. Recent reports suggested that *H. pylori* might have high prevalence among patients with diabetes. The aim of the current study was to assess the prevalence rate of *H. pylori* infection and its effects on the control of glycemia in diabetic patients type 2. The authors enrolled 60 type 2 diabetic patients T2DM (29 male and 31 female) age between (35-75) years. A total of 30 healthy volunteers served as a control group was also included in the study. Groups were matched for gender and age and had similar geographical origin and socioeconomic status. Body mass index (BMI), fasting blood glucose & the percentage of blood level of glyciated Hemoglobin (HbA1C) were measured by Ion exchange chromatography, while the presence of *H. pylori* infection was demonstrated then determined its IgG antibody through the use ELISA technique. It was found that no statistically significant difference for *H. pylori* infection with BMI or age or gender & smoking history ($p > 0.05$), while there was a highly significant increase in fasting blood glucose or (HbA1c) levels or duration of DM among T2DM patients ($P < 0.001$). Indeed, infection with *H. pylori* is associated with type 2 diabetes mellitus with elevated levels of (HbA1c) and blood glucose highly significant, in patients with T2DM. More than fifty percent (51.42%) of the infected T2DM patients with *H. pylori* were overweight (BMI=25 -30kg/m).

The prevalence of *H. pylori* infection was similar for patients with type 2 diabetes and those with non-diabetes and related to improve metabolic control. In other words, diabetes mellitus is one of the risk factors that must be considered in the evaluation of *H. pylori* infection in diabetic patients.

INTRODUCTION

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is a bacterial pathogen related to a number of intestinal disorders, ranging from non-ulcer dyspepsia and peptic ulcer to gastric tumor (1). It was identified in 1982 by Barry Marshall and Robin Warren, who were able to demonstrate a strong association between the presence of *H. pylori* and the finding of inflammation on the gastrointestinal tract (2).

More than 50% of the world's population harbor *H. pylori* in their stomachs (3). Risk factors for acquiring *H. pylori* infection include residence in a developing country, poor socioeconomic conditions, family overcrowding, and possibly an ethnic or genetic predisposition (4).

Over 80% of people infected with *H. pylori* show no symptoms (5). Acute infection may appear as an acute gastritis with abdominal pain (stomach ache) or nausea (6). Where this develops into chronic gastritis, the symptoms, if present, are often those of non-ulcer dyspepsia: stomach pains, nausea, bloating, belching, and sometimes vomiting (7).

Many epidemiological studies have revealed that *H. pylori* infection causes not only chronic active gastritis and peptic ulcers, but also gastric malignancies (8).

In contrast, diabetes mellitus is one of the most common diseases and its incidence is exploding worldwide due to changes in lifestyle; thus, early control of this disease is strongly required. Diabetes mellitus (DM) is one of the important causes of dyspepsia. Disordered gastrointestinal motility is now recognized as a major cause of diabetes mellitus. Because type 2 diabetes accounts for a large proportion of diabetes cases and causes an estimated 3.8 million adult deaths globally, the number of patients who require *H. pylori* eradication therapy will increase in years to come (9). The role of *H. pylori* infection in diabetic dyspepsia is mainly related to blood glucose concentration. Hyperglycemia may induce the infection by *H. pylori* or the silent infection established cause of dyspepsia. The incidence of *H. pylori* is increased in diabetes mellitus (10). Abnormal gastrointestinal motility is a well-known complication of diabetes mellitus. Acidity and peristaltic activity are two important mechanisms that keep the upper GI tract sterile. From this respect, prolonged gastric emptying time in diabetic patients can lead to bacterial overgrowth (11,12).

The aim of this study was to determine the prevalence *H.pylori* infection in type 2 DM patients and to evaluate the relationship between *H. pylori* infection and glycemic control (hemoglobin HA1C, fasting blood glucose).

MATERIALS AND METHODS

Samples were collected from patients among the Endocrinology and Diabetes center/Health Ministry of Iraqi during the period from June to December 2012. A total of 90 subjects were collected in this study, 60 cases (29 male & 31 female) age between (35-75) years. All of them were selected randomly. Mean of duration of disease (10.34) years. A total of 30 healthy volunteer's age between (35-75) years served as a control group was also included in the study. The exclusion criteria of study were:

(1) Patients of Type -1 diabetes. (2) Non -cooperative patients who refuse to give consent or participate in the study. (3) Level of Education .(4) Pregnant women were also excluded because of the effect that their diet and/or medication and pregnancy.

Sociodemographic data was done by questioning all patients a detailed to obtain such as age, sex, smoking habits, and duration of DM

Sample Collections:

Five milliliters (5ml) venous blood was obtained after a 12 hour fasting period. 2 ml of this blood was transferred to EDTA tube for estimation of HA1C (A1C), the rest of the blood transferred to polyethylene plain tube. Serum sample was obtained by centrifugation at 3000 rpm for 5 min. Hemolysed samples were discarded and the sera were stored and frozen about -8C° until analysis.

Fasting serum glucose concentrations had been measured by enzymatic oxidation in the presence of glucose oxidase by (GOD-PAP) method (13), patients with fasting blood sugar more than 126 mg/dl were selected and considered diabetic according to the American Diabetes Association criteria. Glycohemoglobin (HA1C) test was done by fast Ion-Exchange Resin separation methods (14). The presence of *Helicobacter pylori* were diagnosed by using a rapid, one step test , a simple test that utilizes a combination of *H.pylori* antigen coated particles and anti-human IgG to qualitatively and selectivity detect *H.pylori* antibodies in serum (15). Concentration *H.pylori* levels were estimated by using EIA procedure for calculation anti -*H. pylori* IgG antibodies ELISA kit (Demeditec Diagnostics GmbH Germany Kit) (16). A total of 30 anti-*H.pylori*-IgG seronegative subjects were used as a control group. A cut off antibody titer was used to classify subjects as positive or negative, as recommended by the manufacturer (sensitivity, 96%; specificity, 96%). Reference standards were used to produce a

standard curve to quantitative *H. pylori* antibody levels in volunteers' samples. The results were expressed in International Units per milliliter.

Statistical Analysis:

The data collected were analyzed using statistical package for social science (SPSS). Percentage prevalence rates were calculated with their respective 95% confidence intervals. Differences between proportions were evaluated using T- tests & Mann-Whitney U test Statistical significance were achieved at $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Table (1) shows the prevalence of *H.pylori* infection in the studied diabetic and non-diabetic subjects. According to IgG antibody titer determination .

Table-1:Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in the diabetic and non-diabetic

Characteristics	T2DM patients (N=60)	Non-diabetic (N=30)	p-value
Age Group (positive)			
35-45	5(8.33%)	9(30%)	0.49
46-55	15(25%)	5(16.6%)	
56-65	10(16.6%)	1(3.33%)	
66-75	5(8.33%)	1(3.33%)	
Age Group (Negative)			
35-45	4(6.66%)	8(26.66%)	0.77
46-55	16(26.6%)	2(6.66%)	
56-65	4(6.66%)	3(10%)	
66-75	1(1.66%)	1(3.33%)	
<i>H. pylori</i> +	35(58.33%)	16(53.33%)	0.001
<i>H. pylori</i> -	25(41.66%)	14(46.66%)	0.001
<i>H. pylori</i> + by Gender			
Male	19 (54.28%)	11(68.75%)	0.74
Female	16 (45.71%)	5 (31.25%)	0.85

Both groups patients and control groups similar sociodemographic and anthropometric profiles and (table 2) summarizes the parameters examined

Table-2: Baseline physical and metabolic characteristics of diabetic and non-diabetic subjects with *Helicobacter Pylori* infection

Variables	Diabetic Mean±SD N=60	Non- diabetic Mean±SD N=30	p-value
Age (years)			
Total	56.05± 10.52	43.03±6.92	0.15
Male	55.33±9.56	47.12±6.67	0.312
Female	57.13±10.51	40.4±7.91	0.281
Smoking Status			
No %	25.71 % (9/35)	37.5 % (6/16)	0.23
Yes%	74.28 % (26/35)	62.5 % (10/16)	
Fasting Serum Glucose 0.001 (FBG) (µmol/L)	13.94±5.86	5.25±1.36	
Glycohemoglobin (HbA1C)	9.08±2.3	4.951±0.543	0.001

The mean values of FBG & HbA1C% for diabetic patients type2 infected with *Helico bacter pylori*(+) and non infected(-) are illustrated in table(3).

Table-3: The mean values of FBG & HbA1C% for T2DM patients infected with *Helicobacter pylori*(+ve) and non infected(-ve)

Groups	DM (HP+)	DM(HP-)
Fasting Serum Glucose(FBG) (µmol/L)	13.93±6.07	14.39±5.65
Glycohemoglobin (HbA1C) %	9.01 ±2.32	9.45±2.01

Body mass index (BMI) is defined as the weight in kilograms divided by the square of the height in meter (kg/m²). Table(4) shows BMI values of diabetic patients vr control groups both were infected with *Helicobacter pylori* (HP+).

Table-4: The nutrition of metabolic status (BMI)(Kg/m²)

Groups	Diabetic(HP+)	Control(HP+)
Under weight(≥19)	-----	1(6.25%)
Normal(20-24)	10(28.57%)	1(6.25%)
Overweight(25-29)	18(51.42%)	13(81.25%)
Obesity(≥30)	7(20%)	1(6.25%)

The distribution of prevalence rates with *Helicobacter pylori* Abs (IgG) titer (+ve) & (-ve) in T2D patients according to diseases duration are illustrated in table(5)

Table-5: Distribution of *Helicobacter pylori* Abs (IgG) titer (+ve) & (-ve) in T2D patients according to diseases duration

<i>H. pylori</i> Abs(IgG)	No.	Diseases duration		
		<10 years	10-20 Years	20-30 years
<i>H.Pylori</i> (+ve)	35	15(42.85%)	11(31.52%)	9(25.71%)
<i>H.Pylori</i> (-ve)	25	13(52%)	9(36%)	3 (12%)
p-value		0.001	0.001	0.01

Helicobacter pylori infection is determined by IgG antibodies ELISA kit positivity was present in 58.33 % (35/60) of type 2 diabetic patients and 53.33 % (16/30) of the controls (Table 1). There was highly statistically significant in overall prevalence of *H. pylori* in patients and controls (p <0.05). The prevalence of *H. pylori* infection was 54.28% (19/35) in men and 45.71% (16/35) in women with T2DM . Test of the equality of means between *H. pylori*-positive type 2 DM patients and *H.pylori* negative according to FBG,HbA1C, shows highly statistically significant in the means of both groups (p< 0.05) , it also shows that the mean of FBG ,HbA1C of diabetics infected with *H.pylori* is slightly lower than those not infected(means for HA1C 9.0vr 9.45),(mean for FBG 13.94 vr14.31).The prevalence of *H. pylori* infection was decrease significant with duration of T2DM (p>0.001) as shown in table(5).There were no association between *H. pylori* infection and smoking history; the prevalence of the infection was 25.71% (9/35) in those with T2DM against 37.5(6/16) for the control group.

Body mass index (BMI) is often used as an indicator of nutritional status (17). BMI is an index commonly used to determine weight status: underweight, overweight and obesity Table(4)shows BMI for diabetic patients & control with prevalence rates : normal (28.57%, 6.25%),over weight(51.42%, 81.25%) and obesity (20%, 6.25%)

Eradication of *Helicobacter pylori* has been associated with metabolic disturbances including weight gain logistic regression analysis (including age, gender, ,BMI, and smoking history) revealed that not any one of the above mentioned factors was independently associated with *H. pylori* infection (p>0.05).

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is one of the most common chronic infections in the worldwide(18) etiologically linked to peptic disease (19) (20)(21).*H.pylori* is a common infection in diabetics who do not have metabolically controlled hyperglycemia and these are individuals who are colonized by *H.pylori* infection in the gastric antrum(22)In this study presence of *H. pylori* bacteria is associated with elevated levels of glycosylated hemoglobin (HbA1c)an important biomarker for blood

glucose levels in diabetes. Study reported highly statically significant between T2DM patients and non-diabetics (control) regarding to HbA1C, FBG that infected *H.pylori* ($P=0.001$). In 1989, Simon et al. (23) reported that infection rates were significantly higher in diabetics than in controls. Similar data showed by Mahshid Talebi *et al* (24) ., Two other studies showed that the prevalence of *H. pylori* infection in diabetics by rapid urease test and detection of stool antigen positive in 73% and 51.4% of diabetics and non-diabetics, respectively was statistically significant (25),(26). Yu Chen *et al* found *H. pylori* directly or indirectly increases levels of HbA1c in adulthood, particularly in obese individuals. (27).

Demir M *et al*, Oluyemi A *et al* and others (28) they found there was no statistical difference significance in HbA1C between T2DM patients and controls group(29) Ozdem et al 2007(30). Ugwu et al. (31) had reported similar findings from the South East region of Nigeria as there was no significant association between the infection prevalence in their diabetic population and controls (35% vs 28% respectively $p>0.05$).

These findings are generally explained by the impairment of cellular and humeral immunity in diabetics, by the reduction of both gastrointestinal motility and acid secretion and by the effect of a higher secretion of pro-inflammatory cytokines attributable to the *H.pylori* gastric infection itself, in particular CagA positive strains, which are associated with increased production of cytokines, namely TNF- α , IL-1, IL-6, and IL-8 that might alter the control of glycemia in diabetic patient due to stimulation of insulin counter regulatory hormones and can effect directly the carbohydrate metabolism(32). In this study also show that the mean of both FBG.HbA1C of those diabetics infected with *Helicobacter pylori* is slightly lower than those who are non-infected .This is because *Helicobacter pylori* infection rises basal and meal stimulated serum gastrin concentration which may reduce fasting plasma concentration in the population(33).

In the present study majority of the patients with *H.pylori* infection in both groups diabetic (case) and non-diabetic (control) were mean age 56 years where is in another study the mean age was 60 years (31). Study by Sargyn et al had reported similar shows that the mean age of diabetic patients with *H.pylori* infection is 56 years (34). Poor socioeconomic status, living conditions, and hygiene have been repeatedly demonstrated to be major risk factors for *H. pylori* infection.

Although in the study found no effect of sex on serum glucose concentration

($p>0.05$). Actually, the effect of gender on seroprevalence is variable in different studies. Many showed that the prevalence is independent on sex (35) another found women had higher basal and meal stimulated

serum glucose concentrations than men. This might explain the effect of *H. pylori* infection on fasting plasma glucose concentrations in women but not in men (36). The current study shows highly statistically significant *H. pylori* (+ve)&(-ve) according to the duration of diabetes mellitus ($p < 0.05$) being highest in those with disease duration up to 10 years compared to rest disease duration. This may be due to the first years of illness might to patients inadaptability to the new situation forced by the disease with accompanying fluctuation of their FBG as mentioned Perdichizzi *et al*, that the alterations of glucose metabolism in diabetes have been suggested as promoting *H. pylori* colonization (37) with the patient becoming more adaptable to diabetes with increased duration, and with subsequent less prevalence of the bacterium.

It is well known that diabetic patients are prone to chronic infections, considered as a consequence of impairment of cellular and humoral immunity. Furthermore, it has been suggested that delayed gastric emptying may predispose to bacterial overgrowth in the upper gastrointestinal tract and consequently this may be considered as a risk factor for *H. pylori* infection (38). On the other hand, *H. pylori* colonization and sustained infection due to the impaired cellular immune response in acquired immune deficiency syndrome has been reported (39). Achlorhydria and diminished secretion of hydrochloric acid are more frequent among diabetic patients and thought to have an unfavorable effect on *H. pylori*. It is also known that impaired leukocyte function and hyperglycemia in diabetes mellitus predispose to infections and resultant increased antibiotic use may inhibit the colonization of *H. pylori*. A complicated balance between predisposing and preventing factors (e.g., achlorhydria due to diabetes mellitus) determine the prevalence of *H. pylori* infection in diabetes mellitus.

Infection with *Helicobacter pylori* is most associated with gastrointestinal tract complications. The mammalian stomach produces leptin and ghrelin, two hormones involved in energy homeostasis and whose interactions affect obesity, insulin sensitivity, and glucose homeostasis (40). *Helicobacter pylori* are gram-negative bacteria that colonize the human stomach; increasing evidence indicates that *H. pylori* is involved in the regulation of these two hormones. *Helicobacter pylori* is an ancient organism that is highly prevalent in developing countries but is falling in incidence in developed countries. This change in the microecology of human populations due to the disappearance of *H. pylori* may have metabolic consequences both early and late in life and, in particular, could affect risk of obesity and diabetes by influencing the production of gastric leptin and ghrelin. (41)

Conclusions

The prevalence of *H. pylori* infection was similar for patients with type 2 diabetes and those with non-diabetes and improved metabolic control. Indeed more than fifty percent of the Iraqi T2DM patients were infected with *H. pylori* and had overweight, then *H. pylori* infection is one of the risk factor that must be considered in evaluation of diabetic patients.

REFERENCES

1. Aebischer T, Meyer T.F, Andersen L.P: Inflammation, immunity and vaccines for helicobacter. *Helicobacter*, 15 suppl 1:21-8;2010
2. Warren JR, Marshall BJ: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in Woodward M, Morrison C, McColl K: An investigation into factors associated with *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Epidemiol*, 53:175–181.;2000.
3. Perez-Perez GI, Rothenbacher D, Brenner H: Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 9(suppl 1):1–6;2004
4. ADRIENNE Z. ABLES, PHARM.D., I. SIMON, M.D., and EMILY R. MELTON, M.D. Spartanburg Family Medicine Residency Program, Spartanburg, South;75:351-8;2007.
5. Boyanova, L. *Helicobacter pylori*. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455- Carolina 84-4 ;2011.
6. Butcher, Graham P. *Gastroenterology: An Illustrated Colour Text*. Elsevier Health Sciences. p. 25. ISBN 0-443-06215-3. 2011
7. Ryan, Kenneth. *Sherris Medical Microbiology*. McGraw-Hill. pp. 573 and. 576 .978-160402-4;2010.
8. M Akanuma, A Yanai, K Sakamoto, et al. *Helicobacter pylori* Eradication and Type 2 Diabetes *Hepato-Gastroenterology* 59 – 645;2012
9. Ikeda F, Doi Y, Yonemoto K, et al.: Hyperglycemia increases risk of gastric cancer posted by *Helicobacter pylori* infection: a population-based cohort study. *Gastroenterology* ;136:1234-1241;2009
10. Block CEM, Leeuw IHD, Pelckmans PA, Callens D (2002). Delayed gastric emptying and gastric autoimmunity in type I diabetes. *Diabetes Care*, 25(5): 912-917;2002
11. Kojecky, V.; Roubalik, J.; Bartonikova, N. *Helicobacter pylori* in Patients with Diabetes Mellitus. *Vnitr. Lek.* 39, 581-58 ;1998
12. GuÈvener, N.; Akcan, Y.; Paksoy, I.; Soylu, I.R.; Aydin, M.; Arslan, S.; Gedik, O . *Helicobacter pylori* Associated Gastric Pathology in Patients With Type II Diabetes Mellitus and its Relationship With Gastric Emptying: The Ankara Study. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 107, 172-176.1997
13. Teuscher A .Richterich P. *Schweiz.med.Wschr.*101.345 and 390 :1971.

14. Gorka G, labor-Medizin infection in Chinese subjects with type 2 diabetes. *Endocr. Res.* 27(1-2):,1,30-31;1985.
15. Marshall, BJ,McGehie, DB, Rogers ,PAR and Glancy ,RG.Pylori Campylobacter infection and gastroduodenal disease. *Med.J.Australia.* 149:439-44;1985.
16. Cover TL et al ,Serologic detection of infection with cagA+*Helicobacter pylori* train.*J.Clin.Microbiol*,33:1496;1995.
17. Molnar MZ, Streja E, Kovesdy CP, Bunnapradist S, Sampaio MS, Jing J, et al. Associations of body mass index and weight loss with mortality in transplant-waitlisted maintenance hemodialysis patients. *Am J Transplant.*;11(4):725-36. :2011
18. Bener A, Uduman SA, Ameen A, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection among low socio-economic workers.*J Communicable Disease* 34: 179-84:2002
19. Graham DY. Campylobacter pylori and peptic ulcerdisease. *Gastroenterology*;96(2 Pt 2 Suppl):615-25.1898. .
20. Forman D, Newell DG, Fullerton F, Yarnell JW, StaceyAR, Wald N, Sitas F. Association between infection with*Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer: evidencefrom a prospective investigation. *BMJ*;302(6788):1302-5:1991.
21. Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, Gelb AB, WarnkeRA, Jellum E, Orentreich N, Vogelman JH, Friedman GD.*Helicobacter pylori* infection and gastric lymphoma. *NEngl J Med*;330(18):1267-71);1994
22. Gasbarrini A, Ojetti V, Pitocco D, Armuzzi A, Silveri NG,Pola P, Ghirlanda G, Gasbarrini G. Efficacy of different*Helicobacter pylori* eradication regimens in patientsaffected by insulin-dependent diabetes mellitus. *Scand JGastroenterol*;35(3):260-3).;2000
23. Simon L, Tornoczky J, Toth M, Jambor M, Sudar Z: The significance of Campylobacter pylori infection in gastroenterologic and diabetic practice. *Orvosi Hetilap*, 130:1325–1329'1989
24. Mahshid Talebi-Taher¹, Manizheh Mashayekhi², Mohammad Hossein Hashemi², and Vanosheh Bahrani² in Diabetic and Non-Diabetic Patients with Dyspepsia *Acta Medica Iranica*,; 50(5): 315-318:2012
25. Agrawal RP, Sharma R, Garg D, Pokharna R, Kochar DK, Kothari RP. Role of *Helicobacter pylori* in causation of diabetic gastropathies and non-gastrointestinal complications in type 2 diabetes. *J Indian Med Assoc*;108(3):140-3:2010
26. Devrajani BR, Shah SZ, Soomro AA, Devrajani T. Type 2diabetes mellitus: A risk factor for *Helicobacter pylori*infection: A hospital based case-control study. *Int JDiabetes Dev Ctries*;30(1):22-6:2010

27. Yu Chen, PhD, and Martin Blaser, MD, at NYU School of Medicine, part of NYU Langone Medical Center, cross-analyzed data from participants in two National Health and Nutrition Surveys -2012
28. Aderemi Oluyemi1, Ebere Anomneze, Stella Smith and Olufemi Fasanmade Prevalence of a marker of active helicobacterpylori infection among patients withtype 2diabetes mellitus in Lagos, Nigeria 5:28:2012
29. Demir M, Gokturk HS, Ozturk NA, Kulaksizoglu M, Serin E, Yilmaz U. Helicobacter pylori prevalence in diabetes mellitus patients with dyspeptic symptoms and its relationship to glycemic control and late complications. Oct;53(10):2646-9:2008
30. Ozdem S, Akcam M, Yilmaz A, Artan R, Insulin resistance in children with Helicobacter pylori infection .JEndocrinal Invest;30(3):236-40;2007.
31. Ugwu NC, Ugwuja EI, Ejikeme BN, Obeka NC. Helicobacter pylori seropositivity in Nigerians with Type 2 diabetes mellitus. The Internet Journal of Trop Med. 2008
32. Marcell Candelli, Donato Rigante, Giovanni Marietti, Enrico C. Nista, Francesca Crea, Francesco Bartolozzi, Alessandra Schiavino, Giulia Pignataro, Nicolo Gentiloni Silveri, Giovanni Gasbarrini, and Antonio Gasbarrini .Helicobacter pylori, Gastrointestinal Symptoms, and Metabolic Control in Young Type 1 Diabetes Mellitus Patients. Pediatrics vol.111 no.4, pp.800-803;2003.
33. Toporowska-Kowalska E, Wasowska- Krolikowska K, Szadkowska A, Bodalski. Helicobacter pylori infection and its metabolic consequences in children and adolescents with type1 diabetes mellitus Med Wieku Rozwoj;11(2pt1):103-8;2007
34. Ugwu NC, Ugwuja EI, Ejikeme BN, Obeka NC: Helicobacter pylori seropositivity in Nigerians with Type 2 diabetes mellitus. The Internet Journal of Trop Med 4(2).2008.
35. Mossi, S.; Meyer-Wyss, B. and Renner, E.L. et. al. Influence of Helicobacter pylori, sex and age on serum gastrin and pepsinogen concentrations in subjects without symptoms and patients with duodenal ulcers. Gut. 34:752-756.1993
36. Kanbay M, Gur G, Arslan H, Yilmaz U, Boyacioglu S, The Relationship of ABO Blood Group, Age, Gender, Smoking and Helicobacter pylori infection Dig Dis ,50:1214-7:2005
37. Perdichizzi G, Bottari M, Pallio S, Gastric infection by Helicobacter pylori and antral gastritis in hyperglycemic obese and diabetic subjects. New Microbiol;19;149-54:1996

38. Gunever R, Akcan Y, Paksoy I, Soulu AR, Aydin M, Arslan S. *Helicobacter pylori* associated gastric pathology in patients with type II diabetes mellitus and its relationship with gastric emptying. Ankara Study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 107(3):172–176;1999
39. Marano BJ, Smith F, Bonanno CA. *Helicobacter pylori* infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Gastroenterol* 88:687–690;1993
40. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S : A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 409:194–198;2001
41. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 50:707–709;(2001)

Preparation and Identification of Some Chelate Complexes with New Heterocyclic Azoligand

Abid Allah. M. Ali¹, Tahir. A. Tahir² and Raheem. T. Mahdi³

¹Dep. of Chemistry, College of Education for Women, University of Kufa

²College of Science, University of Chehane

³College of Pharmacy, University of Kufa

Received 22/5/2012 – Accepted 25/12/2012

الخلاصة

تضمن البحث تحضير معقدات كلابية لكل من النيكل(II) والنحاس(II) والخرصين(II) والكاديوم(II) والزنابق(II) مع ليكاند الأزو غير متجانس الحلقة الجديد 2-[5,4-ثنائي ميثيل فنيل) أزو]-5,4 - ثنائي فنيل إيميدازول (dimpai) وبنسبة فلز: ليكاند (2:1) لأيوني النيكل(II) والنحاس(II)، وقد بلغت النسبة المذكورة (1:1) لأيونات الخرصين(II) والكاديوم(II) والزنابق(II). تم تحضير ليكاند الأزو من تفاعل أزواج ملح كلوريد 5,2-ثنائي ميثيل فنيل الديازونيوم مع 5,4-ثنائي فنيل إيميدازول في محلول قاعدي كحولي. أما الأشكال الفراغية لهذه المعقدات فقد تم اقتراحها بالاستناد إلى معطيات التحليل الدقيق للعناصر و قياسات الحساسية المغناطيسية و التوصيل الكهربائي المولاري و أطيف الأشعة تحت الحمراء و الأطيف الالكترونية.

ABSTRACT

Chelate complexes of Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II) and Hg(II) were prepared with new heterocyclic azoligand 2-[(2,5-Dimethyl phenyl)azo]-4,5-diphenyl imidazole (dimpai), the mole ratio (M:L) was (1:2) for Ni(II) and Cu(II) metal ions, and (1:1) for Zn(II), Cd(II) and Hg(II) metal ions. The azoligand was prepared by coupling reaction of 2,5-dimethyl phenyl diazonim chloride with 4,5-diphenyl imidazole as coupling component in alkaline ethanolic solution. The structures of these complexes were elucidated on the basis of elemental analysis, magnetic susceptibility, molar conductivity measurement, IR and electronic spectra.

INTRODUCTION

Azo Compounds, with general formula ($R_1-N=N-R_2$), are one of the famous organic molecules[1]. Azo dyes do not occur in nature and are produced only through chemical synthesis[2]. This kind of dyes are widely used in dyestuff industry[3-5]and analytical chemistry[6-8].Recently, they have received much attention in the field of nonlinear optics, optical storage and other photoelectric applications[9-11].Biological importance of azo compounds is well known for their use as antineoplastic[12], antidiabetics[13], antiseptics[14] and other useful chemotherapeutic agents. Imidazole derivatives are also considered as potent biologically actives compounds[15,16] and some luminescent metal complexes based on derivatives of azoimidazole have been documented[17,18]. In via of this importance we describe her in the preparation and identification of Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II) and Hg(II) complexes with new arylazo-4,5-diphenylimidazole.

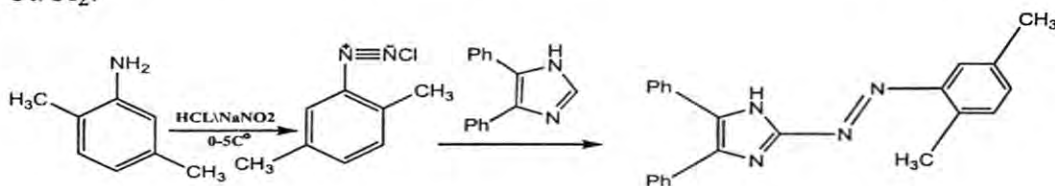
MATERIALS AND METHODS

Materials and Measurements

All the used reagents and solvents had at least analytical grade, except of 4,5-diphenyl imidazole was prepared as reported procedure[19] and the buffer solutions were prepared as described earlier[20]. Melting points was determined by open capillary tube method and are uncorrected by using a Stuart melting point SMP10. Elemental analyses (C, H, N) were carried out using a C.H.N.O EA 3000 instrument by the Central Laboratory University of Kufa. The metal contents of the complexes was measured using atomic absorption technique by Shimadzu AA-6300. IR spectra were recorded on a Shimadzu 8000 FT-IR spectrophotometer in the $(4000-400) \text{ cm}^{-1}$ range using KBr discs. Electronic spectra were obtained on a Shimadzu 1700 UV spectrometer using ethanol as solvent in the $(1100-200) \text{ nm}$ range. Magnetic susceptibilities were determined by faraday method at room temperature using Balance Magnetic (MSB-MKI) apparatus, and diamagnetic corrections for the ligand were calculated using Pascal's constant[21]. Molar conductance of the transition metal complexes were determined in DMF using conductivity meter Alpha-800 at 25°C , the concentration of the solutions was $(10^{-3} \text{ mol L}^{-1})$.

Preparation of the ligand (dimpai)

(dimpai) ligand was prepared according to the following general procedure[22] (Scheme 1). 2,5-dimethylaniline (1.21 g, 10 mmol) was dissolved in 30 mL of water and 3.0 mL of concentrated hydrochloric acid. This solution was diazotized below 5°C with 13 mL of aqueous (1.0 mol L^{-1}) sodium nitrite. A drop of the reaction mixture is tested from time to time with starch-iodide paper until nitrous acid persists in the solution during a 10 min interval. The resulting diazonium chloride solution was mixed with 4,5-diphenyl imidazole (2.2 g, 10 mmol) dissolved in 150 mL alkaline ethanol cooled below 5°C . After leaving in the refrigerator for 24 hour, the mixture was acidified with (0.1 mol L^{-1}) hydrochloric acid until $(\text{pH} = 6)$. The precipitate was filtered off, and twice recrystallized from hot ethanol, and dried over anhydrous CaCl_2 .



Scheme.1: Preparation of the (dimpai) ligand

Preparation of complexes

Addition of ethanolic solution of azoligand (dimpai) to an aqueous solution of the hydrated metal chloride Ni(II) and Cu(II) in 2:1 (ligand : metal) molar ratios. After stirring for 1hr, colored precipitates formed at room temperature, the rustling solids were filtered off, washed with 5 mL hot 50 vol. % ethanol to remove any traces of the unreacted starting materials dried and recrystallized from ethanol and dried at 90°C. Preparation of Zn(II), Cd(II) and Hg(II) complexes were prepared in a similar procedure except the molar ratio 1:1 which afforded colored complexes.

RESULTS AND DISSCUSION

Identification of ligand and its metal complexes

The azo ligand was yellowish orange powder, but the chelates complexes of this ligand vary in color depended of metal ions. The experimental results of the elemental analyses of the prepared ligand and its metal chelates are in good agreement with theoretical expectations. The elemental analyses of the complexes indicate that the metal-ligand ratios were 1:2 in the $[M(\text{dimpai})_2\text{Cl}_2]$ $[M = \text{Ni(II)}$, or $\text{Cu(II)}]$, metal complexes and $[M(\text{dimpai})\text{Cl}_2]$ $[M = \text{Zn(II)}$, Cd(II) , or $\text{Hg(II)}]$, chelate complexes. The ligand and its complexes were insoluble in water but soluble in most organic solvents such as methanol, ethanol, acetone, chloroform, and pyridine giving stable solutions at room temperature. The synthesized ligand and its complexes were soluble in water giving stable solutions at room temperature. However, some physical and analytical data given in Table.1.

Table-1: Some physical and analytical data of the ligand and its complexes

Compound	Formula	m.p. °C	Yield%	Color	Found (Caled) %			
					C	H	N	M
L= (dimpai)	$\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4$	167- 169	65	Yellowish- orange	78.86 (79.12)	5.35 (5.49)	15.24 (15.38)	-----
$[\text{Ni(L)}_2\text{Cl}_2]$	$\text{C}_{48}\text{H}_{40}\text{N}_8\text{Cl}_2\text{Ni}$	227- 229	69	Brownish- red	66.93 (67.15)	4.53 (4.66)	13.14 (13.06)	6.42 (6.84)
$[\text{Cu(L)}_2\text{Cl}_2]$	$\text{C}_{48}\text{H}_{40}\text{N}_8\text{Cl}_2\text{Cu}$	198- 199	76	Deep brown	66.57 (66.78)	4.51 (4.63)	12.77 (12.98)	8.04 (8.23)
$[\text{Zn(L)Cl}_2]$	$\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{Cl}_2\text{Zn}$	185- 187	70	Red	57.33 (57.54)	3.91 (3.99)	12.04 (11.89)	12.83 (13.08)
$[\text{Cd(L)Cl}_2]$	$\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{Cl}_2\text{Cd}$	206- 208	71	Red	52.38 (52.61)	3.52 (3.65)	10.02 (10.23)	-----
$[\text{Hg(L)Cl}_2]$	$\text{C}_{24}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{Cl}_2\text{Hg}$	181- 184	73	Deep red	45.19 (45.31)	3.52 (3.14)	8.65 (8.81)	-----

Study of complexes formation in solution

The (metal : ligand) ratios of chelates complexes were determined by molar ratio method[20] at fixed pH and concentration at wavelengths of maximum absorption as follow: A series of solution were prepared

having a constant concentration (3×10^{-4} mol L⁻¹) of metal ions and different concentration of azoligand (L). The (M : L) ratio was determined from relationship between absorption of the absorbed light and mole ratio of (M : L). The results are listed in Table.2, the ligand was found to form (2 : 1) chelates with Ni(II) and Cu(II) metal ions and (1 : 1) with Zn(II), Cd(II) and Hg(II) metal ions, these results are in agreement with the values reported for some aryl azo 4,5-diphenyl-imidazole complexes[23-25].

Calculation of the metal complexes stability constant

Stability constants of complexes are obtained spectrophotometrically by measuring the absorbance of mixture solutions of both metal ions and ligand at fixed pH values, wave length λ_{max} and concentration. The degree of formation of the complexes are calculated based on the relationship[26] $\beta = (1-\alpha) / (4\alpha^3c^2)$ for (1:2) metal chelates and $\beta = (1-\alpha) / (\alpha^2c)$ for (1:1) and $\alpha = (A_m - A_s) / A_m$, where A_s and A_m are the absorbance's of the partially and fully formed complex respectively at optimum concentration. The calculated log β values for the prepared complexes are listed in Table.2, the stability follows the sequence ; Ni(II) < Cu(II) > Zn(II) > Cd(II) > Hg(II), the sequence of metal ions of the first row transition metal agree with (Irving-Williams) series of stability constant[27].

Table.-2: Complex formation (M:L) ratios, optimum pH and the calculated stability constant values

Ligand	Metal ion	pH	λ_{max} nm	(M : L)	β	log β
(dimpai)	Ni(II)	8.5	616	1 : 2	4.259×10^6	6.629
	Cu(II)	6.0	598	1 : 2	7.153×10^7	7.854
	Zn(II)	7.5	470	1 : 1	5.824×10^4	4.765
	Cd(II)	8.0	462	1 : 1	6.268×10^5	5.797
	Hg(II)	8.5	484	1 : 1	8.336×10^5	5.921

Infrared spectra

The mode of bonding between the azo ligand and the titled metal ions was elucidated by examining the IR spectra of the metal complexes in comparison to those of the free azodye ligand (Table.3). The IR spectrum of the free ligand (dimpai) showed a medium and broad band around 3425 cm⁻¹, which can be attributed to (N-H) stretching vibration of the imidazole moiety[28]. The position of this band remained at nearly the same frequency in spectra of the metal complexes, suggesting the uncoordination of this group to the metal ions[23,29]. The spectrum of the ligand shows absorption band at 1604 cm⁻¹ due to $\nu(C=N)$ of the N3 imidazole nitrogen. It is observed with a little change in shape and shifted to lower frequencies 1597 – 1590 cm⁻¹ in the prepared complexes spectra. These differences suggest the

linkage of metal ion with nitrogen imidazole ring[24,30]. The $\nu(\text{N}=\text{N})$ stretching vibration appears at 1442 cm^{-1} in the free ligand spectra. This band appearing at $1440 - 1430\text{ cm}^{-1}$ with different in shape and reduced in intensity in the spectra of prepared complexes. Both band shifted and reduced intensity due to complex formation[25,31,32]. The far infrared spectra of the metal complexes exhibited new bands that are not present in the free ligand. These band are located at $470 - 445\text{ cm}^{-1}$, assigned to $\nu(\text{M}-\text{N})$ [33]. Thus the above IR spectral data lead to suggest that the ligand behaves as a bidentate chelating agent, and the coordination sites are, the nitrogen atom of azo group nearest to a phenyl ring, and N3 atom of the imidazole ring, to give five-membered chelate ring. Figs.1 and 2, shows the spectra of ligand and $[\text{Cu}(\text{L})_2\text{Cl}_2]$ complex.

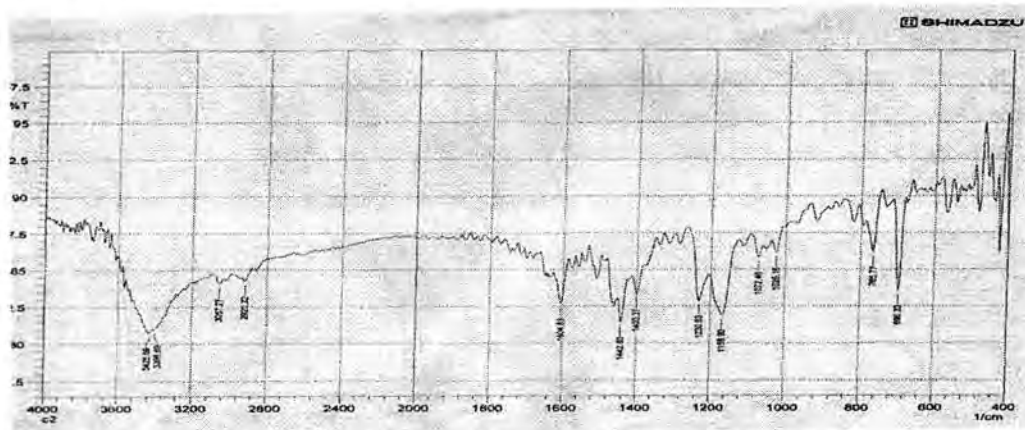


Fig.-1: IR Spectrum of azo imedazole ligand (dimpai)

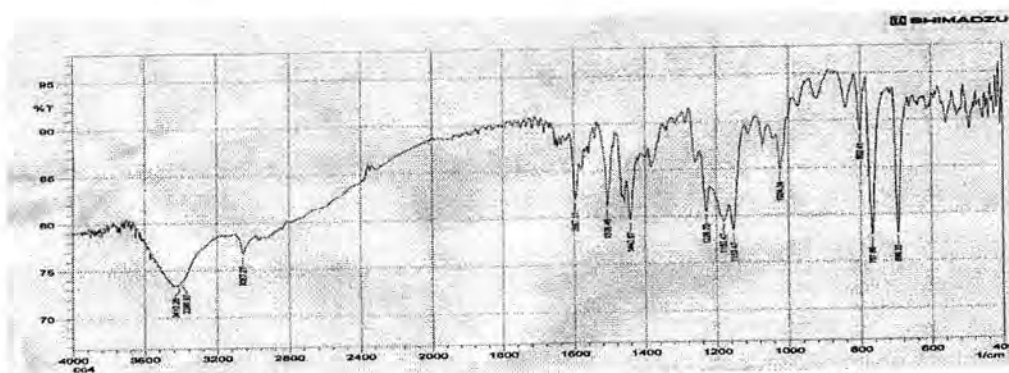


Fig.-2: IR Spectrum of Cu(II) complex with (dimpai) ligand

Table.-3: Characteristic IR frequencies (in cm^{-1}) of the azo imidazole ligand and its metal complexes

Compound	$\nu(\text{N}-\text{H})$	$\nu(\text{C}-\text{H})$ Ar.	$\nu(\text{C}-\text{H})$ Alph.	$\nu(\text{C}=\text{N})$	$\nu(\text{N}=\text{N})$	$\nu(\text{M}-\text{N})$
(dimpai)	3425 m.	3057 w	2920 w	1604 m	1442 m	
$[\text{Ni}(\text{L})_2\text{Cl}_2]$	3415 m.	3055 w	2920 w	1590 m	1435 m	465 w
$[\text{Cu}(\text{L})_2\text{Cl}_2]$	3410 m	3057 w	2925 w	1597 m	1440 m	470 w
$[\text{Zn}(\text{L})\text{Cl}_2]$	3415 m	3056 w	2927 w	1594 m	1433 m	445 w
$[\text{Cd}(\text{L})\text{Cl}_2]$	3413 m	3055 w	2924 w	1590 m	1430 m	450 w
$[\text{Hg}(\text{L})\text{Cl}_2]$	3420 w	3058 w	2925 w	1590 m	1435 m	470 w

w = weak, m = medium,

Magnetic measurement and electronic spectra

The magnetic moment for the complex of Ni(II) (d^8) was found to be (3.12 B. M) which is with the range of octahedral Ni(II) complexes[34]. The electronic spectrum of this complex show bands at 10504.20 cm^{-1} ($\epsilon \sim 54 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) and $\sim 16233.76 \text{ cm}^{-1}$ ($\epsilon \sim 82 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) which can be assigned to ${}^3A_{2g}(F) \rightarrow {}^3T_{2g}(F)$ (ν_1) and ${}^3A_{2g}(F) \rightarrow {}^3T_{1g}(F)$ (ν_2) transitions in an octahedral field[35]. The transition due to ${}^3A_{2g}(F) \rightarrow {}^3T_{1g}(p)$ (ν_3) was completely obscured by the intense intra ligand transition band. The magnetic moment value of the Cu(II) (d^9) complex (1.71 B.M), this value indicate within the expected for one electron, and d-d spectrum of this complex show band at $\sim 16722.4 \text{ cm}^{-1}$ ($\epsilon \sim 95 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), which is suggesting the existence of ${}^2E_g \rightarrow {}^2T_{2g}$ transition with an octahedral spatial configuration[36]. Zn(II), Cd(II) and Hg(II) metal complexes are diamagnetic consistent with the d^{10} configuration and the electronic spectra of these complexes exhibit high intense charge transfer transition in the visible region ($21645\text{-}20661 \text{ cm}^{-1}$) which are assigned to (MLCT)[37]. The spectral data and the magnetic moment of prepared complexes are listed in Table.4.

Table.-4: Electronic spectra, conductivity and magnetic moment of complexes

	Absorption bands (cm^{-1})	Transition	Conductivity S. $\text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$	μ_{eff} (B.M)
[Ni(L) ₂ Cl ₂]	10504.20 16233.76	${}^3A_{2g}(F) \rightarrow {}^3T_{2g}(F)$ (ν_1) ${}^3A_{2g}(F) \rightarrow {}^3T_{1g}(F)$ (ν_2)	9.33	3.12
[Cu(L) ₂ Cl ₂]	16722.4	${}^2E_g \rightarrow {}^2T_{2g}$	8.72	1.71
[Zn(L)Cl ₂]	21276.5	-----	9.47	Dia
[Cd(L)Cl ₂]	21645	-----	12.52	Dia
[Hg(L)Cl ₂]	20661	-----	14.39	Dia

Estimation of chloride

Chloride was determined gravimetrically as silver chloride[38]. The sample was acidified with 5N HNO₃ and 1% silver nitrate solution was added, till the precipitation was complete. The precipitate was filtered through a G-4 sintered glass crucible, dried at 110°C and weighed as silver chloride

Conductivity measurement

Molar conductance data of the complexes were measured in the solvent DMF and the complexes were found to be non electrolytic[39] in nature. Conductivity value of the chelate complexes are lie in the range(8.72-14.39) S. $\text{cm}^2 \cdot \text{mol}^{-1}$.

CONCLUSIONS

The spectral, Spectrophotometric and magnetic studies of the prepared metal complexes of azoligand reveals that Ni(II) and Cu(II) metal complexes are having octahedral geometry and the (metal :

ligand) ratio is 1:2. But Zn(II), Cd(II) and Hg(II) metal complexes are having tetrahedral geometry with 1:1 (metal : ligand) ratio. The ligand can be good analytical reagent for some metal ions. According to the above data the structural formula of metal complexes may be proposed in Figs. 3 and 4.

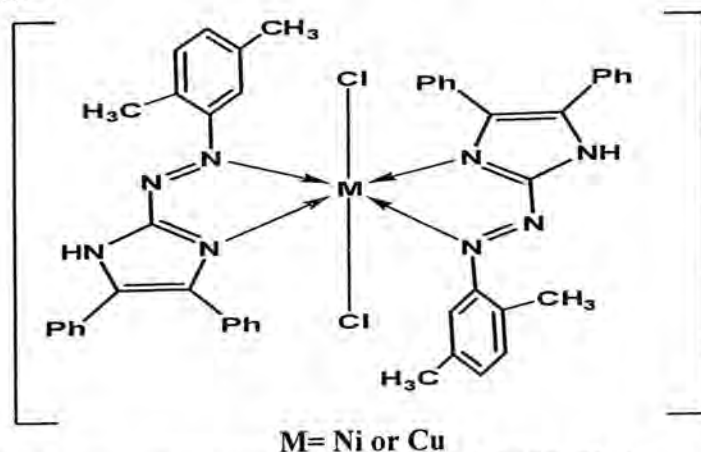


Fig. -3: The suggested geometry of Ni(II) and Cu(II) Chelate complexes

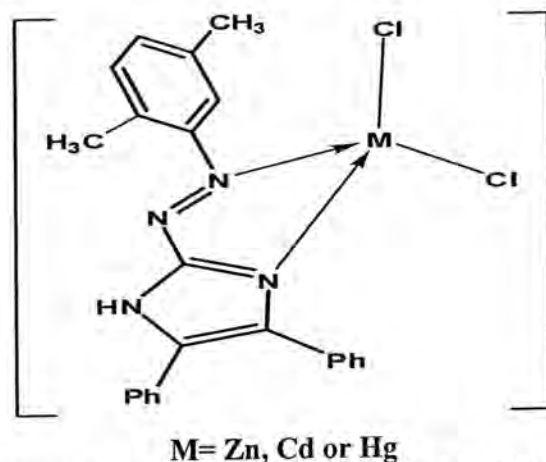


Fig. -4: The suggested geometry of Zn(II), Cd(II) and Hg(II) Chelate complexes

REFERENCES

- Gorden. P. F, and Gregory. P; "*Organic Chemistry in Color*"., 1st Ed., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 60, (1983).
- Zollinger. H ; "*Color chemistry, synthesis, properties and application of organic dyes and pigments*"., 3rd Ed. Weinheim, Wiley VCH, Chapters 12-14, 413-537, (2003).
- Koh. J and Greaves. A. J ;"Synthesis and application of an alkali-clearable azo disperse dye containing a fluorsulfonyl group and analysis of its alkali-hydrolysis kinetics"., *Dyes Pigm. (SCI)*, 50 (2), 117-126, (2001).

3. Seferoğlu. Z; "A study on tautomeric equilibria of new hetarylazo-6 amino-uracils"., *ARKIVOC.* (vii), 42-57, (2009).
4. Maradiya. H. R, and Patef. V. S ; "Synthesis and dyeing performance of monoazo disperse dyes based on 2-Aminoheterocycles"., *Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia.* 20 (1), 51-60, (2001).
6. Zhang. C. -J, Miura. J. 'ichiro, Kato. T and Nagaosa. Y ., "Selective Determination of Nickel in Biological Samples by High Performance Liquid Chromatography"; *Microchim Acta.* 151, 23-28, (2005)
7. Ali. A. M, Al-Da amy. M. A, Kadhier. A. F and Hatam. R. S ; "Synthesis of 2-[(3- Cloro-4,6-disulfanamide phenyl) azo]-4,5-diphenylimidazole (Cdsai) as anew analytical reagent for the determination of Cu(II)"., *Nat. J. of Chem.* 37, 66-73, (2010).
8. Ali. A. M, Ali. K. J and Ali. I. R; "Solvent extraction of copper(II) by using 2-[(5-Chloro-2-methylphenyl) azo]-4,5-diphenylimidazole (CIMEPAI)"., 15(1), 167-179, (2010).
9. Bhunia. P, Ray. U. S, Cheng. J, Lu. T. H, and Sinha. C ; "Nickel(II)- Azido /thiocyanato complexes of 1-alkyl-2-(naphthylazo)imidazole"., *Polyhedron.* 27, 3191-3196, (2008).
10. Jiang. C. H, Kuzyk. M. G, Ding. J. L, Johns. W. E, and Welker. D. J ; "Fabrication and mechanical behavior of dye-doped polymer optical fiber"., *J. Appl. Phys.* 92, 4-12, (2002).
11. Maranski. K, Kucharski. S, Ortyl. E, Nunzi. J. M, Ahmadi-Kandjani. S, Dabos-Seignon. S , Chan. S. W, and Barille. R ; "Second harmonic generation and photochromic grating in polyurethane films containing diazo isoxazole chromophore"., *Opt. Mater.* 30, 1832-1839, (2008).
12. Child. R. G, Wilkinson. R. G, and Tomcu-Fucik. A ; "Effect of Substrate orientation of the adhesion of polymer joints"., *Chem. Abstr.* 87, 6031, (1977).
13. Garg. H. G, and Praksh. C ; "Preparation of 4-arylozo-3,5-disubstituted-(2H)-1,2,6- thiadiazine-1,1-dioxides"., *J. Med. Chem.* 15(4), 435-436, (1972).
14. Browing. C. H, Cohen. J. B, Ellingworth. S, and Gulbransen. R ; "The antiseptic properties of the aminoderivatives of styryl and anil quinoline"., *Journal Storage.* 100, 293-325, (1926).
15. Ucucu. U, Karaburun. N. G, and Isikdag. I ; "Synthesis and analgesic activity of some 1-benzyl-2-substituted-4,5-diphenyl-1H-imidazole derivatives"., *Farmaco.* 56, 285-290, (2001).
16. Dutta. S, Mariappan. G, Roy. S, and Verma. M ; "Anthelmintic activity of some 2-substituted 4, 5-diphenyl imidazole"., *Indian Drugs.* 46 (7), 50-53, (2009).

16. Mathur. T, Jasimuddin. S, Milton. H, Woollins. J. D, and Sinha. C ; "First example of mixed azoheterocycles: structural studies of metallo-macrocycle Ag(I) versus tetrahedral Cd(II) complexes of pyridyl-azo-imidazole"., *Inorg. Chim. Acta.* 357, 3503-3509, (2004).
17. Pramanik. A, and Das. G ; "Molecular to Supramolecular Structure: Influence of Coordination Environment in Azo-dye Complexes"., *Cryst. Growth Des.* 8, 3107-3113, (2008).
19. Hofmann. K ; "*Imidazole and its derivatives*"., Interscience, New York. (1953).
20. Beltcher. R, and Nutten. A. J ; "*Quantitative Inorganic Analysis*"., Butterworth, London. (1970).
21. Earnshaw. A ; "The Introduction to Magneto Chemistry"., Academic Press, London, U.K, (1980).
22. Shibata. S, Furukawa. M and Nakashima. R ; " Syntheses of azo dyes containing 4,5-diphenylimidazole and their evaluation as analytical reagents"., *Anal. Chim. Acta.* 81, 131-141, (1976).
24. Ali. A. M, AL-Gatrinie. N. N and Ratrout. S ; "Synthesis and Characterization of 2-[(2-Carboxy-4-iodophenyl)azo]-4,5-diphenylimidazole (CIPAI) and Its Complexes with Cu^{2+} , Ag^{1+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} and Hg^{2+} "., *Journal of Al-Qadisiyah for Pure Science.* 10 (2), 192-199, (2005).
25. Ali. A. M, and Mehdi. R. T ; "Synthesis and Spectroscopic Studies of Some Transition Metal Complexes with 2-[(3-Iodophenyl)azo]-4,5-diphenyle imidazole"., *Al-Mustansirya . J. Sci .* 16 (4), 1-11 (2005).
27. 25. Ali. A. M, Mohammed. H. J and Khadhim. A. J ; " Preparation, Identification and Analytical Studies of the Ligand 2-[p-(2'-pyrimidyl sulphamyI) phenylazo]-4,5-diphenyl imidazole (PSPAI) and Some of it's Metal Complexes"., *The Islamic University Journal .* 16 (1), 85-94, (2008).
28. 26. Tirmizi. S. A, Wattoo. F. H, Wattoo. M. H. S, Sarwar. S, Memon. A. N and Ghangro. A. B ; " Spectrophotometric study of stability constants of cimetidine-Ni(II) complex at different temperatures" ., *Arabian. J. of Chemistry.* Accept, (2010).
29. 27. Cotton. F. A and Wilkinson. G ; "*Advanced Inorganic Chemistry*"., Interscience, 4th Ed., London, (1980).
30. 28. Mahmoud. M. R, Hammam. A. M, EI-Gyar. S. A and Ibrahim. S. A ; "Coordination Compounds of Heterocyclic Azo Derivatives. III. Co(II), Ni(II) and Cu(II) Complexes of Some Arylazo-4,5-diphenylimidazole Derivatives" ., *Monatshefte fur Chemie,* 117, 313-325, (1986).

31. 29. Al-Adely. K. J. K; "Synthesis and spectroscopic Study of Group (IIB) and (IIIB) Metal Ion Complexes With New Azo Compounds and With 1-(2-Pyridyl azo)-2-naphtho" *Ph. D. Thesis* ., University of Baghdad. (2000).
30. Byabartta. P and Laguna. M ; "Gold(III) pentafluorophenylarylazoimidazole: Synthesis and spectral (H, C, COSY, HMQC NMR) characterisation" ., *J. Chem. Sci.* 118 (5), 385-392, (2006).
33. 31. Mohammad. H. S ; "Preparation and characterization of 4-[6-(purinyl)azo]-1-naphthol and some transition metal complexes"., *Iraqi. Natio. J. of Chem.* 43, 347-360, (2011).
34. 32. Anitha. K. R, Reddy. V and Rao. K. S.V ; "Synthesis and antimicrobial evaluation of metal (II) complexes of a novel bisazo dye 2, 2'- [benzene-1, 3-diyl di (E) diazene 2,1-diyl] bis (4-chloroaniline)"., *J. Chem. Pharm. Res.* 3 (3), 511-519, (2011).
35. 33. Nakamoto. K; "*Infrared spectra of inorganic and coordination compounds*" ., 2nd Ed. Wiley: New York, (1970).
36. 34. Dash. D. C, Meher. F. M, Monhanty. P. C and Nanda. J ; "Complexes of 3-Benzylideneimino-2-thio-hydantoinand 3-p-Anisylidenemino-2-thiohydantion with Mn(II), Co(II), Ni(II) and Cu(II)"., *Indian J. Chem.* 26 (A), 698-701, (1987).
37. 35. Lever. A. B. P ; "*Inorganic electronic spectroscopy* " ., 2nd ed., Elsevier, Amsterdam. (1984).
38. 36. Hathaway. B. J, Billing. D.E ; " The electronic properties and stereochemistry
39. of mono-nuclear complexes of the Cu(II) ion"., *Coord. Chem. Rev.* 5, 143-207, (1970).
40. 37. Kose. D. A, Gokce. G, Gokce. S and Uzun. I ; " Bis(N,N-diethyl nicotinamide)-
41. *p*-chlorobenzoate complexes of Ni(II) Zn(II) and Cd(II)"., *J. Therm. Anal Calorim.* 95, 247-51, (2009).
42. 38. Vogel. A. I ; "*A Textbook of Quantitative Inorganic Analysis*" ., 4th Edn., Longmans Green and Co., London (1985).
43. 39. Geary. W. J ; "The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds"., *Coord Chem Rev.*; 7, 81-122, (1971).

Synthesis of New Chalcones and Pyrazoles Derived from Dehydroacetic Acid

Redha I. H. Al-Bayati and Sajida M. Thamir

Al-Mustansiriyah University, College of Science, Department of Chemistry

Received 13/12/2012 – Accepted 26/3/2013

الخلاصة

يتضمن البحث تحضير جالكونات جديدة من المركب ديهيدرو استيك اسيد حيث تم تحضير اربع جالكونات رئيسية (4-1) اضافة الى الجالكون (14) ومن ثم تم تحضير بقية المشتقات منها فالمرکبات (5,6) حضرا من تفاعل المركب (1) مع الهيدرازين هيدريت بوجود حامض الفورميك وحامض الخليك على التوالي، كذلك حضرت مركبات البايرازول (7-13) من تفاعل الجالكونات مع الهيدرازين او معوضاته بينما المركبين (15-16) فقد تم تحضيرهما من تفاعل الديهيدرو استيك اسيد مع الاثيل بارا امينو بنزويت و داي اثيل اوكزاليت على التوالي، وبوجود ايتوكسيد الصوديوم. أما المركب (17) فقد حضر من تفاعل المركب (15) مع الهيدرازين، بينما المركب (18) تم الحصول عليه من تفاعل المركب (16) مع اورثو فليلين داي امين بوجود حامض الخليك، واخيرا حضر المركبان (19) و(20) من حوالة المركب (1) مع الفليل استمايد والايثيل اسيتو اسيتيت على التوالي. تم تشخيص المركبات المحضرة باستعمال الطرائق الطيفية: الاشعة فوق البنفسجية والاشعة تحت الحمراء وطيف الرنين النووي المغناطيسي.

ABSTRACT

This work involves the synthesis of chalcones from dehydro acetic acid. Four main chalcones were synthesized (1-4), also Chalcone (14) which synthesized from compound(6) and then the other derivatives (5, 6) were obtained from the reaction of compound (1) with hydrazine hydrate in the presence of formic acid and acetic acid respectively. Also, Pyrazole compounds (7-13) were synthesized through the reaction of chalcones with hydrazine or its substituents, while compounds (15, 16) have been synthesized by the reaction of DHA with ethyl P-amino benzoate and diethyl oxalate, respectively, in the presence of sodium ethoxide. Compound (17) was synthesized from the reaction of compound (15) with hydrazine, while compound (18) was obtained from the reaction of compound (16) with ortho phenylene diamine in the presence of acetic acid. The last two compounds (19-20) were synthesized from the cyclization of compound (1) with phenyl acetamide and ethyl acetoacetate, respectively. The structure of the synthesized derivatives were deduced by using some spectroscopic analysis such as UV, FT-IR and ¹H-NMR

INTRODUCTION

Dehydro acetic acid, DHA, is an important compound. IUPAC name is 3-acetyl-2-hydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one, which have a synonym: methyl acetyl pyronones, also it's derived of tri acetic lactone [1].

Studies have shown that the compound has; antibiotic and antifungicid effects, and in aqueous solution even at very low concentration (0.02-0.2%), DHA shows antiseptic effect[2]. The compound used widely in food technology, its uses enhance vitamin C stability and product vegetables during food processing, and as preservative in such product as fish sausages[3]. In addition to the above mentioned, DHA appeals to organic and inorganic chemistry working in field of coordination chemistry [4]. Chalcones which

prepared from DHA attracted much interest, both for synthetic and biological point of view. Thus, they can be used as substrates in the preparation of a large number of industrial and biologically active compounds, especially pyrazole ring. Chalcones are aromatic ketones and enones that forms the central core of variety important biological compounds, which are known collectively as chalcones or chalconoids [5]. Chalcones are synthesized by claisen-schmidt condensation of aldehyde and ketone by base catalyzed or acid catalyzed, followed by dehydration to yield chalcones [6].

Chalcones are two aromatic rings linked by three carbons α,β -unsaturated carbonyl. Pyrazole and their derivatives are considered to be important for drugs and agriculture chemicals, some substituted pyrazole and their derivatives have been reported to possess several interesting biological activities, many of them are used to treat thyroid and leukemia, and have incidental antiviral activities against herpes infections [7, 8].

MATERIALS AND METHODS

General :

Melting points were determined on Gallen-Kamp(MFB-600) melting point apparatus and are uncorrected. The IR spectra of the compounds were recorded on Shimadzu FT-IR-3800 spectrometer as KBr disk. The UV spectra were performed on Cintra-5-Gbes scientific equipment. The $^1\text{H-NMR}$ spectra(solvent DMSO) were recorded on Bruker 400 MHz spectrophotometer using TMS as internal standard in Chemistry department / Al-Byat University/ Jordan.

Synthesis of Compounds (1-4) [9]:

(0.01 mol, 1.68g) or (0.02 mol, 2.36g) of DHA was dissolved in (25 ml) of CHCl_3 , 10 or 20 drops of piperidine were added with stirring until dissolved and (0.01 mol) of an appropriate aldehyde was added. The mixture was refluxed for 8 hrs. the excess of solvent was evaporated and the solid product formed was recrystallized from an appropriate solvent. Some of physical properties are listed in table(1).

Synthesis of Compound(5,6) [10]:

(0.01mole, 3.35g) of compound (1) dissolved in formic acid (30 ml) to synthesis compound (5) or acetic acid (30ml) to synthesis compounds (6) respectively, and then (0.01 mol, 0.32g) of hydrazine was added and the mixture refluxed for 6 hrs., cooled and poured to ice water drop-wise, an orange precipitate formed, filtered and washed with D.W and recrystallized from chloroform, physical properties of the compounds are listed in table(1).

Synthesis of Compounds (7-10),(12, 13) [10] :

To solution of chalcones (1 or 3) (0.01mole) dissolved in glacial acetic acid (30ml), phenyl hydrazine (0.01mole, 1.08g or 0.02mole, 2.16g) or other derivatives of hydrazine (0.01mole) were added and the mixture was refluxed for 4 hrs. Then cooled and neutralized with NH_4OH to produce the solid product. Some of physical properties of the above mentioned compounds are listed in table(1).

Synthesis of Compound (11) :

To solution of compound (2) (0.005mol, 2.17g) dissolved in 30 ml of absolute ethanol and hydrazine hydrate (0.01mol, 0.32g) was added and then refluxed for 6 hrs. The mixture cooled a precipitate formed, recrystallized from suitable solvent. Physical properties of the compound are listed in table(1).

Synthesis of Compound (15) [11]:

A mixture of DHA (0.01mol, 1.68g) and ethyl P-amino benzoate was added in a portion to solution of (0.03 mole, 0.69g) of dry sodium in 100ml of absolute ethanol. The dark precipitate, which formed after reflux for about 0.75 hr. was collected, washed and suspended in 200ml of water with stirring in 15 ml of acetic acid, was added. The product was extracted with diethyl ether(2x50ml). After washing with (2x15ml)D.W, saturated NaCl and drying by filtration over anhydrous sodium sulfate, white crystals formed and recrystallized from suitable solvent. Some of the physical properties are listed in table (1).

Synthesis of Compound (16) [12]:

To mixture of Sodium ethoxide [(0.02mole, 0.46g) of sodium in absolute ethanol (20ml)] and diethyl oxalate (0.04mole, 5.84g), were stirred at 0°C for 4 hrs. and left at room temperature overnight. The solution was neutralized with ice-cold diluted with 10% HCl. Then the mixture was extracted with diethyl ether, (2x200ml) organic layer was collected, washed with D.W, saturated NaCl, dried over anhydrous sodium sulfate and crystallized from suitable solvent. Some of the physical properties are listed in table (1).

Synthesis of Compound (17) :

A mixture of compound (15) (0.015mole, 2.87g) and hydrazine hydrate (0.02mole, 0.64g) was refluxed for 4 hrs. in absolute ethanol (30ml), the solution cooled and the excess solvent was evaporated. The precipitate will be formed and recrystallized from suitable solvent. Some of physical properties are listed in table (1).

Synthesis of compound (18) [13]:

A solution of phenylene diamine (0.01mole, 1.08g) and acetic acid (50ml) was added to solution of compound (16) in minimum amount of ethanol. The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 hrs., and solid product was filtered and recrystallized from suitable solvent to give compound (18). Physical properties are listed in table (1).

Synthesis of Compound (19) [14] :

A mixture of phenyl acetamide (0.01mole, 1.35g) and sodium (0.01mole, 0.23g) in dry benzene (30ml) was refluxed for 22 hrs., then chalcone(1) (0.01mole, 3.16g) was added and refluxed for 3 hrs. The benzene layer extracted with (2x100ml) water containing 10% H₂SO₄, while the aqueous layer extracted with (2x100ml) diethyl ether. The organic layer added to 10% sodium bicarbonate (50ml), then separate and add it to benzene layer. Dry the combined organic layer (benzene + ether) by filtration using anhydrous magnesium sulfate, evaporated to furnish the desired compound (19). Physical properties are listed in table (1).

Synthesis of compound (20) [15] :

A mixture of chalcone (1) (0.003mole, 0.948g) and ethyl acetoacetate (0.003mole, 0.39g) were refluxed for 2 hrs. in absolute ethanol (15 ml) in the presence of 0.5ml (10%) NaOH. The reaction mixture was poured with vigorous stirring in to ice cold water (200ml) and kept at room temperature until the separation of solid, which was filtered off and recrystallized from hexan. Some of the physical properties are listed in table (1).

RESULTS AND DISCUSSION

The chalcones (1-4) were synthesized from DHA and different aldehydes in the presence of piperidine using chloroform as solvent. (Scheme1).

Likewise, chalcone (14) was synthesized from compound(6) when reacted with ortho bromobenzaldehyde.

The structures of the synthesized compounds have been identified using UV, FT-IR, and ¹H-NMR spectra.

The FT-IR spectrum of compounds (1-4) proved absorption bands at (1716-1722cm⁻¹) due to stretching vibration of (C=O) lactone ring and absorption bands at (1640-1697cm⁻¹) owing to stretching vibration of (C=O) of α,β -unsaturated carbonyl group of chalcones.

The ¹H-NMR spectrum of compound (4) displayed the following data in (ppm), using DMSO as solvent: 15.9 (s, H, OH) (7.5-8) aromatic proton 7.4 (d, 1H, CH of α,β -unsaturated carbonyl of chalcone), 6.3 (s, 1H, O=C-H), 6.2 (s, 1H, CH of lactone ring) 2.54 (s, 3H, CH₃).

Chalcone (1) was treated with hydrazine hydrate in the presence of formic acid, acetic acid to produce compounds (5, 6) respectively.

Pyrazoles (7-13) were synthesized by reaction of hydrazine hydrate or substituted hydrazine with chalcones.

The FT-IR spectra of compounds (7-13), table (3), showed new absorption bands at ($1591-1610\text{cm}^{-1}$) indicate the presence of (C=N) group. The $^1\text{H-NMR}$ spectrum of pyrazole (10) revealed the following data: 15.2 (s, 1H, OH of lactone), (6.5-7.5) for aromatic proton, 6.1 (s, 1H, CH of lactone ring), 2.1 (d, 2H, CH_2 of pyrazole ring), 1.9 (s, 3H, CH_3 of lactone ring).

Whereas, the compounds (15,16) were synthesized from DHA by their reactions with P-amino ethyl benzoate, diethyl oxalate in the presence of sodium ethoxide respectively.

The FT-IR spectrum of compound (15) demonstrated a new band at (1647cm^{-1}) indicating the presence of ketonic C=O and two bands at ($3225, 3345\text{cm}^{-1}$) representing the stretching vibration of (NH_2) group.

An important band illustrated at (1740cm^{-1}) signify the presence of (C=O) group of an ester moiety of the compound (16), see table (4).

The $^1\text{H-NMR}$ of compound (15) displayed the following values (ppm) using DMSO as a solvent: 15.5 (s, 1H, OH), 6.3 (s, 1H, CH of DHA), 5.9 (s, 2H, NH_2), 4.1 (q, 2H, CH_2 CH_3), 1.92 (s, 3H, CH_3).

Interestingly, the compounds (17, 18) were synthesized from reaction of dicarbonyl compounds (15, 16) with hydrazine hydrate, ortho phenylene diamine, respectively. The FT-IR spectrum of compound (17) showed two bands at ($1650\text{cm}^{-1}, 1610\text{cm}^{-1}$), indicate the presence of C=N of pyrazole rings, besides that, disappearance of the bands at ($1683, 1637\text{cm}^{-1}$) for two carbonyl groups confirm cyclization and formation of compound (17).

Whereas, compound (18) exhibited many absorbing bands in FT-IR spectrum, some of them displayed at (1660cm^{-1}) due to (C=O) of the amide and other band at (1633cm^{-1}) reveals the presence of (C=N).

In addition, the disappearance of C=O group of ester at (1740cm^{-1}) and the appearance of a new band of stretching vibration for NH of amide at (3223cm^{-1}), indicate the formation of compound (18).

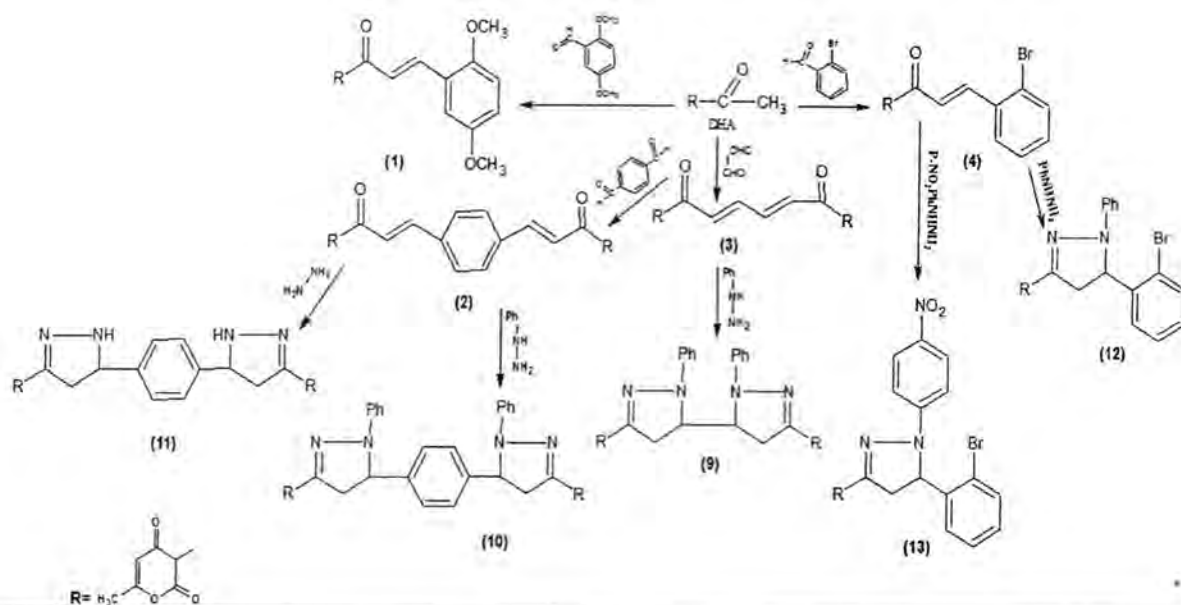
The $^1\text{H-NMR}$ spectrum using DMSO as a solvent support the structural formation of compound (18), and showed the following values in ppm: 15.2 (s, 1H, OH), (7-8) for aromatic protons, 8.1 (s, 1H, NH), 3 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-C=O}$), 1.95 (s, 3H, CH_3 for lactone ring).

It is worth to mention that the last two compounds (19,20) were produced by cyclization of chalcone(1) by its reaction with phenyl acetamide, ethyl aceto acetate, respectively.

The FT-IR spectrum of compound (19) proved the appearance of (C=N) by a band showed at (1622cm^{-1}).

Other important bands at (1738cm^{-1}) represent the ($\text{C}=\text{O}$) of the ester group, at (1220cm^{-1}) indicate the stretching vibration of ($\text{C}-\text{O}$), and one at (1656cm^{-1}) which refer to ($\text{C}=\text{O}$) of cyclohexenone, and the OH group of lactone ring illustrated obviously at (3441cm^{-1}), tables 5 and 6.

The hypothetical chemical structure of compound (19) is confirmed by $^1\text{H-NMR}$, DMSO as a solvent, displayed the following data, ppm: 15.7(s, 1H, OH of lactone ring), 6.3(s, 1H, CH of DHA), 3.8(s, 6H, OCH_3) 2.3 (d, 2H, CH_2 in cyclohexenone ring), 7.5(dd, 2H, aromatic protons), 7.8(s, 1H, aromatic proton).



Scheme 1

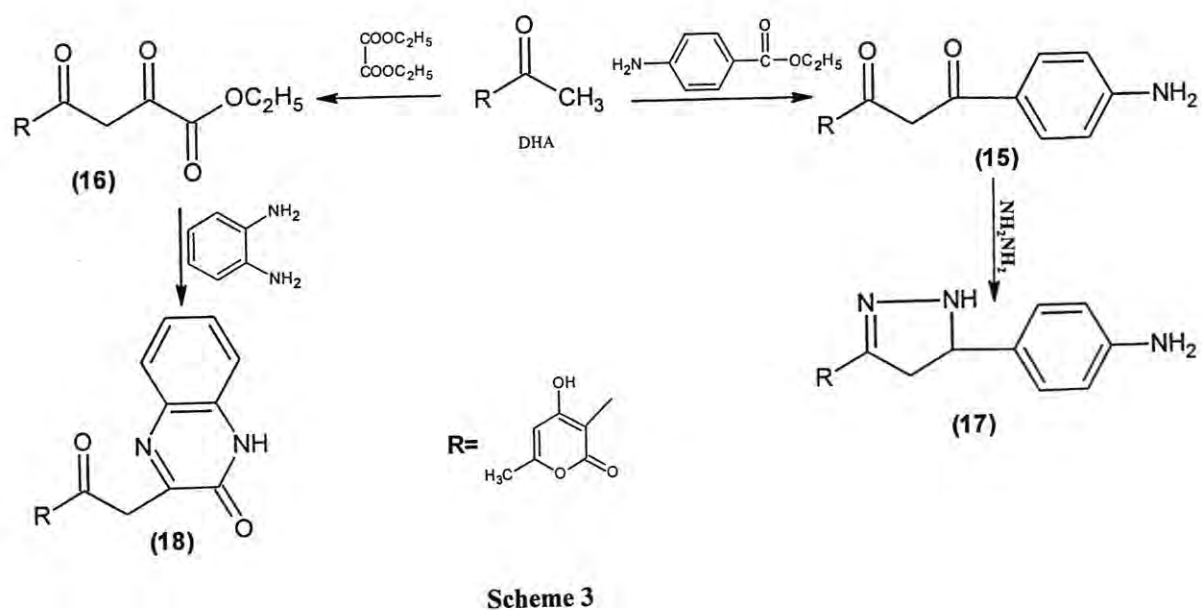
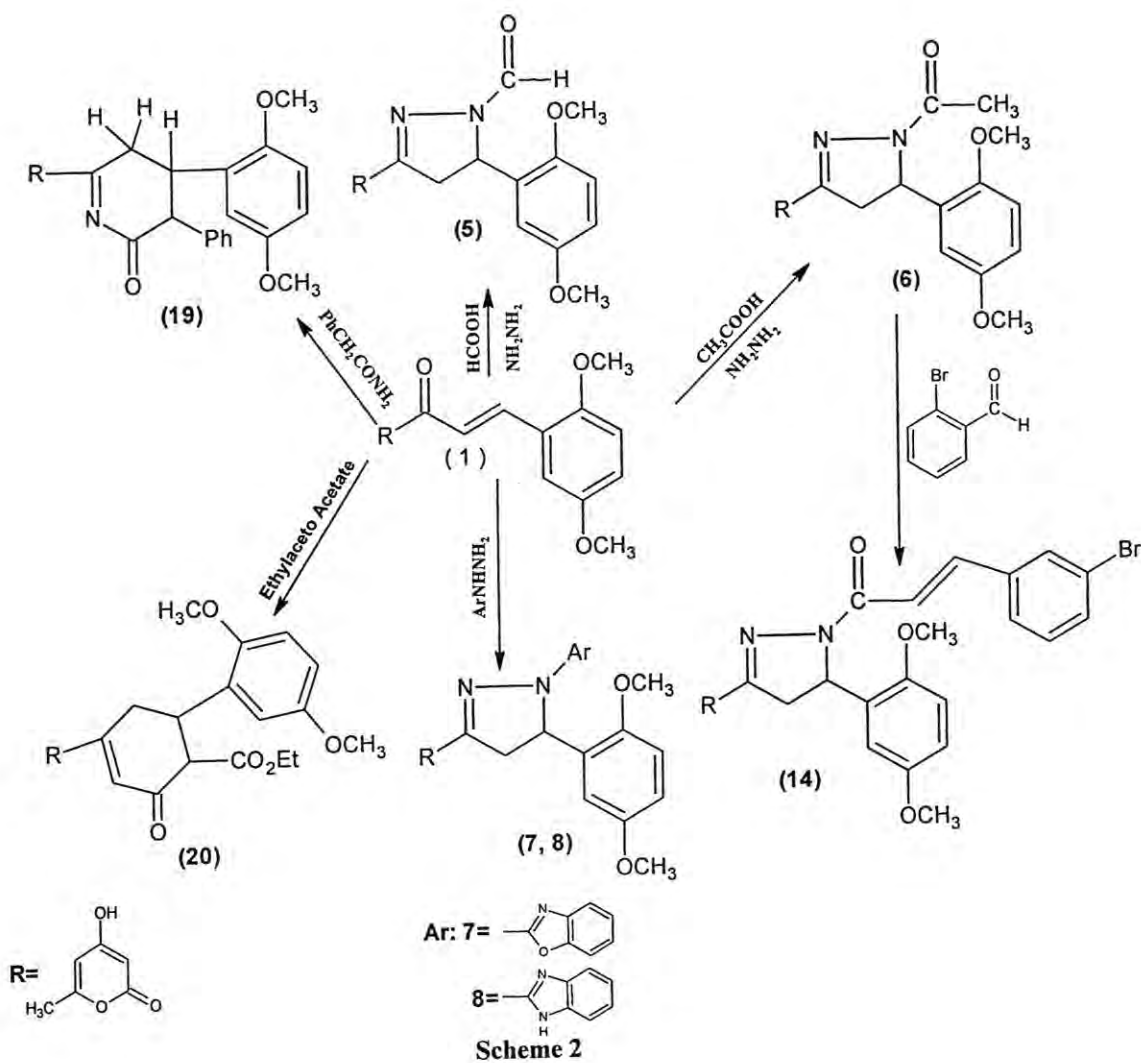


Table-1: Physical properties of the synthesized compounds(1-20)

Comp.No.	m.p. °C	Yield %	Recryst. Solvent
1	138-140	95	Ethanol
2	149-151	80	EtOH 50%
3	111-113	60	EtOH 50%
4	185-187	85	Ethanol
5	178-180	50	CHCl ₃
6	140-142	30	CHCl ₃
7	118-120	50	EtOH 50%
8	158-160	40	EtOH 50%
9	164-166	60	EtOH 50%
10	157-159	81	EtOH 50%
11	119-121	67	EtOH 50%
12	159-161	70	MeOH
13	178-180	85	MeOH
14	182-184	35	EtOH 50%
15	115-117	75	CH ₂ Cl ₂
16	123-125	65	CH ₂ Cl ₂
17	187-189	30	EtOH 50%
18	131-133	60	Benzene
19	97-99	72	Benzene
20	122-124	88	Hexane

Table-2: Spectral data of compounds(1-4,14)

Comp. No.	UV Ethanol λ_{max} nm	Characteristic bands of FT-IR (cm ⁻¹ , KBr)				
		ν_{C-H} aliph.	ν_{C-H} arom.	$\nu_{C=O}$ $\alpha-\beta$	$\nu_{C=C}$	others
1	204 374	2949 2837	3091	1640	1532	$\nu_{C=O}$ of lactone 1720
2	202 312	2930 2851	3101	1697	1629	$\nu_{C=O}$ of lactone 1719 $\nu_{C=C}$ aromatic 1529
3	234 365	2933 2860	3088	1643	1614	$\nu_{C=O}$ of lactone 1716
4	224 309	2426 2881	3101	1651	1627	$\nu_{C=O}$ of lactone 1722, 3427 OH
14	204 352	2931	2835 3015	1672	1620	1712 for $\nu_{C=O}$ of lactone 1570 $\nu_{C=C}$ aromatic

Table-3: Spectral data of compounds(5-13)

Comp. No.	UV Ethanol λ_{max} nm	Characteristic bands of FT-IR (cm ⁻¹ , KBr)				
		$\nu_{C=O}$	$\nu_{C=C}$ arom.	ν_{C-H} aliph.	$\nu_{C=N}$	others
5	214, 367	1710	1503	2971, 2855	1583	O=C-H 1690
6	204, 347	1705	1498	2995, 2868	1583	C=O-acyl, 1670
7	208, 374	1715	1510	2955, 2893	1601	1250 C-N
8	215, 331	1695	1539	2947, 2835	1593	1257 C-N, 3434 OH
9	203, 354	1687	1529	2968, 2843	1591	1240 C-N
10	204, 325	1716	1521	2960, 2840	1595	1249 C-N
11	221, 325	1710	1540	2940, 2898	1610	1257 C-N
12	225, 323	1710	1585	2952, 2831	1601	1228 C-N, 3430 OH
13	231, 382	1716	1597	2963, 2841	1610	1230 C-N

Table-4: Spectral data of compounds(15-18)

Comp. No.	UV Ethanol λ_{max} nm	Characteristic bands of FT-IR (cm^{-1} , KBr)			
		ν_{C-H} aliph.	ν_{C-H} arom.	$\nu_{C=O}$ of lactone	others
15	214 342	2980 2870	3086	1714	3346, 3225 NH_2 1683-COCH ₂ , 1637-CO-ph
16	209 337	2987 2867	3010	1725	1740-CO-ester 1651-COCH ₂
17	210 275	2982 2872	3035	1705	2325, 3344 NH_2 3425 OH 1597 C=C aromatic
18	207 310	2922 2881	3010	1701	1660 C=O of amide 3223 NH, 1633 C=N 3464 OH

Table-5: Spectral data of compound (19)

Comp. No.	UV Ethanol λ_{max} nm	Characteristic bands of FT-IR (cm^{-1} , KBr)				others
		ν_{C-H} aliph.	ν_{C-H} arom.	$\nu_{C=O}$ lacton	$\nu_{C=N}$	
19	217 368	2945 2837	3095	1724	1622	1643 C=O of amide 1521 C=C 1251 C-O

Table-6: Spectral data of compound (20)

Comp. No.	UV Ethanol λ_{max} nm	Characteristic bands of FT-IR (cm^{-1} , KBr)				others
		ν_{C-H} aliph.	ν_{C-H} arom.	$\nu_{C=O}$ lacton	$\nu_{C=O}$ ester	
20	204 318	2943 2835	3093	1701	1738	1656 C=O of cyclohexanone 1220 of C-O 1572 of C=C aromatic

REFERENCES

1. Chohan ZH., Munawar A. and Supuran CT., "Anticancer and Potential Antiviral Activity Complex Inorganic Compound" J. Med. chem., Vol.9, P:369-372 (1966).
2. Willans D. and Rose B., "Synthesis of tri acetic acid lactone by the pigeon liver fatty acid synthetase complex" J. Biochem, Vol.5, P:261-276(2001).
3. Mondan W. abd Sistrunk A., "New inhibitors of the mitochondrial electron transport chain" J. Food Technol. Vol.11P:3369-3376(2000).
4. Pundeer R., Chaudhr V., Kinger M. and Prakash O., "Regeneration of carbonyl group in the hypervalant iodine oxidation of carbonyl derivatives of dehydroacetic acid and its analogues" J. Chem. Ind. Vol. 46B, PP:834-837 (2007).
5. Comisar C. and Savage M., "Synthesis and antimicrobial activity of some new chalcones of 2-acetyl pyridine" Green Chem. J., Vol.5, No.(1), P:144-148 (2008).

6. Sheng M., Shi R. and George K. ``A solid phase synthesis of chalcones by Claisen-Schmidt condensation`` J.Chin. Chem. letters, Vol.11, No.(10), PP:851-854(2000)
7. Kaifer A., Echevoyen A., Gatto V., Cleary T., Morgan C., Goli D., Rios M. and Gokel G. ``Synthesis and Pharmacological evaluation of some new Pyrazole derivatives`` J.Am. Chem. Soc., Vol.58, No.(2), PP:117-121(2008).
8. Ramia S., Lekchiri A., Morcellet M., Crini G., Jahus L. and Bacquet M. ., `` Synthesis, analgesic, anti inflammatory and antimicrobial activities of some novel pyrazole derivatives`` J.Chem., Vol.7, No(2), PP:961-968(2008).
9. Pavan C., Mohan V., Sreenivasulu N. and Prasad R. `` Design, synthesis and chemical characterization of some novel coumarin compounds and evaluation of their biological activity`` IJPWR. Vol.1, No.(2), (2010).
10. Prasanna P., Riyazulah M. and Siva V. ``Synthesis and biological evaluation of some chalcone derivatives`` J.Het.Chem., Vol. 2, No.(4), PP:1998-2004(2010).
11. Markees G., ``The reaction of ethyl Chromone -2-Carboxylates with 1,2-di amino benzene`` J. Hetrocyclic Chem., Vol.26 No.(29)(1989).
12. Yassin F., `` Novel pyrazolyl pyridazine derivatives likely to possess anti-inflammatory activity`` J. Microbial Antimicro.Egypt, Vol. 2, P:93-99, (2010).
13. Ali M., Ismail F., ElGaby M., Zahran A. and Ammar S., ``Synthesis and antimicrobial activity of some novel Quinoxalinone derivatives`` J.Mol., P:864-873 (2000).
14. M.NaiEl, MSC Thesis ``Reactions studies of some tetronic acid derivatives`` University of Mousul.(1989).
15. Roman G., ``Cyclohexenones through addition of ethyl acetoacetate to chalcones derived from 2-acetyl thiophene`` J. Acta. Chem. Vol.51, P: 537-544(2004).

A Comparative Study of Third-Order Electronic and Thermally Induced Optical Nonlinearity in Rodamin 610 Doped PMMA Thin Film

Amal F. Jaffar

Ministry of Higher Education, Foundation of Technical Education Institute of Medical Technology

Received 8/10/2012 – Accepted 26/2/2013

الخلاصة

الصفات اللاخطية البصرية من الدرجة الثالثة للأغشية البوليمر المطعمة لصبغة R610 بسمك يتراوح بين (171-191) مايكرومتر، وبتراكيز مختلفة تمت دراستها باستخدام ليزر الناديميوم - ياك النبضي ذو الطول الموجي 532 nm وليزر الدايدود ذو الموجات المستمرة ذو الطول الموجي 650 nm. الصفات اللاخطية (معامل الإنكسار اللاخطي، معامل الإمتصاص اللاخطي، وقابلية التأثير اللاخطية) تم حسابها باستخدام تقنية المسح على المحور الثالث بطريقتين: بوضع فتحة أمام الكاشف و بدون الفتحة. وجد أن الصفات اللاخطية البصرية باستخدام الفتحة ذات صفات لاخطية سالبة (لابوري)، وتكون الصفات عند رفع الفتحة ذات صفات لاخطية موجبة (امتصاص فوتونين) وتزداد بزيادة تركيز الأغشية وذلك نتيجة لزيادة سمك الأغشية و التي تسبب زيادة في إزاحة الطور اللاخطي في لنماذج تشير النتائج الى أن قيم معامل الإنكسار اللاخطي المقاسة باستخدام ليزر الدايدود ذو الموجات المستمرة هي اكبر من تلك المقاسة باستخدام ليزر الناديميوم - ياك النبضي. طبيعة الصفات اللاخطية الظاهرة مع الليزر النبضي هي من أصل كهربائي، و الصفات اللاخطية مع ليزر الموجات المستمرة ذات أصل حراري. توحى النتائج الى امكانية استخدام اغشية R610 في التطبيقات الكهربية البصرية المختلفة والتي تشمل محددات القدرة البصرية.

ABSTRACT

Third-order optical nonlinearities of Rodamin610 (R610) doped polymer thin films with thicknesses in the range of (171_191) μm , with different concentrations were investigated using Nd: YAG pulsed laser with nanosecond pulses at 532 nm and continuous-wave (CW) of diode laser at 650 nm. The optical nonlinearity (nonlinear refraction index, nonlinear absorption coefficient and third order nonlinear susceptibility) measured by using z-scan technique: closed and open aperture methods. It was found that the optical nonlinear properties with closed aperture has negative nonlinearity (defocusing), with open aperture has positive nonlinearity (two photon absorption) and it is increased with the increasing of films concentration due to the increasing of the film thickness which caused increasing the nonlinear phase shift in the samples. The results indicate that the values of the nonlinear refractive index measured with CW diode laser are larger that measured with ND: YAG pulsed laser. The nonlinearity with the pulsed laser input was mainly electronic in origin, and with a CW diode laser was thermal in origin. Local heating in the polymer film by light absorption is thought to be a cause of the large nonlinearity by using CW laser.

The results imply that R610 films can be used as a potential medium for various optoelectronic applications including that in optical power limiting.

INTRODUCTION

Rapid technological advancements in optics have placed great demand on the development of nonlinear optical (NLO) materials with prominent applications in optical limiting and all optical switching. Extremely large number of organic compounds with delocalized electron and conjugated double bond systems and a large dipole

moment have been synthesized to realize the susceptibilities far larger than the inorganic optical materials [1].

Dye chromophores are a class of organic molecules with multiple π -conjugated bonds, which can exhibit large optical nonlinearities and fast response time, as a result of the ease of polarization of their extended mobile π -electron clouds over large molecular distances. Strong absorption of dyes in the visible region makes them particularly suited for nonlinear optical investigations. It has also been shown that embedding dye chromophores in suitable host matrices enhances the lifetime and stability of the dyes entrapped within it [2,3].

Z-scan technique based on the spatial distortion of a laser beam passed through a NLO material is widely used in material characterization because of its simplicity, high sensitivity and well-elaborated theory. The opportunity to conduct simultaneous measurements of various NLO parameters in one set of experiments also makes this technique attractive and applicable for different materials. This method yields both the sign and the magnitude of the nonlinearity with a minimum of analysis [4, 5].

There are two parts of the Z-scan: Closed aperture Z-scan: helps to measure the sign and magnitude of both real & imaginary part of third order (NLO) and nonlinear refractive index (n_2). Open aperture Z-scan either two types: saturable absorption (SA) and reverse saturable absorption (RSA). Depending on the pump intensity and on the absorption cross section at the excitation wavelength. Open aperture Z-scan helps to measure the nonlinear absorption coefficient β_2 [6]. The sign of the nonlinearity is an important parameter for practical realization of optical signal processing devices [7]. In general, the manifestation of strong nonlinear absorption enhances the optical limiting properties, whereas that of strong nonlinear refraction facilitates the switching properties of organic molecules [8].

The big difference between the CW and the pulsed-laser experimental results indicates that the third order nonlinearities in the two cases have different origins. The third order nonlinearity value obtained with the nanosecond laser agreed with that reported by others and was mainly electronic in origin. On the other hand, the exceptionally large nonlinear susceptibility obtained by CW laser excitation was caused by the temperature increase due to light absorption and the subsequent change in the structure of the polymer film [9].

In this paper, the optical nonlinearity properties of Rhodamin610 dye thin of thickness in the range of (171_191) μm films doped with PMMA have been compared with two types of lasers; CW diode laser at 650 nm and nanosecond pulsed Nd: YAG laser at 532 nm by using z-scan

technique. The experiment was repeated for different dye concentrations.

MATERIALS AND METHODS

R 610 is from Xanthene family with fluorescence emission in the yellow -red region of the electromagnetic spectrum are well known for their excellent laser performance in liquid solutions as well as in solid matrices [9]. Fig. (1) Shows its molecular structure of R610. R610 was used without further purification.

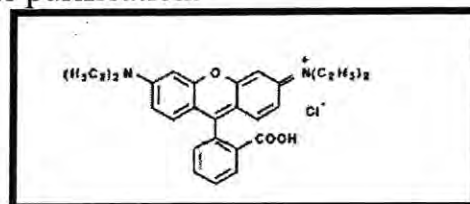


Figure -1: The molecular structure of R 610, [9].

Polymethylmethacrylate (PMMA) is from ICI Company. The spectroscopic grade solvent Chloroform is from Lab-Scan LTd., Analytical Science HPLC Ireland-Dublin.

Solution of concentrations (10^{-6} , 10^{-5} and 10^{-4}) M in Chloroform were prepared by weighting amount of the material by using a matter balance having a sensitivity of 10^{-4} gm. To enhance the solubility of the dye in the solvent, the dye firstly dissolved in Methanol with ratio (20%).

Dye doped polymer films were fabricated by the free casting technique (FC). Polymer solution was prepared by dissolving the required amount of polymer (7 gm. in 100 ml of the used solvent).

The free casting (FC), involves casting a polymer solution in a flat bottomed glass cup (Petri dish) without imposing hydrodynamic stress on the liquid. The dishes were arranged on a glass plate in order the dishes have a plan situation, then the dishes were covered with a heavy paper box to be protect from light and dust. Solvent is allowed to evaporate under ambient conditions ($30\text{ }^{\circ}\text{C}$) until the films hardens. The hardened films were then removed from the Petri dish by washing it off with distilled water and placed in the oven ($50\text{ }^{\circ}\text{C}$) for 10 minutes to dry. The thickness of the films produced by this method is dependent in straight forward way on concentration and the volume of the liquid in the dish. In this study the liquid volume was (10) ml, yielding film thicknesses in the range (171_191) μm for different cocentrations. The thicknesses of the films were measured with an electrical device (Mini-test 3000 microprocessor coating thickness) from electro, physik, Germany (ERICHSEN), Fig. (2).



Figure -2: Thickness measurement device

UV-Visible absorption spectra of the lasing dye were carried out by using UV-Visible Shimadzu spectrophotometer (UV 160), which operates in wavelength range of (200–1100) nm and with scanning speed of 1500(nm/min), carried out UV-Visible spectroscopy measurements.

For the z-scan measurement CW diode laser (650 nm) with max.power of 50 mW, beam diameter: 1.5 mm, beam divergent 1.5 mrad, which was focused by 10 cm focal length lens, laser beam waist ω_0 at the focus is measured to be 0.015 cm, the Rayleigh length to be 1.087 cm, laser intensity at the focus is 127.389 watt/ cm².

532 nm ND: YAG laser, with energy of 52.2 mJ, puls duration is 30 nsec, beam diameter ω_0 is 0.0125 cm, which was focused by 20 cm focal length lens, the Rayleigh length to be 9.2 cm, laser intensity at the focus is 7 G watt/cm².

The nonlinear optical properties were investigated employing the standard Z-scan technique schematically shown in fig.3.

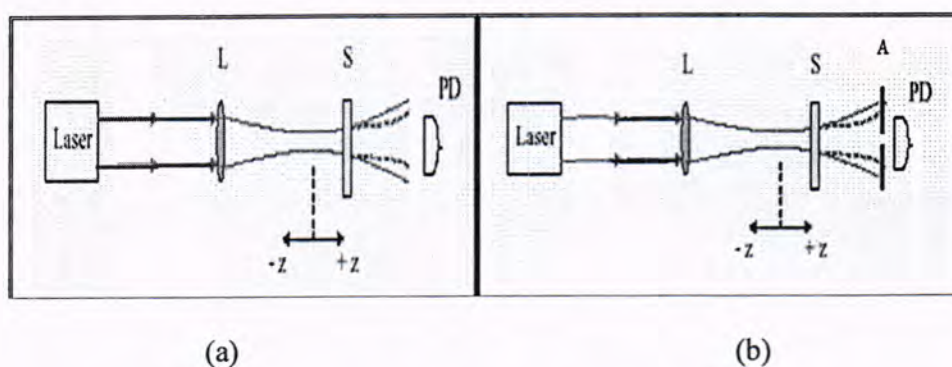


Figure-3: (a) Open Aperture Z-Scan, (b) Closed Aperture Z-scan. [10]

The transmittance through the sample is monitored as a function of the incident laser light intensity, with and without an aperture in the far field, while the sample is gradually translated along the optical axis of a convex lens. The intensity dependent transmission through the sample

measured as a function of sample position with respect to the focal plane. Z-scan method provides a direct measurement of the real and imaginary parts of the third-order nonlinear optical susceptibility $\chi^{(3)}$ [11].

A qualitative physical argument of closed aperture Z-scan that explains the transmittance variations can be given as follows: Starting the scan from a distance far away from the focus (negative z), the beam irradiance is low and negligible nonlinear refraction occurs leading to linear transmittance. As the sample is brought closer to the focus, the beam irradiance increases leading to self-lensing in the sample. A negative self-lensing (self-defocusing) prior to focus tends to collimate the beam and reduce the diffraction leading to a smaller beam at the aperture and an increased transmittance. As the scan continues and the sample crosses the focal plane to the right (positive z), the same self-defocusing effect will tend to augment diffraction and reduce the aperture transmittance. A prefocal transmittance maximum (peak) and a post focal transmittance minimum (valley) will be, the z-scan signature of a negative nonlinearity as shown by the dotted line figure. (5), while a positive one, following the same analogy, will give rise to an opposite valley-peak configuration, as shown by Solid line fig. (4). [11].

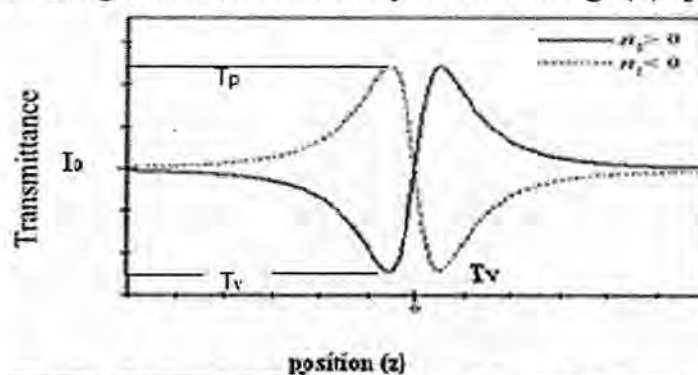


Figure -4: Calculated Z-scan transmittance curves for a third order nonlinearity [12].

RESULTS AND DISCUSSION

The absorption spectra of R610 dye doped polymer films for various dye concentrations (10^{-6} , 10^{-5} , and 10^{-4}) M are illustrated in figure 5. The spectra of the dye molecule exhibit a wide absorption band with distinct peaks, which are located at 560 nm.

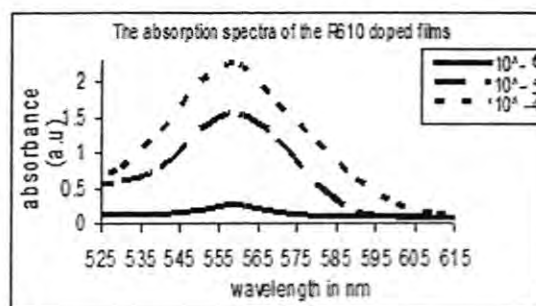


Figure-5: Linear absorption spectra of R610 Doped films

The results of the open-aperture and the closed-aperture z-scans using CW diode laser at 650 nm are shown in Figs.6 (a) and (b).

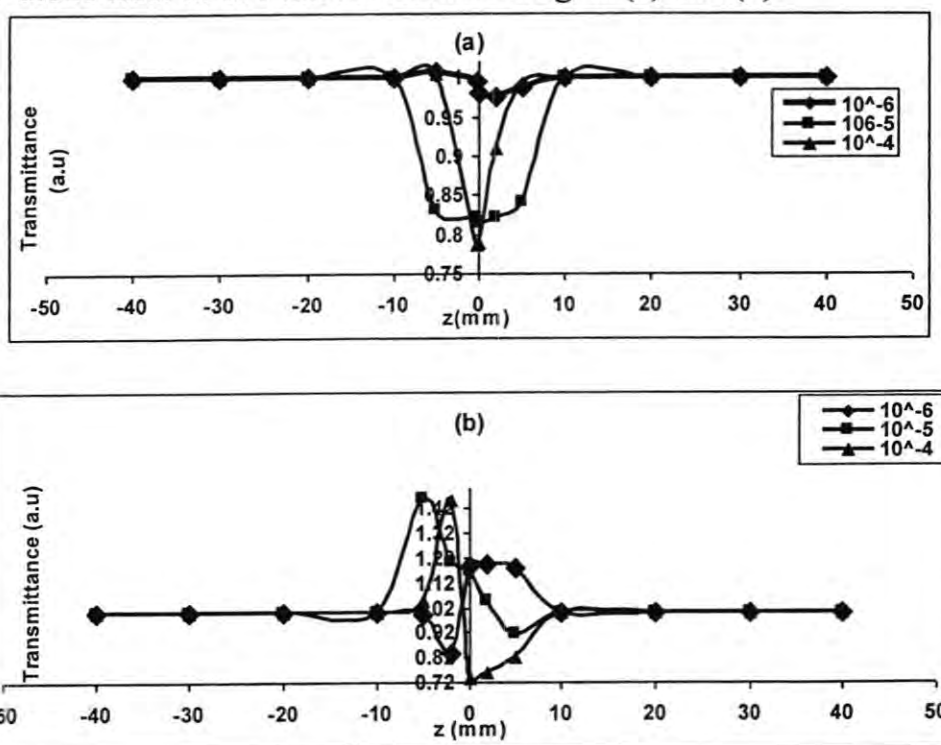


Fig.-6: z-scan using CW diode laser at 650 nm (a) Open-aperture z-scan of R610 doped film with PMMA at concentration (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4}) M indicates to two photon absorption.(b) closed-aperture z-scan data of R610 doped films with PMMA at same concentrations indicates to negative refractive index .

Fig.6 :(a) shows open aperture Z-scan profiles of the solid films for the three different concentrations. When the sample is away from the focus $Z=0$, the incident laser intensity is low and the normalized transmission is close to 1;when it moves close to the focus, the open aperture Z-scans exhibits a reduction in the transmission. This is typical of an intensity dependent enhanced absorption termed reverse saturable absorption (RSA) or positive nonlinear absorption exhibited by a

nonlinear material [13], and can be exploited for protection of eyes and sensors against radiation induced damage. When the absorption cross section(s) of the excited state(s) exceeds that of the ground state, gives rise to reverse saturable absorption (RSA), where the absorption increases with input fluency. This enhancement of absorption reflects the increase in the population of the (more strongly absorbing) excited state(s) relative to that of the (less strongly absorbing) ground state [14]. Fig.6 (b): shows closed aperture z-scan .A signature of peak–valley indicating a negative type of nonlinearity (defocusing), is attributed to a thermal nonlinearity resulting from the absorption of radiation at 650 nm. Analogy to the theoretical behavior of the dotted line in fig.4.

The experimentally determined values of β are performed using the following equation

The total transmittance is given by: [9]:

$$T(z) = \sum_{m=0}^{\infty} \left[\frac{\beta I_o L_{eff}}{1 + (Z/Z_o)^2} \right]^m \dots\dots\dots(1)$$

Where,

Z: - is the sample position at the minimum transmittance, m: - integer.

T (z):- the minimum transmittance. The two terms in the summation are generally sufficient to determine β .

L_{eff} : - the effective length of the sample, can be determined from the following formula: [15]

$$L_{eff} = [1 - \exp(-\alpha_o L)] / \alpha_o \dots\dots\dots (2)$$

Where, L is the sample length, α_o is the linear absorption coefficient,

$$\alpha_o = \frac{1}{L \ln\left(\frac{1}{T}\right)} \dots\dots\dots (3)$$

Where T: linear transmittance

$$I_o = 2P_{peak} / \pi \omega_o \dots\dots\dots (4)$$

where, ω_o : - the beam radius at the focal point, P_{peak} : - the peak power,

$$Z_o = k\omega_o^2 / 2 \dots\dots\dots (5)$$

Z_o is the diffraction length of the beam, $k=2\pi/\lambda$, the wave number, and λ , the wavelength of the laser light [16].

For closed aperture z- scan we define the change in transmittance between the peak and valley in a Z-scan as:

$$\Delta T_{pv} = T_p - T_v \dots \dots \dots (6)$$

Where T_p and T_v are the normalized peak and valley transmittances. The empirically determined relation between the induced on axis phase shift, $\Delta\Phi_0$, and ΔT_{pv} for a third-order nonlinear refractive process in the absence of nonlinear absorption (NLA) is, [2]

$$\Delta T_{pv} \cong 0.406(1-S)^{0.27} |\Delta\phi_0| \dots (7)$$

S: the size of the aperture.

The size of the aperture is signified by its transmittance. In most reported experiments, $0.1 < S < 0.5$ has been used for determining nonlinear refraction. S the aperture linear transmittance is given by [15]:

$$S = 1 - \exp(-2 r_a^2 / \omega_a^2) \dots (8)$$

with r_a denoting the aperture radius(it is 0.5 mm),and, ω_a denoting the radius of the laser spot before the aperture (it is 0.015 mm). In our experiment $S = 1.12E^{-4}$ then $(1 - 1.12E^{-4})^{0.27} = 0.999999999 \approx 1$ so:

$$\Delta T_{pv} \cong 0.406 |\Delta\phi_0| \dots \dots \dots (9)$$

and this analogy with Mansoor Sheik-Bahae,2007[12].

The nonlinear refractive index is calculated from the peak to valley difference of the normalized transmittance by the following formula: - [6, 9 and 12]

$$n_2 = \Delta\phi_0 / I_0 L_{eff} k \dots (10)$$

n_2 , $\Delta\phi_0$, $R\chi^3$, $Im \chi^3$ and χ^3 of R610 doped films excited with CW diode laser are given in Table I, where $\Delta\phi_0$, n_2 , are measured from the following equations (9 and 10) respectively.

Table-1: Measured values of nonlinear refractive index, nonlinear phase shift, absorption coefficient, real and imaginary Parts of third order nonlinear susceptibility $\chi^{(3)}$ and total value of $\chi^{(3)}$ of R610 doped films excited by diode laser at 650 nm.

C (M)	$\Delta\phi_0$	n_2 watt/cm ²	$R\chi^{(3)}$ e.s.u	β watt/cm	$Im \chi^{(3)}$ e.s.u	$\chi^{(3)}$ e.s.u
10^{-6}	0.844	3.614E-06	2.23E-02	0.746	2.383	1.544
10^{-5}	0.715	6.114E-06	3.75E-02	2.559	8.114	2.849
10^{-4}	1.759	9.226E-06	8.81E-02	3.3078	16.350	4.045

Experimentally determined nonlinear refractive index n_2 and nonlinear absorption coefficient β can be used in finding the real and imaginary parts of the third-order nonlinear optical susceptibility $[\chi^3]$ according to the following: [12]

$$\text{Re } \chi^{(3)} \text{ (esu)} = 10^{-4} \epsilon_0 c^2 n_0^2 n_2 / \pi \text{ (cm}^2/\text{W)} \dots\dots\dots (11)$$

$$\text{Im} \chi^{(3)} \text{ (esu)} = 10^{-2} \epsilon_0 c^2 n_0^2 \lambda \beta / 4\pi^2 \text{ (cm}^2/\text{W)} \dots\dots\dots (12)$$

Where ϵ_0 is the vacuum permittivity, and c is the light velocity in vacuum. [17]

The absolute value of the third-order nonlinear optical susceptibility is given by the relation:

$$|\chi^3| = \left[(\text{Re}(\chi^3))^2 + (\text{Im}(\chi^3))^2 \right]^{1/2} \dots\dots (13)$$

Fig. 7 shows there is an increasing trend for the value χ^3 as the concentration increases. This may be attributed to the fact that the number of dye molecules increases as the concentration increases, more particles are thermally agitated resulting in an enhanced effect.

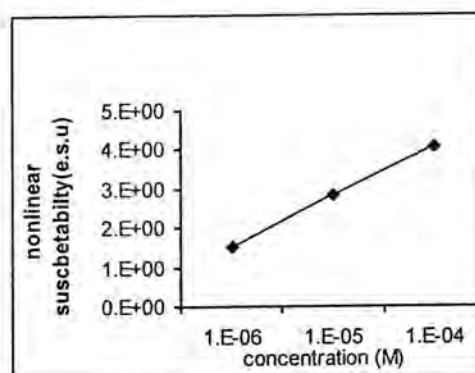


Fig.-7: shows the nonlinear relation between third order susceptibility with film's concentration using cw laser.

With CW pumping we expect major contribution to the observed third-order nonlinearities to be thermal in nature. The energy from the focused laser beam is transferred to sample through linear absorption and is manifested in terms of heating the medium leading to a temperature gradient and there by the refractive index change across the sample which then acts as a lens [18]. The phase of the propagating beam will be distorted due to the presence of this thermal lens. The peak-valley separation of more than 1.7 times the Rayleigh range of ~ 1.09 mm also suggests the presence of thermal component in our case. It is well established that a separation of $\sim 1.7z_0$ indicates Kerr-type of nonlinearity [1, 16].

It is worth noting that the value of χ^3 for the dye studied is larger than those of some representative third-order nonlinear optical materials such

as (safranin O dye) [1] and its derivatives and organic dyes like Mercurochrome [2].

The results of the open-aperture and the closed-aperture z-scans using Nd: YAG pulsed laser at 532nm are shown in Figs.8 (a) and (b).

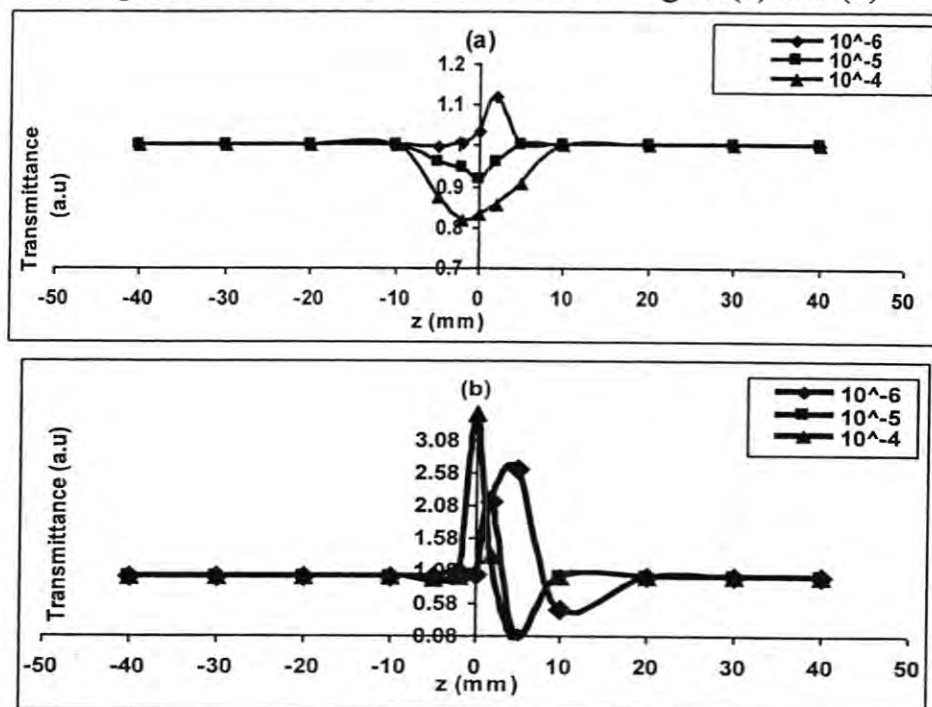


Figure-8: z-scan using Nd: YAG pulsed laser at 532 nm (a) Open-aperture z-scan of R610 doped PMMA film at concentration (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4}) M .(b) closed-aperture z-scan data of R610 doped PMMA films at same concentrations indicates to negative refractive index (defocusing).

Fig. 8(a) shows open aperture Z-scan profiles of the solid films for the three different concentrations. Film of dye concentration (10^{-6}) M exhibited saturation absorption where the absorption coefficient decreases resulting in the transmittance increase with increase in the input laser intensity owing to their long lifetimes. As the film's concentration is increased the behavior was overlapped, so films of concentration (10^{-5} and 10^{-4}) M M exhibited significant transmittance drop (reversed saturable absorption,) when they moved to the vicinity of the focal plane. This transmittance drop is generally considered to be due to TPA absorption. [20].

Fig. (8) b shows closed aperture z-scan .A signature of peak-valley indicating a negative type of nonlinearity (defocusing) .

The experimentally determined values of n_2 , $\Delta\phi_0$, $R\chi^3$, β , $\text{Im}\chi^3$ and χ^3 of R610 PMMA doped films by using Nd :YAG pulsed laser at 532 nm given in Table 2.

Table-2: Measured values of nonlinear refractive index, nonlinear phase shift, absorption coefficient, real and imaginary Parts of third order nonlinear susceptibility $\chi^{(3)}$ and total value of $\chi^{(3)}$ of R610 doped PMMA films by using Nd :YAG pulsed laser at 532 nm

C (M)	$\Delta\phi_0$	n_2 watt/cm ²	$R\chi^{(3)}$ e.s.u	B watt/cm	$\text{IM}\chi^{(3)}$ e.s.u	$\chi^{(3)}$ e.s.u
10-6	5.318	3.867E-13	2.39E-09	2.14E-08	8.6579E-08	2.94E-04
10-5	4.919	7.148E-13	4.38E-09	5.48E-08	1.4225E-07	3.77E-04
10-4	8.578	7.643E-13	7.30E-09	5.64E-08	1.475E-07	3.84E-04

With comparison between z-scan results done with CW diode laser and that done with Nd: YAG pulsed laser we found that the measured nonlinearity of pulsed laser was much smaller. The big difference between the CW and the pulsed-laser experimental results indicates that the third order nonlinearities in the two cases have different origins. The third order nonlinearity value obtained with the nanosecond laser is greater than that reported by others and was mainly electronic in origin and is dominated by excited state absorption. [21,22]. On the other hand, the exceptionally large nonlinear susceptibility obtained by cw diode laser excitation was caused by the temperature increase due to light absorption and the subsequent change in the structure of the polymer film. Since low intensity of the cw diode laser rules out purely electronic contributions, the thermal effect should be considered [18].

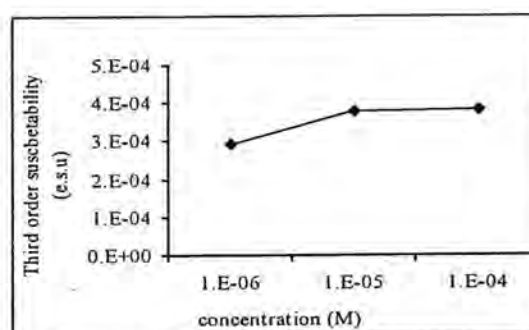


Fig.-9: shows the nonlinear relation between third order susceptibility with film's concentration using Nd :YAG laser.

From Fig. 9, there is too an increasing in the χ^3 value as the concentration increases.

The third order nonlinear optical properties of R 610 dye doped PMMA films have been studied with cw and pulsed lasers. The observed nonlinearities for closed aperture z-scan were large and negative for

both cw and pulsed laser. For open aperture The observed nonlinearities for closed aperture z-scan were large and positive (two photon absorbtion)for both cw and pulsed laser. The origin of optical nonlinearity observed in the cw regime is attributed to the thermal variation of refractive index in the medium. The aperture limited designs based on thermo-optic nonlinearity can be used as efficient limiters in the CW regime. There is an increasing trend for the values of n_2 and β as the concentration increases. This may be attributed to the fact that the number of dye molecules increases as the concentration increases, more particles are thermally agitated resulting in an enhanced effect. The third order nonlinearity value obtained with the nanosecond laser was mainly electronic in origin.

High values of nonlinear refractive index(n_2) and high values of nonlinear third order susceptibility by using CW laser compared with pulsed laser make this technique is more effective to get high order nonlinearity. The optical materials indicating that the sample has a large nonlinear optical effect, which can be a promising candidate for photonic device ,optical limiting and signal processing applications.

REFERENCES

1. Balaji , G. , Rekha R.K. and Ramalingam A, Acta Physica Potonica A, Vol.119, No 3, 359-363, (2011).
2. Rekha R. K., Ramalingam A.,” Optica Applicata, , Vol. XL, No. 1, pp187-196,(2010).
3. Achamma K., Nibu A. G., Binoy P., Nampoorei V. P. , And Vallabhan C. P. Laser Chemistry, Vol. 20(2-4), pp. 99-110,(2002).
4. Przhonska O.V., Jin H. L., Hagan D.J., Van Stryland E.W., Bondar M.V., Slominsky Yu.L., Journal of the Optical Society of America B, Vol.15, No.2, pp. 802-809.(1998)
5. Geethakrishnan T., Palanisamy P.K., “Optics Communications ,Vol.270, No. 2, pp. 424-428,(2007).
6. Mansoor Sh.-B., Said A. A., and Van Stryland E. W., center of Research in Electro- Optics and Lasers, University of Florida,Orlando, (1986).
7. Mansoor. S.-B.e, Said A.A. , Wei T.H, Hagan ,D.J, Stryland E.W, IEEE JOURNAL of Quantum electronic, Vol. 26,pp 760-769 ,(1990).
8. Kandasamy K., Divakar K. R., Rekha D., Puntambekar,P.N, Singh B.P Shetty S.J, Srivastava T.S, Applied.physics.B 64, 479-484, 1997.
9. Naga Srinivas N. K., S. Venugopal R., and D. Narayana R., JOURNAL of Optic Society of America B.,Vol. 20, No.

- 12,December (2003).
10. UliichBrackmann,"Lambdacxhrome Laser Dyes", Lambda physics, GmbH,1986.
 11. Mansoor Sh.- B. , Michael P H.,"Handbook of Optics,Vo.IV, Chapter 17,(2000).
 12. Mansoor. S.-B, Said A. A., Tai-H. W., David J. H.,. Van Stryland, S. , , IEEE LEOS NEWSLETTER, February,pp 7-27,(2007).
 13. Timothy P., "Models for Saturable and Reverse Saturable Absorption in Materials for Optical Limiting", Army Research Laboratory, October 2002.
 14. Rekha R.A, Krishnamurthy R. A.," Nonlinear characterization of Mercurochrome dye for potential application in optical limiting", Vol. XL, No. 1, 201,pp187-196,2010.
 15. Frobel P.G, Sreeja R., Muneera C.I, and Jayaraj M.K, "Nonlinear Optical Characterization of Biebrich Scarlet dye-doped PVA solid films under 532nm nanopulsed laser light excitation", ICOP 2009-International Conference on Optics and Photonics CSIO,Chandigarh,India,30 Oct.-1 Nov.2009
 16. Fern F. E. Alonso E. A., Paolo M. b, Anna M. P., Marcofabio R. A, Gentilina R.B," Third-order optical non-linearities in titanium bis-phthalocyanine/toluene solutions", Chem. Phys. Lett.,Vol. 356, pp 607–613, 2002.
 17. Mathews.J s, Chaitanya S. K., Giribabu L., Venugopal Rao S., "Nonlinear optical and optical limiting properties of phthalocyanines in solution and thin films of PMMA at 633 nm studied using a cw laser", Materials Lett.Vol. 61, 4426-4431, 2007.
 18. Chongkyu S. and Hoosung L.," A Comparative Study of Third-Order Electronic and Thermally Induced Optical Nonlinearity in a Polythiophene Thin Film", J. Korean Ph. Soc., Vol. 36, No. 6, June, pp. 356_3592000,.
 19. Rekha R.K. and Ramalingam A., "Non-linear characterization and optical limiting effect of carmine dye", Indian Journal of Science and Technology, Vol.2, No. 8,pp 27-31 ,Aug 2009.
 20. Timothy P., "Models for Saturable and Reverse Saturable Absorption in Materials for Optical Limiting", Army Research Laboratory, October 2002.
 21. Rekha R.A, Krishnamurthy R. A.," Nonlinear characterization of Mercurochrome dye for potential application in optical limiting", Vol. XL, No. 1, 201,pp187-196,2010.
 22. Naga Srinivas N.K. Venugopal R., and Narayana D. R. ", J.Optical Soc. Ame. B" Vol. 20, No. 12, 2470, 2003.

23. K.N. Sharafudeen, P. Sudheesh, G.R.C. Reddy, K. Chandrasekharan, preparation and nonlinear optical properties of gold Nanoparticles in PMMACop 2009-international conference on optics and photonics,Csio,Chandigarh,India.30 Oct. -1Nov.
24. Afanas A.V., A. Zinondvier,P. Picosecond z-scan measurements of nonlinear optical Susceptibility of Novel Organometallic Polymers,Op.Comm.,201,pp 207-215.2002.

Density Effect of Crystal on Energy Electronic Stopping of Ions above 10mev

Bydaa Mohsen Ahmed

Department of physics, college of science, Al-mustanseria University

Received 25/4/2012 – Accepted 20/6/2012

الخلاصة

تعرف البلورة بأنها جسم صلب يُمثل بنموذج اساسي من الذرات التي تعيد نفسها بعضها فوق بعض وبجميع الاتجاهات، وموقع الذرة يُصف بدلالة الاتجاهات في علم البلورات والمتمثلة بثلاث متجهات اساسية. قدرة الايقاف الالكترونية للجسيمات المشحونة السريعة الساقطة على هيكل الشبكة البلورية الدورية تعامل بواسطة النظرية الخطية. والغرض من الدراسة هو حسابا قدرة الايقاف الالكترونية للايونات الساقطة التي اعدادها الذرية من (1 الى 40) في البلورات المنتظمة (C,Si) والبلورات العشوائية (Ca,Ge) عند السرع (0.41,0.63,0.91(a.u)) واطهار تأثير كثافة الهدف على ايقاف الايونات.

ABSTRACT

crystal" is defined as a solid object in which a basic pattern of atoms is repeated over and over , at all dimensions. The position of atoms is described in terms of the crystallographic axes that defined by the three basic vectors. The electronic stopping power of the fast charged particle that fall on the lattice-periodic structure is treated by linear response theory .

The purpose of this study is to calculate the stopping powers of incident ion whose atomic number (1-40) on crystalline (C,Si) and amorphous (Ca,Ge) at velocities (0.41,0.63,0.91(a.u)), more over clarifying effect of density of target on stopping ion.

INTRODUCTION

The stopping of fast charged particles by an electron system has been the topic of numerous experimental and theoretical studies which are motivated important application such as ion implantation and backscattering experiments[1].

Crystal lattice can trap and channel particle beam along a major crystallographic direction [2]. The stopping of an ion is theoretically best known when the charge state of the ion does not change and the target material is amorphous. In this case, the range profile of the ions can be predicted accurately by analytical methods or by the use of transport theory[3].

Theories

Stopping of ion in crystal

The knowledge of the particle trajectories provides the determination of the ion flux at any point of the crystal. In fact after some penetration depth the close nuclear encounter yield, and thus the ion flux near strings, becomes independent of depth. This is also true far away from the strings, more generally, at any point of the transverse plane. This feature reflects the establishment of a statistical equilibrium[4] .

The ions moving in certain directions in a crystalline material, there are long range open spaces through which the ions can travel without

significant scattering. Ions can be steered down these open channels by glancing collision with the atom rows or planes. Stopping power can be divided into nuclear and electronic stopping term the nuclear stopping governs the energy losses caused by elastic collisions between the ion and the nuclei of atoms in the target. The electronic stopping term governs the energy losses caused by the electronic interaction. The stopping power written as [5]:

$$S = \left(\frac{dE}{dx} \right) = \left(\frac{dE}{dx} \right)_{nuclear} + \left(\frac{dE}{dx} \right)_{electronic} \quad (1)$$

The Lindhard model of electronic stopping, we employ highly-resolved electron density data to describe the conversion of kinetic energy into excitation energy along the ion track[6].

A particle moving through a solid material interacts with it and loses its kinetic energy to both the nuclei and the electrons inside it[7].

If the ion interaction with atoms the equation of the electronic stopping power in crystal is:[5].

$$S_e = \left(\frac{Z_1^{7/6} Z_2}{(Z_1^{2/3} + Z_2^{2/3})^{3/2}} \right) 4a_0 N v, \quad v \leq v_0 Z_1^{2/3} \quad (2)$$

Z_1 : is the ion atomic number

Z_2 : is the lattice atom atomic number

a_0 : is the Bohr radius

v_0 : is Bohr velocity

N : is the wafer atomic density, v is the ion velocity

When incident ions in crystal losing energy to atoms of crystal by inelastic collision that increasing the stopping of ions in crystal, this relation appearance in figures when incident ions on (C,Ca,Si and Ge) crystal the ions move inside crystal under loss all energy and stopping .[8]

Effects of density and type of the crystal target

The crystalline structure of the target material has a large effect on the stopping and therefore on the range profiles [9]. If the structure is amorphous , the atoms are homogeneously and isotropically distributed. The stopping has no dependency on the direction of the ion movement. This means that the range profile has a symmetric, Gaussian form, which has a peak at the mean range. The analytical calculations for the stopping of the ions and predicting range profiles are easiest to do for this type of materials[10].

In a crystalline structure, atoms form a periodic lattice, which forms rows of atoms and empty spaces depending on the viewing direction. The ion movement in crystal is very high in some direction, because the densities of the atoms and electrons depend on the direction[11].

Lindhard treatment is a many-body self-consistent treatment of an electron gas responding to a perturbation by a charged particle. It naturally includes the polarization of the electrons by the charged particle and the resultant charge screening and the plasma density fluctuations[12].

Cross section which is proportional to the projectile velocity and density of target. Energy loss increases with velocity when incident ions in different velocity (0.41, 0.63 and 0.91) ions losses energy larger in 0.91 velocity, and the ions losses energies in Ge more than C,Ca and Si[13].

RESULTS AND DISCUSSION

In this research we evaluated theoretically the energy loss as a function of density for the crystals (C,Ca,Si,Ge) with different velocities(0.41,0.63,0.91). We used two types of crystal, crystalline(C,Si) and amorphous(Ca,Ge).

The electronic stopping helps the ions to lose its energy due to the inelastic collisions between the incident ions and electrons of the crystal.

Figures (1,2,3,4) show incident ions from (1 to 40) atomic number for Carbon, calcium, Silicon and Germanum crystals with different velocities, it is obvious that the range increases with atomic number increase due to the increase of collisions between incident ions and electrons of atomic crystal this electronic collision cause processes such as: ionization, loss electron and electron capture.

When compared the high velocity (0.91) of all figures we found in fig.(1) the range of curve arrive to (C=200x10⁷ a.u), in fig.(2) (Si=250x10⁷ a.u), fig.(3) (Ca=174x10⁷ a.u) and fig.(4) (Ge=643x10⁷ a.u). The range increases with density of crystal (C=2.253, Si=2.321, Ca=1.54 and Ge=5.35)

Not the type of crystal (crystalline or amorphous) don't effective on energy loss, therefore the energy loss dependent on atomic number for incident ion, atomic number for target and density for target.

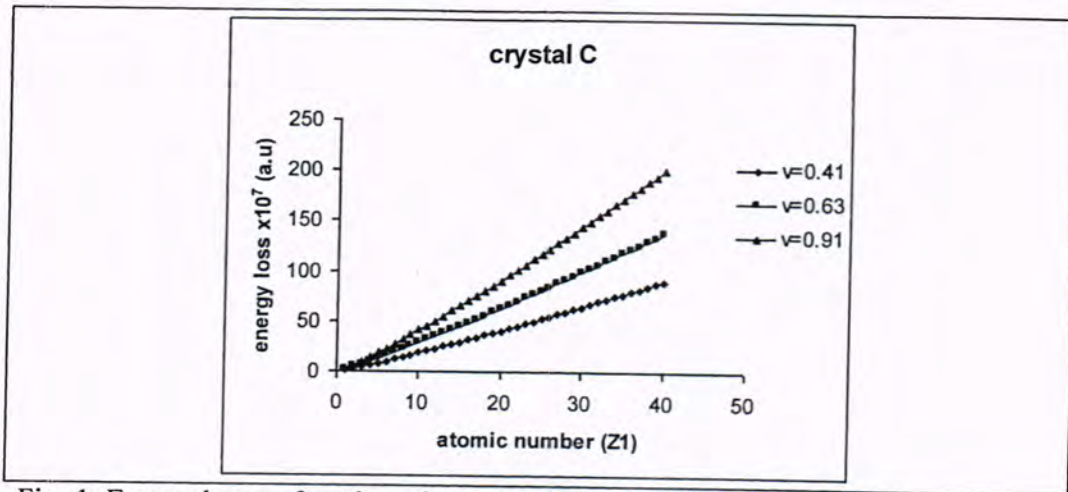


Fig.-1: Energy loss as function of atomic number (z_1) for carbon crystal.

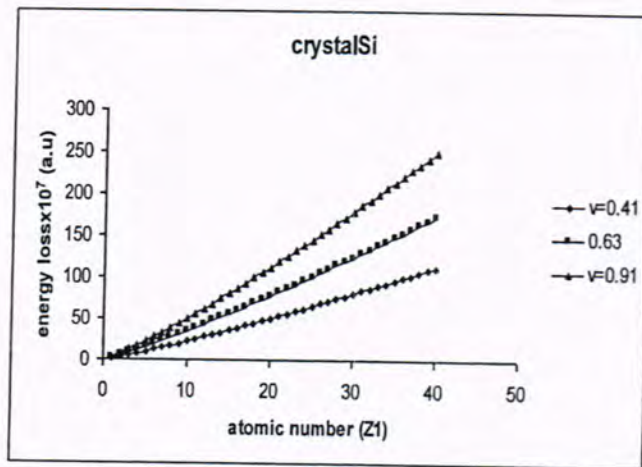


Fig.-2: Energy loss as function of atomic number (z_1) for silicon crystal.

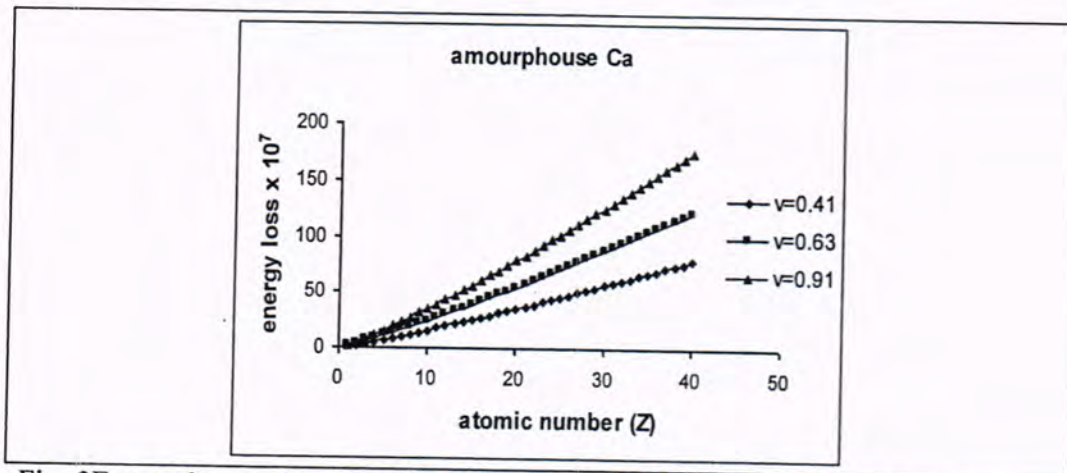


Fig.-3 Energy loss as function of atomic number (z_1) for calcium amorphouse

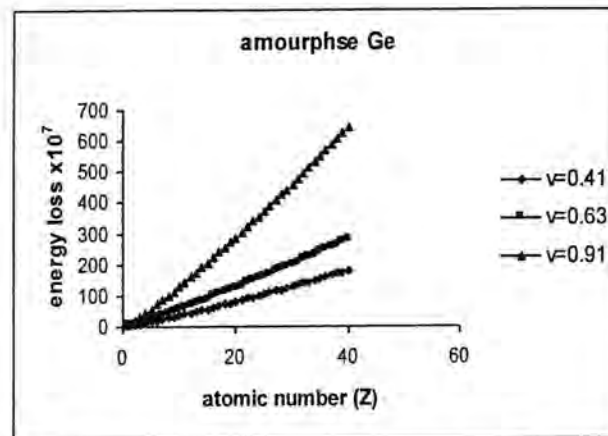


Fig.-4: Energy loss as function of atomic number(z_1) for Germanium amorphouse

Conclusions

- 1- Energy loss for electron capture to different projectiles increases with increases of the velocity of incident ions on crystal.
- 2- High density for crystals helps to stopping of ions, due to the increases of the collisions between the incident ions with the electrons of crystal.
- 3- Ions loss energy in crystal take place because of the ions collision with electron of crystal as an absorption or Scattering.
- 4- Increasing the density of the crystal increase the number of collisions between the incident ions and the electrons of the crystal which increase the absorption and scattering of the energy of the incident ions, hence increase the energy loss.

REFERENCES

1. Titus M.H.E.Tielens and Gerrit E.W.Bauer, Dielectric theory of the electronic stopping power of fast ions in crystals, physics Rev.B, Vol.49, No.8,(1993).
2. V.M. Biryukov, Scattering in crystals with effective radiation length in the micron range , Institute for High Energy Physics, Protvino, 142281, Russia.
3. J.peltola, Stopping power for ions and clusters in crystalline solids, University of Helsinki, HU-p-D108,(2003).
4. C. Cohen and D. Dauvergne, High energy Ion channeling. principles and typical applications. Universités Paris , place Jussieu, 75251 Paris cedex 05, France , Université Lyon I, 4 rue E.Fermi, 69622 Villeurbanne cedex, France,(2002).
5. A.Dool, G.Tech, Shockley patented the concept of ion implantation for semiconductor.ECE6450,(1956).
6. O. Osmani, Calculation of electronic stopping power along glancing swift heavy ion tracks in perovskites using ab initio electron density

- data, *J. Phys.: Condens. Matter* **20** 315001, *Journal of Physics* (2008).
7. M.AhsanZeb, I.J.Kohano, Electronic stopping power in gold: The role of electrons and the H/He anomaly, Basque Foundation for Science, Ikerbasque, 48011 Bilbao, Spain (Dated: April 17, 2012).
 8. A.Sarah, A transmission electron microscopy study of the interaction between defects in amorphous silicon and a moving crystalline/amorphous interface, Université de Poitiers - France, Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées (2006).
 9. I. Ruge and J. Graul Ion implantation in semiconductors, edited by Springer-Verlag, Berlin, 1971.
 10. S. Tian, Predictive Monte Carlo ion implantation simulator from sub-keV to above 10 MeV, *J. Appl. Phys.* **93**, 5893 (2003).
 11. J. Peltola stopping power for ions and clusters in crystalline solids, accelerator laboratory, department of physics, faculty of science university of Helsinki, finland, HU-P-D108, (2003).
 12. J. F. Ziegler *J. Appl. Phys.* The Stopping of Energetic Light Ions in Elemental Matter Phys / *Rev. Appl. Phys.*, **85**, 1249-1272 (1999).
 13. H. Knudsen^{1,*}, H. A. Torii, Target Structure Induced Suppression of the Ionization Cross Section for Very Low Energy Antiproton-Hydrogen Collisions, *Phys. Rev. Lett.* **105**, 213201, pag.4 (2010).

Study The Physical And Mechanical Properties Of (Un Plasticized Polyvinyl Chloride) Pipes

Suroor N. Esmeeel¹, Hazim F. Hassan², Muna N. Ismail³

¹Department of Physics, College of Science, Al-Mustansiriyah university

^{2,3}Department of Chemical Industries, Technical Institute/ Anbar

Received 17/10/2012 – Accepted 26/2/2013

الخلاصة

تم في هذا البحث تحضير نماذج من أنابيب البولي فينيل كلورايد الصلب السعودي المنشأ والخاص بأنابيب الصرف الصحي بعد تقطيعها ودراسة الخصائص الميكانيكية والفيزيائية لها. تم دراسة مقاومه الصدمة والصلادة للنماذج بعد غمرها بالماء والمحلول القاعدي حيث أبدت المادة مقاومه صدمه وصلت إلى (91.82 J/m) بعد الغمر لفترة (6 weeks) في المحلول قاعدي بينما كانت قيمتها (62.11) بعد الغمر في الماء إما بالنسبة للصلادة فكانت (77.6) بعد الغمر في المحلول القاعدي و (62.11) بعد الغمر في الماء . اشارت النتائج إن الماء والمحلول القاعدي قد اثر على هذه الخصائص حيث تقل الصدمة والصلادة بعد الغمر، كما أشارت الدراسة إن نفاذيته الماء في هذه الأنابيب اقل من نفاذيته المحلول القاعدي.

ABSTRACT

UPVC (un plasticized polyvinyl chloride) samples prepared by cutting to study mechanical and physical properties . Hardness and impact strength properties were studied with conditions mentioned, base and distill water were the main environments studied on the samples prepared. When the maximum value of impact strength reach (80.44 J/m) after immersion (6 weeks) in NaOH , while in water it was (91.82 J/m).The hardness achieve (77.6) after immersion in NaOH and (62.11) in water . Results showed that the impact and hardness decrease after immersion in NaOH and H₂O. Water was diffusion in upvc less than NaOH .

INTRODUCTION

PVC (poly vinyl chloride) is one of the three major thermoplastics ,poly propylene(pp),poly ethylene(PE) and PVC being manufactured and used across the globe. Globally,around(60%) form of water/SWR/plumbing/Drainage pipes, window and door profile.[1]

UPVC or rigid PVC is often used in the building industry as a low-maintenance material. The material comes in arrange of colors and finishes [2,3].The same material has almost entirely replaced the use of cast iron for plumbing and drainage, being used for waste pipes, drain pipes, gutters and down pipes [4].

To make pvc useful for various applications, additives such as thermal stabilizers, lubricants, processing aids, colorants, UV stabilizers, fillers, etc are added to it before processing to ensure good mechanical, physical, thermal and electrical properties.[5]

MATERIAL AND METHODS

The pipes in this work made in Saudi Nation Company were cutting into dimensions of ASTM standard , D/N8061 for impact test and hardness. Some of the samples were immersed in (0.5 N) NaoH solutions and the others were immersed in distill water for different

period (1-6) weeks. Another samples immersed in distill water and in NaoH(0.5 N) solution for test of diffusion coefficient.

Equipments:

1- Impact test :

This instrument consist mainly of a pendulum and an energy gauge .Charpy impact test consists of standard test piece that would be broken with one flow of swinging hammer. The test piece is supported at both ends in a way that the hammer strikes it at the middle. The testing method of this instrument includes lifting of the pendulum to its maximum height and fixing it firmly. The specimen is fixed in its pertaining place and then the energy gauge is initialized (on zero position),after that the pendulum is freed whereas it potential energy would be changed to kinetic energy .Some of this kinetic energy is utilized to fracture the specimen ,which the energy gauge reads the value of fracture energy (Uc) for the sample under test. Impact strength (I.S) is calculated by applying the relationship:

$$I.S = U_c / A \quad \text{-----(1)}$$

Where U_c : fracture energy (Joule) which is determined from Charpy impact test instrument .

A : is the cross – sectional area of the specimen (mm^2)

2- Shore hardness tester (HT -6510 D).

Shore hardness tester D (Durometer) determining the indentation hardness for plastics ,Formica ,Epoxies and Plexiglas .

Specification of shore D tester :4 digits ,10 mm LCD Range : 0-100 H
 Resolution :0.1

Measurement deviation :error $\leq\pm 1$

Size : 162 *65 *28 mm.

3-Absorption test: this test used these equations:

$$\text{Weight gain}\% = (M_2 - M_1 / M_1) * 100 \quad \text{-----(2)}$$

$$D_x = \pi (k_t d / 4M_\infty)^2 \quad \text{-----(3)}$$

M_1 =Weight of specimen after immersed.

M_2 =Weight of specimen before immersed.

D_x =Diffusion coefficient.

d:thickness of specimen.

M_∞ :Amount of liquid in specimen after saturation.

k_t : slope of curve between weight gain with root of time.

RESULTS AND DISCUSSION

I-Impact test :

This test was done to evaluate the impact strength of the specimens and study the effect of NaOH solution and distill water on this property. Fig (1,2) showed energy absorbed by specimens of their condition and these variations. The distill water had decreased value of impact strength of material. Also the NaOH solution decreased the impact strength. As this aggressive liquid and Water entry in polymer material is primarily caused by different and partly by the polarity of polymer chains that is caused by un balanced inter molecular forces. Molecules of water and NaOH that penetrate into the area between the polymer chains remain there and act like wedge between these chains and caused a damage in the inter face region of the UPVC.[6,7]

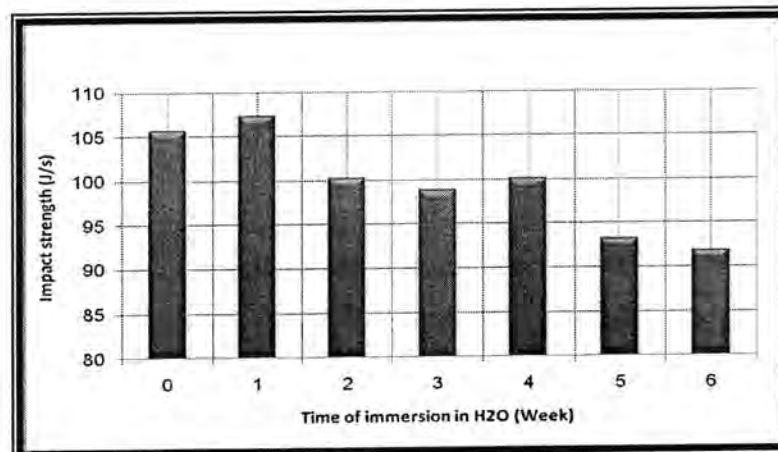


Fig.-1: Effect of H₂O with Impact strength

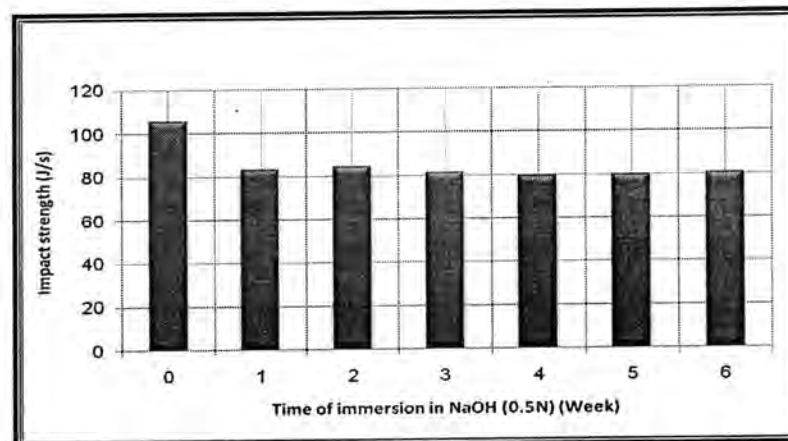


Fig.-2: Effect of NaOH with Impact strength

1- Hardness properties :

Fig (3,4) demonstrate the hardness (shore D) of the upvc pipes decreasing with time of immersion in H₂O and NaOH solution . Distill water and aggressive liquid as NaOH caused degradation in polymer and caused a damage in the inter face region, also the solution usually caused decreased surface's resistance that leads to decreasing the resistance of scratch [8].The effect of the NaOH solution and H₂O on the hardness shows that when the immersion time increases, the hardness decreases, this is a sign of a negative effect (bad effect) on the hardness because the solution will break the bonds in the polymer and form cavities which represent the weak regions in the UPVC pipes . [6,7]

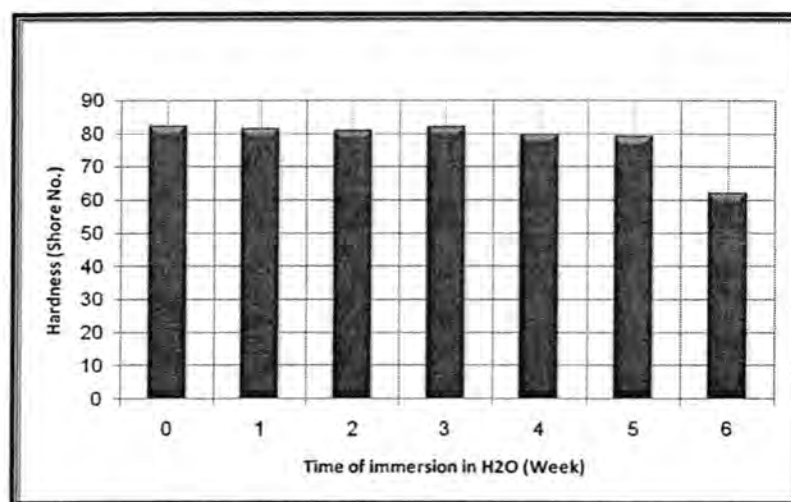


Fig.-3: Effect of H₂O with hardness

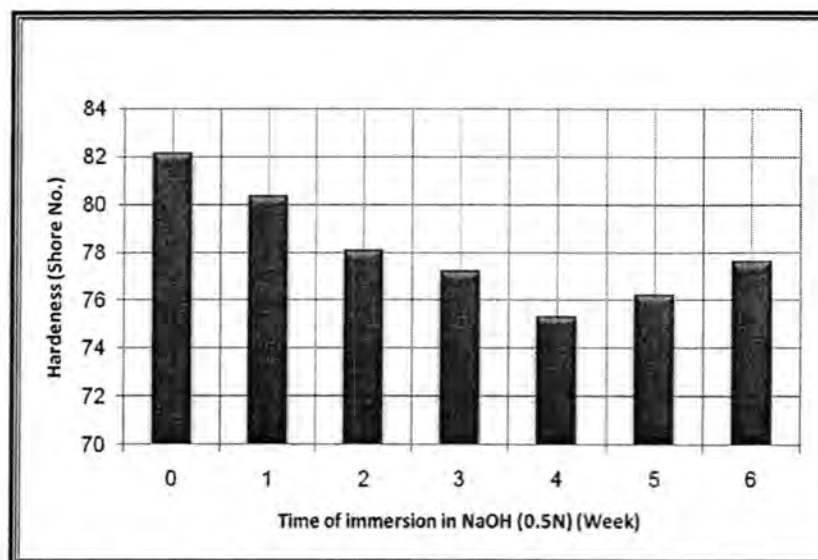


Fig.-4: Effect of NaOH(0.5 N) with hardness

3- Absorption test :

This test was done to evaluate the diffusion coefficient of solution in specimens. Fig (7) shows that diffusion coefficient of NaOH solution inside the specimens more than diffusion coefficient of distill water due to upvc had a low resistance toward the aggressive liquid[9], this is shown in fig (5,6,7)

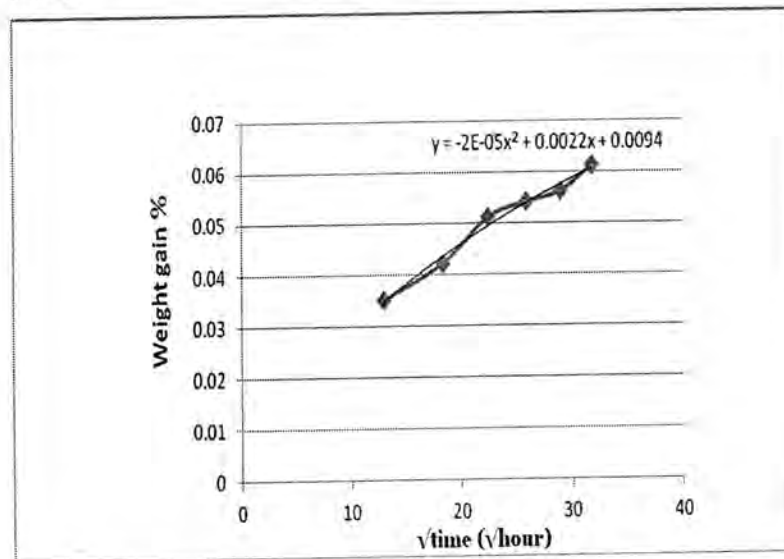


Fig.-5: Weight gain after immersion in water

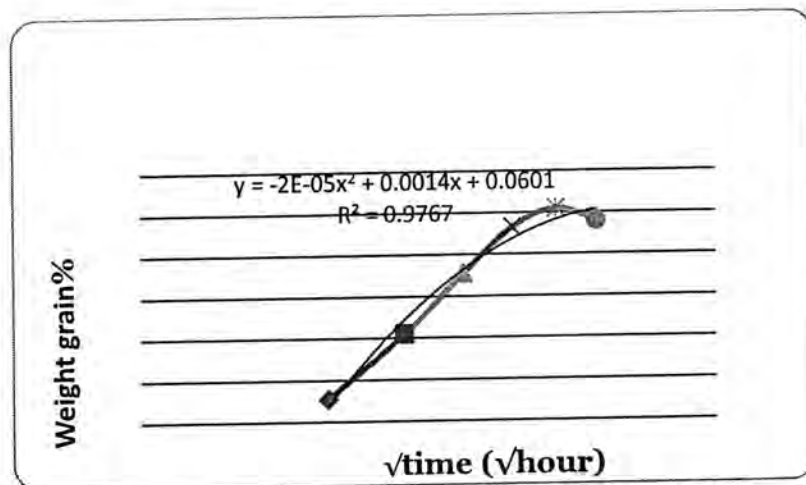


Fig.-6: Weight gain after immersion in NaoH(0.5N)

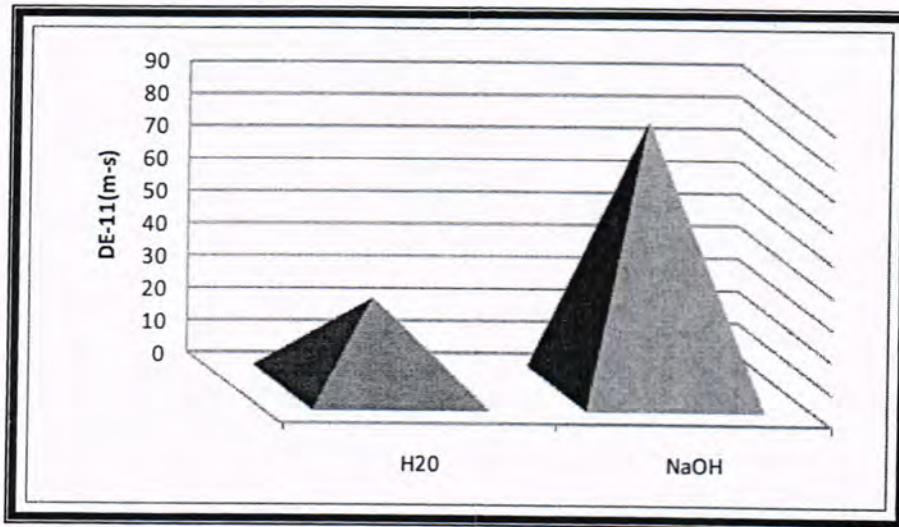


Fig. -7: Diffusion coefficient for H₂O and NaOH in pipes of UPVC

Conclusion:

- 1- Immersion in distill water and NaOH lead to decreasing in impact strength ,in addition the effect NaOH solution more than water.
- 2- Hardness decreasing when immersion in H₂O more than in NaOH.
- 3- NaOH solution diffusion in UPVC faster than H₂O ,therefore diffusion coefficient for NaOH solution greater than for H₂O .

REFERENCES

1. <http://www.plastemart.com/upload/Literature/uPVC-windows-Indian-construction.as...2010-05'-27>.
2. Shah R. PVC pipe & Fittings: "Underground solutions for water and sewer system in North America", (June,19-20 2007). 2nd Brazilian PVC Congress ,Sao Paulo.
3. Creech J.; Johnson, M. N. "Angiosarcoma of liver in the manufacture of polyvinyl chloride". (March 1974). Journal of occupational medicine 16(3):150-1. PMID 4856325.
4. National Renewable Energy Laboratory , "Polyvinyl Chloride Plastic in Municipal solid Waste Combustion", NREL /TP-430-5518, Golden CO, April (1993).
5. Polyvinyl Chloride (PVC) 07/087 Report, Chem Systems, November (2008).
6. www.IVSL.org. Polymer, vol 47, Issue 4, February 2006, pages (1348,1356).
7. www.IVSL.org. Polymer, vol. Polymer testing, volume 23, Issue 2, April 2004, pages (163-167).
8. الكيميائي محمد إسماعيل عمر، " الجودة واختبار مواد البلاستيك " (2001).
9. J.M.G. Cowell polymers " Chemistry and physics of modern materials "

A Function Of Two Or Three Cost Criteria To Be Optimized

Tariq S. Abdul-Razaq and Doha A. Abbas
University of Al-Mustansiriyah, College of Science
Received 13/3/2012 – Accepted 25/12/2012

الخلاصة

البحث يخص إجراء تطبيق غير كلاسيكي لمعايير الكفاءة وذلك بإضافة معيار العمل المتأخر إلى مسائل الجدولة المتعددة المعايير. هذه الدراسة تركز على حالة الماكينة الواحدة حيث كلا المجموع الكلي للأعمال المتأخرة واكبر عمل متأخر أخذت بنظر الاعتبار ولأول مرة مع معايير أخرى. وهذا يقود إلى الأخذ بالاعتبار مسائل جدولة ذات معيارين أو ذات معايير متعددة. لبعض هذه المسائل طوّرنّا خوارزميات للحصول على مجموعة الحلول الكفوءة. وعرضت النتائج الحسابية والتي توضح الخوارزميات المحلية (DM), (SA) مع تقرير لنتائجها الحسابية. في هذا البحث العديد من السمات العامة للخوارزميات المتطورة ويُمكنُ تكيفها لمسائل جدولة أخرى متعددة المعايير.

ABSTRACT

The paper concerns the application of a non-classical performance measure , a late work criterion , to multicriteria scheduling problems. This study focus on the single machine case where both total late work and maximum late work are considered for the first time with other criteria. This leads to consider many bicriteria and multicriteria scheduling problems . For some of these problems , we developed algorithms that produces a set of efficient solutions. We present computational experiments that show some local search Descent (DM) and simulated annealing (SA) algorithms, with their reported results . Many aspects of the developed algorithms in this paper are quite general and can be adapted to other multicriteria scheduling problems.

INTRODUCTION

The problem of scheduling a set $N=\{1, \dots, n\}$ of n jobs on a single machine to minimize a variety of multicriteria may be stated as follows. Each of n jobs (numbered $1, \dots, n$) is to be processed on a single machine which can handle only one job at a time. Associated with job i its processing time P_i and its due date d_i . All jobs are available for processing at time zero. A schedule $\pi=(1, \dots, n)$ produce a completion time $C_i = \sum_{j=1}^i P_j$ for each job i , and consequently an earliness $E_i = \text{Max}\{d_i - C_i, 0\}$, tardiness $T_i = \text{Max}\{C_i - d_i, 0\}$ and job i is late $U_i = 1$ if $C_i > d_i$ otherwise job i is early with $U_i = 0$. Thus our object is to find a processing order of the jobs on a single machine to minimize the multicriteria. For the first time, this study uses the late work object in multicriteria scheduling problem . Given a schedule π , the late work $V_i(\pi)$ for job i ($i = 1, \dots, n$), which is the amount of processing performed on i after its due date d_i , is easy to compute [1]. $V_i(\pi)$ are abbreviated to V_i for each job i , hence one have :

- (1) If $V_i = 0$, then job i is early.
- (2) If $0 < V_i < P_i$, then job i is partially early.
- (3) If $V_i = P_i$, then job i is late.

This mean that the late work for job j is given by

$$V_j = \begin{cases} 0 & \text{if } C_j \leq d_j \\ C_j - d_j & \text{if } d_j < C_j < d_j + P_j \\ P_j & \text{if } C_j \geq d_j + P_j \end{cases} \dots\dots\dots(1)$$

Note that if the late work is V_i then the early work for job i is denoted by $P_i - V_i$. Suppose we have the single object problem $1//\sum V_i$ the objective is to schedule the jobs so that the total late work $\sum V_i$ is minimized. Problems that involve the scheduling of jobs with due dates on a single machine to minimize total cost have been studied widely in the literature. Two of these problems are related to the nonpreemptive total late work problem. The first one is the total tardiness problem ($1//\sum T_i$), the cost of scheduling job i ($i = 1, \dots, n$) to be completed at time C_i is given by its tardiness T_i . Clearly, from (1) above that $V_i = \min \{T_i, P_i\}$ for nonpreemptive scheduling. The second one is the weighted number of late jobs problem, ($1//\sum W_i U_i$) the cost associated with job i is $W_i U_i$. A pseudopolynomial dynamic programming algorithm for this NP-hard problem is given by Lawler and Moore(1969)[2].

The cost f_i for each job i ($i=1, 2, \dots, n$) usually depends on the variable C_i . Common optimality criteria are usually in the form $\sum_{i=1}^n f_i$ and $f_{\max} = \text{Max}\{f_i\}$.

In this paper we consider the multicriteria problems of scheduling n jobs on a single machine to minimize $\sum f_i$ and f_{\max} . These problems are denoted by $1//F(\sum f_i, f_{\max})$ and $1//F(\sum f_i, h_{\max}, g_{\max})$.

NOTATION AND BASIC CONCEPTS

The following notation will be used in this paper:

- n = number of jobs.
- P_i = processing time of job i .
- C_i = completion time of job i .
- $\sum_{i=1}^n C_i$ = the total completion times.
- V_i = the late work of job i .
- $\sum V_i$ = the total late work.
- $C_{\max} = \text{Max}_i \{C_i\}$ = maximum completion time.
- $V_{\max} = \text{Max}_i \{V_i\}$ = maximum late work of all job in a schedule.

MINIMIZING TOTAL COMPLETION TIME AND TOTAL LATE WORK

A general bi-criteria scheduling problem is studied in a single machine environment, concerns the simultaneous minimization of the

performance measure total completion time $\sum C_i$ and total late work $\sum V_i$ (i.e. $(\sum C_i, \sum V_i)$). This problem is denoted in general by 1//F $(\sum C_i, \sum V_i)$. This problem denoted by (P) and can be written as:

$$\left. \begin{array}{l} \text{Min} \left\{ \begin{array}{l} \sum C_i \\ \sum V_i \end{array} \right\} \\ \text{s.t} \\ C_i \geq P_i, \quad (i=1, \dots, n) \\ V_i = \text{Min}\{P_i, T_i\}, \quad (i=1, \dots, n) \end{array} \right\} \dots\dots(P)$$

The bi-criteria that is considered concerns the minimization of the performances $\sum C_i$ and $\sum V_i$.

Now, consider the following two problems, which are special case of problem (P).

THE FIRST PROBLEM 1// Lex($\sum C_i, \sum V_i$)

This problem is denoted by P_1 and can be written as:

$$\left. \begin{array}{l} \text{Min} \sum V_i \\ \text{s.t} \sum C_i = C^* \quad \text{where } C^* = \sum C_i \text{ (SPT)} \\ C_i \geq P_i \quad \text{and} \quad V_i = \text{Min}\{P_i, T_i\}, \quad (i=1, \dots, n) \end{array} \right\} \dots\dots(P1)$$

ALGORITHM FOR (P1):

Step(0) : Order the jobs by SPT rule and calculate $\sum C_i$ and $\sum V_i$.

Step(1): If there exists a tie(jobs with the same processing times) order these jobs by EDD rule and choose the schedule with minimum sum of V_i (i.e minimum $\sum V_i$).

The above algorithm gives the best solution for the problem (P1).

THE SECOND PROBLEM 1// Lex($\sum V_i, \sum C_i$)

This problem is denoted by (P_2) and can be written as:

$$\left. \begin{array}{l} \text{Min} \sum C_i \\ \text{s.t} \sum V_i = V^* \quad \text{where } V^* = \min\{\sum V_i\} \end{array} \right\} \dots\dots(P2)$$

This problem is NP-hard since 1// $\sum V_i$ the nonpreemptive total late work problem is NP-hard [1]. Consequently the following corresponding hierarchical scheduling problems of the forms 1//Lex($\sum V_i, f_{\max}$) and 1//Lex($\sum V_i, \sum f_i$) are NP-complete, where $f_{\max} \in \{L_{\max}, T_{\max}, E_{\max}, V_{\max}\}$ and $\sum f_i \in \{\sum C_i, \sum T_i, \sum U_i\}$.

Now, try to solve the problem (P2) by using local search methods.

THE FIRST ALGORITHM FOR (P2)

Step 1. Order the jobs by using SPT rule and assume the resulting schedule $\pi=(1, \dots, n)$

Step 2. Compute C_i for each job $i \in \pi$,

if $C_i \leq d_i$ then put i in the set N_1 otherwise i.e ($C_i > d_i$) put i in the set N_2 .

Step3. Order the jobs of N_1 by using SPT rule and order the jobs of N_2 by putting every job in the first position once and order the remaining jobs by using SPT rule.

Step4. Let $j=1, \dots, K$ be the number of schedules for N_2 then one has a set of schedules $\{\pi_1, \pi_2, \dots, \pi_k\}$, and gets the schedules σ_i =(The jobs of N_1 in SPT), $\pi_i, i=1, \dots, k$.

Step5. Compute $\sum C_i$ and $\sum V_i$ for the schedules $\sigma_1, \dots, \sigma_k$ and chose the minimum $\sum V_i$.

THE SECOND ALGORITHM FOR THE PROBLEM (P2)

Step1. Put $\Delta = \sum P_i, K=n, R=C_{max}, N = \{1, \dots, n\}$.

Step2. Calculate V_j for each job j to be schedule last and find $j^* \in N$ such that

a) $V_{j^*} \leq \Delta$, if \nexists job j^* go to step (5).

b) $P_{j^*} > P_i \forall i \in N, V_i \leq \Delta$ and assign job j^* to position K .

Step3. Set $R=R-P_{j^*}$, if $R=0$, then go to step (4); otherwise set $K=K-1$, go to step (2).

Step 4. For the resulting sequence of jobs calculate $\sum C_i, \sum V_i$ and set $\Delta = V_{max} - 1, K=n, R=C_{max}, N = \{1, \dots, n\}$ and go to step (2).

Step 5. stop

FINDING THE EFFICIENT SOLUTION FOR THE PROBLEM (P)

Now, this section tries to find all efficient (pareto optimal) solutions for $1//F(\sum C_i, \sum V_i)$ problem (P).

The $1//F(\sum C_i, \sum V_i)$ problem can be written as:

$$\left. \begin{array}{l} \text{Min} \left\{ \begin{array}{l} \sum C_i \\ \sum V_i \end{array} \right\} \\ \text{s.t} \\ C_i \geq P_i, \quad (i=1, \dots, n) \\ V_i = \text{Min}\{P_i, T_i\}, \quad (i=1, \dots, n) \end{array} \right\} \dots\dots(P)$$

THEOREM (1)[3]

Consider the composite objective function F with $F(\pi) = F(f_1(\pi), \dots, f_k(\pi))$, where F is non-decreasing in all performance criteria f_k . There is a pareto optimal schedule with respect to f_1, \dots, f_k that minimizes the function F .

Note that it is clear from theorem (1) there exists at least one efficient solution for problem (P).

PROPOSITION(1)

There exists an efficient sequence for problem (P) that satisfies the SPT-rule.

PROOF. (a) Suppose first that all processing times are different. The unique SPT-sequence (SPT*) gives the absolute minimum of $\sum C_i$.

Hence, there is no sequence $S \neq SPT^*$ such that

$$\sum C_i(S) \leq \sum C_i(SPT^*) \text{ and } \sum V_i(S) \leq \sum V_i(SPT^*) \dots\dots\dots(2)$$

with at least one strict inequality .

(b) If more than one SPT-sequence exists (jobs with equal processing times), let SPT* be a sequence satisfying the SPT-rule and such that jobs with equal processing times are in EDD-sequence .If a set of jobs which are to be early or partially early is specified ,then this EDD order minimized $\sum V_i$ (see theorem (4) [1]).

Note that if several jobs have identical processing times and identical due dates , then SPT* is not unique . We prove that every SPT* sequence is an efficient ,sequences that does not satisfy the SPT-rule which cannot dominate an SPT* sequence (2). If S is an SPT-sequences but not an SPT* sequences, it cannot dominate SPT* since

$$\sum C_i(S) = \sum C_i(SPT^*) \text{ and } \sum V_i(SPT^*) \leq \sum V_i(S) \dots\dots\dots(3)$$

Hence all the SPT* sequences are efficient . ■

It should be noted that , it is clear that the 1// F ($\sum C_i$, $\sum V_i$) problem (P) can be solved by using the first and the second algorithm for the problem (P2), in order to find the set of pareto optimal points for problem (P) .

Now consider the following problem (P3) which is a special case of problem(P) .

THE 1// $\sum C_i + \sum V_i$ PROBLEM:

The object in the problem (P3) is to find a processing order of the jobs to minimize $\sum C_i + \sum V_i$. This problem can be stated as follows:

$$\left. \begin{array}{l} M = \min\{\sum C_i(\sigma) + \sum V_i(\sigma)\} \\ s.t \\ C_{\sigma(i)} \geq P_{\sigma(i)} \quad i=1,\dots,n \\ C_{\sigma(i)} = C_{\sigma(i-1)} + P_{\sigma(i)} \quad i=2,\dots,n \\ V_{\sigma(i)} \leq C_{\sigma(i)} - d_{\sigma(i)} \quad i=1,\dots,n \\ V_{\sigma(i)} \geq 0 \quad i=1,\dots,n \\ V_{\sigma(i)} \leq P_{\sigma(i)} \quad i=1,\dots,n \end{array} \right\} \dots\dots\dots(P3)$$

The schedule $\sigma \in S$ (the set of all schedules).

This problem can be decomposed into two subproblems (SP1) and (SP2) .

$$\left. \begin{array}{l} M1 = \min \sum_{i=1}^n C_{\sigma(i)} \\ C_{\sigma(i)} \geq P_{\sigma(i)} \quad i=1,\dots,n \\ C_{\sigma(i)} = C_{\sigma(i-1)} + P_{\sigma(i)} \quad i=2,\dots,n \end{array} \right\} \dots\dots\dots(SP1)$$

$$\left. \begin{aligned}
 M2 &= \min \sum_{i=1}^n V_{\sigma(i)} \\
 V_{\sigma(i)} &\leq C_{\sigma(i)} - d_{\sigma(i)} \quad i=1, \dots, n \\
 V_{\sigma(i)} &\geq 0 \quad i=1, \dots, n \\
 V_{\sigma(i)} &\leq P_{\sigma(i)} \quad i=1, \dots, n
 \end{aligned} \right\} \dots\dots\dots (SP2)$$

THEOREM(2)[4]

$M1+M2 \leq M$ where $M1$, $M2$, and M are the minimum objective function values of (SP1), (SP2), and (P3) respectively. ■

It should be noted that the problem (P3) is a special case of problem (P) and can be solved and the optimal value is obtained by using BAB algorithm and this solution is one of the efficient solutions for the general problem (P).

SPECIAL CASES FOR PROBLEM (P)

Finding special cases for a scheduling problem means finding an optimal schedule directly without using mathematical programming techniques. A special case for (P) depends on satisfying some conditions in order to make the problem easily solvable.

Now if one relaxes the unconstrained problem $1/\sum V_i$, however, an optimal solution for special cases of problem (P) is given below.

(1) If $\sum_{i=1}^n P_i \leq d_i \quad \forall i$, then all the jobs are early and $\sum_{i=1}^n V_i = 0$. Hence

The SPT schedule is optimal for the problem (P).

(2) If SPT rule satisfy $C_i \geq d_i + P_i$, for each job i in SPT rule this means that $V_i = P_i$ since $V_i = \min \{T_i, P_i\}$ then one gets $\sum V_i = \sum P_i$ and hence the SPT schedule is optimal for the problem (P).

(3) If $P_i = P$ and $d_i = ip - 1$, where P is any positive integer satisfying $P \leq n$ then the sequence $(2, \dots, n, 1)$ is an optimal sequence with $\sum V_i = P$. Therefore, $\sum V_i = p$ and it is clear that SPT sequence $(2, \dots, n, 1)$ minimize $\sum C_i$.

(4) If $d_i = d$ then any schedule gives $V^* = \min \{ \sum_{i=1}^n V_i \} = \sum_{i=1}^n P_i - d = C_{\max} - d$. Hence the SPT schedule is optimal for the problem (P).

MINIMIZING TOTAL LATE WORK AND THE MAXIMUM LATE WORK

Now study the bi-criteria scheduling problem in a single machine, concerns the simultaneous minimization of total late work ($\sum V_i$) and the maximum late work (V_{\max}) (i.e, minimization of $F(\sum V_i, V_{\max})$), this problem is denoted by $1//F(\sum V_i, V_{\max})$, is called (P4) and can be written as:

$$\left. \begin{array}{l} \text{Min } \left\{ \begin{array}{l} \sum V_i \\ V_{max} \end{array} \right\} \\ \text{s.t} \\ C_i \geq P_i, \quad (i=1, \dots, n) \\ V_i = \text{Min} \{P_i, T_i\}, \quad (i=1, \dots, n) \end{array} \right\} \dots\dots(P4)$$

It is clear that this problem (P4) is NP-hard since the $1//\sum V_i$ nonpreemptive total late work problem is NP-hard [1].

The following results give an optimal solution for the special case of the problem (P4), in which the due date $d_i=d$ for each job i .

LEMMA(1)

There exists an optimal schedule $\pi=(1, \dots, n)$ for the $1|d_i = d| F(\sum V_i, V_{max})$ problem where $C_1 < d < C_n$ in which the jobs are sequenced in Lawler algorithm.

PROOF:

Suppose that Lawler algorithm gives the schedule $\pi=(1, \dots, n)$ order for the

$1|d_i = d| F(\sum V_i, V_{max})$ problem. Since for this case of equal due date any schedule is optimal for $(1|d_i = d| \sum V_i)$ problem [1]. Hence for the schedule $\pi=(1, \dots, n)$ where $C_1 < d < C_n$ of jobs for Lawler algorithm is optimal schedule for V_{max} . Hence we have π is an optimal schedule for $1|d_i = d| F(\sum V_i, V_{max})$ problem. ■

LEMMA (2)

There exists an optimal schedule of the $1|d_i = d| F(\sum V_i, f)$ problem where $C_1 < d < C_n$ and $f \in \{ T_{max}, L_{max}, E_{max}, \sum C_i, \sum U_i \}$ in which the jobs are sequenced and given optimal value for f .

PROOF : It is clear from the proof of lemma (1),

- (1) if $f=T_{max}$ or $f=L_{max}$, then suppose that the EDD rule gives the schedule $\pi=(1, \dots, n)$ for $1|d_i = d| F(\sum V_i, f)$ problem with minimum $f=T_{max}$ or $f=L_{max}$. The rest of the proof is the same of lemma (1). ■
- (2) if $f=E_{max}$, then suppose that the MST rule gives the schedule $\pi=(1, \dots, n)$ for $1|d_i = d| F(\sum V_i, E_{max})$ problem with minimum E_{max} . The rest of the proof is the same of lemma (1). ■
- (3) if $f=\sum C_i$, then suppose that the SPT rule gives the schedule $\pi=(1, \dots, n)$ for $1|d_i = d| F(\sum V_i, \sum C_i)$ problem with minimum $\sum C_i$. The rest of the proof is the same of lemma (1). ■
- (4) if $f=\sum U_i$, then suppose that Moore's algorithm gives the schedule $\pi=(1, \dots, n)$ for $1|d_i = d| F(\sum V_i, \sum U_i)$ problem with minimum $\sum U_i$. The rest of the proof is the same of lemma (1). ■

SIMULTANEOUS MINIMIZATION OF SOME PERFORMANCE MEASURES

Some bicriteria scheduling problems are studied in a single machine, when the due date $d_i=d$ for each job $i, i=1, \dots, n$. The criteria that is considered concerns the minimization of the performance measure $E_{max}, T_{max}, \sum V_i$ and V_{max} .

LEMMA(3) [5]

For the $1|d_i = d| (E_{max} + T_{max})$ problem, where $C_1 < d < C_n$ there exists an optimal schedule π with value of $E_{max} + T_{max} = C_n - C_1$.

LEMMA(4)

For the $1|d_i = d| (E_{max} + T_{max} + \sum V_i)$ problem, where $C_1 < d < C_n$ there exists an optimal schedule π with value of $E_{max} + T_{max} + \sum V_i = 2C_n - C_1 - d$.

PROOF: It is clear from Lemma(3). ■

ALSO FOR THE TWO SPECIAL CASES PROBLEMS:

(1) For the $1|d_i = d| (E_{max} + \sum V_i)$ there exists an optimal schedule with value of $E_{max} + \sum V_i = C_n - C_1$.

(2) $1|d_i = d| (T_{max} + \sum V_i)$ there exists an optimal schedule with value of $T_{max} + \sum V_i =$

$2(C_n - d)$.

LEMMA(5)

For the $1|d_i = d| (E_{max} + T_{max} + V_{max} + \sum V_i)$ problem, where $C_1 < d < C_n$ there exists an optimal schedule π with value of $E_{max} + T_{max} + V_{max} + \sum V_i = 2C_n - C_1 - d + V_{max}^*$ where V_{max}^* obtained by using Lawler's algorithm.

PROOF: It is clear from Lemma(1) and lemma (4). ■

ALSO FOR THE FOLLOWING SPECIAL CASES PROBLEMS:

(1) $1|d_i = d| (E_{max} + V_{max})$ there exists an optimal schedule with value $d - C_1 + V_{max}^*$ where V_{max}^* obtained by using Lawler's algorithm.

(2) $1|d_i = d| (T_{max} + V_{max})$ there exists an optimal schedule with value $C_n - d + V_{max}^*$ where V_{max}^* obtained by using Lawler's algorithm.

(3) $1|d_i = d| (\sum V_i + V_{max})$ there exists an optimal schedule with value $C_n - d + V_{max}^*$ where V_{max}^* obtained by using Lawler's algorithm.

MINIMIZING TOTAL NUMBER OF LATE JOBS $\sum U_i$ AND TOTAL LATE WORK $\sum V_i$

This section tries to find an efficient (pareto optimal) solutions for the $1// F(\sum U_{\sigma(i)}, \sum V_{\sigma(i)})$ problem, this problem is denoted by (P5) and defined as:

$$\left. \begin{array}{l}
 \text{Min} \left\{ \begin{array}{l} \sum U_{\sigma(i)} \\ \sum V_{\sigma(i)} \end{array} \right\} \\
 S.t \\
 C_{\sigma(i)} \geq P_{\sigma(i)} \quad i=1, \dots, n \\
 C_{\sigma(i)} = C_{\sigma(i-1)} + P_{\sigma(i)} \quad i=2, \dots, n \\
 U_{\sigma(i)} = \begin{cases} 0 & \text{if } C_{\sigma(i)} \leq d_{\sigma(i)} \quad i=1, \dots, n \\ 1 & \text{o.w} \end{cases}
 \end{array} \right\} \dots\dots\dots (P5)$$

Where $\sigma(i)$ denote the position of the job i in the ordering $\sigma \in S$ and S denote the set of all schedules.

For this problem (P5) if $\sum U_{\sigma(i)}$ is more important objective function and should be optimal for any feasible schedule . Then the following algorithm (A) gives feasible solution for the 1//Lex ($\sum U_{\sigma(i)}, \sum V_{\sigma(i)}$) problem.

ALGORITHM (A) FOR THE 1//Lex($\sum U_i, \sum V_i$) PROBLEM

Step1. Order the jobs by using EDD rule, suppose that the resulting sequence is $(1, 2, \dots, n)$.

Step2. Apply Moore's algorithm ,we obtained a schedule π .

Step3. Reorder the jobs such that the early jobs order by using EDD rule and the late jobs order by decreasing d_i .

Step4. Compute $\sum_{i=1}^n V_i$ and $\sum_{i=1}^n U_i$.

Step5. Stop.

It is clear that algorithm A gives feasible solution for the 1//Lex ($\sum U_{\sigma(i)}, \sum V_{\sigma(i)}$) problem , since Moore algorithm gives minimum number of the late jobs $\sum U_{\sigma(i)}$.

Now to solve the problem (P5) , the following algorithm is used.

ALGORITHM FOR THE 1//F($\sum U_i, \sum V_i$) PROBLEM

Step(1): Let $K=1$, $S_1 = \emptyset$,choose an initial feasible solution by applying the algorithm A for the problem 1//Lex($\sum_{i=1}^n U_i, \sum_{i=1}^n V_i$). Hence, the

current sequence $\pi = (\pi(1), \dots, \pi(n))$ is obtained for this sequence π

calculate $H = \sum_{i=1}^n U_i$ and $G = \sum_{i=1}^n V_i$.

step (2): Selected two jobs $\pi(i)$ and $\pi(j)$ and swap the two jobs, in this sequence interchange their positions into $\pi(j)$ and $\pi(i)$ respectively. Thus we get a new sequence π_k^* for this new sequence

π_k^* compute $H_1 = \sum_{i=1}^n U_i$ and $G_1 = \sum_{i=1}^n V_i$.

Step (3): Replacing the sequence (π_k^*) by (π) the current sequence if $H_1 \leq H$ and $G_1 \leq G$ where at least one relation is a strict inequality, then $S_1 = S_1 \cup \pi_k^*$ and set $\pi = \pi_k^*$, $K = K + 1$. Otherwise (π) is retained as the current sequence.

Step(4): Repeat step(2) for all other possibilities, the method is terminated if no neighbor provides an improved in the multiple objective function value in which case the set S_1 contains the efficient solutions.

Step(5): Stop.

ANALYSIS OF MULTICRITERIA

Multicriteria scheduling refers to the scheduling problem in which advantages of a particular schedule are evaluated using more than one performance criterion. Several scheduling problem considering the simultaneous minimization of various forms of sum completion time, earliness and tardiness costs have been studied in the literature (Hoogeveen [6]). Hoogeveen [7],[8] also solves $1//F(f_{max}, g_{max}, h_{max})$ and solves the general problem $1//F(f_{max}^1, \dots, f_{max}^k)$, K is finite integer number and each one of these functions is assumed to be non-decreasing in the job completion time. The problems and the algorithms considered in this section belongs to the class of simultaneous multicriteria optimization. Now consider the general multicriteria problem $1//F(\sum C_i, V_{max}, E_{max})$. This problem is denoted by (P6) and defined as:

$$\left. \begin{array}{l}
 \text{Min } \left\{ \begin{array}{l} \sum C_i \\ V_{max} \\ E_{max} \end{array} \right\} \\
 \text{S.t} \\
 C_i \geq P_i \quad i=1, \dots, n \\
 C_i = C_{i-1} + P_i \quad i=2, \dots, n \\
 V_i = \text{Min} \{P_i, T_i\} \quad i=1, \dots, n \\
 E_i \geq d_i - C_i \quad i=1, \dots, n \\
 E_i \geq 0 \quad i=1, \dots, n
 \end{array} \right\} \dots\dots\dots (P6)$$

Since this problem (P6) is very difficult to solve, later local algorithms will be presented to find the best possible solution.

THE 1//F(∑C_i, V_{max}, E_{max}) PROBLEM

The problems and the algorithms considered in this section belongs to first class of multi-criteria (hierarchical optimization). All of

these problems are special case of the general problem $1//F(\sum C_i, V_{max}, E_{max})$ (P6).

Hence we have the following:

- (1) $1//Lex(\sum C_i, V_{max}, E_{max})$ problem.
- (2) $1//Lex(\sum C_i, E_{max}, V_{max})$ problem.
- (3) $1//Lex(V_{max}, \sum C_i, E_{max})$ problem.
- (4) $1//Lex(V_{max}, E_{max}, \sum C_i)$ problem.
- (5) $1//Lex(E_{max}, \sum C_i, V_{max})$ problem.
- (6) $1//Lex(E_{max}, V_{max}, \sum C_i)$ problem.

THE $1//Lex(\sum C_i, V_{max}, E_{max})$ PROBLEM.

This problem can be defined as:

$$\left. \begin{array}{l}
 \text{Min } E_{max} \\
 \text{s.t.} \\
 \sum_{i=1}^n C_i = C^*, C^* = \sum_{i=1}^n C_i \text{ (SPT)} \\
 V_{max} \leq V, V \in [V_{max} \text{ (Lawler algorithm)}, V_{max} \text{ (SPT)}]
 \end{array} \right\} \dots\dots\dots(P7)$$

The problem (P7) with $\sum C_i$ is the more important function and should be optimal, then the following simple algorithm gives the required result for the problem (P7).

ALGORITHM1 FORM $1//Lex(\sum C_i, V_{max}, E_{max})$ PROBLEM:

Step(0): Order the jobs by SPT rule and calculate $(\sum C_i, V_{max}, E_{max})$ point.

Step(1): If there exist a tie (jobs with equal processing times), order these jobs:

- (1) by EDD rule and calculate $(\sum C_i, V_{max}, E_{max})$.
- (2) by MST rule and calculate $(\sum C_i, V_{max}, E_{max})$.

Step(2): Choose the SPT schedule with minimum V_{max} and E_{max} .

THE $1//Lex(\sum C_i, E_{max}, V_{max})$ PROBLEM

This problem can be defined as:

$$\left. \begin{array}{l}
 \text{Min } V_{max} \\
 \text{s.t.} \\
 \sum_{i=1}^n C_i = C^*, C^* = \sum_{i=1}^n C_i \text{ (SPT)} \\
 E_{max} \leq E, E \in [E_{max} \text{ (MST)}, E_{max} \text{ (SPT)}]
 \end{array} \right\} \dots\dots\dots(P8)$$

This problem (P8) with $\sum C_i$ is the more important function and should be optimal. The above algorithm for (P7) also gives the required result for the problem (P8).

THE $1//Lex(V_{max}, \sum C_i, E_{max})$ PROBLEM

This problem can be defined as:

$$\left. \begin{array}{l}
 \text{Min } E_{\max} \\
 \text{s.t.} \\
 V_{\max} = V^* , V^* = V_{\max} \text{ (Lawler algorithm)} \\
 \sum C_i \leq C , C \in [\sum C_i \text{ (SPT)}, \sum C_i \text{ (Lawler algorithm)}]
 \end{array} \right\} \dots\dots\dots(P9)$$

In this problem (P9) the function V_{\max} is the more important and should be optimal, and obtained by using the following local search algorithm for this problem.

ALGORITHM FOR 1//Lex(V_{\max} , $\sum C_i$, E_{\max}) PROBLEM:

Step1. Put $\Delta = \sum P_i$, $K = n$, $R = C_{\max}$, $N = \{1, \dots, n\}$.

Step2. Calculate V_j for job j to be schedule last and find $j^* \in N$ such that

- a) $V_j \leq \Delta$, if \nexists job j^* go to step (4) .
- b) $P_{j^*} > P_i \quad \forall i \in N$ and $V_i \leq \Delta$, if $P_{j^*} = P_i$ then choose the job j^* such that $S_{j^*} > S_i$ assign job j^* in position K .
- c) Set $R = R - P_{j^*}$, if $R = 0$, then go to step (3) ; otherwise set $K = K - 1$ and repeat step (2).

Step 3. For the resulting sequence of jobs calculate $\sum C_i$, V_{\max} and E_{\max} and set

$\Delta = V_{\max} - 1$, $K = n$, $R = C_{\max}$, $N = \{1, \dots, n\}$ and go to step (2).

Step 4. Stop

THE 1//Lex(V_{\max} , E_{\max} , $\sum C_i$) PROBLEM

This problem can be defined as:

$$\left. \begin{array}{l}
 \text{Min } \sum C_i \\
 \text{s.t.} \\
 V_{\max} = V^* , V^* = V_{\max} \text{ (Lawler algorithm)} \\
 E_{\max} \leq E , E \in [E \text{ (MST)}, E \text{ (Lawler algorithm)}]
 \end{array} \right\} \dots\dots\dots(P10)$$

In this problem (P10) the function V_{\max} is the more important and should be optimal, and obtained by using the same algorithm for problem (P9) above to get near optimal solution.

THE 1//Lex(E_{\max} , $\sum C_i$, V_{\max}) PROBLEM

This problem can be defined as:

$$\left. \begin{array}{l}
 \text{Min } V_{\max} \\
 \text{s.t.} \\
 E_{\max} = E^* , E^* = E_{\max} \text{ (MST)} \\
 \sum C_i \leq C , C \in [\sum C_i \text{ (SPT)}, \sum C_i \text{ (MST)}]
 \end{array} \right\} \dots\dots\dots(P11)$$

In this problem (P11) the function E_{\max} is the more important and should be optimal, by using the following simple algorithm for this problem.

ALGORITHM FOR 1//Lex(E_{\max} , $\sum C_i$, V_{\max}) PROBLEM:

Step(0): Order the jobs by MST rule and calculate $E_{\max}(\text{MST}) = E^*$.

- Step(1):* Let $k=1$, and calculate $r_j = \max\{s_j - E^*, 0\}$ for every job $j \in N = \{1, \dots, n\}$ of unscheduled jobs, $\pi = \phi$, π be the schedule jobs.
- Step(2):* Find a job $j^* \in N$ with minimum r_j such that $r_{j^*} \leq C_{k-1}$ (if there exists a tie, choose the job j^* with smallest p_{j^*} , if a tie is still, order the job by EDD rule), $C_0=0$ when $k=1$.
- Step(3):* Set $N=N-\{j^*\}$, $\pi = (\pi, \pi(k))$. If $N = \phi$ go to step(4), else $k=k+1$, go to step(2).
- Step(4):* Calculate $E_{\max}(\pi)$, $\sum C_i(\pi)$ and $V_{\max}(\pi)$.

THE 1//Lex(E_{\max} , V_{\max} , $\sum C_i$) PROBLEM

This problem can be defined as:

$$\left. \begin{array}{l} \text{Min } \sum C_i \\ \text{s.t.} \\ E_{\max} = E^*, E^* = E_{\max}(\text{MST}) \\ V_{\max} \leq V, V \in [V_{\max}(\text{Lawler algorithm}), V_{\max}(\text{MST})] \end{array} \right\} \dots\dots\dots(\text{P12})$$

In this problem (P12) the function E_{\max} is the more important and should be optimal, and obtained by using the following algorithm (B), which gives the set of efficient solutions, hence this algorithm can be used for solving the general problem (P6) (1//F ($\sum C_i, V_{\max}, E_{\max}$)).

ALGORITHM (B) FOR 1//F ($\sum C_i, V_{\max}, E_{\max}$) PROBLEM

- Step(1):* Put $\Delta = \sum P_i$, $K=n$, $R=C_{\max}$ and $N = \{1, \dots, n\}$.
- Step(2):* Calculate V_j for job j to be schedule last and find $j^* \in N$ such that
- $V_{j^*} \leq \Delta$, if \nexists job j^* go to step (4).
 - $P_{j^*} > P_i \quad \forall i \in N$ and $V_i \leq \Delta$, if $P_{j^*} = P_i$ then choose the job j^* such that $S_{j^*} > S_i$ assign job j^* in position K .
 - Set $R=R-P_{j^*}$, if $R=0$, then go to step (3); otherwise set $K=K-1$ and repeat step (2).
- Step (3):* For the resulting sequence of jobs calculate $\sum C_i$, V_{\max} and E_{\max} and set $\Delta = V_{\max} - 1$, $K=n$, $R=C_{\max}$, $N = \{1, \dots, n\}$ and go to step (2).
- Step(4):* Set $E = E_{\max}(\text{SPT}) - 1$
- Step(5):* $N = \{1, \dots, n\}$, $h=1$ and set $r_j = \text{Max}\{S_j - E, 0\}$ for each job j .
- Step(6):* Find a job $j^* \in N$ such that
- $r_{j^*} \leq C_{k-1} = \sum_{i=1}^{k-1} P_i$, if \nexists job j^* go to step (9).
 - $P_{j^*} < P_i \quad \forall i \in N$ and $V_i \leq \Delta$, if $P_{j^*} = P_i$ then choose the job j^* such that $S_{j^*} \leq S_i$ assign job j^* in position h .
- Step(7):* Set $h = h+1$ and, $N=N-\{j^*\}$, if $N = \emptyset$ go to step (8), else go to step (6).

Step(8): For the resulting sequence π of jobs calculate $\sum C_i(\pi)$, $V_{\max}(\pi)$ and $E_{\max}(\pi)$ and set $E = E_{\max}(\pi) - 1$ if $E < 0$ go to step (9), otherwise go to step (5).

Step (9): Stop.

Note that a schedule $\pi^* \in S$, where S is the set of all schedules obtained by the above algorithm(B) is efficient for the problem 1// F ($\sum C_i, V_{\max}, E_{\max}$) if there exists no $\pi \in S$ such that $\sum C_i(\pi) \leq \sum C_i(\pi^*)$, $V_{\max}(\pi) \leq V_{\max}(\pi^*)$, $E_{\max}(\pi) \leq E_{\max}(\pi^*)$ where at least one relation holds with strict inequality.

Hence it can be found efficient (pareto optimal) solutions for 1// F ($\sum C_i, V_{\max}, E_{\max}$) problem by using algorithm (B). For the following problem(P13), it is clear that one of these efficient solutions above gives the best solution for the 1// ($\sum C_i + V_{\max} + E_{\max}$) problem .

THE 1//($\sum C_i + V_{\max} + E_{\max}$) PROBLEM:

The 1// $\sum C_i + V_{\max} + E_{\max}$ problem, which is special case of the problem 1 //F ($\sum C_i, V_{\max}, E_{\max}$).

This problem can be written as:

$$\left. \begin{array}{l} \min\{\sum C_{\sigma(i)} + V_{\max}(\sigma) + E_{\max}(\sigma)\} \\ s.t \\ C_{\sigma(i)} \geq P_{\sigma(i)} \quad i=1, \dots, n \\ C_{\sigma(i)} = C_{\sigma(i-1)} + P_{\sigma(i)} \quad i=2, \dots, n \\ E_{\sigma(i)} \geq d_{\sigma(i)} - C_{\sigma(i)} \quad i=1, \dots, n \\ E_{\sigma(i)} \geq 0 \quad i=1, \dots, n \\ V_{\sigma(i)} \leq C_{\sigma(i)} - d_{\sigma(i)} \quad i=1, \dots, n \\ V_{\sigma(i)} \geq 0 \quad i=1, \dots, n \\ V_{\sigma(i)} \leq P_{\sigma(i)} \quad i=1, \dots, n \end{array} \right\} \dots\dots\dots(P13)$$

This problem can be solved by using BAB method . This problem is solved to get near optimal solution by using algorithm (B).

LOCAL SEARCH ALGORITHM: THE BASIC NOTATION

Local search methods share the following feature:

- ❖ Initialization: The initial solution is the point from which the local search procedure is started, this could be a solution obtained from a heuristic or generated randomly, since a random solution may not satisfy the minimum of objective function[9].
- ❖ Neighborhood generation: A "move" is made through the solution space S from one neighbor to another to select a neighbor s' of s .
- ❖ Acceptance test: Each local search method has its own acceptance test to decide whether s' replace s as the current solution.
- ❖ stopping criteria : The stopping criterion is the method used to terminate the search process.

DESCENT METHOD (DM)

In a simple local search algorithm, such as a descent algorithm, an initial solution is chosen at random and then a neighboring solution is generated based on some mechanism. If the neighboring solution is better than the current solution it replaces the current solution, otherwise the current solution is retained. The process is repeated until no improving neighbor is found for the current solution[10].

Algorithm: Improvement Descent Algorithm(DM)

Step (1): Choose initial solution $s \in S$.

Step (2): Generate (s') neighborhood for (s) (by insert or swap) and set $\Delta = f(s') - f(s)$, if $\Delta < 0$ then set $s = s'$.

Step (3): If $f(s') \geq f(s)$, $\forall s' \in N(s)$, then stop; else return to step (2).

SIMULATED ANNEALING(SA)

It is a basic simulated annealing algorithm which starts with generating an initial solution (s). Then a neighbor (s') and the difference $\Delta = F(s') - F(s)$ in the objective function values of both schedules is calculated. If $\Delta < 0$, the neighbor (s') is accepted as the new starting solution in the next iteration since it has a better function value. If the objective function value does not decrease (i.e. $\Delta \geq 0$), the generated neighbor may also be accepted with a probability $\exp(-\Delta/T)$, where T is a control parameter called temperature. This temperature is periodically reduced by a cooling scheme in every iteration. As a stopping criterion, one may use e.g. a given number of iteration, a time limit or a given number of iterations without an improvement of the best objective function value. In the first two cases, one must adjust the cooling scheme in such a way that the algorithm stops with a sufficiently small temperature [11].

Algorithm for Simulated Annealing(SA)

Step (1): Select an initial solution $s \in S$, $s^* = s$; select an initial temperature $t_0 > 0$; $k = 0$, $G = 1$;

Step (2): Define B ; choose $s' \in N^*(s)$; $\Delta = f(s') - f(s)$;

$p(\Delta, t_k) = \exp(-\Delta / t_k)$;

If $\Delta \leq 0$, then $s = s'$, and if $f(s) < f(s^*)$, then $s^* = s$; else ($\Delta > 0$) ;

If a random number of $[0, 1] \leq p(\Delta, t_k)$, then $s = s'$; $G = G + 1$,

Step (3): If $G \leq B$ return to step (2),

Step (4): Update temperature ; $k = k + 1$; return to step (2) until some stopping criteria are met.

*COMPUTATIONAL EXPERIENCE WITH LOCAL SEARCH
ALGORITHMS
TEST PROBLEMS*

The local search algorithms (Descent Method (DM), Simulated Annealing (SA)) and algorithm (B) were tested on the problem (P13) with three criteria for generating best solution. These algorithms (Descent Method (DM), Simulated Annealing (SA)) programmed in Matlab and algorithm (B) programmed in Delphi 7. These algorithms were tested on problem (P13) with (75, ..., 30000) jobs, that were generated as follows:

An integer processing time P_i is generated from the uniform distribution [1,10].

An integer due date d_i are uniformly distributed in the interval $[P(1 - TF - \frac{RDD}{2}), P(1 + TF + \frac{RDD}{2})]$, where $P = \sum_{j=1}^n P_j$, depending on the relative range of due date (RDD) and on the average tardiness (TF). For both parameters, the values 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1 are considered.

For each selected value of n , one problem was generated for each of five values of parameters producing five problems for each value of n .

COMPUTATIONAL RESULTS

The results for the local search algorithms (Descent Method (DM), Simulated Annealing (SA) and algorithm (B)), given in table (1) which shows the values of each algorithm and how many times each of them catches the best value for each value of n .

Table-1: the performance of local search methods for the 1//F ($\sum C_i + V_{max} + E_{max}$) problem

n	EX	Value			Time		
		DS	SA	B	DS	SA	B
	1	10832	10829	10829	4.809797	5.311410	0
	2	9101	9099	9098	4.968691	5.199397	1
75	3	12051	12051	12051	4.934817	5.219786	0
	4	11639	11636	11636	5.042442	5.243259	1
	5	12582	12581	12581	4.756939	5.078539	1
	No.best	1	4	5	0	0	5
	1	19813	19811	19810	6.053833	6.419929	0
	2	16740	16739	16736	6.64117	6.245332	0
100	3	18861	18862	18858	5.804534	6.164433	0
	4	22051	22049	22048	5.931588	6.214814	0
	5	21509	21507	21507	5.928432	6.369499	0
	No.best	0	1	5	0	0	5
	1	481989	481979	481969	26.674467	27.369	2
	2	476210	476206	476193	26.587435	27.285	3
500	3	477558	477557	477541	26.689797	27.200	3
	4	489171	489167	489152	26.701002	27.275	1
	5	511343	511341	511327	26.644538	27.713	3
	No.best	0	0	5	0	0	5
	1	1966151	1966149	1966130	62.259579	64.327201	4
	2	1964672	1964662	1964653	64.183241	67.529361	5
1000	3	1971087	1971085	1971064	67.357782	63.904138	2
	4	1972379	1972386	1972364	64.828203	64.458963	2
	5	1884761	1884749	1884735	64.201596	63.645561	3
	No.best	0	0	5	0	0	5
	1	6377639	6377637	6377619	112.266099	111.624026	3
	2	4353763	4353763	4353747	110.937942	108.623303	3
1500	3	4306199	4306198	4306180	110.788249	110.924549	4
	4	4352518	4352524	4352498	112.388734	114.838334	4
	5	4366800	4366801	4366782	110.543451	110.380050	11
	No.best	0	0	5	0	0	5
	1	13559687	13559688	13559672	170.506522	170.208935	3
	2	7631329	7631328	7631312	169.786639	167.490281	4
2000	3	14010783	14010774	14010758	170.608237	169.035168	4
	4	13634310	13634310	13634291	172.030575	169.434018	3
	5	13913086	13913085	13913065	178.993529	183.683997	6
	No.best	0	0	5	0	0	5
	1	47574043	47574043	47574020	761.526015	772.056160	6
	2	48354886	48354886	48354861	758.922727	763.296871	7
5000	3	48031962	48031959	48031940	767.043335	776.985400	6
	4	47903778	47903778	47903757	762.418304	772.751131	6
	5	48562047	48562047	48562025	762.015818	782.002599	7
	No.best	0	0	5	0	0	5
	1	192727096	192727096	192727067	3256.716329	4242.34912	11
	2	*	*	188719056	*	*	13
10000	3	*	*	181987066	*	*	13

	4	*	*	191639743	*	*	11
	5	*	*	190997701	*	*	12
No.best		0	0	5	0	0	5
	1	*	*	768395648	*	*	40
	2	*	*	769845352	*	*	41
20000	3	*	*	771248178	*	*	33
	4	*	*	769797940	*	*	46
	5	*	*	777576735	*	*	37
No.best		0	0	5	0	0	5
	1	*	*	1734590404	*	*	54
	2	*	*	1726865957	*	*	84
30000	3	*	*	1735611763	*	*	89
	4	*	*	1737293934	*	*	70
	5	*	*	1737035692	*	*	64
No.best		0	0	5	0	0	5
Total no. best		1	5	50	0	0	50

Where

n=Number of jobs.

Ex= example number.

DM=the value found by descent algorithm.

SA= the value found by simulation annealing.

B= the value found by algorithm(B).

No=number of example that catch the best value.

Time= in second .

* = in the table (1) means that algorithms (DM) and (SA) need a lot of time for solving the problem (P12).

The result of table (1) shows that the algorithm (B) performs very well and then come (SA) which gives reasonable results for only small n . It is clear that the time values for both DM and SA algorithm are quite similar and also algorithm (B) is better in case of time.

CONCLUSIONS AND FUTURE WORK

In this paper , the problems of scheduling jobs on one machine and for the first time late work object in multicriteria scheduling problem is used .

The present study have developed and proposed a number of solution algorithms for the bi-criteria scheduling problems . The study proved some special results for some special case of these bi-criteria problems.

For the simultaneous multicriteria scheduling problem $1/F(\sum C_i, V_{max}, E_{max})$ and its special case , the study proposed some local search algorithms to find set of efficient solutions. As a result of the present

experiments , we hope that this efficient algorithms performs quite well for other multicriteria scheduling .

For further research , the experimentation with the following multicriteria scheduling problems are recommended :

$$(1) 1/F (\sum C_i, \sum T_i, \sum V_i) \quad (2) 1/r_i /F (\sum C_i, V_{\max}, E_{\max}) \quad (3) 1/r_i /F (\sum C_i, \sum V_i, T_{\max}).$$

REFERENCES

1. Potts C N , Van Wasenhove L N, "Single Machine Scheduling to Minimize Total Late Work", Operations Research(1991) 40-3,586-595.
2. Lawler E L, Moore J M,"A function equation and its application to resource allocation and sequencing problem", Management Science(1969),16 ,77-84.
3. Hoogeveen J A , " Minimizing maximum earliness and maximum lateness on a single machine ",Center for Mathematics and Computer science, P.O.Box 4079 , 1009 AB Amsterdam, The Netherland,(1991).
4. Al-Assaf S S, "Solving multiple objectives scheduling problems", M.Sc. thesis, Univ. of Al-Mustansiriyah, College of Science, Dept. of Mathematics(2007).
5. Reddy B S P, Rao C S P," A hybrid multi-objective GA for simultaneous scheduling of machines and AGVs in FMS", International journal Adv Manuf Technol(2006) ,31, 602–613.
6. Hoogeveen J A , " Invited Review Multicriteria scheduling ", European Journal of Operational Research(2005), 167 ,592–623.
7. Hoogeveen,J.A., "Single machine scheduling to minimize a function of two or three maximum cost criteria". Journal of Algorithms (1996)21, 415– 433.
8. Hoogeveen, J.A., "Single-machine bi-criteria scheduling", PhD Dissertation, Center for mathematics and Computer science, Amsterdam. The Netherlands, (1992).
9. Gupta, J N D , Hennig K, Werner F, "Local search heuristics for two-stage flow shop problems with secondary criterion ", Ball stat university, Muncie, IN43,306, USA. Pergamon computer and operation research,(2002) 29, 123-149.

10. Melouk, S, Damodaran, P, Changc, P, " Minimizing makespan for single machine batch processing with non-identical job sizes using simulated annealing", International journal of Production Economics(2004) 87, 141–147.
11. Andresen, M., Bräsel, H., Plauschin, M., Werner, F., "Using Simulated Annealing for Open Shop Scheduling with Sum Criteria", (open access book) (2008). ,49 – 76.

Preliminary Test Shrinkage Techniques in the Weibull Lifetime Model using Prior Information

A. Ameer A. Ali¹ and Z.A. Al-Hemyari²

¹Accounting Institute of Post Graduate Studies, University of Baghdad,

²Expert of research and studies, Ministry of Higher Education, Oman,

Received 23/9/2012 – Accepted 26/3/2013

الخلاصة

في هذا البحث سنقترح مقدرين الأول لمعلمة القياس والثاني لدالة المعولية لتوزيع Weibull ذو المعلمتين عند توفر بعض المعلومات المسبقة على شكل قيم أولية حول معلمة القياس من التجارب المسبقة وباستخدام عينات المراقبة (censored data). في هذا البحث سيشتمل مجال الاختبار الأولي بالاعتماد على المعلومات المسبقة وقاعدة الاختبار لفرضية تساوي أو عدم تساوي المعلومات المسبقة مع القيمة الحقيقية لمعلمة القياس وسيتم اشتقاق معادلات التحيز النسبي ومتوسط مربعات الخطأ والكفاءة النسبية وستحسب عددياً وبمساعدة البرامج الجاهزة. كذلك ستم المقارنة مع التقديرات الكلاسيكية و المشابهة.

ABSTRACT

This paper suggests preliminary test shrinkage estimation techniques for the scale parameter (β) and reliability function ($R(t)$) in right censored data from the two-parameter Weibull model. Two preliminary test shrinkage estimators are considered when a prior estimate of the scale parameter is available from the past experiences. The expressions of the bias, mean squared error and relative efficiency are derived and studied. Numerical computations for the bias and relative efficiency are given to judge the merits of the suggested preliminary test shrinkage estimators over the classical and similar estimators.

INTRODUCTION

The Weibull model [1-3] is often used in the field of life data analysis due to its flexibility. In addition, the wide application and occurrence of the Weibull distribution in survival analysis, in reliability engineering and in failure analysis are a wonder. Specific applications of the Weibull distribution are to represent manufacturing and delivery times in industrial engineering, in weather forecasting, in radar systems to model the dispersion of the received signals level produced by some types of clutters, in model fading channels in wireless communications, as the Weibull fading model seems to exhibit good fit to experimental fading channel measurements, etc.

Its use has been extended to many other engineering applications requiring load bearing capability and it is widely used in the field of reliability, and as a model of the life time of some objects, particularly when the weak link model is appropriate for the object [1-11].

The Maximum Likelihood Estimation (MLE) of the two-parameter Weibull cumulative distribution function is defined by,

$$F(t|\eta, \beta) = 1 - \exp[-(t^\eta/\beta^\eta)], \quad t > 0, \quad \eta > 0, \quad \beta > 0, \quad (1)$$

where β being the characteristic life, acts as a scale parameter and η is the shape parameter.

Also, the reliability for a given time is defined as the probability that the system has a length of life greater than t of a given system and given by,

$$R(t) = 1 - F(t | \eta, \beta) = \exp[-(t^\eta / \beta^\eta)], t > 0, \quad (2)$$

where $F(t | \eta, \beta)$ is defined by (1). Several authors [1-3, 9, 11, 12] have studied the problem of the classical estimation of the parameters η or β and $R(t)$ of the Weibull distribution.

Let $T_{(1)} \leq T_{(2)} \leq \dots \leq T_{(r)}$ be the smallest life times $r(\leq n)$ of a random sample of size n taken from the Weibull failure model. The above kind of censored data arises naturally when a certain number of components n are put on a life test and the test is terminated with the failure of a fixed number r of components. Now consider the case where the parameter η is known. The ML estimator (see above references) of β is given by,

$$\hat{\beta}^\eta = (T/r), \quad T = \sum_{i=1}^r T_{(i)}^\eta + (n-r)T_{(r)}^\eta, \quad (3)$$

where $r\hat{\beta}^\eta / \beta^\eta$ is distributed as a gamma random variable with the parameter r .

INCORPORATING A GUESS VALUE, AND PTS

The estimation of the scale parameter and reliability function has attracted worldwide attention during the past several decades. The estimation procedure usually begins with parameter estimation based on test data. When there is no prior information in tests, traditional approaches like Maximum Likelihood Estimation (MLE) can be applied to estimate parameters.

In many problems, the experimenter has some prior information regarding the value of θ due to past experiences. However, in certain situations the prior information is available only in the form of an initial guess value (natural origin) θ_0 of θ . In such a situation it is natural to start with an estimator $\hat{\theta}$ (e.g. MLE) of θ and modify it by moving it closer to θ_0 , so that the resulting estimator, though perhaps biased, has smaller mean squared error than that of $\hat{\theta}$ in some interval around θ_0 . This method of constructing an estimator of θ that incorporates the prior information θ_0 leads to what is known as a shrunken estimator. Thompson [13] suggested the problem of shrinking an unbiased estimator $\hat{\theta}$ of the parameter θ toward prior information (a natural origin) θ_0 by single stage shrunken estimator $k\hat{\theta} + (1-k)\theta_0$, $0 \leq k \leq 1$, which is more efficient than $\hat{\theta}$ if θ_0 is close to θ and less efficiency

than $\hat{\theta}$ otherwise. According to [13-20] θ_0 is a 'natural origin' and as such may arise for any one of a number of reasons, e.g., we are estimating θ and:

- (i) the prior value (θ_0) of θ in many practical problems exists.
- (ii) we believe θ_0 is close to the true value of θ , or
- (iii) we fear that θ_0 may be near the true value of θ , i.e., something bad happens if $\theta_0 = \theta$ and we do not know about it.

A standard problem in reliability deals with the estimation of the parameter β and $R(t)$ of Weibull distribution on the basis of minimum time and maximum efficiency. This can be achieved by using any prior information available about β and devising a preliminary test shrunken (PTS) procedure. It may be noted here that Parkash [19] suggested four shrinkage estimators for the scale parameter; whereas several authors have developed some PTS estimators for the shape parameter of the Weibull distribution [20-25].

It may be mentioned here, that several authors have developed some PT estimators of the parameter θ of the exponential distribution for complete and censored data [16, 17]. Also, some other authors have developed some PTS estimators of the reliability function of the exponential distribution [26-29].

Finally, Al-Hemyari and Al-Ali [30] proposed PTS estimators for β and $R(t)$ of Weibull distribution given respectively by,

$$\tilde{\beta} = \begin{cases} k\hat{\beta}^n, & \text{if } \hat{\beta}^n \in R, \\ \beta_0^n, & \text{if } \hat{\beta}^n \notin R, \end{cases} \quad (4)$$

and

$$\tilde{R}(t) = \begin{cases} \exp[-t/k\hat{\beta}^n], & \text{if } \hat{\beta}^n \in R, \\ \exp[-t/\beta_0^n], & \text{if } \hat{\beta}^n \notin R, \end{cases} \quad (5)$$

where k represents a constant shrinkage factor such that $0 < k < 1$.

The main objective of this article is to obtain an efficient and simple form of PTS estimator to the scale parameter and reliability function of Weibull distribution. To be specific two appropriate choices of weighting functions are used and the expressions for the bias, mean squared error, and relative efficiency are derived and studied numerically. The numerical results of relative efficiency and bias ratio and conclusions of the proposed estimators of β and $R(t)$ and the

comparisons between the proposed, classical and similar estimators are made.

FORMULATION OF THE PROPOSED PTS ESTIMATOR OF β

Introduction

In this section, we will discuss here a modified preliminary test shrinkage (PTS) estimators for the scale parameter β of the Weibull model, when a prior guess value β_0 of the scale parameter is available from the past with the known shape parameter η . The uses of shrinkage estimators in this context have been discussed in [13-17, 19, 21, 30]. They perform better than the classical estimator if the prior value is close to the true value.

It is worth to mention that the PTS estimators have the disadvantage that they necessarily use the prior value in the construction of final estimators. However, it is not necessary that the prior value be close to the true value. To employ this idea in the estimation of the scale parameter β of the Weibull distribution, a preliminary test is first conducted to check the closeness of β_0 to β before using it in a shrinkage estimator. If the preliminary test is accepted, use $\phi(\hat{\beta}^\eta)(\hat{\beta}^\eta - \beta_0) + \beta_0$ as an estimator of β ; otherwise $\hat{\beta}^\eta$ itself is taken as an estimator of β . Thus, the proposed estimator is taken as one of two alternatives, depending on this test.

The PT estimator $\tilde{\beta}_1$

The proposed PTS estimator for β takes the following form,

$$\tilde{\beta}_1 = \left\{ \left[\left(\frac{\hat{\beta}^\eta - \beta_0^\eta}{\beta_0^\eta} \right)^2 (\hat{\beta}^\eta - \beta_0^\eta) \right] I_R + [\hat{\beta}^\eta] I_{\bar{R}} \right\}, \quad (6)$$

where the shrinkage weight function $\phi(\hat{\beta}^\eta)$ is a random variable and given by,

$$\phi(\hat{\beta}^\eta) = \left[\frac{(\hat{\beta}^\eta - \beta_0^\eta)^2}{(\beta_0^\eta)^2} \right], \quad (7)$$

and R is the commonly used acceptance region of the hypothesis $H_0 : \beta^\eta = \beta_0^\eta$ against the alternative $H_1 : \beta^\eta \neq \beta_0^\eta$. If α is the level of significance of the test, then the preliminary test region R is given by,

$$R = \{ \hat{\beta}^\eta : T(\hat{\beta}^\eta) \in [L_{1-\alpha/2}, U_{\alpha/2}] \}, \quad (8)$$

where $L_{1-\alpha/2}$ and $U_{\alpha/2}$ are the lower and upper $100(\alpha/2)$ percentile points of the statistic $T(\hat{\beta}^\eta)$ used for testing the above hypothesis, I_R and $I_{\bar{R}}$

are respectively the indicator functions of the acceptance region R and the rejection region \bar{R} .

It may be remarked here that our estimation framework differs from the existing estimators given in [26-29] in the sense of different type of shrinkage estimators in both stages (6), different and estimated type of shrinkage factor (7).

If the chi-square statistic $T(\hat{\beta}^n) = 2r\hat{\beta}^n / \beta^n$ is used, the region R is given by,

$$R = [(\beta_0^n / 2r_1)\chi_{1-\alpha/2, 2r}^2, (\beta_0^n / 2r_1)\chi_{\alpha/2, 2r}^2], \tag{9}$$

where $\chi_{1-\alpha/2, 2r}^2$ and $\chi_{\alpha/2, 2r}^2$ are the lower and upper $100(\alpha/2)$ percentile points of the chi-square distribution with $2r$ degrees of freedom.

The bias ratio of $\tilde{\beta}_1$ is defined by,

$$\begin{aligned} B(\tilde{\beta}_1 | \beta; R) &= [E(\tilde{\beta}_1) - \beta^n] / \beta^n \\ &= \left[\int_R \left[\left(\frac{\hat{\beta}^n - \beta_0^n}{\beta_0^n} \right)^2 (\hat{\beta}^n - \beta_0^n) + \beta_0^n - \beta^n \right] f(\hat{\beta}^n) d\hat{\beta}^n + \int_{\bar{R}} (\hat{\beta}^n) f(\hat{\beta}^n) d\hat{\beta}^n - \beta^n \right] / \beta^n, \end{aligned} \tag{10}$$

Simple calculations lead to

$$B(\tilde{\beta}_1 | \beta; R) = (1/(\beta_0^n)^3)U_3(\beta | a^*, b^*) - (1/\beta_0^n)U_1(\beta | a^*, b^*) + U_0(\beta | a^*, b^*) - 1. \tag{11}$$

The mean squared error of $\tilde{\beta}_1$ is defined as,

$$\begin{aligned} MSE(\tilde{\beta}_1 | \beta; R) &= E(\tilde{\beta}_1 - \beta)^2 \\ &= \int_R \left[\left(\frac{\hat{\beta}^n - \beta_0^n}{\beta_0^n} \right)^2 (\hat{\beta}^n - \beta_0^n) + \beta_0^n - \beta^n \right]^2 f(\hat{\beta}^n) d\hat{\beta}^n + \int_0^{\infty} (\hat{\beta}^n - \beta^n)^2 f(\hat{\beta}^n) d\hat{\beta}^n \\ &\quad - \int_R (\hat{\beta}^n - \beta^n)^2 f(\hat{\beta}^n) d\hat{\beta}^n. \end{aligned} \tag{12}$$

Some calculations lead to,

$$\begin{aligned} MSE(\tilde{\beta}_1 | \beta; R) &= (1/(\beta_0^n)^4)U_6(\beta | a^*, b^*) - 2(1/(\beta_0^n)^2)(\beta_0^n - \beta^n)U_3(\beta | a^*, b^*) - \bar{U}_2(\beta | a^*, b^*) \\ &\quad + (\beta_0^n - \beta^n)^2 U_0(\beta | a^*, b^*) + (\beta^n)^2 / r. \end{aligned} \tag{13}$$

Since under H_0 , $T(\hat{\beta}^n)$ has a chi-square distribution with $2r$ degrees of freedom,

$$R = [a, b], a < b, R^* = [a^*, b^*], a^* < b^*, a^* = 2ra\lambda, b^* = 2rb\lambda, \lambda = \beta_0^n / \beta^n,$$

$$U_i(\hat{\beta}^n | a, b) = \int_a^b (\hat{\beta}^n - \beta_0^n)^i \frac{(\hat{\beta}^n)^{(r-1)}}{\Gamma(n+i-1)} \left(\frac{r}{\beta^n}\right)^r \exp\left[-r\left(\frac{\hat{\beta}^n}{\beta^n}\right)\right] d\hat{\beta}^n, i = 0, 1, 2, \dots, l,$$

$$= (\beta_0^n)^i \sum_{i=1}^l (-1)^i C_i^l (r\lambda)^{l-i} \frac{\Gamma(l+r-i)}{\Gamma(r)} G(2r+2l-2i; 2ra\lambda, 2rb\lambda), \quad (14)$$

$$\bar{U}_i(\hat{\beta}^n | a, b) = \int_a^b (\hat{\beta}^n - \beta^n)^i \frac{(\hat{\beta}^n)^{(r-1)}}{\Gamma(n+i-1)} \left(\frac{r}{\beta^n}\right)^r \exp\left[-r\left(\frac{\hat{\beta}^n}{\beta^n}\right)\right] d\hat{\beta}^n, i = 0, 1, 2, \dots, l,$$

$$= (\beta^n)^i \sum_{i=1}^l (-1)^i C_i^l r^{l-i} \frac{\Gamma(l+r-i)}{\Gamma(r)} G(2r+2l-2i; 2ra\lambda, 2rb\lambda), \quad (15)$$

where

$$G(\beta | d, a, b) = G_d(b^*) - G_d(a^*), \quad (16)$$

and $G_d(\cdot)$ is the distribution function of a chi-square random variable with d degrees of freedom. The relative efficiency of $\tilde{\beta}_1$ is defined by,

$$RE(\tilde{\beta}_1 | \beta, R) = MSE(\hat{\beta} | \beta) / MSE(\tilde{\beta}_1 | \beta; R), \quad (17)$$

Remark 1: The expected value of the shrinkage estimator $\phi(\hat{\beta}^n)$ is given by,

$$E[\phi(\hat{\beta}^n)] = E[(\hat{\beta}^n - \beta_0^n)^2 / (\beta_0^n)^2] = (1/r) \leq 1, \text{ when } \beta_0^n = \beta^n.$$

FORMULATION OF THE PROPOSED PTS ESTIMATOR OF $R(t)$

Introduction

As noted earlier, the Weibull distribution is a commonly used model in reliability engineering and has a wide range of applications in analyzing the reliability of engineering data. The reliability (survival) function of the two-parameter Weibull distribution is defined in (2) and the MLE of $R(t)$ [9, 11, 12] is given by,

$$\hat{R}(t) = \exp(-(t^n / \hat{\beta}^n)), \quad (18)$$

where $\hat{\beta}^n$ is given in (3). In this section we continue the study of the preliminary test estimator for the Weibull distribution. Proceeding in the same manner and with the same estimation procedure as in the last section, we shall develop a modified preliminary test estimator for $R(t)$ of the Weibull distribution when a prior guess value of the scale parameter is available from the past, and when the censored observations are available using the same preliminary test procedure. It may be noted here that the final proposed PTS estimator of $R(t)$ will also take one of two alternatives depending on the preliminary test of hypothesis. The explicit expressions are obtained for the bias ratio and MSE of the proposed testimators.

The PTS estimator of $\tilde{R}_1(t)$

Following and using the proposed estimator $\tilde{\beta}_1$ given in (4), the proposed estimator of $R(t)$ denoted by $\tilde{R}_1(t)$, is then given by,

$$\tilde{R}_1(t) = \exp(-t^n|\tilde{\beta}_1) = [\exp-(t^n|[(\frac{\hat{\beta}^n - \beta_0^n}{(\beta_0^n)^2})(\hat{\beta}^n - \beta_0^n)] + \beta_0^n)]_{I_R} + [\exp(-t^n|\hat{\beta}^n)]_{I_{\bar{R}}}. \quad (19)$$

To avoid the complicated derivations of the PTS estimator with shrinkage function $\phi(\hat{\beta}^n)$, we will consider the expected value of the shrinkage estimator as given by remark 1.

The modified PT estimator of $R(t)$ is given by,

$$\tilde{R}_1(t) = [\exp-(t^n|[(E(\frac{\hat{\beta}^n - \beta_0^n}{(\beta_0^n)^2}))(\hat{\beta}^n - \beta_0^n)] - \beta_0^n)]_{I_R} + [\exp(-t^n|\hat{\beta}^n)]_{I_{\bar{R}}}. \quad (20)$$

The region R is defined in (9). Let $R = [a, b]$, the bias of $\tilde{R}_1(t)$ then is defined by,

$$B(\tilde{R}_1(t)|R(t);R) = E(\tilde{R}_1(t)) - R(t) = \int_R \exp\left\{-t^n / [(E(\frac{\hat{\beta}^n - \beta_0^n}{(\beta_0^n)^2}))(\hat{\beta}^n - \beta_0^n)] - \beta_0^n\right\} f(\hat{\beta}^n) d\hat{\beta}^n - \int_R \exp\left\{-t^n / \hat{\beta}^n\right\} f(\hat{\beta}^n) d\hat{\beta}^n + \int_0^{\infty} \exp\left\{-t^n / \hat{\beta}^n\right\} f(\hat{\beta}^n) d\hat{\beta}^n - \exp\left\{-t^n / \beta_0^n\right\} \quad (21)$$

Although $\tilde{R}_1(t)$ is easy to compute, like any shrinkage estimator, the PTS estimator $\tilde{R}_1(t)$ is biased. However, the derivation of $B(\tilde{R}_1(t)|R(t);R)$ and $MSE(\tilde{R}_1(t)|R(t);R)$ is difficult, and uses a complicated special function. After lengthily transformation and some algebraic calculations (are not reported here for space consideration), we get,

$$B(\tilde{R}_1(t) | R(t); R) = (2/\Gamma(r)) \left[\left(\frac{rDt^\eta}{\beta^\eta} \right)^{r/2} K_r(2\sqrt{rDt^\eta/\beta^\eta}) - \left(\frac{2rt^\eta}{\beta^\eta} \right)^{r/2} \bar{K}_r(2\sqrt{rt^\eta/\beta^\eta}) \right. \\ \left. + \left(\frac{rDt^\eta}{\beta^\eta} \right)^{r/2} \bar{K}_r(2\sqrt{rDt^\eta/\beta^\eta}) \bar{K}_r \right] - \exp\{-t^\eta/\beta^\eta\} \quad (22)$$

where $D = 1/[1 - 2n(n-1)/(\chi_{1-\alpha/2, 2r}^2 + \chi_{\alpha/2, 2r}^2)]$, K_r is the modified Bessel function of the second kind of order r . Also $K_r(\cdot) = K_{-r}(\cdot)$ for $r = 0, 1, 2, \dots$, [12, 32] and

$$\int_0^\infty y^{-l} e^{-(cy+d/y)} dy = 2(c/d)^{(l-1)/2} K_{l-1}(2\sqrt{cd}), l = 0, 1, 2, \dots, \quad (23)$$

where c and d are constants. Now we evaluate the integral

$$\int_0^\infty \exp\{-t^\eta/\beta_0^\eta\} f(\hat{\beta}^\eta | \beta) d\hat{\beta}^\eta, \quad (24)$$

by using the above result in (23), substituting $-l = r-1$, $c=1$ and $d = rt^\eta/\beta^\eta$, and we obtain,

$$\int_0^\infty (\hat{\beta}^\eta)^{r-1} \left(\frac{r}{\beta^\eta} \right)^r \exp\left\{-\left(\frac{r\hat{\beta}^\eta}{\beta^\eta} + \frac{t^\eta}{\hat{\beta}^\eta}\right)\right\} d\hat{\beta}^\eta \\ = \int_0^\infty y^{r-1} e^{-(y+(rt^\eta/\beta^\eta)/y)} dy = 2(rt^\eta/\beta^\eta)^{(r-1)/2} K_r(2\sqrt{rt^\eta/\beta^\eta}), \quad (25)$$

$y = r\hat{\beta}^\eta/\beta^\eta$. $\bar{K}_r(2\sqrt{\cdot})$ is an incomplete modified Bessel's function of the second kind of order r , where the integration is over the interval $R^* = [a^*, b^*]$, $a^* = \lambda\chi_{1-\alpha/2, 2r}^2$, and $b^* = \lambda\chi_{\alpha/2, 2r}^2$. The expression of the mean squared error of $\tilde{R}_1(t)$ is given by,

$$MSE(\tilde{R}_1(t) | R(t); R) = E(\tilde{R}_1(t) - R(t))^2 = \int_R [\exp\{-t^\eta/((E(\frac{(\hat{\beta}^\eta - \beta_0^\eta)^2}{(\beta_0^\eta)^2}))(\hat{\beta}^\eta - \beta_0^\eta)) + \beta_0^\eta)\} - \exp\{-t^\eta/\beta^\eta\}]^2 \times \\ \times f(\hat{\beta}^\eta) d\hat{\beta}^\eta + \int_R [\exp\{-t^\eta/\hat{\beta}^\eta\}] f(\hat{\beta}^\eta) d\hat{\beta}^\eta - \exp\{-t^\eta/\beta^\eta\}]^2 f(\hat{\beta}^\eta) d\hat{\beta}^\eta. \quad (26)$$

Proceeding in the manner of the expression of the bias (22), we get,

$$\begin{aligned}
 MSE(\tilde{R}_1(t) | R(t); R) &= (2/\Gamma(r)) \left[\left(\frac{2rDt^n}{\beta^n} \right)^{r/2} \bar{K}_r(2\sqrt{2rDt^n/\beta^n}) - (4/\Gamma(r)) \left[\left(\frac{Dt^n}{\beta^n} \right)^{r/2} \bar{K}_r(2\sqrt{rDt^n/\beta^n}) \left(\frac{2rt^n}{\beta^n} \right)^{r/2} \right. \right. \\
 &+ \exp\{-t^n/\beta^n\} G_{2r}(\beta | a^*, b^*) \left. \left. + (2/\Gamma(r)) \left(\frac{2rt^n}{\beta^n} \right)^{r/2} [K_r(2\sqrt{2rt^n/\beta^n}) - \bar{K}_r(2\sqrt{2rt^n/\beta^n})] \right] \right. \\
 &+ (2/\Gamma(r)) \exp\{-t^n/\beta^n\} \left(\frac{rDt^n}{\beta^n} \right)^{r/2} [K_r(2\sqrt{rDt^n/\beta^n}) \bar{K}_r - \bar{K}_r(2\sqrt{rDt^n/\beta^n}) \bar{K}_r] + [\exp\{-t^n/\beta^n\}]^2 \times \\
 &\times G_{2r}(\beta | a^*, b^*) \tag{27}
 \end{aligned}$$

The efficiency of $\tilde{R}_1(t)$ relative to MLE $\hat{R}(t)$ is given by,

$$RE(\tilde{R}_1(t) | R(t)) = MSE(\hat{R}(t) | R(t)) / MSE(\tilde{R}_1(t) | R(t); R), \tag{28}$$

where

$$\begin{aligned}
 MSE(\hat{R}(t) | R(t)) &= E(\hat{R}(t) - R(t))^2 = (2/\Gamma(r)) \left(\frac{2rt^n}{\beta^n} \right)^{r/2} K_r \left(2\sqrt{\frac{2rt^n}{\beta^n}} \right) - (4/\Gamma(r)) \times \\
 &\times \exp\{-t^n/\beta^n\} \left(\frac{rt^n}{\beta^n} \right)^{r/2} K_r \left(2\sqrt{\frac{rt^n}{\beta^n}} \right) + [\exp\{-t^n/\beta^n\}]^2. \tag{29}
 \end{aligned}$$

SIMULATION AND NUMERICAL RESULTS

An exact analytical study of the performance of the modified PTS estimators of the two-parameter Weibull model is not possible because of the expressions of the bias ratio and relative efficiency for the proposed estimators appear to be very complicated. Therefore, we are left with no better choice than an empirical study. To study the behavior of the proposed estimators empirically and to give a useful comparison between the proposed, classical and existing estimators, we perform some computer calculations for the bias ratio and the relative efficiency. The following numerical results and conclusions are based on these computations:

The estimator $\tilde{\beta}_1$

For the estimator $\tilde{\beta}_1$ the computations were done for $r = 6(2)12$, $\alpha = 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.15$, and $\lambda = 0.1(0.1)3$. Some of these computations are given in tables 1 to 3. We make the following observations from the tables of computations presented in this paper.

1. As expected, the shrunken estimators give higher relative efficiency in the neighborhood of $\lambda \cong 1$. The modified estimator $\tilde{\beta}_1$ gives the highest relative efficiency when $\lambda \cong 1$ and decrease as $|\lambda - 1|$ increases (see Tables 1 and 2).

2. The relative efficiency of $\tilde{\beta}_1$ is a concave function of λ , i.e., the proposed estimator has a maximum efficiency in the neighborhood of

$\lambda \cong 1$ and the relative efficiency of the proposed estimator is greater than the classical estimator for the range $0.3 \leq \lambda \leq 1.6$.

3. The relative efficiency is a decreasing function of α for estimator $\tilde{\beta}_1$; where the relative efficiency is also a decreasing function of r i.e., $\alpha = 0.01$, and $r = 6$ yields the highest efficiency.

4. The estimator $\tilde{\beta}_1$ is biased. From table 3 we observe that the bias ratio is reasonably small when $\lambda \cong 1$.

The estimator $\tilde{R}_1(t)$

For the estimator $\tilde{R}_1(t)$, the computations of the relative efficiency and the bias ratio were done for $\lambda = 0.1(0.1)1.7, 2, 3$, $\alpha = 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.15$, $\phi = (t^n / \beta^n) = (1/6)(1/6)(36/6)$ and $r = 6(2)12$. Some of these computations are given in tables 4 to 6. We make the following observations from the tables of computations presented in this paper.

1. The efficiency of $\tilde{R}_1(t)$ is a concave function of λ with the a maximum at $\lambda \cong 1$.
2. The relative efficiency of $\tilde{R}_1(t)$ is an increasing function of ϕ with the maximum of $\phi = (36/6)$.
3. From Tables 4 and 5 we note that the relative efficiency of $\tilde{R}_1(t)$ is a decreasing function of α ; where the relative efficiency is also a decreasing function of r i.e., $\alpha = 0.01$, $\phi = (36/6)$, and $r = 4$ yields the highest efficiency.
4. The estimator $\tilde{R}_1(t)$ is biased. From Table 6 we observe that the bias ratio is reasonably small when β^n is sufficiently close to β_0^n .

Comparisons and Conclusions

From tables 1-6, we observe the following comparisons between the proposed PTS estimators, classical and similar estimators.

1. The estimator $\tilde{\beta}_1$

The proposed estimator $\tilde{\beta}_1$ has a smaller mean squared error in the neighborhood of $\lambda_2 \cong 1$ than the classical estimator $\hat{\beta}^n$. Comparing results of tables 1-3 with the existing results [19, 21, 30] we see that our modified estimator behaves better and compare favorably when $\lambda < 0.6$ and $1.3 < \lambda$.

2. The estimator $\tilde{R}_1(t)$

The modified estimator $\tilde{R}_1(t)$ has a smaller mean squared error in the neighborhood of $\lambda_2 \cong 1$ than the classical estimator $\hat{R}(t)$ for $0.1 \leq \lambda \leq 3$, and also behaves better than the existing results ([28, 30]).

Table-1: Showing $RE(\tilde{\beta}_1 | \beta; R)$ when $r = 6(2)12, \lambda = 0.1(0.1)1.7, 2, 3$, and $\alpha = 0.01$.

λ n	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	1.1	1.2	1.5	2	3
6	1.323	1.787	1.940	2.178	2.537	2.925	3.627	3.997	3.162	2.865	2.094	1.227	0.776
8	1.233	1.445	1.878	2.082	2.387	2.991	3.344	3.633	3.085	2.752	1.886	1.154	0.633
10	1.119	1.168	1.543	1.894	2.110	2.670	2.972	3.364	2.622	2.357	1.563	1.011	0.425
12	1.023	1.095	1.233	1.470	1.633	1.890	1.926	2.254	1.942	1.587	1.297	0.881	0.321

Table-2: Showing $RE(\tilde{\beta}_1 | \beta; R)$ when $r = 6(2)12, \lambda = 0.1(0.1)1.7, 2, 3$, and $\alpha = 0.05$.

λ n	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	1.1	1.2	1.5	2	3
6	1.179	1.124	1.717	1.948	2.237	2.557	2.878	2.980	2.648	2.338	1.893	1.074	0.654
8	1.088	1.295	1.559	1.739	1.995	2.317	2.573	2.766	2.621	2.454	1.735	0.933	0.431
10	1.001	1.118	1.254	1.479	1.575	1.870	2.219	2.419	2.266	1.303	1.108	0.102	0.225
12	0.972	1.041	1.185	1.189	1.259	1.555	1.999	2.037	2.040	1.118	1.002	0.884	0.171

Table-3: Showing $B(\tilde{\beta}_1 | \beta; R)$ when $r = 6(2)12, \lambda = 0.1(0.1)1.7, 2, 3$, and $\alpha = 0.01$.

λ n	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	1.1	1.2	1.5	2	3
6	-0.11	-0.05	-0.06	-0.85	-0.10	-0.12	-0.13	-0.14	-0.13	-0.11	-0.09	0.18	1.01
8	-0.09	-0.04	-0.05	-0.07	-0.10	-0.12	-0.12	-0.13	-0.10	-0.07	-0.02	0.43	1.26
10	-0.07	-0.03	-0.02	-0.06	-0.09	-0.12	-0.12	-0.12	-0.08	-0.03	0.09	0.64	1.46
12	-0.04	-0.02	-0.04	-0.07	-0.10	-0.12	-0.12	-0.11	-0.08	0.01	0.17	0.73	1.73

Table-4: Showing $RE(\tilde{R}_1(t) | R(t); R)$ when $\phi = 36/6, \lambda = 0.1(0.1)1.7, 2, 3$ and $\alpha = 0.01$.

λ n	0.1	0.3	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	1.1	1.2	1.5	2	3
6	1.446	1.698	2.803	3.363	3.509	3.748	4.020	4.163	4.108	3.775	2.919	1.989	1.444
8	1.274	1.417	2.616	2.950	3.257	3.596	3.812	4.045	3.314	3.280	2.668	1.734	1.214
10	1.042	1.298	2.343	2.633	3.009	3.347	3.620	3.853	3.178	3.055	2.319	1.509	1.140
12	0.839	1.113	2.016	2.250	2.787	2.926	3.102	3.245	2.944	2.480	1.888	1.200	1.000

Table-5: Showing $RE(\tilde{R}_1(t) | R(t); R)$ when $\phi = 36/6, \lambda = 0.1(0.1)1.7, 2, 3$ and $\alpha = 0.05$.

λ n	0.1	0.3	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	1.1	1.2	1.3	1.4	2	3
5	1.854	1.926	2.189	2.282	2.314	2.546	2.659	2.955	2.813	2.798	2.651	2.549	1.603	1.097
8	1.602	1.651	2.001	2.196	2.229	2.368	2.498	2.552	2.391	2.328	2.000	1.898	1.211	1.005
10	1.437	1.552	1.875	1.937	2.190	2.214	2.282	2.238	2.109	2.004	1.811	1.619	1.027	0.978
12	1.196	1.357	1.403	1.666	1.744	1.854	2.053	2.106	1.846	1.772	1.521	1.388	1.000	0.738

Table-6: Showing $B(\tilde{R}_1(t) | R(t); R)$ when $\phi = 36/6, \lambda = 0.1(0.1)1.7, 2, 3$ and $\alpha = 0.01$.

λ	0.1	0.3	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1	1.1	1.2	1.4	2	3
6	-1.00	-0.86	0.552	0.714	0.961	1.163	1.446	1.988	1.294	1.008	0.894	0.665	0.364
8	-0.88	0.09	0.363	0.443	0.592	0.841	0.925	1.030	0.882	0.786	0.486	-0.62	-1.00
10	-0.67	0.02	0.127	0.335	0.490	0.550	-0.11	-0.28	-0.41	-0.62	-0.81	-1.10	-1.20
12	-0.30	0.00	0.110	0.242	0.46	0.06	-0.01	-0.12	-0.34	-0.68	-0.99	-1.30	-1.41

REFERENCES

1. Weibull, W. A statistical theory of the strength of materials. Ingeniors Vetenskap Akademiens Handlingar, Royal Sweden Institute for Engineering Research, Stockholm, Sweden, No.151 (1939).
2. Weibull, W. A statistical distribution function of wide applicability', J. of applied mechanics, 18, p. 293 (1951).
3. Weibull, W. Discussion: A statistical distribution function of wide applicability', J. of applied mechanics, 19, p. 233 (1952).
4. Lieblein, J. and Zelen, M. Statistical investigation of the fatigue life of deep groove ball Bearings. Journal of Res. Nat. Bur. Std., 57, p. 273 (1956).
5. Kao, J. H. K. A graphical presentation of mixed Weibull parameters in life- testing electron Tubes Technometrics, 4, p. 309 (1959).
6. Berrettoni, J. A. Practical applications of the Weibull Distribution. Industrial Quality Control, 21, p.71 (1964).
7. Harris, E. and Shakarki, G. Use of the population distribution to improve estimation of individual mean in epidemiological studies. *J. of chronic disease*, 32, pp. 233 (1979).
8. Dallaportas, P. and Wright, D.E. Numerical prediction for the two-parameter Weibull Distribution. *The statistician*, 40, p.365 (1991).
9. Bain, L. J. and Engelhardt, M. Statistical of Reliability and Life Testing Analysis Models. New York, NY: Marcel Dekker (1991).
10. Lu, C. Danzer, R. and Fisher, D. Fracture statistics of brittle material: Weibull or normal Distribution. *Physical Review E*. 2002, No.65, 067102 (2002).
11. Rinne, H. The Weibull Distribution A Hand book. A Chapman & Hall Book- Taylor & Francis Group (2009).
12. Sinha, S. K. Reliability and Life Testing New Delhi, Wiley Eastern Limited (1986).
13. Thompson, J. R. Some shrinkage techniques for estimating the mean. *Journal Amer. Statist. Assoc.* 63, p. 113 (1968a)

14. Thompson, J.R. Accuracy borrowing in the estimation of the mean by shrinkage to an interval. *Journal Amer Statist Assoc* 63, p. 953 (1968b).
15. Mehta, J.S. and Srinivasan, R. Estimation of the mean by shrinkage to a point', *Journal Amer. Statist Assoc.*, 66, p.86 (1971).
16. Kambo, N. S. Handa, B. R. and Al-Hemyari, Z. A. On Huntsberger type shrinkage estimator. *Communications in Statistics- Theory and Methods* 2(3), p.823 (1992).
17. Kambo, N. S. Handa, B. R. and Al-Hemyari, Z. A. On shrunken estimators for exponential scale parameter', *J. of Statistical Planning and Inferences* 24, p. 87(1990).
18. Singh, H. P. Saxena, S. Allen, J., Singh, J. S and Smarandache, F. Estimation of Weibull shape parameter by shrinkage towards an interval under failure censored sampling. p.1-20. In: *Randomness and Optimal in Data Sampling*. Available: [http// www Books. Google. com. Arxiv.org](http://www.Books.Google.com.Arxiv.org) (2002).
19. Parkash, G. Singh, D.C. and Sinha, S.K. On shrinkage estimation for the scale parameter of Weibull distribution. *Data Science J.*, 7, p. 125 (2008).
20. Al-Hemyari, Z. A. and Al-Dabag H. A. A class of shrinkage testimators for the shape parameter of the Weibull lifetime model. *Pakistan J. of Statistics and Operation Research* , Vol. VIII, No. 2, p. 167(2012).
21. Singh, J. and Bhatkulikar, S. G. Shrunken estimation in Weibull distribution', *Sankhya*, B39, p. 382 (1978).
22. Pandey, M. Shrunken estimators of the of Weibull shape parameters in censored samples. *IEEE Transaction in Reliability*, 32, p. 200 (1983).
23. Pandey, B. N. Malik, H.J. and Srivastava, R. Shrinkage testimators for the shape parameter of Weibull distribution under type II censoring. *Communication in Statistics-Theory and Method*,18, p. 1175 (1981).
24. Pandey, M. and Singh, U.S. Shrunken estimators of the of Weibull shape parameter from type-II censored samples . *IEEE Transaction in Reliability* , 42, p. 81 (1993).
25. Rai, A. N. Shrinkage testimator of shape parameter of Weibull distribution under asymmetric loss function. *Twelfth International Conference on Statistics, Combinatorics, Mathematics and Applications*. Auburn University, Auburn, Alabama (2005).
26. Chiou, P. Empirical Bayes shrinkage estimation of reliability in the exponential distribution. *Communications in Statistics- Theory and Methods* 22(5), p.1483 (1993).

27. Chiou, P. Shrinkage estimation of reliability in the exponential distribution. *Communications in Statistics- Theory and Methods* 21(6), p.1745 (1992).
28. Baklizi, A. and Ahmed, S.E. On the estimation of reliability function in a Weibull lifetime distribution, *Statistics*, Vol.42, No.4, p.351(2008).
29. Al-Hemyari, Z. A. and Al-Dolami, Jabar A. Optimized shrinkage testimator of reliability function in a failure-time model. *International Journal of Mathematics in Operational Research*, 4, p.607(2012).
30. Al-Hemyari, Z. A. and Al-Ali A. R. PTS estimators for the Function of Weibull Lifetime Data. Accepted for publication, *International Journal of Reliability and Safety* (2013).
31. Lemmer, H. Shrinkage Estimators. In: *Encyclopedia of Statistical Sciences*, Second Edition, Vol.12, p. 7704-7707 (Eds. S. Kotz, N. Balakrishnan, C. B. Read and B. Vidakovic), New York.: John Wiley (2006).
32. Watson, G. N. *Treatise on the Theory of Bessel Function*. Cambridge University Press (1952).

Weather Forecast Simulation in the Middle East Region Using Single-Level Primitive Equations Model

Thaer O. Roomi , Kais J. Al-Jumaily and Rasheed H. Salih

Department of Atmospheric Sciences, College of Sciences, University of Al-Mustansiriyah

Received 11/3/2013 – Accepted 29/4/2013

الخلاصة

بسبب الأهمية الكبيرة للتنبؤ الجوي في قطاعات عديدة على حياة البشر، يحاول العلماء بشكل مستمر تطوير نماذج التنبؤ الجوي العددي التي يمكن ان تتنبأ عن الجو بصورة دقيقة. في هذه الدراسة إنموذج المعادلات الأساسية ذو المستوى المفرد طبق لعمل تنبؤات عن سرعة الرياح والارتفاعات الجهدية لمنطقة الشرق الأوسط. بالإضافة الى هذا، تم التنبؤ ودراسة بعض المعدلات كمعدل الارتفاعات الجهدية، معدل الدورية الجهدية ومعدل الطاقة الكلية. جميع التنبؤات قورنت مع البيانات الفعلية لتقييم النتائج. النتائج أظهرت بأن الأنموذج يعطي محاكاة مقبولة لليومين الأولين للتنبؤ. القيم المتنبأ عنها لمتوسطات الارتفاعات الجهدية، الدورية، والطاقة الكلية لها توافق جيد مع القيم الفعلية. مزيد من التقصي لتأثير زمن الخطوة على المحاكاة أظهر بأن القيمة المناسبة لزمن الخطوة يجب ان يكون ضمن المدى 5-20 دقيقة.

ABSTRACT

Because of the great importance of weather forecast in many sectors of human's life, scientists are continually trying to develop Numerical Weather Prediction (NWP) models that can predict the weather accurately. In this study a single-level primitive equations model was applied to make predictions of wind speed and geopotential heights for Middle East region. Furthermore, some means such as mean geopotential heights, mean of potential vorticity and mean of total energy were predicted and studied. All predictions were comprised with the actual (measured) data to evaluate the results. Results showed that the model gave acceptable simulations for the first two days. The predicted values of means of geopotential heights, vorticity, and total energy had a good agreement with the actual ones. Further investigation of time step impact on simulation shows that the appropriate value of time step must be in the range 5-20 minute.

INTRODUCTION

The objective of Numerical Weather Prediction (NWP) is to predict the future state of the atmospheric circulation from knowledge of its present state by use of numerical approximations to the dynamical equations. To fulfill this objective requires observations of the initial state of field variables, and a method of integrating the equations in time to obtain the future distribution of the field variables [1].

The most common formulation of the equations of motion for simulating large-scale atmospheric flow, otherwise known as the meteorological primitive equations, includes the vertical dependence of the atmospheric state variables. Many of the mathematical and computational properties of these equations, however, are embodied in a simpler 2- dimensional system of equations that govern the behavior of a rotating, homogeneous, incompressible and hydrostatic fluid with a finite free surface height. This system of equations is equivalently referred to as either the single-level primitive equations (SILEPE), the

divergent barotropic system of equations, or the shallow water equations [2][3].

The primitive equations in general provide two different types of motion. One is the low-frequency meteorologically significant Rossby waves. The other contains the relatively high frequency gravity inertia waves, which are found to be a minor component of the observed atmospheric flow and are considered as noise in the forecast problem. Many methods are used to filter out the unwanted meteorological noise, for instance by using such drastic approximations as those in the shallow water equations model [4]. SILEPE in spherical geometry provide a prototype for developing and testing numerical algorithms for atmospheric circulation models [5].

Starting from the so called the primitive equations which are explained in details in [2][6], one can derive the approximated single-level primitive equations:

$$\frac{\partial u}{\partial t} + u \frac{\partial u}{\partial x} + v \frac{\partial v}{\partial y} - fv + g \frac{\partial z}{\partial x} = 0, \quad (1)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} + u \frac{\partial v}{\partial x} + v \frac{\partial v}{\partial y} + fu + g \frac{\partial z}{\partial y} = 0, \quad (2)$$

$$\frac{\partial t}{\partial t} + u \frac{\partial z}{\partial x} + v \frac{\partial z}{\partial y} + z \left(\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} \right) = 0. \quad (3)$$

Where u and v are wind speed components in x - and y -directions, respectively; t is time, g is the gravitational acceleration, z is depth of the fluid, f is Coriolis parameter. The above equations form the prognostic equations of the single level equations model.

The Modeling of the SILEPE Model

1. Time Differencing of the Scheme

SILEPE model presented in this study makes use of the semi-Lagrangian technique [7]. This is based on the following principle: If A, B, C represent the forcing functions (i.e., that are only function of time) of the zonal and meridional momentum equations and the continuity equation, respectively, the governing equations can be written in Lagrangian framework as

$$\frac{Du}{Dt} = A, \quad \frac{Dv}{Dt} = B, \quad \frac{Dz}{Dt} = C \quad (4)$$

The advective terms are estimated by semi-Lagrangian scheme as in the following method [7][8]: First assuming that the parcel which is located at point P (normally not a grid point) at time t , reaches the point Q (grid point) at time $t + \Delta t$ (Figure 1). Since the position of P is unknown, successive approximations are made using the grid point value of Q at time t . If x and y represent the zonal and meridional distances of P from Q , then using Taylor's expansion, a first guess position for P is obtained

$$x = -u|_{Q_t} \Delta t - \frac{1}{2} A|_{Q_t} \Delta t^2 \quad (5)$$

$$y = -v|_{Q_t} \Delta t - \frac{1}{2} B|_{Q_t} \Delta t^2 \tag{6}$$

With the first guess position of P, first guess values of u, v, A and B at P are determined using a 9-point Lagrangian interpolation.

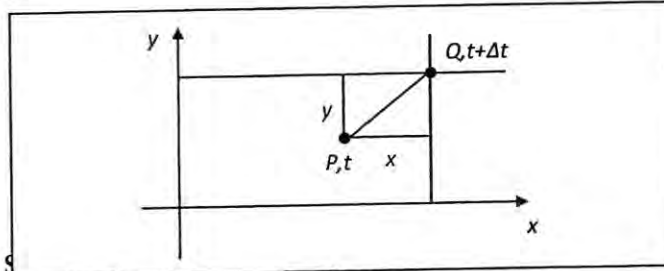


Figure-1: S... noua, 1996)

With the first guess values at time t , the second guess position of P is obtained as

$$x = -u|_{P_t} \Delta t - \frac{1}{2} A|_{P_t} \Delta t^2 \tag{7}$$

$$y = -v|_{P_t} \Delta t - \frac{1}{2} B|_{P_t} \Delta t^2 \tag{8}$$

The new position of P allows then the obtaining of u, v, z, A, B and C at P and time t . The u, v, z values at grid point Q and time $t + \Delta t$ are computed using the predictor-corrector method of the Matsuno time integration scheme. The predictor step consists of a trail forward step given by

$$U_{Q_{t+\Delta t}} = u|_{P_t} + A|_{P_t} \Delta t \tag{9}$$

$$V_{Q_{t+\Delta t}} = v|_{P_t} + B|_{P_t} \Delta t \tag{10}$$

$$Z_{Q_{t+\Delta t}} = z|_{P_t} + C|_{P_t} \Delta t \tag{11}$$

The correction consists of a backward time differencing step expressed as

$$U_{Q_{t+\Delta t}} = u|_{P_t} + A|_{Q_{t+\Delta t}} \Delta t \tag{12}$$

$$V_{Q_{t+\Delta t}} = v|_{P_t} + B|_{Q_{t+\Delta t}} \Delta t \tag{13}$$

$$Z_{Q_{t+\Delta t}} = z|_{P_t} + C|_{Q_{t+\Delta t}} \Delta t \tag{14}$$

2. Computation of the Forcing Functions

It was already indicated that forcing functions (equations 4) are two pressure gradient force terms and divergence term, respectively. To estimate these terms, the centered finite differences can be used. This method of approximation leads to splitting of solutions that associated with two grid distance waves. The splitting is due to the use of nonstaggered horizontal grid structure for the specification of the predicted variables. To overcome this, a correction term is applied to the momentum and continuity equations as

$$\frac{Du^{n+1}}{Dt} = -g \frac{\partial z^{n+1}}{\partial x} + fv^{n+1} + g\Delta t \left[-z^n \frac{\partial^2 u^n}{\partial x^2} \right]_{in} + g\Delta t \left[z^n \frac{\partial^2 u^n}{\partial x^2} \right]_{co} \tag{15}$$

$$\frac{Dv^{n+1}}{Dt} = -g \frac{\partial z^{n+1}}{\partial y} + fu^{n+1} + g\Delta t \left[-z^n \frac{\partial^2 v^n}{\partial y^2} \right]_{in} + g\Delta t \left[z^n \frac{\partial^2 v^n}{\partial y^2} \right]_{co} \quad (16)$$

$$\frac{Dz^{n+1}}{Dt} = -z \left[\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} \right]^{n+1} + g\Delta t \left[\frac{\partial^2 z^n}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 z^n}{\partial y^2} \right]_{in} - g\Delta t \left[\frac{\partial^2 z^n}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 z^n}{\partial y^2} \right]_{co} \quad (17)$$

where the superscript denotes the time step at which the terms are evaluated and subscripts *in* and *co* stand for uncorrected and corrected, respectively.

3. The Model Code

A FORTRAN code was written and used to formulate SILEPE model, via equations (1-3) using the zonal and meridional components of the wind field (*u* and *v*) and height field (*z*) as the predicted variables. The advective terms are computed using a semi-Lagrangian approach. Time integration is accomplished through the Matsuno time integration scheme. Some domain invariants are computed during each output time. The program stores data in the output file in three records of *u*, *v*, and *z*.

Case Study

A case study was done to get predictions of the wind and height fields of 1-3 January, 2010 depending on the initial values on 1st of January, 00 UTC (Coordinated Universal Time) taken from European Center for Medium Range Weather Forecast (ECMWF) data set. The region of 10.5-45 N latitudes and 15-75 E longitudes with 1.5° × 1.5° grid size was adopted in this study. The outputs of the SILEPE model were plotted by using a script written by MATLAB. Figures (2-11) show the predicted and the actual weather patterns of geopotential heights and wind fields. Estimates of the mean of geopotential height, potential vorticity, and total energy were established, as well. Figures (12-14) illustrate the relationship between the predicted and the actual mean geopotential height, mean potential vorticity and mean total energy, respectively.

RESULTS AND DISCUSSION

1. Wind Field-Geopotential Height Charts

Comparison between the predicted and the actual charts shows that the model gave adequate simulations within the first two days. Whereas the simulation after the second day thereafter failed to simulate the weather. The most obvious weather systems that can be tracked within the domain of the chart are the trough of the low pressure system in the north and the high pressure to the southwest of region of study. The results for such basic approximated model are not as good as those that estimated by full primitive, nonhydrostatic models for many reasons:

- i. The approximations which have been done on the primitive equations.

- ii. The errors that generated in determining the boundary conditions.
- iii. Not taken into consideration the effect of topography of the earth surface.
- iv. The dynamical nature of this model without inclusion of physical processes which may affect on the prediction.

2. Mean Values of Geopotential Height, Potential Vorticity, and Total Energy

Figure (12) shows that the curve of the means of the geopotential heights for the simulations takes the same trend as for the actual ones though the values are lower for the simulations than for the actual means. Figure (13) indicates that the means of the predicted vorticity are coincide to the actual ones except at 00 UTC on 3 January 2010 in which the simulation could not go with the actual mean. This is probably due to the smoothing process existed in the simulation. Figure (14) which depicts the curves of the actual and the predicted means of total energy reveals that the predicted values are underestimated.

3. The Impact of Time Step on Simulations

A time step of 5 minutes was adopted in the model. This small value was chosen to avoid the computational instability caused by the large values of time steps. Studying the time step by using the shallow water equations model reveals that the appropriate value of time step must be less or equal to 20 minutes otherwise the model would stop working. Decreasing the values of time step will increase the number of steps of integration and consequently the time elapsed to make the predictions as indicated figure (15).

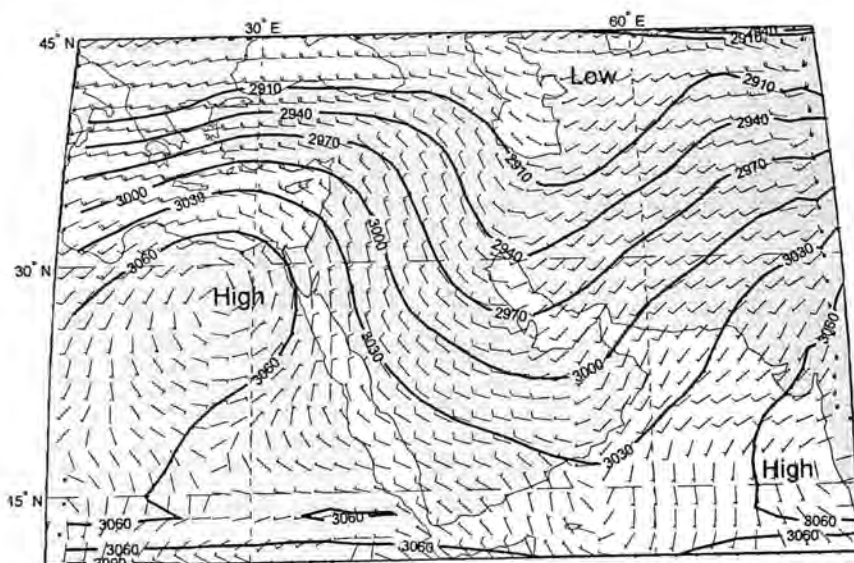


Figure-2: Initialized wind and geopotential height 700hPa chart on January 1, 2010 at 00 UTC

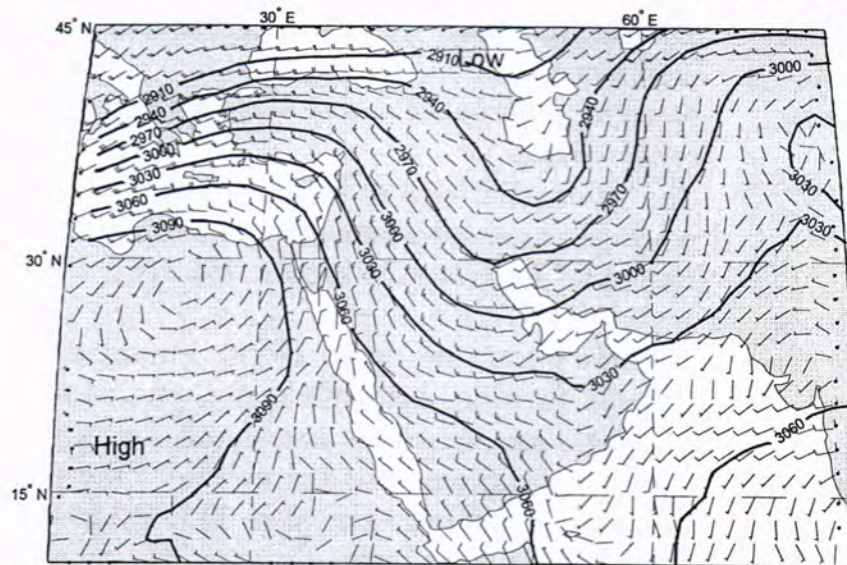


Figure-3: Actual wind and geopotential height 700hPa chart on January 1, 2010 at 00 UTC

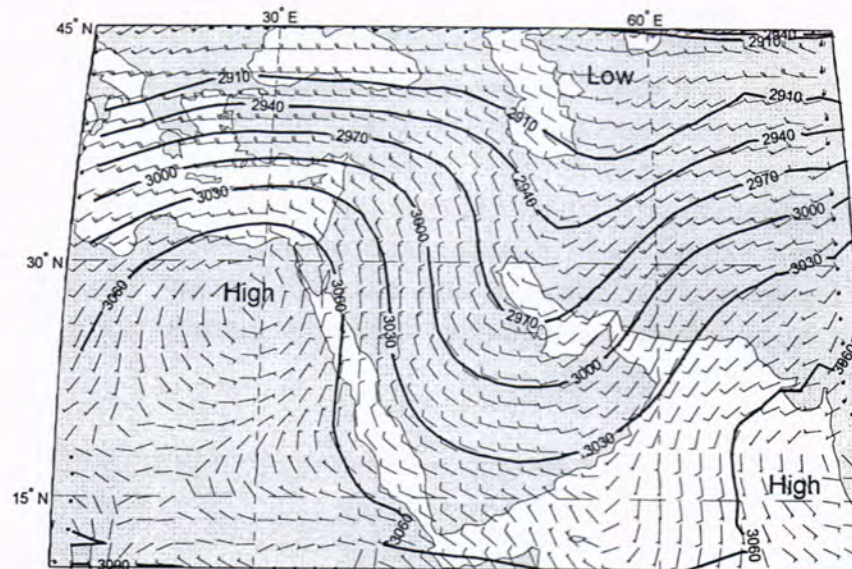


Figure-4: Predicted +12hr wind and geopotential height 700hPa chart valid to January 1, 2010 at 12 UTC

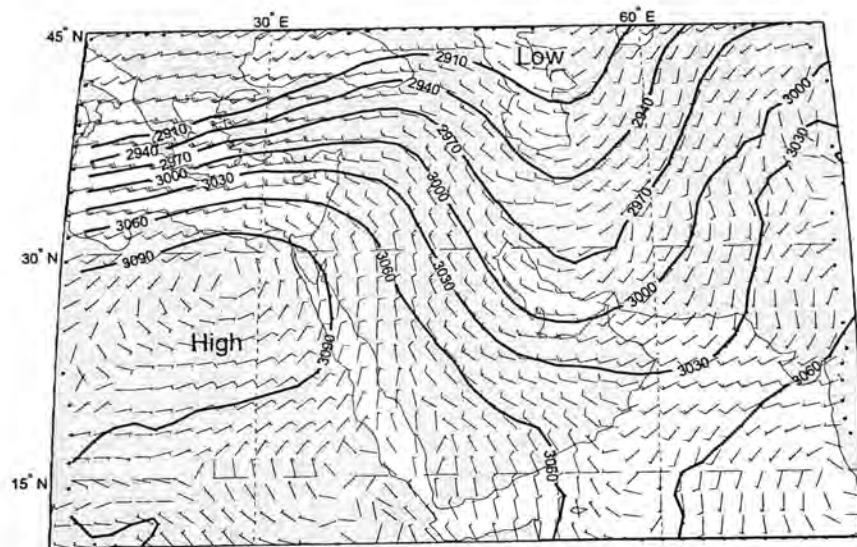


Figure-5: Actual wind and geopotential height 700hPa chart on January 1, 2010 at 12 UTC

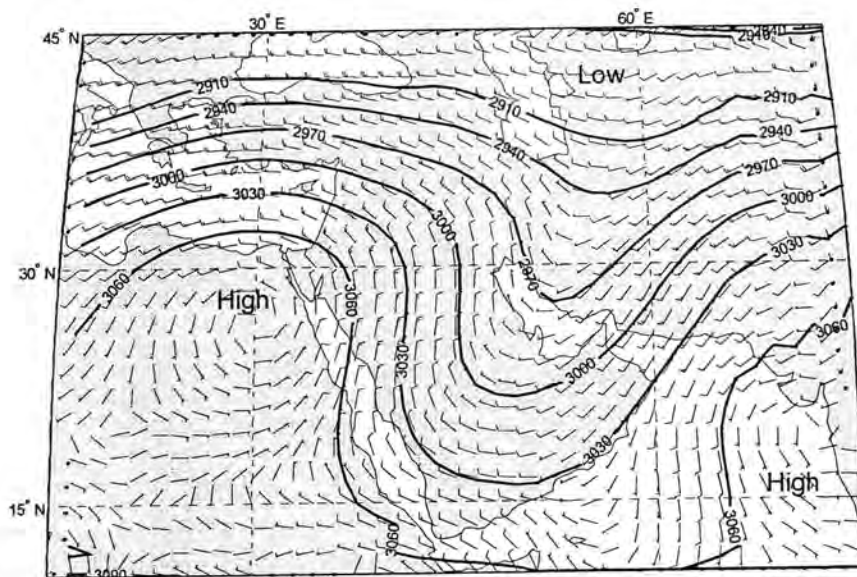


Figure-6: Predicted +24hr wind and geopotential height 700hPa chart valid to January 2, 2010 at 00 UTC

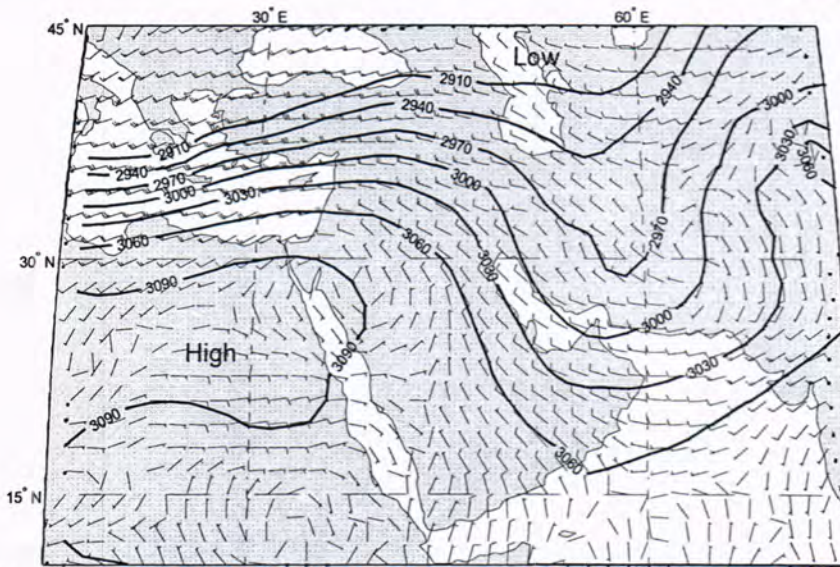


Figure-7: Actual wind and geopotential height 700hPa chart on January 2, 2010 at 00 UTC

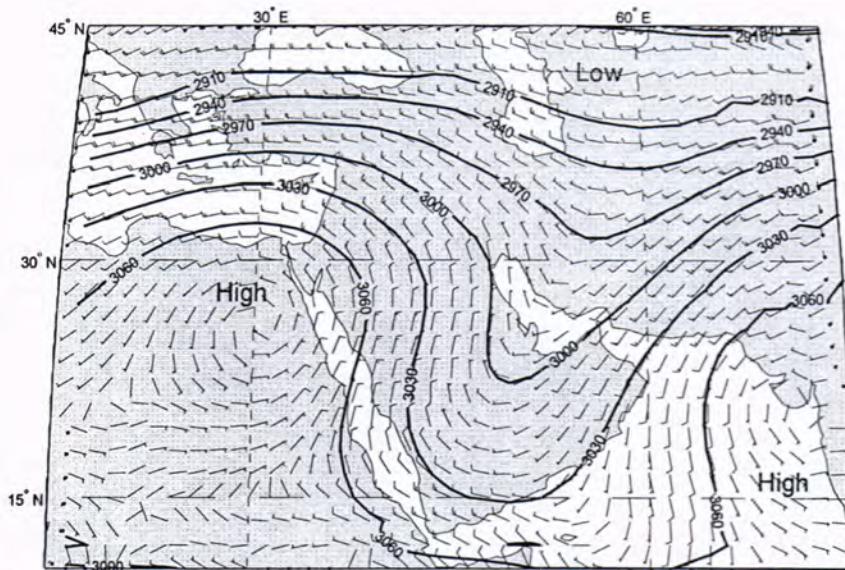


Figure-8: Predicted +36hr wind and geopotential height 700hPa chart valid to January 2, 2010 at 12 UTC

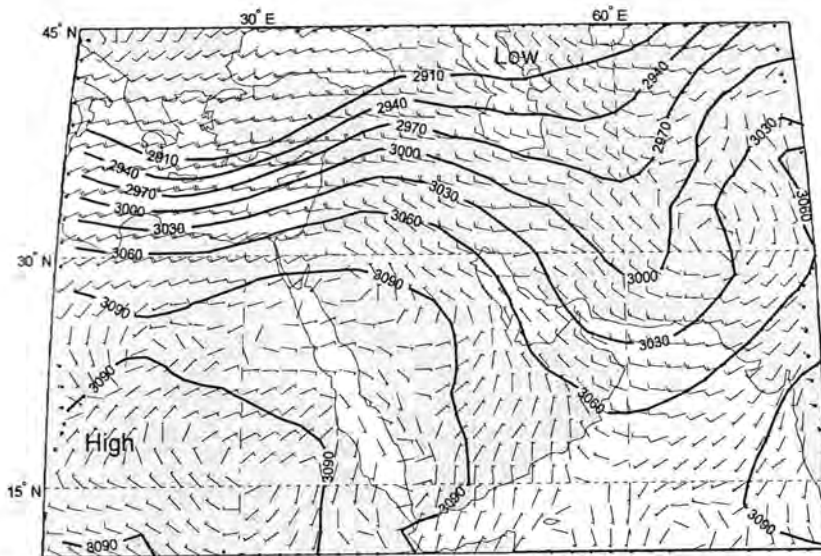


Figure-9: Actual wind and geopotential height 700hPa chart on January 2, 2010 at 12 UTC

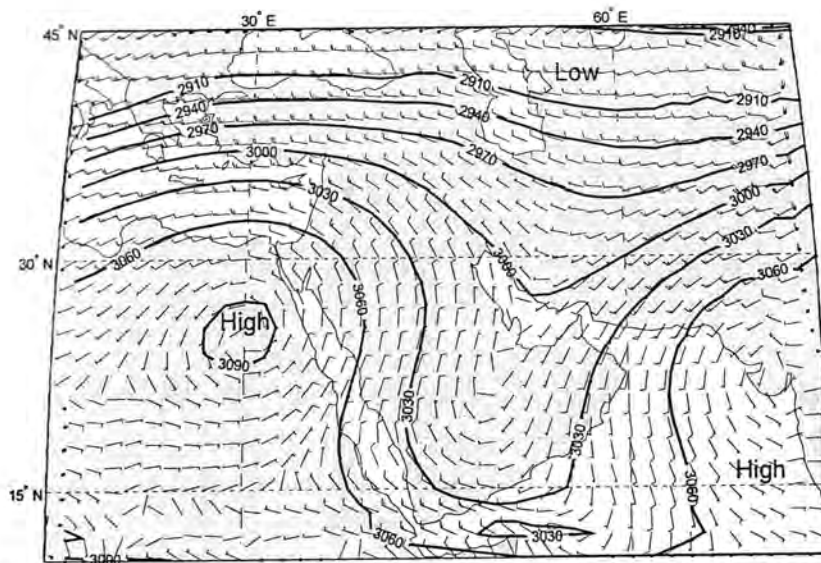


Figure-10: Predicted +48hr wind and geopotential height 700hPa chart valid to January 3, 2010 at 00 UTC

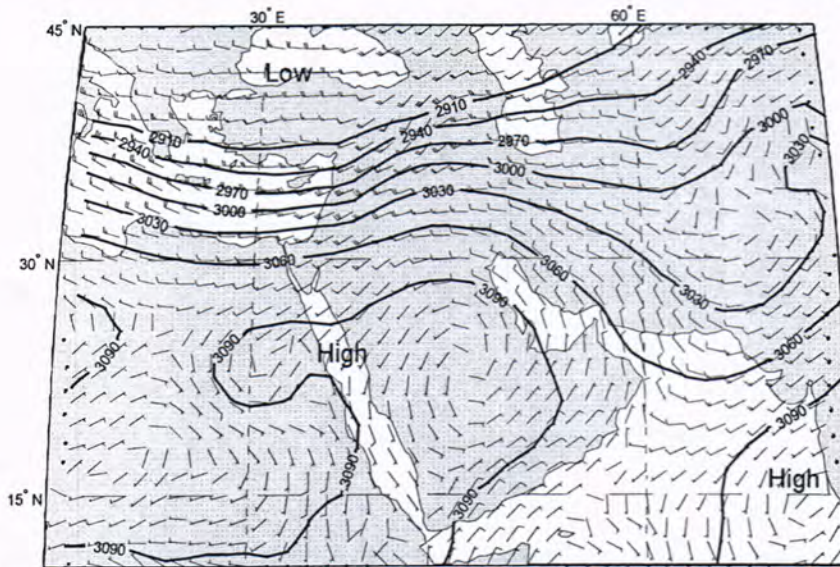


Figure-11: Actual wind and geopotential height 700hPa chart on January 3, 2010 at 00 UT

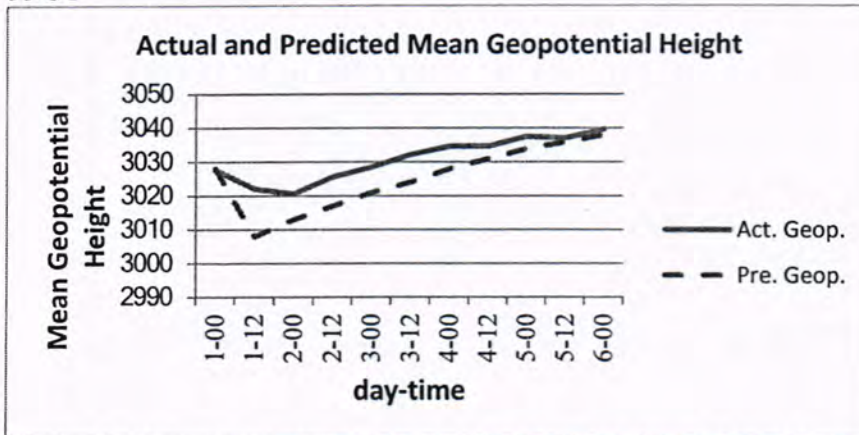


Figure-12: The relationship between the mean geopotential height and day-time of the actual and predicted cases

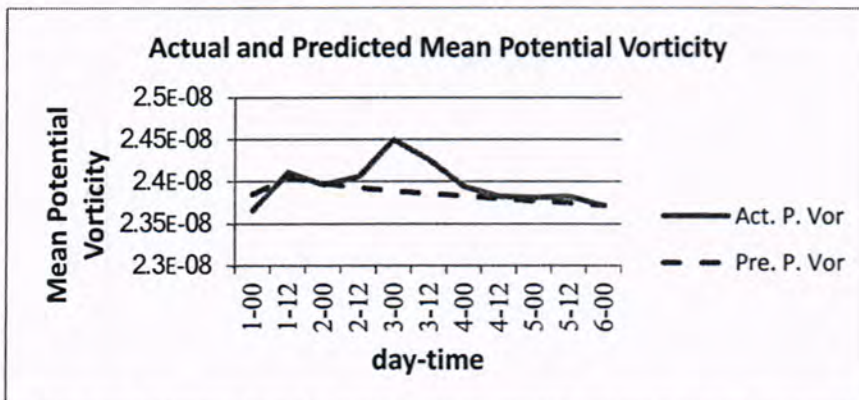


Figure-13: The relationship between the mean potential vorticity and day-time of the actual and predicted cases

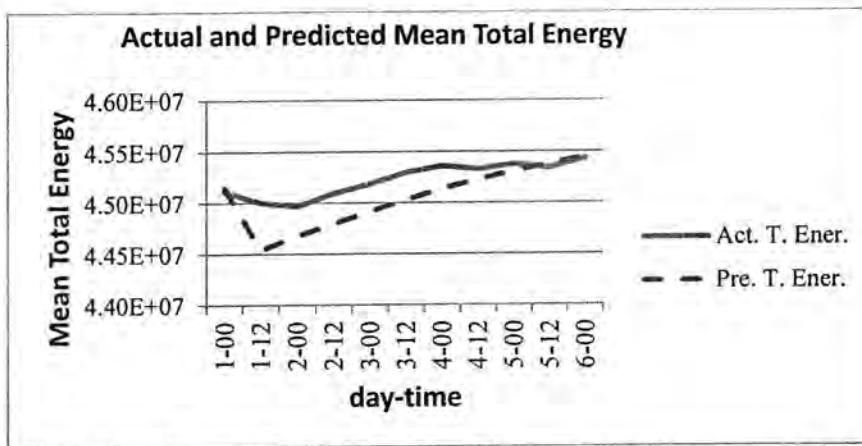


Figure-14: The relationship between the mean total energy and day-time of the actual and predicted cases

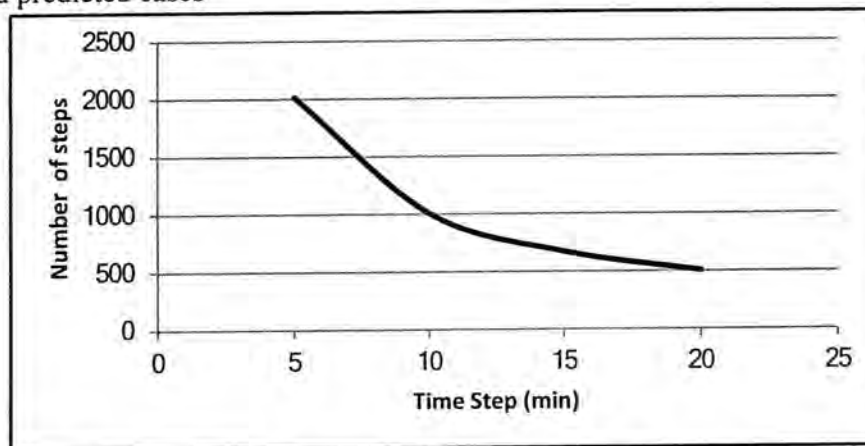


Figure-15. Time steps versus number of steps
CONCLUSIONS

Using single level primitive equations model for the limited area enclosing Middle East shows that the model gave adequate simulations within the first two days. Whereas the simulation after the second day thereafter failed to simulate the weather. An investigation for mean geopotential heights shows that the curve of the means of the geopotential heights for the simulations takes the same trend as for the actual ones though the values are lower for the simulations than those of the actual means. On the other hand the means of the predicted vorticity are coincide to the actual ones except at 00 UTC on 3 January 2010 in which the simulation could not go with the actual mean. This is probably due to the smoothing process existed in the simulation. Also, the curves of the actual and the predicted means of total energy reveal that the predicted values are underestimated the actual ones. Finally, study of the impact of time step on simulations reveals that the appropriate value of time step must be less or equal to 20 minutes otherwise the model would stop working. Lessening the values of time step will increase the number of steps of integration and consequently the time elapsed to make the predictions.

REFERENCES

1. Holton, J. R.: An introduction to dynamic meteorology. 4th ed., Elsevier Academic Press, (2004).
2. Warner, T.T.: Numerical weather and climate prediction. Cambridge University Press, (2011).
3. Hack, J.J. and R. Jakob: Description of a global shallow water model based on the spectral transform method. NCAR/Tn-343+STR, NCAR Technical note, Boulder, USA, (1992).
4. Majumdar, S., D. R. C. Nair, R. S. Sarawat, and A. Chandrasekar: A comparative study of implicit and explicit initialization for a tropical barotropic model. *Earth Planet Sci.*, 106, 147-155, (1997).
5. Lanser, D., J.G. Blom, and J.G. Verwer: Time integration of the shallow water equations in spherical geometry. CWI, Report MAS-R0021, Amsterdam, The Netherlands, (2000).
6. Haltiner, G. J., and R. T. Williams: Numerical prediction and dynamic meteorology. 2nd ed. Wiley, New York, (1980).
7. Krishnamurti, T. N. and L. Bounoua: An introduction to numerical weather prediction techniques. CRC Press, Inc., (1996).
8. Lazic, L.: Initialization of the Eta model using a backward-first version of the iterative Matsuno style scheme. *Met. Atm. Phys.*, 99, 247-256,(2008).

Improve Entity Relationship Table (ERT) by Using Primary Key

Maitham A. Najji

Power Department, College of Electrical and Electronic Techniques, Foundation of Technical Education

Received 30/1/2013 – Accepted 29/4/2013

الخلاصة

الغرض من هذا البحث تطبيق قواعد التنسيق على الجمل الانكليزية بالاعتماد على المفتاح الرئيسي، ويستطيع المستخدم اختيار مفتاح رئيسي واحد أو أكثر من جزء المتمم وسيقوم النظام بوضع المفتاح المرشح في الموقع الأول لقائمة المتمم وذلك لتطبيق قواعد التنسيق. ان هذا التطوير يجب أن يطبق على جدول علاقات الكينونة، ويقوم البرنامج بالفصل بين حقول المفتاح الرئيسي عن الحقول الاعتيادية لبناء دالة الاعتمادية لكل والذي يحتوي على (FDT) جدول. كما أن الدالة الاعتمادية ستخزن في ملف يسمى جدول الدالة الاعتمادية اسم الجدول وحقول المفتاح الرئيسي والحقول الاعتيادية.

ABSTRACT

The purpose of this paper applies normalization rules for English sentences (business rules) based on Primary key. The user can select one or more primary keys attribute from the complement group list. The system will put the candidate key in first location of complement group list in order to apply normalization rules. This development should take place on ERT; the program will split the primary key attributes from normal attributes to build the functional dependency for each table. The Functional Dependency will store in file called Functional Dependency Table (FDT) that contains table name, primary key attributes and normal attributes.

INTRODUCTION

The ERT contains Source Node Type (SNT) and Destination Node Type (DNT) which either Entity or Attribute. Also contain source and destination node and their relationship type; Source Node Relationship Type (SNRT) and Destination Node Relationship Type (DNRT); the verb presents the relationship name between nodes [1].

Normalization is a process for evaluating and correcting table structure to minimize data redundancies [2], or we can define Normalization is the process of breaking down a complex design into a group of simple relationships [3]. Normalization is the outcome of the work originally done by E. F. Codd and is based on a rigorous mathematical theorem, which gives a solid theoretical foundation to the technique [4].

The objectives of normalization process are:

- 1- To make it feasible to represent any relation in the database.
- 2- To free relations from undesirable insertion, update, and deletion anomalies.
- 3- To reduce the need for restructuring the relations as new data type are introduced [5].

A primary key is an attribute or group of attributes that uniquely identifies each entity in the entity type, and each record in the corresponding database table. Foreign keys are the method used in relational database, to show relationship. A repeating group is a group of attributes in a record that occurs a variable number of times in each record [6]. Functional Dependence or Functional Dependency (FD) describes how one field (or combination of fields) determines another field [7].

Transitive FD $A \rightarrow B$ and $B \rightarrow C$ together imply the transitive FD $A \rightarrow C$ [6].

In [8] the program divides the entered sentence into three parts, Subject Group, Verb Group and complement group. In This paper we add primary key (PK) to complement group; also paper [1] was developed where the PK is added to ERT to extract Functional Dependency Table (FDT).

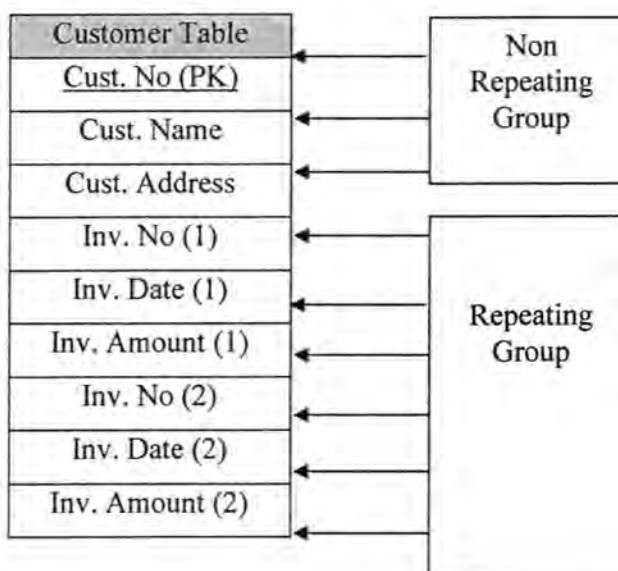
MATERIAL AND METHODS

The normalization process has mainly three stages [2]:

1- First Normal Form (1NF)

There are three steps to convert table to 1NF:

For example: each customer has more than one invoice, so there are repeating group and non-repeating group [6].



Step 1: Eliminate the Repeating Groups

The problem can be process by split the repeating group from non repeating group, and make each group in separate table. We can solve this problem in our application by input the following business rules [6]:

Customer has Cust. No. , Cust. Name and Cust. Address
 Invoice has Inv No , Inv. Date and Inv. Amount
 The above business rule results an ERT as shown in figure (10).

Step 2: Identify the Primary Key (PK)

The system provides capability to determine the primary key in complement group for each table as shown in figure (9), the primary key will be added to ERT.

Step 3: Identify All Dependencies

The identification of the primary key in step 2 means that you have already identified the Functional dependency. The functional dependency for customer table is:

Cust. No. → Cust. Name, Cust. Address

The Invoice table has repeating group. In this case the Invoice table should have foreign key to allow more than one invoice related to one customer. In other word in order to build the relationship type One-to-Many (1-N) between two tables the Customer table should have primary key (Cust. No) and the Invoice table should have foreign key (Inv No). Therefore the FD for Invoice table is:→ No , Inv. Date and Inv. Amount

The FDT for Customer and Invoice table is shown in Figure (11)

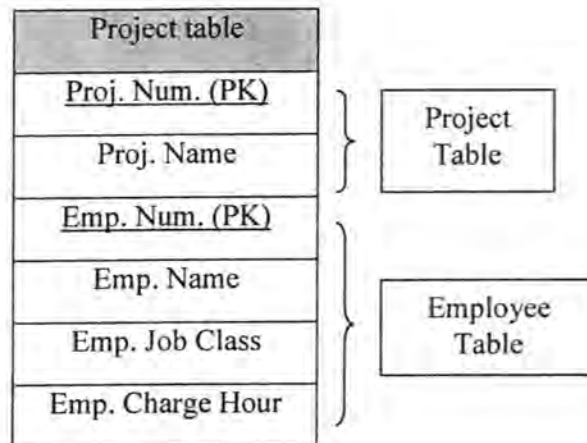
2- Second Normal Form (2NF)

Converting to 2NF is done only when the 1NF has a composite primary key. If the 1NF has a single attribute primary key, then the table is automatically in 2NF [6].

A table is in 2NF when:

- 1- It is in 1NF.
- 2- It includes no partial dependencies; that is, no attribute is dependent on only a portion of the primary key [2]. There are two steps to convert table to 2NF.

For Example: Each project has a staff, so each employee has name, job class (Architect, programmer and mechanical and ... etc, and charge hours for each person.



Step 1: Make New Tables to Eliminate Partial Dependencies:

For each component of the primary key that acts as a determinant in a partial dependency. Create a new table with a copy of that components are placed in the new tables. The can be solved in our system by entering the following business rules:

Project has Proj. Num. and Proj. Name

Employee has Emp. Num. , Emp. Name , Emp. Job Class and Emp. Charge Hour

The result will be an ERT as shown in figure (14).

Step 2: Reassign Corresponding Dependent Attributes:

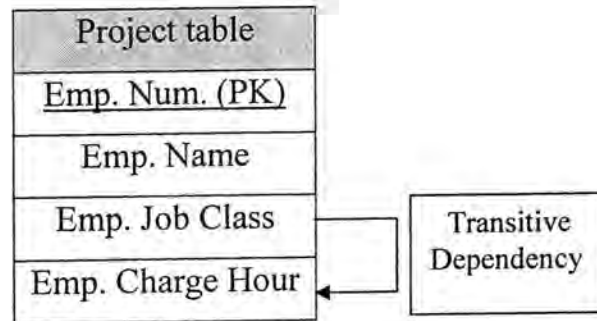
Determine those attributes that are dependent in the partial dependencies. The attributes that are dependent in a partial dependency are removed from the original table and placed in the new table with the determinate. The system can build the Functional Dependency Table (FDT) to the above business rules as shown in figure (19).

3- Third Normal Form (3NF)

Third Normal Form covers the case where there are dependencies between attributes that are not primary keys; this is called transitive dependency [6]. To be in third normal form, there should be no transitive dependency.

A table is in 3NF when [2]:

- 1- It is in 2NF.
- 2- It contains no transitive dependencies. There are two steps to convert table to 3NF.



The above example has transitive dependency between Emp. Job Class field and Emp. Charge Hour.

Step 1: Make New Tables to Eliminate Transitive Dependency:

For every transitive dependency, write a copy of its determinant as a primary key for a new table. A **determinant** is any attribute whose value determines other values within a row. It's important that the determinate remain in original table to serve as a foreign key.

Step 2: Reassign Corresponding Dependent Attributes:

Place the dependent attributes in the new tables (Job table) with their determinants and remove it from its original tables (Charge Hour attribute). Transitive dependency can be solved by update (Employee) business rules.

Employee has Emp. Num. , Emp. Name and Emp. Job Class

Job has Emp. Job class and Emp. Charge Hour

The result will be an ERT as shown in figure (15). The FDT is shown in figure (20).

Some time one attribute may depend on more than one primary key. In our example the number of hours spent on each project by each employee dependent on both Proj. Num. and Emp. Num. in the Assignment table, you leave those hours in the Assignment table as Assign Hours. The ERT of this case is shown in figure (16).

RESULTS AND DISCUSSION

In [8] the program divides the entered sentence into three parts, Subject Group, Verb Group and complement group. Each group will be display in a list. The current system will display a message that ask from the user select primary key attribute from complement group list, when the user select an item (by click), the item will be store in first location in an array with prefix "PK" and this item will be deleted from complement list, therefore the array contain the Primary key attribute.

As shown in following figure (1). The code is written in click event of the complement list.

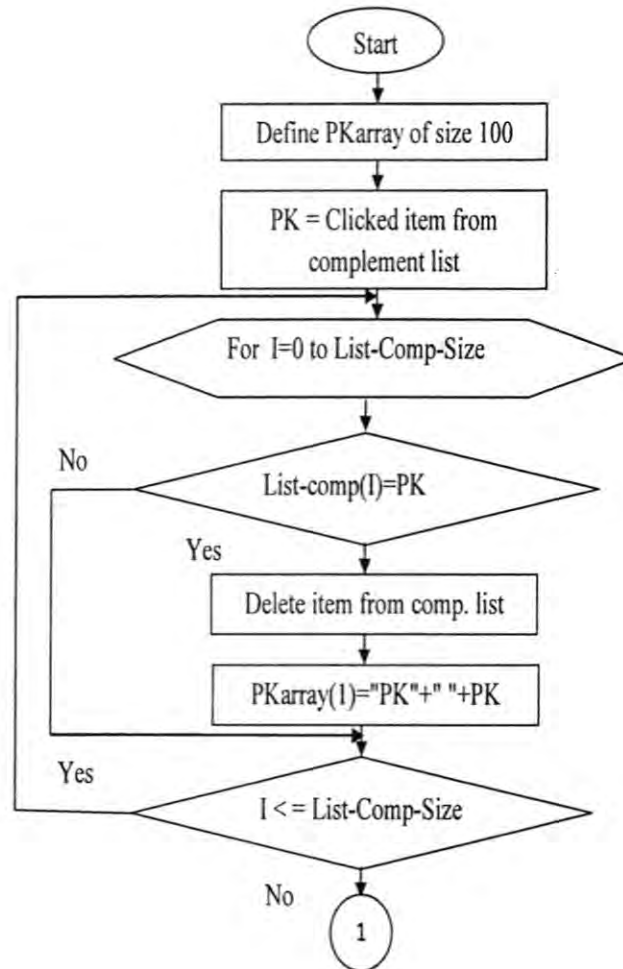


Figure-1: Add PK symbol to Candidate Attribute

The first loop of the following flowchart will copy the non key attributes (attribute not selected) in the same array begin from third location. The program will delete all items from complement list. The second loop will return the item to complement list with different order as shown in the following figure (2). The system can add more than one primary key if needed. This is done by just click on candidate attribute in complement list the following and above flowchart will be executed again.

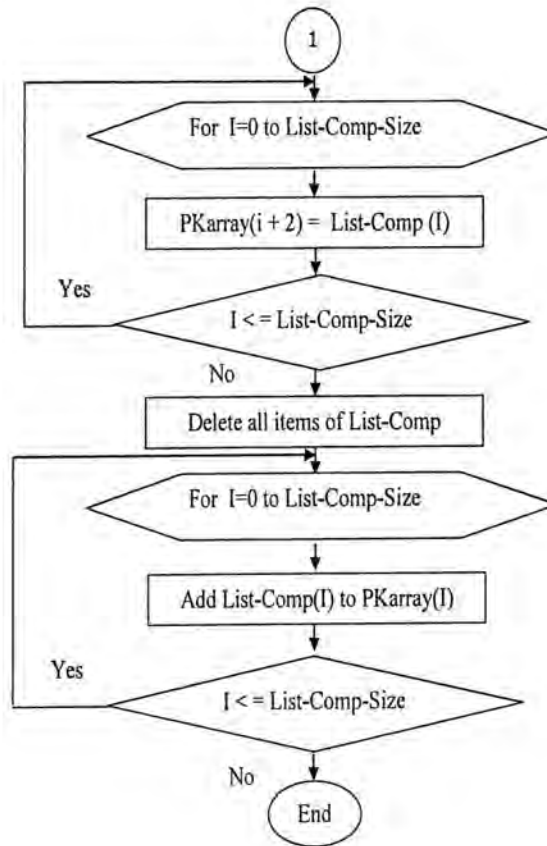


Figure -2: Complement List after Selection PK

After the primary key has been selected, the system will change the ERT according to new complement list. The addition of primary key to the ERT is very important step in order to extract the functional dependency. There are four steps to extract functional dependency.

- 1- Extract tables names; the system will store the content of ERT's "Source" field that contains table's names in list with repeated name. As shown in figure (3).

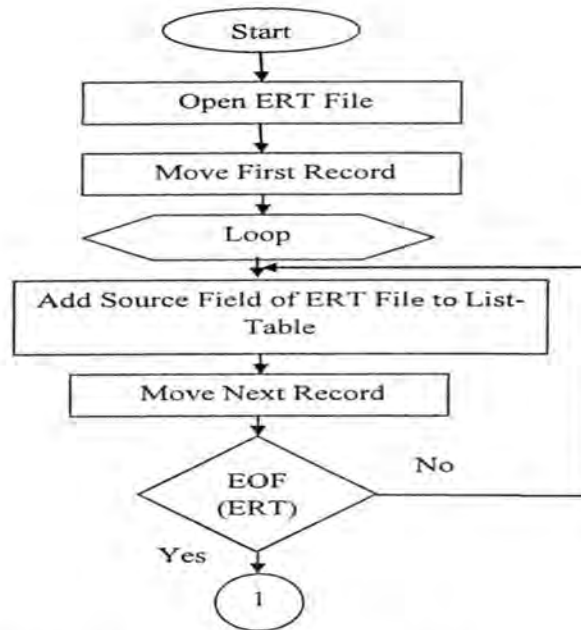


Figure -3:Repeating Tables Name List

The program will delete the repeated item to produce list without repeating item. As shown in the following figure (4), the flowchart will execute when "Functional Dependency" option in menu bar is clicked.

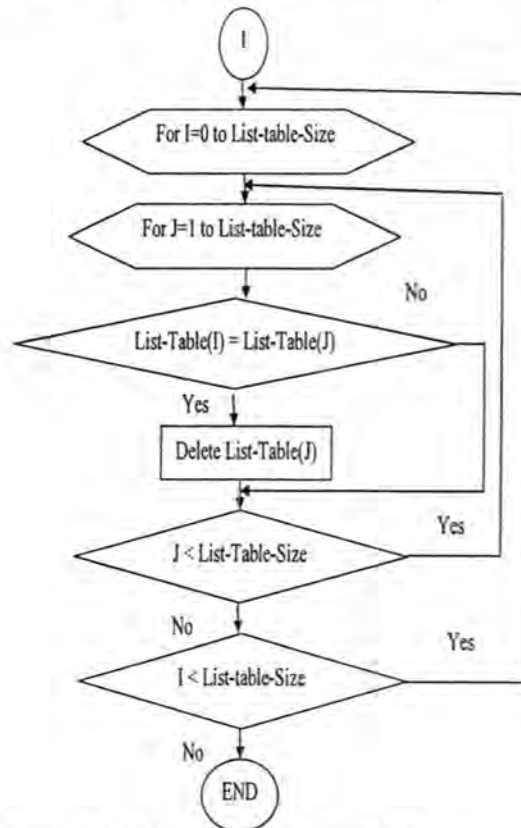


Figure -4: Unique Tables Name List

2- When the user selects an item from table list, the system will extract the related field from the ERT. This is done by match the selected item with ERT file. When the match is success; the system will check the source attribute (Sattrib) and destination attribute (Dattrib); since if the Sattrib is Entity (E) and Dattrib is Attribute (A); this means we get table's fields; then the field name will be added to field list Otherwise if the Sattrib and Dattrib both are entities (E) the system will move to next record in ERT. This process will continue until the system finds all fields. As show in the following figure (5).

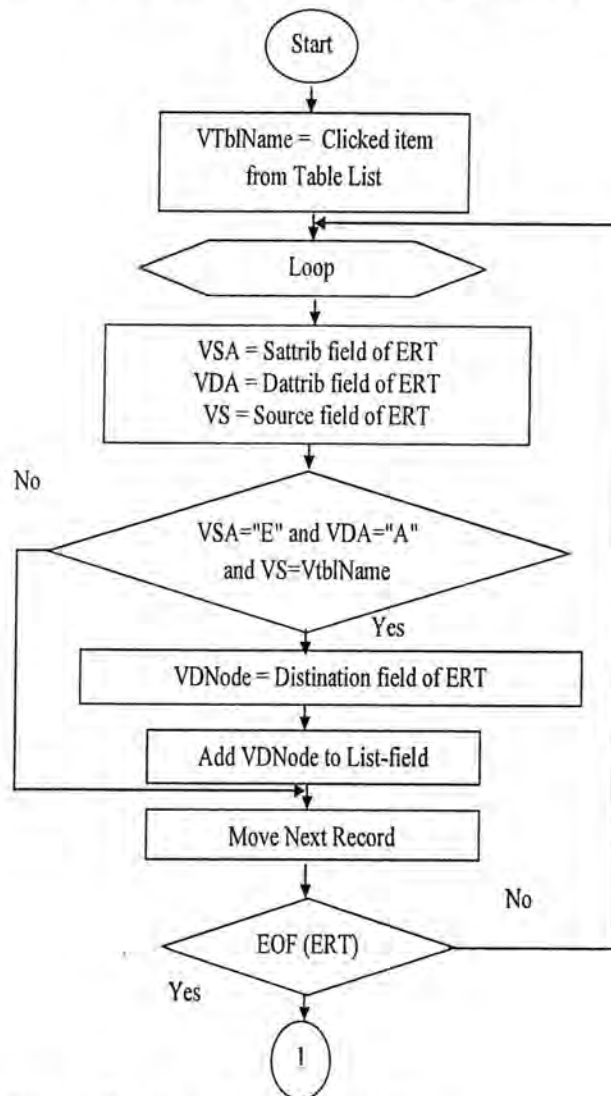


Figure -5: Field Name Extracting

3- The field name is a collection of primary key field and non primary key field, so we need to split them in order to compute the functional dependency. We use the mid and left functions to

get list for primary key field and non primary key field As shown in the following figure (6).

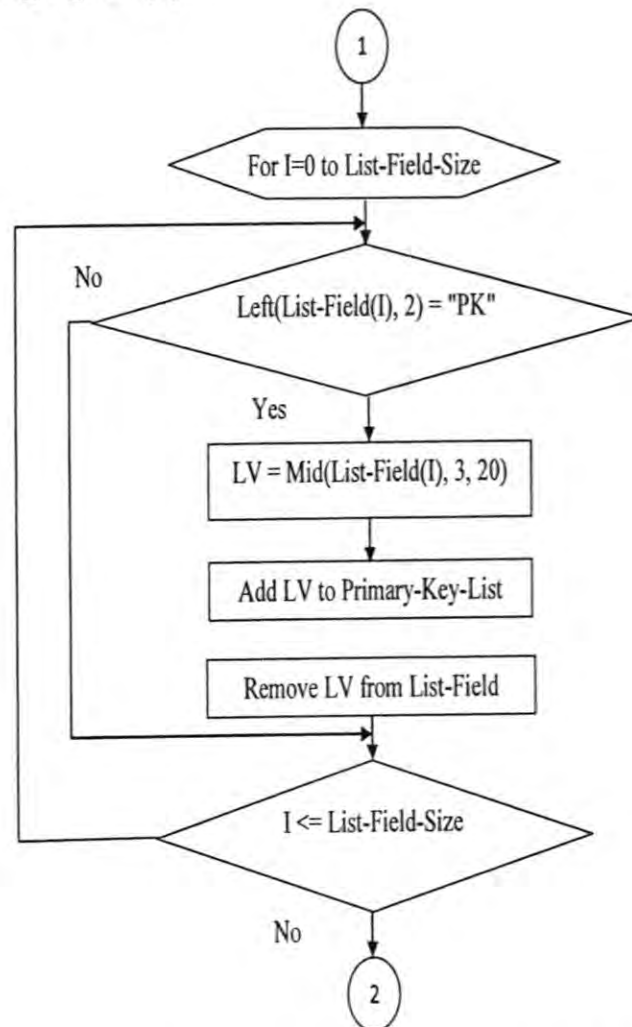


Figure-6:Primary Key Attribute List and Non Primary Key Attribute List

Now the functional Dependency is ready to display. The first loop will display the primary key list while the second loop, display the non key attribute list. As shown in the following figure (7).

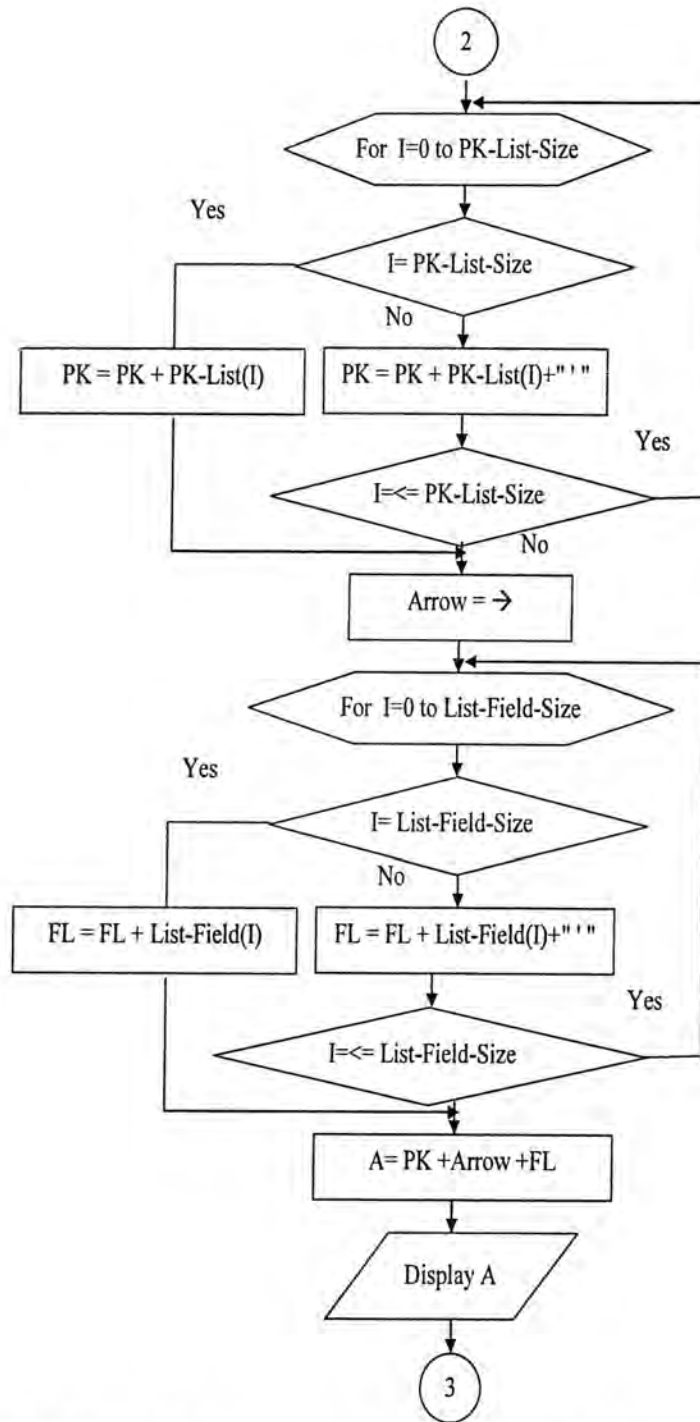


Figure-7: Display the Functional Dependency for Each Table

- 4- The last stage, the system will open the FD file and store table name, primary key attribute, non primary key attribute in FD Table (FDT). As shown in the following figure (8).

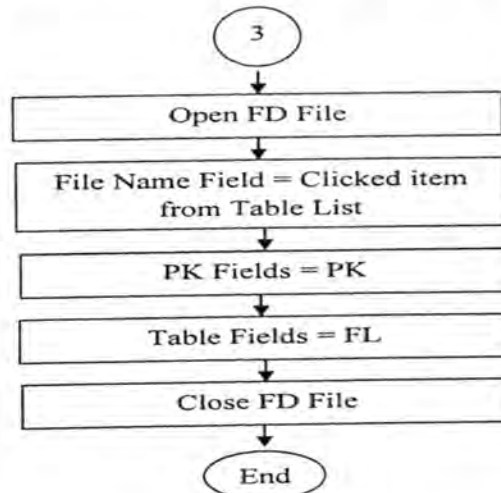


Figure -8: Functional dependency Table (FDT)

RESULTS AND DISCUSSIONS

The system has been implemented in Visual Basic language. When the user enters the following business rules:

Input Rules:

- Customer has Cust. No. , Cust. Name and Cust. Address
- Invoice has Inv No , Inv. Date and Inv. Amount

The program will ask from the user to select the primary key field from the complement group. The system will add prefix "PK" by click on the candidate field. As show in figure (9).



Figure -9: Adding Prefix "PK" to Candidate Attribute

The above changes on the complement group should take place on ERT. This is done by click on "Display ERT" button. The "Display ERT" will be disabled after click on it. As shown in the following figure (10).

Source Node	SNRT	SNT	Verb	Destination Node	DNRT	DNT
Customer	1	E	has	PK Cust. No.	1	A
Customer	1	E	has	Cust. Name	1	A
Customer	1	E	has	Cust. Address	1	A
Invoice	1	E	has	Inv No	1	A
Invoice	1	E	has	Inv. Date	1	A
Invoice	1	E	has	Inv. Amount	1	A



Figure -10: ERT in 1NF with PK

The system will extract the functional dependency for Customer and Invoice table as show in following figure.

FD Table		
Table Name	PK Fields	Table Fields
Customer	Cust. No.	Cust. Name ,Cust. Address
Invoice	Inv No	Inv. Date ,Inv. Amount



Figure -11:FDT for Customer and Invoice Table

The following example illustrates the steps in 2NF.

Input Sentences:

Project has Proj. Name and Proj. Num.

Employee has Emp. Num. , Emp. Name , Emp. Job and Emp. Charge Hour .The following example illustrate the complement field list before click event

Improve Entity Relationship Table (ERT)

Enter your sentence:

Project has Proj. Name and Proj. Num.

Subject Group	Verb Group	Complement Group
Project	has	Proj. Name Proj. Num.

Figure-12: Before Click Event

After the user click on candidate attribute, the system will add prefix "PK" and move candidate attribute to first location in the list.

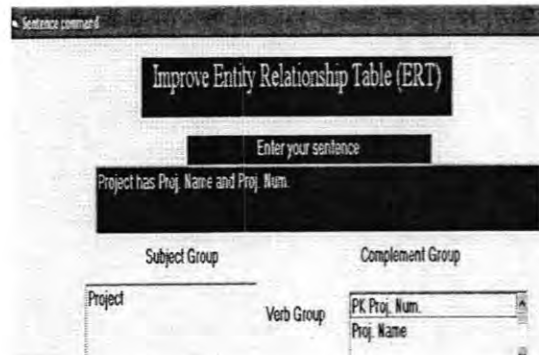


Figure -13: After Click Event

The system will generate an ERT in 2NF as the following figure.

Source Node	SNRT	SNT	Verb	Destination Node	DNRT	DNT
Project	1	E	has	PK Proj. Num.	1	A
Project	1	E	has	Proj. Name	1	A
Employee	1	E	has	PK Emp. Num.	1	A
Employee	1	E	has	Emp. Name	1	A
Employee	1	E	has	Emp. Job Class	1	A
Employee	1	E	has	Emp. Charge Hour	1	A

Display ERT

Figure -14: ERT in 2NF with PK

The following figure illustrates the problem of transitive dependency (3NF).

Source Node	SNRT	SNT	Verb	Destination Node	DNRT	DNT
Employee	1	E	has	PK Emp. Num.	1	A
Employee	1	E	has	Emp. Name	1	A
Employee	1	E	has	Emp. Job Class	1	A
Job	1	E	has	PK Emp. Job class	1	A
Job	1	E	has	Emp. Charge Hour	1	A

Display ERT

Figure -15: ERT in 3NF with PK

The following figure illustrates the case if some field depends on two primary key.

Input Sentence:

Assignment has Proj. Num. , Emp. Num. and Assign Hours

Source Node	SNRT	SNT	Verb	Destination Node	DNRT	DNT
Assignment	1	E	has	FK Emp. Num.	1	A
Assignment	1	E	has	FK Proj. Num.	1	A
Assignment	1	E	has	Assign Hours	1	A

Figure -16: ERT with more than PKs

The window of FD appears when click on "Functional Dependencies" menu bar option, the system produces function dependency, by click on table name in table name list. As shown in the following figure.

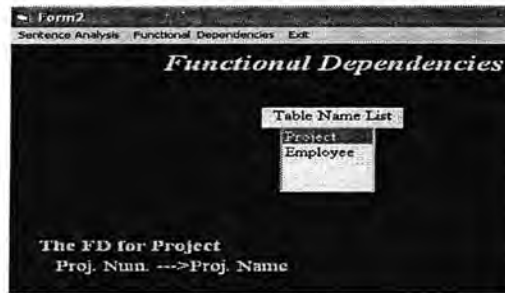


Figure -17: FD for Project Table

The table name, primary key attribute and non primary key attribute will be saved on table called Functional Dependency Table

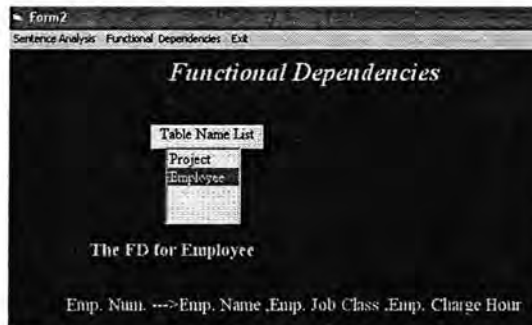


Figure -18: FD for Employee Table

The table name, primary key attribute and non primary key attribute will be saved on table called Functional Dependency Table (FDT). As shown in following figure. The content of FDT displayed when click on "Display FD" command button.

FD Table		
Table Name	PK Fields	Table Fields
Employee	Emp. Num.	Emp. Name, Emp. Job Class, Emp. Charge Hour
Project	Proj. Num.	Proj. Name

Display FD

Figure -19: FDT for Employee and Project Tables

the following figure present the FD between Employee and Job tables

FD Table		
Table Name	PK Fields	Table Fields
Employee	Emp. Num.	Emp. Name, Emp. Job Class
Job	Emp. Job class	Emp. Name, Emp. Job Class

Figure-20: FDT for Employee and Job Table

CONCLUSIONS

Two points are concluded from this paper. First, the normalization rules is a complex process, this paper illustrates how we can apply the normalization process through business rule. Second, the system can be used as a learning program to extract the FD for each table.

The FDT are very useful to convert the business rules into real world presentation (Database), this is done by building program that take input from FDT to create new tables and relationship based on primary key.

REFERENCES

1. Maitham A. Naji, Iraqi Journal of Computers, Communication, Control and Systems Engineering , Vol. 11, No. 2, 79, (2011)
2. Rob, Morris, Coronel, Database Systems: Design, Implementation, and Management, P.675, 2010, McGraw- Hill Edition, USA.
3. C. J. Date, The Relational Database Dictionary, P.215, 2007, Trafford Publishing, USA
4. Nick Snowdow, Oracle Programming with Visual Basic, P.715, 2002, SYBEXInc, USA
5. "Relational Database Management for Epidemiologists: Normalization"; *on line document at [www.idready.org / rdbms / database-Normalization.pdf](http://www.idready.org/rdbms/database-Normalization.pdf)*
6. John Carter, Database Design and Programming with Access, SQL and Visual Basic, P.483, 2000, McGraw-Hill Publishing Company, USA
7. David Adams, Dan Beckett, Normalization is a nice theory, *on line document at [www.4dcompaion.com/ downloads /papers/normalization. pdf.](http://www.4dcompaion.com/downloads/papers/normalization.pdf)*

Vol. 24
No. 2
2013

مجلة علوم المستنصرية

تصدر عن كلية العلوم الجامعة المستنصرية

رئيس التحرير
أ.د. رضا ابراهيم البياتي

هيئة التحرير

عضوا
عضوا
عضوا
عضوا
عضوا
عضوا
عضوا
عضوا

د. انعام عبد الرحمن ملوكي
د. فاتن فاضل القزاز
د. ايمان ناطق ناجي
د. احمد عزيز احمد
د. منعم حكيم خلف
د. عمر عباس حسن
د. كريم قاسم حسين
د. سعد عويد بديوي

الهيئة الاستشارية

رئيسا
عضوا
عضوا
عضوا
عضوا
عضوا

أ. د. طارق صالح عبد الرزاق
أ. د. حسن هاشم سلمان
أ. د. طارق سهيل نجم
أ. د. علي حسين دحية
أ. د. عبد المنعم صالح رحمن
أ. د. ليلى صالح العلي

مجلة علوم المستنصرية

هي مجلة علمية رصينة تصدر عن عمادة كلية العلوم في الجامعة المستنصرية في تخصصات الكيمياء والفيزياء وعلوم الحياة وعلوم الحاسبات وعلوم الجور. تقوم المجلة بنشر البحوث العلمية التي لم يسبق نشرها في مكان آخر بعد إخضاعها للتقويم العلمي من قبل مختصين وباللغتين العربية او الانكليزية وتُصدر المجلة عددين سنوياً بكلا اللغتين.

تعليمات النشر في المجلة

1. يقدم الباحث طلباً تحريرياً لنشر البحث في المجلة ويكون مرفقاً بأربع نسخ من البحث مطبوعة على ورق ابيض قياس (A4, 21.6×27.9 cm) مع ترك حاشية بمسافة انج واحد لكل اطراف الصفحة ومطبوعة بأستخدام برنامج (Microsoft Word, 97-2003) بصيغة (doc.).
2. يرفق مع البحث ملخص باللغة العربية وآخر باللغة الإنجليزية على ان لا تزيد كلمات الملخص عن (150) كلمة.
3. عدد صفحات البحث لا تتجاوز 10 صفحة بضمنها الاشكال والجداول على ان تكون الاحرف بقياس 14 نوع (Time New Roman) وبمسافة مزدوجة بين الاسطر. وينبغي ترتيب اجزاء البحث دون ترقيم وبالخط العريض (Bold) كالاتي: صفحة العنوان، الخلاصة باللغة العربية، الخلاصة باللغة الإنجليزية، مقدمة، المواد وطرائق العمل (الجزء العملي)، النتائج والمناقشة، الاستنتاجات وقائمة المراجع.
4. يطبع عنوان البحث واسماء الباحثين (كاملة) وعناوينهم باللغتين العربية والانكليزية على ورقة منفصلة شرط ان لا تكتب اسماء الباحثين وعناوينهم في أي مكان اخر من البحث، وتعاد كتابة عنوان البحث فقط على الصفحة الاولى من البحث.
5. ترقم الجداول والأشكال على التوالي حسب ورودها في المخطوط، وتزود بعناوين، ويشار إلى كل منها بالتسلسل نفسه في متن البحث.
6. يشار الى المصدر برقم يوضع بين قوسين بمستوى السطر نفسه بعد الجملة مباشرة [1]، [2]، [3] وهكذا. تطبع المصادر على ورقة منفصلة، ويستخدم الاسلوب الدولي المتعارف عليه عند ذكر مختصرات اسماء المجلات.
7. يتبع الاسلوب الاتي عند كتابة قائمة المصادر على الصفحة الاخيرة كالاتي: ترقيم المصادر حسب تسلسل ورودها في البحث، يكتب الاسم الاخير (اللقب) للباحث او الباحثين ثم مختصر الاسمين الاولين فعنوان البحث، مختصر اسم المجلة، المجلد، العدد، الصفحات الاولى والاخيرة، سنة نشر البحث. وفي حالة كون المصدر كتاباً يكتب بعد اسم المؤلف او المؤلفين عنوان الكتاب، الطبعة، الصفحات، سنة النشر، المؤسسة الناشرة، الدولة مكان الطبع. بخصوص اجور النشر يتم دفع مبلغ (50000) خمسون الف دينار عند تقديم البحث للنشر وهي غير قابلة للرد ومن ثم يدفع الباحث (25000) عشرون الف دينار اخرى عند قبول البحث للنشر.

جميع البحوث ترسل الى:

رئيس تحرير المجلة

أ.د. رضا ابراهيم البياتي

كلية العلوم- الجامعة المستنصرية

البريد الالكتروني: mustjsci@yahoo.com

المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
14-1	بعض تأثيرات الغازات السامة على صحة العاملين في معامل طبوق النهر وان- جنوب شرق بغداد اصال غازي حسين الشمري و كاظم عبدالامير محسن الزبيدي
20-15	دراسة التأثيرات المرضية لبكتريا <i>Aeromonas hydrophila</i> على انسجة اعضاء الحيوان المختبري رشا محمد ساجت العكيلي
28-21	تأثير بعض منظمات النمو في إكثار نبات <i>Thevetia peruviana</i> خارج الجسم الحي صلاح قدوري محمود الهاشمي
36-29	دراسة مصلية ونسجية عن بكتريا <i>Helicobacter pylori</i> في المرضى المصابين بالقرح المعدية وتأثير العمر والجنس في الإصابة نادية عامر صادق حسن النعيمي و كاظم هاشم زوين و سراب خاشع جميل
44-37	اتلاف مبيد الزئبق العضوي (FALISAN 1,5) اسامة عبد المجيد عبد الهادي وكنعان محمد توفيق و علي حسين علي و احسان نصيف
60-45	دراسة رسوبية الى تكوين زارزارتين (ترياسي اوسط) في حوض مرزق ، منطقة العوينات – جنوب ليبيا مزاحم عزيز باصي

بعض تأثيرات الغازات السامة على صحة العاملين في معامل طابوق النهروان - جنوب شرق بغداد

اصال غازي حسين الشمري و كاظم عبدالامير محسن الزبيدي
الجامعة المستنصرية - كلية العلوم - قسم علوم الحياة

تاريخ تقديم البحث 2012/6/10 - تاريخ قبول البحث 2013/2/26

ABSTRACT

This study was conducted on the workers in the Nahrawan Bricks Factories (75 workers and control group of 20 persons not workers), The aim is to find out some of the health effects from the exhaust poisoning gases on workers. Those gases were released due to the burning fuel of crude oil and even the lubricate oil wastes of heavy machines and vehicles. Changes in some blood and chemical parameters were used as an indicator of the effect range of those gases. The chemical parameters in blood serum used were: - Glucose; Urea; Creatinine ; Sodium ; Cholesterol and Triglycerides. The special kits were used for the analysis to determine their concentration changes. Results show that glucose concentration was decreased significantly from 5.64 to 3.23 mmol / L. While Urea have increased significantly from 3.37 to 4.61 mmol/L. also the creatinine ; Sodium and Triglycerides were significantly increased from (53.03 to 87.21) ; (141.3 to 143.6) and (1.33 to 2.33) mmol /L respectively. The cholesterol concentration shows not significant slight decrease from (5.12 to 4.60) mmol /L. Statistical analysis was used with t test under probability < 0.001 for comparison between workers and control group in each parameter. Mean concentrations; S.D. and S.E. were also used. Results were discussed and compared with other related studies.

الخلاصة

اجريت الدراسة على العاملين في معامل طابوق النهروان (75 عاملا ومجموعة ضابطة مكونة من 20 من غير العاملين فيها من أعضاء الهيئة التدريسية في كلية العلوم للمقارنة) لمعرفة بعض التأثيرات الصحية للغازات المنبعثة من استخدام و حرق النفط الاسود وحتى مخلفات الدهون المستخدمة في المكائن والسيارات على العاملين فيها. وقد استخدمت التغيرات لبعض الدلائل الدموية والكيميائية وسيلة لمعرفة مديات التأثير وشملت الدلائل الكيميائية في مصل الدم: سكر الكلوكوز واليوريا والكرياتنين والصوديوم والكولسترول والكليسيرات الثلاثية. وقد استخدمت الكتات Kits الخاصة بكل دليل للتحليل ومعرفة نسبته. وقد اظهرت النتائج ان معدل سكر الكلوكوز قد انخفض بشكل معنوي لدى العاملين من 5.64 الى 3.23 مليمول / لتر بينما ارتفعت اليوريا من 3.37 في المجموعة الضابطة الى 4.61 مليول / لتر عند العمال ، وكذلك ارتفعت نسب الكرياتنين والصوديوم والكليسيرات الثلاثية من (53.03 الى 87.21) و (141.3 الى 143.6) و (1.33 الى 2.33) مليمول / لتر على التوالي. اما الكولسترول فقد انخفض بشكل طفيف وغير معنوي لدى العاملين من (5.12 الى 4.60) مليمول / لتر . وقد استخدمت قيمة t الجدولية عند احتمالية < 0.001 لمعرفة معنوية الفروقات بين مجموعة العمال والمجموعة الضابطة من غير العاملين فيها، كذلك المعدل الحسابي والانحراف المعياري S.D. والخطأ القياسي S.E. وقد تمت مناقشة النتائج بضوء الابحاث ذات العلاقة.

المقدمة

ادى التطور الهائل في مختلف المجالات المتعلقة باحتياجات الفرد والمجتمع في العصر الحديث، الى ظهور العديد من المشاكل المهمة في مجال التلوث البيئي ولمختلف العناصر البيئية المتمثلة بالهواء والماء والتربة، إذ صاحب التقدم العلمي انتاج العديد من المركبات الكيميائية الضارة بالبيئة، فمع التوسع في استخدامات الوقود من فحم و نפט وغاز طبيعي في مجالات الحياة المختلفة، انتشرت في البيئة التي نعيش فيها العديد من ملوثات الهواء كالغازات الناتجة من احتراق الوقود والنشاطات الصناعية المختلفة، التي شملت أكاسيد كربونية و نتروجينية وكبريتية،

اصال و كاظم

كما أدى الاحتراق غير الكامل للوقود إلى تصاعد مُركّبات هيدروكربونية(عضوية) .
وأنتشار الدقائق العالقة particulates فننتج عن ذلك تلوث الهواء المحيط بنا (1).
إن الإنسان قد يصبر على الجوع والعطش اياماً لكنه لا يصبر على انعدام الهواء أو فساده أكثر
من دقائق معدودة، وهذه الحاجة المستمرة للهواء تجعل الاختيار أمام الإنسان معدوماً إذ لا بد أن
يتنفس الهواء المتوفر مهما كانت نوعيته ودرجة تلوثه. ويعد التلوث البيئي في الوقت الحاضر
من المشاكل العالمية الرئيسية التي تحظى باهتمام شعوب الأرض والتي تسبب قلق البشرية
وهي تعاني منها الكثير حالياً وقد يسبب تدهورها مستقبلاً (2، 3). فهي تؤدي إلى إفساد
خصائص النظام البيئي (4). ان التأكيد المتزايد في الآونة الأخيرة على مشكلة التلوث قد يشير
إلى حدوث تغيرات مفاجئة في البيئة (5). إن أكثر المناطق تضرراً بالتلوث الجوي هي تلك
المحيطة بالمصانع المنتجة لأكاسيد الكبريت و النتروجين و الفلوريد والدقائق الغبارية ومنها
مصانع الأسمنت (6). وقد تناولت العديد من الدراسات والابحاث هذه الظاهرة وتأثيراتها على
صحة الانسان (7,8,9,10,11).

وفي بلدنا العراق تتعرض شريحة واسعة من العاملين في المعامل وخاصة تلك التي تعمل في
معامل صناعة الطابوق البدائية والعاملين في الافران الحجرية (المخابز) لمخاطر كبيرة تتمثل
في استخدام هذه المصانع للنفط الاسود أو حتى زيوت المحركات المستخدمة في معامل الطابوق
أو النفط الابيض في بعض الافران والمخابز ، فالمخاطر تتمثل في استنشاق العاملين في هذه
المواقع للغازات المنبعثة من احتراق النفط الاسود والزيوت المستخدمة والنفط الابيض والتي
تحمل غازات وابخرة سامة كثيرة ومنها أول اوكسيد الكربون CO وثاني اوكسيد الكربون CO₂
واكاسيد الكبريت SO_x واكاسيد النتروجين NO_x وغيره من الابخرة حيث اثبت في دراسة
(12) ، ان التعرض لأول اوكسيد الكربون يسبب الامراض القلبية الوعائية .

لذلك طبقت هذه الدراسة على العاملين في معامل الطابوق الموجودة في مدينة النهران والتي
تقع جنوب شرق العاصمة بغداد بحوالي 35 كيلو متر. بهدف توعية المجتمع ولفت انظار
المسؤولين عن هذه الاخطار وضرورة استبدالها بأفران متطورة تعتمد الوسائل الحديثة كما في
الافران الاوتوماتيكية مع الاخذ بنظر الاعتبار استخدام وسائل الوقاية الصحية كالفلاتر أو ارتداء
الكمامات الخاصة.

المواد وطرائق العمل

1 - موقع الدراسة: Study site

تم جمع العينات من المتطوعين العاملين في معامل الطابوق الموجودة في مدينة النهران والتي
تقع جنوب شرق العاصمة بغداد والجزء الشمالي منها يقع بالقرب من ملتقى نهر ديالى مع نهر
دجلة وهي منطقة زراعية بالاصل وتحولت في عام 1988 الى مدينة وضواحي وهي تبعد عن
مدينة بغداد حوالي 35 كم ويبلغ طول المدينة حوالي 3 كم ويسكنها حوالي 150000 الف نسمة
وهي تضم أكبر مجمعات لصناعة الطابوق تقدر بحوالي أكثر من 300 معمل وكل معمل يضم
40- 50 شخص يتوزعون بين الادارة وعمال النقل والتنظيف والتصنيع وتقدر طول فترة العمل
اليومية من 12-16 ساعة بين أكوام الطابوق وسعير النيران والغازات الخائقة وكل هذه المعامل
تعتمد الاساليب القديمة في صناعة الطابوق فيما يؤثر سلباً على صحة العاملين وعلى البيئة
المحيطة بالمعامل.

2 المواد والاجهزة المستخدمة : Materials & Equipment's

1-2 المواد الكيماوية Chemical compounds

ان المواد التي استخدمت في الدراسة تم الحصول عليها جاهزة على شكل عدة
قياس standard kits ومن مناشئ اجنبية مختلفة كما موضحة في الجدول (1)

جدول-1: العدد المستخدمة في القياسات الخاصة بالدراسة

ت	اسم العدة	المنشأ
1-	عدة فحص الكلوكوز	linear chemicals (اسبانيا)
2-	عدة فحص اليوريا	Bio System (اسبانيا)
3-	عدة فحص الكرياتينين	Reactifs biolabo (فرنسا)
4-	عدة فحص الصوديوم	Stanbio Laboratory (فرنسا)
5-	عدة فحص الكوليسترول	linear chemicals (اسبانيا)
6-	عدة فحص الكليسيرات الثلاثية	Bio System (اسبانيا)

2-2 الاجهزة المستخدمة The Equipment's

تم استخدام العدد التشخيصية الخاصة بالفحوصات (Kits) مختلفة لقياس المتغيرات الكيموحيوية والسريرية وكما موضح في الجدول (2)

جدول-2: الاجهزة والمواد المستخدمة في القياسات الخاصة بالدراسة الحالية حسب المنشأ

ت	اسم الجهاز	المنشأ
1	جهاز الطرد المركزي centrifuge من شركة Shimadzo	اليابان
2	جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer	المانيا
3	حمام مائي water bath من شركة memmert	المانيا الشرقية
4	جهاز MS9 (Melet Schloesing Laboratoires) لقياس تعداد WBC, RBC ونسبة Hb	فرنسا
5	جهاز دوار Rotator	نيوزلندا
6	مجدة عتار	العراق
7	انابيب جمع الدم Plain tube من شركة (Afma Dispo)	الاردن
8	ماصات دقيقة Micropipette من نوع Oxford وباحجام مختلفة	المانيا
9	انابيب مانعة للتخثر EDTA من شركة (Afma Dispo)	الاردن
10	محقنة نبيذة Disposable syringes من شركة (Asia medical) (instrument rotational)	مصر

3- جمع العينات Collection of Blood samples

تم سحب حجم الدم المسحوب (5) مل من الاشخاص الاصحاء والمرضى حيث شملت الدراسة على 95 عينة بواقع (75) عينة للمرضى و(20) عينة للاصحاء (المجموعة الضابطة) والذين هم من اعضاء الكادر التدريسي بكلية العلوم. حيث تم اخذ الدم من الاشخاص المتطوعين من العاملين في معامل الطابوق بعد الذهاب الى مكان عملهم و بعد التعرف على وضعهم الصحي عن طريق استمارة احتوت على اسئلة طرحت عليهم عند اخذ العينة وشملت هذه الاسئلة العمر وطول فترة الاشتغال بمعامل الطابوق ومعرفة ما اذا كانت هذه الفترة مستمرة او منقطعة ومعرفة ما اذا كان الاشخاص يعانون من أي امراض ممكن ان تؤثر على نتائج الفحوصات.

4 - معاملة عينات الدم: Treatment of blood samples

تم فصل وتحليل العينات عن طريق تجزئة عينات الدم استنادا الى نوع الفحص حيث وضع (2مل) من الدم المسحوب في انابيب بلاستيكية ذات اغطية و حاوية على مادة مانعة للتخثر (EDTA) وذلك لغرض اجراء فحوصات حساب عدد كريات الدم البيضاء وكريات الدم الحمراء وقيمة الهيموغلوبين وعدد الصفائح الدموية ومعدل خلايا الدم المرصوفة ومعدل حجم الخلايا الحمر.

اما المتبقي من الدم المسحوب والبالغ (3مل) فقد وضع في انابيب بلاستيكية Plain tube ذات غطاء محكم وخالية من المادة المانعة للتخثر ثم وضعها في جهاز الطرد المركزي لمدة عشرة دقائق وبسرعة 3000دورة/ دقيقة وتم سحب المصل الخالي من كريات الدم الحمراء بواسطة

اصال و كاظم

الماصة الدقيقة Micropipette ثم وضعت في انابيب معقمة ونظيفة وحفظت في درجة حرارة 20 - لحين استخدامها في الفحوصات الكيميائية كما هو متعارف عليه.

5- الفحوصات الكيميائية: Chemical test

1-5 تقدير كلوكوز الدم في مصل الدم Glucose blood determination in blood serum

تم تقدير سكر كلوكوز في بلازما الدم بالطريقة الأنزيمية Enzymatic method وذلك باستخدام عدة تشخيصية مجهزة من قبل شركة linear chemicals المصنع في أسبانيا وحسب الطريقة المثبتة من قبلها . يتألف ال Kit من ثلاثة عبوات تحتوي العبوة الأولى المحلول المنظم Buffer والعبوة الثانية الإنزيم Enzyme والعبوة الثالثة المحلول القياسي Standard

2-5 تقدير اليوريا في مصل الدم Urea blood determination in blood serum
تم تقدير اليوريا في مصل الدم بالطريقة الأنزيمية Enzymatic method وذلك باستخدام kit المجهز من قبل شركة Bio Systems المصنع في أسبانيا وحسب الطريقة المثبتة من قبلها . يتألف ال Kit من أربع عبوات تحتوي العبوة الأولى المحلول المنظم buffer والعبوة الثانية sodium hypochlorite والعبوة الثالثة الإنزيم والعبوة الرابعة المحلول القياس Standard .
3-5 تقدير نسبة الكرياتينين في مصل الدم Creatinine determination in blood serum

تم تقدير نسبة الكرياتينين في مصل الدم بالطريقة الحركية Kinetic method وذلك باستخدام عدة تشخيصية مجهزة من قبل شركة Biolabo Reagents (فرنسا) وحسب الطريقة المثبتة من قبلها . يتألف ال Kit من ثلاث عبوات ومكوناتها تتكون من :

Sodium Disodium phosphate. Picric acid. pH 4.0 and Creatinine hydroxid ,
Sodium dodecyl, Sulfate

4- 5 تقدير نسبة الصوديوم في مصل الدم Sodium determination in blood serum

تم تقدير نسبة الصوديوم في مصل الدم باستخدام عدة تشخيصية مجهزة من قبل شركة Stanbio Laboratory (فرنسا) وحسب الطريقة المثبتة من قبلها.

5- 5 تقدير مستوى الكوليسترول في مصل الدم Cholesterol determination in blood serum

تم تقدير مستوى الكوليسترول في مصل الدم عن طريق استخدام الطريقة الإنزيمية Enzymatic Method وذلك باستخدام عدة تشخيصية مجهزة من قبل شركة chemicals Linear المصنع في أسبانيا . يتألف ال kit من ثلاثة عبوات وتحتوي العبوة الأولى محلول منظم Buffer وتحتوي العبوة الثانية الإنزيم Enzyme والعبوة الثالثة تحتوي المحلول القياسي Standard والتي يجب حفظها في درجة حرارة 2- 8 م ° . لكي تبقى محافظة على خصائصها الكيميائية وفعاليتها .

5-6 تقدير مستوى الكليسيرات الثلاثية في المصل Triglycerides determination in blood serum

تم تقدير مستوى الكليسيرات الثلاثية في مصل الدم عن طريق استخدام الطريقة الإنزيمية Enzymetic Method وذلك باستخدام عدة تشخيصية مجهزة من قبل شركة Bio System (اسبانيا). يتألف ال kit من ثلاثة عبوات وتحتوي العبوة الأولى محلول منظم Buffer وتحتوي العبوة الثانية الإنزيم Enzyme والعبوة الثالثة تحتوي المحلول القياسي Standard والتي يجب حفظها في درجة حرارة 2- 8 م ° . لكي تبقى محافظة على خصائصها الكيميائية وفعاليتها .

النتائج والمناقشة

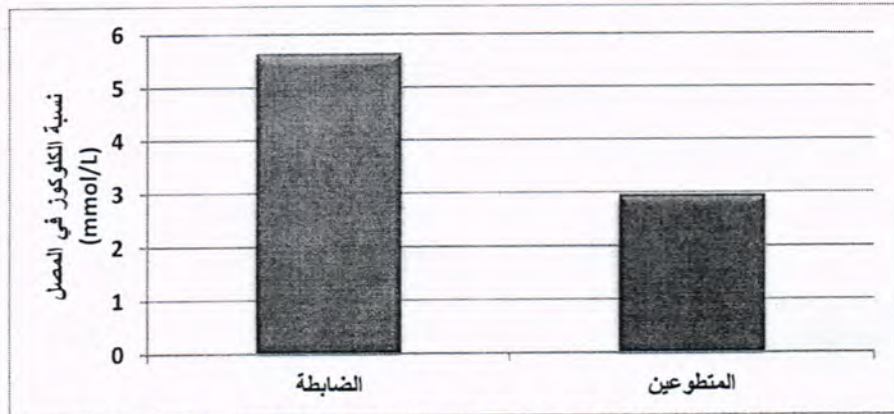
1- فحص سكر الكلوكوز في المصل بالنسبة للمتطوعين من العمال والمجموعة الضابطة (عدد من أعضاء الهيئة التدريسية في الكلية):

تم استخراج النتائج و تحليلها احصائيا عند مستوى احتمالية $P < 0.001$. وبالنظر الى التخطيط البياني يتضح لنا وجود فروق معنوية حيث ان نتائج الفحص تشير الى انخفاض مستوى السكر لدى المتطوعين من العمال بالمقارنة مع مجموعة السيطرة من خلال قيم المعدل والانحراف المعياري والخطأ القياسي كما في الجدول (3) والشكل (1) وكانت قيمة t المحسوبة 12.63 لدى درجة حرية 148.

جدول-3: النتائج الاحصائية لقياس نسبة الكلوكوز بالمصل للمجموعة الضابطة والمتطوعين

المجموعة	المعدل الحسابي Mean mmol/L	الانحراف المعياري S.D	الخطأ القياسي S.E
الضابطة	5.64	0.93	0.108
المتطوعين	3.23	0.69	0.08

$P < 0.001$



شكل-1: نسبة الكلوكوز بالمصل عند المتطوعين من العمال والمجموعة الضابطة

أن فترة أخذ العينة من العاملين لها تأثير كبير لأنها تراوحت بين الساعة الحادية عشر صباحا والواحدة ظهرا وهذه الفترة تعتبر فترة الذروة في الاشتغال بالنسبة للعمال حيث يكون قد مر من الوقت على تناولهم وجبة الافطار حوالي اكثر من خمس ساعات مع جهد عضلي مرهق. وهذا يتفق مع (13,14,15,16,17) حيث ذكروا ان مستوى السكر في الدم يهبط بعد تناول الطعام بخمس ساعات. بينما ذكر اخرون ان مستوى السكر في الجسم يهبط الى مستوى الصيام بعد 8 - 12 ساعة (18)

يضاف الى ذلك أن هذه الفترة تكون فترة عمل شديد يقوم العامل بها ببذل مجهود عضلي كبير وهذا المجهود يتطلب صرف طاقة و التي يعتبر الكلوكوز الموجود في الجسم اهم مصادرها ، لذلك يحصل هذا الهبوط في سكر الدم. مع العلم انه قد تم الاستفسار من العاملين عن عدم إصابتهم بمرض السكر سابقا.

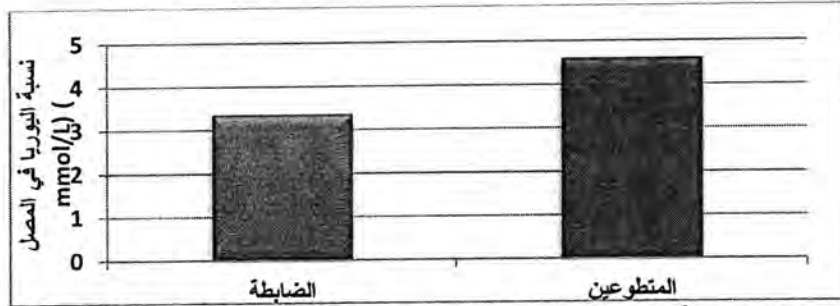
2- فحص اليوريا في المصل بالنسبة للمتطوعين من العمال والمجموعة الضابطة:

تم استخراج النتائج و تحليلها احصائيا مستوى احتمالية $P < 0.001$ وبالنظر الى التخطيط البياني يتضح لنا ان نتائج الفحص اصبح فيها تفاوت كبير حيث ارتفعت قيمة اليوريا ارتفاع قوي عند المتطوعين من العاملين بالمقارنة مع المجموعة الضابطة من خلال قيم المعدل والانحراف المعياري والخطأ القياسي كما في الجدول (4) والشكل (2) وكانت قيمة t المحسوبة 5.17 لدى درجة حرية 95.89.

جدول-4: النتائج الاحصائية لقياس نسبة اليوريا بالمصل بالنسبة للمجموعة الضابطة والمتطوعين

المجموعة	المعدل الحسابي Mean mmol/L	الانحراف المعياري S.D	الخطأ القياسي S.E
الضابطة	3.37	0.75	0.086
المتطوعين	4.61	1.93	0.223

P<0.001



شكل-2: نسبة اليوريا في المصل بين مجموعة المتطوعين من العمال والمجموعة الضابطة

من خلال عرض وتحليل نتائج إختبار اليوريا نلاحظ ان هناك فروق معنوية حيث إن هذه النسبة تزداد عند المتطوعين من العاملين بالمقارنة مع المجموعة الضابطة و يفسر ذلك بحصول إجهاد على الكليتين نتيجة التعرق وحرارة الجو . وبسبب قصر فترة التغذية الدموية الى الكليتين حيث ان نسبة الدم الواصل الى الكليتين يصل الى 22% من حجم الناتج القلبي بينما ينخفض هذا المقدار الى 1% خلال الجهد وظروف صرف الطاقة بسبب ذهاب نسبة كبيرة من الدم الى العضلات (19).

ومن جهة أخرى فإن التعرق الشديد الذي يتعرض له العامل في ظل أجواء معامل الطابوق يؤدي الى فقدان كمية من السوائل ومعه بعض مخلفات التمثيل الغذائي وهذا كله يعود الى الاجهاد العالي الذي يحصل للكليتين (19). وحسب Goldstein فإن نسبة اليوريا في الدم تزداد عند حدوث خلل في الكليتين (20).

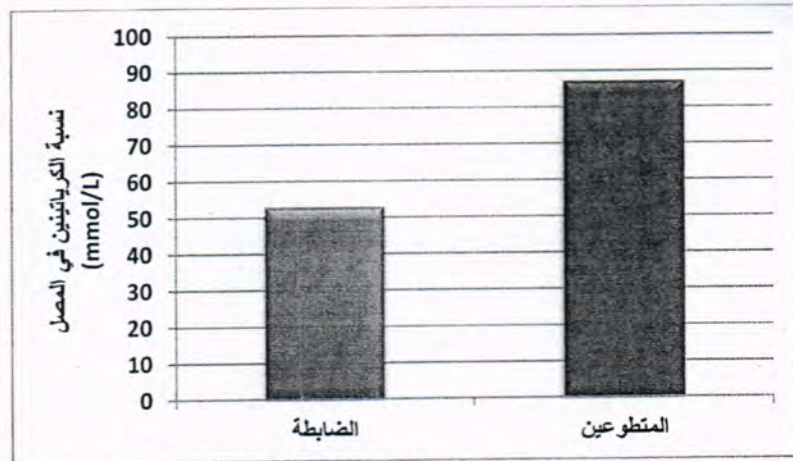
3- فحص الكرياتينين في المصل بالنسبة للمتطوعين من العمال والمجموعة الضابطة:

تم استخراج النتائج و تحليلها احصائياً عند مستوى احتمالية P<0.001 وبالنظر الى التخطيط البياني يتضح لنا ان نتائج الفحص اصبح فيها تفاوت كبير حيث ارتفعت قيمة الكرياتينين ارتفاعاً قوياً عند المتطوعين من العاملين بالمقارنة مع المجموعة الضابطة من خلال قيم المعدل والانحراف المعياري والخطأ القياسي كما مذكور في الجدول (5) وكانت قيمة t المحسوبة- 124.75 لدى درجة حرية 124.75

جدول-5: النتائج الاحصائية لقياس نسبة الكرياتينين بالمصل بالنسبة للمجموعة الضابطة والمتطوعين

المجموعة	المعدل الحسابي Mean mmol/L	الانحراف المعياري S.D	الخطأ القياسي S.E
الضابطة	53.03	6.31	0.728
المتطوعين	87.21	10.02	1.157

P<0.001



شكل-3: نسبة الكرياتينين في المصل بين مجموعة المتطوعين من العمال والمجموعة الضابطة

من خلال عرض وتحليل نتائج اختبار فحص الكرياتينين لوحظ وجود فرق معنوي كبير نتيجة ارتفاع نسبة الكرياتينين ارتفاعا ملحوظا عند المتطوعين من العاملين بالمقارنة مع المجموعة الضابطة ويُعزى هذا الارتفاع الى ان نسبة الكرياتينين تزداد عند حصول تأثيرات ضارة على القلب والأوعية الدموية (21)، وحسب ما ذكر (Thanas. et al 2010) فإن هذه الملوثات التي يتعرض لها العاملون في معامل الطابوق وجد إنها تؤثر على القلب والأوعية الدموية وتسبب ارتفاع ضغط الدم وإحتشاء عضلة القلب وإضطرابات التنفس (22). لقد أكد باحثون ان هناك زيادة في مقاومة الرئات لتيار الهواء الداخل (الشهيق) بعد فترة قصيرة من التعرض لثاني اوكسيد الكبريت SO_2 والذي هو احد الغازات المنطلقة من حرق الوقود المستعمل في معامل الطابوق (23) كما لوحظ ان التعرض الى (5-13 ppm) منه لمدة عشر دقائق تؤدي الى حصول مقاومة الرئات لدخول الهواء الى جسم الانسان (24). ان الحد الاعلى المسموح به في الولايات المتحدة الامريكية من SO_2 في الهواء الصحي هو (0.08 ppm) لمدة 24 ساعة و (0.5 ppm) لمدة ساعة واحدة.. كما أكد (Smith and Pattle) (25) ان التعرض الى 2 (5-ppm) من SO_3 يؤدي الى نفس المقاومة في رئات الانسان.

اما التعرض الى NO_2 بتركيز عالية فانه يؤدي الى حصول جروح وتهدم لرئات الفئران . وفي الانسان حددت هذه التأثيرات الحادة بالتعرض الى تراكيز 500 ppm حيث يؤدي الى التهابات حادة للممرات التنفسية او الى (Oedema) (26). اما الاوزون فان التعرض لتراكيز 0.7-0.9 (ppm) يؤدي الى خفض القدرة على اخذ الاوكسجين حيث انه يسبب خروج السوائل Fluid exudation في جدران الحويصلات الرئوية (27). وفي تجارب اخرى فان (0.7 ppm) منه يחדش المجاري الهوائية ويمنع اخذ النفس العميق، اما التراكيز الاعلى من الاوزون في هواء التنفس فانها تسبب تضيق المجاري التنفسية (28).

لقد وجد ان دخان السكائر يؤخر الشفاء من الاصابات الفيروسية الحادة للجهاز التنفسي ، ربما لانه يقلل من حركة الشعيرات ونشاطها المطلوب لتنظيف الممرات التنفسية (29). اما اول اوكسيد الكربون CO فان السواق عادة ما يحملون تراكيز عالية من COHb بالدم وذلك يعود الى شدة قابلية ال CO للاتحاد مع الهيموكلوبين لتكوين مركب Carboxyhaemoglobin الذي يمنع حمل الاوكسجين بواسطة الدم . التأثيرات الطبية التي تحصل في الجهاز العصبي غير معنوية عندما تكون النسبة اقل من 5% COHb لكن السواق يمكن ان يكون دمهم حاملا نسبة اعلى (30) (وكذلك الحال مع شرطة المرور. ان التعرض لنسبة COHb 10-25 % يسبب صداع ودوار وغثيان و Dizziness, Fatigue , headache كما ذكر Post-Lingen (31). ولقد اثبت ان التعرض الى ابخرة الديزل المحترق يؤدي الى زيادة كريات الدم البيضاء Neutrophils والصفائح الدموية Platelets كما ورد في (32).

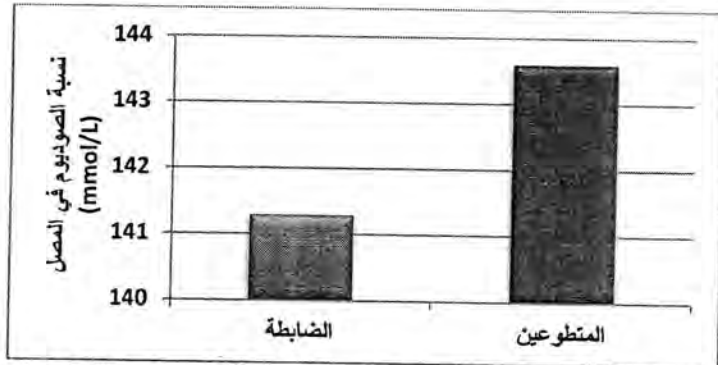
أما من وجهة نظر (Divix A. et al) (33) فإن ارتفاع نسبة الكرياتينين تكون بسبب الإجهاد وإعتماد الجسم على فوسفات الكرياتين المخزون في العضلات في حرق الطاقة مما يؤدي الى زيادة نسبة وجوده في الدم وتأخر معدل إزالته من قبل الكليتين.

4- فحص الصوديوم في المصل بالنسبة للمتطوعين من العمال والمجموعة الضابطة:
تم استخراج النتائج و تحليلها احصائيا مستوى احتمالية $P < 0.001$ وبالنظر الى التخطيط البياني يتضح لنا ان نتائج الفحص اصبح فيها ارتفاع في قيمة الصوديوم عند المتطوعين من العاملين بالمقارنة مع المجموعة الضابطة من خلال قيم المعدل والانحراف المعياري والخطأ القياسي كما في الجدول (6) والشكل (4) وكانت قيمة t المحسوبة 3.34-لدى درجة حرية 137.64.

جدول 6-النتائج الاحصائية لقياس نسبة الصوديوم بالمصل بالنسبة للمجموعة الضابطة والمتطوعين

المجموعة	المعدل الحسابي Mean mmol/L	الانحراف المعياري S.D	الخطأ القياسي S.E
الضابطة	141.3	3.64	0.421
المتطوعين	143.6	4.83	0.558

$P < 0.001$



شكل 4:نسبة الصوديوم في المصل بين مجموعة المتطوعين من العمال والمجموعة الضابطة

من خلال عرض وتحليل نتائج إختبار فحص الصوديوم نلاحظ ان هناك فروق معنوية حيث نلاحظ ارتفاع نسبة الصوديوم عند المتطوعين من العاملين بالمقارنة مع المجموعة الضابطة ويُعزى هذا الارتفاع نتيجة لارتفاع كمية التعرق الذي يحصل للعامل في ظل ظروف معامل الطابوق مما يؤدي الى فقدان سوائل الجسم نتيجة ارتفاع درجات الحرارة (34) ويؤكد ذلك ايضا (Ben Argch et al 980) حيث يوضح ان نسبة الصوديوم ترتفع بعد التعرض للمجهود الكبير وصرف الطاقة (35).

ان الجسم يستطيع مع مرور الوقت ان يتأقلم مع الجو الحار الموجود به ويقلل من فقدان السوائل نسبيا حيث يصبح لديه مايسمى بالتكيف الحراري وتتكيف الغدد العرقية على ان لا تفرز نفس الكمية السابقة من العرق بل تكون الكمية اقل وهذا يقود الى زيادة استيعاب هذه الغدد للصوديوم داخلها (37,36) وهذا ربما يفسر ماحصل في دراستنا عند المتطوعين من العاملين في معمل الطابوق حيث بسبب الوقت الطويل الذي يقضونه في الجو الحار للمعمل اعتاد جسمهم على تقليل التعرق وبالتالي قلة فقدان الصوديوم وهذا يفسر ارتفاع قيمة الصوديوم عندهم.

أما من وجهة نظر (38) فيذكر ان التعرق الشديد والحرارة اثناء العمل يؤديان الى فقد كميات من السوائل نتيجة استهلاكها من قبل العضلات وارتفاع في مستويات الصوديوم عند قلة الاوكسجين كما حاصل في بيئتنا دراستنا لأن زيادة التعرق تؤدي الى قلة كمية الادرار لأن كمية كبيرة منه تذهب الى العضلات لتعويض النقص الحاصل فيها.

كذلك من ضمن تكيفات الجسم المتعرض للأجواء الحارة باستمرار حدوث عمليات توازن لتجنب الفقد الحاد للصوديوم من الجسم عن طريق سيطرة الغدد العرقية على إفرازاتها وعلى كمية التعرق، حيث عند زيادة افراز الصوديوم عن طريق التعرق تقل كميته في الادرار وهذا يعني انه

إذا قلت كمية الصوديوم في الادرار تزداد نسبته في مصل الدم للمحافظة على مستواه ضمن الحدود الطبيعية او الاقرب للطبيعية في الجسم (39) .

5- فحص الكوليسترول بالمصل بالنسبة للمتطوعين من العمال والمجموعة الضابطة:

من خلال عرض وتحليل نتائج فحص الكوليسترول نجد ان نسبة الكوليسترول في المجموعتين ، المتطوعين من العاملين والمجموعة الضابطة هي ضمن الحد الطبيعي ولا توجد فروقات معنوية على الرغم من وجود إنخفاض طفيف غير مؤثر بالنسبة للمتطوعين من العاملين ويعتقد ان سبب هذا الانخفاض هو المجهود الذي يتعرض له الجسم حيث ان هذه الظروف يصاحبها هبوط بمستوى الكوليسترول مع تأثيرها بأبيض الاحماض الدهنية بالاضافة الى تأثيرها على الكاربوهيدرات (40) أي ان الاحماض الدهنية تمد الجسم بأحتياجاته من الطاقة مما يؤدي الى انخفاض مستوى الكوليسترول (41) ان المجهود العضلي يؤدي الى هبوط مستوى الكوليسترول بسبب زيادة اكسدته بالجسم وهذه النسبة تتأثر بنوع الدهون المتناولة وكمية تناولها حيث ان الدهون المشبعة تزيد من نسبة كوليسترول الدم.

جدول-7: النتائج الاحصائية لقياس نسبة الكوليسترول بالمصل بالنسبة للمجموعة الضابطة والمتطوعين

المجموعة	المعدل الحسابي Mean mmol/L	الانحراف المعياري S.D	الخطأ القياسي S.E
الضابطة	5.12	1.27	0.286
المتطوعين	4.60	1.14	0.209

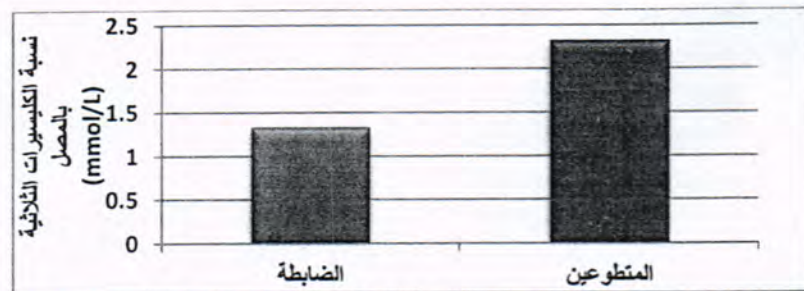
6- فحص الكليسيرات الثلاثية بالمصل بالنسبة للمتطوعين من العمال والمجموعة الضابطة:

من خلال عرض وتحليل نتائج اختبار فحص الكليسيرات الثلاثية وجد ان هناك فروق معنوية حيث نلاحظ ارتفاع القيمة عند المتطوعين من العاملين بالمقارنة مع المجموعة الضابطة وكتفسير لهذه النتيجة نشير الى ما ذكره (Glay) من ان زيادة الانسولين تزيد من تنشيط تخليق الكليسيرات في الكبد ويقلل من تحللها الى الاحماض الشحمية ،وبما ان زيادة الانسولين يسبب هبوط في مستوى السكر كما هو حاصل لدينا في دراستنا فهذا يفسر وجود ارتفاع في الكليسيرات الثلاثية (40).

جدول-8: النتائج الاحصائية لقياس الكليسيرات الثلاثية بالمصل بالنسبة للمجموعة الضابطة والمتطوعين

المجموعة	المعدل الحسابي Mean mmol/L	الانحراف المعياري S.D	الخطأ القياسي S.E
الضابطة	1.33	0.54	0.123
المتطوعين	2.33	1.64	0.300

P<0.001



شكل-5: قيمة الكليسيرات الثلاثية في المصل بين مجموعة المتطوعين من العمال والمجموعة الضابطة

نتائجنا جاءت متفقة مع كلا من (42,43) وذلك بأن الملوثات الغازية التي يتعرض لها العمال في معامل الطابوق تؤدي الى ارتفاع مستويات الكليسيرات الثلاثية وانخفاض في مستويات الكوليسترول.

ان الاجهاد العضلي والتوتر وصرف الطاقة تحفز الهرمون الهاضم للدهون Lipase الذي يعمل على هضم الدهون الموجودة في انسجة الجسم الى احماض دهنية وكليسيرول وكورتيزول(44،45،46)، زيادة هذه الاحماض الدهنية والكورتيزول يقود الى زيادة تحفيز الكبد لأفراز الانسولين مما يعمل على زيادة تخليق الكليسيرات الثلاثية والبروتين الشحمي (47). هذه الاثار المشتركة للكبد من إفراز الانسولين وزيادة تخليق الكليسيرات الثلاثية والبروتين الشحمي تؤدي الى تحول البروتين الشحمي الى نواقل Receptors للكوليسترول الموجود في مصل الدم مما يعمل على الارتباط بالكوليستيرول وتقليل كميته في مصل الدم (48). وهذا جاء متفقاً مع نتائجنا لفحص الكوليسترول والكليسيرات الثلاثية التي بينت انخفاض معدل الكوليسترول وارتفاع قيمة الكليسيرات الثلاثية.

المصادر

- 1- هاشم، باسم محمد، 2009، (قياس ودراسة تراكيز بعض الملوثات الهوائية في مدينة بغداد). رسالة ماجستير، علوم الجو / الجامعة المستنصرية، العراق.
- 2- العاني ، حكمت عباس ، صالح محمد مطلق ، فليح حسن الحديثي وخالد محمد عادل . 1976. تلوث البيئة في العراق . دراسات المؤتمر العلمي الثالث لجمعية علوم الحياة العراقية . الموصل . 30 آذار-3 نيسان .
- 3- احمد، ياسين محمد، 2006 ، (تأثير ملوثات الهواء لمعمل اسمنت ليلان-كركوك في نمو بعض مكونات النباتات المستزرعة والطبيعية) اطروحة دكتوراه ،كلية التربية ابن الهيثم/جامعة بغداد.
- 4- مسلم، ابراهيم احمد (1985). "التلوث". مطابع الجمعية العلمية الملكية، الاردن، الطبعة الاولى
- 5- H.M.Dix.1979, ترجم من قيل ادم، كوركيس عبدال. 1988 . التلوث البيئي. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة البصرة . دار الحكمة للطباعة . العراق 384 صفحة.
- 6- العاقل ، الصديق محمد واحمد عياد مقيلي وعلي عبد الكريم علي . 1990. تلوث البيئة الطبيعية. منشورات الجامعة المفتوحة . الطبعة الأولى. طرابلس . ليبيا. صفحة 185-190.
- 7- Vien Chinh Chien MD , Sanders Kim Chai MD, MPH Doan Ngoc Hai MD,2002.(Pneumoconiosis among workers in a Vietnamese refractory brick facility), American Journal of Industrial Medicine, Volume 42, Issue 5, pages 397-402.
- 8- Nyberg, Fredrik; Gustavsson, Per; Järup, Lars; Bellander, Tom; Berglind, Niklas ; Jakobsson, Robert ; Pershagen, Göran ,2000,(Urban Air Pollution and Lung Cancer in Stockholm), Epidemiology.j. Volume 11 - Issue 5 - pp 487-495.
- 9- Irene Brüske-Hohlfeld , Matthias Mühner , Hermann Pohlabein , Wolfgang Ahrens , Ulrich Bolm-Audorff , Lothar Kreienbrock , Michaela Kreuzer , Ingeborg Jahn , Heinz-Erich Wichmann and Karl-Heinz Jückerl ,2000, (Occupational Lung Cancer Risk for Men in Germany: Results from a Pooled Case-Control Study),2000, Epidemiol J,384:95-151.
- 10- Ann Geens Tom Dauwe; Lieven Bervoetsb, Ronny Blustb, Marcel Eensa2010,(Haematological status of wintering great tits (Parus

- major) along a metal pollution gradient), Science of The Total Environment Volume 408, Issue 5 , Pages 1174–1179.
- 11- Ovie Kori-Siakpere and EO, Ubogu, 2008, (Sublethal haematological effects of zinc on the freshwater fish, *Heteroclaris* sp.), African Journal of Biotechnology . Vol 7, No 12.
 - 12- Roberto M & Leo E.2010, The therapeutic potential of carbon monoxide, *Discovery J*.9:728-743.
 - 13- Azizi F. (1996) . Medical aspects of Islamic fasting. *Med j. Ir.*, 10: 241-246.
 - 14- Bagraicik N., Yumuk V., Damei t. , Ozyazar M. (1994). The effect of fasting on blood glucose fructos amine-insulin and c-peptide level in Ramadan. First international congress on health and Ramadan .j, 19-22, Casablanca morocco.
 - 15- Mafauzy M., Mohammed B., Anum Y. Zulkifli A. (1990). A study of fasting diabetic patients during the month of Ramadan *MedJ.malaya.*, 45:14-17.
 - 16- Niazi G., Al nasir F. (1997). The effect of Ramadan fasting on Bahraini patient with chronic disorders .second .int.congress on health and Ramadan .istanbul.turkey.
 - 17- AL-Nakhi A., AL arouj M., kandari A., Morad M. (1997). multiple insulin injection during fasting Ramadan in iddm patents .second international congress on health and Ramadan .Des.1-3, P77.
 - 18- Dolf De Boer, Christopher Ring, Matthew Wood, Caroline Ford, Nathan Jessney, David McIntyre, Douglas Carroll. 2012 (Time course and mechanisms of mental stress-induced changes and their recovery: Hematocrit, colloid osmotic pressure, whole blood viscosity, coagulation times, and hemodynamic activity), *Journal of nuclear Midicin*, 53,(5),731-740.21.
 - 19- Mcaerdle W.D, Katch, V.L, 2000 (Essentials of Exercise Physiology, Lippln Cott Willi & Wilkins), U.S.A .P(75-76).
 - 20- Goldstein L. (1977). Introduction to comparative physiology. association of smoking alcohol and physical activity with risk factor for CHD and diabetes in first follow.up cohort of heart disease and diabetes risk indicators in ascreened cohort studt .*Int.J.Med.*, 244(1):33-41.
 - 21- Areef Ishani, M D, MS; David Nelson, PhD; Barbara Clothier, MS, 2011, (The Magnitude of Acute Serum Creatinine Increase After Cardiac Surgery and the Risk of Chronic Kidney Disease, Progression of Kidney Disease, and Death Serum Creatinine Increase After Cardiac Surgery FREE), *Archives of internal Jornal.* ; 171(3):226-233.
 - 22- Thomas K. Aldrich, M.D., Jackson Gustave, M.P.H., Charles B. Hall, Ph.D., Hillel W. Cohen, Dr.P.H., Mayris P. Webber, Dr.P .H., Rachel

- Zeig-Owens, M.P.H., Kaitlyn Cosenza, B.A., Vasilios Christodoulou, B.A., Lara Glass, M.P.H., Fairouz Al-Othma M.D., Michael D. Weiden, M.D., Kerry J. Kelly, M.D., and David J. Prezant, M.D., 2010 (Lung Function in Rescue Workers at the World Trade Center after 7 Years). *N.Engl.* 362:1263-1272
- 23- Frank, N. R. and F. E. Speizer, 'SO₂ effects on the respiratory system in dogs', *Arch. Environ. Hlth.*, 11, 624-34, 1965.
- 24- Sim, V. M., and R. E. Pattle, 'Effect of possible smog irritants on human subjects', *J. Amer. Med. Assn.*, 165, 1908-12, 1957.
- 25- Freeman, G., S. C. Crane, R. J. Stephens and N. J. Furiosi, ,1968 'Environmental factors in emphysema and a model system with NO₂', *Yale J. of Biol, and Med.*, 40, 566-75.
- 26- Young, W. A., D. B. Shaw, and D. V. Bates, , 1964 'Effects of low concentrations of ozone on pulmonary function in man', *J. Appl. Physiol.*, 19, 765-8.
- 27- Bates, D. V., G. Bell, C. Burnham, M. Hazuvha, J. Mantha, L. D. Pengelly, and F. Silverman, , 1970 'Problems in studies of human exposure to air pollutants', *Canad. Med. Assn. J.* 103, 833-837.
- 28- Dalhamn, T. 1966 'Effects of cigarette smoke on ciliary activity', *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 93(3), 108-14.
- 29- Moureu, H., 'Carbon monoxide as a test for air pollution in Paris due to motor-vehicle traffic', *Proc. Roy. Soc. Med.*, 57, 1015-20, 1964.
- 30- Von Post-Lingen, M-L., 1964 'The significance of exposure to small concentrations of carbon monoxide', *Proc. Roy. Soc. Med.*, 57, 1021-9,.
- 31- Sundeep Salvi , Anders Blomberg , Bertil Rudell , Frank Kelly , Thomas Sandstrom , Stephen T. Holgate and Anthony Frew , 1999 . Acute Inflammatory Responses in the Airways and Peripheral Blood after Short-Term Exposure to Diesel Exhaust in Healthy Human Volunteers. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* March 1vol. 159 no. 3 702-709.
- 32- Divix A; Thomas K. 1988(The Olympic Boo; of sport Meolicin.Black We, Scientific Publication).P.94.
- 33-Maughan R.J: 1991(Fuild and Electrolyte loss and Replacement -33 in exercise) .*J.sport Sci*,9,P.119.
- 34- Ben Argch, 1982.Effect of Exercise on Salivary Composition and Carticel in Serum and Salivain maximal exercise .*Jama J.*.P1209.

- 35- Michael J. Buono, Kimberly D. Ball, and Fred W. Kolkhorst, 2007, (Sodium ion concentration vs. sweat rate relationship in humans), *Journal of Applied Physiology*, vol. 103 no. 3 990-994.
- 36- Graham P Bates and Veronica S Miller, 2008, (Sweat rate and sodium loss during work in the heat), *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 3:4 doi:10.1186/1745-6673-3-4.
- 37- Armstrong, Lawrence E. 2000, (Effects of dietary sodium intake on body and muscle potassium content in unacclimatized men during successive days of work in the heat), Thess, Ball State University.
- 38- T Hew-Butler, T D Noakes, S J Soldin, J G Verbalis, 2010, (Acute changes in arginine vasopressin, sweat, urine and serum sodium concentrations in exercising humans: does a coordinated homeostatic relationship exist?), *Br J Sports*; 44:710-715.
- 39- الرماحي، حسين علي، 1994، تأثير تدريب الحمل المستمر في بعض مؤشرات الدم الكيميائية الحياتية (رسالة ماجستير، جامعة البصرة، كلية التربية الرياضية)، ص 30.
- 40- Clay, F, Semen Kovich, Jay, W, Heineke, J, W, 1997. *Diabetes*. 46:323-327.
- 41- Chuang, Kai-Jen; Yan, Yuan-Hong MD; Cheng, Tsun-Jen MD, 2010, (Effect of Air Pollution on Blood Pressure, Blood Lipids, and Blood Sugar: A Population-Based Approach), *Journal of Occupational & Environmental Medicine*: - 52 3 - 258-262.
- 42- Qinghua Sun, MD, PhD; Xinru Hong, MD, PhD; Loren E. Wold, PhD, 2010, (Cardiovascular Effects of Ambient Particulate Air Pollution Exposure), *Circulation*; 121: 2755-2765.
- 43- Lennon ML and Rosenfeld S. 1992; Women and Mental Health: The interaction of job and family conditions. *J. Health Social Behavior*, 33: 316-327.
- 44- Brindley DN, McCann BS, Niaura R, Stoney CM and Suarez EC. Stress and lipoprotein metabolism: modulators and mechanisms. *Metabol. Clin. Exp.*, 1993; 42: 3-15.
- 45- Brindley DN and Salter AM. Hormonal regulation of the hepatic low density lipoprotein receptor and the catabolism of low density lipoproteins: Relationship with the secretion of very low density lipoproteins. *Prog. Lipid Res.*, 1991; 30:349-360.
- 46- Stoney CM, Hughes JW, Kuntz KK, West SG and Thornton LM. ., 2002 (Cardiovascular stress responses among Asian Indian and

- European American women and men). *Ann. Behavioral Med*; 24: 113-121.
- 47- Salter AM, Fisher SC and Brindley DN. 1987(Binding of low-density lipoprotein to monolayer cultures of rat hepatocytes is increased by insulin and decreased by dexamethasone). *FEBS Lett.*; 220: 159-162.

دراسة التأثيرات المرضية لبكتريا *Aeromonas hydrophila* على انسجة اعضاء الحيوان المختبري

رشا محمد ساجت العكيلي

قسم علوم الحياة /كلية العلوم/ الجامعة المستنصرية

تاريخ تقديم البحث 2012/9/13 - تاريخ قبول البحث 2013/2/26

ABSTRACT

In this study ,twenty isolates of *Aeromonas hydrophila* were isolated from (50) sample Tigres river water and identified by Api20 E system to biochemical examinations and identified roteny ,microscopical ,cultural to colonies . Group of mouse orally with *Aeromonas hydrophila* doses 10^8 cell / ml ,after 24 hour the animal were sacrificed. The histopathology changes on the mouse organ (stomach, intestine, liver) also study *Aeromonas hydrophila* caused a histopathogenic changes at 10^8 cell/ml. In stomach, the changes were represented by reduce of the thickness of epithelium, crown cell atrophy, infiltration of inflammatory cells, whease in the small intestine, we can see atrophy villi with infiltration of inflammatory cells and simple atrophy of mucosa . The liver was also affected , with nicrosis and death of hepatic cells .

الخلاصة

تم الحصول على (20) عزلة تعود لبكتريا *Aeromonas hydrophila* من بين (50) عينة مياه نهر دجلة وشخصت باستخدام نظام Api20 E لاجراء الفحوصات البايوكيميائية بالاضافة الى التشخيص الروتيني وملاحظة الصفات المظهرية والمجهريه للمستعمرات. تم تجريب مجموعة من الفئران بجرعة 10^8 خلية/ملييلتر من البكتريا *Aeromonas hydrophila* وبعد مرور 24 ساعة قتلت الحيوانات واخذت مقاطع من اعضاء الحيوان من معدة وامعاء وكبد و لوحظ التأثير في مقطع لنسيج المعدة المتمثل بضمور وتخر مع تقرح في السطح الجداري للمعدة مع تنسج في الغدة للمفاوية المعدية مع ارتشاح بسيط لخلايا التهابية. أما نسيج الامعاء فكان هناك قصرا في الزغابات المعوية وتخر في الطيات، بينما وجد في مقطع لنسيج الكبد تلف مع تنخر في الخلايا الكبدية necrosis منتشر مع انتشار خلايا التهابية .

المقدمة

جنس *Aeromonas* كان في السابق من عائلة Vibrionaceae بعدها وضع في عائلة جديدة هي Aeromonadaceae اهم واشهر نوع لهذا الجنس هو *Aeromonas hydrophila* تنتشر العائلة بصورة واسعة في الطبيعة ولاسيما في البيئات المائية مثل الانهار ومياه الصرف الصحي وماء الشرب والبحيرات كذلك توجد في الاغذية البحرية كالاسماك والروبيان (1,2,3) تكون بشكل عصيات سالبة لصبغة كرام وموجبة لفحصي الاوكسيديز والكتاليز Oxidase and catalase positive وسالبة لفحص اليوريز urease negative (4)، يفرق بينها وبين *Vibrio cholerae* بانها سالبة لفحص string test والاخيرة تكون موجبة تسبب البكتريا حالات مرضية عديدة منها التهاب المعدة والامعاء Gastroenteritis واسهال مائي وأنتان الدم Septicemia وتجرثم الدم Bacteremia وتلوث الجروح (5,6). هذه البكتريا تصيب المسنين والاطفال والمرضى الذين يعانون من نقص مناعي لانها تعد من الممرضات الانتهازية اذ توجد في الكائن الحي بشكل نبيت طبيعي، وتمتلك العديد من عوامل الضراوة التي لها دور في احدث الاصابات في الانسان والحيوان ومن هذه العوامل: cytotoxic and cytotoxic enterotoxins, aerolysins, haemolysins, proteases, and haemagglutinins (7) lipases,

المواد وطرائق العمل

جمع العينات

جمعت (50) عينة من مياه نهر دجلة ومن مناطق مختلفة في مدينة بغداد في قناني نظيفة ومعقمة ولمدة ستة أشهر من 2010/12/1 ولغاية 2011/6/1 .

عزل البكتريا *Aeromonas hydrophila* من العينات المائية..

يمرر كل نموذج خلال ورقة الترشيح $\mu\text{m}0.45$ بعدها توضع ورقة الترشيح على وسط Ampicillin dextrin agar مضاف اليه Supplement (مكمل) Ampicillin dextrin بحجم 1مل/1 لتر في اطاق وتحضن بدرجة حرارة 35م° لمدة 24 ساعة، بعد انتهاء فترة الحضانة تؤخذ منها مستعمرة وتزرع على وسط MacConkey's agar ووسط الاغار المغذي (8) .

تشخيص العزلات :-

شخصت عزلات بكتريا *Aeromonas hydrophila* اعتماداً على الفحوصات البايوكيميائية (4) والفحوصات المظهرية والزرعية للمستعمرات واختبرت حساسية العزلات تجاه للمضاد التشخيصي O129 واستخدام نظام Api 20 E لتأكيد التشخيص.

تحضير العالق البكتيري :-

تم زرع العزلات المراد تجريعها للحيوانات المختبرية في وسط تربتون صويا السائل (TSB) Trpton Soya broth وحضنت بدرجة حرارة 30م° لمدة 24 ساعة مع Shaking بعدها نبذ بالنبد المركزي وغسلت مرتين بالبفر PBS ثم علقت بالبفر نفسه وقورنت عكورة العالق مع ماكفرلاند رقم 0.5 للحصول على الجرعة (10^8) خليه/مليتر (10,9) .

اختبار الحيوانات المختبرية بتجريعها العالق البكتيري :-

استخدمت فئران من نوع Germ free mice وكانت بالغة بعمر 6-7 اسابيع وزنها 15-30 غرام، وحفظت الحيوانات في اقفاص، هيأت لها ظروف مختبرية 12 ساعة ظلام/12 ساعة ضوء وبدرجة حرارة 24م° ± 1 . اعطيت 200 مايكروليتر من العالق البكتيري باستخدام micropipet وجرعت عن طريق الفم (10,9). قتل الحيوانات بعد 24 ساعة من الاصابة (10,9,11,12). ازالة المعدة والامعاء الدقيقة والكبد لدراسة التأثيرات المرضية. غسل الامعاء بالبفر PBS لازالة البكتريا غير العالقة. اخذت اجزاء من الامعاء والمعدة والكبد ووضعت في 10% neutral buffer formalin لعمل مقاطع نسيجية وقطعت الانسجة الى 5 μm واستخدم صبغة hematoxylin and eosin (H×E) for light microscopic examination لغرض الفحص.

النتائج والمناقشة

شخصت العزلات اعتماداً على صفات مستعمراتها الشكلية والمظهرية من خلال الزرع على الأوساط الزرعية التفريقية التي تضمنت اغار Ampicillin dextrin agar ، اغار الماكونكي ، اغار المغذي والتي من خلالها أمكن تثبيت الصفات الزرعية للمستعمرات والصفات المجهرية للخلايا البكتيرية الخاصة بها وكانت النتائج كالاتي:

فحصت البكتريا زرعياً اعتماداً على صفات المستعمرات من شكل وحجم ولون ، إذ تميزت مستعمرات بكتريا *Aeromonas hydrophila* على Ampicillin dextrin agar بظهور مستعمرات صفراء براقه يتراوح قطرها 1-1.5mm. اظهرت نتائج الفحص المجهرية للعزلات وكانت جميعها عصيات سالبة لصبغة غرام، (4، 13، 14)

اظهرت نتيجة سالبة لاختبار (String test) وهذا فحص تفريقي بينها وبين بكتريا *Vibrio cholerae* إذ الاخيرة تعطي نتيجة موجبة لهذا الفحص نتيجة لتحلل خلايا ضمات الكوليرا وتحرر الـ DNA (15,16). اختبرت حساسية العزلات تجاه للمضاد التشخيصي O129 وكانت

جميع العزلات البيئية المعزولة من المياه مقاومة للمضاد التشخيصي (O1298,17,15) اظهرت جميع العزلات ايجابية لاختبار الأوكسيديز (20,19,18)

التشخيص باستخدام نظام Api-20 E system

لغرض زيادة التأكد من تشخيص العزلات ولمعرفة النوع (Species) استخدم نظام Api-20 E system المكمل لنتائج الاختبارات الكيموحيوية كما في الجدول (1)

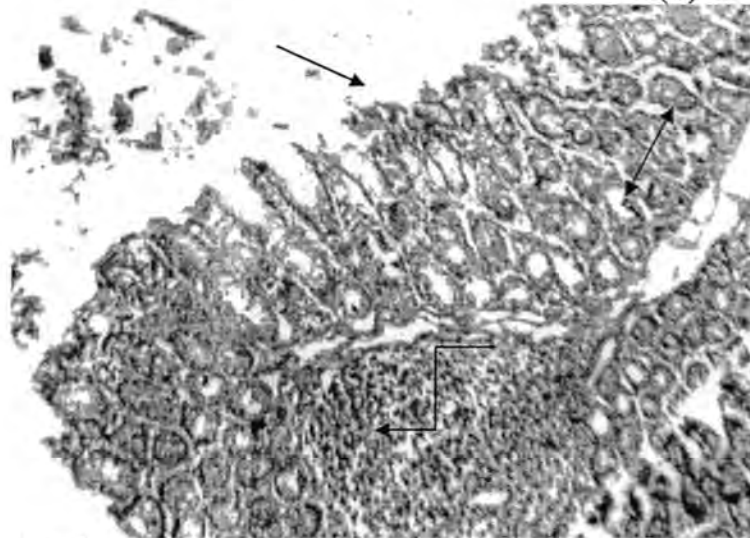
جدول 1- نتائج نظام Api-20 E system

ONPG	ADH	LDC	ODC	CTI	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-

نتائج اختبار الحيوانات .:

بعد تجريع الحيوانات المختبرية بـ (10^8) خلية/مليتر من بكتريا الـ *Aeromonas hydrophila* عن طريق الفم وبعد مرور 24 ساعة تدهورت صحة الحيوانات وعند تشريحها ظهرت الامعاء للفران المصابة مملوءة بالسوائل وحمراء اللون بعدها اخذت مقاطع لاجزاء الحيوان من (المعدة، الامعاء الدقيقة ، الكبد) لدراسة التأثيرات المرضية فظهرت نتائج histopathology على اجزاء الحيوانات المختبرية وكانت النتائج لهذه المقاطع النسيجية كالآتي :-

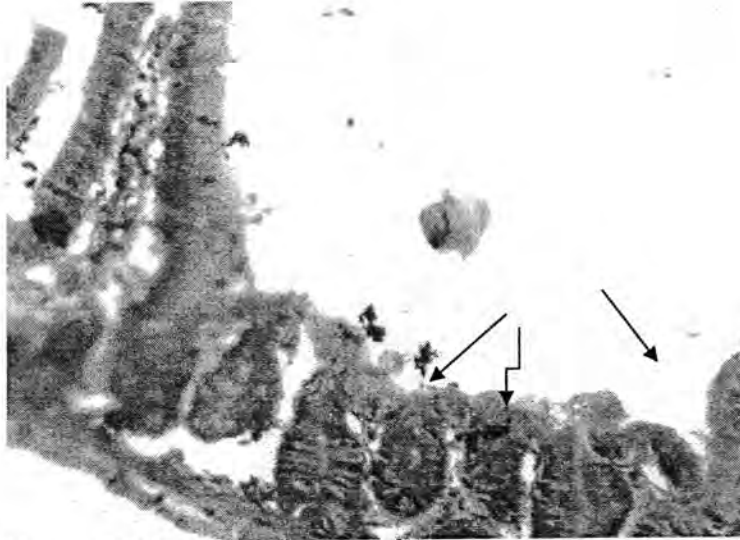
لوحظ التأثير الجرعة في مقطع لنسيج المعدة المتمثل بضمور وتنخر مع تقرح في السطح الجداري للمعدة مع تنسج في الغدة اللمفاوية المعدية مع ارتشاح بسيط لخلايا الالتهابية كما موضح في الشكل (1).



شكل 1- مقطع لنسيج المعدة بجرعة 10^8 خلية/مليتر بقوة 200X وصبغة H×E بضمور وتنخر مع تقرح في السطح الجداري → يتنسج في الغدة اللمفاوية ← ارتشاح بسيط لخلايا الالتهابية ←

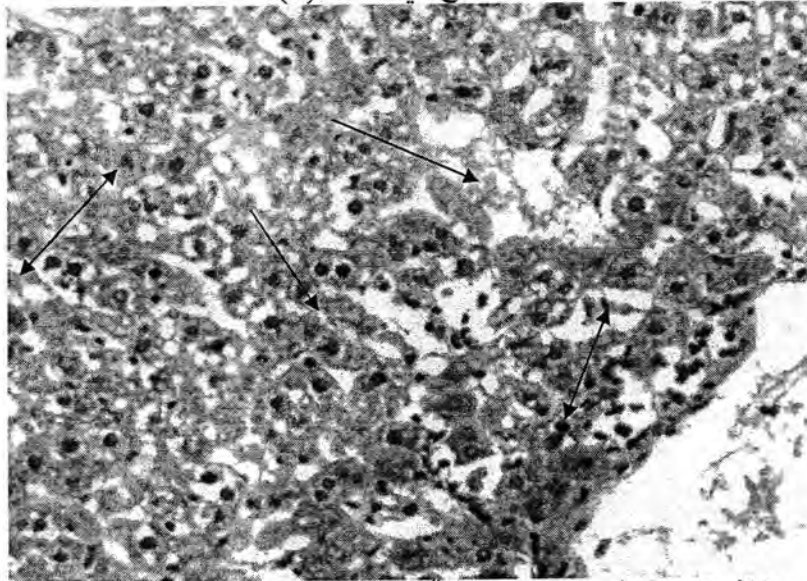
لوحظ تأثير الجرعة في مقطع لنسيج الامعاء بأن هناك قصرا وضمور في الزغابات المعوية وتنخر في الطيات مع ارتشاح لخلايا التهابية، وضمور بسيط في الـ *mecusa* ، كما موضح في الشكل (2)،

رشا



شكل (2) مقطع لنسيج الامعاء بجرعة 10^8 خلية/مليتر بقوة 200X وصبغة H×E
 قصرا وضمور في الزغابات المعوية → تنخر في اطيات ↓

كان تأثير الجرعة على مقطع لنسيج الكبد بوجود تلف مع تنخر في الخلايا الكبدية necrosis منتشر مع انتشار خلايا التهابية، وكما موضح في الشكل (3).



شكل-3: مقطع لنسيج الكبد بجرعة 10^8 خلية/مليتر بقوة 200X وصبغة H×E
 خلايا التهابية ← necrosis →

تمتلك بكتريا *Aeromonas hydrophila* العديد من عوامل الضراوة التي لها دور في احدث الاصابات في الانسان والحيوان ومن هذه العوامل: haemolysins, proteases, and lipases (7)، يمكن ان يعزسبب تضرر الغشاء المبطن للمعدة مع ارتشاح خلايا التهابية وضمور الزغابات، الى تأثير انزيم البروتيز (21). الهيمولايسن يسبب تنخرا وانحلالا خلويا لمختلف انواع الخلايا، اذا حدث هذا الضرر في الانسجة للطبقة المخاطية للامعاء ويمكن ان يعزز انتشار البكتريا ويؤدي الى تسمم الدم والتسبب في الموت السريع (22). اشار (11,23) الى ان هناك علاقة بين انتاج انزيم phospholipase و انتاج السموم الداخلية، وربط ذلك بشل حركة خلايا الانسجة المخاطية لجسم المضيف، وان هناك علاقة ايجابية بينهما، والاثنان معا

يزيدان من ضراوة البكتريا وقابليتها على احداث المرض، وان هناك علاقه بين فعالية انتاج الانزيم وحدوث خلل لخلايا الانسجة المخاطية لجسم المضيف، وهذا بدوره يعمل على زيادة نسبة التصاق خلايا البكتريا بخلايا جسم المضيف ومن ثم فان قابلية البكتريا على انتاج هذا الانزيم تعد صفة مهمة لحدوث الالتصاق (Adhesion)(23)

المصادر

- 1- Moyer, N. P.; Geiss, H. K.; Marinescu, M.; R. A.; Robinson, J. and Altwegg, M. (1992). Media and methods for isolation of *Aeromonas* from fecal specimens: multilaboratory study. *Experientia*: 409 – 412.
- 2- Church, D. (1999). Clinical relevance of the *Aeromonas* genus. *Microbiol. Newslet.* <http://www.crha-health.ab.ca/clin/cme/microbio.htm>
- 3- Abbott, S. L.; Cheung, W. K. and Janda, J. M. (2003). The genus *Aeromonas*: Biochemical characteristics, atypical reaction, and phenotypic identification schemes. *J. Clin. Microbiol.* 41(6): 2348-2357.
- 4- Holt, J. G.; Krieg, N. R.; Sneath, P. H.; Staley, J. T. and Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th (ed.). Williams & Wilkins, U.S.A. PP: 190-191.
- 5- Janda, J. M. & Abbott, S. L. (1998). Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: an expanding panorama of species, disease presentations, and unanswered questions. *Clin Infect Dis* 27: 332–344.
- 6- Murray, P. R. ; Baron, E. ; Tenover, F.C. and Tenover, R. H. (2000) . *Manual of clinical Microbiology* (7th ed .) ASM press , Washington United State of America . pp. 304.
- 7- Merino, S., Aguilar, A., Nogueras, M. M., Regue, M., Swift, S. & Tomas, J. M. (1999). Cloning, sequencing, and role of two phospholipases (A1 and C) from mesophilic *Aeromonas* sp. serogroup O:34. *Infect Immun* 67, 4008–4013.
- 8- Eaton, A. ; Greenberg, A.E. ; Rice, E.W. and Tauxe, L.S. (2005) . *Standard method for the examination of water and wastewater* . 21 ed
- 9- Bhowmik, P.; Bag, P. K.; Hajra, T. K.; De, R.; Sarkar, P. and Ramamurthy, T. (2009) . Pathogenic potential of *Aeromonas hydrophila* isolated from surface waters in Kolkata, India . *J Med Microbiol* . 58 (12): 1549-1558
- 10- Bag, P.K. ; Bhowmik, P.; Hajra, T.K.; Ramamurthy, T.; Sarkar, P.; Majumder, M.; Chowdhury, G. and Das, S.C. (2008). Putative virulence Traits and pathogenicity of *Vibrio cholerae* Non-O1, Non-O139 isolates from surface water in Kolkata, India. *Appl. Environ Microbiol* , 74(18): 5635-5644
- 11- Olivier, V. ; Queen, J. and Satchell, K. J. F. (2009) . Successful Small Intestine Colonization of Adult Mice by *Vibrio cholerae* Requires Ketamine Anesthesia and Accessory Toxins . *PLoS ONE* 4 (10).

- 12- Baselski, V.S. and Parker, C.D. (1978). Intestinal Distribution of *Vibrio cholerae* in orally Infected Infant Mice : kinetics of recovery of radiolabel and viable cells. *Infect Immun* .21(2):518-525.
- 13- Fobes, B. A.; Sahm, D. F. and Weissfeld, AS. (1998). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*, 10th (ed.). Mosby, Inc. USA. PP: 488-499.
- 14- Cipriano, R.C. (2001). *Aeromonas hydrophila* and motile *Aeromonas* septicemias of fish. *Rev. Fish Dis. Leaflet*.68:1-20.
- 15- Collee ,J.G.; Fraser ,S.G.; Marmion, B.P. and Simmons ,A. (1996) .*Practical Medical Microbiology* (14th ed) .vol 1. Churchill Livingstone
- 16- Fuerst, R. (1983). *Frobisher and Fuerst's Microbiology in Health and Disease*. (5th ed.) W. B. Saunders. Company. Philadelphia. P: 379.
- 17- Vila, J.; Ruiz, J.; Gallardo, F.; Vargas, M.; Soler, L.; Figueras, M. J. and Gascon, J. (2003). *Aeromonas spp.* and traveler's diarrhea: clinical features and antimicrobial resistance. *Emerg. Infect. Dis*. 9(5): 552-555
- 18- Vellibs, L. M. (2002). Stool: *Aeromonas caviae*. *Clin. Microbiol. Profici. Test*. <http://cmr.asm.org/> .
- 19- Kaper, J.; Seidler, R.; Lockman, H. and Colwell, R. (1997). Medium for the presumptive identification of *Aeromonas hydrophila* and Enterobacteriaceae. *Appl. Environ. Microbiol*. 38(5): 1023-1026.
- 20- Abbott, S. L.; Cheung, W. K. and Janda, J. M. (2003). The genus *Aeromonas*: Biochemical characteristics, atypical reaction, and phenotypic identification schemes. *J. Clin. Microbiol*. 41(6): 2348-2357.
- 21- الموسوي ، لقاء حميد مهدي . (2006). دراسة بكتيريولوجية وكيموحيوية ونسجيه لتاثير حامض اللاجيك المستخلص من قشور الرمان على بعض عزلات بكتريا الكوليرا . اطروحة دكتوراه . كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية: 147-149.
- 22- Olivier , V. ;Haines III, G.K.; Tan, y. and Satchell, K. J. F. (2007) . Hemolysin and multifunctional autoprocesing RTX toxin are virulence factors during Intestinal of Mice with *Vibrio cholerae* El Tor O1 strainis . *Infection and Immunity* . 75(10) : 5035 – 5042
- 23- العبيدي ، استبرق محمد علي سلمان . (2005) . تحديد بعض العلامات الوبائية لبكتريا *Vibrio cholerae* المعزولة محليا . رسالة ماجستير . كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية: 102-104.

تأثير بعض منظمات النمو في إكثار نبات *Thevetia peruviana* خارج الجسم الحي

صلاح قدوري محمود الهامسي
هيئة التعليم التقني

تاريخ تقديم البحث 2011/12/20 - تاريخ قبول البحث 2012/6/20

ABSTRACT

The ability of *in vitro* propagation of *Thevetia peruviana* Schum. Plant was studied using single nodes taken from juvenile and intact plant . After sterilization of explants, no contaminations were recorded . Explants were cultured on MS medium supplemented with Benzyl Adenine (BA) at photo period of 16/8 (light/dark) .

The higher percent for buds differentiation reached 80% in single nodes taken from juvenile plant in nutrient medium supplemented with 1.5 mg/l of BA . Results of multiplication stage showed that , the best multiplication was on the medium supplemented with 2 mg/l of BA , reached 2.20 branch/explants , and the highest percent of branch length was at the concentration of 0.5 mg/l of BA , which reached 1.9 cm . The highest percent of rooting and the highest average number of roots was 58.50% and 2.50 root/branch respectively at the concentration of 1.5 mg/l of NAA (Naphthalene Acetic Acid), while the highest average of root length was 1.60 cm at the concentration of 1.0 mg/l of NAA .

الخلاصة

درست إمكانية إكثار نبات الدفلة الصفراء *Thevetia peruviana* Schum خارج الجسم الحي باستخدام العقد المفردة المستأصلة من نباتات بالغة وأخرى فتية . تم تعقيم الأجزاء النباتية لم تسجل إي حالات تلوث . تم الحصول على أعلى معدل لنسبة تكشف البراعم في النباتات الفتية بلغت 80% وذلك عند إضافة BA بتركيز 1.5 ملغم/لتر في العقد المفردة المأخوذة من النباتات الفتية.

أظهرت نتائج مرحلة التضاعف الخضري إن أفضل تضاعف كان عند الوسط المجهز بـ 2.0 ملغم BA/لتر بلغ 2.20 فرع/جزء نباتي ، وأعلى معدل لطول الأفرع كان عند التركيز 0.5 ملغم BA/لتر إذ بلغ 1.9 سم ، وإن أعلى نسبة منوية للتجذير و أعلى معدل لعدد الجذور عند التركيز 1.5 NAA (Naphthalene Acetic Acid) ملغم/لتر بلغت 58.50% و 2.50 جنر/فرع خضري على التوالي ، بينما كان أعلى معدل لطول الجذور عند التركيز 1.0 ملغم NAA/لتر إذ بلغ 1.60 سم .

المقدمة

نبات التفديا ويسمى محليا بالدفلة الصفراء *Thevetia peruviana* Schum . يعود للعائلة Apocynaceae

وهي من أشجار الزينة المستديمة الخضرة من ذوات الفلقتين واصلها من غابات أمريكا الاستوائية وهي الآن منتشرة في الكثير من مناطق العالم ، ولم يلاحظ انتشارها بشكل كبير في العراق إنما في بعض المشاتل في بغداد . يصل طولها من 3-4 أمتار وتزهر أغلب أيام السنة ، أزهارها صفراء ناصعة قمعية الشكل تتكون من خمس بتلات ملتوية بشكل حلزوني تحمل ثمار خضراء اللون تتحول إلى اللون القهوائي الداكن عند النضج [1,2] .

تتكاثر بواسطة البذور وصعبة الإكثار بواسطة العقل لتأخر تجذيرها مما يؤدي غالبا إلى تلفها . بالإضافة إلى كونها أشجار زينة فإن لبذورها فوائد طبية متعارف عليها . عصارة النبات اللبنيّة تعتبر سامّة خاصة عند الاستعمال الخارجي رغم كونه من مصادر المضادات الحيوية الفعالة [3] .

لقد أكد الكثير من الباحثين على أهمية استخدام مركبات مثل Kin, 2,4-D, IBA و NAA في تحفيز وإنشاء النمو الخضري و الجذري على نبات الدفلة الصفراء *Thevetia peruviana* Schum أو الدفلة الاعتيادية *Nerium oleander* ، ولم يتم التطرق إلى أهمية استخدام BA

صلاح

، لذا تعتبر هذه التجربة هي الأولى في دراسة تأثير هذا المركب في تحفيز وإنشاء النمو الخضري على نبات الدفلة الصفراء [4].

المواد وطرق العمل

أجريت هذه التجربة في مختبر زراعة الأنسجة / الكلية الطبية / جامعة بغداد للفترة من 2010/3/1 إلى 2010/10/1. استخدمت في هذه التجربة سيقان أشجار الدفلة الصفراء *Thevetia peruviana Schum* المزروعة في المشاتل الأهلية الموجودة في منطقة الكريعات في بغداد.

تم الحصول على الأجزاء النباتية من أفرع غضة soft cuttings بطول 20-25 سم أخذت من أشجار بالغة بعمر 8-10 سنوات وأفرع خضرية من نباتات فتية نامية في البيوت البلاستيكية ، خلال شهر آذار 2010. وبعد إزالة الأوراق عنها قسمت الأفرع إلى قطع تحتوي على عقد مفردة بطول 1.0 سم تقريبا.

تعقيم الأجزاء النباتية

عقمت الأجزاء النباتية المهيأة للزراعة تعقيما سطحيا بالماء الجاري للتخلص من الملوثات لمدة 15 دقيقة ، ثم غطست في محلول هايبيوكلورات الصوديوم NaOCl بتركيز 2% لمدة NaCl لمدة 10 دقائق ، أجريت عملية التعقيم داخل كابينة سريان الهواء الطبقي (Laminar Air Flow Cabinet) ثم جرى غسل الأجزاء النباتية جيدا بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات للتخلص من آثار المادة المعقمة [5].

الوسط الغذائي

استخدم الوسط الغذائي Murashige and Skoog (MS) في جميع التجارب بقوة كاملة من الأملاح ومضافا إليها السكريز ومنظمات النمو ومادة المايوانوسيتول Myoinositol [6]. حضرت محاليل الأصل (Stock Solutions) من العناصر الكبرى والصغرى ومدعمة بالفيتامينات وفق كميات محسوبة عالميا لتحضير هذا الوسط [5]. تم سحب الكميات المطلوبة لتحضير الوسط الغذائي. عدل الرقم الهيدروجيني للوسط (PH) إلى 5.7 ± 0.1 بواسطة محلول واحد عياري من هايدروكسيد البوتاسيوم KOH أو حامض الهايدروكلوريك HCl ، ثم أضيف الاكار بمعدل 6 غم/لتر إلى المحلول ، وبعد مزج المحلول باستخدام الهزاز المغناطيسي فوق الصفيحة الساخنة ، وزع الوسط في أنابيب الزراعة (25 x 150 ملم) بواقع 10 سم³ وسط/أنبوبة ، تم تغطية فوهات الأنابيب بالقطن الطبي ثم أغلقت الفوهة بورق الألمنيوم ، ثم تم تعقيمها بجهاز التعقيم البخار (Auto clamp) تحت درجة حرارة 121°م وضغط 1.04 كغم/سم² لمدة 15 دقيقة . ثم أخرجت الأنابيب من جهاز التعقيم وتركت لتبرد في درجة حرارة الغرفة ليتصلب الوسط وبذلك يصبح جاهزا للزراعة.

زراعة الأجزاء النباتية

بعد عملية التعقيم السطحي ، نقلت الأجزاء النباتية إلى أطباق بتري معقمة في كابينة الزراعة إذ تم إزالة نهايات العقد التي ربما تكون قد تضررت أنسجتها من اثر استخدام المواد المعقمة . تم نقل الجزء النباتي المستأصل بواسطة الملقط إلى داخل أنبوبة الاختبار الحاوية على الوسط الغذائي المعقم بعد إضافة الـ BA باستخدام الماصة الدقيقة Micropipette بعد تحضير التراكيز (0, 1, 1.5, 2) ملغم/لتر بواقع جزء نباتي واحد لكل أنبوبة اختبار لدراسة تأثير الـ BA على استجابة الأجزاء النباتية المزروعة [5].

مرحلة التضاعف الخضري

وفقا للنتائج التي تم التوصل إليها في مرحلة نشوء الزرع وعات ، تم نقل الفروع الناتجة إلى وسط جديد يحتوي على الـ BA حيث أضيف بتراكيز (0.5 , 1.0 , 1.5 , 2.0 , 2.5 , 3.0 (0.0) ملغم/لتر لدراسة تأثير هذه التراكيز على عدد النواتج الخضرية الناتجة وأطوالها وتمت زراعة هذه الأفرع بواقع فرع واحد لكل أنبوبة اختبار واستخدام 12 مكرر لكل تركيز وحضنت

الزر وعات في غرفة النمو تحت درجة حرارة $25 \pm 2^\circ \text{C}$ م وشدة إضاءة 1000 لوكس بمعدل 16 ساعة ضوء و 8 ساعات ظلام يوميا .

أخذت النتائج بعد مرور شهرين من الزراعة وذلك بحساب عدد الأفرع الناتجة وأطوالها .
مرحلة التجذير

تم نقل الأفرع الناتجة من التضاعف الخضري بمعدل طول 1.8 سم إلى أنابيب اختبار جديدة تحتوي على الوسط الغذائي MS بقوة كاملة بعد إضافة الاوكسين NAA بتركيز (1.0 , 1.5 , 0.0 , 0.5) ملغم/لتر لدراسة تأثير هذه التراكيز في تجذير الأفرع ، استخدم 12 مكرر لكل تركيز من التراكيز المذكورة بواقع أنبوبة اختبار لكل مكرر تحت درجة حرارة $25 \pm 2^\circ \text{C}$ م وشدة إضاءة 3000 لوكس بمعدل 12 ساعة ضوء و 12 ساعة ظلام يوميا .

تم تقييم نتائج هذه المرحلة بعد مرور شهرين من نقل النبيتات النامية إلى الوسط الجديد ، من خلال حساب عدد الجذور المتكونة وأطوالها .

الأقلمة

أخذت النباتات من وسط التجذير وغسلت بالماء المقطر والقاصر بتركيز 5.25% المخفف بالماء المقطر المعقم وفق النسبة 10مل/لتر لمدة خمس دقائق وذلك لإزالة آثار الوسط الغذائي عنها كي لا تكون عرضة لمهاجمة الفطريات لاحتواء الوسط على السكر والاكثار ، ثم وضعت في أنابيب اختبار تحتوي على ماء مقطر لمدة 48 ساعة مع تغيير الماء كل 24 ساعة وتم ترك أنابيب الاختبار مفتوحة ، بعد ذلك زرعت النباتات في سنادين صغيرة تحتوي على وسط الأقلمة المتكون من تربة مزيجيه و البتموس بنسبة 1 : 1 وتم تعقيم الوسط باستخدام جهاز التعقيم البخار بدرجة حرارة 121°C م وقد وضعت السنادين في البيت البلاستيكي . غطيت النبيتات النامية بأغطية بلاستيكية شفافة

للمحافظة على رطوبة نسبية عالية حول النباتات . استمرت عملية التغطية لمدة 4 أسابيع مع عمل ثقوب مناسبة في الغطاء البلاستيكي الشفاف المحيط بالنبات وذلك لتقليل كمية الرطوبة حول النباتات تدريجيا ، ثم تم رفع الغطاء البلاستيكي وإعادته بشكل متناوب كل 12 ساعة وبزيادة تدريجية إلى 24 ساعة ولمدة أسبوعين . تم رفع الغطاء البلاستيكي نهائيا بعد التأكد من إن النباتات قد استقر وضعها الحيوي وأصبحت قادرة على إكمال دورة حياتها [7] .

التحليل الإحصائي

أخضعت جميع النباتات إلى التحليل الإحصائي كتجارب عاملية باستعمال التصميم العشوائي الكامل (CRD) وحللت النتائج حسب تحليل التباين وقورنت المتوسطات باستعمال اختبار دنكن متعدد الحدود على مستوى احتمال (0.05) [8] .

النتائج والمناقشة

تأثير الـ BA ومصدر الجزء النباتي في كشف البراعم

يتضح من بيانات الجدول (1) أفضلية الأجزاء النباتية المأخوذة من النباتات الفتية في استجابتها للزراعة خرج الجسم الحي إذ بلغ معدل نسبة استجابة تفتح البراعم من العقد المفردة المأخوذة من النباتات الفتية إلى 59.75% مقارنة بـ 40.75% للعقد المأخوذة من النباتات البالغة . كما يتضح إن العقد المفردة المأخوذة من النباتات الفتية أكثر استجابة للوسط الغذائي المجهز بـ 1.5 ملغم BA/لتر من تلك المأخوذة من النباتات البالغة ، إذ تكشفت براعمها بنسبة 80% والتي لم تفرق معنويا عن البراعم المتفتحة في الوسط المجهز بـ 2 ملغم BA/لتر والتي بلغت 76% المأخوذة من نفس المصدر، مقارنة بنسبة 60 و 56% لتفتح البراعم للعقد المأخوذة من النباتات البالغة وللتراكيز نفسها من الـ BA ، من هذه النتائج يتضح إن التركيز 1.5 ملغم BA/لتر كان الأفضل لتفتح براعم العقد المأخوذة من النباتات الفتية أو البالغة ، لذا فإن التركيز 1.5 ملغم BA/لتر مثالي لنشوء الزروع في العقد المفردة المأخوذة من النباتات الفتية ، وقد يرجع السبب إلى اختلاف مراحل النمو بين النباتات الفتية والبالغة ، فالنباتات الفتية لم يتجاوز عمرها السنين أي أنها في مرحلة قوة النمو التي تتصف بنشاط النمو الخضري للنباتات ، بينما النباتات

صلاح

البالغة تجاوز عمرها 8 سنوات وقد يكون السبب هو احتوائها الذاتي على الاوكسينات وتداخلها مع السايبتوكاينينات في تنشيط النمو ، وهذا يتفق مع ما توصل اليه [9,7] على نباتات الترويرسترنج *Troyer citrange* و البيزيا *Albizia kalkora* الذين أشاروا إلى الاستجابة العالية للأجزاء النباتية المأخوذة من نباتات في مرحلة الحدائة للزراعة خارج الجسم الحي من تلك المأخوذة من النباتات البالغة والذين أشاروا إلى أن التراكيز المنخفضة من الـ BA تكون ملائمة لتحفيز البراعم الابطية والجانبية على النمو وذلك للفعل التحفيزي للـ BA في حث الخلايا على الانقسام والتمايز .

جدول-1: تأثير تراكيز مختلفة من الـ BA ومصدر الجزء النباتي في تكشف براعم النباتات البالغة و الفتية

نباتات فتية %	نباتات بالغة %	ملغم/لتر BA
C 33	d 15	0.0
bc 50	c 32	1.0
a 80	b 60	1.5
a 76	b 56	2.0
59.75	40.75	المعدل

الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وتحت مستوى احتمال 5%

مرحلة التضاعف الخضري

أظهرت نتائج الجدول (2) تأثير التراكيز المختلفة من الـ BA في تضاعف الفروع المأخوذة من زروعات مرحلة النشوء، إذ أظهرت النتائج إن أفضل تركيز للـ BA في إحداث تضاعف الفروع هو التركيز 2.0 ملغم/ لتر BA الذي أعطى أعلى معدل لعدد الفروع بلغ 2.2 فرع/ جزء نباتي الذي اختلف معنوياً عن بقية التراكيز مقارنة بـ 1.16 فرع/ جزء نباتي لمعاملة المقارنة التي لم تختلف معنوياً عن التركيز 2.5 ملغم/ لتر BA والتي بلغ 1.10 فرع/ جزء نباتي، وسجل أدنى معدل تضاعف في التركيز 3 ملغم/ لتر BA إذ بلغ 0.85 فرع/ جزء نباتي والذي اختلف معنوياً عن المعاملات (2,1.5,1) ملغم/ لتر BA ولم تختلف معنوياً عن باقي المعاملات. اتضح من النتائج المتحققة إن استجابة الأجزاء النباتية للتراكيز الأدنى من 3 ملغم/ لتر BA سجلت ارتفاعاً تدريجياً في الاستجابة بزيادة التركيز إلى 2.0 ملغم/ لتر BA والسبب في انخفاض معدل التضاعف في التراكيز العالية قد يعود إلى ملاحظة اتجاه بعض المكررات إلى تكوين الكالس بدلاً من الفروع. وبناءً على ذلك وجد إن أفضل تركيز من الـ BA لتضاعف الفروع كان 2.0 ملغم/ لتر.

يستخدم الـ BA في مرحلة التضاعف الخضري للعديد من الأنواع النباتية كمصدر للسايبتوكاينين وذلك يعود إلى فعاليته في تحرير البراعم الابطية من سيادة البرعم الطرفي دون الحاجة إلى إزالته، ويعتقد بأن السايبتوكاينين يقوم بتحفيز تكوين الأنسجة الخشبية للبراعم والساق مما يسهل انتقال الماء والمغذيات وبذلك ينمو البرعم الجانبي، كما وجد إن أهمية إضافة السايبتوكاينين تكمن في تحفيز انقسام الخلايا وتحفيز تكوين ونمو الأفرع العرضية والابطية [10 , 11].

اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه كل من [5 , 7 , 11 , 12] على اصول الحمضيات الترويرسترنج *Troyer citrange* و *Sektan spc* ونبات الدودونيا *Dodonea viscosa* ونبات الدفلة الصفراء قيد البحث، إذ أشاروا إلى تماثل الأنواع النباتية في نسب استجابتها من الناحية المظهرية لتراكيز الـ BA الواطنة وان التراكيز العالية منه أنتجت فروع قصيرة ومشوهة وميل بعضها لتكوين الكالس على الجزء النباتي المزروع.

جدول-2: تأثير تراكيز مختلفة من الـ BA في تضاعف الفروع

عدد الفروع/ جزء نباتي	BA ملغم/ لتر
bc 1.16	0.0
ac 1.60	0.5
ab 1.70	1.0
b 1.45	1.5
a 2.20	2.0
bc 1.10	2.5
c 0.85	3.0

الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وتحت مستوى احتمال 5%

تأثير الـ BA في طول الأفرع الخضرية

أتضح من نتائج الجدول (3) إلى وجود تأثير معنوياً سلبياً لتراكيز الـ BA الأكثر من 0.5 ملغم/ لتر في طول الأفرع الخضرية إذ تفوقت المعاملة بتركيز 0.5 ملغم/ لتر BA على باقي المستويات من الـ BA محققة أعلى معدل لطول الأفرع الخضرية والذي بلغ 1.9 سم والتي لم تختلف معنوياً على معاملة المقارنة، في حين اقل معدل كان 0.51 سم عند التركيز 3 ملغم/ لتر BA.

قد يعزى الانخفاض المعنوي الحاصل في طول الأفرع الخضرية بسبب إضافة الـ BA إلى إن إضافته في مرحلة التضاعف الخضري زاد من نسبة عدد الأفرع الخضرية نتيجة قضاءه على السيادة القمية وبالتالي المنافسة فيما بينها مما يؤدي ذلك إلى قصر طولها، لذلك يفضل في هذه المرحلة إضافة القليل جداً من الاوكسين مع الساييتوكاينين لزيادة طول الأفرع، واتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه [13 , 14] على نباتات الكاريسا *Carissa grandiflora* والاكلونيميا *Aglaonema spp*.

جدول-3: تأثير تراكيز مختلفة من الـ BA على طول الأفرع الخضرية

عدد الفروع/ جزء نباتي	تراكيز BA ملغم/ لتر
a 1.85	0
a 1.90	0.5
b 0.84	1.0
bc 0.75	1.5
c 0.64	2.0
d 0.53	2.5
d 0.51	3.0

الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وتحت مستوى احتمال 5%

مرحلة التجذير

تأثير الـ NAA في تجذير الأفرع الخضرية

أتضح من الجدول (4) إن لمستويات الـ NAA تأثيراً معنوياً في نسبة تجذير الأفرع إذ حققت المستويات 1.0، 1.5 ملغم/ لتر NAA أعلى نسبة تجذير بالأفرع بلغت 55.00%، 58.50% على التوالي وبذلك تفوقاً على المستوى 0.5 ملغم/ لتر NAA معنوياً، بينما أعطت معاملة المقارنة اقل نسبة تجذير بلغت 8.46%، وهذه النتائج اتفقت مع ما توصل إليه كل من [5 , 15] على أصل الحمضيات "سكتان" *Sektan spp* و الدفلة العادية *Nerium oleander* حيث أكدوا على دور الـ NAA في إحداث أعلى نسبة تجذير.

جدول-4: تأثير تراكيز مختلفة من الـ NAA على النسبة المئوية للتجذير

تراكيز NAA ملغم/ لتر	النسبة المئوية لتجذير الأفرع الخضرية
0	b 8.46
0.5	b 12.54
1.0	a 55.00
1.5	a 58.50

الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وتحت مستوى احتمال 5%

تأثير الـ NAA في عدد الجذور

أوضحت نتائج الجدول (5) ان لمستويات الـ NAA تأثيراً معنوياً في عدد الجذور اذ تفوق المستوى 1.5 ملغم /لتر NAA معنوياً على بقية المعاملات وذلك بتحقيقه أعلى معدل لعدد الجذور وبلغ 2.50 جذر/ فرع بينما سجلت معاملة المقارنة اقل معدل لعدد الجذور بلغ 0.30 جذر / فرع . ان زيادة عدد الجذور قد يعود الى ان إضافة الـ NAA الى الوسط الغذائي كان محفزاً لنشوء بادئات الجذور وبالتالي تكوين الجذور ونموها . وهذه النتائج تتفق مع توصل إليه كل من [17,16,15] على نبات الدفلة العادية *Nerium oleander* والكرتون *Codiaeum voriegatum* الاكاسيا . *Acacia spp* حيث أكدوا على دور الـ NAA في احداث تجذير جيد للأفرع.

بما ان للاوكسين NAA تأثير واضح على عدد الجذور من خلال فعاليته العالية و امتلاكه عدد اكبر من الاواصر المزدوجة اضافة الى قصر السلسلة الجانبية الحامضية المرتبطة به [10].

جدول-5: تأثير تراكيز مختلفة من الـ NAA في عدد الجذور / لكل فرع خضري

تراكيز NAA ملغم / لتر	معدل عدد الجذور
0.0	
0.5	c 1.30
1.0	b 2.00
1.5	a 2.50

الأرقام ذات الاحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وتحت مستوى احتمال 5%

تأثير الـ NAA في طول الجذور

اتضح من نتائج الجدول (6) ان لمستويات الـ NAA تأثيراً معنوياً في طول الجذور اذ بلغ اعلى معدل لطول الجذور 1.60 سم عند المستوى 1.0 ملغم / لتر NAA متفوقاً على باقي المعاملات معنوياً. في حين سجلت معاملة المقارنة اقل معدل لطول الجذور بلغ 0.65 سم . واتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه كل من [15,18,19] على نباتات الدفلة العادية *Nerium oleander* واصول الحمضيات *Citrus* , *Cirus volkamerianpasq* , *jambhiri lash*

جدول-6: تأثير مستويات مختلفة من الـ NAA في طول الجذور النامية / لكل فرع خضري

تراكيز NAA ملغم / لتر	معدل طول الجذور/ سم
0.0	c 0.65
0.5	c 0.70
1.0	a 1.60
1.5	b 1.08

الأرقام ذات الأحرف المتشابهة ضمن العمود الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها حسب اختبار دنكن متعدد الحدود وتحت مستوى احتمال 5%

وجد *Shyemal* وآخرون، أن استخدام توليفة من الـ Kin و الـ 2,4-D كان لهما الأثر الكبير في تحفيز تكوين الكالس كما وجد *Zibbu* وآخرون، أن إضافة الـ IBA إلى الوسط المجهز بالـ 2,4-D, Kin بنسب مختلفة كان له تأثير إيجابياً في استحداث الكالس في نبات الدفلة الصفراء *Thevetia peruviana Schum*. وهذه النتائج تختلف مع نتائج هذه الدراسة كونها لم تتطرق إلى أكثر النبات بالافرع الخضري بل إلى استحداث الكالس فقط. كما وجد *Haltazarou* وآخرون أن استخدام الـ NAA قد أعطى نتائج إيجابية في تحفيز النمو الجذري في الدفلة الاعتيادية *Nerium oleander*، وهذا يتفق مع نتائج هذه الدراسة.

مرحلة الاقلمة

اتضح من الجدول (7) أن عدد النباتات الناجحة في الاقلمة بلغ (20) نبات. أي أن النسبة المئوية للنجاح تساوي 80%.

جدول-7: عدد النباتات الناتجة عن الاقلمة والنسبة المئوية لنجاحها ضمن مدة 6 اسابيع

عدد النباتات	مدة الاقلمة / اسبوع	عدد النباتات الناجحة	النسبة المئوية
25	6	20	80%

نستنتج من هذه الدراسة بأن الوسط (MS) المدعم بالساييتوكانين BA كان الأفضل لتكشف البراعم الخضريّة وحسب التراكيز المستخدمة في البحث. وكان الأفضل بالنسبة إلى معدل الجذور باستخدام الأوكسين NAA. وعلى أساس ذلك يوصى باستخدام هذه الأوساط مع منظمات النمو BA, NAA بالتراكيز المشار إليها في عملية أكثر نبات الفلة الصفراء *Thevetia peruviana Schum* خارج الجسم الحي.

المصادر

1. Wagner, W. L.; D. R. Iterbst, and S. H. Sohmer. 1990. Manual of the flowering plants of Hawaii, 2 vol. University of Hawaii press. 120: 2114-2145.
2. Pearn, J. 1989. Oleander Poisoning. In: Toxic plants and Animals: A Guide for Australia. Covacevich, J.; Divine, P. and Pearn, J. (Eds.) 2nd Edn; William Brooks, Brisbane, Australian. pp. 37 - 50.
3. Prajapati, N.D.; S.S. Purohit, D.D. Sharma and K. Tarun. 2003. A Hand book of Medicinal Plants. Ist Edn. Agrobios Jodhpur India. pp: 13 - 14.
4. Shyemal, K. and Kiran, K.D. 2006. In vitro of *Thevetia Peruviana Schum* through leaves multiplication. Sci. Horti. pp: 101-224.
5. الهاشمي، صلاح فدوري محمود، 2006، أكثر أصل الحمضيات *Sektan* خارج الجسم الحي، رسالة الماجستير، قسم التقنيات الاحيائية / الكلية التقنية / المسيب، هيئة التعليم التقني، العراق ص 25-65.
6. Murashige, T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *physiol. plant.* 15: 473 - 797.
7. الحوشبي، سعيد سالم محمد، 2004، أكثر بعض أنواع الحمضيات وتطعيمها على أصل الترويس ترينج، رسالة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق ص 30-48.
8. IBM - SPSS Statistics v19.0.1 Multilingual (11/2010)

9. Burbulis, N. and R. Kupriene. 2007. Some factors effecting on the development of Albizia lebbak buds cultured in vitro Plant cell, Tiss. Organ Culture. 15: 113 - 124.
10. محمد ، عبد العظيم كاظم ، واليونس / مؤيد احمد ، 1991 ، اساسيات فسيولوجيا النباتات ، الجزء الثالث ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد ، العراق .
11. Zibbu, G. and A. Batra .2010. Effect of adeninesulphate on organogenesis via leaf culture in an ornamental plant *Thevetia Peruvian a* (pers.) Schum .Int.J.Pharma.Biosci. 1:1-9.
12. Anushi, A.; Jahan, E. 2009. Differential effects of sucrose, abscisic acid, and benzyladenine on shoot growth and callus formation of *Dodonea viscosa* buds. Plant physiol. 59 : 1161 - 1164 .
13. Ratna, R.; Misra, K. K. 2005. Micro propagation of karonda (*Carissa carandas*) through shoot multiplication. Sci. Hori. 103: 227 - 232 .
14. Chen, W. L. 2006. In vitro shoot multiplication and ex vitro physiology of *Aglaonema* .Master's thesis, Dep. Of Hort . National Taiwan Univ. pp.47-56 .
15. Hatzilazarou, S.; Tooulos, C.; Economon, A. S.; Rifaki, N.; Ralli, P. 2003 . In vitro and ex vitro rooting and plantlet acclimatization in *Nerium oleander*. Acta Horticulture. 616: 221 -225.
16. Orliokwska, T.; Sabala, I. And Kucharska, D. 2000. Rooting of axillary shoots of *Cadiaeum variegatum* Blume Cv. Excellent obtained in vitro from defoliated shoot explant. Acta Horticulture No. 530: 253 - 256.
17. Hussain, M. K.; and Anis, M. 2009 . Rapid in vitro multiplication of *Acacia farnesina* .Acta physiol plant. 31 (4):765-772.
18. طه ، فادية هشام ، 2002 ، بعض العوامل المؤثرة في نمو وتضاعف اصلي الليمون المخرفش *Citrus Jabhiri lush* والفولكاماريانا *Citrus Volkamerianapasq* ، خارج الجسم الحي ، رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد ، العراق ص 26-40.
19. الحافظ ، عماد احمد محمد وبدر ، صالح محسن وحسين ، وفاء ابراهيم . 1999 ، اكثار اصول الحمضيات بزراعة الانسجة . مجلة الزراعة العراقية . مجلد 4 ، عدد 8 ، ص -60 . 49

دراسة مصلية ونسجية عن بكتريا *Helicobacter pylori* في المرضى المصابين بالقرح المعدي وتأثير العمر والجنس في الإصابة

نادية عامر صادق حسن النعيمي و كاظم هاشم زوين و سراب خاشع جميل
كلية العلوم/الجامعة المستنصرية

تاريخ تقديم البحث 2012/4/24 - تاريخ قبول البحث 2012/6/20

ABSTRACT

The present study is an attempt to find the relation between the *H.pylori* infection and the aging , gender in the peptic ulcer patients by using the serological and histopathological methods , This prospective case series study was carried at the gastrointestinal unit at AL-Yarmook Teaching Hospital in Baghdad during the period 1/11/2011 to 1/4 /2012 . (66) patient were taken, Their ages between (11-70) years old and they have dyspepsia symptoms, The number of patients who suffer from peptic ulcer called patients group (22) , while the others patients (44) who were not suffering from peptic ulcer were considered as control group . both patient and control groups were subjected to endoscopy test to extirpation antral biopsies from the stomach for the histopathology test and (66) blood samples were obtained from all person for One step *H.pylori* test device kit . The prevalence of *H.pylori* infection was found to be significantly higher rate with age progress, while the gender has no effect on the patients that have peptic ulcer and the histopathology test was more efficient to give positive results to diagnose *H.pylori* if we compare that with one step *H.pylori* test device kit .

الخلاصة

تتضمن الدراسة الحالية إيجاد علاقة بين الإصابة ببكتريا *Helicobacter pylori* وتقدم العمر والجنس في المرضى المصابين بالقرح الهضمية المعدي باستخدام الطرق المصلية والنسجية ، فقد تناولت هذه الدراسة مجاميع المرضى الوافدين إلى وحدة الناظور التابع إلى مستشفى اليرموك التعليمي في بغداد في الفترة ما بين 1/11/2011 ولغاية 1/4/2012، حيث أخذ (66) مريضاً أعمارهم بين (11-70) سنة كانوا يعانون من أعراض عسر الهضم ، قسم منهم كانوا مصابين بالقرح المعدي أطلق عليهم مجموعة المرضى وعددهم (22) مريضاً والقسم الآخر غير مصابين بالقرح المعدي اعتبروا كمجموعة سيطرة وعددهم (44) مريضاً . أخضعت مجاميع السيطرة والمرضى إلى فحص الناظور الهضمي وتم استئصال الخزعات النسيجية من الغار المعدي من مجموعة المرضى (22) فقط لأجراء فحص النسيج المرضي Histopathological test كما وتم سحب عينات الدم من (66) مريض لإجراء الفحص المصلي باستخدام عدة الفحص السريع One step *H.pylori* test device kit لتحديد الأجسام المضادة نوع (IgG) للبكتريا . أظهرت النتائج زيادة واضحة إحصائياً لانتشار الإصابة ببكتريا *Helicobacter pylori* مع تقدم العمر، أما الجنس فلم يكن له التأثير الكبير على المرضى الذين يعانون من الإصابة بأمراض القرحة المعدي، كما لوحظ أن طريقة فحص النسيج المرضي كانت أكثر كفاءة في إعطاء نتائج إيجابية لتشخيص بكتريا *Helicobacter pylori* مقارنة باستخدام الفحص المصلي السريع One step *H.pylori* test device kit.

المقدمة

تعتبر الإصابة ببكتريا المعدة الحلزونية *Helicobacter pylori* من أكثر الالتهابات البكتيرية في العالم ويعتقد إن نسبة الإصابة بها تكون أكثر مع تقدم العمر وفي الرجال هناك احتمالية وجودها أكثر من النساء. تضم عائلة *Campylobacteraceae* 3 أجناس وهي *Campylobacter* , *Arcobacter* , *Helicobacter* [1][2] حيث عزلت بكتريا *H.pylori* لأول مرة في غرب استراليا عام 1982 من معدة المرضى المصابين بالقرح المعدي [3] تمتاز مستعمرات *H.pylori* بتواجدها في الطبقات المخاطية للتجويف المعدي حيث إنها تتطلب رقم هيدروجيني اقل من 4 وان اسـتعمارها في المعدة يعتمد على قابلية البكتريا على إنتاج إنزيم اليوريز [4]. إن الإصابة بهذه البكتريا تتوافق مع

دراسة مصلية ونسجية عن بكتريا *Helicobacter pylori* في المرضى المصابين بالقرح المعدية وتأثير العمر والجنس في الإصابة نادرة و كاظم و سراب

أمراض الاثنى عشرى والمعدة حيث إنها تستوطن في معدة الإنسان مسببة له التهاب المعدة المزمن Chronic gastritis وتشكل أيضا عامل خطورة لنشوء القرح الهضمية Peptic ulceration وسرطان المعدة Gastric cancer [5]. تتصف هذه الجرثومة بصغر وتحذب مستعمراتها، وبأنها شفافة مشابهة لقطرة الماء، وتكون خلاياها سالبة لصبغة غرام وحلزونية، كما وتمتاز بظاهرة تعدد الأشكال فقد تظهر على شكل جناح النورس والشكل العصوي [6]. أن بكتريا *H.pylori* تستعمر معدة ما يقارب نصف سكان العالم لكن الأغلبية العظمى من الأشخاص المصابين بها يبقون دون إعراض بينما الأقلية منهم تظهر عليهم أعراض التهاب المعدة والذي يتطور إلى قرحة المعدة والاثنى عشرى و الورم اللعاقوي [7]. تمتاز هذه البكتريا بأنها موجبة لاختبار الاوكسيديز والكتاليز واليوريز وأيضا تتسم بمقاومتها لمضاد حامض النالدكسك وحساسيتها لمضاد السيفالوثنين [8]. ويمكن الكشف عنها وتشخيصها بعدة طرق مثل فحص تحلل اليوريا السريع [9] و الفحوصات البكتريولوجية و التشخيص بالتفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا (DNA) و فحص تنفس اليوريا و فحص النسيج المرضى و الفحوصات المصلية [10]. وتهدف الدراسة الحالية إلى تحديد نسبة انتشار جرثومة *H.pylori* بين المرضى العراقيين المصابين بأمراض القرح المعدية و دراسة تأثير عملي العمر والجنس في نسبة الإصابة بها. و تشخيص جرثومة *H.pylori* في خزع المرضى المصابين بالقرح المعدية باستخدام فحص النسيج المرضى Histopathological test لمجاميع المرضى فقط و استخدام الفحص المصلي بواسطة عدة الفحص السريع One step *H.pylori* test device kit للبكتريا لكل من مجاميع السيطرة والمرضى .

المواد وطرائق العمل

الأجهزة والمواد المستخدمة

جهاز الطرد المركزي Centrifuge، جهاز معاملة النسيج Tissue processor، جهاز ناظور مع الملقط الخاص به Endoscope and forceps، جهاز تقطير Distillator، حمام مائي لفرش المقاطع النسيجية Electric float، مشراح ألي Microtome، أنابيب جمع الدم Plain tubes، حقن نبيذة Disposable syringe، مشرط Scalpel، مايكروبايبيت Micropipette 2-200 µl and tips، كحول الايثانول Ethanol، صبغة الهيماتوكسيلين-ايوسين (H&E)، فورمالين.

عدة التشخيصية

عدة تشخيص الفحص السريع One step *H.pylori* test device kit لتحديد الأجسام المضادة نوع (IgG) لبكتريا *H.pylori* في المصل (German) Acon .

المرضى Patients

تناولت هذه الدراسة (66) مريض من فئات عمرية مختلفة بين (70-11) عاما من الذكور والإناث و جميعهم من المرضى الوافدين إلى مستشفى اليرموك التعليمي / وحدة الناظور الهضمي من الفترة 1/11/2011 ولغاية 1/4/2012 فقسما المرضى إلى مجموعتين :

A- مجموعة السيطرة (الغير مصابين بالقرح المعدية) عددهم (44) Control group
B- مجموعة المرضى (المصابين بالقرحة) عددهم (22) Patients group
حيث تم اخذ (66) عينة دم لكلا المجموعتين لغرض إجراء الفحص المصلي بواسطة عدة تشخيص الفحص السريع One step *H.pylori* test device kit لتحديد الأجسام المضادة نوع (IgG) لبكتريا *H.pylori* في المصل، جمعت النماذج أنيا بعد اخذ الخزعة النسيجية ورسبت باستخدام جهاز الطرد المركزي، وخرن المصل بدرجة حرارة (- 20) م° لحين استعمالها

في إجراء الفحص المصلي [11]. كذلك أخذت (22) خزعة نسيجية من مجموعة المرضى المصابين بالقرحة المعدية فقط [12]، هذه الخزعة عبارة عن خزعات نسيجية أخذت من غار المعدة بواسطة الملقط الخاص بجهاز ناظور endoscope من نوع Olympus GIF-XQ230 وتحت التخدير الموضعي بعقار الزايلاكايين (Xylocaine) ووضعت في 2 مل من الفورمالين لغرض إجراء فحص النسيج المرضي Histopathological Method [13]. علما انه تم تعقيم ملقط الناظور وجميع الأدوات بمادة معقمة لمدة 20 دقيقة قبل الاستعمال. دونت المعلومات الخاصة لكل من مجاميع المرضى ومجاميع السيطرة وهم في وحدة الناظور وتم سؤالهم عن الأسئلة التالية العمر، الجنس، الوظيفة، منطقة السكن، هل أخذ أي دواء في الأسبوعين الأخيرين، وماهو هذا الدواء، هل يدخن أو يشرب الكحول، هل لديه أي أمراض مزمنة، ماهي الأعراض التي يشكو منها، مع تسجيل تاريخ جمع النماذج.

الطرق Methods

• طريقة الفحص النسيجي المرضي Histopathological Method

استخدمت اغلب الدراسات طريقة الفحص المجهرى للمقاطع النسيجية للتحري عن وجود بكتريا *H.pylori* في بطانة المعدة المخاطية وبكفاءة عالية. حيث يعتمد هذا الاختبار على شكل البكتريا وعلى كثافتها في النسيج ونوع الصبغة وخبرة الشخص القائم بالفحص وكذلك على التغيرات النسيجية الالتهابية التي تعد من العلامات المميزة لوجود البكتريا، حيث استخدمت في هذا الفحص صبغة الهيماتوكسولين-ايوسين (Haematoxylin-Eosine) [10]. حيث تؤخذ خزعة معدية من تجويف المعدة بواسطة جهاز الناظور endoscope وتوضع في أنبوبة معقمة محكمة الغطاء تحتوي على (2) مل من فورمالين تركيزه (10%) [14]، ويتم إرسالها لمختبر فحص النسيج المرضي وبالطرق الروتينية تثبت الأنسجة وتمرر بسلسلة متصاعدة من الكحولات، تصب في قوالب شمعية ثم تقطع بالمشرح اليدوي وبسمك (4) مايكرون إلى مقاطع طولية وتوزع على شرائح زجاجية وبواقع (4) مقاطع لكل شريحة وتصيغ بصبغة الهيماتوكسولين-ايوسين أو صبغة الكمزا Giemza أو صبغة الفضة للتحري عن التغيرات النسيجية ووجود بكتريا *H.pylori* وتشخص من قبل طبيب أخصائي حيث يكون شكل البكتريا حلزوني [15].

* الطرق المصلية Serological Methods

تعد هذه الطريقة مناعية إنزيمية للكشف عن الأجسام المضادة النوعية (IgG) ضد بكتريا *H.pylori* في مصل الإنسان [17][16]. تمتاز أهمية هذا الاختبار بأنه سريع وبسيط وذو كلفة واطنة.

عدة تشخيص البكتريا One Step *H.pylori* Test Device

استخدمت عدة اختبار مناعي نوعي سريع وبخطوة واحدة للتحري عن الأجسام المضادة لبكتريا *H.pylori* في مصل المرضى والأصحاء لتساعد في تشخيص الإصابة (مجهز من قبل شركة German-Acon)، وهو عبارة عن شريط فيه حفرة توضع فيها (3) قطرات من مصل المريض (الحاوي على الجسم المضاد نوع IgG) الذي يرتبط مع المستضد النقي لبكتريا *H.pylori* الملصق على سطح جزينات البولي سترين الذي يغلف الحفرة الموجودة على الشريط، هذا التفاعل يؤدي إلى تغير لون الخط الذي يظهر في منطقة الفحص (Test) مما يدل إن النتيجة موجبة، في حين عدم ظهور الخط الأحمر في هذه المنطقة يدل إن الفحص سالب، وحسب تعليمات الشركة المنتجة فإن النتيجة تقرأ خلال (10) دقيقة بعدها تهمل. وقد تم انجاز الفحص حسب تعليمات الشركة المنتجة [18].

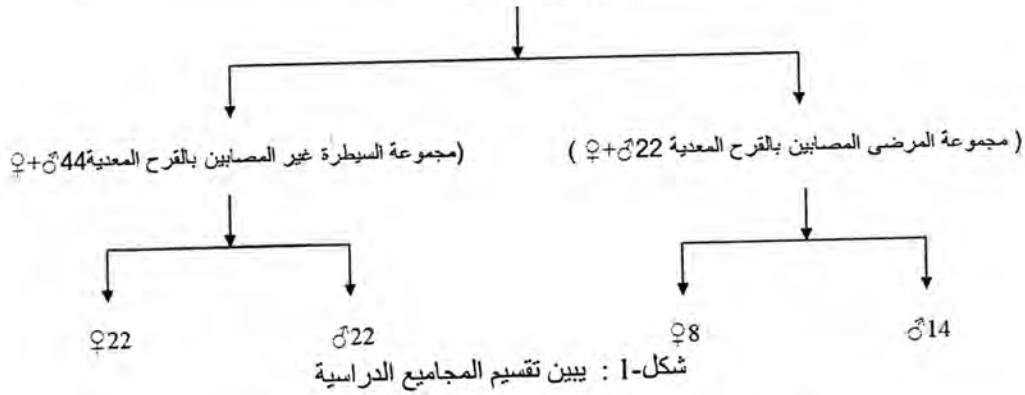
دراسة مصلية ونسجية عن بكتريا *Helicobacter pylori* في المرضى المصابين بالقرح المعدية وتأثير العمر والجنس في الإصابة نادية و كاظم و سراب

النتائج والمناقشة

الإصابة حسب الفئات العمرية والجنس:

أجريت الدراسة على (66) مريض من النساء والرجال قسمت الجامعات الدراسية إلى مجموعة المرضى المصابين بالقرح المعدية (22) ومجموعة السيطرة غير المصابين بالقرح المعدية (44) الشكل (1). قسمت الجامعات في الجدول (1) حسب العمر والجنس فكان أكبر عدد للذكور من الفئة العمرية (51-70) سنة وتبين إن عددهم (19) من العدد الكلي (36) وان أكبر عدد للإناث من الفئة العمرية (11-30) سنة وان عددهم (14) من أصل المجموع الكلي (30)

(66 نموذج ♂+♀)



جدول-1 : يبين تقسيم الجامعات الدراسية حسب العمر والجنس

العمرية	عدد الإناث (30)	عدد الذكور (36)
11-30	14	8
31-50	9	9
51-70	7	19

فحص النسيج المرضي (Histopathological test) :

اجري الفحص النسيجي المرضي باستخدام صبغة الهيماتوكسلين-ايوسين لمجموعة المرضى (22) الذين يعانون من القرحة المعدية للتحري عن وجود بكتريا *H.pylori* جدول (2)، واتضح أن أكبر عدد للذكور المصابين بالبكتريا من الفئة العمرية (51-70) سنة حيث كان عدد للذكور المصابين (5) من أصل المجموع (14)، وان أكبر عدد الإناث المصابات بالبكتريا من الفئة العمرية (11-30) سنة حيث إن عدد المصابات (2) من أصل المجموع الكلي (8) وهذه الدراسة تختلف مع دراسة [5] حيث كان عدد الذكور المصابين (16) وعدد الإناث المصابات (8)، وسبب الاختلاف هو انتشار البكتريا بشكل كبير في تلك الفترة في حين إن الفترة الحالية سببت قلت تواجد البكتريا بسبب كثرة استخدام المرضى للأدوية عند الشعور بأي ألم في المعدة حتى لو كان الألم بسيط.

جدول-2 : يبين أعداد الإصابة بين الفئات العمرية لمجموعة المرضى عند استخدام فحص النسيج المرضي

فحص النسيج المرضي				الفئات العمرية
إناث (8)		ذكور (14)		
-	+	-	+	
2	2	2	2	11-30
1	1	3	1	31-50
1	1	1	5	51-70

و أكدت هذه الدراسة إن نتائج الأخطاء السالبة لفحص النسيج المرضي تحدث مع المرضى الذين يأخذون مثبطات ضخ البروتون ، وقد تبين أن التصبغ باستخدام صبغة الهيماتوكسلين – ايوسين له حساسية ونوعية لكن ليس (100%) وذلك بسبب ظهور البكتريا بلون احمر شاحب يصعب تمييزها عن النسيج لاسيما إذا كانت الخزعات النسيجية حاوية على أعداد قليلة من البكتريا وهذا يتفق مع دراسة الباحث [10] في إمكانية تمييز الأعداد الكبيرة من بكتريا *H.pylori* في المقاطع النسيجية في حين يصعب تمييز الأعداد القليلة منها . وقد أمكن التحري عن بكتريا *H.pylori* من خلال شكلها الحلزوني أو العصيات المنحنية شكل (2) .

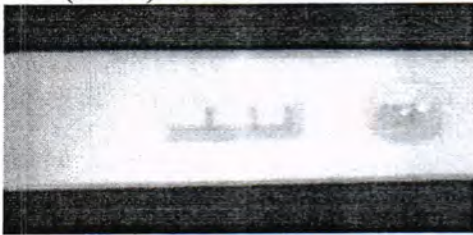


شكل 2- : يبين أشكال بكتريا *H.pylori* من الغار المعدي تظهر بشكل منحنى أو عصوي مصطبغة بصبغة الهيماتوكسلين – ايوسين على القوة (X1000) بالمجهر الضوئي .

عدة فحص *H.pylori* (One step *H.pylori* test device kit) :

بعد هذا الفحص من الاختبارات السريعة للتحري عن الأجسام المضادة لبكتريا *H.pylori* في المصل حيث استخدم كأحد الاختبارات البسيطة والتي تتطلب جهدا يسيرا في انجازه، إضافة إلى إمكانية استخدامه في المختبرات كفحص روتيني ، وفي المسوحات الميدانية لعدم الحاجة إلى أجهزة أو معدات شكل (3) .

ب- الفحص (+ ve)



أ - الفحص (- ve)



شكل-3: يبين عدة فحص *H.pylori* test device kit

اجري فحص عدة *H.pylori* test device kit لمجموعة المرضى (22) ومجموعة السيطرة (44) على حد سواء. فقد أظهرت الدراسة ايجابية الاختبار للتحري عن الأجسام المضادة لبكتريا *H.pylori* لدى كل من مجموعة المرضى والسيطرة من الذكور (17) مصاب من مجموع الذكور الكلي (37) حيث كان عدد المرضى (11) في حين أعداد السيطرة (6) وان الفرق المعنوي (قيمة $P = 0.006$ *) ، وكذلك ايجابية الاختبار لدى مجموعة المرضى والسيطرة من الإناث (10) مصابات من مجموع الإناث الكلي (29) حيث كان عدد المرضى (5) وأعداد السيطرة (5) وان الفرق معنوي (قيمة $P = 0.018$ *) جدول (3) بعد أن وزعت الإصابة حسب الفئات العمرية واعتمادا على حجم العينة المشمولة بالدراسة أظهرت النتائج إن نسبة المصابين بالبكتريا كانوا من الفئة العمرية (51-70) سنة وتقترب مع ما توصل إليه الباحثان [19] و التي أجريت في البرتغال عندما وجدوا إن نسبة الإصابة تزداد مع العمر. ولم تلاحظ أية فروق ملحوظة وكبيرة في توزيع نسبة الإصابة تبعاً لعامل الجنس وجاءت هذه الدراسة مقارنة مع دراسة الباحث [18] . حيث شوهد في هذه الدراسة ظهور أشخاص مصابين ضمن مجموعة السيطرة والذين أعطوا نتائج ايجابية لعدة فحص *H.pylori* السريع يمكن إن

دراسة مصلية ونسجية عن بكتريا *Helicobacter pylori* في المرضى المصابين بالقرح المعدية وتأثير العمر والجنس في الإصابة نادية و كاظم و سراب

تعزى تلك الايجابية لدى غير المصابين إلى بقاء مستوى الأجسام المضادة نوع (IgG) لعدة شهور بعد الشفاء من الإصابة مسبقاً [20] ، في حين يمكن إن تعود سلبية الاختبار لدى بعض المصابين بسبب ضعف الاستجابة المناعية [21] .

جدول-3: يبين أعداد الإصابة بين الفئات العمرية عند استخدام عدة فحص لمجموعة *H.pylori* One step test device kit مرضى والسيطرة

عدة فحص One step <i>H.pylori</i> test device kit						الفئات العمرية
كلي		إناث(29)		ذكور(37)		
-	+	-	(10)+	-	(17)+	
2	6	2	2	-	4	مجموعة 11-30 المرضى
11	4	7	3	4	1	السيطرة
* 0.026		0.455		-		P
1	4	-	2	1	2	مجموعة 31-50 المرضى
10	2	7	-	3	2	السيطرة
* 0.013		-		0.465		P
3	6	-	1	3	5	مجموعة 51-70 المرضى
12	5	3	2	9	3	السيطرة
* 0.067		-		0.094		P
6	16	2	5	4	11	الكلية المرضى
33	11	17	5	16	6	السيطرة
* 0.0002		*0.018		* 0.006		P

*الفرق معنوي بين النسب باستخدام مربع كاي

تبين من خلال النتائج التي أعطاها الفحصين إن فحص النسيج المرضي (Histopathological test) أعطى نتائج أدق حيث أظهرت ايجابية النتائج (12) مصابا بالبكتريا من مجموع المرضى (22) ولم يعطي أية نتيجة ايجابية لمجموعة السيطرة (44) وان قيمة (قيمة P * 0.0002) مقارنة بالنتائج التي تم الحصول عليها من عدة فحص (One step *H.pylori* test device kit) التي كانت اقل دقة فأعطت (16) مصاب بالبكتريا لمجموعة المرضى (22) وظهر نتائج ايجابية (11) مصابا بالبكتريا لمجموعة السيطرة (44) والتي لم تعطي أي فرق معنوي (قيمة P)، الجدول (4) وتبين هذه الدراسة انه يمكن اعتماد فحص النسيج المرضي الذي يساعد في تشخيص بكتريا *H.pylori* مقارنة بعدة فحص *H.pylori* One step test device kit والتي تتفق في (95%) مع الدراسة التي أجراها الباحثون [22] . و كانت متقاربة أيضا مع دراسة الباحث [9] في الحساسية والنوعية للفحص باستخدام صبغة الهيماتوكسلين - ايوسين وهي (90%) ، وعدم الاعتماد على فحص *H.pylori* One step test device kit في تشخيص الإصابة بهذه البكتريا والسبب هو ظهور نتائج ايجابية للإصابة بالبكتريا ضمن مجموعة السيطرة الذين لم يكن لديهم قرح معدية فقد ظهر لدينا (6) من مجموع (22) مريض عند استخدام الفحصين معا في حين أن (16) مريض من مجموع (22) تباينت نتائجهم عند إجراء الفحصين معا، ولذا يجب إجراء فحوصات أخرى عند تشخيص البكتريا مثل فحص تحلل أنزيم اليوريا السريع، الزراعة البكتيرية ، فحص النسيج المرضي وغيرها من الفحوصات التشخيصية الأخرى .

جدول-4: يبين النتائج التي أعطاها فحص النسيج المرضي و عدة فحص (One step *H.pylori* test device kit) لمجموعتي السيطرة والمرضى

قيمة P	مجموعة المرضى (22)		مجموعة السيطرة (44)		اسم الفحص
	- Ve	+ ve	- ve	+ve	
0.0002*	6	16	33	11	عدة فحص One step <i>H.pylori</i> test device kit
-	10	12	-	-	فحص النسيج المرضي

المصادر

1. Jawetz, J. B. ; Melnick, J. L. ; Adelberg's ; Geo. F. Brooks ; Karen C. Carroll ; Janet S. Butel ; Stephen A. Morse ; Timothy A. Mietzner (2010). *Vibriosis, Campylobacter, Helicobacter* and Associated Bacteria. In " Medical Microbiology" Twenty-Fifth International Edition. Printed in Singapore. Chap. 17 ; P:238-241 .
2. Skirrow, M. B.(2002). *Campylobacter* and *Helicobacter* : Enteritis ;Gastritis ; peptic ulcer- In Medical Microbiology: ; a guide of microbial infection : pathogenesis immunity, laboratory diagnosis and control " . Edited by Greenwood, D. ; Slack, R. C. B Peuthener, F. F. sixteenth edition . Churchill Livingaston. Part3; chap.29 ; .288 - 295 .
3. Malfertheiner, P.; Bohr, U. R. M. and Günther, T.(2000). Infection with *H.helimannii* (formerl *Gastrospirillumhominis*). Characterization epidemiology and therapy in *H.pylori* "Basic mechanisms to clinical cure 2000" Edited by Hunt, R. H. and Tytagat, G. N. J. Kluwer Academic publishers . Section III: Novel Helicobacters. Part9. p73-82.
4. Moran, A. P. ; Knirel, Y. A. ; Widmalm, G.; Hynes, S. O. and Jansson, P.E.(2002). Phenotyping variation in molecular mimicry between *H.pylori* LPS and human gastric epithial cell surface glycoforms. expression by *H.pylori* LPSs. J. Biol. Chem. ; 277(8): 5785-5795 .
5. الراوي ، سراب خاشع (2005) . دراسة بكتريولوجية ومصلية لبكتريا المعزولة من المرضى العراقيين المصابين بداء السكري والقرح الهضمية . أطروحة دكتوراه- الجامعة المستنصرية .
6. Han, S. R. Zschauch, H. E. Meyer, H. W. Schneider, T. Loos , M. and Maeurer, M. J.(2000). *H.pylori* cional population structure and restricted transmission with Into 6 families reveled by molecular typing. J. Clin. Microbiol. ; 38(10)3646-3651 .
7. Luigi Santacroe, MD.(2011). *H. pylori* infection ; Chief Editor : Julian Katz, F.Se. L.(7).
8. جمعة ، ميساء غازي (2008). عزل وتشخيص جرثومة *H.pylori* وممرضات أخرى في مياه الشرب في محافظة البصرة رسالة ماجستير – جامعة البصرة .
9. Kearney, D. J.(2003). *H.pylori* infection Current-treat. Options in infect. Dis. 5:197-206.
10. بعض الدراسات المناعية والجزئية للأمراض المعدية (2007) باقر ، وسن عبد الإله . أطروحة دكتوراه- الجامعة المستنصرية *H.pylori* بكتريا والاثنى عشر المسببة بواسطة
11. الصكر ، رباب قاسم محمد (2007) . دراسة مرضية وجزئية لبكتريا *H.pylori* المعزولة من المرضى المصابين بالقرح المعدية والمعوية. أطروحة دكتوراه- جامعة بغداد.

12. Castillo-Rojas, Balleros, M. ; Ponce-de-leon, and Lopez-Vidal, Y.(2002). Bleeding peptic ulcer and *H.pylori* by various test : a case control study. Eur.J. Gastroenterol. Hepatol.,14:1113-1118
13. Isomoto, H. Inoue, K. Shikuma, H. Kanemastu, T. and Kohno, S.(2002). Five minute endoscopic urea breath test eith 25 mg of C 13 –urea in the management of *H.pylori* infection. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. ; 14: 1093-1100 .
14. Lai, Y. ; Yang, J. and Huang, S.(2004). Pretreatment urea breath test results predicats the efficacy of *H.pylori* eradication inpatients with active duodenal ulcer. World- J. Gastroenterol., 10(7)991-994 .
15. Zavos C, Kountouras J, Sakkias G, Venizelos I, Deretzi G, G, Arapoglou S.(2011). Histological Presence of *H.pylori* Bacteria in the Trabeculum with Primary Open- Angle Glaucoma 15; 47(3) : 150-156.
16. Rosentock, S. ; Jorgenesen, T. ; Bonnevie, O. and Anderson, L.(2003). Risk factors for peptic ulcer disease : A population based prospective cohort comprising 2416 Danish adult. Gut ; 52:186-193 .
17. Chen, T. S. F. Y. Li. F. Y. Chang, and S. D. Lee. (2002). Immunoglobulin G antibody against *Helicobacter pylori* . clinical implications of levels found in serum. Clin Diagn Lab Immuno 19:1044-8 .
18. دراسة بعض معايير مصل الدم والأنسجة لدى المرضى (2004) محمد، نجاح علي . رسالة دكتوراه – الجامعة *H.pylori* المصابين بالتهاب وسرطان المعدة المرتبط بوجود بكتريا *H.pylori* . المستنصرية .
19. Quina, M.G. and Gurerreio, A. S.(2001): Gastric censer (Carcinoma) and *Helicobacter pylori* , Situation in Porugal. Hepato. Gastroenterol. 48:1565-67 .
20. Goldsby, R. A. ; Kinat, T. J. and Osborne, B. A.(2000): Kuby immunology. 4th ed. W.H. Freeman and company (New York).
21. Oluwasola , A. O. and Ogunbiyi , J. O. (2004) : Gastric cancer etiological, cilicopathology Med.12(4):177-86.
22. Bakka, A. S. ; EL- Gariain, A. B. ; Aboughaara, F. M. and Salih, B.A. (2002). Frequency of *H. pylori* infection in despeptic patient in Libya. Saudi- Mde. J. 23(10):1261-1265 .

اتلاف مبيد الزئبق العضوي (Falisan 1,5)

اسامة عبد المجيد عبد الهادي¹ وكنعان محمد توفيق² و علي حسين علي³ و احسان نصيف⁴
¹ اية البحث العلمي والتطوير الصناعي/ وزارة الصناعة والمعادن
^{2,3,4} وزارة الصناعة والمعادن/ شركة ابن سينا العامة

تاريخ تقديم البحث 2012/2/5 - تاريخ قبول البحث 2013/2/26

الخلاصة

شكل وجود الزئبق في المبيد الزراعي المعروف بالاسم التجاري (Falisan 1.5) والذي استخدم في تعفير بذور الحنطة في العراق في أوائل السبعينات من القرن الماضي خطورة كبيرة على البيئة، حيث أدى سوء استخدام هذه المادة من قبل المزارعين حينها إلى كارثة بيئية في العراق عام 1972 وأعتبرت في ذلك الوقت إحدى الكوارث العالمية الناتجة عن مركبات الزئبق. تزداد خطورة الزئبق على الإنسان عندما يكون على شكل مركب فلز-عضوي (Organometallic) لقابلية هذه المواد على التجمع في الدماغ والتي تؤدي إلى مضاعفات كبيرة. بالإمكان التخلص من خطورة هذا المبيد، إما بأن يتم استرداد الزئبق منه أو تحويله إلى مادة خاملة والتي لا تسبب تلوث للبيئة. في هذه الدراسة تم تحويل الزئبق إلى مركب خامل وذلك بتفاعل المركب العضوي مع زيادة من كبريتيد الصوديوم ليتحول إلى كبريتيد الزئبق وهو مادة خاملة لا تذوب بالماء وبالتالي لا تسبب تلوث بيئي وهي نفس المادة الموجودة في خام الزئبق المنتشر في الطبيعة، درست العوامل المؤثرة على التفاعل للحصول على أفضل معطيات لغرض اعتمادها لبناء منظومة لاتلاف كامل الكمية المخزونة منذ فترة طويلة في مخازن وزارة الزراعة.

المقدمة

استخدمت مركبات الزئبق العضوي لأغراض التعفير في المجال الزراعي للتخلص من الفطريات وتمتاز بسميتها العالية وبمخاطرها العالية على الإنسان وعلى الكائنات الحية الأخرى. من الكوارث العالمية للتسمم بالزئبق ما حصل في اليابان عام 1952 بظهور مرض سمي باسم المدينة التي ظهر فيها (Minimata Disease) والذي أدى إلى وفات 44 شخصاً من صيادي الأسماك و أصيب المئات منهم بدرجات مختلفة من الشلل، وقد امتدت الإصابات إلى الطيور البحرية والقطط في المنطقة، تبين فيما بعد احتواء الأسماك واللافقريات البحرية على نسب عالية من الزئبق على شكل الكيل الزئبق والتي استخدمت من قبل أحد مصانع الورق في المنطقة لغرض منع نمو الأشنات في الأحواض المائية التي تحفظ فيها سيقان الأشجار لصناعة عجينة الورق. الحادثة الثانية كانت في نهاية الخمسينات، إذ أدى استعمال البذور المعفرة بمركبات الزئبق في السويد إلى موت العديد من الطيور. أما الحادثة الثالثة المؤشرة عالمياً هو ما حصل في العراق عام 1972 والتي نجمت عن الاستهلاك الخاطئ للحنطة المعفرة بالزئبق العضوي من قبل المزارعين حيث أدت إلى موت أكثر من 450 شخص و إصابة خمسون الف من المزارعين بدرجات مختلفة من الشلل والعمى والخرف بالإضافة إلى موت الحيوانات والطيور [1-4]، مما حدى بالمنظمات العالمية إلى منع استخدام مركبات الزئبق العضوية في مجال الزراعة. كان الاسم التجاري للمادة المستوردة هو Falisan Universal Disinfectant 1.5، وتتكون من

2.5 Phenyl Mercury Acetate (PMA) corresponding to 1.5% mercury

97.3 Additive and Mineral Carrier 2 Red Staff.0 الصيغة الكيميائية للمادة

الفعالة (PMA) هي $C_6H_5-Hg-OCOCH_3$ ، الجرعة القاتلة 40 ملغم/كغم.

في براءة اختراع سابقة [5] تم دراسة استرداد الزئبق من المبيد (Falisan1,5) على هيئة عنصر الزئبق.

أن الهدف الأساسي للبحث هذا هو الحفاظ على البيئة بالرغم من كون قيمة المواد المستردة من هذه العملية قليلة. تم اقتراح منظومة متعددة الاغراض لمعالجة المادة المعفرة والتخلص من خطورة الزئبق السام. بالإمكان استخدام معدات هذه المنظومة لاتلاف مواد سامة أخرى. يمكن

اسامة وكنعان و علي و احسان

اتلاف مبيد الزئبق العضوي والتخلص منه بترسيب الزئبق على هيئة كبريتيد الزئبق غير قابل للذوبان بالماء باستخدام كبريتيد الصوديوم [6]، الثايواست امايد او الثايول [7] ، الثايويريا او الطريقة الحيوية لإزالة مركبات الزئبق السامة [10-13]، كما تم استخدام الباييريت FeS_2 لنفس الغرض [14]. استطاع مجموعة من العلماء من تكتيل مركبات الزئبق الذائبة باستخدام كلوريد الحديدك وبولي كلوريد الالمنيوم [15] ومن ثم فصلها والتخلص منها.

تم اقتراح المحاور الآتية في هذا البحث للتخلص من مركب الزئبق العضوي :

- 1- إذابة الزئبق واصطياده على مبادل أيوني.
- 2- إذابة الزئبق وترسيبه أنيا إلى مادة خاملة (كبريتيد الزئبق) باستخدام كبريتيد الصوديوم أو الثايواست امايد.

المواد و طرائق العمل

الجزء الكبير من مكونات خلطة المادة المعفرة (97%) هي أتربة مطحونة إلى درجة عالية من النعومة لغرض تخفيف نسبة المادة الفعالة إلى الحد الذي يمكن التعامل معه بسهولة لتعغير الحنطة. عند تحليل هذه المادة باستخدام تقنية حيود الأشعة السينية (X-ray diffraction) وجد بأن التراب متكون من الكاولين، الفلدسبار والكوارتز (Kaolinite, Feldspar, Quartz) شكل رقم (1)، وجدنا بأن معدل الحجم الحبيبي لهذه الخلطة 8.8 مايكرون باستخدام جهاز قياس الحجم الحبيبي بالأشعة الليزرية.

من صفات المادة الفعالة قابليتها القليلة للذوبان في الماء، وتم الحصول على محلول مشبع منها وذلك بخلط 10 غم من المبيد مع 50 مل ماء ولم يتأثر تركيز الزئبق بزيادة فترة الخلط. اعتمدت في تحديد نسبة الزئبق الطريقة اللونية وذلك بتكوين معقد كيميائي للزئبق مع الداوي ثايوزول ذي اللون الأصفر المائل إلى الوردي والذي يعطي امتصاصاً للأشعة الضوئية في المنطقة 485 نانوميتر، حدود القياس لهذه الطريقة تصل إلى 0.1 جزء بالمليون، وهي من الطرق الشائعة لتحليل الزئبق إضافة إلى طريقة الأشعة فوق البنفسجية [16-20].

لغرض التخلص من المادة الفعالة فقد تم دراسة المحاور التالية:

المحور الأول: إذابة الزئبق واصطياده على مبادل أيوني

أ-استخدام مبادل أيوني موجب

تم خلط 10 غم من المادة المعفرة مع 200 مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 0.5 مول/لتر لمدة ثلاث ساعات، رشح المحلول ومرر على عمود يحتوي على مبادل أيوني موجب نوع (S-100)، خلط المحلول الخارج من العمود مع نفس المادة المعفرة ومرر مرة ثانية على نفس العمود، أعيدت العملية ثلاث مرات وتم قياس تركيز الزئبق لكل مرحلة وكانت نتائج هذه الطريقة غير مجدية لقلّة المادة المستردة وللحجوم الكبيرة للمحاليل الناتجة والتي بالتالي يجب معالجتها.

ب-استخدام مبادل أيوني سالب

أعيدت نفس التجربة أعلاه ولكن باستخدام مبادل أيوني سالب نوع (IR-100)، النتائج موضحة في الجدول رقم (1)، تركيز الزئبق في المادة الصلبة المتخلفة بعد إجراء المحاولات أعلاه أصبح 0.13%، وهذه الطريقة غير مجدية أيضا لنفس السبب اعلاه.

المحور الثاني: إذابة الزئبق وترسيبه على شكل كبريتيد الزئبق،

أ-الترسيب باستخدام الثايواست امايد (CH_3CSNH_2)

أولاً: الترسيب من محيط متعادل

خلط 2 غم من المادة المعفرة مع 50 مل من الماء المقطر في دورق زجاجي، بعد ساعة من الخلط أضيف 0.5 غم من مادة الثايواست امايد واستمر بالخلط لمدة أربع ساعات، سحبنا نماذج من المادة الصلبة والمحلل بعد مرور كل ساعة لمتابعة كفاءة الطريقة، النتائج موضحة في الجدول رقم (2).

ثانياً: الترسيب من محيط حامضي

على ضوء الدراسة السابقة [5] وجد بأن إضافة حامض النتريك يساعد على إذابة الزئبق وإن وجود الزئبق المذاب هو الذي يتأثر بعملية الترسيب، ولغرض دراسة هذا التأثير على كفاءة عملية الترسيب فقد خلطنا 2 غم من المادة المعفرة مع 50 مل من محلول 10% حامض النتريك لمدة ساعة، أضيف 0.5 غم من مادة الثايواست أميد ومراقبة كفاءة الطريقة كل ساعة، والنتائج موضحة في الجدول رقم (3).

لمعرفة تأثير الزيادة من مادة الثايواست أميد، فقد تم خلط 2 غم من المبيد مع 50 مل ماء مقطر لمدة ساعة أضيف إليه أوزان مختلفة من ثايواست أميد مع الاستمرار بالخلط لمدة أربع ساعات، النتائج موضحة في الجدول رقم (4).

ب- الترسيب باستخدام كبريتيد الصوديوم
أولاً: الترسيب من محيط متعادل

خلط 2 غم من المادة المعفرة مع 50 مل ماء مقطر لمدة ساعة، أضيف 0.5 غم كبريتيد الصوديوم والاستمرار في الخلط وأخذ نماذج من المحلول والمادة الصلبة على فترات زمنية وقياس تركيز الزئبق، جدول رقم (5).

ثانياً: تأثير كبريتيد الصوديوم

خلط 2 غم من المبيد مع 50 مل ماء مقطر، أضيف إليه بعد مرور ساعة أوزان مختلفة من كبريتيد الصوديوم والاستمرار بالخلط لمدة أربع ساعات إضافية، النتائج موضحة في جدول رقم (6).

التجربة المثالية:

- 1- خلط 100 غم من المبيد مع نصف لتر من الماء لمدة ساعة.
- 2- أضيف الى المحلول العالق 7.7 غم كبريتيد الصوديوم والاستمرار في الخلط لأربع ساعات إضافية، كانت الدالة الحامضية عند هذه المرحلة 11.5.
- 3- أضيف حامض الكبريتيك المخفف بنسبة 1:1 لغاية الوصول الى الدالة الحامضية (5)، كانت كمية الحامض المستخدمة بحدود 4.5 مل.
- 4- رشح المحلول وتم قياس تركيز الزئبق في الراشح والراسب وكانت اقل من حساسية الطريقة المعتمدة (اي اقل من 0.1 جزء بالمليون). ترسب الزئبق على شكل كبريتيد الزئبق والذي لا يذوب في المحيط الحامضي، وبالتالي لم تتأثر بالمواد الكاشفة عند التحليل لتحديد نسبة الزئبق في المادة الصلبة، لذلك لم تظهر قيمتها في الجداول، أي أصبحت خاملة ولا يمكن قياسها بالطريقة المعتمدة لتحليل الزئبق. وهذا معناه بان المادة اصبحت غير ضارة للبيئة لعدم امكانية ذوبانها بالماء ومن ثم انتقالها الى الانسان او الحيوان.

النتائج والمناقشة

تكون سمية مركبات الزئبق العضوية اخطر بعشرات المرات من مركباته غير العضوية، ومن هنا تبرز اهمية هذه الدراسة للتخلص من سمية هذه المادة الفتاكة وتخليص الانسان والكائنات الحية الاخرى من مخاطرها الضارة جدا [21-25]. كذلك يمكن الاستفادة من معطيات هذه الدراسة لتصميم منظومة متعددة الاغراض لاتلاف كميات كبيرة من مبيد الزئبق العضوي الخطر.

1- من المعروف بأن لحامض النتريك القدرة على تكسير مركبات الزئبق-العضوية وتحرير الزئبق منها، ولكن لا يمكن استخدام المحاليل الحاوية على حامض النتريك وامرارها على مبادل أيوني لأن لحامض النتريك القدرة على إتلاف المبادلات الايونية، لهذا السبب تم استخدام حامض الهيدروكلوريك والذي لا يتلف المبادل الأيوني واختير التركيز 0.5 مول/لتر في التجارب الأولية. وجدنا بأن حامض الهيدروكلوريك يكون معقداً مع الزئبق العضوي ذي طبيعة أيونية سالبة بدليل عدم تأثر المحلول عند اممراره على مبادل الايونات الموجبة، بينما تم سحب المعقد من المحلول عند اممراره على مبادل الايونات السالبة، الجدول رقم (1).

اسامة وكنعان و علي و احسان

من خلال النتائج الموضحة في الجدول رقم (1)، تبين بأن كمية المادة الفعالة المذابة والمسحوبة على المبادل الايوني السالب قليلة جداً، مما استوجب إعادة العملية عدة مرات واستخدام نفس المحلول للحد من الزيادة في حجم المحاليل، بعد التكرار اتضح بأن نسبة الزئبق لم تتأثر في المادة الصلبة بشكل ملموس وهذا دليل على عدم جدوى الاستمرار بهذا الخط، علماً بأن الخطوة اللاحقة سوف تكون بتحرير الزئبق من المبادل والحصول على محلول يحتوي على الزئبق وبالتالي الحاجة إلى ترسيبه إلى مادة خاملة أو إلى استرداده، للأسباب أعلاه تم استبعاد هذه الطريقة لعدم كفاءتها، لم يتم تجربة تركيز آخر للحامض لنفس السبب أعلاه.

2- أمكن سحب الزئبق الذائب من المحلول باستخدام مادة مرسبة مناسبة مثل الثايواست أمايد [7] أو كبريتيد الصوديوم [6].

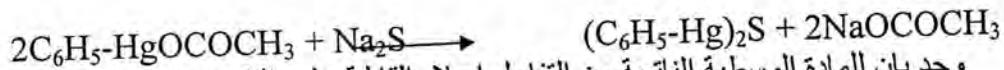
تعتبر المادة HgS علمياً من اقل المواد المعرفة ذوباناً في الماء وان حصل الاذابة لهذا المركب هو 1.5×10^{-53} ، ومن الجدير بالذكر بان هذا المركب موجود في خام الزئبق المنتشر في الطبيعة والذي يستخرج منه عنصر الزئبق.

3- يتبين من الجدول رقم (2) بأن عملية سحب الزئبق من المبيد باستخدام المادة المرسبة تتم بساعة واحدة في حالة المحيط المائي المتعادل، بينما يتأثر السحب سلباً في حالة المحيط الحامضي اذ أصبحت أربع ساعات، جدول رقم (3). وجد بأن استخدام 0.15 غم من الثايواست أمايد كاف لإتلاف 2 غم من المبيد، الجدول رقم (4)، يلاحظ من الجدول بأن مجموع نسب الزئبق تتخفض في كل من الطور المائي والطور الصلب عن كمية الزئبق الموجودة أصلاً في المبيد الزراعي، وهذا يعزى إلى أن الزئبق يتحول إلى مادة مترسبة خاملة لا تتأثر بالمواد الكيميائية المعروفة وبالتالي لا يمكن تحسها بالطرق التحليلية المعتمدة وبالرغم من وجودها في الطور الصلب. أن الأرقام المبينة في الجداول تشير فقط للزئبق الذائب في المحلول أو الزئبق القابل للذوبان بالنسبة إلى المادة الصلبة وأن نسبة الزئبق في كل من المحلول والمادة الصلبة هي اقل من حساسية الجهاز التحليلي تعني بأن كل من الزئبق قد تحول إلى مادة خاملة (HgS).

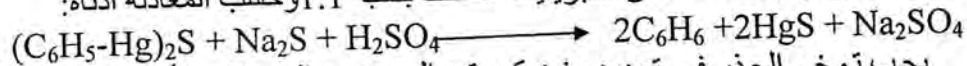
4- بخط متوازي، تم استخدام كبريتيد الصوديوم كمادة مرسبة للزئبق من محيط مائي متعادل ولم يستخدم المحيط الحامضي، إذ أن وجود الحامض سيؤدي إلى تفكك كبريتيد الصوديوم بسرعة مما يقلل من احتمالية تفاعله مع الزئبق، كذلك وجد بأن عملية ترسيب الزئبق تحتاج إلى أربع ساعات على الأقل الجدول رقم (5)، ويحتاج إلى زيادة من كبريتيد الصوديوم على الكمية النظرية (جدول رقم 6).

يجب أن يأخذ بنظر الاعتبار تحرر غاز H₂S السام في تصميم المنظومة الصناعية، إذ يجب وضع أبراج خاصة لإمتصاص الغاز وإتلافه.

أما الزيادة من الكبريتيد فقد تم إتلافها بإضافة حامض الكبريتيك أو الهيدروكلوريك، وجد بأن إضافة 0.155 غم من كبريتيد الصوديوم كافي لمعالجة 2 غم من المبيد، الجدول رقم (6). ميكانيكية تفاعل PMA مع كبريتيد الصوديوم تؤدي إلى تكوين مركب وسطي [26] هو (phenyl mercuric sulfide):



وجد بان للمادة الوسطية الناتجة من التفاعل اعلاه القابلية على الذوبان في زيادة من محلول كبريتيد الصوديوم، في هذه الحالة، بالإمكان ترشيح الراسب لفصل الزئبق الذائب في المحلول بصورة تامة [26]، تتفكك المادة الوسطية ببطنى إلى كبريتيد الزئبق وبالإمكان تسريع هذه العملية إما بالتسخين أو إضافة حامض الكبريتيك المخفف بنسبة 1:1 وحسب المعادلة ادناه:



يجب توخي الحذر في تحديد وزن كبريتيد الصوديوم المضاف، لأنه كنتيجة للتخلص من الكبريتيد الزائد سوف يتولد غاز كبريتيد الهيدروجين السام.

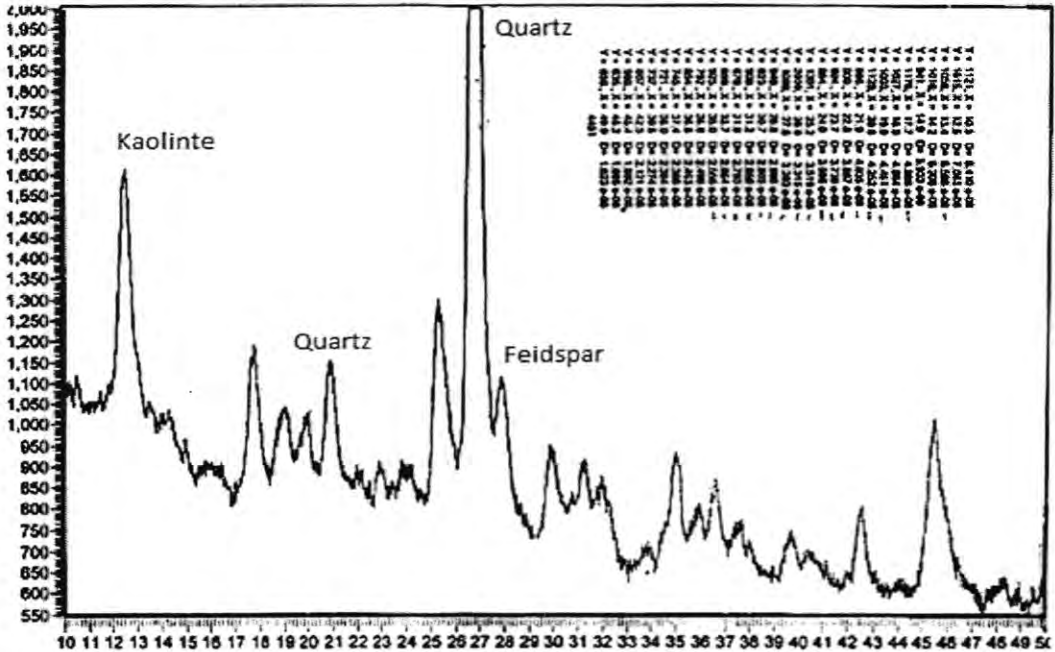
5- وجد أن استخدام كبريتيد الصوديوم بوزن مكافئ الى وزن الزئبق بالاعتماد على الحساب من المعادلة اعلاه لم يؤدي الى الانتزاع الكامل للزئبق وترسيبه على شكل كبريتيد الزئبق، جدول رقم (6)، لذا تم دراسة تأثير الزيادة من كبريتيد الصوديوم على العملية، علما بأن القابلة لكل من المركب الوسطي وكبريتيد الزئبق للذوبان في محلول كبريتيد الصوديوم تزداد كلما كان تركيز كبريتيد الصوديوم أعلى.

6- اتضح من التجارب المختبرية اعلاه بأن استخدام الثاوست أمايد طريقة جيدة ولكنها مادة مستوردة غالية الثمن، لذا فإن استخدام كبريتيد الصوديوم ستكون هي المفضلة لتوفرها في الأسواق المحلية ورخص ثمنها.

7- تتوفر طريقة استخدام كبريتيد الصوديوم مرونة عالية ، اذ بالإمكان إتلاف المبيد أو الاستفادة من كبريتيد الزئبق المتكون، يتم في هذه الحالة استخدام زيادة كبيرة من كبريتيد الصوديوم (0.155غم/2غم مادة فعالة)، إذ يتم أولا إذابة المادة الوسطية وسحب الزئبق بصورة كلية من المبيد الزراعي، يرشح المحلول ويضاف إليه حامض الكبريتيك المخفف بنسبة 1:1 والذي يعمل على تفكيك المادة الوسطية وإتلاف الزيادة من كبريتيد الصوديوم، عندها يترسب الزئبق على شكل كبريتيد الزئبق بحالة نقية ثم يرشح الراسب ويغسل ويجفف [26].

8- إن مبدأ استخدام الكبريتيدات كمادة مرسبة يكون فعالا في حالة وجود الزئبق على شكل أيون ذائب في الماء، لكن قابلية المادة (phenyl mercury acetate) على الذوبان في الماء ضعيفة جدا وبمعنى آخر ان تحرر أيون الزئبق يكون بشكل بطيء وبالتالي فرصة لتكوين مركب كبريتيد الزئبق على شكل راسب غير قابل للذوبان في الماء تحتاج الى وقت طويل.

الهدف الأساس من هذا العمل هو توفير المعرفة العلمية للتخلص من المبيد الزراعي الخطر والحفاظ على البيئة من تأثير المواد السامة، إذ أن سوء استخدام هذه المادة في حالة وصولها الى بعض المستغلين (كأن تستخدم في صيد الأسماك أو الطيور) سيؤدي الى مقتل وإصابة مئات الألوف من البشر، على هذا الأساس بالإمكان الاستفادة من المعطيات لاعداد تصميم لبناء منظومة متعددة الأغراض لإتلاف مبيد الزئبق الخطر بغض النظر عن الجدوى الاقتصادية لهكذا منظومة، وبالإمكان استخدامها لإتلاف مركبات الرصاص أو الكروم أو الزنك كذلك.



شكل-1: مخطط حيود الاشعة السينية للمادة الترابية

اسامة وكنعان و علي و احسان

جدول-1: قابلية عمود الاستخلاص السالب على سحب ايون الزئبق من المحلول

المحلل الخارج من العمود	المحلل الداخل على العمود	تركيز الزئبق
تركيز الزئبق	اقل من 0.1 جزء بالمليون	0.073 غم/لتر
المعالجة الاولى	اقل من 0.1 جزء بالمليون	0.074 غم/لتر
المعالجة الثانية	اقل من 0.1 جزء بالمليون	

جدول-2: تأثير زمن ترسيب كبريتيد الزئبق بالثاويست امايد في المحيط المتعادل

الزمن	تركيز الزئبق في المحلول	تركيز الزئبق في المادة الصلبة
ساعة واحدة *	0.0882 غم/لتر	%1.353
ساعتان	اقل من 0.1 جزء بالمليون	اقل من 0.1 جزء بالمليون
ثلاث ساعات	اقل من 0.1 جزء بالمليون	اقل من 0.1 جزء بالمليون
اربع ساعات	اقل من 0.1 جزء بالمليون	اقل من 0.1 جزء بالمليون

* اضيف الثاويست امايد بعد ساعة

جدول-3: تأثير زمن ترسيب كبريتيد الزئبق بالثاويست امايد في المحيط حامضي

الزمن	المحلل	المادة الصلبة
ساعة واحدة *	0.104 غم/لتر	%1.374
ساعتان	0.004 غم/لتر	%0.196
ثلاث ساعات	0.003 غم/لتر	%0.170
اربع ساعات	اقل من 0.1 جزء بالمليون	اقل من 0.1 جزء بالمليون

* اضيف الثاويست امايد بعد ساعة

جدول-4: تأثير الزيادة من الثاويست امايد على ترسيب كبريتيد الزئبق

وزن الثاويست امايد غم	تركيز الزئبق في المحلول	تركيز الزئبق في المادة الصلبة
0.15	اقل من 0.1 جزء بالمليون	اقل من 0.1 جزء بالمليون
0.35	اقل من 0.1 جزء بالمليون	اقل من 0.1 جزء بالمليون
0.5	اقل من 0.1 جزء بالمليون	اقل من 0.1 جزء بالمليون

جدول-5: تأثير زمن ترسيب كبريتيد الزئبق بكبريتيد الصوديوم من محيط متعادل

الزمن	تركيز الزئبق في المحلول	تركيز الزئبق في المادة الصلبة
ساعة واحدة *	--	--
ساعتان	0.097 غم/لتر	%0.205
ثلاث ساعات	0.059 غم/لتر	اقل من 0.1 جزء بالمليون
اربع ساعات	اقل من 0.1 جزء بالمليون	اقل من 0.1 جزء بالمليون

* اضيف كبريتيد الصوديوم بعد مرور ساعة

جدول-6: تأثير الزيادة من كبريتيد الصوديوم على ترسيب كبريتيد الزئبق

وزن كبريتيد الصوديوم غم	تركيز الزئبق في المحلول	تركيز الزئبق في المادة الصلبة
0.0155	0.052 غم/لتر	%0.69
0.155	اقل من 0.1 جزء بالمليون	اقل من 0.1 جزء بالمليون
0.5	اقل من 0.1 جزء بالمليون	اقل من 0.1 جزء بالمليون

المصادر

1. L. F. kozin and S. C. Hansen; Mercury Handbook, chemistry, Applications and Environment Impact. Royal Society of chemistry ; 2012
2. Cox ; J Environ . Res. 31 ,640 (1989).

3. Mercury poisoning , Wikipedia , The Free Encyc . Engler R. Technology out of control; The nation 240, 1985 .
4. P. J. Caring ; Organometalic compound in the environment , 2nd edition , John Wiley and sons ,2003 .
5. أسامة عبد المجيد وآخرون استرداد الزئبق من المبيدات الزراعية المحظور استعمالها ، براءة اختراع عراقية برقم 3184-2004.
6. Carl A. Bnche, Walter H. Gutenmann, Leigh E. St and John Jr.;Mercury and Methyl mercury content of agricultural crops grown on soils treated with various mercury compounds ; J. Agric food Chem. , 21 (4), pp 607-613 (1973).
7. V. Singh, D. Joshi, S. Shivasta and S. Shuklas; Effect of monothiol along with antioxidant against mercury – induced oxidative stress in rat ; Indian Journal of Experimental Biology ,Vol.45 , pp. 1037-1044 (2007).
8. Vermillion and Hudson; Thiourea – catalyzed solid phase extraction of dissolved methyl mercury. Analytical and Bioanalytical chemistry, 2007 .
9. M. Y. Vilensky .B. Berkowitz and A. Warshawasky; In situ remediation of groundwater contaminated by Heavy - and Transition- metals ions by selective ion – Exchange Methods., Environmental Science Technology, 36,1851-1855 (2002).
10. Natural and Accelerated Bioremediation Research (NABIR) Program, Office of Biological and Environmental Research ,Office of Science, U.S. Department of Energy .What is Bioremediation, PP.9 (2003).
11. S. D. Sicilano. N. J. O'Driscoll and D. R. S. Lear; Microbial Reduction and Oxidation of Mercury in Freshwater Lakes. Environmental Science and Technology, VOL.36, 2002 .
12. Irene Wanger – Dobler. Removal of Mercury from chemical wastewater by microorganisms in Technical Scale .Environmental Science, Vol. 34, 2000.
13. Nilanjana Das, R. Viriala and P. Karthica ; Biosorption of heavy metals – An overview; Indian Journal of Biotechnology, Vol. 7, PP.159-169 (2008).
14. B. Julic and B. Mark; Immobilization of mercury by pyrite (FeS₂). Environ. Pollut, 156-504-14 (2008).
15. Y. K. Hennberry, T. E. C. Kraus and J. A. Fleck; Removal of inorganic mercury and methyl mercury from surface waters following coagulation of dissolved organic matter with metal – based salts ; Science of Total Environment, 409, 631-637 (2011).
16. T. A. Doane and W. R. Horthwath; Eliminating interference from iron (III) for ultraviolet absorbance measurements of dissolved organic matter; Chemosphere, 78 : 1409-15 (2010).

17. I. A. Dittman, I. B. Shanley, C. T. Driscoll and A. T. Chalmers; Ultraviolet absorbance as a proxy for total dissolved mercury in streams, *Environ. pollut*, 157; 1953-6 (2009).
18. F. Dewild, M. L. Olson and S. Olun; Determination of methyl-mercury by aqueous phase ethylation followed by gas chromatographic separation with cold vapor atomic fluorescence detection ,Open file report , United states Geological survey, 01-445 (2002).
19. Wilder Leonardo, speciation of mercury in environment. samples; Master Thesis, Barcelona univ.2010 .
20. A. Dubiella-Jackowska, A. Wasik and A. Przyjazny; Preparation of soil and sediment sample for determination of organometallic compounds ;polish Journal of Environ , Stud.Vol.16, No.2, 159-176 (2007).
21. A. Amirbahman, A. L. Reid and T. A. Haines; Association of methyl-mercury with dissolved humic acids, *Environ .Sci. Technol.* 36, 690-5 (2002).
22. C. H. Walker; *Organic pollutants*, 2nd edition, CRC press, 2008.
23. P. J. Carig; *Organometallic Compounds in the Environment*, John Wiley and Sons Ltd, 2003 .
24. Thomas W. Clarkson; The Toxicology of mercury and its chemical compounds, *Critical Review Toxicology* , Vol. 36 , PP. 609-662, 2006.
25. Dean W. Boening; Ecological effects, transport, and fate of mercury, a general review *Chemosphere*, 40, 1335- 1351 (2000).
26. K. F. Sporek; Determination of mercury in Fungicidal preparation containing organo – mercury compound, part2, The determination of organo- metallic Compound after decomposition of mercuric sulphide *Anal* , Vol. 81(478-482) (1956).

دراسة رسوبية الى تكوين زارزارتين (ترياسي اوسط) في حوض مرزق ، منطقة العوينات – جنوب ليبيا

مزاحم عزيز باصي

قسم العلوم العامة، كلية التربية الاساسية، جامعة واسط

تاريخ تقديم البحث 2012/2/19 - تاريخ قبول البحث 2013/2/26

ABSTRACT

Zarzartin Formation (Middle Triassic) had been studied sedimentologically in the Alawaynat area , south Libya. The study indicated that the formation consists of several fining upwar cycles and deposited in fluvial meandering rivers.

Two main facies were recognized in the studied formation; coarse grained sediments facies and fine grained sediments facies. The coarse grained sediments facies represented the main channels sediments and are divided into four subfacies ; lag deposits, cross-bedded, horizontal- bedded and cross-laminated. The fine grained sediments facies represented overbank sediments (Levees, swamps and small lakes) and are divided into five subfacies: mudstone bearing remain of calcified woods ; fossiliferous mudstones, siltstones and sandstones ; gypseous mudstones, siltstones and sandstones ; sandstones of parting lamination and siltstones and reddish mudstone.

The study indicated that the facies at the base of the formation might be deposited in tropical climate as indicated by mudstone bearing calcified wood and fossiliferous mudstone, siltstones and sandstone subfacies, whereas the upper part of the formation was deposited in arid to semiarid climate as indicated by gypseous mudstone, siltstone and sandstone and reddish mudstone subfacies.

Petrographic study revealed that the investigated rocks are mature and contain mainly of quartz. Therefore, the Zarzartin Formation was derived from sedimentary rocks exposed at the southeast and northeast of Murzuk basin as indicated by sedimentary structures.

الخلاصة

تكوين زارزارتين (ترياسي اوسط) تم دراسته رسوبيا في منطقة العوينات ، جنوب ليبيا. الدراسة بينت بان التكوين يتكون من عدة دورات رسوبية تتناغم في حجم حبيباتها نحو الاعلى و ترسبت في بيئة نهريّة التوائية. سحنتان رئيسيتان تم تحديدها في التكوين المدروس وهما سحنة الترسبات الفتاتية الخشنة الحبيبات وتمثل ترسيب في القنوات الرئيسية و سحنة الترسبات الفتاتية الناعمة الحبيبات وتمثل ترسبات عبر الضفة. سحنة الترسبات الفتاتية الخشنة الحبيبات تم تقسيمها الى اربع سحنات ثانوية وهما شبه سحنة الترسبات القاعية المتخلفة وشبه سحنة التطبيق المتقاطع وشبه سحنة التطبيق الافقي وشبه سحنة الترقق المتقاطع. اما سحنة الترسبات الفتاتية الناعمة الحبيبات فانها تمثل ترسبات عبر الضفة متمثلة بالسداد والمستنقعات والبحيرات وتم تقسيمها الى خمس سحنات ثانوية وهما شبه سحنة الصخور الطينية الحاملة لمتحجرات الاشجار المتكلسة وشبه سحنة الصخور الطينية والغرينية و الرملية الحاملة للمتحجرات وشبه سحنة الصخور الرملية المحتوية على خطوط الجريان والغرينية وشبه سحنة الصخور الطينية والغرينية و الرملية الحاملة للجبسوم وشبه سحنة الصخور الطينية الحمراء.

الدراسة بينت بان السحنات في اسفل التكوين ربما ترسبت في مناخ مداري مطير حيث دلت عليه شبه سحنة الصخور الطينية الحاملة لمتحجرات الاشجار المتكلسة وشبه سحنة الصخور الطينية والغرينية و الرملية الحاملة للمتحجرات بينما السحنات في الجزء الاعلى من التكوين ترسبت في مناخ جاف او شبه جاف كما دلت عليه كل من شبه سحنة الصخور الطينية والغرينية و الرملية الحاملة للجبسوم وشبه سحنة الصخور الطينية الحمراء.

الدراسة الصخرية بينت بان الصخور كانت ناضجة معدنيا و تحتوي على الكوارتز بصور رئيسيه. وعليه فان صخور تكوين زارزارتين ربما كان مصدرها صخور رسوبية واقعة الى الجنوب الشرقي والشمال الشرقي لحوض مرزق كما دلت عليه قياسات التراكيب الرسوبية.

المقدمة

تكوين زازارتين تمت دراسته في منطقة العوينات وبالتحديد شرق مدينة العوينات بحوالي 35 كم (شكل 1). تركزت الدراسة في شمال و جنوب الطريق العام الذي يربط مدينتي العوينات و اوباري و بمسافة تتراوح ما بين 1-5 كم على جانبي الطريق. جيولوجيا يقع التكوين في حوض مرزق في ليبيا و الذي يعتبر من نوع الراسخ الداخلي و الواقع بين درع الصحراء في الجنوب و محيط التئيس في الشمال (1).

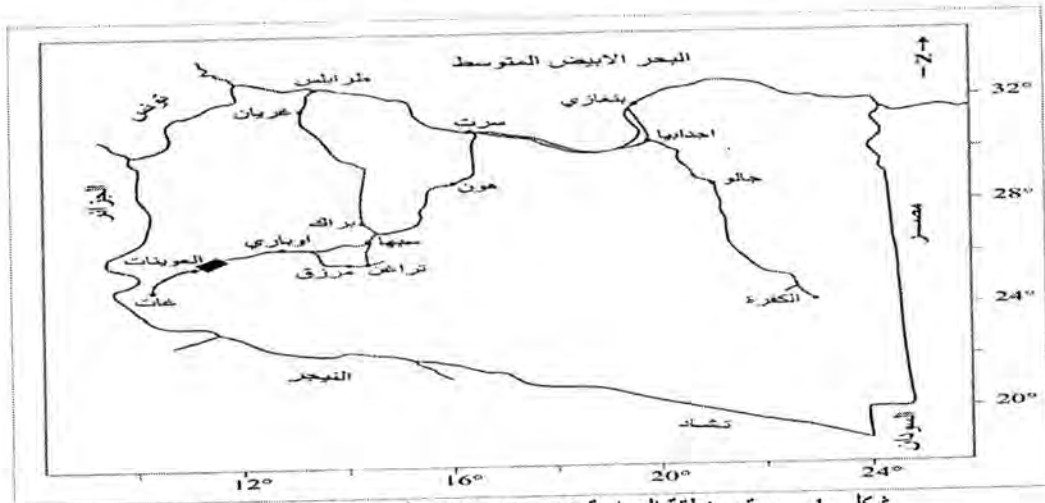
الدراسات السابقة للتكوين قليلة و لم تتطرق الى السحنات الرسوبية وكان اول من درس التكوين هما العالمان Lappurent and Leiubre في عام 1948 (2) واطلق عليه اسم تكوين زازارتين نسبة الى المنطقة التي اكتشف فيها التكوين في الجزائر (في الجزء الشرقي من حوض اليزي) و اجزاء من ليبيا. دراسات رسوبية اخرى في حوض مرزق تم اجرائها على تكوينات اقدم من تكوين زازارتين و احدث منه. هذه الدراسات كانت على كل من تكوين تادرات (الديفوني الاسفل) (3) و تكوين مساك (الجوراسي المتاخر - الطباشيري الاسفل) (4) ولكن لم تكن هنالك دراسات تشمل السحنات على تكوين زازارتين. تم وصف التكوين بالتفصيل من قبل Lafrance , 1958 and 1963 كما جاء في (2) ايضا و الذي يبين بان تكوين زازارتين يبدأ بطبقة من المكتلات سمكها يتراوح ما بين 10-20 سم يتبعها الى الاعلى تبادل من الصخور الغرينية و الطينية و الرملية و الصفة المميزة للتكوين هي السيطرة الواضحة للصخور الغرينية على كل انواع الصخور الاخرى.

الهدف من الدراسة هو تحديد السحنات الرسوبية المختلفة لتكوين زازارتين و معرفة البيئات المترسبة فيها و اقتراح النموذج البيئي للتكوين. و كذلك تهدف الدراسة الى دراسة صخور التكوين بتروغرافيا لايجاد المكونات المعدنية و اهم العمليات التحورية المؤثرة فيها.

المواد وطريقة العمل

عدة اجزاء من مقاطع تمت دراستها في التكوين و على جانبي الطريق الواصل بين مدينتي العوينات و اوباري حيث لم يظهر مقطع كامل للتكوين في المنطقة المدروسة. تم تمييز السحنات الرسوبية في الحقل على الاجزاء المنكشفة من التكوين اعتمادا على الاسس الصخرية و النسيج و التراكيب الرسوبية و السمات العضوية و ثم رسم التسابع السحني في المواقع المدروسة. تم قياس اتجاه 58 تركيب رسوبي من الطبقات المتقاطعة المستوية و من ثم رسمت وردةالاتجاه لمعرفة اتجاه التيار.

لغرض الدراسة البتروغرافية و النسيجية جمعت 39 عينة اغلبها من الصخور الرملية حيث اخذ نموذج واحد لكل طبقة من الصخور الرملية و عند ملاحظة تغير ملموس في الطبقة



شكل 1: موقع منطقة الدراسة (■). مقياس الرسم (1:10,000,000)

الواحدة في الليثولوجي يؤخذ نموذج او نموذجان اضافيان وحسب الحاجة. للدراسة النسيجية تم تفتيت العينات للصخور الرملية ذات الطبيعية الهشة مباشرة. اما بالنسبة للصخور الرملية الصلبة فقد تم وضعها في الماء لمدة يوم الي يومان ثم فتت و جفت قبل طحنها. غربلت العينات باستعمال المناخل بترتيب $\Phi 1$ ثم حسبت المعامل الاحصائية لتوزيع حجم الحبيبات وحسب الطريقة التي ذكرت في (5). المكونات المعدنية و العمليات التحويرية تم دراستها بواسطة شرائح عملت في الصخور الصلبة نسبيا و باستعمال المجهر المستقطب.

النتائج و المناقشة

تشمل النتائج كل من طباقية التكوين والسحنات الرسوبية والدراسة البترولوجرافية

طباقية التكوين

في المنطقة المدروسة تمت دراسة عدة مكاشف لاجزاء من تكوين زارزرتين الذي يتراوح سمكه من 100م شرق مدينة العوينات و يزداد تدريجا نحو الجنوب ليصل الى 130 م. التكوين يتكون من صخور رملية و غرينية وطينية ذات لون قهوائي محمر و مكون من عدة دورات رسوبية تتناغم حبيباتها باتجاه الاعلى. الصخور الرملية و الغرينية و الغرينية الرملية تكون ذات ميل لايزيد عن 5° و في بعضها توجد طبقات متقاطعة واضحة. في الجزء الاعلى من التكوين توجد طبقات طينية ذات لون احمر يتراوح سمكها ما بين 3-5 متر.

يكون سطح التماس السفلي للتكوين المدروس سطح عدم توافق مع تكوين دميابة - طبقة الانالسيم (كاربوني علوي) المتكون بصورة رئيسه من الصخور الجيرية. اما سطح التماس العلوي يكون غير متوافق مع تكوين تورانتين (جوراسي) و المتكون من تعاقب الصخور الرملية و الطينية و يقع عند السطح العلوي للطبقة الطينية الحمراء التي سمكها يتراوح ما بين 3-5م. عمر تكوين زارزرتين اعتبر ترياسي اوسط اعتمادا على المتحجرات التي يحتويها التكوين (2).

السحنات الرسوبية

جرت عملية تحليل السحنات الرسوبية لتكوين زارزرتين في منطقة العوينات بعد دراسة حقلية لاجزاء من التكوين شملت عدة مواقع (شكل 2 و 3).

ان تكوين زارزرتين تم تقسيمه الي سحنتين رئيسيتين و هما سحنة الترسبات الفتاتية الخشنة الحبيبات و سحنة الترسبات الفتاتية الناعمة الحبيبات. السحنات الرئيسه تم تقسيمها الى عدة سحنات ثانوية اعتمادا على الصخارية و الحجم الحبيبي و نوع التراكيب الرسوبية و المتحجرات. وفيما يلي وصف للسحنات الرئيسه و الثانوية التي تم تميزها.

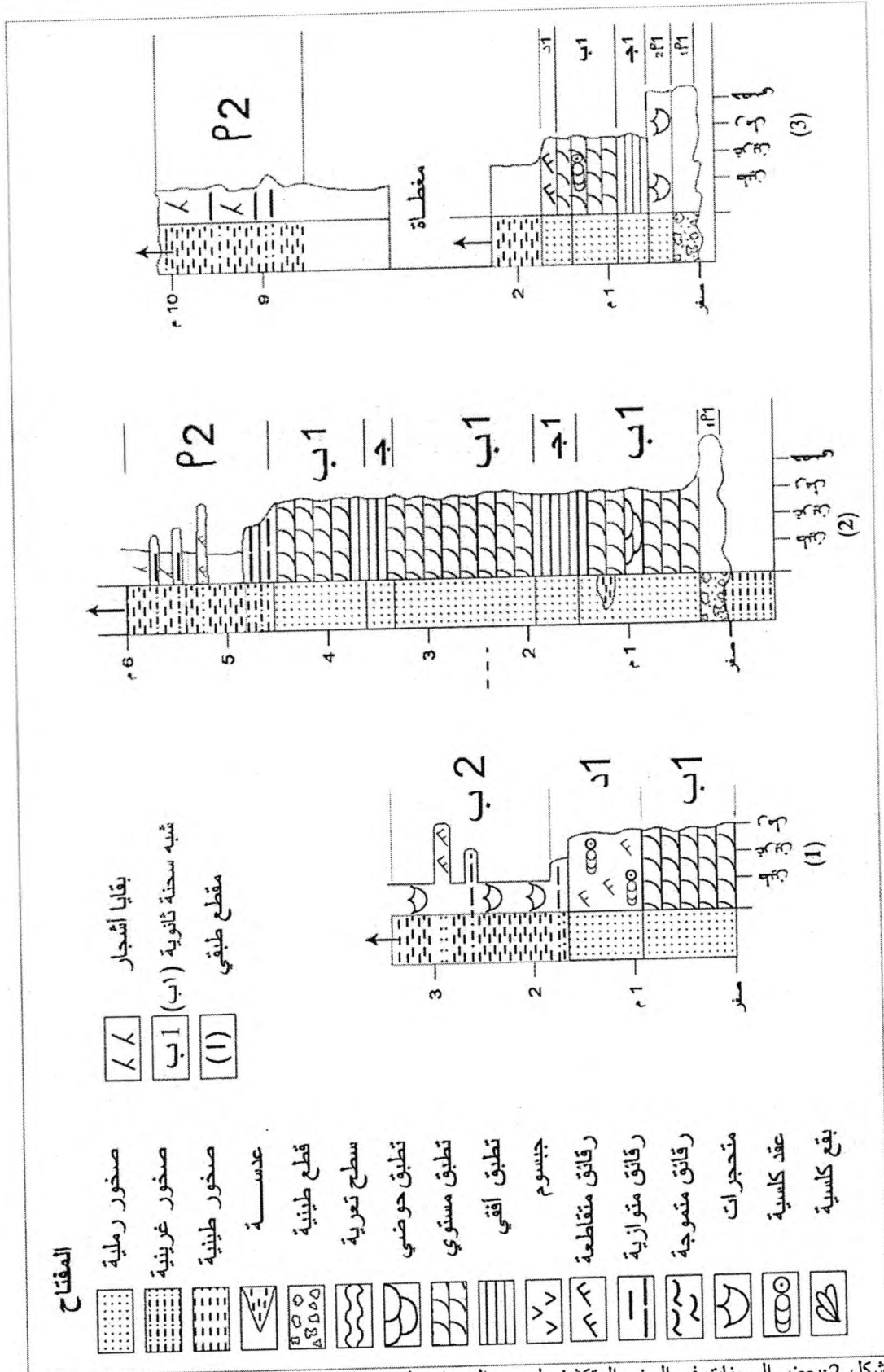
1 - سحنة الترسبات الفتاتية الخشنة الحبيبات (سحنة 1)

ترسبات هذه السحنة تتكون بصورة رئيسه من الصخور الرملية و نسبة قليلة من صخور المكتلات و الصخور الغرينية و الصخور الطينية. سحنة الحبيبات الفتاتية الخشنة الحبيبات قسمت الي اربع سحنات ثانوية و كما يلي :

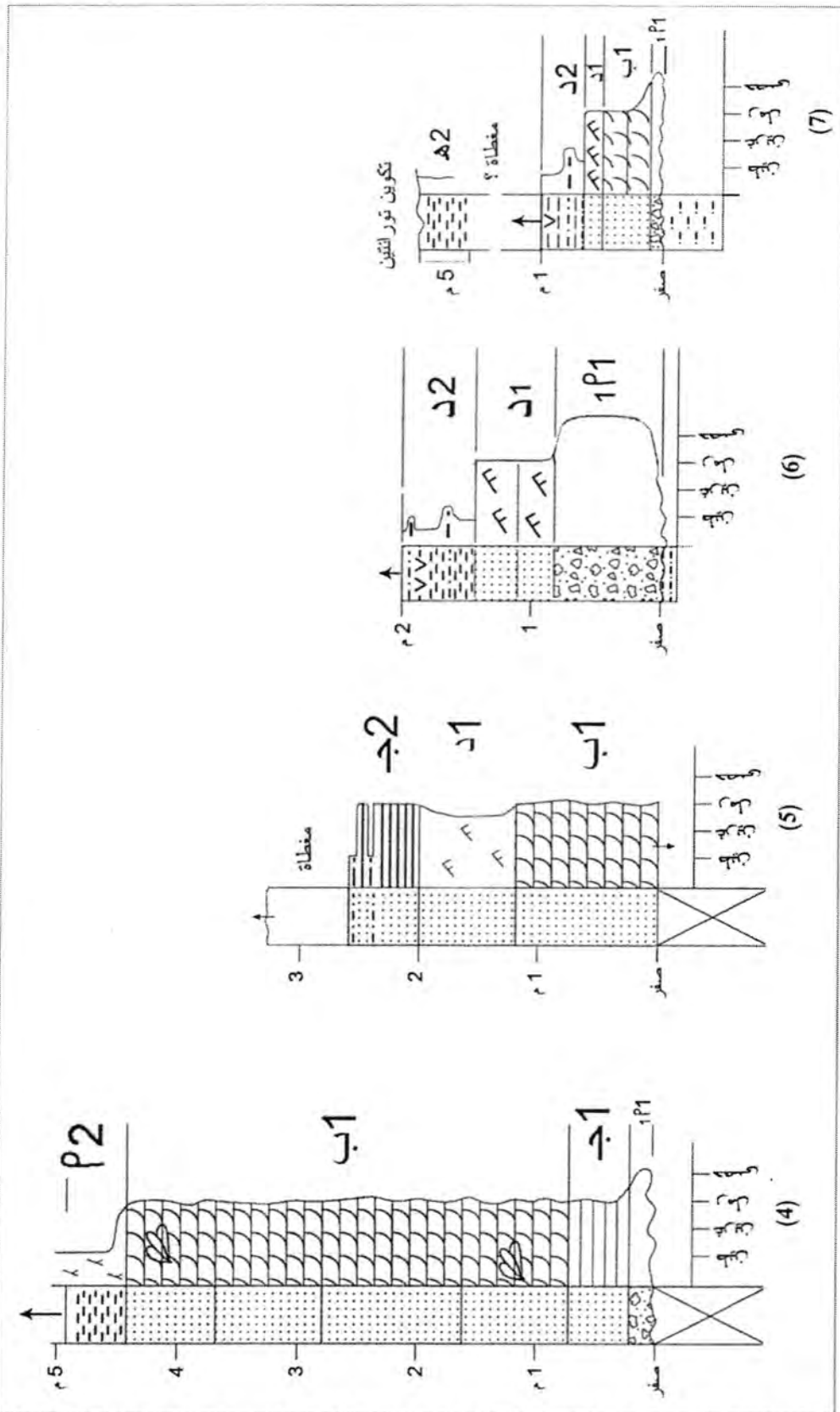
أ - شبه سحنة الترسبات القاعية المتخلفة (شبه السحنة 1 أ)

تم تقسيم شبه السحنة هذه الي سحنتين ثانويتان ايضا و هما :

مراح



شكل-2: بعض السحنات في الجزء المكتشف لبعض الدورات الرسوبية في الجزء الأسفل من تكوين زارارتين



شكل-3: بعض السحنات في الجزء المتكشف لبعض الدورات الرسوبية في الجزء الأسفل (مقطع 4 و 5) والجزء الأعلى (مقطع 6 و 7) من تكوين زار زارتين

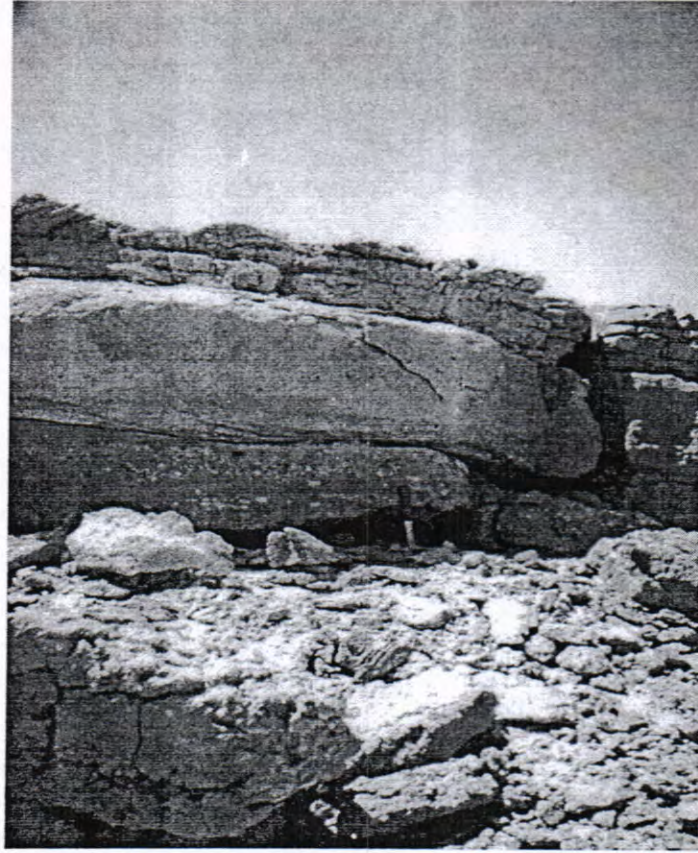
مزاحم

i - شبه سحنة المكتلات الحاملة للقطع الفتاتية الطينية (شبه السحنة I أ 1) تتكون صخور شبه السحنة هذه بصورة رئيسه من الفتاتات الطينية وان مادة الملاط فيها هو الرمل بصور رئيسه مع الطين والغرين.القطع الفتاتيه الطينيه تتراوح اقطارها الطولية ما بين 0.5 سم- 4 سم وحافتها مدببة الى شبه مستديرة (صورة 1). لقد لوحظ ايضا حصى صلب و متكون من معادن السليكا ولكن بنسب قليلة جدا. صخور رملية اغلبها مصممة لوحظ تواجدها مع هذه السحنة ولكن بنسب قليلة جدا. شبه السحنة هذه تتواجد احيانا لاكثر من مرة في نفس الدورة الرسوبية ولكنها تبقى قريبة من قاعدة الدورة. سمكها يتراوح ما بين 20-90 سم و سطح التماس السفلي مع الترسبات التي تحتها حاد و متموج ومع الترسبات التي فوقها تدريجي.

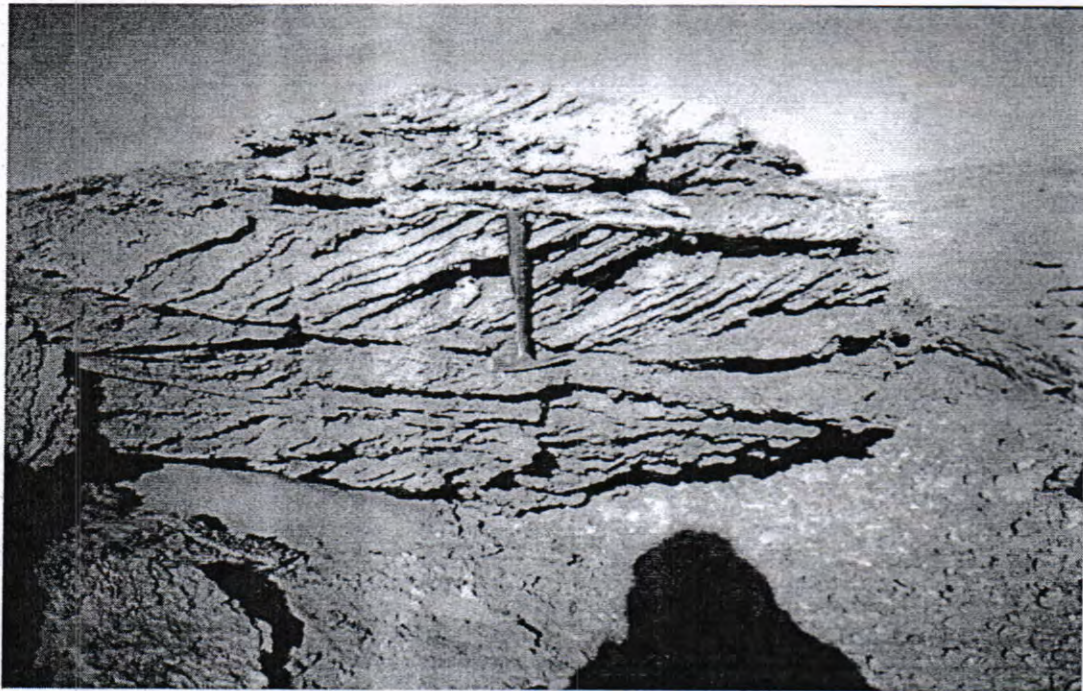
ii- شبه سحنة المكتلات الحاملة للمتحجرات (شبه السحنة I أ 2) شبه السحنة هذه تتكون بصورة رئيسه من صخور حاملة للمتحجرات حيث تشكل المتحجرات اكثر من 60 % من محتوى الصخر الاصيلي. مادة الملاط لهذه الصخور هو الرمل بصورة رئيسه مع الطين و الغرين. يتراوح سمكها ما بين 10 - 30 سم وان سطحها السفلي حاد و متموج و العلوي تدريجي مع الترسبات التي فوقها. شوهدت شبه السحنة هذه في بعض المواقع وذلك جنوب الطريق العام بحدود 1 كم وتقع مباشرة فوق السحنة (I أ 1).

ب- شبه سحنة التطبيق المتقاطع (شبه السحنة I ب) صخور شبه السحنة هذه رملية ولونها رمادي الى قهواني فاتح و تتراوح حجم حبيباتها ما بين $\Phi 1.4 - \Phi 1.8$ (رمل متوسط) و تصنف بانها رمل ذو فرز جيد بشكل معتدل الى فرز معتدل. غالبا تلي شبه سحنة المكتلات الداخلية الحاملة للقطع الفتاتية الطينية (سحنة I أ 1) و شبه سحنة التطبيق الافقي (شبه السحنة I ج) ويكون سطحها السفلي و العلوي تدريجي. تحتوي شبه السحنة هذه على التطبيق المتقاطع المستوي و الحوضي حيث تحدها من الاعلى و الاسفل سطوح مستوية و متوازية تقريبا (صورة 2). تتواجد شبه سحنة التطبيق المتقاطع المستوي عادة بشكل مجموعة مفردة او مجاميع يتراوح سمكها ما بين 30 سم الى 3.7 م و تكون شبه سحنة التطبيق المتقاطع الحوضي اقل سمكا و تواجدها محدود و يتراوح سمك المجموعة الواحدة ما بين 10 - 30 سم. في بعض المواقع تحتوي صخور شبه سحنة التطبيق المتقاطع على عقد من الكالسايت غير منتظمة و يصل طولها الى 8 سم و عرضها الى 5 سم و كذلك لوحظ ايضا وجود كرات رملية و طينية داخل صخورها.

ج - شبه سحنة التطبيق الافقي (شبه السحنة I ج) تتكون من صخور رملية لونها قهواني الى رمادي و حجم حبيباتها يتراوح ما بين $\Phi 1.6 - \Phi 1.7$ (رمل متوسط). سمكها يتراوح ما بين 25 الى 90 سم و تتكون من طبقات افقية او صفائح مستوية افقية و رقيقة ذات سمك اكبر من 1 سم. موقع شبه السحنة هذه فوق شبه السحنات (I أ 1 او I أ 2 او I ب) و تحدها من الاعلى و الاسفل سطوح مستوية و متوازية تقريبا. في بعض الاحيان تقطعها صخور طينية على شكل عدسات تمتد لمسافة حوالي 6 متر، كما وان بعضها يتميز بوجود التمزق الخطي او التخطط.



صورة-1: - شبه سحنة المكتلات الحاملة للقطع الفتاتية الطينية(شبه السحنة I أ 1).



صورة-2: - التطبقات المتقاطعة المستوية في شبه سحنة التطبيق المتقاطع.

مزاحم

د - شبه سحنة الترقق المتقاطع (شبه السحنة I د)

صخور شبه السحنة هذه رملية وعموما ذات حبيبات ناعمة ($\Phi 2.1 - \Phi 2.7$) و لونها قهوائي الى رمادي. التراكيب الرسوبية السائدة فيها الترقق المتقاطع و تتكون من مجاميع يتراوح سمكها ما بين 15 الى 180 سم . يكون سمك المجموعة الواحدة اقل من 5 سم و موقعها غالبا فوق شبه السحنة (I أ) او (I ب).

2 - سحنة الترسبات الفتاتية الناعمة الحبيبات (سحنة 2) .

هذه السحنة تتكون بصورة رئيسه من الصخور الطينية و الصخور الغرينية و نسبة قليلة من الصخور الرملية الناعمة (صورة 3) . في الجزء الاسفل من التكوين يكون لون الصخور رمادي فاتح اما في الجزء الاعلى من التكوين فان لونها بني محمر الى احمر فاتح او رمادي محمر و احيانا مرقطة. هذه الترسبات عادة تعلق ترسبات سحنة الترسبات الفتاتية الخشنة الحبيبات (سحنة 1) و يكون الحد الفاصل السفلي في كثير من الاحيان متدرج من الصخور الرملية في السحنة (1) الى الغرينية ثم الطينية ، و في احيانا اخرى يكون سطحها حادا. اما الحد الفاصل العلوي فيكون سطح تعرية متعرج و حاد مع الصخور الرملية او المكتلات من السحنة (1). هذه السحنة قسمت الى خمس سحنات ثانوية وكما يلي:

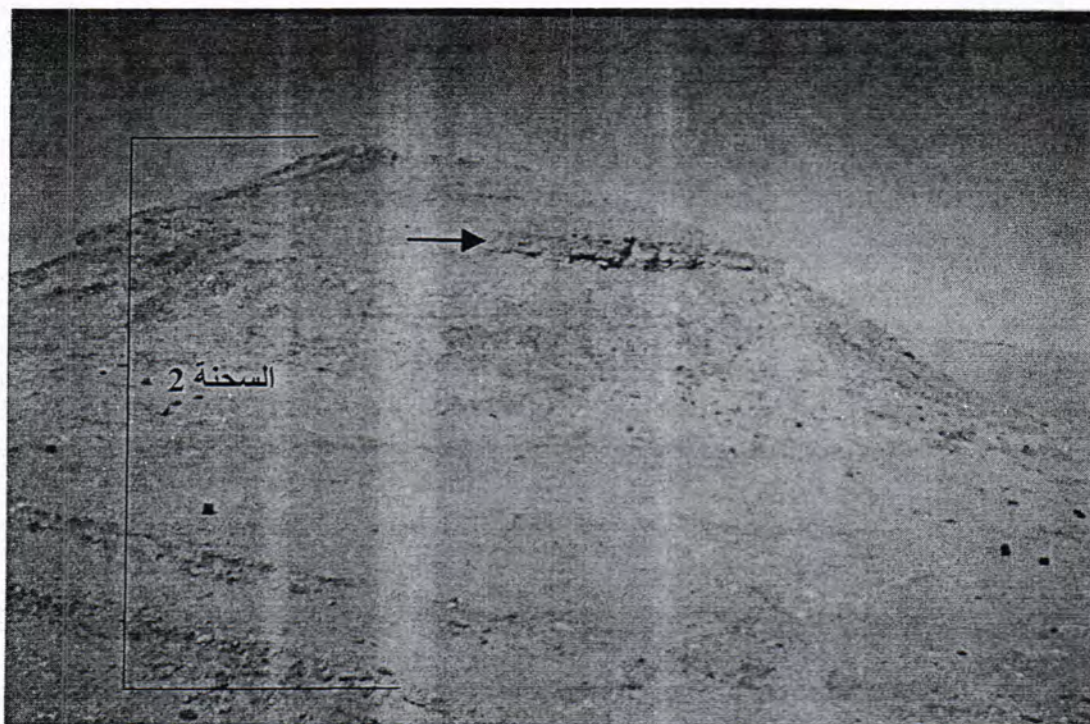
أ - شبه سحنة الصخور الطينية الحاملة لمتحجرات الاشجار المتكلسة (شبه السحنة 2 أ)

تتكون شبه السحنة هذه بصورة رئيسه من الصخور الطينية و الغرينية و نسبة قليلة جدا من الصخور الرملية الناعمة. تتواجد في اسفل التكوين حيث يكون لون الصخور فيها رمادي الى رمادي فاتح و سمك المتكسف منها يتراوح ما بين 2- 7.5 م وان سطحها السفلي والعلوي تدريجي. تكون الصخور الطينية صماء بينما تحتوي الصخور الرملية و الغرينية على الرقائق المتقاطعة و المتوازية.

تتواجد في ترسبات شبه السحنة هذه متحجرات لاجسام طولية متكونة من الكالسايت استنتجت في هذه الدراسة بانها جذوع لاشجار متكلسة. هذه الجذوع يصل طولها الى 15.5 م و عرضها 35 سم (صورة 4) و تتواجد احيانا بشكل مجاميع تضم كل مجموعة 4 - 6 جذوع. عادة تتكون كل مجموعة من جذع متكلس رئيسي و تجاوره جذوع اصغر و باتجاهات مختلفة حيث تتراوح طول الجذوع الكبيرة في المجاميع المختلفة ما بين 5.5 متر الى 15.5 متر و عرضها 20 سم الى 35 سم. الجذوع الصغيرة يتراوح طولها ما بين 1.5 متر الى 7 متر و عرضها 8 سم الى 30 سم. ان الجذوع الصغيرة في كل مجموعة تكون بشكل عام متوازية او تنحرف بدرجات متفاوتة و مختلفة من الجذوع الاصلية و تبدو و كأن الجذع المتكلس الطويل ربما يمثل جذع الشجرة الرئيس و الجذوع المتكلسة الصغيرة تمثل الفروع لهذه الاشجار حيث طمرت الجذوع الرئيسه و الفروع بعد سقوطها. دراسة المكونات لهذه الجذوع بينت بان الجزء الخارجي يكون لونه رمادي مخضر حامل للندب السوداء متكون من كالسايت غير نقي حامل للشوائب المتمثلة بالمواد العضوية و تظهر في بعضها الانسجة الشجرية واضحة، اما الجزء الداخلي فيكون من بلورات واضحة و نقية و كبيرة من الكالسايت. تشير الدلائل الحقلية و المتمثلة بتجميع الجذوع المتكلسة على ان هذه الجذوع لم تنقل بعيدا من مكان نموها.

ب - شبه سحنة الصخور الطينية و الغرينية و الرملية الحاملة للمتحجرات (شبه السحنة 2 ب)

تتكون من تعاقب الصخور الطينية و الغرينية بصورة رئيسه مع تواجد قليل من الصخور الرملية التي يكون لها امتداد محدد ثم تختفي. سمكها يتراوح ما بين 20 سم الى 1.8 م



صورة-3: سحنة الترسبات الفتاتية الناعمة الحبيبات (السحنة 2) . السهم يشير الى شبه السحنة 2 ج (سمكها 80سم) وهي جزء من السحنة 2.



صورة4-4: جذوع اشجار متكلسة (شبه سحنة الصخور الطينية الحاملة لمتحجرات الاشجار المتكلسة).

وتتواجد في الجزء الاسفل من تكوين زارزارتين. الصخور الطينية تكون مصمته و الصخور الغرينية اما ذات رقائق متوازية او متموجة و الصخور الرملية تكون ذات رقائق متقاطعة . تتميز شبه السحنة هذه بوجود الاحافير في بعض صخورها من نوع (gregaria) جرجوريا (ترياسي اوسط) طائفة المحاريات، شعبة الرخويات (شحورر اتصالات شخصية).

مزاحم

ج - شبه سحنة الصخور الرملية المحتوية على خطوط الجريان و الغرينية (شبه السحنة 2ج)
شبه السحنة هذه تبدأ بصخور رملية لونها رمادية بصورة رئيسه تليها تعاقب من الصخور
الغرينية و الرملية. سمكها يتراوح ما بين 50 - 80 سم وان الحد الفاصل السفلي لها حاد و العلوي
متدرج. تكون الطبقات الافقية التراكيب الرسوبية السائدة فيها وتتميز باحتوائها على خطوط
الجريان. الصخور الغرينية تتحوي على الرقائق المتوازية و احيانا المتموجة او المتقاطعة.

د - شبه سحنة الصخور الطينية و الغرينية و الرملية الحاملة للجبسوم (شبه السحنة 2د)
تتكون من الصخور الطينية و الغرينية بشكل رئيسي مع نسبة قليلة من الصخور الرملية
و طبقات نحيفة او رقائق من الجبسوم. لون الصخور رمادي مبقع الى رمادي محمر. سمك
المتكشف منها يتراوح ما بين 50 سم - 7م. التراكيب الرسوبية في الصخور الغرينية تتمثل برقائق
متوازية اما الصخور الطينية فانها تكون مصمته بشكل عام و قسم منها يحتوي على تشققات
طينية او يحمل رقائق متوازية او متموجة. تتميز شبه السحنة هذه بوجود طبقات نحيفة او رقائق
من الجبسوم موازية للطبقات الطينية و الغرينية و الرملية و لوحظت بسمك يتراوح ما بين 5 مم
الى 2 سم. احيانا الجبسوم يتواجد على شكل عروق تقطع بعض الطبقات و يعتقد بان اصله
ثانوي و ناتج من اذابة الطبقات النحيفة من الجبسوم المترسب اصلا في التكوين.

هـ - شبه سحنة الصخور الطينية الحمراء (شبه السحنة 2 هـ)
تغلب الصخور الطينية على شبه السحنة هذه و لوحظ وجود الصخور الغرينية فيها احيانا و
لكن بنسب قليلة جدا. تتميز ترسباتها بلونها الاحمر او البني المحمر الداكن و سيادة الصخور
الطينية. الصخور الطينية عموما تكون صماء و لا يظهر فيها تراكيب رسوبية اما الصخور
الغرينية فان التراكيب الرسوبية فيها تشمل الرقائق المتوازية و المتموجة. شبه السحنة هذه تمثل
الجزء الاعلى من تكوين زارزرتين عند الحد الفاصل مع تكوين توارنتين حيث المتكشف فيها
كان يتراوح ما بين 3 م الى 5م وان سطحها العلوي حاد مع ترسبات توارنتين و متدرج مع
الرسوبيات التي اسفلها.

الدراسة البتروغرافية

39 عينة تمت دراستها مجهريا لغرض معرفة المكونات المعدنية و العمليات التحورية في
صخور التكوين. الدراسة المجهرية بينت بان الكوارتز هو المعدن الرئيس في صخور التكوين
وتتراوح نسبته ما بين 85 % - 95 % . الدراسة بينت كذلك وجود مكتنقات من معادن
التورمالين و الزركون في بعض حبيبات الكوارتز. معدن الكوارتز تم تصنيفه حسب التصنيف
الذي ذكره (6) و تم تميز ثلاثة انواع وهي الكوارتز ذو الانطفاء المستقيم و الكوارتز ذو
الانطفاء المتموج و الكوارتز متعدد البلورات و بنوعيه المركب و شبه المركب. كان الكوارتز ذو
الانطفاء المستقيم هو السائد في الصخور المدروسة و يليه النوع ذو الانطفاء المتموج الذي
نسبته عاليه ايضا.

هنالك معادن اخرى تم تميزها في الصخور المدروسة و تشمل المعادن الثقيلة حيث تم تميز كل
من معادن اكاسيد الحديد و الزركون و التورمالين. مواد لاحمة متمثلة بالسليكا و اكاسيد الحديد تم
تمييزها بنسب تتراوح ما بين 2- 8 % و كذلك تم تميز حشوة و بنسب تتراوح 1- 7 % و تتكون
بصورة رئيسه من معادن الكوارتز الناعمة جدا (غرينية) و معادن الاطيان و نسب قليلة من
اكاسيد الحديد.

صخور تكوين زارزرتين تم تصنيفها حسب التصنيف الذي ورد في (6) و كانت جميعها
تصنف بالنوع كوارتز ارنايت. العمليات التحورية بالاضافة الي المواد اللاحمة في الصخور
المدروسة شملت نوع الاتصالات بين حبيبات الكوارتز حيث تم تميز اتصال متطاول ذو الحواف

غير المنتظمة و الاتصال محدب - مقعر و الاتصال المتشابك. كان النوع السائد هو الاتصال المتطاوّل ذو الحواف غير المنتظمة ويتبعه اتصال محدب - مقعر.

بينت دراسة السحنات و حجم الحبيبات بان تكوين زارزرتين يتكون من تعاقب دورات متناعمة نحو الاعلى. سحنتان رئيسيتان تم تميزها في هذه الدورات وهما سحنة الترسبات الفتاتية الخشنة الحبيبات و التي تقع اسفل هذه الدورات تعلوها سحنة الترسبات الفتاتية الناعمة الحبيبات وان الحد الفاصل بينهما تدريجي. كما وبينت الدراسة بوجود متحجرات المياه العذبة من نوع *gregaria* جنس بسيدوتاربولاً طائفة البليسيودا شعبة المولسكا وكذلك من نوع جولدفيزي جنس جيرفيليا طائفة البليسيودا شعبة المولسكا. ان وجود الدورات المتناعمة نحو الاعلى مع وجود متحجرات المياه العذبة تشير بان بيئة الترسيب كانت قارية نهريّة. ولكن وجود شبه سحنة الصخور الطينية الحاملة لمتحجرات الاشجار المتكلسة (شبه السحنة 2أ) في اسفل ترسبات تكوين زارزرتين وعدم وجودها في وسط واعلى التكوين كما دلت عليه المشاهدات الحقلية فانه ربما يشير الى ان ترسبات اسفل التكوين قد تكونت اما في بيئة مستنقعات داخل حوض الفيضان او ان جميع رسوبيات اسفل التكوين قد ترسبت في بيئة مستنقعات (بيئة سهل الدلتا). ان ترسيب اسفل التكوين جميعه في بيئة المستنقعات (بيئة سهل الدلتا) والتي ارتفاعها يكون مقارب الى سطح البحر تقريبا(المكان الملائم لتكوين المستنقعات)فانه من المتوقع بان تكون الانهار مستقيمة وليس التوائية او ظفائرية. في مثل هذه الانهار المستقيمة يكون الحد الفاصل بين سحنات الترسبات الخشنة والناعمة فجائي وليس تدريجي وذلك بالتشابه مع ما جاء في (7) وكذلك من المتوقع ان تتخلل السحنات الناعمة الحبيبات سحنات تزداد حجم حبيباتها الى الاعلى(سحنات ترسبات مابين القنوات في منطقة سهل الدلتا) وذلك بالتشابه لما جاء في (8). وعليه فان التناغم في حجم حبيبات التدريجي نحو الاعلى و غياب السحنات التي تزداد حجم حبيباتها نحو الاعلى وعدم وجود الحصى في السحنات الرسوبية ربما يعكس ترسب اسفل تكوين زارزرتين في بيئة نهريّة التوائية وليس في بيئة مستنقعات(بيئة سهل الدلتا) وان السحنة 2أ) تمثل بيئة مستنقعات داخل حوض الفيضان. كما وان خصائص الدورات الرسوبية و المتمثلة بالتناقص في حجم الحبيبات نحو الاعلى و كذلك في التغير في نوع التراكيب الرسوبية و بالسّمك العالي للسحنات الفتاتية الناعمة الحبيبات تعكس بان الانهار كانت التوائية ايضا. دراسات لترسبات متكونة من دورات رسوبية تتناغم نحو الاعلى مشابهة الى الترسبات في الدراسة الحالية اجريت في جنوب ليبيا على تكوين مساك (5) و كذلك في العراق على تكويني انجانة و المقدادية في وسط العراق (9 و 10) واستنتجت بانها ترسبت في بيئات نهريّة التوائية.

في هذه البيئة الترسبية فان سحنة الترسبات الفتاتية الخشنة الحبيبات(سحنة 1) تمثل ترسبات القنوات اذ تمثل شبه سحنة المكثلات الحاملة للقطع الفتاتية الطينية (شبه السحنة 1 أ 1) هجرة القنوات النهريّة و تعريتها للصخور السفلية بواسطة التيارات النهريّة عندما يكون نظام الجريان عالي. كما و ان سطوح التعرية تعني بداية دورة ترسبية جديدة و هذا مشابه لما ورد في (1 و 11). ان الحصى في هذه السحنة و المتكونة من الصخور الطينية انتقل بواسطة التدرج في وسط القناة لمسافة قصيرة، اما الحصى المتكون من معادن السيلكا و الذي نسبته قليلة جدا فان مصدره بعيد عن موقع الترسيب. اما شبه سحنة المكثلات الحاملة للمتحجرات(1 أ 2) فان وجودها فوق السحنة (1 أ 1) مباشرة ربما يعكس كونها عن طريق تعرية سحنة الصخور الفتاتية الناعمة المحتوية على الاحفير (السحنة 2 ب) و ثم سقوط هذه الحفريات و تجمعها في اسفل القناة. هياكل متحجرات و قطع نباتية و قطع اخرى يمكن ان تتكون على قاع الانهار نتيجة تعرية الانهار لضفافها ، وان كانتات حية و ميتة و قطع نباتية منقولة و حصى من الطين يمكن ان تتواجد على قاع الانهار (12 و 13). اشار (2) بوجود حفريات ذات مياه عذبة من نوع البليسيودا في الجزء الاسفل من صخور تكوين زارزرتين. وتمثل شبه سحنة التطبيق المتقاطع (شبه السحنة 1ب) هجرة حواجز الحافة الرملية حيث تكونت شبه سحنة التطبيق المتقاطع المستوي على الارجح من هجرة الكثبان الرملية المائية ذات القمم المستقيمة لحاجز الحافة في اعلى نظام التدفق

المنخفض او الانتقالي اما شبه سحنة التطبيق المتقاطع الحوضي فانها تكونت نتيجة حركة الكتلان الرملية المائية المتعرجة القمم او اللسانية في القسم السفلي لحاجز الحافة في اعلى نظام التدفق المنخفض و ذلك اتباعا لما ذكر في (1 و 13). سحنات مماثلة متمثلة بتواجد سحنات التطبيق المتقاطع المستوى و الحوضي فوق سحنات المكتلات الداخلية و اعتبرت بانها تكونت نتيجة هجرة الكتلان المستقيمة و اللسانية تم ذكرها في تكوين اتجانة (المايوسين الاعلى) في شمال العراق (14). اما شبه سحنة التطبيق الاقفي (شبه السحنة 1 ج) فان تواجدها الشائع في اسفل الدورات و كذلك بشكل عام مع شبه سحنات (1 ب) و (1 أ) و تواجدها التخطط في بعضها فانه يرجح ظروف تكونها في تيار قوي في نظام التدفق العالي حيث اشار (1) بان التطبيق الاقفي يتكون في النظام العالي للتيارات النهرية. واما شبه سحنة الترقق المتقاطع (شبه السحنة 1د) ربما يرجح تكوينها من نزوح علامات تموج صغيرة عند ظروف تيار خفيف في اعماق ضحلة حيث تمثل من الظواهر المهمة التي تميز قمة الحاجز. سحنات مشابه الى هذه السحنات اعتبرت بانها تتكون في الجزء العلوي من الحاجز الهلالي (1). اما عند موقعها في اسفل الدوره كما هو الحال في ترسبات اعلى التكوين (شكل 3 مقطع 6) فانها ربما تمثل ترسبات لانهار صغيره حيث تكونت الترققات المتقاطعة نتيجة لهجرة علامات التموج و التي لايزيد سمكها عن 5 سم. البيئة الترسيبية لسحنات مشابهة الى شبه السحنة (1د) و متكونة في اسفل دورات التناغم نحو الاعلى و اعتبرت بانها متكونة بواسطة انهار التوائية صغيرة تم ذكرها في (14).

اما سحنة الترسبات الفتاتية الناعمة الحبيبات (سحنة 2) فانها تمثل ترسبات عبر الضفة اذ تمثل شبه سحنة الصخور الطينية الحاملة لمتحجرات الاشجار المتكلسة (شبه السحنة 2أ) ترسبات لمستنقعات في حوض الفيضان والتي تشكل جزء من ترسبات عبر الضفة. هذا و مما تجدر الاشارة اليه بان قطع من الكالسايت الغير نقى و الكالسايت النقي لوحظت مبعثرة او ذات تجمع او امتداد بسيط في بعض ترسبات حوض الفيضان لدورات رسوبية اخرى في اسفل التكوين المدروس. و بمقارنة هذه القطع الصخرية المتكونة من الكالسايت غير النقي او النقي مع ما تم استنتاجه بانها جذوع شجرية واضحة كما تم توضيحه سابقا تبين بان هنالك مستنقعات اخرى عديدة تكونت ايضا ضمن الجزء الاسفل من التكوين و لكنها كانت صغيرة الحجم و ضحلة حيث نمت فيها اشجار صغيرة ثم انطمرت الاشجار و تكلست و لكنها ليست ذات كثافة عالية. ضمن بيئة الحوض الفيضي في البيئات النهرية تكون المستنقعات شائعة وكذلك وجود بحيرات و مسطحات مائية تكون عديدة (5 و 15). اما شبه سحنة الصخور الطينية و الغرينية و الرملية الحاملة لمتحجرات (شبه السحنة 2 ب) فان تواجدها الاحافير فيها و كذلك وجود خليط من الترسبات الفتاتية الناعمة (صخور طينية و غرينية) و الخشنه نسبيا (صخور رملية ناعمة) تشير بان صخورها ربما تكونت في بحيرات نشأت داخل منطقة حوض الفيضان حيث تجمعت فيها ترسبات نسبيا سمكية حاملة حفريات ذات مياه عذبة. حفريات مياه عذبة من نوع البليسبودا تم ذكرها في تكوين زارزارتين (2) كما وان وجود البحيرات شائع في احواض الفيضان (5 و 15). و كخلاصة فان شبه السحنة هذه المتواجده في اسفل تكوين زارزارتين و تواجدها القريب من شبه السحنة الحاملة لمتحجرات الاشجار المتكلسة (شبه السحنة 2 أ) ربما تمثل ترسبات عبر الضفة و بالتحديد تكونت في بحيرات ذات مياه عذبة شبيهة الى شبه السحنة (2 أ) . اما شبه سحنة الصخور الرملية المحتوية على خطوط الجريان و الغرينية (شبه السحنة 2ج) فان وجود الصخور الرملية الحاوية على خطوط الجريان فيها و التي يعقبها الصخور الرملية و الغرينية و موقعها فوق شبه سحنة الترقق المتقاطع (شبه السحنة 1د) تشير بان شبه السحنة هذه تمثل ترسبات عبر الضفة و بالتحديد ترسبات السدود او الروابي الحاجزية. سحنات متشابهة الى شبه السحنة هذه لوحظت في تكوين المقدادية (البختياري الاسفل) في العراق (14) و اعتبرت بانها تمثل سحنات الروابي الحاجزية. كما وان ترسبات السداد تشابه الجزء الاعلى من حاجز الحافة (15). و بالنسبة الى شبه سحنة الصخور الطينية و الغرينية و الرملية الحاملة

للجبسوم (شبه السحنة 2د) فانه من المحتمل بانها تمثل ترسبات عبر الضفة و بالتحديد في حوض الفيضان الذي تعرض قسم منه للجفاف في مناخ جاف او شبه جاف كما دلت عليه التشققات الطينية و الجبسوم. اما وجود الصخور الرملية احيانا بالاضافة الى الصخور الغرينية و الطينية الرئيسية فانها ربما تمثل ترسبات حوض الفيضان و السداد متداخلة حيث في الموقع القريب من القناة يتميز بوجود تيارات عالية نسبيا مما تؤدي الى تكوين علامات النيم و هجرتها. سحنات مماثلة متكونة من صخور رملية و غرينية و اعتبرت مترسبة في تداخلات حوض الفيضان و السداد (15). ان الصخور الرملية ربما تمثل ايضا ترسبات بواسطة الشقوق في حوض الفيضان ترسبت في مواقع بعيدة عن مجاري الانهار. اما شبه سحنة الصخور الطينية الحمراء (شبه السحنة 2 هـ) فان الدراسات السابقة (2) اشارت بان هذه الصخور تمثل ترسبات تربة قديمة من نوع اللاتريات و ان هذه الطبقات تكونت في مناخ حار ذات فترات طويلة من الجفاف مع فترة سقوط امطار قصيرة. كما ان ترسبات حوض الفيضان في المناطق الشبه الجافة تتميز باحتوائها القليل جدا من المواد العضوية و تكون حمراء نتيجة التاكسد مع وجود عقد من الكالسايت (المعروف بالكالكرت) و احيانا طبقات من السليكا (12). الدراسة الحالية بينت بان هذه السحنة الثانوية مختلفة عن بقية السحن الثانوية الاخرى في سحنة الترسبات الفتاتية الناعمة الحبيبات في اللون حيث يكون لونها احمر او بني محمر داكن وكذلك في سيادة الصخور الطينية. كما انه لم يتم ملاحظة وجود الكالكرت او اي ترسبات اخرى ضمنها. وعلية فان صخور شبه السحنة هذه تمثل ترسبات عبر الضفة و بالتحديد في حوض الفيضان و تتميز بنسب عالية من الحديد. التبخر في حوض الفيضان بتأثير مناخ جاف الى شبه جاف ادى الى تركيز الحديد في مياه حوض الفيضان الغني اصلا بالحديد نتيجة تعرية صخور المصدر.

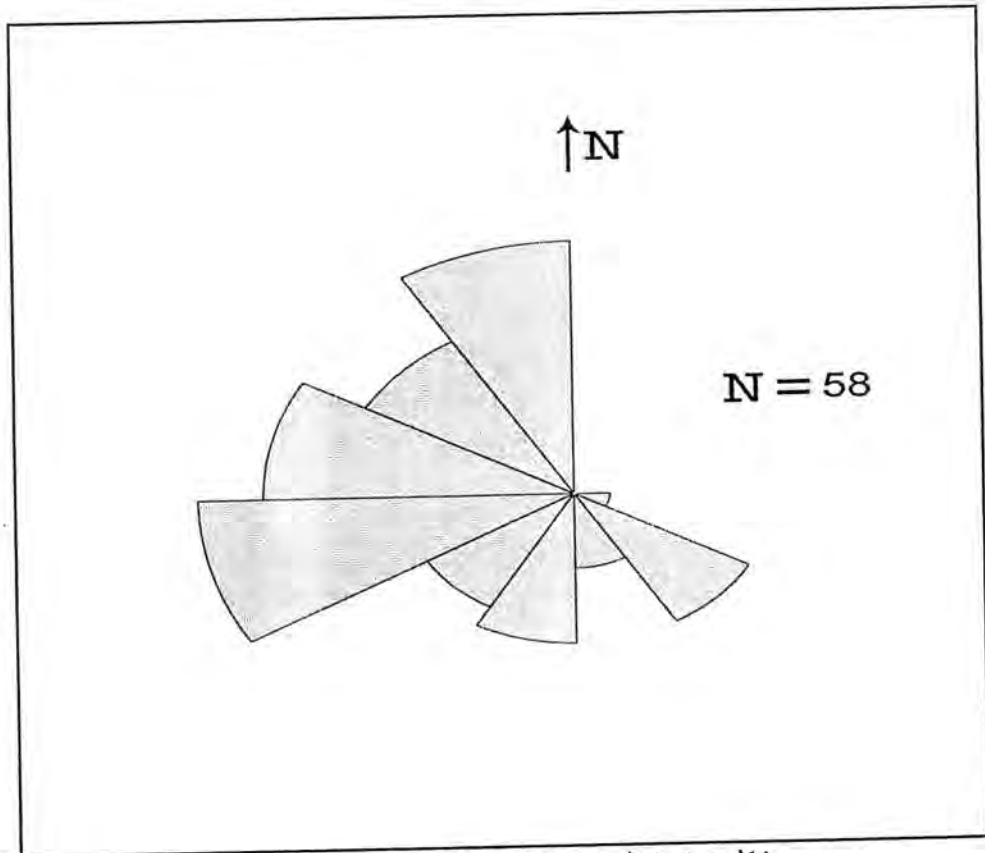
دراسة الترسبات في تكوين زارزارتين بينت بان اسفل الدورات الرسوبية يتميز بوجود سحنة الترسبات الفتاتية الخشنة الحبيبات حيث تكون خشنة الحبيبات (رمل متوسط) نسبيا في الجزء الاسفل من التكوين و ناعمة في الجزء الاعلى من التكوين (رمل ناعم). و هذا مترافق مع سمك السحنات اذ في اسفل الدورات الرسوبية كانت شبه سحنة التطبيق المتقاطع في الجزء الاسفل من التكوين سميكة نسبيا (2-3م) بينما كانت شبه سحنة التطبيق المتقاطع قليلة السمك نسبيا (اقل من 1 م) في الجزء الاعلى من التكوين. كما و بينت الدراسة بان السحنات الفتاتية الناعمة الحبيبات في الجزء الاسفل من التكوين ذات لون رمادي و مترسبة في بينات عبر الضفة التي تسودها البحيرات و المستنقعات كما دلت عليها شبه سحنة الصخور الطينية الحاملة لبقايا الاشجار المتكلسة (شبه السحنة 2أ) و شبه سحنة الصخور الطينية و الغرينية و الرملية الحاملة للمتحجرات (شبه السحنة 2ب). اما السحنات الفتاتية الناعمة في اعلى التكوين فانها مترسبة في بينات عبر الضفة ايضا و تتميز بوجود الجبسوم و يسودها اللون البني او اللون البني المحمر و تتمثل بكل من شبه سحنة الصخور الطينية و الغرينية و الرملية الحاملة للجبسوم (شبه السحنة 2د) و شبه سحنة الصخور الطينية الحمراء (شبه السحنة 2هـ).

و عليه يمكن الاستنتاج بان ترسبات الجزء الاسفل من تكوين زارزارتين ترسبت في مناخ مداري مطير كما دلت عليه وجود الاشجار المتكلسة الكبيرة و المتحجرات (شبه السحنات 2 أ و 2ب) و اللون الرمادي الفاتح للترسبات ثم تغير في الجزء الاعلى من التكوين الى مناخ جاف يتميز بوجود رقائق و طبقات نحيفة من الجبسوم احيانا وسيادة اللون البني المحمر و الاحمر للصخور (شبه السحنات 2د و 2 هـ). هذا التغير في نوع المناخ في منطقة الترسيب من المحتمل ان يكون ذاته او مشابه له بالنسبة لمنطقة المصدر. ان المناخ المداري المطير في فترة ترسيب الجزء الاسفل من التكوين ليس فقط ادى الى وجود ترسبات المستنقعات فيها و المتمثلة في شبه سحنة الصخور الطينية الحاملة لبقايا الاشجار المتكلسة (شبه السحنة 2 أ) و شبه سحنة الصخور الطينية و الغرينية و الرملية الحاملة للمتحجرات (شبه السحنة 2ب) بل الى التغير في حجم

مزاحم

الحبيبات العالي نسبيًا و المتمثل في خشونة الصخور الرملية النسبي لترسبات القنوة (سحنة الحبيبات الفتاتية الخشنة الحبيبات) في اسفل الدورات الرسوبية و كذلك في زيادة عمق القنوات كما دل عليه السمك العالي نسبيًا للسحنات الفتاتية الخشنة الحبيبات في الجزء الاسفل من التكوين. كذلك ادى التغير في المناخ الى المناخ الجاف في فترة ترسيب الجزء الاعلى من التكوين ليس فقط الى تكوين الجبسوم وسيادة اللون البني المحمر و الاحمر بل الى نعومة الصخور الرملية النسبي في سحنات ترسبات القنوة (سحنة الحبيبات الفتاتية الخشنة الحبيبات) في اسفل الدورات الرسوبية و ضخالة القنوة و من ثم السمك القليل لسحنة الترسيبات الفتاتية الخشنة في الجزء الاعلى من التكوين.

الدراسة البتروغرافية بينت بان الصخور كانت ناضجة معدنيا حيث تحتوي على معدن الكوارتز بنسبة تتراوح ما بين 85% - 95% وان تصنيف الصخور كان كوارتز ارنابت. كما وبينت الدراسة ايضا بان نوع الاتصال السائد بين حبيبات الكوارتز هو الاتصال المتطاوول ذو الحواف غير المنتظمة ويتبعه اتصال محدب - مقعر و اللذان ربما يتكونان نتيجة ضغط المحاليل في الاعماق. اعتمادا على التركيب المعدني للصخور و المتمثل بالنسبة العالية للكوارتز فان صخور المصدر يعتقد انها كانت رسوبية. ان الصخور الرملية التي تحتوي على معادن ناضجة وخفيفة مثل الكوارتز و ثقيلة مثل الزركون و التورمالين ربما تكون صخور رسوبية معاد ترسيبها (16 و 17). و عليه فان صخور تكوين زارزارتين ربما كان مصدرها الصخور الفتاتية الرملية (صخور ما قبل الترياسك) الواقعة في الجنوب الشرقي و الشمال الشرقي لحوض مرزق كما دلت عليه قياسات اتجاه التيار القديم (شكل 4). هذا و لا يستبعد ان يكون مصدرها صخور نارية او متحوله بالاضافة الى الرسوبية و تعرضت لعمليات تعرية على الرصيف المستقر للراسخ الداخلي حيث يعتبر حوض مرزق و الذي ترسبت فيها ترسبات



شكل 4: اتجاه التيار في تكوين زارزارتين.

تكوين زارزارتين من نوع الراسخ الداخلي.
 يشكر الباحث الدكتور محمد الشاعر لاقتراحه المشروح البحث والمناقشات المثمرة حول
 متحجرات الأشجار المتكلسة.

المصادر

1. Selley, R. C ., An introduction to sedimentology Academic press London, New York, San Francisco.
2. Jakovljevic, Z., Geological map of Libya (1: 250, 000). Sheet ALawaynat (32 -12), explanatory booklet .p.140,1984, Industrial Research Center, Tripoli.
3. Basi,M.A., Sedimentary facies,depositional environment and petrography of Tadrat Formation (Lower-Devonion),ALawaynat area.Libya.Jour. of Wassit for science and medicine. In press.p.408,1977,2013
4. AL-Haddad, A.A., EL- Chair, M.M. and Ali, O.E.I., Depositional environments and facies of Late Jurassic – Early Cretaceous Messak Formation , Awbari –Sebha Basin, SW Libya, J. Sabha University, Vol.3,1-25,(1996).
5. Folk,R.L. and ward W., Brazos river bar , a study in the significance of grain size parameters. J. sediment. Petrol. Vol. 31 , 574 -529(1957).
6. Folk, R.L., Petrology of sedimentary rocks.p.170,1974, Hemphills, Austin, Texas.
7. Moody-stnart,M., High and low-sinuosity stream deposits with examples from the Devonian of Spitsbergen.J. sediment. petrol.36, 1102-1117(1966).
8. Elliott,T.,Interdistributary bay sequences and their genesis. Sedimentolog.Vol.21, 611-622(1974).
9. Basi, M.A., Subsurface sedimentological Study of Injana Formation (Late Miocene) in the area extended from Baiji to Samara cities, central Iraq, Iraq. Bull.of Geol. and Mining, Vol. 3,43 -51(2007).
10. Enad, T.H., Stratigraphical and sedimentological study of the Mukdadiya Formation in Badra area, Wassit governorate,p.124,2007, Unpbl. M.SC. thesis, Univ. of Baghdad.
11. Cant, D.J. AND Walker, R.G., Fluvial processes and facies sequences in the sandy braided south Saskatchewan river, Canada, Sedimentology.Vol. 25, 625 -648(1975).
12. Reineck H.E. and Singh, I.B., Depositional sedimentary environments.p.549,1980, Berlin, Heidel Berg, NewYork,Springer _verlag.

مراجع

13. Allen, J. R.L., Late Quaternary Nijer delta and adjacent areas ; sedimentary environments and lithofacies, Bull. Am. Ass. petrol. Geol.,VOL. 49, 547 -600(1965).
14. Banna, N.Y., Sedimentological study of the Upper Fars Formation in selected areas - Northern Iraq.P.171,1982, Unpubl. MSC. thesis, Mosul Univ.
15. Allen , J.R.L., Studies in fluvatile Sedimentation six cyclothem from the Lower Old Red Sandstone, Anglo -Welesh basin. sedimentology,Vol 3, 163 - 198(1964).
16. Blatt, H., Middleton, G., and Murray, R.,Origin of sedimentary rocks.p.782,1980, Printice - Hall, New Jersey.
17. Pettijohn, F.J., Sedimentary Rocks.p.628,1975 Harber and Row, New York .