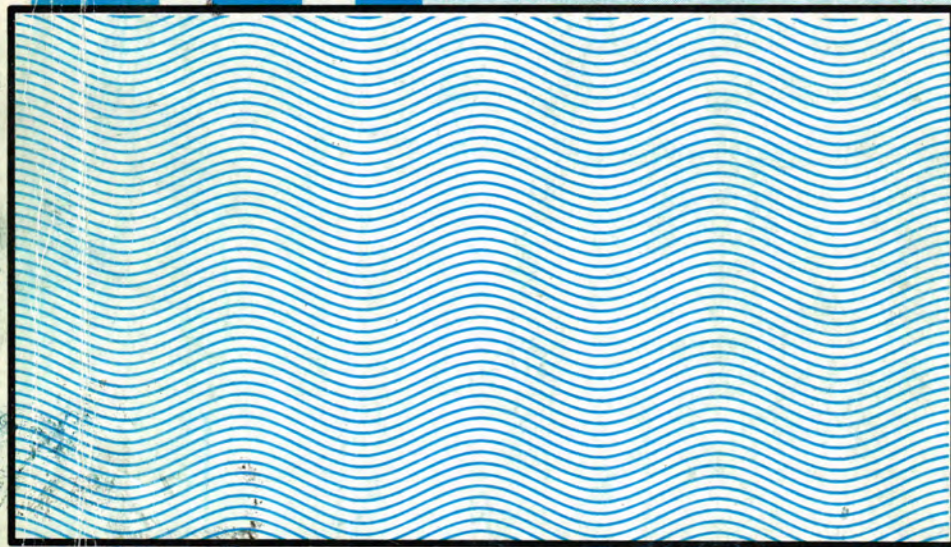


***Al-Mustansiriya
Journal of Science***

Vol. 13 No. 2 Year 2000



***Issued by College of Science
Al-Mustansiriya University***

AL-MUSTANSIRIYA ***JOURNAL OF SCIENCE***

Head Editor
Prof. Dr.
Saad M. Al-Mashhadani
Prof. Biology

General Editor
Dr.
Ridha I. Al-Bayaty
Prof. Chemistry

Editorial Board

| | |
|------------------------------|--------|
| Dr. Ramzy R. Ali | Member |
| Dr. Abdul Aziz M. Al-Kubaisy | Member |
| Dr. Kais J. Latif | Member |
| Dr. Hashim H. Jawad | Member |
| Dr. Mahmood Kh. Al-Shemary | Member |

Contents

| <u>Item</u> | <u>Page No.</u> |
|--|-----------------|
| Ion Contents and Water Relations in Wheat Callus Culture Exposed to PEG-Induced Water Stress and Irradiation SAAD M. AL-MASHHADANI - RAAD M. SALMAN | 1 |
| Synthesis and Spectroscopic Study of Some New Benzo[b] Thiophene Derivatives REDHA H.I. AL-BAYATI, ABDUL-HUSEIN K. SHARBA, MOHAMMED R. AOUAD. | 11 |
| Multiple Antibiotic Resistance of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolated From Otitis Media SAMEER F. SAMAN | 25 |
| Genetic Study of Multiple Antibiotic And Some Verulence Factors of <i>Serratia Marcescens</i> Isolated From Urinary Tract Infections. RIADH A. DELOOL | 31 |
| Synthesis of Novel Symmetrical 1,1-bis(2'-amino-1',3',4'-thiadiazole-5'-yl) Cylcopropane and Related Compounds N.REZKI, REDHA H.I. AL-BAYATI, ABDUL-HUSEIN K. SHARBA, | 47 |
| Antimicrobial Resistance Among Some Diarrhoeal Pathogens Isolated in Baghdad City. Waleed S. Hussain | 57 |
| Radon And Thoron Measurement In The Enivronment Using passive Type Detectors Abdulla Ahmad Rasheed | 65 |
| Study the Effect of Cigarette Smoke Exposure on the Uterine Histology and some Blood Parameters in Pregnant Female Rats. WAFI FAWZI EBRAHEM AL-MOSAWY | 71 |

Contents

| <u>Item</u> | <u>Page No.</u> |
|---|-----------------|
| Activity of Tobramycin And Some Other Antibiotics Against <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolated from Wound Infections WALEED S. HUSSAIN | 79 |
| Effect of Some β-Lactamase Inhibitors and the Combined Action of Some Antimicrobial Agents on <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolated From Cases of Otitis Media SAMEER F. JAZRAWI and HUSSAIN H. KHANAKA | 85 |
| On m^* and m-Semi Pure Fuzzy Subgroups of Abelian Group SABA NASER MEGEED | 103 |
| Brucellosis in Basrah SAFA M. TALAB | 109 |
| Synthesis of Ibuprofen-Proline Conjugate 1-[2-(4-Isobutylphenyl)-Isopropionyl]-L-Proline SHAKIR M. ALWAN | 117 |
| Sex Ratio in Relation to Parasitic Incidence of <i>Porcellio Evansi</i> (Isopoda: Oniscoidea) ZUHAIR RADHI ZAHID and JOSEPH KHUDHUR NASSIR | 125 |
| Typhoid Fever: The Dissemination of <i>Salmonella Typhi</i> Through the Organs of White Mice by Intraperitoneal Infection KHALIL H. AL-JABOURY - KHALIFA A. KHALIFA TALEB A. MAKKAWI - MUDHER M. AL-FALUJI | 129 |
| Prevalence of Intestinal Parasites Among People in Kirkuk City From the Period 1998-1999 Using Direct Method of Stool Specimen Preparation YAHYA GARGIES SALMAN , TAWFIQ IBRAHIM AL-AALOUSI and SADIYA SHIHAB HAMAD | 141 |
| Sensitivity, Specificity and Predictive Value of Pyuria In Urinary Tract Infection JINAN CH. ISMAIL - IKRAM A. KHAKI - FAIZA A. MUKHLIS | 149 |

Contents

| <u>Item</u> | <u>Page No.</u> |
|---|-----------------|
| Urinary Tract Infection and Sterile Pyuria Among Patients With Urolithiasis ABID ALI AL-SHAFIE and IKRAM AMIN KHAKI | 157 |
| Positron Lifetime Measurements in Deformed Copper A.A. ABDULLAH, H.M. YOUHANA, S.S. KAMOON | 167 |

Ion Contents and Water Relations in Wheat Callus Culture Exposed to PEG-Induced Water Stress and Irradiation

SAAD M. AL-MASHHADANI* - RAAD M. SALMAN**

* Dept. of Botany, Faculty of Agriculture & Biology
Nuclear Research Center,
P.O.Box 765, Baghdad - Iraq.

** Dept. of Botany, Agricultural Research Center,
Abu-Ghraib, Baghdad - Iraq.

الخلاصة

تم دراسة المحتوى الايولي والعلاقات المائيه لانسجه الحنطه المزروعه خارج الجسم الحي والمعرضه للشد الرطوبي والاشعاعز استحدثت الكالي من الاجنه غير الناضجه ل صنف الجنطه مكسيياك. حضرت اوساط غذائيه ذات مستويات مختلفه من الشد الرطوبي باستعمال البولي اثلين كلايكول. ثم تعريض الكالس الى مستويات الشد المختلفه كمام تشيع عدد من الكالس بواحد كيلوراد من اشعه كاما قبل تعريضها الى الشد الرطوبي. اظهر معظم الكالس قابليه على زياده امتصاص ايونات الضوديوم والكالسيوم والمغنيسيوم وقله امتصاص ايون البوتاسيوم كلما ارتفع مستوى الشد الرطوبي في الوسط الغذائي. اظهرت بعض المعاملات زياده في المحتوى المائي. اظهرت العلاقات المائيه نوع من تكيف الكالس الى الوسط الغذائي وبالتالي حالة من التحمل لمستويات مختلفه من الشد الرطوبي.

ABSTRACT

Ion contents and water relations of wheat callus cultures exposed to polyethylene glycol (PEG)-induced water stress under both irradiation and non-irradiation conditions were studied. Calli were initiated from immature embryos of *Triticum aestivum* (CV. Mexibak). The majority of the calli tended to accumulate more Na^+ , Ca^{++} , and Mg^{++} and less K^+ cations as the stress level in the medium increased. Differences in ions concentration at different treatments due to the different response or tolerancy of these calli

to the different stress levels. Some treatments showed an increase in water content or succulency. The increase of succulence may suggest an adaptive response to high stress level caused by water deficiency. The water relations of the calli indicate an adjustment of these calli to the media which considered as an important signal of tolerance.

INTRODUCTION

The possibility of using plant cell cultures to obtain variants which would have practical application to agriculture is receiving increased attention (Maliga et al. 1982).

The variant cells are selected from a population of cells by imposing a particular stress on the population. The variants exhibit a characteristic resistance to the selecting stress which in some instances has been related to certain biochemical changes in cells (Widholm 1977). In spite of the obvious importance of osmotic adjustment to the maintenance of growth under many circumstances of either osmotic or desiccation stress there is relatively little information on the physiological and biochemical nature of osmotic adjustment of higher plant cells during exposure to such stress or on the contribution of different solutes to osmotic adjustment (Hanson and Hitz, 1982). Polyethylene glycol (PEG) has been used to stimulate drought stress in plants (Kawasaki and Moritsugu, 1983). The objective of this study was to investigate the effects of PEG-induced water stress and irradiation on ion contents and water relations of wheat callus cultures.

MATERIALS AND METHODS

Cultures and Media Preparations:

Immature embryos of *Triticum aestivum* L. (CV. Mexibak) were used for callus initiation. Callus initiation and maintenance was handled according to Salman (1989). Polyethylene glycol-200 (PEG-200) was used to prepare media with different water potentials (Ψ_w). The wescor model HR33T hygrometer with model C52 thermocouple psychrometer chambers were used to measure the (Ψ_w) of the medium. The (Ψ_w) of the medium were -4, -6 and -8 bar. A control medium without PEG which maintained -2

bar was employed as a reference level. In other experiment, 1 KR a rate of 1KR/min of gamma ray was given to the calli prior to the transfer of these calli to media with the same above (Ψ_w). Three passages of one month each at the same levels of (Ψ_w) were employed. About 120 calli/treatment was used. Three calli/treatment (A,B,C) were taken randomly to determine the water relations and ion contents in wheat callus culture.

Water Relations Measurements:

Water contents of the samples were considered as water relation parameter to evaluate cell tolerency. Fresh and dry weight of Calli were determined at different levels of water stress and water content was computed gravametricaly. Total water and osmotic potentials of the cells were measured. Cells are assumed to be in equilibrium with medium to which they were adapted. The total water potential (Ψ_w) of the cells was assumed to be equal to that of the medium. Wescor model HR33 T hygrometer with model C52 thermocouple psychrometer chambers were used to measure these relations.

Pressure potential (Ψ_p) was calculated as the differences between water potential (Ψ_w) and osmotic potential (Ψ_π).

Mineral Analyses:

Major elements such P, Na, K, Mg & Ca were determined in cells grown at different water stress levels. The procedure was described by John and Soltonpour (1980) in which they used plant material. Half gram of dried cell was taken into a small beaker. Ten ml of digest acid (4L1 nitric-perchloric acid) was added to each beaker and allowed to predigest overnight. The digests were heated at 125 C until the volume was reduced to 2ml. The volume was then brought to 50 ml. The digests were read on the inductivety coupled plasma spectrometry (ICP).

Water Content:

Percentage of water content was calculated as (fresh weight-dry weight) dry weight x 100).

RESULTS AND DISCUSSIONS

Minerals Analyses:

Accumulation of Na^+ , K^+ , Mg^{++} , Ca^{++} cations in wheat calli exposed to different concentrations of PEG under irradiation and non-irradiation conditions was determined.

The concentrations of cations were different among different treatments as well as different calli within treatment (Fig.1). Differences were also observed among irradiated and non-irradiated treatments. In the non-irradiated treatments, the intracellular concentration of K^+ decreased as the PEG concentration increased (Fig. 1b). Two calli from the irradiated treatments showed a decrease in K^+ concentration first and an increase thereafter, however, the third callus showed the same trend of decrement observed in the non-irradiated treatments (Fig 1a). Potassium is considered a main factor in osmotic adjustment which contribute to the higher water potential (T anuiling et. al. 1987). Sodium tended to decrease first and increase thereafter in two calli, while it was increased first and decreased thereafter in the third callus for the non-irradiated treatment (Fig. 1d). However, it was decreased first and stabilized thereafter in two calli and increased as the stress level increased in the third callus in the irradiated treatment (Fig. 1c). Sodium usually depress K^+ uptake and also displace the membrane Ca^{++} . (Kramer 1963). Calcium and Mg^{++} showed a similar trend in both irradiated and non-irradiated treatments, They were decreased first and increased thereafter in two calli, while they were decreased as the stress level increased in the third callus (Fig. 1 e, f, g, h). Differences in ions concentration at different treatments due to be different response or tolerancy of these calli to the different stress levels.

Water Contents:

Percentage of water content was used as an indicator for succulency of the cells. Water content was decreased at the high stress level in the non-irradiated treatments (Fig.2a). Different trend of succulency was observed in the irradiated treatments.

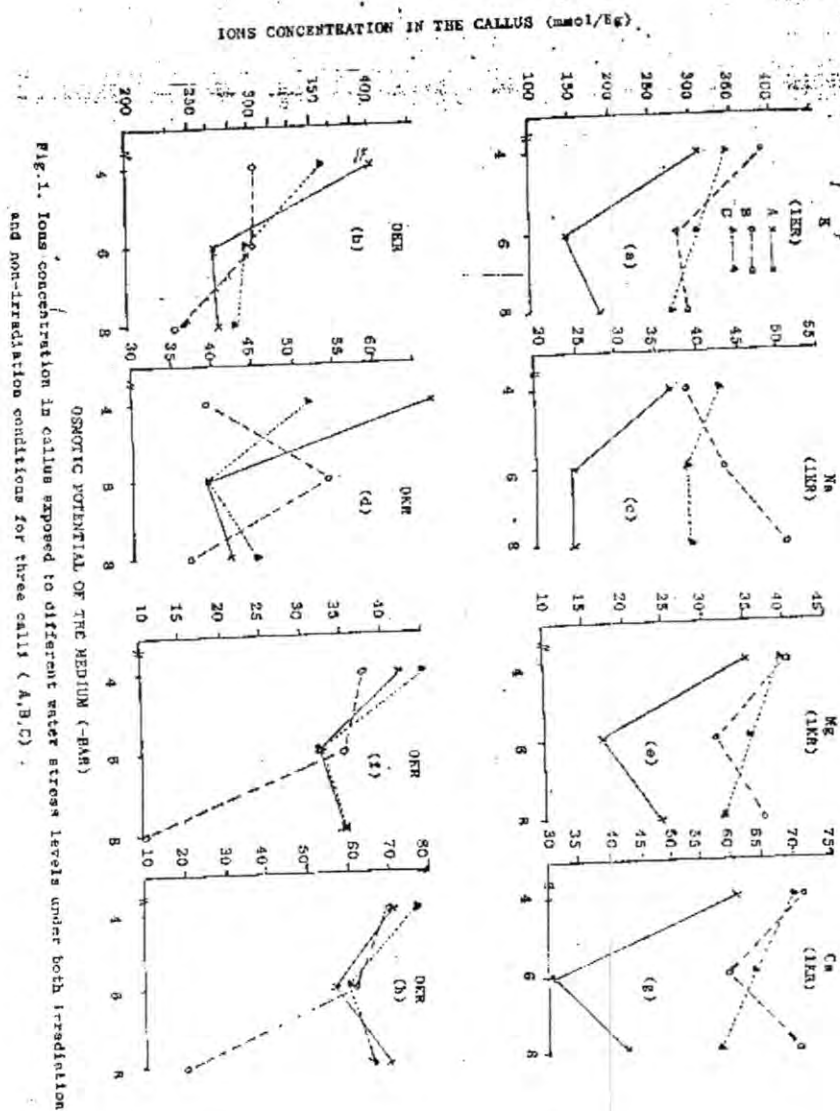
The water content was decreased first and increased thereafter (Fig. 2b). The increase oof succulence may suggest an adaptive response to high stress level caused by water defficiency

Water Relations:

Total water, osmotic, and pressure potentials were determined in all treatments in order to study the water relations of the calli. In the non-irradiated treatments, the water potential (Ψ_w) tended to increase (less negative) first and decrease (more negative) thereafter in two calli. A stabilization was observed among different stress level in the third callus (Fig. 3a). Osmotic potential (Ψ_π) was increased in the three calli first, then decreased in two calli and stabilized in the third callus thereafter (Fig 3b). Accordingly, the pressure potential (Ψ_p) showed different response at different stress level (Fig. 3c). In the irradiated treatments, different trend of water relations was observed. The (Ψ_w) was slightly increased first and stabilized thereafter in two calli, while it was slightly decreased first and increased thereafter in the third callus (Fig. 3d). The (Ψ_π) decreased as the stress level increased in the three calli (Fig. 3e). However a slight differences were observed among different calli. The (Ψ_p) was gradually increased in the three calli (Fig. 3f). The water relations of the calli indicate an adjustment of these calli to the media. Increasing stress level in the medium causes in most cases a decrease in osmotic potential.

Osmotic adjustment which is an important signal of tolerency, may be advantageous in maintaining turgor pressure during condition which result in lower total water potential.

It has been reported that the tolerance exhibited by the cell populations exposed to PEG-induced water stress results from an adaptation response (Handa *et al.* 1983). It is not possible to draw such a conclusions whether plants with enhanced tolerance to water stress ever could be recovered by cell cultures techniques since there seem to be more stable tolerance differences between cell clones in the populations and it is not known exactly how the tolerance differences between clones is related to differences in tolerance due to adaptation. Wheat cells which exhibit tolerance and/or adaptation to PEG-induced water stress can be isolated or selected from a population of cells growing under different stress levels.



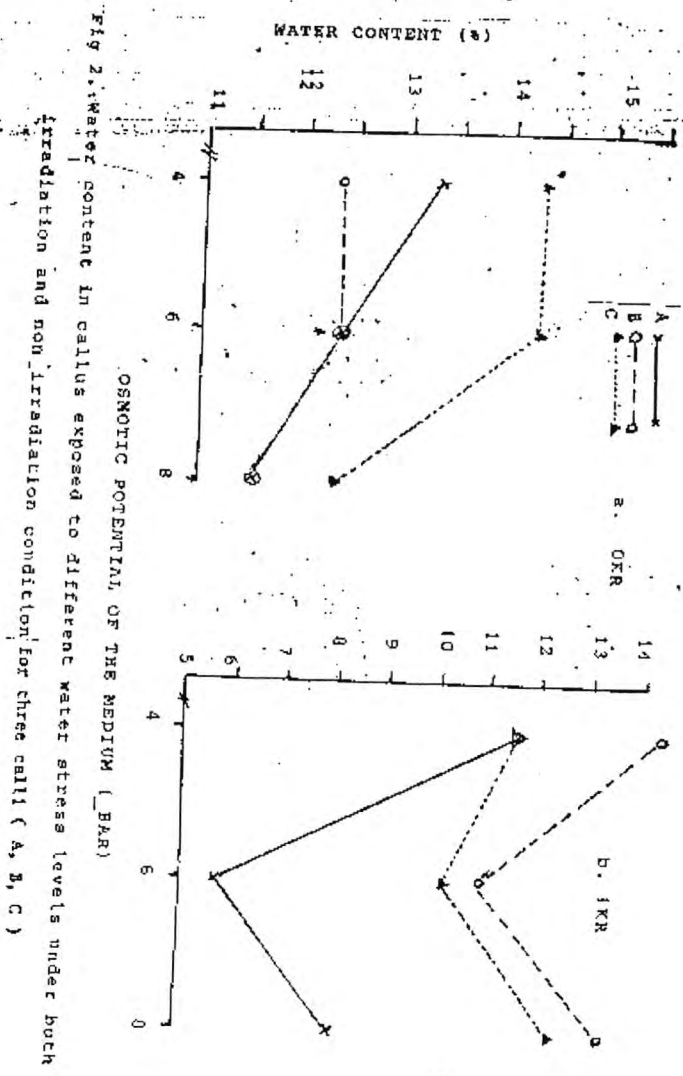


Fig. 2. Water content in callus exposed to different water stress levels under both irradiation and non irradiation condition for three calli (A, B, C)

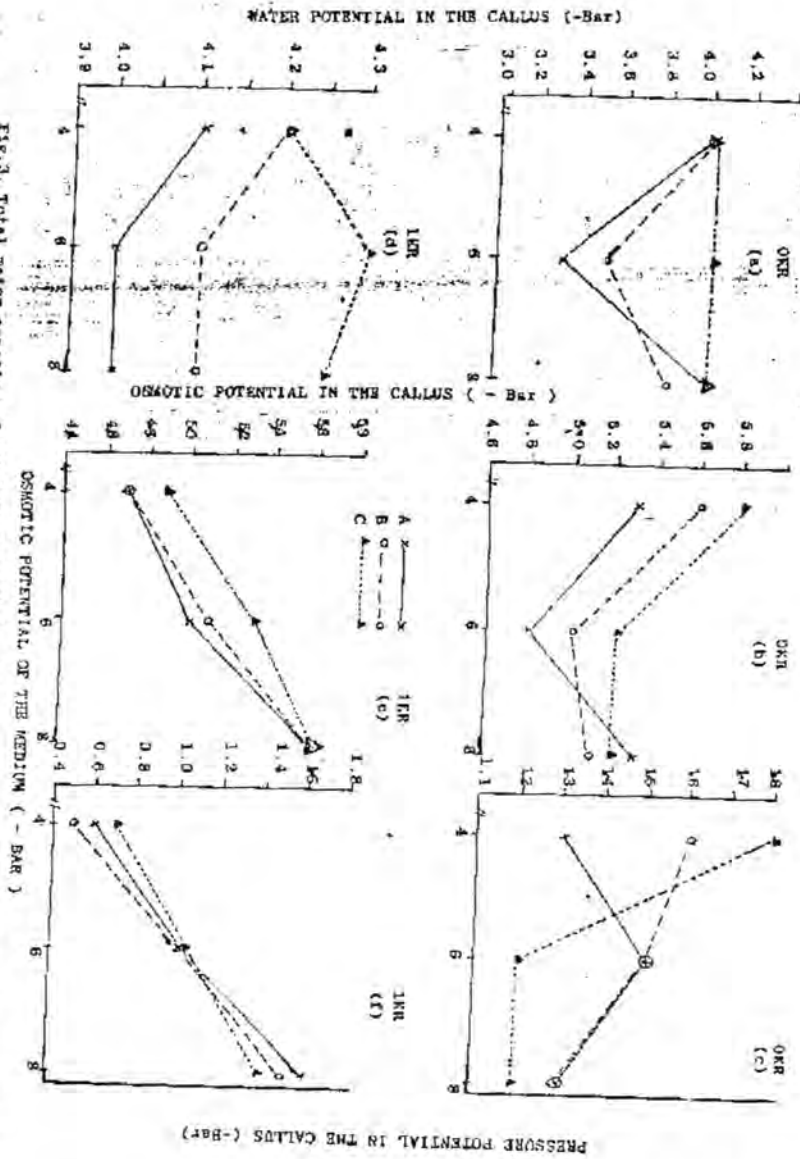


Fig. 3. Total water, osmotic, and pressure potentials of the calli exposed to different stress levels under both irradiation and non-irradiation conditions for three calli (A, B, C.).

REFERENCES

1. Bressan R.A.; P.M. Hasegawa and A.K. Handa. Resistance of cultured higher plant cells to polyethylene glycol-induced water stress. *Plant Sci. Lett.* 21: 23 - 30. (1981).
2. Bressan R.A.; A.K. Handa and P.M. Hasegawa. Growth and water relations of cultured tomato after adjustment to low external water potentials. *Plant Physiol.* 70: 1303 - 1309. (1982).
3. Kramer P.J. Water stress and Plant growth. *Agron. J.* 55: 31 - 55. (1963).
4. Handa A.K.; R.A. Bressan; S. Handa and P.M. Hasegawa Characteristics of cultured tomato cells after prolonged exposure to medium containing polyethylene glycol. *Plant Physiol.* 69: 514 - 521. (1982).
5. Handa A.K.; R.A. Bressan; S. Handa and P.M. Hasegawa. Clonal variation for tolerance to polyethylene glycol-induced water stress in cultured tomato cells. *Plant Physiol.* 72: 645 - 653. (1983).
6. Hanson A.D.; W.D. Hitz Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits. *Annu. Rev. plant physiol.* 33: 163 - 203. (1982).
7. John L.H. and Soltanpour P.H. A nitric acid plant tissue digest method for use with inductively coupled plasma spectrometry. *soil Sci. and Plant Analysis.* 11(10): 969 - 980. (1980).
8. Kawasaki, T. Akiba and Moritsugu H. Effect of high concentrations of sodium chloride and polyethylene glycol on the growth and ion absorption in plants. *Plant and soil*, 75: 75 - 85. (1983).
9. Maliga P.; L. Menczel; V. Sidorov; L. Martin; A. Cseplo; P. Medgyest; M. Dung; G. Lazar and F. Nagy. In "Plant Improvement and Somatic Cell Genetics" Academic press, 221. (1982).
10. Salman R.M. Response of different wheat genotypes for tissue culture technique. *The Iraqi Jour of Agri. Sci.* 20(2) 90 - 100. (1989).
11. Tanuiling V.C.; Yambao E.B.; O. Toole J.C. and De Datta S.K. Water stress effect on leaf elongation, leaf water potential, transpiration and nutrient uptake of rice, maize and soybean. *Plant and Soil*, 103: 155 - 168. (1987).
12. Widholm J.M. Selection and characterization of biochemical mutants, in: W. Barz; E. Reinhard and M.H. Zenk (Eds.) *Plant Tissue Culture and its Biotechnological Application*, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York, P. 112. (1977).

Synthesis and Spectroscopic Study of Some New Benzo[b] Thiophene Derivatives

REDHA H.I. AL-BAYATI, ABDUL-HUSEIN K. SHARBA,
MOHAMMED R. AOUD.

Dept., of Chem., College of Science,
Al-Munstansiriya Univ.,
Baghdad - Iraq.

الخلاصة

يتضمن هذا البحث تحضير مجموعة من الهيدرازيدات (3 - 4) و الثايوسيميكا بازيدات (5 - 6) و الترايازولات (7 - 8) لكلوريدات حوامض البنزو [b] ثايوفين (1 - 2) . تم مفاعلة هذه الترايازولات مع العديد من هاليدات الألكيل/اريل في وسط قاعدي للحصول على مشتقات الثايو الكيل/اريل. هذا البحث يتضمن أيضا تحضير قواعد مانس جديدة للترايازولات (7 - 8) , و قد تم تشخيص المركبات المحضرة بأطياف الأشعة فوق البنفسجية, تحت الحمراء و الرنين النووي المغناطيسي و تحليل عناصرها.

ABSTRACT

A series of 3 - Chloro Benzo [b] Thiophene - 2 - (Carboxylic Acid Hydrazides) 3 - 4), 3 - Chloro Benzo [b] Thiophene 2 - (4'- Phenyl Carboxylic Acid Thiosemicarbazides (5 - 6 6), Triazoles (7 - 8) and their Alkyl/Aryl and Propynyl derivatives have been synthesized by condensation of 3 - Chloro-2-Chloro Carbonyl Benzo[b] Thiophene derivatives (1 - 2) with Hydrazine Hydrate. The Acid Hydrazides (3 - 4) on reflexing with phenyl Isothiocyanate in absolute Ethanol yielded the corresponding Acid Thiosemicarbazide derivatives (5 - 6). Subsequent ring closure of the later with Sdium Hydroxide yielded new Triazole derivatives (7 - 8). The alkylation and Mannich reactions with Trialzoles (7 - 8) are atudied. The structures of the synthesized compounds have been established by their elemental analysis and spectral data.

INTRODUCTION

In the last few years, considerable interest has been expressed to the synthesis of several condensed heterocyclic systems, especially these derived from Triazole⁽¹⁾. In connection with our continuous interest in Benzo[b]Thiophene Chemistry, we intend to study the synthesis of substituted 1, 2, 4 - Triazoles derivatives. Free Triazoles or compounds containing these nucleuses are endowed with large number of biological activities such as antifungal⁽²⁾, antibacterial⁽³⁾, antitumor, antitubercular⁽⁴⁾, and antibiotic⁽²⁾.

The reactive intermediate hydrazides and Thioemcarbazines are endowed with large number of biological and pharmacological activities⁽⁵⁾.

EXPERIMENTAL SECTION

Melting point was recorded on Gallan-Kamp hot stage and is not corrected. IR spectra were recorded in KBr disc on Pye-Unicam SP3-100 spectrophotometer (λ_{\max} cm^{-1}). U.V. spectra were recorded on Hitachi - 2000 Spectrophotometer using absolute Ethanol as solvent. ¹H-NMR on Hitachi-Perkin-Elmer 60-Mhz Spectrophotometer using (d_6 -DMSO) as solvent and Tetramethyl silane as standard. Elemental analysis of compound was carried out on analyzer type 1106 Carlo-Frba.

PREPARATION OF 3-CHLORO-2-CHLORO CARBONYL BENZO[b]THIOPHENE DERIVATIVES(3-4)

These compounds have been prepared according to the literature (6).

PREPARATION OF 3-CHLORO BENZO[b]THIOPHENE-2- CARBOXYLIC ACID HYDRAZIDES⁽⁷⁾ (3-4)

To a solution of compound (1-2) (0.001 mole) in dry Chloroform (5ml), 95% Hydrazine Hydrate (0.0018 mole) was added dropwise. The mixture was refluxed for one hour. The solvent was removed under vacuum, and the precipitate was collected and crystallized from Ethanol. Table (1-1).

PREPARATION OF 3-CHLORO BENZO[b]THIOPHENE-2-(4'PHENYL CARBOXYLIC ACID THIOSEMICRABAZIDE)⁽⁸⁾ (5-6)

To a solution of compound (5-6) (0.01 mole) in 25 ml Ethanol, Phenyl Isothiocyanate (0.01 mole) was added. The mixture was refluxed for four hours. After cooling, the white precipitate was filtered and crystallized from Acetone-water. Table (1-1).

PREPARATION OF 3-CHLORO -2-(3'-Thione -4'-PHENYL -2'-4'-DIHYDRO- 1'2'4'-TRIAZOL-5'-YL) BENZO[b]THIOPHENE DERIVATIVES⁽⁹⁾ (7 - 8)

A stirring mixture of compound (5-6) (0.001 mole) and 5 % Aqueous Sodium Carbonate solution (10 ml) was refluxed for four hours. After cooling, the solution was acidified with Hydrochloric Acid and the precipitate was filtered and crystallized from Ethyl Acetate. Table (1-2).

PREPARATION OF ALKYL/ARYL-THIO DERIVATIVE⁽⁹⁾ (9-14)

To a stirring solution of compound (7-8) (0.001 mole) and potassium hydroxide (0.002 mole) in Ethanol (0.5 ml), Alkyl/aryl halide (0.001 mole) was added. The mixture was stirred overnight. It was diluted with water (8 ml). The precipitate was filtered and crystallized from Ethanol-water. Table (1-2).

PREPARATION of ACETYLENIC THIO-TRIAZOLE DERIVATIVES⁽¹⁰⁾ (15 - 16)

To a stirring solution of compound (7-8) (0.01 mole) and triethylamine (0.01 mole) in Ethanol (25 ml), Propargyl Chloride (0.02 mole) was added dropwise. The mixture was refluxed for two hours on water bath. The excess of Ethanol was removed under vacuum. The product was collected and crystallized from Ethanol-water. Table (1-3).

PREPARATION OF MANNICG BASES⁽¹¹⁾ (17-18)

To a stirring solution of compound (15-16) (0.005 mole) and Cuprous Chloride (CuCl) (0.0025g) in dioxane (25 ml) which was heated for few minutes, Paraformaldehyde (0.005 mole) and secondary amine (0.005 mole) were added. The mixture was refluxed tow two hours at 90⁰C. After cooling, the solution was filtered and poured onto ice water (100 ml). The residue was extracted from Chloroform and purified by column Chromatography. The product was oily. Table (1-3).

PREPARATION OF THIOACETIC ACID & ITS ACID CHLORIDE & HYDRAZIDE DERIVATIVES (19-21)

Preparation of Acid⁽¹²⁾ (19):

To a stirring solution of α -Chloroacetic Acid (0.01 mole) in 10% Aqueous SodiumHydroxide (10 ml), asolution of compound (8) in 10% Aqueous Sodium Hydroxide (10 ml) was added. The mixture was refluxed for 3 hours. After cooling, the solution was acidified with concentrated Hydrochloric Acid. The precipitate was filteredand crystalized from Ethyl Acetate. Table (1-4).

PREPARATION OF ACID CHLORIDE⁽¹⁰⁾ (20)

A mixture of compound (19) (0.002 mole) and Thionyl Chloride (6 ml) wa refluxed for two hours. The excess of Thionyl Chloride was removed under vacuum. The resulting Acid Chloride was crystallized from Benzene. Table (1-4).

PREPARATION OF ACID HYDRAZIDE⁽¹⁰⁾ (21)

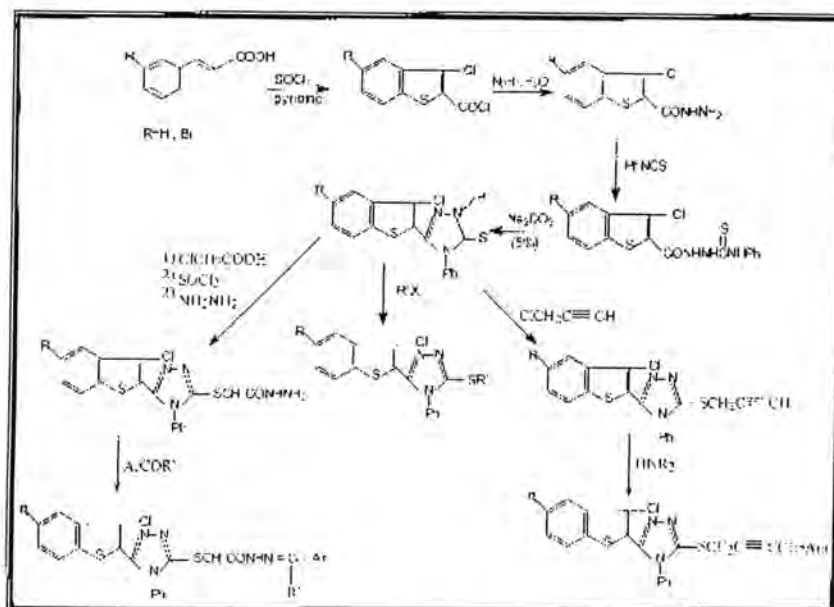
To a stirring solution of compound (20) (0.002 mole) in pyridine (8 ml), 95 % Hydrazine Hydrate (1 ml) was added dropwise with cooling, the stirring was continued overnight at rom temperature. After that, the mixture was refluxed fortwo hours at 80⁰ C. After cooling, the excess of Pyridine was removed under vacuum. The product was crystallized from Ethanol. Table 91-4).

PREPARATION OF SCHIFF BASES⁽¹³⁾ (22-23)

To a stirring solution of compound of (5-6 (0.1 mole) in absolute Ethanol (30 ml), was added Aldehydes or Ketones (0.11 mole). The mixture was refluxed for three hours and cooled. The precipitate was filtered and crystallized from Ethanol. Table (1-4).

RESULTS AND DISCUSSION

For the synthesis of the target compounds, the reaction sequence outlined in (scheme 1) from the corresponding 3-Chloro-2-Chloro Carbonyl Benzo[b]Thiophene derivatives (1-2) are followed.



Scheme 1

The reaction of suitable 3-chloro-2-chloro carbonyl benzo [b] Thiophene derivative (1-2) (prepared according to the literature 6) with Hydrazine Hydrate in dry Chloroform yielded 3-Chloro Benzo[b]Thiophene 2-Carboxylic acid Hydrazone derivatives (3-4) in high yield⁽⁷⁾.

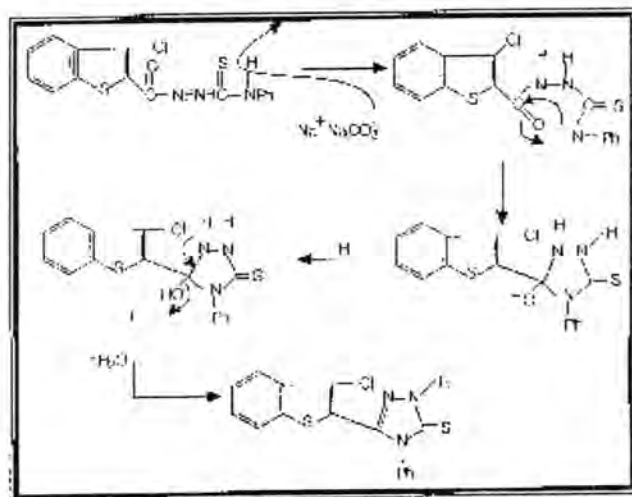
The infrared Spectra of compound (3) shows absorption band at (1640 cm^{-1}) for (C=O) stretching vibration and (3140 cm^{-1}) for (N-H) stretching vibration⁽¹⁴⁾. The former absorption is useful in distinguishing between the Acid Chloride and Acid Hydrazide.

Condensation of these Acid Hydrazides (3-4) with Phenyl Isothiocyanate in refluxing Ethanol furnished 3-Chloro Benzo[b]Thiophene 2-(4'-Phenyl Carboxylic Acid Thiosemicarbazide) derivatives (5-6), and the reaction is followed by the appearance of (C=S) absorption band at (1240 cm^{-1}) which obviously confirm the formation of Acid Thiosemicarbazide derivative (6)^(5,16). The spectra of compound (6) also show absorption band at (3200 cm^{-1}) and (1680 cm^{-1}) which are assigned to (N-H)⁽¹⁷⁾ and (C=S)⁽¹²⁾ stretching vibration respectively.

The physical properties of Acid Hydrazides (3-4) and their corresponding substituted Acid Thiosemicarbazide derivatives (5-6) are listed in table (1-1)

The structure of these compounds (3-6) have been characterized and identified on the basis of their IR and UV spectral data. Table (2-1).

A Chemoselective cyclization of compound (5-6) with aqueous Sodium Carbonate furnished the corresponding 3-Chloro-2-(3'-Thione-4'-Phenyl-2',4'-Dihydro-1',2',4'-Triazol-5'-yl) Benzo[b]Thiophene derivatives (7-8). The mechanism of the reaction may be depicted as follow⁽⁹⁾.



Scheme 2

The IR spectra of compound (7) exhibited (N-H) stretching absorption band at (3380cm^{-1}). The absorption bands due to (C=N) group has been observed at (1635cm^{-1}) and (C=S) group weakly observed at (1310cm^{-1})^(18,19).

In the nuclear magnetic resonance spectra, Triazole (7) exhibited a singlet at (3.8) ppm due to the Thioamidic Proton (N-H) of the Thione form^(16,20), and a multiplet between (8.3 - 8.9)ppm due to the Aromatic ring Protons^(12,14).

Alkylation/Arylation of the synthesized Triazoles (7-8) with different Alkylating/Arylating agents such as 2,4-Dinitro Benzene Chloride and P-Nitro Benzyl Chloride gave the corresponding Alkyl/Aryl Thio-Triazole derivatives⁽⁹⁾ (9-14).

The physical properties of the synthesized triazoles (7-8) and their Alkyl/Aryl Thio-Triazole derivatives (9-14) are recorded in table (1-2). The structure of these compounds (7-14) have been characterized and identified on the basis of their elemental, IR, UV and ¹H-NMR analysis. Table (2-2).

The characteristic IR absorption bands of compound (10) are observed at (1360cm^{-1}) referred to (C-NO₂) symmetric and asymmetric stretching vibration^(20,21)

The spectra also shows an absorption bands at (1600^{-1}) and (1570cm^{-1}) due to (C=N) groups respectively^(9,21).

Moreover, the Triazole (7-8) undergo a nucleophilic substitution reaction of the Thiol group with Propargyl Chloride in absolute Ethanol, in the presence of Triethylamine as a base giving the corresponding Acetylenic Thio-Ether Triazole derivatives⁽¹⁰⁾ (15-16).

The IR spectra of compound (16) discloses the presence of the main characteristic bands at (3300cm^{-1}) of ($\equiv\text{C-H}$) stretching vibration, at (2100cm^{-1}) of ($\text{C}\equiv\text{C}$) stretching vibration and between ($2860 - 2940\text{cm}^{-1}$) of (CH_2) stretching vibration symmetric and asymmetric respectively⁽²²⁾.

Treatment of these Acetylenic derivatives (15-16) with piperidine and Piperazine under Mannich conditions reaction furnished Mannich basis⁽¹¹⁾ (17-18).

The IR spectra of compound (18) shows the disappearance of the band at (2100cm^{-1}) which has been assigned to ($\text{C}\equiv\text{C}$) and the presence of (CH_2) band as indicated by the absorption at (2940cm^{-1}) for asymmetric stretching and (2860cm^{-1}) for symmetric stretching. The ($\equiv\text{CH}$) band at

(3300 cm^{-1}) identifying the starting materials has been completely absent is a good indication for success of the Mannich reaction⁽¹¹⁾.

The physical properties of the synthesized acetylenic derivatives (15-16) and their corresponding Mannich basis are listed in Table (1-3), and their structural assignments are based on their IR and UV spectral data. Table (2-3).

On the other hand, the reaction of triazole (8) with -chloro Acetic Acid afforded derivatives (19) (3-Chloro-5-Bromo-2[3'-Thioacetic Acid-4'-Phenyl-1',4'-Triazole-5'-yl] Benzo[b] Thiophene⁽¹²⁾), which is converted to the corresponding Thio-Acetic Acid Hydrazide derivatives (21), by Acid Chloride method, which requires an Acid Chloride preparation⁽¹⁰⁾ (20) followed by the reaction with Hydrazide Hydrate in dry pyridine⁽¹⁰⁾.

Acid Hydrazide (21) when treated with some Aldehydes and Ketones yielded the condensation products⁽¹³⁾ (21-22) (Schiff bases).

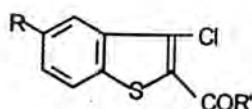
The infrared spectra of Thio-Carboxylic Acid derivative (19) shows a band at (1640 cm^{-1}) due to symmetric stretching of the Carbonyl group (C=O) and a broad band at (3300 cm^{-1})^(23,24) assigned to the Hydroxyl group (OH) which is completely absent in the IR spectra of the Acid Chloride (20). This spectra also shows the appearance of (C=O) at (1720 cm^{-1})^(20,22).

The characteristic IR absorption bands of the Acid Hydrazide (21) are observed in the regions (1610 cm^{-1}), (1620 cm^{-1}) and (3240 cm^{-1}). These three bands are assigned to (C=N), (C=O) and (N-H) stretching vibration^(20,22).

The main features of the IR spectra of Schiff base (23) are the disappearance of the (NH₂) stretching band^(5,22) and the presence of three bands, the first and the second bands at ($1340, 1530\text{ cm}^{-1}$) refers to and (C-NO₂) symmetric and asymmetric stretching vibration respectively⁽²²⁾, and the third band at (2970 cm^{-1}) is due to (C-H) stretching vibration^(25,26).

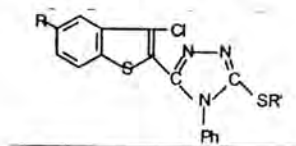
The physical properties of Thio-Acetic Acid (19) and its derivatives (20-23) are listed in Table (1-4), and their structure have been characterized according to their elemental, IR, and UV analysis. Table (2-5), and (2-4).

Table (1-1) : Physical properties of compounds (3-6)



| Compound Number | R | R' | Mp(°C) | Yield (%) | Purification Solvent | Molecular formula |
|-----------------|----|---------------------|--|-----------|----------------------|---|
| 3 | H | Cl | 110-112cal ⁽⁶⁾ 114-116 foun. | 53 | Benzene | C ₉ H ₄ OSCl ₂ |
| 4 | Br | Cl | 118-120 | 40 | Benzene | C ₉ H ₃ OSClBr |
| 5 | H | -NH-NH ₂ | 164-166 | 73 | EtOH | C ₆ H ₇ N ₂ OSCl |
| 6 | Br | -NH-NH ₂ | 206-208 | 75 | EtOH | C ₉ H ₆ N ₂ OSClBr |

Table (1-2) : Physical properties of compounds (7-14)







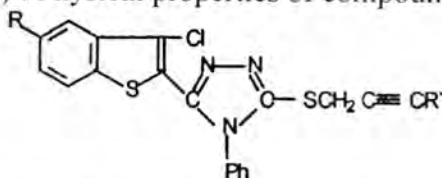
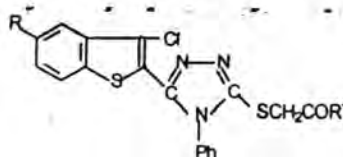
| Compound Number | R | R' | Mp(°C) | Yield (%) | Purification Solvent | Molecular formula |
|-----------------|----|---|---------|-----------|-----------------------|---|
| 7 | H | H | 240-242 | 73 | Ethyl acetate | C ₁₆ H ₁₀ N ₅ S ₂ Cl |
| 8 | Br | H | 248-69 | 69 | Ethyl acetate | C ₁₆ H ₉ N ₅ S ₂ ClBr |
| 9 | H |  | 224-226 | 75 | EtOH+H ₂ O | C ₂₂ H ₁₂ N ₅ O ₄ S ₂ Cl |
| 10 | Br |  | 171-173 | 72 | EtOH+H ₂ O | C ₂₂ H ₁₁ N ₅ O ₄ S ₂ ClBr |
| 11 | H | -CH ₃ | >280 | 64 | EtOH+H ₂ O | C ₁₇ H ₁₂ S ₂ Cl |
| 12 | Br | -CH ₃ | >280 | 59 | EtOH+H ₂ O | C ₁₇ H ₁₁ N ₅ S ₂ ClBr |
| 13 | H |  | >280 | 62 | EtOH+H ₂ O | C ₂₃ H ₁₆ N ₅ S ₂ Cl |
| 14 | Br |  | >280 | 57 | EtOH+H ₂ O | C ₂₃ H ₁₅ N ₅ S ₂ ClBr |

Table (1-3) : Physical properties of compounds (15-18)



| Compound Number | R | R' | Mp(°C) | Yield (%) | Purification Solvent | Molecular formula |
|-----------------|----|----|---------|-----------|-----------------------------------|---|
| 15 | H | H | 190-192 | 78 | EtOH+H ₂ O | C ₁₉ H ₁₂ N ₃ S ₂ Cl |
| 16 | Br | H | 208-210 | 72 | EtOH-H ₂ O | C ₁₉ H ₁₁ N ₃ S ₂ ClBr |
| 17 | H | | Oily | 50 | CHCl ₃ + petrolumether | C ₂₅ H ₁₂ N ₄ S ₂ Cl |
| 18 | Br | | Oily | 38 | CHCl ₃ + petrolumether | C ₄₄ H ₃₂ N ₈ S ₄ Cl ₂ Br ₂ |

Table (1-4) : Physical properties of compounds (19-23)



| Compound Number | R | Mp(°C) | Yield (%) | Purification Solvent | Molecular formula |
|-----------------|--------------------|---------|-----------|----------------------|---|
| 19 | -OH | 178-180 | 70 | Ethyl acetate | C ₁₈ H ₁₁ N ₃ O ₂ S ₂ ClBr |
| 20 | -Cl | 250-252 | 72 | Benzene | C ₁₈ H ₁₀ N ₃ OS ₂ Cl ₂ Br |
| 21 | -NHNH ₂ | 270-272 | 64 | EtOH | C ₁₇ H ₁₃ N ₃ OS ₂ ClBr |
| 22 | | 237-239 | 56.5 | EtOH | C ₂₅ H ₁₅ N ₃ O ₃ S ₂ ClBr |
| 23 | | 258-260 | 52 | EtOH | C ₂₆ H ₁₇ N ₃ O ₃ S ₂ ClBr |

Table (2-1) : Spectral data for compounds (3-6)

| Compound No. | UV(EtOH) λ_{\max} (nm) | Characteristic bands of IR spectra (CM^{-1} , KBr disc) | | | | |
|--------------|-----------------------------------|--|-------------------|-------------------|-------------------------------|-------------------|
| | | $\nu(\text{C=O})$ | $\nu(\text{C=C})$ | $\nu(\text{N-H})$ | $\nu(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | $\nu(\text{C=S})$ |
| 3 | 297 | 1640 | 1570 | 3140 | 3040 | - |
| 4 | 302 | 1630 | 1520 | 3280 | 3060 | - |
| 5 | 304 | 1675 | 1600 | 3180 | 3020 | 1170 |
| 6 | 292 | 1680 | 1600 | 3200 | 3040 | 1240 |

Table (2-2) : Spectral data for compounds (7-14)

| Compound No. | U.V (EtOH) λ_{\max} (nm) | Characteristic bands of IR spectra (CM^{-1} , KBr disc) | | | | |
|--------------|-------------------------------------|---|-------------------|-------------------------------|-------------------|---|
| | | $\nu(\text{C=N})$ | $\nu(\text{C=C})$ | $\nu(\text{C-H})_{\text{ar}}$ | $\nu(\text{C-S})$ | Others ν |
| 7 | 313.5 | 1610 | 1530 | 3060 | - | (C=S) 1310 (N-H)3320 |
| 8 | 391.5 | 1640 | 1525 | 3070 | - | (C=S) 1275 (N-H)3380 |
| 9 | 381 | 1610 | 1520 | 3080 | 760 | (C-NO ₂)1360s (C-NO ₂)1530as |
| 10 | 382.5 | 1600 | 1560 | 3090 | 750 | (C-NO ₂)1340s (C-NO ₂)1530as |
| 11 | 295 | 1640 | 1570 | 3080 | 740 | (S-CH ₃)1440 |
| 12 | 298 | 1625 | 1520 | 3050 | 750 | (S-CH ₃)1450 |
| 13 | 292.5 | 1630 | 1550 | 3060 | 750 | (C-H)al 2920 |
| 14 | 293 | 1630 | 1540 | 3070 | 755 | (C-H)al 2900 |

Table (2-3) : Spectral data for compounds (15-18)

| Compound No. | U.V (EtOH) λ_{\max} (nm) | Characteristic bands of IR spectra (CM^{-1} , KBr disc) | | | | | | |
|--------------|-------------------------------------|---|-------------------|-------------------|-------------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------------------|
| | | $\nu(\text{C=N})$ | $\nu(\text{C=C})$ | $\nu(\text{C=C})$ | $\nu(\equiv\text{C-H})$ | $\nu(\text{C-H})_{\text{al}}$ | $\nu(\text{C-N})$ | $\nu(\text{C-H})_{\text{ar}}$ |
| 15 | 304.5 | 1620 | 1540 | 2130 | 3180 | 2930s 2990as | - | 3070 |
| 16 | 297.5 | 1610 | 1520 | 2100 | 3300 | 2860s 2940as | - | 3040 |
| 17 | 292 | 1630 | 1580 | - | - | 2890s 2970as | 1205 | 3060 |
| 18 | 297 | 1640 | 1575 | - | - | 2680s 2940as | 1210 | 3070 |

Table (2-4) : Spectral data for compounds (19-23)

| Compound No | U.V (1:10H) λ_{max} (nm) | Characteristic bands of IR spectra (CM ⁻¹ , KBr disc) | | | | | | |
|-------------|-------------------------------------|--|-------------|-------------|---------------|-------------|---------------|--------------------------|
| | | ν (C=N) | ν (C=C) | ν (C=O) | ν (C-H)ar | ν (N-H) | ν (C-H)al | ν Others |
| 19 | 256.5 | 1620 | 1560 | 1640 | - | - | - | (O-H) |
| 20 | 253 | 1600 | 1480 | 1720 | 3060 | - | 2940 | (C-Cl)790 |
| 21 | 250.5 | 1610 | 1470 | 1620 | 3040 | 3240 | 2930 | - |
| 22 | 290 | 1590 | 1520 | 1620 | 3080 | 3340 | - | (C-NO ₂)1360 |
| 23 | 297 | 1600 | 1510 | 1630 | 3050 | 3360 | 2920 | (C-NO ₂)1350 |

Table (2-5) : Elemental analysis of some synthesized compounds

| Compound No. | Cal% (Found%) | | |
|--------------|---------------|-------|--------|
| | C% | H% | N% |
| 7 | 55.976 | 2.91 | 12.44 |
| | 55.59 | 3.08 | 12.23 |
| 8 | 45.497 | 2.13 | 9.95 |
| | 45.22 | 2.25 | 9.78 |
| 10 | 44.897 | 1.87 | 11.90 |
| | 44.23 | 2.02 | 11.76 |
| 13 | 62.70 | 2.37 | 9.97 |
| | 62.34 | 2.50 | 9.84 |
| 19 | 38.709 | 1.88 | 11.29 |
| | 38.55 | 2.09 | 10.88 |
| 23 | 43.16 | 2.517 | 15.108 |
| | 42.87 | 2.69 | 14.79 |

REFERENCE

1. A.M. Veaga, I.Aldana , M.M. Rabbani, and E.F. Alvarez, J. Heterocyclic. Chem., 17, 77 - 80 (1980).
2. G.S. Gadaginamath, S.A. Patil, and A.S. Shydligeri, Ind. J. Chem., 35(B), 681 - 684 (1996).
3. S.P. Singh, and S.K. Shukla, C.A., 98, 140403g, (1983).
4. L.N. Rist, and F. Grumbach, C.A., 51, 14137f, (1957).

5. E.H. El-Tamaty, M.E. Abdel-Fattah, and JyI.M. El-Deen, *Ind. J. Chem.*, 35(B), 1067 - 1072, (1996)
6. S. Parkey and N. Castle, *J. Heterocyclic. Chem.*, 23 1571 - 1577, (1986).
7. J.J. Hamdi, Ph. D., Thesis Al-Mustansiriyah University, (1999).
8. J. Henichart, R. Houssin and B. Lablanche, *J. Heterocyclic. Chem.*, 14, 615 - 619, (1977).
9. A. Sharfīee, E.P. Naum and M.A. Foroumadi and M. Shekan, *J. Heterocyclic. Chem., Soc.*, 32, 1235 - 1239, (1995)
10. Z.G. Jasim, MS.c. Thesis, Al-Mustansiriyah University, (1999).
11. A.A. Khalaf, M.S.c. Thesis, Al-Mustansiriyah University, (1999).
12. P.J.Khotari, M.A. Melhoff and S.P. Sigh, *J. Heterocyclic. Chem.*, 17, 1369 - 1372. (1980).
- 13.S. Bahadur. A.K. Goel and R.S. Varma, *J. Ind. Chem. Soc.*, LIII, 590 - 592. (1976).
- 14.G. Rama. Rao, K.Mogilalah and B. Screenivasulu, *Ind. J. Chem.*, 35B, 339 - 344. (1996).
15. K. Ladra, P. Patel, P. V. Padhgay and H. Parekd, *Ind. J. Chem.* 35(B), 1062 - 1066 (1996).
16. P>J. Khotari, S.P. Singh, S.S. Parmer and V. I. Syttenbergs, *J. Heterocyclic. Chem.*, 17, 1393 - 1398 (1980).
- 17.R.S. Sharma and S.C. Bahel, *J. Ind. Chem. Soc.*, LIX, 877 - 880 (1982).
18. C.S. Andotra, T.C. Langer and S.K. Sharma, *J. Ind. Chem. Soc.*, 66, 122 - 123 (1989).
19. Z. Cesure, N. Ergenc and E. Ilham, *C.A.*, 112, 198232 z. (1990).
20. N.F. Eweiss, A.A. Baghajaj and E.A. El-Sherbini, *J. Heterocyclic. Chem.* 23, 1451. (1986).
21. V.M. Parikh, "Absorption Spectroscopy of Organic Molecules". Translated by A.H. Khuteir, J.M.A. Al-Rawi, and M.A. Al-Iraqi, Mosul-University (1985).
22. R.M. Silverstein, G.C. Bassler and T.C. Morill, "Spectrometric Identification of Organic Compounds" 4th. Ed., John Wiley., Sons, New York, (1981).
23. P.J. Khotari, V. Kishore, V.I. Stenberg and S.S.Parmer, *J. Heterocyclic. Chem.*, 15, 1101, (1978).
24. Abdul Wahab and R.P.Rao, *J. Ind. Chem.Soc.*, LV, 389 - 392, (1978).

25. B. Surenda, A.K. Goal and R.S. Varma, J. Chem. Soc. LIII, 592 - 592 (1976).
26. R. Nota, P.L. Meo, M. Gruttaduria and G. Werber, J. Heterocyclic, Chem. Soc., 36, 667 - 674, (1999).

Multiple Antibiotic Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated From Otitis Media

SAMEER F. SAMAAAN

Dept. of Microbiology, College of Science, Al-Mustansyria University
Baghdad

الخلاصة

تم الحصول على خمسون عزلة من بكتيريا *P.aeruginosa* من المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى حيث كانت هذه البكتيريا هي المسبب الرئيسي للاصابة. تم تشخيص هذه البكتيريا باستعمال اكثر من عشرة فحوصات بايوكيميائية. درست مقاومة هذه العزلات لاثنتين وعشرون نوعاً مختلفاً من المضادات الحيوية. اظهرت النتائج بأن عزلات البكتيريا هذه كانت عالية المقاومة لمعظم المضادات المستعملة ومنها الاجيال الحديثة لمضادات مجموعة البيتا-لاكتام. اشار تحليل نتائج المقاومة باستخدام الحاسبة الى وجود نسق سائد للمقاومة لاحد عشر مضاد مايكروبي مختلف وهي W F N A P Amp Aml Ctx Caz Cl C E. ونعتقد بوجود جين مقاومة لمضاد واحد يضاف الى نسق المقاومة السائد اعلاه وهذا ما قد يشكل خطورة مرضية من انتشار هذه البكتيريا ونقلها لصفة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية اضافة لصعوبة اختيار العلاج المناسب لها

ABSTRACT

Ear swab samples were collected from patients of chronic suppurative otitis media. A total of 50 isolates of *P.aeruginosa* were obtained and being identified by applying more than 10 microbiological tests. Isolates of this bacteria were tested for their resistance to 22 different antibiotics and for the presence of multiplicity of resistance. The bacteria were found to be highly resistant to most of the antibiotics tested, including the new generations of β -lactams. Computer analysis revealed that the dominant pattern of multiple resistance to antibiotics was W F N A P Amp Ctx Caz Cl C E. The results indicate a rise in multiplicity of resistance among local isolates of this bacteria. Therefore, therapeutic options could be limited in treating otitis media.

INTRODUCTION

Pseudomonas aeruginosa is widely distributed in nature, it is also isolated in association with several pathogenic conditions in man like otitis media which is a dangerous clinical condition that is difficult to treat because the most common infecting organisms are often resistant to many antibiotics^(1,2).

This highly resistant pathogen is usually known for its intrinsic resistance to many groups of antimicrobial agents and its ability to develop multiantibiotic resistance including the newer extended spectrum beta-lactams⁽³⁾.

This work aimed to investigate the emergence of multiple resistant *P.aeruginosa* to antibiotics as well as the estimation of the dominant multiple pattern of antibiotic resistance exhibited by these local isolates.

MATERIALS AND METHODS

Clinical specimens and identification of *P.aeruginosa*

Sixty-eight sample of ear swabs were collected under medical supervision from patients suffering from suppurative otitis media at the "ENT" unit of Baghdad teaching hospital. The swabs were cultured on Blood and MacConkey's agars and the isolates were identified as *P.aeruginosa* by following the methods and tests described by^(4,5).

Antibiotics

Antimicrobial susceptibilities were determined by the disc method described by⁽⁵⁾, using Mueller Hinton agar with an inoculum of $10^4 - 10^5$ organisms/ml. The antibiotic discs used (all obtained from oxoid, England) were as follows:

Penicillin G(P) 10 units; Ampicillin (Amp) 25ug; Amoxycillin (Aml) 10ug; Carbencillin (Car) 100ug; Piperacillin (Pip) 100ug; Cephalexin (Cl) 30ug; Ceftazidime (Caz) 30ug; Cefotaxime (Ctx) 30ug; Tetracycline (Te) 30 ug; Chloramphenicol (C) 30 ug; Rifampicin (Rd) 30 ug; Erythromycin (E) 5 ug; Polymyxin B (Pb) 300 units; Malidixic acid (Na) 30 ug; Ciporfloxacin (Cip) 5 ug; Amikacin (Ak) 30 ug; Neomycin (N) 30 ug; Tobramycin (Tob) 10ug; Gentamycin (Cn) 10 ug; Streptomycin (S) 10 ug; Trimethoprim (W) 1.25 ug and Nitrofurantion (F) 300 ug.

C.Data analysis

Data of antibiotic resistance were introduced into Computer with a program sps which aids the estimation of the distribution of multiplicity of antibiotic resistance and investigation of the dominant pattern of antibiotic multiple resistance in *P. aeruginosa*.

RESULTS AND DISCUSSION

A total of 50 isolates of *P. aeruginosa* were obtained from ear swab samples collected from patients of otitis media. This bacteria were highly isolated (73.5%) and were found to be the most causative agent obtained out of all ear swab samples.

These isolates were tested for their resistance to each of the 22 different antibiotics. Results in (Table 1) showed that all isoaltes (100%) were resistant to Amp, Aml, P, Ctx, Caz, Cl, NA, F, C, W and E. In addition high proportions of antibiotic resistance were observed in case of Te, Rd, Car, Cn, Teb and Pip. However *P. aeruginosa* exhibited minimal resistance to N(14%), Cip(8%), Ak(6%) and Pb(2%). Form the above results it is clear that the ten mentioned antibiotics to which the bacteria exhibited 100% resistance were highly infective upon otitis media caused by *P. aeruginosa*. This could be to the heavy unprudant use of some of them in treatment and could also be due to the wrique features of low permeability of outer membrane of this bacteria⁽⁶⁾. However, it was reported recently that the presence of mar gene in this bacteria could pretext against the effect of multiple antibiotics⁽⁷⁾. A higher rate of resistance to different antibiotics (some are not in use, yet in Iraq) exhibited by the local isolates of *P. aeruginosa* could present a major problem when treating serious ear infections caused by this bacteria. Thus the rational use of the antibiotics and constant surveillence are important to preserve their efficacy.

The clinical isolates of *P. aeruginosa* from otitis media were divided into two groups according to the number of antibiotic resistance determinants that they harbor and group II occupied the higher proportion 58% between them (Table 2).

Computer analysis of the various patterns of multiple antibiotic resistance revealed that, W, F, Na, P, Amp, Aml, Ctx, Caz, Cl, C, E was the dominant pattern in local isolates of *P. aeruginosa* attained from patients of otitis media in Baghdad.

This might be attributed to the alteration of permeability of the cell membrane and to many other mechanisms such as the production of

extended spectrum B- lactamases which lead to intrinsic resistance to several antibiotics in this bacteria^(3,6,8).

In addition there seem to be a genetically system which is involved for the process of the emergence and evolution of multiple antibiotic resistance in *P.aeruginosa* isolates. It is clear that there is some correlation among the dominant patterns of multiplicity resistance (Table -3). The increase in the degree of multiplicity is accompanied by the addition of a specific resistant marker to the pre-existing dominant pattern. This is demonstrated by the successive addition of Ak, Tob, Pb, N and Nk (in bold letters in table 3) to dominant patterns of 17, 18, 20 degrees of multiplicity respectively.

The dominance of multiplicity groups observed in this work indicates the significant rise in multiplicity of resistance among clinical local isolates of *P. aeruginosa* and this could lead to failure of therapeutic regimens. Therefore, therapeutic options can be limited in treating otitis media.

Table (1): Percentage of resistance of *P.aeruginosa* isolated from otitis media to the antibiotics tested

| *Antibiotics used | Resistance (%) |
|--|----------------|
| Amp,Aml, P, Ctx, Caz, Cl, Na, F, C, W, W | 100 |
| Te | 98 |
| Rd | 96 |
| Car | 90 |
| Pip | 88 |
| S | 72 |
| Cn | 52 |
| Tob | 38 |
| N | 14 |
| Cip | 8 |
| Ak | 6 |
| Pb | 2 |

* for names and concentrations of antibiotics, see text.

Table (2): Distribution of multiplicity of antibiotic resistance in *P. aeruginosa* isoalted from otitis media

| Group | *no. of antibiotic resistant determinants | Occurrence of <i>P. aeruginosa</i> (%) |
|-------|---|--|
| I | 13-16 | 21 isolates (42) |
| II | 17-20 | 29 isolates (58) |

* isolates of *P. aeruginosa* in this study showed resistance to at elast 13 antibiotics and more.

Table (3): Computer analysis of the dominant patterns of multiple antibiotic resistance among *P. aeruginosa* isolated from otitis media

| Group | *degree of multiplicity | Dominant pattern | Occurrence per total (%) |
|---|-------------------------|--|--------------------------|
| I | 13 | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te. | |
| | 14 | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Car. | 2% |
| | 15 | W,F,Na,P,Amp,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,S,Cn. | 2% |
| | | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Cip,Pip. | 2% |
| | | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Car,Pip. | 4% |
| | 16 | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Car,S,Pip. | 10% |
| W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Car,S,Cn. | | 2% | |
| II | 17 | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Car,Pip,S,Cn | 14% |
| | | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Te,Ak,Pip,S,Cn,Tob. | 2% |
| | | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Car,Pip,S,Tob. | 8% |
| | | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Car,Cip,Tob. | 2% |
| | | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Car,Pip,Pb,Tob | 2% |
| | 18 | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,CL,C,E,Rd,Te,Car,Pip,S,Cn,Tob. | 18% |
| | | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,CL,C,E,Rd,Te,Car,Pip,S,Cn,N. | 4% |
| | | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Car,Pip,S,Cn,N,Ak. | 2% |
| | | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Car,Pip,S,Cn,Cip. | 4% |
| | 19 | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Car,Pip,Cip,Cn,N,Tob. | 2% |
| | | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Car,Pip,S,Cn,N,Tob. | 2% |
| | 20 | W,F,Na,P,Amp,Aml,Ctx,Caz,Cl,C,E,Rd,Te,Car,Pip,S,N,NK,Cn,Tob. | 2% |

* Degree of multiplicity is the number of antibiotic resistance markers carried by each isolate.

REFERENCES

1. Gulya, A. and Wilson, W. An atlas of ear, nose and throat disorders. Parthenon Publishing, London. PP 11-14, (1999).
2. Gehanna, P. Multicenter study of the efficacy of safety or oral ciprofloxacin in the treatment of chronic suppurative otitis media in adults. *Otolaryngol. Head-Neck Surg.* 117: 83-90, (1997).
3. Masuda, N.; Gotoh, N.; Ishii, C.; Sakagawa, E.; Ohya, S. and Nishino, T. Interplay between Chromosomal B-lactamase and the Mex AB-OprM efflux system in intrinsic resistance to B-lactamase in *P. aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 400-402, (1999).
4. Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W. and Schreckenberger, P. Color plates and textbook of diagnostic microbiology. 4th. Ed. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, (1992).
5. Baron, E.; Finegold, S. and Peterson, L. Bailey and Scott's diagnostic microbiology. 9th. Ed., Mosby compnay, Missouri. Pp. 389-395, (1994).
6. Shaear, R.; Garber, R.; Stapp, G. and Tanaka, S. Activities of tobramycin and six other antibiotics against *P. aeruginosa* isoalted from patients with cystic fibrosis *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 2877-2880, (1999).
7. Alekshun, M. and Levy, S. Regulation of chromosomally mediated multiple antibiotic resistance the mar regulon. *Antimicrob. Agents chemother.* 41: 2067-2075, (1997).
8. Marchandin, H.; Jeanpierre, H.; Darbas, H. and Carriere, C. Production of a TEM-24 plasmid – mediated extended – spectrum B-lactamase by a clinical isolate *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Amtimicrob. Agents. Chemother.* 44: 213-216, (2000).

Genetic study of Multiple Antibiotic Resistance and Some Virulence factors of *Serratia marcescens* isolated from urinary Tract infections.

RIADH A. DELOOL

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

Baghdad-Iraq.

الخلاصة

تم التحري عن وجود بكتريا *Serratia marcescens* في 580 عينة ادرار وسطي لمرضى التهابات المجاري البولية، شخصت منها 27 حالة اصابة بهذه البكتريا وبنسبة 4.6%. اختبرت حساسية هذه العزلات تجاه 16 مضاد جرثومي مختلف واظهرت النتائج فعالية مضاد الـ ofloxacin ثم مضاد الـ Amikacin ثم مضاد Ciprofloxacin ضد هذه العزلات. وبالمقابل فقد اظهرت مضادات الـ Ampicillin، cephalixin، Amoxycillin فعالية ضعيفة ضد هذه العزلات. كذلك فقد اظهرت جميع هذه العزلات مقاومة متعددة للمضادات الحيوية. اظهرت 17 عزلة قابليتها على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز وبنسبة (62.9%) وكان لـ 5 عزلات القابلية على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) وبنسبة (18.5%)، اظهرت 16 عزلة (59.2%) القابلية على انتاج الهيمولاسين وكان لـ 18 عزلة (66.6%) القابلية على تلزير خلايا الدم الحمراء، وبالمقابل فقد اظهرت 19 عزلة (70.3%) القابلية على الالتصاق بالخلايا الطلائية الظهارية (UECs). اظهرت نتائج هذه الدراسة احتواء معظم هذه العزلات على اكثر من حزمة بلازميدية واحدة وكانت هناك اكثر من عزلة تمتلك بلازميدات كبيرة الحجم. اختبرت خمسة عزلات كانت مشتركة بامتلاكها لعوامل الضراوة اعلاه وهي تحمل اساساً المقاومة المتعددة للمضادات لدراسة انتقال المحددات الوراثية المشفرة لهذه العوامل باجراء تجارب الاقتران البكتيري، كان لثلاثة عزلات القابلية على نقل صفة انتاج انزيمات الـ ESBLs وكذلك فقد اظهرت النتائج انتقال صفة المقاومة المتعددة للمضادات في جميع العزلات هذه بينما لم تنجح اية عزلة في نقل صفة انتاج الهيمولاسين، وتلزير خلايا الدم الحمراء وقابلية الالتصاق بالخلايا الطلائية الظهارية.

ABSTRACT

This study was aimed to investigate the occurrence of *Serratia marcescens* that causes Urinary tract infections (U. T. Is) in 580 samples of mid-stream urine collected from patients complaining from symptoms of U. T. Is. Results indicated that 4.6% of samples were *S. marcescens* positive. Our results showed that *S. marcescens* was important pathogen in U. T. Is. Antibiotic susceptibility patterns revealed that all isolates were sensitive to Ofloxacin, and 3.7% (1 isolate) resistant to Amikacin, 7.4% (2 isolate) to ciprofloxacin. However, 85%, 88% and 92.5% were resistant to Amoxycillin, Cephalexin and Ampicillin respectively. All the isolates have shown multiple resistance for Antibiotics. Results also showed that 62.9% (17 isolate) had the ability to produce β -Lactamases enzymes, whereas 5 isolates (18.5%) had the ability to produce Extended spectrum β -Lactamases (ESBLs), 16 isolates were able to produce the Hemolysin, 18 isolates were able to agglutinate with RBCs, while 19 isolates had the ability to adhere with UECs. The plasmid content for those isolates was studied, most of isolates contained more than one plasmid band. Five isolates were found to produce Hemolysin, ESBLs, and other Virulence factors (Haemagglutination activity & adhere with UECs), These isolates were selected for study of the transfer of the genetic determinants for these virulence factors. Three isolates were found to transfer ESBLs genes. Resistance pattern was shown in all the Transconjugant isolates. While, none of isolates was able to transfer the genes responsible for hemolysin and Haemagglutination activity.

INTRODUCTION

Urinary tract infections, The most common type of hospital-acquired infections, account for some 40% of nosocomial infections. These infections are among the most common of all bacterial infections (1).

In both adults and children urinary system infections are mostly caused by Gram -ve and rarely among Gram +ve bacteria. Of Gram -ve bacteria the most frequent cause of infections are *E coli*, *Klebsiella spp.*, *proteus mirabilis*, *Serratia spp.* etc (2).

Serratia SPP. is associated with especially severe hospital-acquired infections, including Urinary tract infections, pneumonia and wound infections (3). Although numerous species of the genus *Serratia* have been described, *S. marcescens* is one of most commonly encountered in clinical specimens. Several others, including *S. liquefaciens* and *S. odorifera* (4). Almost any bacterium can cause U. T. I, but some bacterial strains are particularly likely to do so: they possess a number of virulence factors. chief amongst these are fimbrial adhesions, that allow them to adhere to Uroepithelium, The quantity of K-antigen, the production of haemolysin, and the ability to resist serum killing (5).

The haemolysin produced by bacteria influence the virulence of bacteria in the mouse, this was shown by (6). Bacterial fimbriae was implicated as the structure responsible for colonization and invasion, fimbria-mediated adherence with uroepithelium cells and kidney epithelium may be essential for virulence of bacteria (6). Different types of fimbriae have different adhesive properties, The commonest kind, type-1, which occur in *E coli*, *klebsiella* and *Serratia* (4).

Several studies have demonstrated a high prevalence of bacterial resistance to Commonly used antimicrobial agents in tropical countries prevalent genus belonging to *Enterobacteriaceae* with multiple resistance are *Klebsiella*, *Enterobacter*, *E coli*, *citrobacter* and *Serratia*, the out break of such resistant strains has become critical, especially in hospitals and special departments, where they can be a source of nosocomial infections (7).

Serratia spp. is usually resistant to many antibiotics and are particularly associated with recurrent urinary tract infections in hospital patients (8), and these bacteria are manifesting increased resistance to aminoglycosids, β -lactam agents, and the new fluoroquinolones (9). Members of the *Enterobacteriaceae* commonly cause hospital-acquired outbreaks of infections, these become more serious when the bacteria are resistant to antibiotics particularly third generation cephalosporins, quinolones and aminoglycosides (10). The factors that contribute to the development of antibiotic resistance among bacterial population include antibiotic pressure resulting from indiscriminate use of antibiotics (11).

Genetic investigations during outbreaks of bacterial enteric disease have demonstrated transferable antimicrobial resistance, and the spread of potentially epidemic plasmids both within and between bacterial species (12). Descriptions of intrinsic mechanisms that confer multidrug resistance have begun to emerge, the first of these was chromosomally encoded multiple antibiotic resistance (*mar*), these exhibited resistance to tetracycline, penicillins, cephalosporins, nalidixic acid and Rifampin, later, the resistance phenotype was extended to include fluoroquinolones (13).

It has been shown that plasmid or R-factor epidemics occur when a specific plasmid is transmitted from one genus of bacteria to another (14-15).

The ability of Gram -ve rods to produce β -lactamases is a major problem in the treatment of infections caused by these organisms (16). Extended-spectrum β -Lactamases (ESBLs) are enzymes that confer resistance to cefotaxime, ceftazidime and other broad spectrum cephalosporines and to monobactams such as aztreonam (17). They appear to arise from genes for common plasmids mediated SHV-1, and TEM -2 β -Lactamases by mutations that alter the amino acid configuration around the active site of these enzymes so as to expand their spectrum of activity (18). In addition to plasmid mediated β -Lactamase resistance, most members of *Enterobacteriaceae* possess chromosomal AmpC β -Lactamase (19).

The object of this study was to investigate the occurrence of *Serratia marcescens* in U. T. I. patients and to determine the sensitivity to a wide range of antibiotics, and the ability to produce some virulence factors (Hemolysin, ESBLs, Haemagglutination activity, adhere with UECs), and also to provide information about plasmid DNA-content for all the isolates, and lastly the transfer of genetic determinants of some virulence factors.

MATERIAL & METHODS

Clinical specimens:- Urine samples from 580 patients were collected from four hospitals in Baghdad and a total number of 27 clinical isolates were identified at the hospitals by classical microbiological methods and using API-20E system according to (9).

Antibiotic susceptibility test:- was performed against 16 different antibiotics discs according to (20).

The following antimicrobial agents were used:- cefotaxime (CTX 30 μ g), cefuroxime (CXM 30 μ g), cephalexin (KF 30 μ g), Ampicillin (AMP 10 μ g), Amoxicillin (Amx 10 μ g), piperacillin (PRL 100 μ g), Ciprofloxacin (CF 30 μ g), Nalidixic acid (NA 30 μ g), carbenicillin (CAR 100 μ g), ceftriaxone (Cro 30 μ g) (Ofloxacin ofx 10 μ g), Co-trimoxazole (SXT 25 μ g), Trimethoprim (W1.25 μ g), Gentamicin (CN 30 μ g), streptomycin (S 10 μ g) and Amikacin (AK 30 μ g).

- β - Lactamase detection test:- was conducted to (21), by using a capillary tube method.
- Determination of ESBLs: all isolates were screened by clavulanate double-disk diffusion test according to (22).
- Hemolysin production:- Blood agar method was used to detection of hemolysin production.
- Haemagglutination activity:- This test was performed by slide agglutination method and then it was observed microscopically (23).
- Ability to adhere with uro-epithelial cells (UECs): was conducted to (24) by using human UECs.
- plasmid isolation:- Boilling method was used according to (25).
- Bacterial conjugation:- was conducted to (26) by using a standard strain of *E coli* MM 294 as a recipient.

RESULTS AND DISCUSSION

Out of 580 urine samples, 27 isolates (4.6%) responsible for urinary tract infections were due to *Serratia marcescens*. similar result was obtained by (27). The frequency of isolation of different pathogenes varies, of course, according to the service on which the patient. hospitalized and the site of infection (1).

Results of Antibiotic sensitivity test showed that all local isolates of *S. marcescens* were sensitive to ofloxacin, of the isolates obtained 3.7% (1 isolate) was resistant to Amikacin, 7.4% (2 isolate) to ciprofloxacin, and 18.5% (5 isolates) to cefotaxime.

However, 85%, 88% and 92.5% were resistant to Amoxycillin, cephalixin and Ampicillin respectively (table-1).

The resistance to old β -lactams was due to the fact that they were highly sensitive to the hydrolyzing enzymes. the first enzymatic mechanism of resistance to become significant in the clinical setting was the production of cephalosporinase in *Enterobacter* and *Serratia* (28,29).

Table -1-: percentage of Resistant isolates of *S. marcescens* to Antibiotics.

| Antib. | R% | Antib | R% | Antib. | R% | Antib. | R% | Antib. | R% |
|--------|-----|-------|------|--------|------|--------|------|--------|------|
| ofx | 0 | CTX | 18.5 | SXT | 33.3 | CRO | 44.4 | AMX | 85 |
| AK | 3.7 | S | 22.2 | NA | 37.8 | CXM | 48 | KP | 88 |
| CF | 7.4 | CN | 26 | PRL | 40.7 | CAR | 55.5 | AMP | 92.5 |
| | | | | | | W | 70.3 | | |

Fluoroguinolones have excellent penetration into the genitourinary tract and have been shown to be highly active against Gram -ve bacilli, including

penicillinase-producing strains (30), this study characterized only 7.4% of isolates with reduced susceptibility to ciprofloxacin; continued moderate use of ciprofloxacin will lead to increasing levels of ciprofloxacin-resistant gram -ve bacilli (31).

Resistance to aminoglycoside was found to be low, especially to Amikacin which had good ability to inhibit growth of this pathogen. some studies were investigated that aminoglycoside transferase were found to be the cause of resistance enzymes were found in *S. marcescens* at rates (98%) (32) strains of *S. marc.* showed resistance to aminoglycosides because of impermeability and may cause outbreaks of infections in hospital. most of the acute increase in aminoglycoside resistance have been shown to be due to the spread of inactivation enzymes produced by plasmids, and the AAC (6) I gene is the most common in *S. marcescens* (33).

A serious situation in our results indicated that the third generation of cephalosporines showed low activity on these isolates as stated earlier by (34) who mentioned a high levels of resistance through out his study in *Serratia* species.

This resistance is oftenly due to the production of plasmid mediated β -lactamases that are able to inactivate extended spectrum cephalosporins.

It's obvious from fig-1 that there was a multiple resistance to Antibiotics in all isolates. similar result was obtained by (35) who reported the presence of multiple resistance among *S. marcescens* isolates, and some isolates showing resistance to β -lactam were found to resist other β groups of antibiotics such as aminoglycosides, Quinolones.

The emergence of multi-resistance has probably been determined by the widespread use of antibiotics for prophylactic and therapeutic purposes in the nosocomial environment (36).

Hare *etal* (35), reported that the multiple antibiotic resistant *S. marcescens* are dangerous nosocomial pathogens, this situation is aggravated by the fact that these strains are naturally resistant to many antibiotics, and they are also rapidly acquired resistance to most recently introduced antibiotics from other member of *Enterobacteriaceae*.

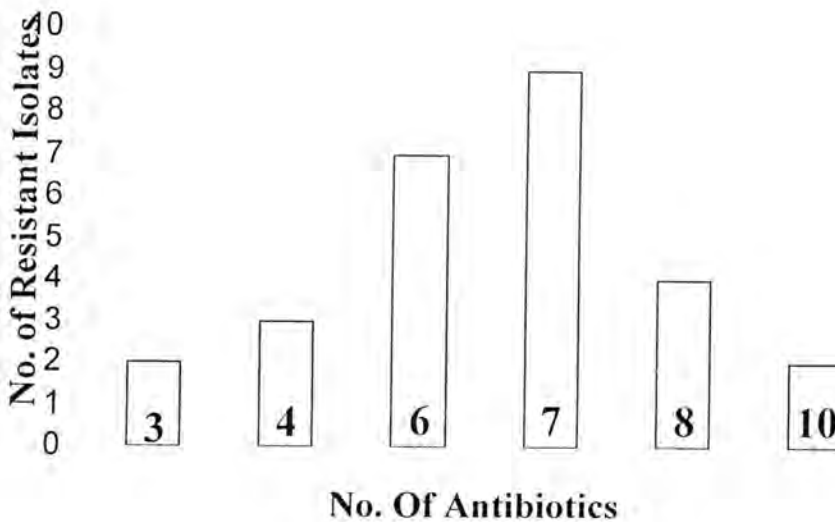


Fig -1- : Distribution of *S. marcescens* isolates to No. of Antibiotics.

It is obvious from table -2- that there were 17 (62.9%) isolates exhibited the ability to produce β -lactamases, 5 (18.5 %) isolates were found to be ESBLs producers, 16 (59.2 %) isolates were able to produce the Hemolysin, 18(66.6 %) isolates were able to agglutinate with RBCs, while 19 (70.3 %) isolates had the ability to adhere with UECs.

Table -2-: some virulence factors produced by *S. marcescens* isolates

| Charecters | Isolates | |
|-------------------------------|----------|------|
| | No. | % |
| β - Lactamases | 17 | 62.9 |
| Esbls | 5 | 18.5 |
| Hemolysin | 16 | 59.2 |
| Haemagglutination Activity | 18 | 66.6 |
| Adhere To UEcs | 19 | 70.3 |

Althoug most of the isolates were resistant to common β - lactams but they were also resistant to extended spectrum β -lactams, a problem could mainly be attributed to β -lactamase production. Mutation in the genes of β -lactamases such as TEM and SHV resulted in ESBLs production; may cause resistance to extended spectrum cephalosporines, in addition to the older β -lactams (17).

In addition to this findings, table -2- revealed that the isolates which possessed agglutination activity also possessed ability to adhere with UECs, while the isolates which possess the ability to adhere with UECs, and with out agglutinat with RBCs may be because they have another adherence factors (not Fimbriae) or because they have a non-agglutinating fimbriae.

The plasmid content of the *S. marcescence* isolates was shown in Fig -2-, most of these isolates harboured plasmids of different sizes. However isolate number 22 harboured a single large plasmid bands. Whereas isolates 3 and 20 were found to have two plasmid bands. Isolate 17 harboured three plasmid bands, and isolates 8,19 and 10 had one plasmid bands.

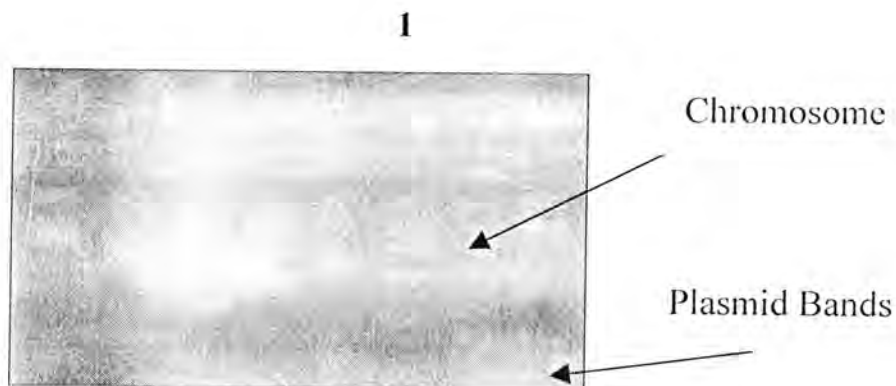


Fig -2- : Plasmid bands of selected isolates of *S. marce scece*.

Results of mating experiments revealed that none of these isolates was able to transfer the genes for hemolysin, Hamagglutination to reciepiant cells, the results also showed that three isolates were able to transfer ESBLs & multiple resistance genes. These genes were probably plasmid mediated in those isolates, the frequencies of conjugation, rannged from 1.7×10^{-6} to

3.9×10^{-4} (table-3). The β -Lactamases enzymes are usually encoded by large (60-110kb) self-transmissible plasmids found mainly in *klebsiella*, *E coli* and *S. marcescens* (37). ESBLs genes typically reside on large, conjugative plasmids that carry multiple resistance genes (38).

Table -3- : Frequency of conjugation of selected isolates.

| Isolates No. | Freg Of Conjug. |
|--------------|----------------------|
| 24 | 1.7×10^{-6} |
| 7 | 2×10^{-5} |
| 13 | 6×10^{-5} |
| 20 | 3×10^{-4} |
| 2 | 3.9×10^{-4} |

REFERENCES

- 1- Baron, E. J. and Tenover, S. M. Baily & Scott's Diagnostic Microbiology. (10th ed. the C. V. mosby company, U. S. A. (1998).
- 2- Lazarevic, G.; Petresda, D. and Pavlovic, S. Antibiotic sensitivity of Bacteria isolated from the urine of children with U. T. I. from 1986 to 1995 srp. Arh-celok-lek. 126:423-9. (1998).

- 3- Yanneili, B; Schoch, P. E. and Cunha, B. A. S. marcescence. clin. micrb. Newsletter 9: 157. (1987).
- 4- Greenwood, D; Slack, R. C. and Peutherer, J. F. Medical Microbiology. Fifteenth ed. churchill livingstone. (1998).
- 5- Brooks, F. F., Butel, J. S. and Morse, A. S. Jawtz, melnick & Adelberg's Medical Microbiology, (12st)ed. Appetton & lange - Beirut, lebanon. (1998).
- 6- Liaw, S. J.; Law, H. C. *etal.* Inhibition of Virulence factor expression & swarming in *P. mirabilis* by PNPG. J. Med Microb. 49: 725-731. (2000).
- 7- Neuwirth, C.; Sieber, E. *etal.* Outbreak of TEM -24 producing Enterobacter aerogenes in an intensive care unit. J. clin. microb 34: 76-9. (1996).
- 8- Shanson, D. C. Microbiology in Clinical Practice. (first) ed john wright. london. (1982).
- 9- Baron, E. J. and Fingold, S. D. Baily & Scott's Diagnostic Microbiology (9th) ed. the C. V. mosby company, U. S. A. (1994).
- 10- Weller, T. M; Mackenzie, FM. & Forbes, K. j. Molecular epidemiology of a large outbreak of multiresistance. J. Med. Microb. 46: 922-926. (1997).
- 11- Neu, H. the emergence of bacterial resistance and its influence on empiric therapy. Reviews of infections. Dis. 5: 9-20. (1983).
- 12- Shears, P.; Suliman, G. and Hart, C. A. Restriction endonuclease characterization of resistant plasmids in Enterobacteriaceae. Epid. Inf. 103: 487-496. (1989).

- 13- Alekshan, M. and levey, S. Regulation of chromosomally mediated multiple Antibiotic resistance. *Antimicrob. Agent. chemoth.* 41: 2067-2075. (1997).
- 14- Freifelder, D. *Molecular Biology.* (2nd) ed. yones & Barttett. Boston. (1987).
- 15- Baron, E. J. and Finegold, S. M. Baily & scotts *Diagnostic Microbiology.* (8th) ed. C. V. mosby company. (1990).
- 16- Schumacher, H.; Bir, M. *etal.* Screening method for B-Lactamase substrate profiles. *APMIS.* 100: 479-489. (1992).
- 17- Jacoby, G. A & Sutton, L. properties of plasmids responsible for production of ESBLs. *Antimicrob. Agent chemoth.* 35: 164-169. (1991)
- 18- Pyane, D. J.; Marriott, M. & Amey, S. Mutants of the TEM-1 B-lactamase. Conferring resistance to ceftazidime. *J. Antim.* 24: 103-110. (1989).
- 19- Huber, TW. & Thomas, JS. Detection of resistance due to inducible B-Lactamase in *E. cloacae*. *J. Clin. Microb.* 32: 481-6. (1994).
- 20- Cruichshank, R.; duguid, J. P. *etal.* the practical of Medical Microbiology (12th) ed. churchill livingstone. (1975).
- 21- Koneman, E. W.; Allen, S. D. and Jaunda, W. M. *Color Plates textbook of Diagnostic Microbiology.* (4th) ed. J. B. loppincott company. (1992)
- 22- Jarlier, V.; Bicolos, M. and Philippon, A. ESBLs conferring Trnsferable resistance to newr B-Lactam agents. *Rev. Infect-Dis.* 10: 867-78. (1988)
- 23- Iwahi, T.; Abe, R.; Nako, M. & Imado, A. Role of type -1- Fimbriae in the pathogenesis o *U. T. I. infec.* *Immune.* 39: 1307-1315. (1983).

- 24- Hagberg, L.; Jodal, U. & Lindberg, U. Adhesion Haemagglutination and virulence of E coli causing U. T. Is. *infec & Immun.* 31: 564-570. (1981)
- 25- Holmes, D. S. and Quigley, M. Arapid boiling method for the preparation of bacterial plasmids. *Analyt. Viochem.* 144: 193-97. (1981).
- 26- O' connell, M. Genetic transfer in prokaryotes transformation, transduction & conjugation. *Advanced molecular Genetics by puhler, A. & Timms, K.; Springer velug. Berlin.* (1984).
- 27- Kumamoto, Y.; Tsukamoto, T. *etal.* comparative study on activities of Antimicrobial agent aganst causative organisms. *jpn. J. Antib* 52: 93-129. (1999).
- 28- Gutmann, L; kitzis, M. D. &Acar, J. F. Evolution of Enzymatic mechanisms of resistance among B-Lactam Antibiotics. *J. intern. med Res.* 18: 37-47. (1990).
- 29- Obi, cl; Traupiwa, A. and Simango, C. Scope of urinary pathogenes isolates in the pubile health bacteriology laboratory Harare. *cent. Afr. J. med* 42: 244-9. (1996).
- 30- Harnett, N.; Brean, S. *etal.* Analysis of Neisseria gonorrhoeae with decreased susceptibility to quinolones. *J. Med. Microb.* 46: 383-390. (1997).
- 31- Lee, YL.; Gasario, T. *etal.* Low-Level colonization and infection with ciprofloxacin-vesistance Gram-ve bacilli. *Am. J. infect. control.* 26: 552-7. (1998).
- 32- Naber, K. G.; Grimm, H., *etal.* Resistance to Aminoglycosides the situation in the Federal Republic of Germany. *J. Inter. Mes. Res.* 18: 6D-26D. (1990).

- 33- Price, KE; kresel, PA. *etal.* Epidemiological studies of aminoglycoside resistance in the U. S. A. J. Antimic. chemoth. 8: 89-105. (1981).
- 34- Lode, H. Development of clinically important resistance to Quinolones & other Antibiotic groups. J. interm. med Res. 18: 27-36D. (1990).
- 35- Hara, O.; Chen, J. *etal.* Appearance of fosfomycin resistant Rahnella eguatis. Micro. 95: 109-15. (1998)
- 36- Marrazzo, M.; Agodi, A. *etal.* Molecular typing of klebsiella isolate from a neonatal care unit microbiologica. 19: 293-300. (1996).
- 37- Prinkaris, E.; Tzelepi, E. *etal.* characterization of anovel SHV- B-Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin. Microbiol. Rev. 8: 557-584. (1996).

Synthesis of Novel Symmetrical 1,1-bis(2'-amino-1',3',4'-thiadiazole-5'-yl) Cyclopropane and Related Compounds

N.REZKI, REDHA H.I. AL-BAYATI,
 ABDUL-HUSEIN K. SHARBA,
 Dept. of Chem. College of Science,
 Al-Mustansiriya Univ.
 Baghdad, Iraq

الخلاصة

تم الحصول على 1,1 - ثنائي (2' - امينو-1', 3', 4' - ثياديازول-5' - يل) سايكلو بروريان (2)، من خلال التفاعل بين حامض سايكلوبروبان ثنائي الكربوكسيل والثايوسيميكاربازيد بوجود (POCl₃). تم تحضير قواعد شيف (3-4) وقواعد ماناخ (6-8) من خلال تفاعل المركب (2) مع بعض الألكهيدات و الأمينات الثانوية. وقد تم تشخيص المركبات المحضرة بأطياف الأشعة فوق البنفسجية، تحت الحمراء و الرنين النووي المغناطيسي وتحليل عناصرها.

ABSTRACT

A symmetrically 1,1-bis (2'-amino-1',3',4'- thiadiazole-5'-yl) cyclopropane (2) has been prepared by the reaction of 1,1-cyclopropane dicarboxylic acid (1) with thiosemicarbazide in the presence of phosphorus oxychloride. The reaction of (2) with structure of the synthesized compounds has been established by the elemental analysis and spectral data.

INTRODUCTION

Thiadiazole is a (five membered unsaturated heterocycles)⁽¹⁾ can be derived formally from thiophene by the replacement of two of the methine (=CH|) group with two nitrogen atom. The pharmaceutical interest of these compound, started after the discovery of sulfa drugs⁽²⁾.

These compounds are of considerable interest as antibacterial⁽³⁾, antiviral⁽⁴⁾ and insecticidal⁽⁵⁾ agents.

Experimental Section

Melting point was recorded on Gallen-Kamp hot stage and is not corrected. IR spectra were recorded in KBr disc on Pye-Unicam apparatus SP3-100 spectrophotometer (ν_{\max} in cm^{-1}). U.V spectra were recorded on Hitachi -2000 spectrophotometer using absolute ethanol as solvent $^1\text{H-NMR}$ on Hitachi-Perkian-Elmer 60-MHz spectrophotometer using (d_6 -DMSO) as solvent and tetramethyl silane as external standard. Element analysis of compounds was carried out on analyzer type I106 Carlo-Erba.

Preparation of 1,1-cyclopropane dicarboxylic acid⁽⁶⁾(1)

To 100ml of aqueous sodium hydroxide (50%) mechanically stirred was added at 25°C triethyl benzyl ammonium chloride (0.05 mole). To this vigorously stirred suspension was added a mixture of diethyl malonate (0.05 mole) and 1,2-dibromo ethane (0.075 mole) all at once. The reaction mixture was vigorously stirred for two hours. After, the mixture was transferred by erlen Meyer flask by rinsing the flask with three portions of water (7.5ml.each) the mixture was cooled with an ice bath to 15°C and carefully acidified by dropwise addition of concentrated hydrochloric acid^(*). The aqueous layer was extracted three time of diethyl ether (90ml each). The ether layers were pooled together and anhydrous dried by (MgSO_4), and decolorized with activated charcoal. The solvent was removed under vacuum, semi-solid residue was obtained and triturated with dried benzene (10ml) and filtered. The product was collected as white crystals.

(Mp: 131-133°C).

*The temperature of the flask was maintained between 15-25°C during the acidification.

Preparation of 1,1 Bis (2'-amino- 1',3',4'-thiadiazol-5'-yl) cyclopropane⁽⁷⁾(2)

A mixture of acid (1) (0.01mole, 1.3g), thiosemicarbazide (0.02 mole, 1.82g) and the phosphorus oxychloride (5ml) was refluxed gently for 30 min. After cooling water (10ml) was added. The mixture was refluxed for four hours and filtered. The solution was neutralized with potassium hydroxide. The precipitate was filtered and crystallized from ethanol. Table (1-1).

Preparation of 1,1-bis[2'-(N-4-substituted benzylidene)-1',3',4'-thiadiazole-5'-yl]cyclopropane⁽⁸⁾ (3-4)

To a stirred solution of compound (2) (0.1 mole) in absolute ethanol (30ml) was added aldehyde (0.1 mole). The mixture was refluxed for three hours and cooled. The precipitate was filtered and crystallized from methanol. Table (1-1).

Preparation 1,1-bis[3'-amino-(2-propynyl)-1',3',4'-thiadiazole-5'-yl]cyclopropane⁽⁹⁾(5)

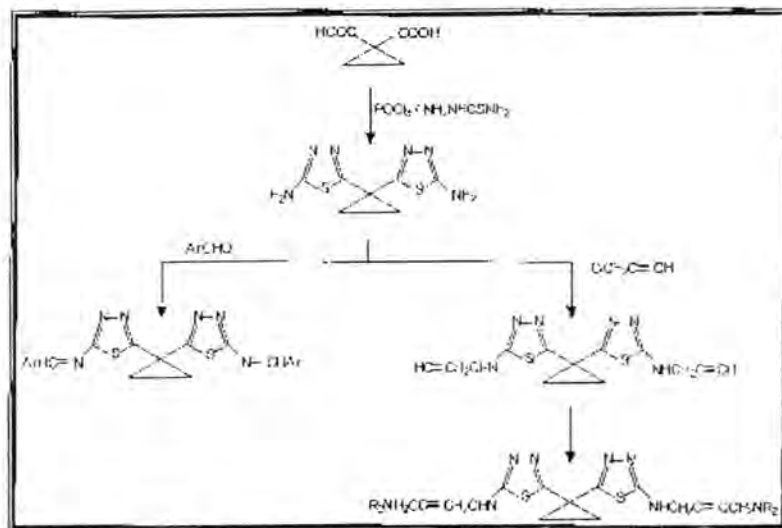
To a stirring solution of compound (2) (0.01 mole) and triethyl amine (0.01 mole) in ethanol (25ml), propargyl chloride (0.02 mole) was added dropwise. The mixture was refluxed for two hours on water. The excess of ethanol was removed under vacuum. The product was collected and crystallized from ethanol-water. Table (1-2).

Preparation of 1,1-bis[2'-amino-(4-N-substituted-2-butynyl)-1'.3'.4'-thiadiazol-5'-yl]cyclopropane⁽¹⁰⁾(6-8)

To a stirring solution of compound (5) (0.0025 mole) and cuprous chloride (CuCl) (0.05gr) in dioxane (25ml) which was heated for few minutes, paraformaldehyde (5mMole) and a secondary amine (0.005 mole) were added. The mixture was refluxed for two hours at 90^oc. After one of them cooling, the solution was filtered and poured onto ice water (100ml). The precipitate was filtered and crystallized from chloroform. Table (1-2).

RESULTS AND DISCUSSION

For the synthesis of the target compounds, the reaction sequences outlined in scheme (1).



Scheme 1

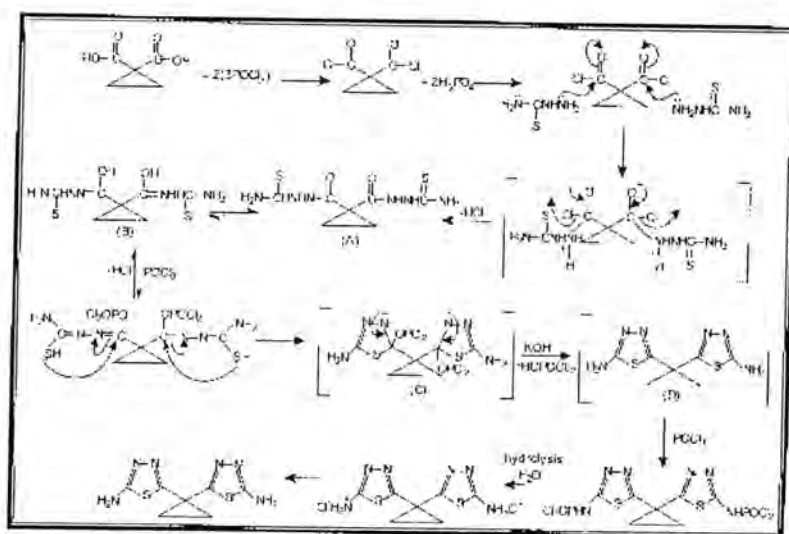
The convenient starting material for the synthesis of the title compounds was 1,1-cyclopropane dicarboxylic acid, which in turn was prepared from diethyl malonate and 1,2-dibromo ethane. The infrared spectra of compound (1) clearly shows the appearance of hydroxyl group at ($2600-3500\text{cm}^{-1}$) and carbonyl group at (1720cm^{-1}).

This compound was reacted with thiosemicarbazide in the presence of phosphorus oxychloride to obtain the desired 1,1-bis(2'-amino-1',3',4'-thiadiazol-5'-yl) cyclopropane. The success of reaction was confirmed by the IR spectra (2) which shows the disappearance of carbonyl (C=O) and hydroxyl (O-H) groups and appearance of an absorption band at (1605cm^{-1}) due to (C=N) stretching vibration⁽¹¹⁾. Nuclear magnetic resonance spectra of this compound has shown the following signals:

* A singlet at δ (3.29)ppm due to amino protons⁽¹²⁾.

* A multiplet at δ (2.08-2.51)ppm due to cyclopropane ring protons⁽¹³⁾.

The mechanism of the formation of 1,1bis(2'-amino-1',3',4'-thiadiazole-5'-yl) cyclopropane (2) may be visualized as follow:



Scheme 2

The synthesized amino thiadiazole was then treated with equimolar amount of appropriate aromatic aldehydes in the presence of ethanol as solvent to give a new Schiff bases (3-4). The reaction is straight forward and proceeds in high yield. The IR spectra of compound (3) shows the characteristic bands at (3025 cm^{-1}) caused by (C^1H) aromatic⁽¹¹⁾.

The C.H.N analysis confirmed the structure of this compound.

The physical properties of compounds (2-4) are listed in table (1-1), and their spectral data are listed in table (2-1).

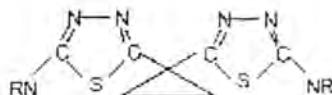
On the other hand the condensation of compounds (2) with propargyl chloride afforded alkynyl thiadiazole derivative (5) which is the important key intermediate for the synthesis of Mannich bases (6-8). The infrared spectra of compound (5) shows the disappearance of (NH_2) stretching band and appearance of the ($\text{C}\equiv\text{C}$) stretching band at (2120 cm^{-1}) and (C^1H) stretching band at (3240 cm^{-1}) which is a good indication for success of the reaction⁽¹⁵⁾.

The importance of Mannich bases has been the subject to so much investigations. For this purpose, the compound (5) has been treated under mannich reaction conditions with different secondary amines, paraformaldehyde and a catalytic amount of cuprous chloride in refluxing dioxane. The IR spectra of compound (6) confirmed the formation of new Mannich base derivatives which clearly shows the disappearance of ($\text{C}\equiv\text{C}$)

and (ν_{C-H}) bands and appearance of an absorption band at (1250 cm^{-1}) due to (ν_{C-N}) stretching vibration⁽¹⁶⁾.

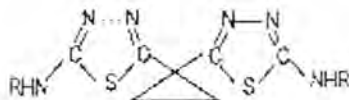
The physical properties of compounds (5-8) are listed in table (1-2) and their spectral data are listed in table (2-2).

Table (1-1) : Physical properties of compounds (2-4)



| Compound Number | R | Mp(°C) | Yield (%) | Purification Solvent | Molecular formula |
|-----------------|-----------------|---------|-----------|----------------------|--|
| 2 | -H ₂ | 214-217 | 38 | EtOH | C ₇ H ₈ N ₆ S ₂ |
| 3 | | 201-204 | 45 | Methanol | C ₂₁ H ₁₄ N ₆ S ₂ Cl |
| 4 | | 199-201 | 40 | Methanol | C ₂₁ H ₁₄ N ₈ S ₂ O ₂ |

Table (1-2): Physical properties of compound (5-8)



| Compound Number | R | Mp(°C) | Yield (%) | Purification Solvent | Molecular formula |
|-----------------|-----------------------|---------|-----------|-----------------------|--|
| 5 | -CH ₂ C≡CH | 243-246 | 60 | EtOH+H ₂ O | C ₁₃ H ₁₂ N ₆ S ₂ |
| 6 | | 237-238 | 54 | Chloroform | C ₂₅ H ₃₄ N ₈ S ₂ |
| 7 | | 233-235 | 50 | Chloroform | C ₂₅ H ₃₂ N ₈ S ₂ O ₂ |
| 8 | | 230-232 | 48 | Chloroform | C ₃₁ H ₄₀ N ₈ S ₂ |

Table (2-1) : Spectral data for compounds (2-4)

| Compound No. | U.V (EtOH) λ_{\max} (nm) | Characteristic bands of IR spectra (CM-1, KBr Disc) | | | | |
|--------------|-------------------------------------|---|------|-----------------|------|---|
| | | | | | | |
| 2 | 290.5 | 1605 | - | 2945 | - | (NH ₂)3165s 3280as (C-S-C) 660 |
| 3 | 293.5 | 1670 | 1530 | 2940s 2980as | 3020 | (C-Cl) 830 |
| 4 | 263 | 1650 | 1600 | 2890s 2920as | 3025 | (C-NO ₂) 1345s1520as |

Table (2-2) : Spectral data for compounds (5-8)

| Compound No. | UV (EtOH) λ_{\max} (nm) | Characteristic bands of IR spectra (CM ⁻¹ , KBr disc) | | | | | |
|--------------|------------------------------------|--|---------------|-------------|-------------|-------------|--------------------------|
| | | ν (C=N) | ν (C-H)al | ν (N-H) | ν (C=C) | ν (C-H) | ν others |
| 5 | 260 | 1640 | 2980 | 3130 | 2120 | 3240 | (C-S-C)760 (C-N) 1180 |
| 6 | 300 | 1600 | 2940 | 3250 | 2125 | - | (C-S-C)650 (C-N)1250 |
| 7 | 345 | 1610 | 2960 | 3250 | - | - | (C-N)1180 |
| 8 | 298.5 | 1620 | 2910 | 3190 | - | - | (C-N)1220 |

Table (2-3): Elemental analysis of some synthesized compounds

| Compound No. | Cal% (Found%) | | |
|--------------|---------------|------|-------|
| | C% | H% | N% |
| 2 | 35 | 3.33 | 35.00 |
| | 34.88 | 3.50 | 34.79 |
| 3 | 49.80 | 2.76 | 22.13 |
| | 49.49 | 3.00 | 21.89 |
| 4 | 52.06 | 2.82 | 17.35 |
| | 51.66 | 3.02 | 16.99 |
| 6 | 58.82 | 6.66 | 21.96 |
| | 58.45 | 6.82 | 21.88 |

REFERENCES

1. C. Ainswrth, *J. Am. Chem. Soc.*, 87, 5800, (1965).
2. H. Emilson, Synthesis of 3,4,5-Triamino-4H-1,2,4-triazole (Guanazine) and its 4-Arylideneamino Derivatives, *J. Heterocyclic. Chem.*, 26, 1077-1081, (1989).
3. M.A. Ghabboum, N.F., Eweiss, and A.A. Bahajaj, Antimicrobial Activity of Some Thiol Containing Heterocycles, *Chem. Abstr.*, 99, 136763c, (1983).
4. W. Horst, T. Marion, and T. Emil, *Chem. Abstr.*, 92, 41963j, (1980).
5. G. Berkelhammer G. Asto. *Chem. Abstr.*, 86, 106597R, (1977).
6. M.R. Czurny and M.F. Semmel. Hack, "Organic Synthesis", 60, 66, (1975).
7. A. Shafiee, E.P. Naum. M.A. Foroumadi, and M. Shekan, Synthesis of Substituted-Oxadiazolo-1,3,4-thiadiazoles, 1,3,4-Oxadiazoles, and 1,2,4-Triazoles, *J. Heterocycloc Chem.*, 32, 1235-1239, (1995).
8. S. Bahadu, A.K. Goel, and R.S. Narva, *J. Ind. Chem. Soc.*, LIII, 590-592, (1976).
9. J.M. Kane, M.A. Staeger, C.R. Dalton, F.P. Miller, M.W. Dudley, A.M.L. Ogden, J.H. Kehne, T.C.M. Closkey, Y. Senyah, P.A. Chmidewski. And J.A. Miller, 5-Aryl-3-(alktlthio)-4H-1,2,4-triazole as Selective Antigonist of Stychine Induced Convulsions and Potential Antispastic Agents, *J. Med. Chem.*, 37(1), 125, (1994).
10. A.O. Abdel-Baki, M.Sc., thesis, Al-Mustansiriyah-University, (1996).
11. G. Rama, Rao, K. Mogilalah, and B. Screenivasulu, Synthesis and Antimicrobial Activity of 1',2',4'-triazoleyl/1',3',4'-thiadiazoleyl/1',3',4'-oxadiazoly-1,8 naphthyridines and Related Compounds, *Ind. J. Chem.*, 35 (B), 339-344.(1996).
12. B.N. Goswami, J.S.C. Katakya, and N. Bar, Synthesis and Biological Activity of Bridgehead Nitrogen Heterocycles, *J. Heterocyclic. Chem.*, 23, 1439-1442, (1986).
13. V.M. Parikh, "Absorption Spectroscopy of Organic Molecules", Translated by A. H. Khuteir, J.M.A. Al-Rawi, M.A. Al-Iraqi, Mosul-University, (1985).
14. M.M. Dutta, B.N. Gosmawi, and J.C.S. katakya, Studies on Biologically Active Heterocycles. Synthesis and Antifungal Activity of Some New Aroyl Hydrazone and 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazoles, *J. Heterocyclic. Chem.* 23, 793-795, (1986).
15. Williams, and Iam. Fleming, "Sprectroscopic Methods in organic Chemsitry" 2nd. Ed., Mc. Graw, Book. Co., (U.K), Ltd., (1973).

16. R. M. Silverstein, G.C. Bassler, and T.C. Morrill, "Spectrometric Identification of Organic Compounds" 4th. Ed., John Wiley, and Sons, N.Y., (1981).

Antimicrobial Resistance Among Some Diarrhoeal Pathogens Isolated in Baghdad City.

Waleed S. Hussain

Dept. of Microbiology, College of Science-Al-Mustansiriya University, Baghdad

الخلاصة

تم دراسة 1294 نموذج للخروج من مرضى يعانون من مرض الاسهال في مدينة بغداد للتحري عن تواجد بعض المسببات الجرثومية. وجد ان بكتريا جنس *Salmonella* كانت من اكثر المسببات عزلا في هذه النماذج تليها بكتريا *Shigella dysenteriae*. لم يتم العثور على بكتريا *Vibrio spp.* في هذه الدراسة. من مجموع 97 عزلة لبكتريا السالمونيلا كانت (83) منها تعود الى *S. Typhimurium* و 11 عزلة الى *S. Typhi* وعزلتين الى *S. montivideo* في حين وجد ان عزلة واحدة تعود الى *S. paratyphi-B*. تم اختبار حساسية هذه العزلات المرضية جميعها لعشرة مضادات حيوية مختلفة وهي (AMX, Cn, Te, Sxt, Ra, Ctx, Gm, Am, Cf, C) وجود ان عزلات *S.typhimurium* كانت حساسة لمضاد السيفوتاكسيم بنسبة 69.9% ولمضاد الكلورامفينيكول بنسبة 66.3% في حين اظهرت هذه العزلات مقاومة لبقية المضادات وكانت *S. typhi* حساسة لمضادات الريفامبيسين 81.8% والسيفوتاكسيم 72.7% والكلورامفينيكول 63.6% والسيفالكسين والسيفالوثين 54.5% وكانت خمسة من عزلات بكتريا الشغيلة حساسة للتراسايكلين والسيتوتاكسيم. ان ظهور سلالات من البكتريا المقاومة للمضادات الحيوية في مستشفياتنا المحلية يعزى الى الاستخدام الواسع والعشوائي لهذه المضادات.

ABSTRACT

Stool specimens from 1294 diarrhoeal patients from Baghdad city were examined for bacterial pathogens, *Salmonella* species were the most frequently isolated organisms, followed by *Shigella dysenteriae* Type 1. *Vibrio spp.*, were not identified in the stool tested. Of the (97) isolates of

Salmonella spp., 83 belonged to *S. typhimurium*, (11) isolates to *S. typh*, (2) to *S. montivideo*. Only one isolate was found to be *S. paratyphi* B. All the pathogens were tested for susceptibility to (10) different antibiotics (i.e. C, CF, Am, Gm, Ctx, Ri!, Sxt, Te, Cn and Amx). *S. typhimurium* isolates were sensitive to Cephotoxin (69.9%) and Chloramphenicol (66.3%). They were resistant to the remaining (8) antibiotics. Isolates of *S. typhi* were susceptible to Ra (81.8%), Ctx (72.7%), C (63.6%) and to C. and C.F (54.5%). However, they exhibited resistance to other antibiotics. Five of *Shigella dysenteriae* Type. 1 were susceptible to (Te) and (Ctx) antibiotics. Enteric Pathogen have developed resistance to various antibiotics used in treatment of diarrhoea possibly due to wide spread use of these drugs in our local hospitals.

INTRODUCTION

Diarrhoeal diseases represent a major problem in many areas and are associated with severe morbidity and mortality. The greatest mortality occurs in infants and children. ⁽¹⁾

Besides, diarrhoea still remains an important disease in young and elderly patients ⁽²⁾. Diarrhoea can be caused by many microorganisms including bacteria. of the bacterial diarrhoea some enteric pathogens like *Salmonella* spp., *Vibrio* spp., and *Shigella* spp. are the common organisms. Infection is by the Fecal-oral route from person to person. ⁽³⁾ Antimicrobial treatments is recommended for most patients, because it shorten the duration of the diseases ⁽⁴⁾.

The widespread use of antibiotics results in drug resistant bacteria. Therefore, this study aims to determine the types and prevalence of enteropathogenic bacteria isolated from diarrhoeal patients from Baghdad City, and their susceptibility to antimicrobial agents.

MATERIALS AND METHODS

Two hospitals were included in this study. From May 1998 to July 1999, 1294 stool specimens of diarrhoeal patients of different ages, were collected. Samples were plated on selective media for isolation of enteric bacteria.

For *Salmonella* enrichment, feces were inoculated into selenite Fbroth (Oxoid). Selenite broth was cultured on MacConkey, Salmonella-

Shigella agars after overnight incubation at 37C^o. *Vibrio* spp were also detected in stool samples collected during late summer months (i.e. August, September and October). A portion of stool was inoculated into alkaline peptone water. After 6 hours of incubation at 37 C^o the enrichment broth was subcultured on thiosulfate-citrate-bile salts sucrose agar (Oxoid) and incubated overnight at 37 C^o (1). Stool specimens were plated on MacConkey agar and Salmonella-Shigella agar (Oxoid) to isolate *Shigella* spp. Plates were incubated at 37 C^o overnight⁽⁵⁾.

Salmonella spp, *Vibro* spp, and *Shigella* spp. were identified by standard microbiological methods and serological tests with commercial antisera as described previously by⁽⁶⁾. The Serological tests were performed at the Central Health Laboratory - Baghdad.

All bacterial Pathogens isolated were tested for susceptibility to the following antibiotics: Chloramphenicol (C) 30 µg, Amoxicillin (Amx) 25 mg, Tetracycline (Te) 30 mg, Cephalexin (Cn) 30 mg, Cephalothin (Cf) 30 mg, Ampicillin (Am) 10 mg, Gentamicine (Gm) 10 mg, Cefotaxime (Ctx) 30 mg, Refampicin (Ra) 30 mg and Trimethoprim-Sulphamo Ethoxazole (Sxt) 1. 75 + 23.25 mg.

This test was performed by the agar diffusion disk method described else where⁽⁷⁾.

RESULTS AND DISCUSSION

Of the 1294 samples of stools from diarrhoel patients only 104 samples contained bacterial pathogens. From these 97 (93.3%) samples yielded *Salmonella* spp. (Table 1). This Pathogen was isolated from 76 (78.35%) males and 21 (21.64%) females. *Salmonella typhimurium* was the most common species identified (83) isolates followed by *S. Typhi* (11) isolates: *S. montivideo* (2) isolates and only one isolate of *S. paratyphi-B* was obtained. This result shows *Salmonella* to be the major bacterial pathogens in patients of Baghdad City. The high prevalence of *Salmonella* in diarrhoea cases found in this study is in agreement with the findings of^(8,9).

The frequency of isolation of *Shigella* was very low (7) isolates (6.7%) when compared with *Salmonella* (Table 1). All these isolates were identified as *Shigella dysenteria* Type 1. The low incidence of this bacteria come in accordance with (8) who reported that *Shigella* spp., were uncommon and were identified in only (0.3%) gastroenteritis cases in their study. In a study conducted by them found a low incidence of *Shigella*

(0.7%) in their stool samples studied and *Shigella flexneri* was the predominant species. They attributed the low isolation rates of *Shigella* spp. to improving hygienic conditions in their study area. However *Vibrio* spp., were not found in the stools tested in this study. Because of limited laboratory resources, other enteric Pathogen such as *E. coli*, *Campylobacter* and *Yersinia* organisms were not detected in the remaining 269 stool samples that show positive bacterial growth.

Table 1: Occurrence of *Salmonella* sp. and *Shigella* spp in Diarrhaeal patients according to different age groups.

| Age (years) | <i>Salmonella</i> spp | | <i>Shigella dysentria</i> | | Total | |
|-------------|-----------------------|---------|---------------------------|--------|-------|------|
| | No. | % | No. | % | No. | % |
| <1 | 28 | (%28.9) | 2 | (28.6) | 30 | 2.9 |
| 1 - 10 | 37 | (%38.1) | 3 | (42.9) | 40 | 3.8 |
| 11 - 20 | 10 | (%10.3) | 1 | (14.3) | 11 | 10.6 |
| 21 - 40 | 16 | (%16.5) | 1 | (14.3) | 17 | 16.3 |
| 41 - 60 | 6 | (% 6.2) | - | - | 6 | 5.8 |
| Total | 97 | | 7 | | 104 | |

As stated in (Table 1) *Salmonella* spp., and *Shigella* spp., were mostly isolated from patients of age-groups 1 - 10 years and <1 year. This result show that these Pathogens could be of particular importance in diarrhoea affecting children at these ages in the area of study. Our results were similar to finding of other studies elsewhere ⁽¹¹⁾.

Antibiotic Resistance

Seventy-three isolates of *S. typhimurium* out of 83 were resistant to Ampicillin . Fifty-six isolates of this bacteria were resistant to Tetracycline, 72 to Amoxicillin, 71 to Cephalothin, 70 to Rifampicin, while 67 isolates were found resistant to Gentamicin, 64 to Trimethoprim and 63 isolates to Cephalexin - fifty eight and 55 of *S. typhimurium* isolates were sensitive to Cephataxine and Chloramphenicol and respectively (Table 2). Ten isolates of *S. typhi* were resistant to Gentamicin followed by 7 resistant to both Amoxicillin and Tetracycline. While 8 isolates showed resistant to Trimethoprim. Nine isolates of *S. typhi*. Were sensitive to Rifampicine and 7 to Chloramphenicol. *S. paratyphi*-B and *S. Montivideo* both showed

susceptibility to Chloramphenicol, *Shigella dysenteria* type 1 was resistant to Chloramphenicol, Gentamicin and Ampicillin (6 of 7 isolates). Five isolates of this pathogen were sensitive to tetracyclin and Cefotaxime.

Table 2: Antibiotic resistance Pattern of Enteric Pathogens

| Pathogen | No. Tested | Resistant to Antibiotics % | | | | | | | | | |
|-----------------------------|------------|----------------------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|
| | | C | Am | Te | Sxi | Cn | Cf | GM | Ap | Ctx | Ra |
| <i>S. Typhimurium</i> | 83 | 28 (33.7) | 72 (86.7) | 56 (67.5) | 64 (77.1) | 63 (76) | 77 (85.5) | 67 (80.7) | 73 (88) | 25 (30.1) | 70 (84.3) |
| <i>S. Typhi</i> | 11 | 4 (36.4) | 7 (63.6) | 7 (63.6) | 8 (72.7) | 5 (45.4) | 5 (45.4) | 10 (91) | 6 (54.5) | 3 (27.3) | 2 (18.2) |
| <i>S. Paratyphi</i> | 1 | 0 | 1 (100) | 1 (100) | 1 (100) | 1 (100) | 1 (100) | 1 (100) | 1 (100) | 0 | 1 (100) |
| <i>S. Montevideo</i> | 2 | 0 | 2 (100) | 2 (100) | 0 | 2 (100) | 2 (100) | 2 (100) | 2 (100) | 2 (100) | 1 (50) |
| <i>S. Dysenteria Type 1</i> | 7 | 6 (85.7) | 3 (42.9) | 2 (28.6) | 6 (86) | 4 (57.1) | 4 (57.1) | 6 (85.7) | 6 (85.7) | 2 (28.6) | 5 (71.4) |

C = Chloramphenicol

Sxi = Trimethoprin-Sulfamethaxazol

Cf = Cephalothin

Ctx = Cefotaxime

Am = Amoxicillin

Gm = Gentamicin

Ra = Refampicin

Te = Tetracycline

Cn = Cefalexin

Ap = Ampicillin

It was clear from this study (Table 2) that the isolated enteric pathogens were multi-resistant to antibiotics. There were a high rate of resistant among *Salmonella* spp., to Amoxicillin, Tetracycline, Ampicillin and Cephalothin. This could be due to the widely use of these drugs to treat diarrhoea ⁽¹²⁾. This result showed that these antibiotics no longer have a role in the treatment of diarrhoeal disease in our hospitals. This finding was in agreement with that reported by ⁽¹³⁾ in that and Chloramcol resistance was observed in 28 and 4 isolates of *S. typhimurium* and *S. typhi* respectively this drugs is known to be the current first-line agent for treatment of this bacterial infection ⁽⁶⁾ to avert the rapid development of resistance to it. This drug is recommended to be use only in sever cases.

Shigella dysenteriae type-1 is known for its tendency to cause severe illness and epidemics⁽¹⁴⁾. This species was the only one found in this study. Chloramphenicol isolates were almost resistant to all the antibiotics commonly available. High resistance notes to Ampicillin, Trimethoprim-Sulfamethoxazole, Chlorophthal exhibited by this Pathogen is in agreement with^(4,15). They attributed the reason to the wide spread use of these drugs and could be also due to the antibiotic treatment of all patients with diarrhoeas.

These results indicate that a change in antibiotic policy to treat diarrhoeal disease is necessary. It is also important that the use of antibiotic should be restricted to medical indication, because otherwise there is a continuous possibility of development of resistant pathogens due to over use of antibiotics.

REFERENCE

1. Huilan S., Zhen L., Sami Z. and Sutton R.G. Etiology of Acute Diarrhoea Among Children in Developing Countries. Bull. WHO 65: 549 - 555. (1991).
2. Mims C., Play Fair, J., Roitt L., Wakelin D. Medical Microbiology. 1st Ed. Mosby, U.S.A. (1993).
3. Srison D. and Porn Patkul, V. Shigellosis in the Children, Experience from a rural Hospital 1985-1993. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health. 26: 347 - 349. (1995).
4. Engels D., Madaras T. and Murray J. Epidemic Dysentery caused by *Shigella Dysenteriae* type 1: A Sentinel Site Surveillance of Antimicrobial Resistance Patterns in Burundi. Bulletin of the World Health Organization. 73: 787 - 791. (1995).
5. Samonis G., Elting I., Tselentis Y. An Out Break of Diarrhoeal Disease Attributed to *Shigella Sonnei*. Epidemiol. Infect. 112: 235 - 245. (1994).
6. Farmer J. and Kely M. Enterobacteria Cae in, Balows A., Hausler W. and Shadomy H. (Eds). Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. 360 - 383. (1991).
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. NCCLS. Villanova, PA. (1990).

8. Barnes G., Uren E., Stevens K. and Bishoop R. Etiology of Acute Gastroenteritis in Hospitalized Children in Melbourne, Australia, from April 1980 to March 1993. *J. Clin. Microbiol.* 36: 133 - 138. (1998).
9. Al-Fulluji M., Saloman M. and Saed J. A study of some Enteropathogens Isolated from Children with Diarrhoea in Baghdad, H.B.S.R. 18: 113 - 126. (1987).
10. Samonis G., Maraki S. and Tselentis Y. Bacterial Pathogens Associated with Diarrhoea on the Island of Crete. *European Journal of Epidemiology.* 13: 831 - 836. (1997).
11. Ming Z., Dong Xi. C., and Echeverria P. Diarrhoeal Disease in Children less than One year of age at a Children's Hospital in Guangzhou, China, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 85: 667 - 669. (1997).
12. Segfarth A., Wegener H. and Moller N. Antimicrobial Resistance in Salmonella Enterica. *Chemother.* 40: 67 - 75. (1997).
13. Hoge C., Gambel J. and Echeverria P. Trends in Antibiotic Resistance among Diarrhoeal Pathogens Isolated in Thailand over 25 Years. *Clinical Infections Diseases.* 26: 341 - 345 (1998).
14. Townes J., Miriam L., Gonzales O. and Tauxe R. Etiology of Bloody Diarrhoea in Bolivian Children, Implications for Empiric Therapy. *Journal of Infections Diseases.* 175: 1527 - 1530. (1997).
15. Jensen G., Wandall D. and Gufschik E. Antibiotic Resistance in Shigella and Salmonella in a region of Lithuania. *Eur. J. Clin. Microbial. Infect. Dis.* 15: 872 - 876. (1996).

Radon And Thoron Measurement In The Environment Using passive Type Detectors

Abdulla Ahmad Rasheed

الخلاصة

خلال العقود القليلة الماضية جرت العديد من الدراسات حول العلاقة بين تركيز الرادون ووقوع الإصابة بمرض سرطان الرئة وخصوصا في مناجم اليورانيوم، لذلك تنامي الاهتمام العالمي حول تعرض الانسان الى النشاط الاشعاعي الطبيعي وخصوصا باعثة الفأ، حيث تم حساب هذه التراكم في المناجم، المنازل، مواد البناء، النفايات الصناعية، دورة وقود الطبخ، الماء المجهز للمنازل، التربة، النبات،.... الخ. في بحثنا هذا تم اخذ العديد من عينات التربة لمنطقة البصرة جنوب العراق لغرض الدراسة وحساب تراكيز الرادون والثورون المنبعث منها وقد وجدت التراكم بالنسبة للرادون ($56.731 \pm 1.281 \text{ Bq.m}^{-3}$) والثورون ($5.86 \pm 0.147 \text{ Bq.m}^{-3}$). تم استخدام كاشف الاثر النووي CR-39 في الكشف عن تراكيز الرادون والثورون وتم اجراء القشط الكيميائي عند ظروف نموذجية باستخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH (6.25 N , 60 C^0) وقد تم ايجاد كثافة الاثر عند ازمان قشط مختلفة.

ABSTRACT

Over the last few decades a number of more or less systematic studies have been carried out on correlation between Radon concentration inside mines and the incidence of lung cancer among the miners, therefore, there is a growing interest in collection of data concerning human exposure to naturally alpha-emitting Radionuclides (e.g., in mines, dwelling, building materials, industrial wasts, coal fuel cycle, water supply, soil, plants, etc.). In this work many samples of Basrah's soil was studied to determine Radon (^{222}Rn) and Thoron (^{220}Rn) concentration in soil of Basrah, where it was found equal ($56.731 \pm 1.281 \text{ Bq.m}^{-3}$) for Radon (^{222}Rn) concentration and ($5.86 \pm 0.147 \text{ Bq.m}^{-3}$) for Thoron (^{220}Rn) concentration. Experimental data are reported on Radon and Thoron concentration measured by using

Nuclear track detector CR-39, and chemical etching carried out at optimum condition (6.25 N, NaOH, 60 C⁰) for various etching times.

Keywords

Radon ²²²Rn, Thoron ²²⁰Rn, CR-39, chemical etching, soil, paper filter.

INTRODUCTION

It's generally recognized that exposure to Radon (²²²R) and its decay products constitutes 50-55 % of the total exposure of the general population to all sources of radiation, whether natural or manmade ¹¹.

The term Radon usually refers to the gaseous member ²²²Rn (T_{1/2} = 3.825d) in the natural decay series of Uranium (²³⁸U), but sometimes the term also includes ²²⁰Rn (T_{1/2} = 55.65), which occur in the Thorium (²³²Th) decay series. The relevant part of ²³⁸U decay chain is given in table 1 ¹².

Table 1- Data on some elements of the Uranium decay series.

| Isotope | Half - life | Major radiation and α energy |
|------------------------|--------------------------|------------------------------|
| ²³⁸ U | 4.5 × 10 ⁹ a | Alpha 4.20 MeV |
| ↓ ²²⁶ Ra | 1602 a | Alpha 4.78 MeV |
| ↓ ²²² Rn | 3.82 d | Alpha 5.49 MeV |
| ↓ ²¹⁸ Po | 3.05 min | Alpha 6.0 MeV |
| ↓ ²¹⁴ Pb | 26.8 min | Beta |
| ↓ ²¹⁴ Bi | 19.7 min | Beta |
| ↓ ²¹⁴ Po | 164 × 10 ⁻⁶ s | Alpha 3.69 MeV |
| ↓ ²⁰⁶ Pb | stable | |

Short - Lived daughters }
 {

Radon and Thoron are noble gases which can migrate from the soil either by molecular diffusion or by convection and enter the atmosphere

The radiation from Radon and its daughter produces a risk of lung cancer by inhalation of air with high Radon and Radon daughter concentration over long period of time. The latent period for cancer is about 25 years at a Radon daughter activity of (400 Bq.m^{-3}). This activity corresponds to about (2×10^8) Radon daughter atoms per cubic meter of air. This number is tremendously small in comparison with (2.5×10^{25}) which is the approximate number of air molecules in one cubic meter (1m^3) of air normal pressure and room temperature^[3].

Different type of passive detectors such as CR-39 detector which is characterized by its wide Alpha-energy range detection, Charcoal consists as well as continuous Radon monitor were used for Radon concentration measurement in soil of Basrah.

EXPERIMENT

In this work, sheets of CR-39 plastic detector thickness ($500 \mu\text{m}$) density (1.31 gm.cm^{-3}) and size of detector was $1 \times 1 \text{ cm}^2$, and chemical composition ($\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_7$) were used, two sheets of CR-39 one with filter and the other without filter, has been exposed to soil of Basrah for 60 days in a special vessel, the distance between samples and detector was (2.5) cm.

The detector with filter used to measure Radon concentration and the other detector used to measure Radon and Thoron concentration together, and from subtraction concentration on the first detector (with filter) from second detector (without filter) we were found Thoron concentration. All recorders were etched chemically in 6.25 N, NaOH solution at 60 C^0 .

After chemical etching the number of tracks have been counted using an optical microscope.

RESULTS

From Fig., (1), shows the relation between track density etching time, where the maximum density of the track was at 6 hours of etching time.

The results obtained for Radon concentration in soil of Basrah is equal to ($168 \pm 3.26 \text{ track/mm}^2$) which is equal to ($56.732 \pm 1.281 \text{ Bq.m}^{-3}$).

This value represent the average value see Table 2-, and Thoron concentration is equal to (16 ± 0.45 track/mm²) which is equal to (5.86 ± 0.14 Bq.m⁻³) see Table 3-.

Table 2- Radon concentration in soil of Basrah

| Samples of Different Region in Basrah | Number of Track Track/mm ² | Radon Corecentv Bq.m ⁻³ |
|---------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
| (1) | 160 ± 3.41 | 52.7 ± 1.318 |
| (2) | 167 ± 3.70 | 56.006 ± 1.618 |
| (3) | 176 ± 3.59 | 57.97 ± 1.132 |
| (4) | 169 ± 3.44 | 56.66 ± 1.133 |
| (5) | 168 ± 3.66 | 55.33 ± 1.205 |
| Average | 168 ± 3.56 | 56.732 ± 1.281 |

Table 3- Thoron concentration in Soil of Basrah

| Samples for Different Region in Basrah | Number of Track Track/mm ² | Radon Corecentv Bq.m ⁻³ |
|--|---------------------------------------|------------------------------------|
| (1) | 15 ± 0.40 | 4.94 ± 0.131 |
| (2) | 17 ± 0.50 | 5.599 ± 0.164 |
| (3) | 16 ± 0.44 | 6.27 ± 0.144 |
| (4) | 18 ± 0.60 | 6.92 ± 0.197 |
| (5) | 14 ± 0.31 | 4.61 ± 0.102 |
| Average | 16 ± 0.45 | 5.86 ± 0.147 |

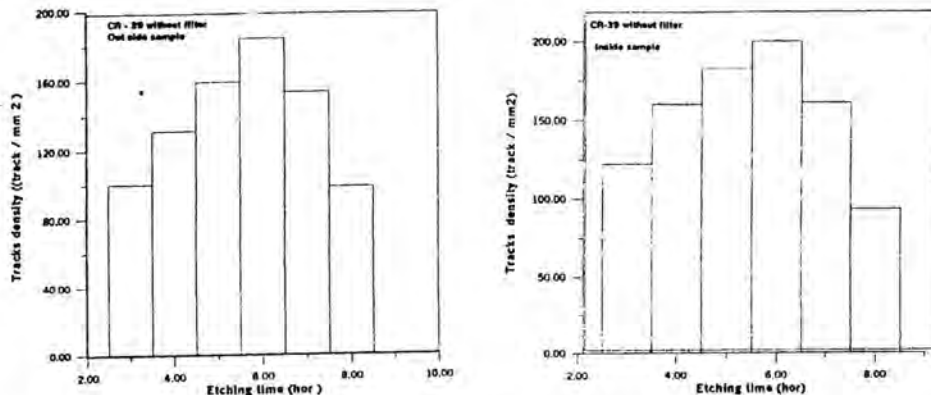


Fig. 1- Variation of track Density with Etching Time

CONCLUSION

Results from Radon (^{222}Rn) and Thoron (^{220}Rn) survey shows that concentration were within the permissible concentration where the IAEA, in its current revision of the basic safety standards, recommends 200 Bq.m^{-3} of Radon (^{222}Rn) as the action level for dwellings and 1000 Bq.m^{-3} for workplaces^[4].

Its necessary for the more Radon, measurements in comparable for another region in the south of Iraq are needed in order to asses the extensiveness of Radon consequences.

REFERENCES

1. S.A. Durrani, Nucl. Track Radiat., Vol. 22, No. 1-4, pp 303 - 317, (1993).
2. United Nation Scientific Committee on the Effect of Atomic Radiation Ionizing Radiation, New York, United Nation(1982).
3. G. Jonsson, Nucl Track Radiat., Vol. 13, No.1, pp 85-91, (1987).
4. Jasimuddin, U. Ahmed, Quarterly Journal of the International Atomic Energy, Vol. 30, No. 2, (1994).

Study the Effect of Cigarette Smoke Exposure on the Uterine Histology and some Blood Parameters in Pregnant Female Rats.

WAFI FAWZI EBRAHEM AL-MOSAWY
College of Education - Babylon University - Karbala.

الخلاصة

تم تعريض اناث الجرذان الحوامل لدخان السكائر لمدة (30) يوم وبثلاث جرعة، عرضت المجموعة الاولى لدخان خمسة سكاير يوميا (5 cig/day) والمجموعة الثانية لدخان عشرة سكاير يوميا (10 cig/day) والمجموعة الثالثة لدخان خمسة عشر سيكاره يوميا (15 cig/day) وفورنت النتائج مع المجموعة الرابعة (مجموعة السيطرة). وقد تمثلت التغيرات النسيجية في المجموعة الثانية لإناث الحوامل في التهاب بطانة الرحم وحصول خمج في الطبقة المحفظية للرحم مع صفة التجلطات. اما المجموعة الثالثة من الاناث الحوامل فقد اظهرت النتائج حدوث فجوي وخرج الطبقة المحفظية والطبقة القاعدية لبطانة الرحم بالإضافة لحصول تليف في الشرايين الرحمية. سببت المعاملتين الثانية والثالثة (10, 15 cig/day) تراجع نمو الاجنة وقصر مدة الحمل، وانخفاض معنوي ($p < 0.05$, $p < 0.01$) في وزن الجسم للاناث الحوامل، وانخفاض معنوي في معدل استهلاك الطعام المأخوذ يوميا ($p < 0.05$, $p < 0.01$). كذلك اظهرت المعاملتين الثانية والثالثة زيادة معنوية في كريات الدم الحمراء ($p > 0.05$, $p > 0.01$) وانخفاض معنوي في العد التفرقي لخلايا الدم البيض (اللمفاوية).

ABSTRACT

Thirty-two pregnant female rats exposed to cigarette smoke in three levels (5, 10 and 15) cig/day for one month period, the pregnant females exposed to 10 cig/day had suffered from endometritis and inflammation occurred in the Decidua Capsularis and Thrombotic Phenomena, while pregnant female exposed into 15 cig/day had an increased frequency of Coagulation Necrosis and inflammation in the Decidua Capsularis and Decidua Basalis. The Decidua Basalis had Arterial Fibrosis. The two levels

(10, 15 cig/day) cigarette smoking exposure causes fetal growth retardation and shorter Gestation period, pregnant rats showed significantly reduced ($p < 0.05$, $p < 0.01$) food intake and body weight. In the two levels (10, 15 cig/day) it was found significantly increased ($p < 0.05$, $p < 0.01$) Erythrocyte count but decrease ($p < 0.05$, $p < 0.01$) in differential count in white blood cell (Lymphocyte).

INTRODUCTION

There are more than (4000) chemical compounds in tobacco smoke, the most important of which are: Nicotine, Carbon Monoxide, Carbon Dioxide and Polynuclear Aromatic Hydrocarbon⁽¹⁾. Fetal growth retardation produced by cigarette smoking⁽²⁾. In a review article on smoking, Estrogen related disease⁽³⁾ had suggested that the consequences of smoking could include an (anti-Estrogenic) effect which may modify the risks of Estrogen related disease including Endometrial Cancer (4 : 5). Smoking is a risk factor for Cancer of the Uterine Cervix⁽⁶⁾, Osteoporosis and Cancers of the breast and endometrium^(7:8).

Hemoglobin levels during pregnancy, declined sharply in the first trimester and rose moderately in the third trimester. Throughout gestation, hemoglobin levels were lower in smokers than non-smokers⁽⁹⁾. Influence of cigarette smoking on certain plasma hormonal assays like: Prolactin, FSH, LH.

It was found significantly lower in smoker⁽¹⁰⁾. In another study it was found that smoking causes significantly Neutrophilia but decrease Lymphocyte in man⁽¹¹⁾.

The principle aim for this study was to demonstrate the effect of cigarette smoke exposure on Histological changes of the uterus and some blood parameter in pregnant female rats.

MATERIALS AND METHOD

Thirty-two adult healthy female rats, weighing between (215 ± 16) gm were used in the experiment. Female rats were marked with serial ear number and they were individually housed in plastic cages ($50 \times 30 \times 15$ cm) at least for (10) days before mating. The temperature of the animal house was maintained at $(25\text{ }^{\circ}\text{C})$ with a photoperiod system of 12 light - 12 dark, the pregnant rats given dry fed (4%) from body weight and water ad lib,

along the period of the experiment. The pregnant rats were divided randomly and equally into four groups, as follows:

Group 1: Exposed to cigarette smoke of 5 cig/day.

Group 2: Exposed to cigarette smoke of 10 cig/day

Group 3: Exposed to cigarette smoke of 15 cig/day

Group 4: Control.

The first three groups were exposed to cigarette using ready chamber for cigarette smoke exposure: a cigarette was lit for 10 minutes. Control group animals were not exposed to cigarette smoke. Iraqi brand cigarette (Sumer) were used with an average nicotine of (1.1) mg/cig.

HISTOLOGICAL TECHNIQUE

After delivery the females were killed, using Halothane inhalation Anaesthesia and Laparotomy was performed immediately. Uterine were rinsed in normal saline and fixed in Bouin's solution. The floks from each portion were cut into a thin sections (6- micrometer) by microtome and stained with Hematoxylin and Eosin⁽¹²⁾.

Body weight and food intake were determined using Mattler balance (600) mg, and a heamocytometer was used for red blood all count together with white blood all diffrential count.

The mean values of each parameter in the four groups were compared using student's t-test.

RESULTS & DISCUSSION

The results revealed, the group 2 had lesion in the uterus (Fig. 1). including some destruction in simple columnar Epithelium lining and mild inflammation in decidua capsularis, and various thrombotic lesion in the uterine arteries. In group 3, the histological observation revealed necrosis in the endometrium and sever inflammation occurred in the decidua capsularis and decidua basalis. The inflammation involve the uterine glands and myometrium, and obliteration in the uterine arteries (Fig. 2), fibrosis of the uterus was also obtained.

The histological finding of the present study suport the results of a previous study⁽¹³⁾ in which the auther believed that a carcinogen can be absorbed from cigarette smoke, transported through the circulatory system

and secreted by endometrium and cause endometritis in body and crevix of the uterus. Similar histological findings was reported by ⁽¹¹⁾, and added more frequent amnionitis infection in the smokers.

The of spring of the female rats exposed to cigarette smoke in (group 2) were smaller, the mean body weight was (2.60 ± 0.50) gm while the mean body weight on (group3) was (2.10 ± 0.30) gm when compared with control group (2.90 ± 0.70) gm. The mean body weight in (group #) was significant ($p < 0,001$) less than the control group. These results were in agreement with ⁽¹⁴⁾ who reported that reduced fetal oxygenation was another possible cause of the growth retardation since pregnant women who smoke had increased levels of carboxyhemoglobin and nicotine which may reduce uteroplacental perfusion. While in other authors such as ⁽¹⁵⁾ suggested that, smoking

causes chronic fetal hypoxia resulting in small fetal size, and that the relative placental hypertrophy was compensatory. But either authors ⁽¹⁶⁾ has found that smoking women from sever anemia in pregnancy.

The most impressive changes caused by smoking were those related to anorxia nervosa (Table 1). Dietary intake was reduced in late pregnancy, particularly in smokers, women who smoke during pregnancy give birth to lighter infants than do non-smoking women ⁽¹⁷⁾.

The decreased WBC count in smoking females during pregnancy were identical to those reported by ⁽¹⁸⁾.

Table (1): Effect of cogarette Smoke Exposure on some Physiological Parameters in Pregnant Female Rats.

| Physiological Parameters | Control N = 8 | 5 cig/day N = 8 | Dose 10 cig/day N = 8 | 15 cig/day N = 8 |
|--------------------------------|------------------|--------------------|-----------------------------|---------------------|
| RBC' count $\times 10^{12}$ L. | 6.5 \pm 0.70 | 6.9 \pm 0.50 | 7.1 \pm 0.200* | 7.60 \pm 4.00** |
| Lymphocyte (%) | 60. \pm 7.00 | 58 \pm 9.00 | 55 \pm 3.00* | 47.00 \pm 2.00** |
| Body weight (gm) | 210 \pm 9.00 | 205 \pm 11.00 | 178 \pm 8.00* | 153.00 \pm 13.00* |
| Food Intake (gm) | 18 \pm 4.00 | 18 \pm 1.00 | 13 \pm 2.00* | 11.00 \pm 4.00** |

Values are means \pm SE

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

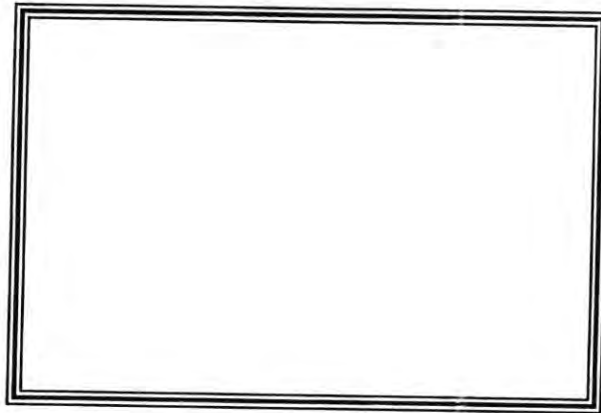


Figure (1): Light Micrograph of the uterus from cigarette smoke exposed group (10 cig/day) showing destruction in simple columnar epithelial lining and mild inflammation in decidua capsularis. (h & E. \times 400)

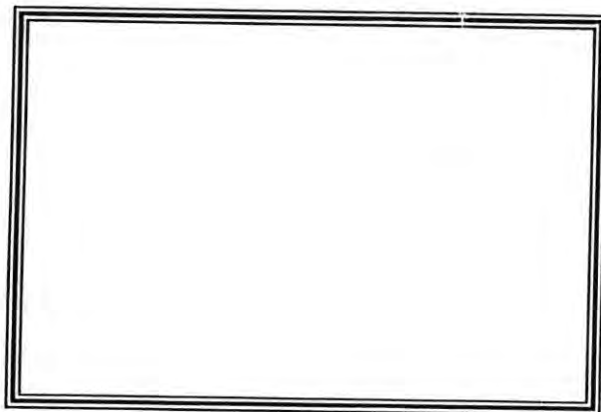


Figure (2): Light micrograph of the uterus from cigarette smoke exposed group (15 cig/day), showing obliteration and fibroses in the uterine arteries. (H & E. \times 400)

REFERENCES

1. Adeb T.F. Chemical Compomemnts of Cigarette Smoke . Studies on Smoking. 2nd , ed., Iraq P. 11 - 200. (1980).
2. Naeye R.L. Influence of Material Cigarette Smoking During Pregnancy on Fetal an Childhood Growth. Am. J. Obstet. Gyneco. (1981).
3. Baron J.A.. Smoking and Estrogen related Disease. Am. J. Epidemiol. 119: 9 - 22. (1984)
4. Lesko S. M., Rosenberg L. and Kanfman D.W. Cigarette Smoking and the risk of Endometrial Cancer. N. Engl. J. Med. 313: 593 - 598. (1985).
5. Suteri P.K. Steriod Hormones and Endometrial Cancer. Cancer Res. 38: 4360 - 4366. (1978).
6. Winkelstein W.J., Smoking and Cancer of the Utrine Cervix, Hypothesis. Am. J. Epidmiol. 106: 257 - 259. (1977).
7. Kalache A. and Vessey M. Risk Factors for Breast Cancer. Clinics in Oncology. 1: 661 - 678. (1982).
8. Wyshak G. Hip Fracture in elderly Women and reproductive History. J. Gerontol 36: 424 - 427. (1980).
9. Shiverick K.T. and Salafia C. Cigarette Smoking and Pregnancy I: Ovarian, Uterine and Placental Effects. Placenta 20 (4): 265 -72. (1999).
10. Berta L., Fortunati N., and Gennari P. Influence of Cigarette Smoking on Pituitary and sex Hormone Balance in Healthy Premenopausal Women. Am., Ferti., Socie. 56 (4) 788 - 789. (1991).
11. Naeye R.L. 9Effect of Maternal Cigarette Smoking on the Fetusand Placenta. Br. J. Obstet. Gyneco. 85: 732 - 737. (1978).
12. Luna L.G. Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd. ed. McGraw Hill Book Company. New York, U.S.A. (1968).
13. Yule R. Mortality from Carcinoma of the Cervix. Lancet. 1: 1030 - 1033. (1979).
14. Cole P.V., Hawkins L.H. and Roberts D. J. Obstet. Gynecol. Br. Common Wealth, 79: 782, Cited by Naeye R.L. (1978). Br. J. Obstet. Gynecol. 85: 732 - 737. (1972).
15. Wilson E.W. The Effect of Smoking in Pregnancy on the Plcental co-efficient. N.Z. Med. J. 74: 384 - 385. (1971).
16. John W., Roberta C., William L. and Edgar J. Placental Ratio in White and Black women relation in Smoking and Anemia. Am. J. Obstet. Gyneco. 124(7): 671 -674. (1976).

17. Haste F.M., Brooke O.G., Anderson H.R., and Peacock J. Nutrient intake during Pregnancy: Observation on the influence of Smoking and Sociel Class. *Am. J. Clin. Nuter.* 51(68): 29 - 36. (1990).
18. Ludviksdottir D., Blondal T., Franzon M., and Gudmundsson T.V., Effect of Nictone Nasal Spray on Atherogenic and Thrombogenic Factors during smoking cessation. *J. Intern. Med.* 246 (1): 61 - 66. (1999).

Activity of Tobramycin And Some Other Antibiotics Against *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Wound Infections

WALEED S. HUSSAIN

Dept of Biology,

College of Science - Al-Mustansiria University - Baghdad

الخلاصة

تم الحصول على 30 عزلة من بكتريا *P. aeruginosa* من 30 نموذج لمرضى يعانون من التهابات للجروح. اظهرت جميع العزلات مقاومة متعددة للعديد من المضادات الحيوية المستخدمة في علاج الالتهابات المتسببة من هذه البكتريا. اظهر مضاد السيرومولوكساسين فعالية عالية ضد هذه البكتريا، تلاه مضادات السفتازيديم، السيفوتاكسيم والجنتاميسين. وعلى العكس من ذلك اظهرت عزلات هذه البكتريا مقاومة عالية لمضادى التوبراميسين والتكارسيلين. لذا يمكن التوصية بعدم صلاحية هذين المضادين في معالجة التهابات الجروح المتسببة عن هذه البكتريا في المستشفيات المحلية.

ABSTRACT

The activity in vitro of tobramycin and five other antimicrobial agents against 30 isolates of *Pseudomonas aeruginosa* collected from 30 patients suffering from wound infections were studied. The isolates showed multiple antibiotic resistance. Ciprofloxacin was the most active drug tested followed by Cefazidime, Cefotaxime and Gentamicin. In contrast, Tobramycin and Ticarcillin were the least active antimicrobial agents against this bacteria, therefore, it is not recommended to use these drugs against this bacteria in the local hospital.

INTRODUCTION

Pseudomonas aeruog is widely recognized as an important pathogen, it is a leading cause of nosocomial as well as wound infections⁽¹⁾. Most of the infections with this bacteria were not acquired from patient's own flora, but

from sources in the hospital environment^(2,3). *P. aeruginosa* is pathogenic when introduced into areas devoid of normal defenses such as open wounds and burned areas⁽⁴⁾. Several studies reported the resistance of this bacteria to antimicrobials in special units and types of patients and attributed this to the high intrinsic resistance of this bacteria and antibiotic administration⁽⁶⁾. Therefore, the aim of this study was to examine the antibiotic resistance patterns and to determine the activity of Tobramycin and other specific antibiotic against *P. aeruginosa* isolates from wound infections in the local hospitals in Baghdad.

MATERIALS AND METHODS

Samples collection

Thirty samples from patients suffering from wound infections were collected from two hospitals in Baghdad City. Samples were collected during the period from September to December 2001. Dry sterilized cotton swabs were used to collect samples (under medical advise) from laprotomy and hernia wound infection.

Isolation of *P. aeruginosa*

Wound swabs were plated within 2 - 3 h., of collection on MacConkey agar plates. Non lactose fermenting colonies were selected from MacConkey agar plates after 18 h., incubation at 37°C. The biochemical characteristics of the suspected *P. aeruginosa* isolates were determined following the methods described by⁽⁷⁾. Antimicrobial agents and susceptibility testing was performed by following the Kirby-Bauer disc diffusion method. The antibiotic discs (all from Oxoid, England) used were: Tobramycin (TB) 10ug, Gentamian (G) 30 ug, Ciprofloxacin (CF) 30 ug, Ticarcillin (TIC) 75 ug, Ceftazidime (CAZ) 30 mg and Cefotaxime (CTX) 30 ug, the isolates were categorized as susceptible or resistant according to NCCLS guidelines⁽⁸⁾.

RESULTS AND DISCUSSION

A total of 30 Isolates of *P. aeruginosa* were recovered from 30 patients samples and this bacteria was found to be the most predominant organism found in the infected wounds (14 and 16 isolates were obtained

from laprotomy and hernia wound infection. Causative microorganism was also previously reported by ⁽⁹⁾ and ⁽¹⁰⁾ who attributed the reason for predominant presence of this bacteria to the exogenous and endogenous contamination in the operation theatres and/or the patient wards.

Data regarding antimicrobial resistance are summarized in Table-1. It was clear that all isolates of this bacteria showed multi-resistance to different groups of antibiotics. The most active antimicrobials were Ciprofloxacin, Tobramycin which is an important drug for the treatment of serious infections caused by *P. aeruginosa* and Ticarcillin were the least active antimicrobial agents, with percentages of resistance of 80%, 88% for Tobramycin and 100% and 81% for Ticarcillin. A high resistance to Toramycin was also reported by other workers elsewhere among isolates of *P. aeruginosa*, while the high resistance to Ticarcillin (a β -Lactam) is not uncommon due to the long time use of this group of antimicrobial agents ^(11, 12), the Ciprofloxacin (A Fluroquinolone member) tested have been shown to be more effective against *P. aeruginosa* causing wound infections. This finding was consistent with those reported in the literatures ^(13, 14) in that quinolones have potent antibacterial activities against gram netative bacteria. While β -Lactams showed various degrees of activity against *P. aeruginosa* isolates. However, Tobramycin and Ticarcillin should be avoided in treatment of wound infections in the local hospitals because of their poor activity on this bacteria. The 26 isolates that were resistant to Tobramycin were examined for their susceptibilities to Ciprofloxacin and other agents (Table 2). Although cross-resistance among the isolates to Aminoglycosides was common 85%, 38% and 27% of the Tobramycin resistant isolates were susceptible to Ciprofloxacin, Cefotaxime and Ceftazidime and respectively. The cross-resistance data could indicate that a number of isolates may have resistance due to combination of multiple resistance mechanisms as described previously by ⁽¹⁵⁾. The result of this work showed that an important proportion of *P. aeruginosa* isolates were susceptible to the above three antibiotics, suggesting that a therapeutic option are available for Tobramycin-resistant *P. aeruginosa* local isolates. Thus, on the basis of this work on wound infections it can be concluded that in vitro susceptibility of *P. aeruginosa* to quinolone class of antimicrobial agents is better than to aminoglycoside and β -Lactam groups, and that further clinical investigationson this subject are recommended. Besides, the determination of the distribution of the most frequent serotypes of this bacteria in the hospitals is necessary.

Table (1) Invitro Activities of Antimicrobial Agents Against *P. aeruginosa*.

| Antibiotic Class | Antibiotic | Resistance (%) | Type of Wound Infection |
|------------------|---------------|----------------|-------------------------|
| Aminoglyco Sides | Torbramycin | 12 (86) | L.W.I. |
| | | 14 (88) | H.W.L. |
| | Gentamicin | 8 (57) | L.W.I. |
| | | 9 (56) | H.W.I. |
| β -Lactams | Ticarcillin | 14 (100) | L.W.I. |
| | | 13 (8) | H.W.I. |
| | Ceftazidime | 5 (36) | L.W.I. |
| | | 4 (25) | H.W.I. |
| | Ceftotaxime | 9 (64) | L.W.I. |
| | | 6 (38) | H.W.I. |
| Quinolones | Ciprofloxacin | 1 (7) | L.W.I. |
| | | 2 (13) | H.W.I. |

L.W.I. = Laprotomy Wound Infections.

H.W.I. = Hernia Wound Infections.

Table (2) Susceptibilities of 26 Tobramycin-resistant isolates of *P.aeruginosa* to other Antibiotics

| Antibiotic Class | Isolates Susceptibilities | |
|------------------|---------------------------|---------|
| | Number | Percent |
| Gentamicin | 5 | 19 |
| Ticarcillin | 2 | 8 |
| Ceftazidime | 7 | 27 |
| Cefotaxime | 7 | 27 |
| Ciprofloxacin | 22 | 85 |

REFERENCE

1. Boyd R.F. General Microbiology. 2nd Ed. Mosby College Publishing. U.S.A. pp. 787 - 793. (1988).

2. Maki D. Risk factors for Nosocomial Infection in Intensive Care. *Arch. Intern. Med.* 149: 30-33. (1989).
3. Greenwood D., Slack R. and Peuther J. *Medical Microbiology*, 15th. Ed. Churchill Livingstone, London. (1997).
4. Smith D., Thomson P. and Rodeiguez J. Burn Wounds. Infection and healing. *Am. J. Surg.* 167: 455 - 485. (1994).
5. Maseda H., Yoneyama H. and Nakae T. Assignment of the Substrate-Selective Subunits of the Mex EF-Oprn Multidrug Efflux PUMP of *P. Aeruginosa*. *J. Antimicrob Agents Chemother.* 4: 658 - 664. (2000).
6. Clofu O., Pederson S. and Hoby N. Development of Antibiotic resistance *P. Aeruginosa* during two decades of Antipseudomonal Treatments at the Danish CF Centers. *APMS.* 102: 674 - 680. (1994).
7. Holl J., Kerieg N., Sheath P., Staley H. and Williams S. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th. Ed. Williams and Wilkins, U.S.A. (1994).
8. By National Committee for Clinical Laboratory Standards, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow Aerobically, 3rd. Ed. Approved Standard M7-A3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1995).
9. Shea K. and Cunha B. E. *Coli. Sternel Osteomyelitis after Open Heart Surgery.* *Heart Lung.* 24: 177 - 178. (1995).
10. Abu-Hanifa Y. Post Operative Surgical Wound Infection, *Med. J. Malaysia* 45: 293 - 297. (1990).
11. Gordt B., Vvanden Borre C. and Butzer J. Comparison Between the in Vitro Activity of New Agentson *P. Aeruginosa* Isolates from Cystic Fibrosis Patients and other Chronic Infections. *J. Antimicrob. Chemother.* 14: 25 - 29. (1994).
12. Laurence D., Bennett P. and Bron. J. *Clinical Pharmacology*, 8th. Ed., Churchill Livingstone, London. (1997).
13. Qadri S., Akhter J. and Uena Y. Antibacterial Activity of Quinolones on Local Clinical Isolates from a Referral Center in Riyadh. *Annals of Saudi Medicine.* 12: 434 - 439. (1992).
14. Petter Muller B. In Vitro Activity of Ciprofloxacin, Norfloxacin and Nalidix Acid. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 2: 111 - 115. (1993).
15. Cockerill F. Genetic Methods for assessing Antimicrobial Resistance. *J. Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 199 - 212. (1990).

Effect of Some β -Lactamase Inhibitors and the Combined Action of Some Antimicrobial Agents on *Pseudomonas aeruginosa* Isolated From Cases of Otitis Media

SAMEER F. JAZRAWI and HUSSAIN H. KHANAKA

Dept. of Microbiology, College of Science, Al-Mustansyria University, Baghdad

الخلاصة

تم عزل وتشخيص (50) عزلة من بكتيريا *P.aeruginosa* من 68 نموذج مسحة أذن لمرضى يعانون من التهاب الأذن الوسطى القيحي المزمن. كانت هذه البكتيريا هي السبب الرئيسي لهذه الالتهابات حيث عزلت بنسبة 37.5%. أجرى اختبار حساسية هذه العزلات لاثني عشر وعشرون قرص من أقراص المضادات الجرثومية المختلفة. أظهرت النتائج أن هذه البكتيريا المحلية كانت متعددة المقاومة وبنسب عالية للعديد من هذه المضادات. أوضحت النتائج أن طريقة التحري عن التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمضادات كانت لها دقة أكبر من تلك النتائج التي تم الحصول عليها من اختيار الحساسية عن طريق استخدام أقراص المضادات. أشارت نتائج هذه الدراسة أن استخدام بعض مثبطات أنزيمات البيتا - لاكتاميز (التازوبانام وحامض الكلافولانك) كان لهما كفاءة ملحوظة في استرجاع بعض المضادات لكفاءتها في التأثير على هذه البكتيريا. كذلك أوضحت نتائج دراسة استعمال خلط بعض المضادات من مجموعتي البيتا - لاكتام والامينو كلايكو سيادات نتائج جيدة في خفض قيم التراكيز المثبطة الأدنى لكلا المضادين المستخدمين ضد عزلات بكتيريا *P.aeruginosa* المحلية المتعددة المقاومة والمسببة للتهابات الأذن الوسطى المزمنة القيحية. لذا يقترح استخدام مثل هذه الخلطات لعلاج المرضى المراجعين للمستشفيات.

ABSTRACT

Fifty isolates (37.5%) of *Pseudomonas aeruginosa* were obtained from 68 samples and were found to be the main cause of otitis media. The sensitivity of these isolates was studied toward 22 different antibiotics. The bacteria exhibited multi-drug resistance with high percentages to the most of these drugs. However, very little resistance was found against ciprofloxacin (8%) amikacin (5%) and to polymyxin B (2%). The results of MIC test

revealed that this test unlike the disc sensitivity method was highly appreciated way to detect the susceptibility of the isolates toward the antibacterial agents. The study of the effect of β -lactamase inhibitors represented by tazobactam and calvulanic acid showed a significant results in regaining the activity of the antibiotic against some resistant isolates. While the study of aminoglycoside combinations with antipseudomonal β -lactam antibiotics gave a dramatic effect against highly resistant *P. aeruginosa*, in decreasing their MIC values to both antimicrobial agents. This combination was often synergetic and might give a good therapeutic result against these isolates of the this pathogen if used in treatment in our local hospitals.

INTRODUCTION

Pseudomonas aeruginosa is widely recognized as important pathogen. It is associated frequently with sever infections⁽¹⁾. There are a limited number of antimicrobial agents with reliable activity against *P. aeruginosa*. Infections caused by this organism continue to pose a therapeutic dilemma with high rates of morbidity and mortality because, this bacteria is not susceptible to many of the conventionally used antimicrobial agents⁽²⁾. This pathogen is a leading cause of chronic otitis media, a suppurative infection of the middle ear cavity⁽³⁾.

Most infections caused by *P. aeruginosa* are treated recently with combined therapy, such as antipseudomonal β -lactamas and aminoglycosides, since this combination is often synergistic and has good therapeutic results⁽²⁾.

Therefore, the aim of the present work was to evaluate the efficiency of β -lactamase inhibitors on the activity of β -lactam antibiotics, and the effect of combination therapy of two antipseudomonal β -lactams with two aminoglycoside drugs on this bacteria.

MATERIALS AND METHODS

Sample collection and *P.aeruginosa* isolation :

A sixty-eight samples of ear swabs were collected (under medical supervision) from patients suffering from chronic suppurative otitis media, visiting the ENT outpatients clinic of Baghdad teaching hospital during the period October to December 1999. Swabs were cultures on MacConkey agar plates. After incubation at 37°C, non lactose fermenting colonies were selected and identified as *P.aeruginosa* following⁽⁴⁾.

Antimicrobial sensitivity test:

The disc diffusion test of Kirby and Bauer was used following⁽⁵⁾ with the following antimicrobial discs (all obtained from Oxoid, England): Penicillin G(P) 104; Ampicillin (AMP) 25ug; Amoxycillin (AML) 10 ug; Carbencillin (CAR) 100ug; Piperacillin (PIP) 100ug; Cephalexin (CL) 30 ug; Cefazidime (CAZ) 30ug; Cefotaxime (CTX) 30ug; Teracycline (TE) 30ug; Chloramphenicol (C) 30ug; Rifampicin (RD) 30ug; Erythromycin (E) 5ug; Polymyxin B; (PB) 300 U; Nalidixic acid (NA) 30ug; Ciprofloxacin (CIP) 5ug; Amikacin (AK) 30 ug; Neomycin (N) 30ug; Tobramycin (TOB) 10ug; Gentamicin (CN) 10ug; Streptomycin (S) 10ug; Trimethoprim (W) 1.25 ug and Nitrofuration (F) 300ug.

Agar dilution test (MIC detection test)

- a. **Antibiotics without inhibitors:** This test was performed using different concentrations of antimicrobial agents in a serial difold dilution following the method of ⁽⁶⁾. The lowest concentration of the agent inhibiting the growth of this bacteria was considered as the minimal inhibiting concentration (MIC).
- b. **Antibiotics with inhibitors:** The effect if calvulanic acid (α . β -Lactamase inhibitor) combined with piperacillin and ceftazidime with ratios of 1:1, 1:2 and 2:1 were studied. Tazobactam (tozocin) which was commercially prepared along with piperacillin in a ration of (1:8) was also tested.
- c. **Antibiotic combination test:** A combination of two antipseudomonal β -lactams (i.e) Piperacillin and Cefazimide) with two aminoglycosides (i.e Gentamicin and Tobramycin) were used in this test. The checkerborad assay described by⁽⁶⁾ was followed to perform this study. Certain local *P.aeruginosa* isolates exhibited resistance to both of these drug groups were selected to study the combination effect. The result of this test was expressed as synergy, addition, indifference and antagonism according to the values of fraction inhibitory concentration (FIC) index following⁽⁷⁾.

RESULTS AND DISCUSSION

Out of 69 sample obtained 50 isolates were identified as *P.aeruginosa*. Results revealed that this bacteria was the most causative organism out of all car samples with higher percentage of isolation (37.5%).

Twenty-two different antibacterial discs were used to study the sensitivity of these isolates. From (Fig.1) it is clear that all the local isolates were resistant to trimethoprim, nalidixic acid, nitrofurantoin, penicillin-G, ampicillin, amoxicillin, cefotaxime, ceftazidime, cefalexin, chloramphenicol and erythromycin. A 49 isolates (98%) were resistant to tetracycline 96% to rifampicin and 90% showed resistant to carbencillin. However, 88% and 72% of these isolates were resistant to Piperacillin and streptomycin, respectively. Incidence of isolate resistant to Gentamicin was 52% and 38% of the bacteria was resistant to Tobramycin less resistance was shown towards neomycin (14%) ciprofloxacin 8% and 6% to amikacin. Only one isolate (2%) exhibited resistance to polymyxin B. The result indicate that our local isolates exhibited a multiple resistance to antibacterial agents. Therefore, these *P. aeruginosa* isolates could be resistant to several antimicrobial agents as well as to the newer extended-spectrum β -lactams as was mentioned earlier by⁽⁸⁾ elsewhere. While other workers⁽⁹⁾ mentioned that the presence of the *mar* gene (multiple antibiotic resistance gene) could increase the resistance of *P.aeruginosa* to antimicrobial agents. This gene might present in our local isolates but this requires further studies in the future to confirm it. Our results also indicated that cefotaxime and ceftazidime a third generation of cephalosporins which are also known as extended spectrum β -lactams has no effect on these isolates which might reflect a serious clinical situation. On the other hand the isolates showed high resistance (88%) to piperacilline (a ureidopenicillin) which considered as an efficient drug of choice in treatment of otitis media caused by *P. aeruginosa*⁽¹⁰⁾ However, only four (8%) isolates were found resistant to ciprofloxacin (a new fluoroquinolone).

Similar finding were reported earlier by⁽¹¹⁾ concerning the encouraging results of the drug on this bacteria. Results concerning the remaining drug except neomycin, amikacin and polymyxin B were in agreement with⁽¹⁰⁾ in that these antibacterial agents have no activity on of *P. aeruginosa* and therefore have no clinical value in treating patients of otitis media caused by this pathogen. All the local isolates were examined against piperacillin, ceftazidime, ciprofloxacin, gentamicin, tobramycin and amikacin to determine their MIC (Table-1). This test could probably reflect more accurately the antimicrobial susceptibility of bacteria than that of disc diffusion test⁽¹²⁾. The results of amikacin were different. Certain isolates that shown to be resistant in disc diffusion test were found here to be susceptible in this test. While 3 isolates in disc diffusion test were resistant, 10 isolates were nonsusceptible to amikacin as revealed by the agar dilution method.

Shawan et al. (1999) have shown that among 1240 *P. aeruginosa* collected from multicenter study in U.S. that 13.1% of the isolates exhibited resistance to amikacin. Results dealt with tobramycin were also different and resembled those amikacin. For example there were 19 isolates exhibited resistance in antibiogram test whereas 27 isolates were found to be resistant to this drug as was detected by the agar diffusion test the elevation of the MIC values obtained concerning tobramycin came along with the results of (2). On the other hand there were 34 local isolates of this bacteria showed resistance to gentamicin whereas only 26 isolates were resistant to this drug in antibiogram test. High resistant *P. aeruginosa* isolates to gentamicin have been described earlier by many workers like (14). The above gave an impression that amikacin and tobramycin were superior to gentamicin for treatment of cases of otitis media caused by *P. aeruginosa*.

Result concerning ciprofloxacin showed a different values between antibiogram and the agar dilution methods. Four isolates (8%) were resistant as revealed by the former test while in the difold dilution test the number of isolates increased to 11 (22%). In Italy, (11) reported that 83 % out of 334 isolates of this bacteria were nonsusceptible to this development in our local *P. aeruginosa*. Isolates to ciprofloxacin which is considered as one of the most effective quinolones against this bacteria (11). Piperacillin and ceftazidime were less affective against this bacteria. Results obtained from the two different methods to the fact of the wide common use of b-lactam antibiotics leading to high level resistance through acquisition of cross-resistance elements. Our results were approximate to those reported before by other investigators (15).

It can be concluded that antibiotic disc diffusion as revealed in this work is not a highly appreciated method to deect the suseptibility of isolates towards antimicrobial agents used.

Two- β lactamase inhibitors "tazobactam and clavuanic acid" were tested against some resistant isolates of *P.aeruginosa*. Pipracillin to tazobactam (tazocin) was commercially prepared in 8:1 ratio *P. aeruginosa*. That exhibited resistance to pipracillin in MIC test were examined. Results of this test are listed in (Table-2 and Fig.2). It was clear that out of 37 isolates the antibiotic has got back its potential against 22 isolates. An equal finding was reported by (16) elsewhere, who obtained good activity of this mixture against *P.aeruginosa*. Our result show that 15 isolates of this bacteria still maintained their high MIC values in the presence of tazobactam. This could be attributed as stated earlier by (17) to the relative

impermeability to the β -lactamase antibiotics and might also be contributed to the lack of potentiation against *P. aeruginosa* of this inhibitor.

Clavulanic acid that used in combination with piperacillin (Table-2 and Fig.2) and with ceftazidime (Table 3 and Fig. 3) at ratios of 1:1 and 2:1 have been studied and best results were obtained with ratio 2:1 therefore, the other concentrations were not tested any further. Piperacillin with clavulanic acid (2:1) showed a high activity in decreasing MIC values of the nonsusceptible isolates.

The results demonstrated that out 41 isolates which were not susceptible to ceftazidime, the antibiotic regained its activity against 11 isolates (27%) of *P. aeruginosa*. Similar observations concerning the two antibiotics were reported earlier by^(18,19) respectively. Our result exhibited that 70% and 74% of the local *P.aeruginosa* isolates maintained their resistance to piperacillin and ceftazidime even in the presence of clavulanic acid. This problem could be attributed to the secretion of β -lactamase of chromosomal origin that can not be inactivated by the inhibitor and/ or to the production of the class I β -lactamase that is not inhibited by each of the inhibitors along with a porin mutation as was mentioned by⁽²⁰⁾. However, this study suggested that the use of piperacillin/ clavulanic acid on our *P.aeruginosa* isolates. The agar-dilution checkerboard assay was used to detect the interaction of antimicrobial agent according to "FIC" indices. piperacillin was combined with gentamicin and ceftazidime with tobramycin. Table (4) and (5) figures (4) and (5) show the results of this study. Each combination gave excellent results against local *P.aeruginosa*. Results of piperacillin/ gentamicin revealed that out of 28 isolates (resistant to both of these drugs) 25 isolates were synergistic, 2 were additive and only one isolate showed indifferent effect. This result confirmed that piperacillin and gentamicin produced a synergistic effect. Hence this finding was in agreement with the work of⁽²¹⁾. Moreover, the combination of ceftazidime/ tobramycin showed a dramatic effect. Among 20 isolates of this bacteria which exhibited resistance to both drugs the result revealed that there were 15 isolates with synergism, 3 with addition, 1 indifference and one isolate showed antagonism effects. This result was close to that reported by⁽²⁾.

Our finding showed that combination of piperacillin with gentamicin gave better activity than the combination of ceftazidime and tobramycin this could lead to say that combination antipseudomonal penicillins were more effective than combination of antipseudomonal cephalosporines to produce synergistic with aminoglycosides. Therefore, the use of combination therapy that has synergistic or additive effect as revealed by this work may

be a strategy for treating patients of otitis media caused by multiply resistant *P.aeruginosa*.

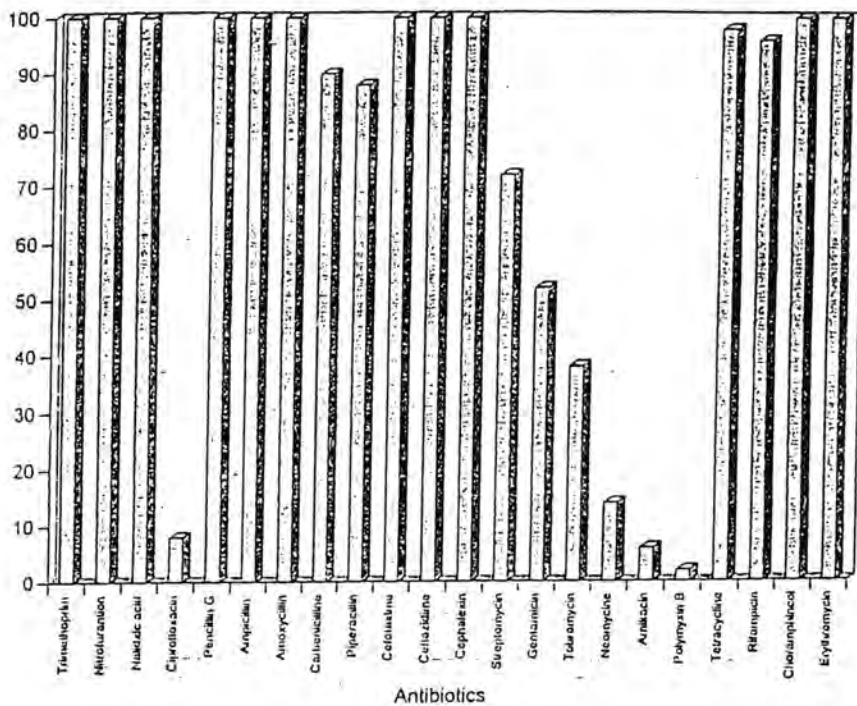


Figure (1): Percentage of Resistant Isolates to Antibiotics

Effect of Some β -Lactamase Inhibitors and the Combined Action of Some Antimicrobial Agents on Pseudomonas aeruginosa Isolated From Cases of Otitis Media

S. F. JAZRAWI and H. H. KHANAKA

Table (1)

| Antibiotics | Amikacin | Tobramycin | Gentamicin | Ciprofloxacin | Piperacillin | Ceftazidime |
|--|----------|------------|------------|---------------|--------------|-------------|
| Isolate No. Break points ($\mu\text{g/ml}$)* | >16 | >8 | >16 | >2 | >64 | >16 |
| 1 | 16 | 4 | 16 | 2 | 32 | 64 |
| 2 | 16 | 4 | 128 | 2 | 128 | 128 |
| 3 | 16 | 8 | 128 | 1 | 64 | 32 |
| 4 | 8 | 4 | 64 | 2 | 64 | 32 |
| 5 | 8 | 4 | 16 | 8 | 128 | 512 |
| 6 | 8 | 8 | 128 | 4 | 128 | 64 |
| 7 | 16 | 128 | 1024 | 1 | 128 | 16 |
| 8 | 16 | 8 | 128 | 8 | 128 | 64 |
| 9 | 16 | 8 | 128 | 8 | 128 | 32 |
| 10 | 8 | 8 | 128 | 2 | 128 | 32 |
| 11 | 64 | 4 | 16 | 2 | 256 | 128 |
| 12 | 8 | 32 | 32 | 0.5 | 1024 | 64 |
| 13 | 8 | 4 | 16 | 2 | 64 | 64 |
| 14 | 64 | 4 | 32 | 2 | 1024 | 1024 |
| 15 | 32 | 128 | 1024 | 2 | 256 | 256 |
| 16 | 8 | 16 | 512 | 4 | 1024 | 512 |
| 17 | 8 | 4 | 16 | 2 | 32 | 256 |
| 18 | 16 | 16 | 8 | 2 | 256 | 128 |
| 19 | 32 | 128 | 1024 | 2 | 1024 | 512 |
| 20 | 16 | 4 | 16 | 2 | 1024 | 128 |
| 21 | 16 | 32 | 16 | 2 | 1024 | 512 |
| 22 | 16 | 8 | 64 | 2 | 64 | 128 |
| 23 | 16 | 16 | 16 | 2 | 512 | 32 |
| 24 | 16 | 4 | 1024 | 0.5 | 128 | 128 |
| 25 | 16 | 16 | 8 | 2 | 64 | 128 |
| 26 | 16 | 8 | 512 | 2 | 512 | 256 |
| 27 | 16 | 8 | 16 | 1 | 64 | 128 |
| 28 | 16 | 8 | 128 | 2 | 128 | 128 |
| 29 | 16 | 16 | 32 | 2 | 64 | 32 |
| 30 | 16 | 16 | 64 | 0.5 | 64 | 16 |
| 31 | 16 | 32 | 128 | 2 | 64 | 1024 |
| 32 | 16 | 32 | 64 | 2 | 512 | 16 |
| 33 | 16 | 16 | 64 | 2 | 256 | 256 |
| 34 | 16 | 4 | 64 | 1 | 128 | 16 |
| 35 | 16 | 16 | 128 | 2 | 256 | 128 |
| 36 | 16 | 32 | 128 | 2 | 256 | 128 |
| 37 | 32 | 32 | 128 | 2 | 512 | 256 |
| 38 | 64 | 32 | 128 | 2 | 256 | 256 |
| 39 | 32 | 32 | 1024 | 8 | 256 | 128 |
| 40 | 16 | 8 | 1024 | 4 | 256 | 1024 |
| 41 | 16 | 8 | 8 | 8 | 512 | 512 |
| 42 | 16 | 32 | 8 | 8 | 64 | 8 |
| 43 | 16 | 8 | 8 | 2 | 256 | 8 |
| 44 | 16 | 32 | 8 | 1 | 64 | 16 |
| 45 | 16 | 32 | 8 | 1 | 128 | 16 |
| 46 | 16 | 64 | 1024 | 1 | 512 | 64 |
| 47 | 64 | 16 | 512 | 4 | 128 | 256 |
| 48 | 32 | 64 | 512 | 4 | 256 | 16 |
| 49 | 8 | 16 | 128 | 2 | 128 | 64 |
| 50 | 32 | 32 | 64 | 2 | 512 | 256 |
| TCC 27853 <i>P.aeruginosa</i> | 8 | 4 | 8 | 2 | 64 | 16 |

From NCCLS (1998), including intermediate resistant categories.

Table (2): Comparative susceptibilities of 37 isolates to piperacillin, Tazocin and piperacillin/ Clvulanic acid combinations ($\mu\text{g/ml}$)

| Isolate No. | Pip. | Taz. | Pip _c | Isolate No. | Pip. | Taz. | Pip _c | Isolate No. | Pip. | Taz. | Pip _c |
|-------------|------|------|------------------|-------------|------|------|------------------|-------------|------|------|------------------|
| 2 | 128 | 64 | 128 | 16 | 1024 | 256 | 512 | 37 | 512 | 128 | 256 |
| 5 | 128 | 64 | 128 | 20 | 1024 | 512 | 512 | 38 | 256 | 64 | 128 |
| 6 | 128 | 64 | 128 | 31 | 1024 | 256 | 8 | 39 | 256 | 128 | 64 |
| 7 | 128 | 16 | 128 | 32 | 512 | 512 | 512 | 40 | 256 | 128 | 256 |
| 8 | 128 | 8 | 8 | 24 | 128 | 64 | 128 | 41 | 512 | 64 | 32 |
| 9 | 128 | 32 | 64 | 26 | 512 | 128 | 256 | 43 | 256 | 32 | 256 |
| 10 | 128 | 64 | 128 | 28 | 128 | 64 | 32 | 45 | 128 | 8 | 256 |
| 11 | 256 | 32 | 128 | 32 | 512 | 128 | 256 | 46 | 512 | 32 | 128 |
| 12 | 1024 | 128 | 256 | 33 | 256 | 32 | 32 | 47 | 128 | 64 | 128 |
| 14 | 1024 | 128 | 8 | 34 | 128 | 32 | 128 | 48 | 256 | 128 | 32 |
| 15 | 256 | 32 | 32 | 35 | 256 | 256 | 256 | 49 | 128 | 64 | 32 |
| 16 | 1024 | 128 | 256 | 36 | 256 | 64 | 128 | 50 | 512 | 128 | 256 |
| 18 | 256 | 64 | 128 | | | | | | | | |

Pip = Piperacillin alone.

Taz = Tazocin (piperacillin + tazobactam) prepared commercially as (8:1).

Pip_c = piperacillin + clavulanic acid (2:1).

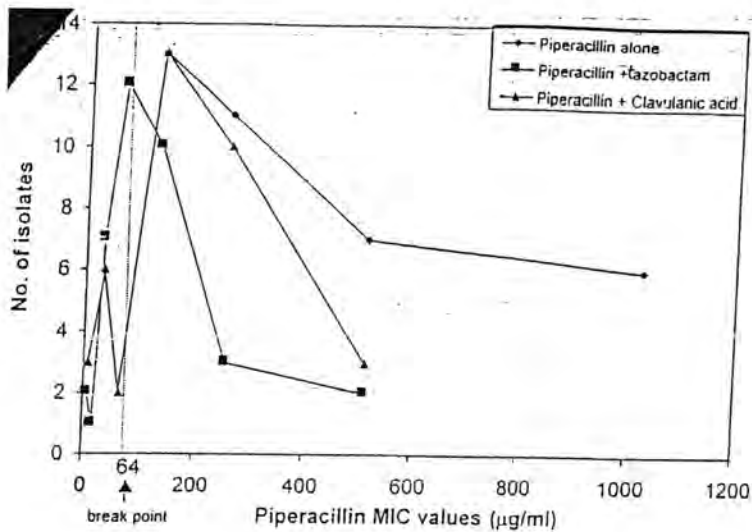


Figure (2) : Piperacillin and Piperacillin/ β -lactamase Inhibitors MIC frequency distribution for 37 *P. aeruginosa* isolates

Table (3) : Comparative susceptibilities of 41 isolates to ceftazidime and ceftazidime / clavulanic acid combination ($\mu\text{g/ml}$)

| Isolate No. | Caz | Caz _c | Isolate No. | Caz | Caz _c | Isolate No. | Caz | Caz _c | Isolate No. | Caz | Caz _c |
|-------------|-----|------------------|-------------|------|------------------|-------------|------|------------------|-------------|------|------------------|
| 1 | 64 | 32 | 12 | 64 | 8 | 22 | 128 | 64 | 35 | 128 | 128 |
| 2 | 128 | 128 | 13 | 64 | 32 | 23 | 32 | 32 | 36 | 128 | 128 |
| 3 | 32 | 32 | 14 | 1024 | 8 | 24 | 128 | 64 | 37 | 256 | 64 |
| 4 | 32 | 32 | 15 | 256 | 16 | 25 | 128 | 64 | 38 | 256 | 128 |
| 5 | 512 | 256 | 16 | 512 | 16 | 26 | 256 | 128 | 39 | 128 | 64 |
| 6 | 64 | 64 | 17 | 256 | 64 | 27 | 128 | 16 | 40 | 1024 | 512 |
| 8 | 64 | 8 | 18 | 128 | 128 | 28 | 128 | 32 | 41 | 512 | 64 |
| 9 | 32 | 32 | 19 | 512 | 256 | 29 | 32 | 16 | 46 | 64 | 32 |
| 10 | 32 | 32 | 20 | 128 | 128 | 31 | 1024 | 8 | 47 | 256 | 128 |
| 11 | 128 | 64 | 21 | 512 | 8 | 33 | 256 | 16 | 49 | 64 | 8 |
| | | | | | | | | | 50 | 256 | 64 |

Caz = Ceftazidime alone.

Caz_c = ceftazidime + clavulanic acid (2:1)

Table (4) Effect of a combination of piperacillin with gentamicin against 28 local isolates of *P.aeruginosa*

| Isolate No. | Pip _(a) (µg/ml) | Pip _(c) (µg/ml) | Gen _(a) (µg/ml) | Gen _(c) (µg/ml) | FIC [*] Index | Effect * |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------|--------------|
| 2 | 128 | 4 | 128 | 8 | 0.093 | Synergy |
| 6 | 128 | 2 | 128 | 4 | 0.046 | Synergy |
| 7 | 128 | 8 | 1024 | 16 | 0.078 | Synergy |
| 8 | 128 | 4 | 128 | 8 | 0.093 | Synergy |
| 9 | 128 | 8 | 128 | 16 | 0.187 | Synergy |
| 10 | 128 | 4 | 128 | 8 | 0.093 | Synergy |
| 12 | 1024 | 2 | 32 | 4 | 0.126 | Synergy |
| 14 | 1024 | 4 | 32 | 8 | 0.253 | Synergy |
| 15 | 256 | 32 | 1024 | 64 | 0.187 | Synergy |
| 16 | 1024 | 16 | 512 | 32 | 0.078 | Synergy |
| 19 | 1024 | 256 | 1024 | 512 | 0.75 | Addition |
| 24 | 128 | 8 | 1024 | 16 | 0.078 | Synergy |
| 26 | 512 | 256 | 512 | 128 | 0.75 | Addition |
| 28 | 128 | 4 | 128 | 8 | 0.093 | Synergy |
| 32 | 512 | 4 | 64 | 8 | 0.132 | Synergy |
| 33 | 256 | 4 | 64 | 8 | 0.14 | Synergy |
| 34 | 128 | 4 | 64 | 8 | 0.156 | Synergy |
| 35 | 256 | 4 | 128 | 8 | 0.078 | Synergy |
| 36 | 256 | 16 | 128 | 32 | 0.312 | Synergy |
| 37 | 512 | 4 | 128 | 8 | 0.07 | Synergy |
| 38 | 256 | 4 | 128 | 8 | 0.078 | Synergy |
| 39 | 256 | 8 | 1024 | 16 | 0.046 | Synergy |
| 40 | 256 | 256 | 1024 | 512 | 1.5 | Indifference |
| 46 | 512 | 16 | 1024 | 32 | 0.062 | Synergy |
| 47 | 128 | 16 | 512 | 32 | 0.187 | Synergy |
| 48 | 256 | 16 | 512 | 32 | 0.125 | Synergy |
| 49 | 128 | 2 | 128 | 4 | 0.046 | Synergy |
| 50 | 512 | 16 | 64 | 8 | 0.156 | Synergy |

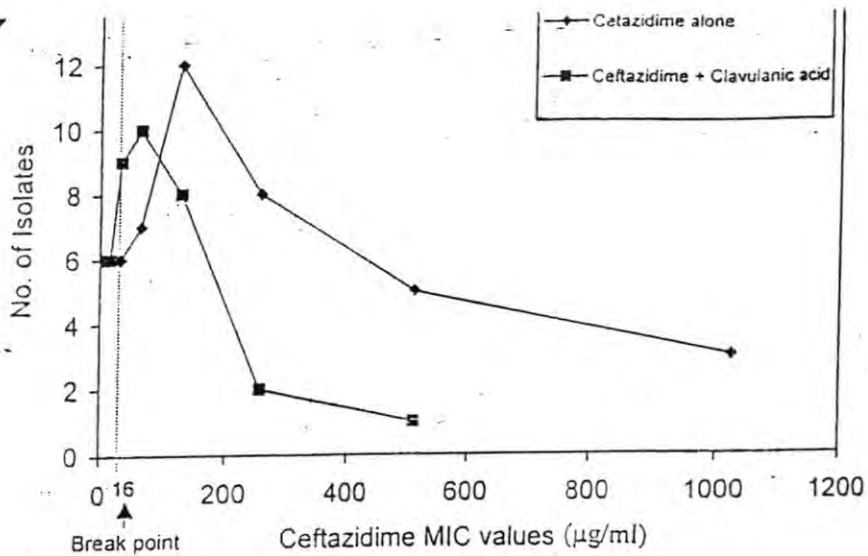
Pip_(a) = Piperacillin alone, Pip_(c) = Piperacillin in combination, Gen_(a) = Gentamicin alone, Gen_(c) = Gentamicin in combination, FIC = Calculated as mentioned in chapter 3

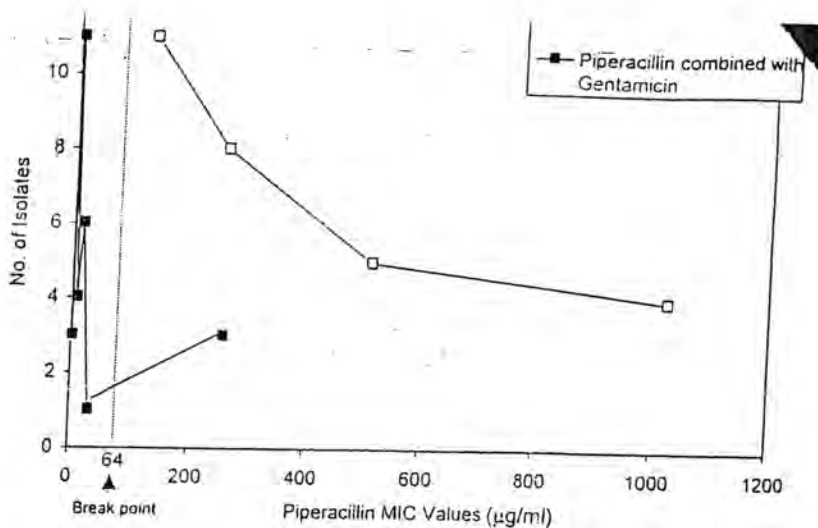
* Koneman et al. (1992) have provided definitions of the types of interactions and effects that may result, including:

1. Indifferent: the results with two drugs is equal to the result with the most effective drug by itself.
2. Antagonistic: the result with two drugs is significantly less than best individual response.
3. Additive: the result with two drugs is equal to combined action of each of the drugs used separately.
4. Synergistic: the result with two drugs is significantly better than the additive response.

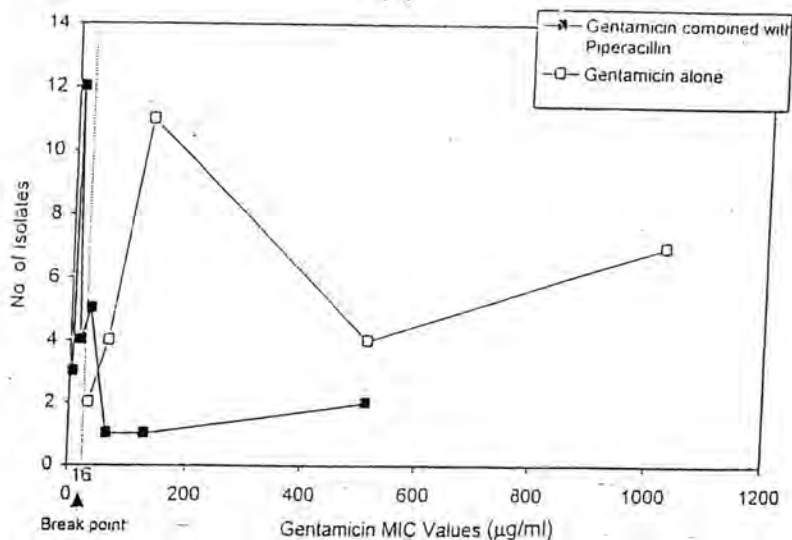
Effect of Some β -Lactamase Inhibitors and the Combined Action of Some Antimicrobial Agents on Pseudomonas aeruginosa Isolated From Cases of Otitis Media

S. F. JAZRAWI and H. H. KHANAKA





(A)

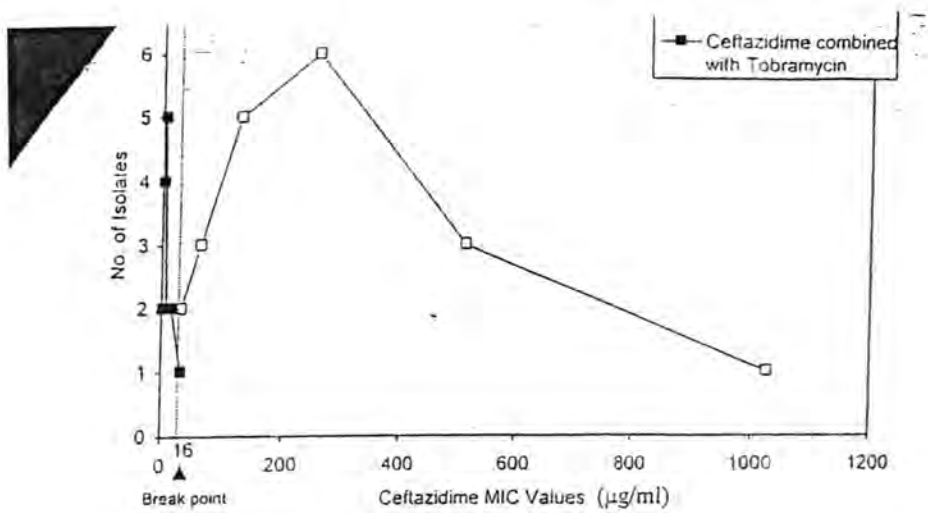


(B)

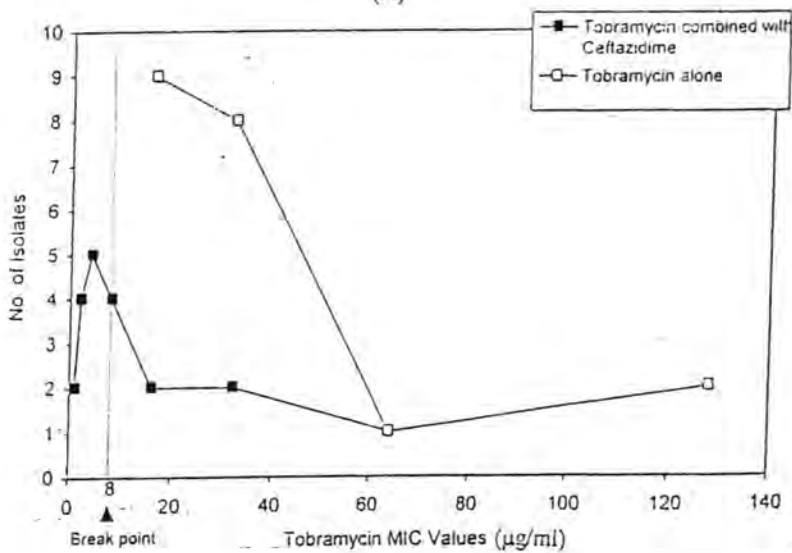
Figure (4): Decreasing the MIC values using Piperacillin/Gentamicin Combination against local *P. aeruginosa*. In (A) the difference between the use of piperacillin alone and in combination with gentamicin. In (B) the difference between the use of gentamicin alone and in combination with piperacillin.

Effect of Some β -Lactamase Inhibitors and the Combined Action of Some Antimicrobial Agents on Pseudomonas aeruginosa Isolated From Cases of Otitis Media

S. F. JAZRAWI and H. H. KHANAKA



(A)



(B)

Figure (5): Decreasing the MIC values using Ceftazidime/Tobramycin combination against local *P. aeruginosa*. In (A) the difference between the use of ceftazidime alone and in combination with tobramycin. In (B) the difference between the use of tobramycin alone and in combination with ceftazidime.

Table (5) : Effect of combination of ceftazidime with tobramycin against 20 local isolates of *P.aeruginosa*

| Isolate No. | Caz _(a) (µg/ml) | Caz _(c) (µg/ml) | Tob _(a) (µg/ml) | Tob _(c) (µg/ml) | FIC Index | Effect * |
|-------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------|--------------|
| 12 | 64 | 1 | 32 | 2 | 0.078 | Synergy |
| 15 | 256 | 16 | 128 | 32 | 0.312 | Synergy |
| 16 | 512 | 4 | 16 | 8 | 0.507 | Addition |
| 18 | 128 | 1 | 16 | 2 | 0.132 | Synergy |
| 19 | 512 | 8 | 128 | 16 | 0.14 | Synergy |
| 21 | 512 | 32 | 32 | 64 | 2.06 | Antagonism |
| 23 | 32 | 0.5 | 16 | 1 | 0.078 | Synergy |
| 25 | 128 | 0.5 | 16 | 1 | 0.066 | Synergy |
| 29 | 32 | 1 | 16 | 2 | 0.156 | Synergy |
| 31 | 1024 | 4 | 32 | 8 | 0.253 | Synergy |
| 33 | 256 | 4 | 16 | 8 | 0.515 | Addition |
| 35 | 128 | 1 | 16 | 2 | 0.132 | Synergy |
| 36 | 128 | 2 | 32 | 4 | 0.14 | Synergy |
| 37 | 256 | 8 | 32 | 16 | 0.531 | Addition |
| 38 | 256 | 16 | 32 | 32 | 1.062 | Indifference |
| 39 | 128 | 4 | 32 | 8 | 0.281 | Synergy |
| 46 | 64 | 2 | 64 | 4 | 0.093 | Synergy |
| 47 | 256 | 2 | 16 | 4 | 0.257 | Synergy |
| 49 | 64 | 4 | 16 | 4 | 0.312 | Synergy |
| 50 | 256 | 2 | 32 | 4 | 0.132 | Synergy |

Caz_(a) = ceftazidime alone, Caz_(c)=ceftazidime in combination, Tob_(a) = Tobramycin alone

Tob_(c) = Tobramycin in combination, FIC Index = Calculated in chapter 3.

REFERENCES

1. Hegggers, J.; Haydon, S.; Garp, S. and Robson, M. *P.aeruginosa* exotoxin its role in retardation of wound healing. *J Burn Care Rehabil* 13: 212-218, (1992).
2. Hollander J.; Goor, M.; Verbrugh, H. and Mouton, J. Synergism between tobramycin and ceftazidime against a resisant *P.aeruginosa* strain tested in an *in vitro*-pharmacokinetic model. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41: 95-100, (1997).
3. Gates, A. Acute otitis media and with effusion. In, Cummings, C. W. Fredrikson, J.M.; Harker, L.; Jrause, C. and Schuller, D. *Otolaryngology head and Neck Surgery.* 3rd ed. St Louis, CV. Mosby. Pp. 2808-2822 (1998).

4. Baron, E; Finegold, S. and Peterson, L. Baily and Scott's Diagnostic Microbiology. 9th ed. Mosby Company. Missouri. Pp. 389. 395 (1987).
5. Presscott, L.; Harley, J. and Klein, D. Microbiology. 1st. ed. Wm. C. Brown. U.S.A. pp. 123, 430, 575, (1990).
6. Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W. and Scherekenberger, P. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 4th ed. J. B. Lippincott Company, Philadelphia. (1992).
7. Pera, E.; Nogales, M. and Lague, I. Interaction of aminoglycoside and cephalosporins against *P.aeruginosa* Corelation between interaction index and killing curve. J. Antimicrob. Chemother. 22: 175-183, (1998).
8. Vahaboglu, H.; Ozturk, R.; Yaman, A. and Otkum, M. Widespread detection of PER,-1- type extended spectrum β -latamase among nosocomial *Acinetobater* and *P.aeruginosa* isolates in Tuskey; a nationwide multicenter study. Antimicrob. Agents Chemother. 41: 2265-2269, (1997).
9. Alekshun, M. and Levy, S. Regulation of chromsomalyy mediated multiple antibiotic resistance: the mar regulon. Antimicrob Agents Chemother. 41: 2067-2075, (1997).
10. Laurance, D.; Bennett, P. and Brown, M. Clinical Pharmacology 8th. Ed. Churchill Livingston. London, (1997).
11. Mounceimne, H.; Robert, J. and Cambau, E.; Type II topoisomerase mutations in ciprofloxacin-resistant strains of *P.aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother, 43: 62-66, (1999).
12. Hu, F. and Luh, K. *P.aeruginosa* isoalted cornealucler: suseceptibility to antimicrobial agents tested alone or in combination J. Formosan Med. Assoc. 91: 190-194, (1992).
13. Shaeen, R.; Burns, J.; Stap, J. and Tanaka, S. Activies of tobramycin and six other antibiotics against *P.aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. Antimicrob. Agents Chemother, 43: 2877-2880, (1999).
14. Segatore, B.; Setacci, D.; Desantis, A. and Amicosacte, G. Italian survey on comparative levofloxacin suseptility in 334 cliucal isolates of *P.aerufinosa*. Antimicrob Agents Chemther. 43: 428-431, (1999).
15. Hsueh, P.; Teny, L.; Yan, P. Ho, S. and Luh, K Persistence of a multidrug resistance *P.aeruginosa* clone in an intensive care burn unit. J. Clin. Microbiol. 36: 1347-1351, (1998).
16. Birawskka, I.; Fuchs, J. and Szulakowska, E. Evaluation of *in vitro* susceptibility of hospital bacterial isolates to piperacillin and tazocin (piperacillin/ tazobactam). Med. Dosw. Mikrobiol. 50; 41-46, (1998).

17. Hall, M.; Gur, D.; Akova, M. and Akalin, H. Oxa-11, an extended-spectrum variant of OXA-10 (PSE-2) β -lactamase from *P.aeruginosa* Antimicrob. Agents Chemother. 37: 1637-1644, (1993).
18. Nass, T.; Poirel, L.; Ronco, E. and Nordmann, P. An SHV-derived extended spectrum β -lactamase in *P.aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 43: 1281-1284 (1999).
19. Al-Kuffash, S. Genetic study of extended spectrum β -lactamases in *E. coli*. MSc. Thesis. Al-Mustansyria University. Baghdad-Iraq, (1999).
20. Daley, D.; Munro, R.; Smith, H. and Dimech, W. An evaluation of the *in vitro* activity of piperacillin/ tazobactam. Pathol. 28: 167-172. 21, (1996).
21. Carmel, Y.; Troillet, N. and Samore, M. Emergence of antibiotic-resistant *P. aeruginosa* comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. Antimicrob. Agents Chemother. 43: 1379-1382, (1999).

On m^* and m -Semi Pure Fuzzy Subgroups of Abelian Group

SABA NASER MEGEED

Mathematics Department, College of Education - Ibn Al-Haitham,
Baghdad University,
Baghdad - Iraq

ABSTRACT

In this paper we study new kinds fuzzy subgroups of abelian group, which are called m^* - Fuzzy subgroups and m -semi pure fuzzy subgroups. We introduce some properties about these fuzzy subgroups and study the relation of m^* , with m^* and m -semi pure fuzzy subgroups.

الخلاصة

في هذا البحث درسنا أنواع جديدة من الزمر الجزئية الضبابية للزمرة الإبدالية والتي تسمى الزمر الجزئية الضبابية من نوع m^* و m -شبه الخالصة. قمنا بدراسة بعض الخواص لهذه الزمر الجزئية الضبابية وعلاقة الزمرة الجزئية من نوع m^* بالزمر الجزئية الضبابية m^* و m -شبه الخالصة.

INTRODUCTION

Through this paper, G will denote abelian group, and I is the unit interval $[0,1]$, let $\Lambda: G \rightarrow I$ be a fuzzy subset of G . If $x \in G$ and $t \in [0,1]$, then the fuzzy subset x_t of G defined by $x_t(y) = t$ if $x = y$ and $x_t(y) = 0$ if $x \neq y$ is called a fuzzy singleton. Let A and B be a fuzzy subsets of G , we say that $A \subseteq B$ if and only if $A(x) \leq B(x) \forall x \in G$ and the intersection of A and B defined by $(A \cap B)(x) = \min \{A(x), B(x)\} \forall x \in G$, the union of A and B defined by $(A \cup B)(x) = \max \{A(x), B(x)\} \forall x \in G$. A fuzzy subset A of G is called fuzzy subgroup if and only if $\forall x, y \in G A(x+y) \geq \min \{A(x), A(y)\}$ and $A(-x) = A(x)$. For $t \in [0,1]$ let $A_t = \{x \in G \mid A(x) \geq t\}$, let $A_* = \{x \in G \mid A(x) = A(0)\}$ and $A^* = \{x \in G \mid A(x) > 0\}$, then A_t, A_* and A^* are subgroups of G . Let $\mathcal{C}(A) = \{C \mid C \text{ fuzzy subgroup of } G \text{ such that } C \subseteq A \text{ and } C(0) = A(0)\}$. Let Z^+, A, Z_e and P denote the positive integers, integer numbers, even numbers and prime numbers respectively.

Definition 1.1 [2]: Let A be a fuzzy subset and $n \in \mathbb{N}$. Define the fuzzy subset nA of G by $\forall x \in G, (nA)(x) = \sup \{A(y) \mid y \in G, x = ny\}$ if $x \in nG$ and $(nA)(x) = 0$ if $x \notin nG$.

Definition 1.2 [2]: A fuzzy subset A is said to have the sup. Property if every subset of image A has a maximal element.

Proposition 1.3 [2], [4]: Let A and B be fuzzy subsets and $n \in \mathbb{N}$. Then:

1. $nA \subseteq A$
2. $A=B$ if and only if $A_t = B_t, \forall t \in (0, A(0))$
3. If A has the sup. property, then $nA_t = (nA)_t, \forall t \in (0, A(0))$.
4. A is a fuzzy subgroup of G , if and only if A_t is a subgroup of $G \forall t \in (0, A(0))$.

Definition 1.4 [2] Let $B \in \mathcal{F}(A)$. Then:

1. B is said to be pure in A if and only if $\forall x_t \subseteq A$ with $t > 0, \forall n \in \mathbb{N}, \forall y_t \subseteq A, n(y_t) = x_t$ implies that $\exists b_t \subseteq B$ such that $n(b_t) = x_t$.
2. B is said to be neat in A if and only if $\forall x_t \subseteq B$ with $t > 0, \forall p$, prime number,
 $\forall y_t \subseteq A, p(y_t) = x_t$ implies that $\exists b_t \subseteq B$ such that $p(b_t) = x_t$.

Definition 1.5 [3]: Let m be a fixed integer, let A and B be fuzzy subgroups of G such that $B \in \mathcal{F}(A)$ and A, B have the sup. property, then B is said to be m^* -fuzzy subgroup in A if and only if $mA = mB$.

Proposition 1.6 [3]: Let $B \in \mathcal{F}(A)$, let A and B have the sup. property, $m \in \mathbb{N}$. If B is m^* -fuzzy subgroup in A , then $mA \cap B = mB$.

2. On m^* -Fuzzy Subgroups of Abelian Group

Definition 2.1: Let m be a fixed positive integer, let A and B be fuzzy subgroups of G such that $B \in \mathcal{F}(A)$ and A has the sup. property, then B is said to be a m^* -fuzzy subgroup if and only if $mA \subseteq B$

Remark 2.2

It is clear that every m^* -fuzzy subgroup is a m^* -fuzzy subgroup, but the converse is not true by the following example:

Example 2.3: Let $G = (Z,+)$. Define fuzzy sets A and B where A, B have the sup. property as follos:

$$A(x) = 1 \quad \forall x \in Z$$

$$B(x) = \begin{cases} 1 & \text{if } x = 0 \\ 1/2 & \text{if } x \in Z_e - \{0\} \\ 0 & \text{otherwise} \end{cases}$$

It is clear that $B \subseteq A$ and $\forall t \in (0, A(0)]$ we have $A_t = Z, B_t = Z_e$. Since A_t, B_t subgroups of G , then A, B are fuzzy subgroups G - by proposition (1.3(4)). Now, $2A_t \subseteq B_t$ is a 2^* -subgroup, hence B is a 2^* -fuzzy subgroup, but $\forall m \in Z^+$ we have $mB_t \neq mA_t$, so $mA \neq mB$ therefor B is not m^* -fuzzy subgroup.

Proposition 2.4: Let $B \in \mathcal{F}(A), A$ has the sup. property and $m \in N$. Then:

1. B is a m^* -fuzzy subgroup of G if and only if B_t is a m^* -subgroup of $G \quad \forall t \in (0, A(0)]$.
2. B is a m^* -fuzzy subgroup of G if and only if B^* is a m^* -subgroup of G .
3. If B is a m^* -fuzzy subgroup of G , then B^* is a m^* -subgroup of G .

Proof:

1. B is a m^* -fuzzy subgroup of G if and only if $m \Lambda \subseteq B$ if and only if $(m\Lambda)_t \subseteq B_t \quad \forall t \in (0, A(0)]$ - by Proposition (1.3(2)) if and only if $m \Lambda_t \subseteq B_t$ -by proposition (1.3 (3)) if and only if B_t is a m^* -subgroup of G .
2. Is obvious from part (1) where $B^* = B_{1/B(0)}, t = B(0)$.
3. To prove $m\Lambda^* \subseteq B^*$, let $x \in m\Lambda^*$, so $x = m y$, for some $y \in \Lambda^*$ then $A(y) > 0$, hence $\sup \{A(y) \mid x = m y\} > 0$. then $0 < (m \Lambda)(x) \leq B(x)$, therefore $B(x) > 0$. Thus $x \in B^*$, then $m \Lambda^* \subseteq B^*$.

Proposition 2.5: Let A be a fuzzy subgroup of G , A has the sup. property and $m, n \in Z^+$, then:

1. If $B, C \in \mathcal{F}(A)$ such that $B \subseteq C$ and B is a m^* -fuzzy subgroup, then C is a m^* -fuzzy subgroup.
2. If $\{A_\alpha\}_{\alpha \in \Lambda}$ be a sending chain of m^* -fuzzy subgroup such that $A_\alpha \in \mathcal{F}(A) \forall \alpha \in \Lambda$, then $\bigcup_{\alpha \in \Lambda} A_\alpha$ is also m^* -fuzzy subgroup of G .
3. If $\{A_\alpha\}_{\alpha \in \Lambda}$ be a family of m^* -fuzzy subgroups of G such that $A_\alpha \in \mathcal{F}(A) \forall \alpha \in \Lambda$, then $\bigcap_{\alpha \in \Lambda} A_\alpha$ is also m^* -fuzzy subgroup of G .
4. If $B \in \mathcal{F}(A)$ such B is a m^* -fuzzy subgroup of G and $m \mid n$, then B is a n^* -fuzzy subgroup of G .

Proof:

1. If B is m^* -fuzzy subgroup, so $m A \subseteq B \subseteq C$, hence C is m^* -fuzzy subgroup.

2 Let $B = \bigcup_{\alpha \in \Lambda} A_\alpha$, so $m A \subseteq A_\alpha \subseteq B \forall \alpha \in \Lambda$, therefor B is m^* -fuzzy subgroup.

3 Since $m A \subseteq A_\alpha \forall \alpha \in \Lambda$, so $m A \subseteq \bigcap_{\alpha \in \Lambda} A_\alpha$, thus $\bigcap_{\alpha \in \Lambda} A_\alpha$ is m^* -fuzzy subgroup of G .

4 Since B is a m^* -fuzzy subgroup, so $m A \subseteq B$, we must prove $n A \subseteq B$. let $x_t \subseteq n A$, $t \leq (n A)(x) = \sup \{A(y) \mid x = n y\}$, since A has sup. property thus $\exists y_0 \in G$ such that

$$A(y_0) = \sup \{A(y) \mid x = n y\}, \text{ so } x_t = n(y_0)_t.$$

since $m \mid n$, then $\exists r \in Z^+$ such that $n = m r$, so $x_t = n(y_0)_t = m r(y_0)_t = m, (r y_0)_t$

$$\subseteq m A \subseteq B$$

Then $x_t \subseteq B$, hence $n A \subseteq B$, therefore B is a n^* -fuzzy subgroup

3. On m -Semi Pure Fuzzy Subgroup

Definition 3.1: Let A be a fuzzy subgroup of G and $B \in \mathcal{F}(A)$. For all $x_t \subseteq B$ with $t > 0$ and for some $m \in Z^+$, B is said to be m -semi pure in A if $m \mid x_t$ in A , then $m \mid x_t$ in B .

Remark 3.2: It is clear that every pure (neat) fuzzy subgroup is m (p)-semi pure, but the converse is not true, see Example (2.9) in [3], we show that B is 4*-fuzzy subgroup and hence by Proposition (3.5), B is 4-semi pure in A , but B is not neat in A , consequently B is not pure in A .

Proposition 3.3: Let A be a fuzzy subgroup of G and $B \in \mathcal{F}(A)$, then:

1. B is m -semi pure in A if and only if B_t is m -semi pure in A_t , for some $m \in Z^+$ and $t \in (0, \Lambda(0)]$.
2. If B is m -semi pure in A , then B^* is m -semi pure in A^* .

Proof:

1. B is m -semi pure in A if and only if for some $m \in Z^+, \exists y_t \subseteq A$ with $t > 0$ such that $x_t = m y_t$, then $\exists b_t \subseteq B$ such that $x_t = m b_t$ if and only if $\exists y \in A_t$ with $t > 0$ such that $x = m y$, then $\exists b \in B_t$ such that $x = m b$ if and only if $m \mid x$ in A_t , then $m \mid x$ in B_t if and only if B_t is m -semi pure in A_t .
2. Is obvious from first direction of (1), take $t = B(0) = A(0)$.

Proposition 3.4: Let A be a fuzzy subgroup of G and $B \in \mathcal{F}(A)$, let $m \in Z^+$, then:

1. If A has the sup. property and B is m -semi pure in A , then $m B_t = (mB)_t, \forall t \in (0, \Lambda(0)]$.
2. If A has sup. property and B is m -semi pure in A , then $m B = B \cap m A$.
3. If A, B have the sup. property and $m B = m A \cap B$, then B is m -semi pure in A .
4. If A^* is torsion-free, then B is m -semi pure in A , if and only if $m B = B \cap m A$.

Proof: The prove of this proposition analogous to proposition (3.7) (3.8) in [2].

Now we are introduce the relation between m^* and m -semi pure fuzzy subgroup:

Proposition 3.5: If A, B have the sup. property and B is m^* -fuzzy subgroup in A , then B is m -semi pure in A .

Proof: By proposition (1.6) we have $mB = B \cap mA$, and by Proposition (3.4(3)) B is m -semi pure in A .

Remark 3.6:

The converse of above proposition is not true, see Example (2.8) in [3], where B is pure in A , thus B is m -semi pure but B is not m^* -fuzzy subgroup in A .

REFERENCES

1. Zadeh L.A. , "Fuzzy Sets" Inform. and Control, Vol., 8 pp. 338-353, (1961).
2. Malik D.S., and Mordeson J. N., "Fuzzy Subgroups of Abelian Groups", Chines J.Math., Vol., 19, No. 2 (1991).
3. Mageed S. N., "On m^* -Fuzzy Subgroups of Abelian Groups". To appear.
4. Das P.S., "Fuzzy Groups and Level Subgroups", J. Math. Anal. Appl., Vol. 84, pp. 264-269, (1981).

Brucellosis in Basrah

DR. SAFA M. TALAB , M.B.Ch.B, M.Sc.,
Department of Anatomy, Al-Kindy College of Medicine,
Baghdad - Iraq.

الخلاصة

أجريت دراسة أسترجاجية على 106 حالة مصابة بحمي مالطا خلال الفترة من 1990-1999. أظهرت النتائج زيادة في عدد المرضى خلال السنوات 1995 و 1999. أن معظم الحالات كانت بين الذكور 73 (86 و8 %) ، خاصة الطلاب منهم 31 (7 و40 %) ، الذين تتراوح أعمارهم بين 21-30 سنة. 55 (55 و51 %) من المصابين لديهم تاريخ تلامس مع الحيوانات او منتوجاتها المصابة. لم تظهر الدراسة فرق ملموس في توزيع الحالات بين الريف والمدينة. لقد كانت الأعراض الرئيسية للمرض هي الحمى 106 (1000 %) والصداع 100 (94 %)، وكانت الأعراض الرئيسية للمرض هي التهاب المفاصل 100 (94 %) والشحوب 94 (88 و88 %). نقترح هذه الدراسة التخطيط والتسجيل الممتقن للحالات المرضية في الحيوان والإنسان كخطوة للقضاء على المرض في العراق.

ABSTRACT

A retrospective study was conducted on 106 cases of Brucellosis recorded during the years 1990 - 1999. Results revealed a increase in the number of the recorded cases, particularly during the years 1995 and 1999. The majority of cases were males 73 (86.8 %), of these were students 31 (40.78 %), aged 21-30 years. Only 55(51.55 %) had history of contact with the infected animals and their products. The affected cases were distributed equally in urban and rural areas. The main symptoms were fever 106 (100 %) and headache 100 (94 %). The main signs were Arthritis 100 (94 %) and pallor 94 (88.8 %). It is suggested that a well planned study and registration of the disease in animals and man is essential to eradicate the disease in the country.

INTRODUCTION

Brucellosis is primarily a disease of animals, which is occasionally transmitted to man by direct or indirect contact with infected animals (animal secretion and consumption of infected dairy products respectively) whereas man to man transmission is unusual⁽¹⁾.

Brucellosis is a world wide problem of public health and economic importance⁽²⁾. Though WHO reports indicate half million cases of Brucellosis occur each year world wide, another possibilities of 13 million cases goes either unrecognized or unreported⁽³⁾.

Its causative agent is a Gram negative Coccobacilli, however in Iraq two pathogenic species (*Brucella Abortus* and *Brucella Melitensis*) are common^(4,5).

Brucellosis patients always with no clear history of contact with infected animals and/or consumption of their products, and show no clear symptoms and signs⁽²⁾.

However, Brucellosis considered, intracellular organism therefore treatment is principally directed toward the elimination of these organisms which achieved by penetrating agents or by mainting high extracellular level of antimicrobial agents for long period, though tetracycline is the most effective agent in use⁽⁶⁾.

The mortality rate of Brucellosis is usually low (around 2 %) even prior to treatment⁽²⁾.

PATIENTS AND DATA COFFECTION

Retrospective study (1990 - 1999) was carried out in the four hospitals (saddam Teaching Hospitals, Al-Tahrier Hospital, General Basrah Hospital and Maternity and Child Hospital) at Basrah province, include a survey based on the study of case records of patients discharged from the hospitals above with a professional diagnosis of Brucellosis.

A total of 129 cases of Brucellosis were collected , 23 has been excluded from the study because of incomplete information in their records.

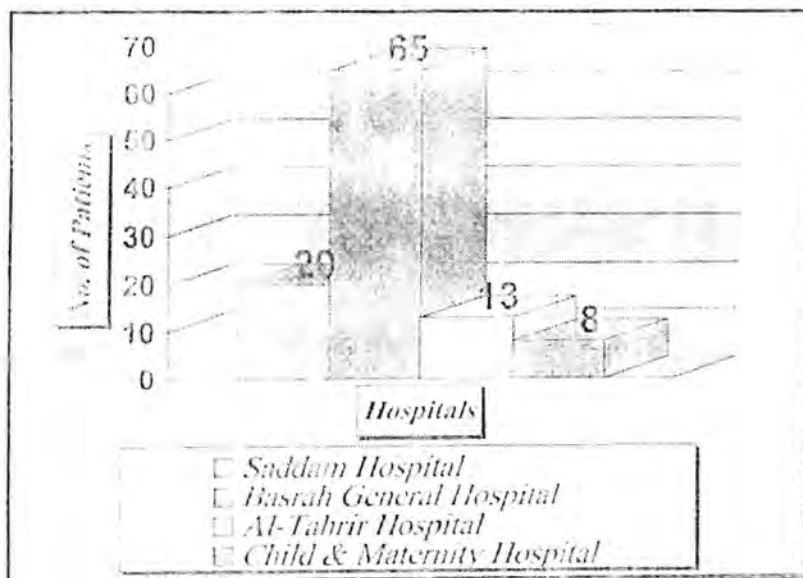
The following informations were considered in this study: age, sex, history of contact, occupation, haematological status, symptoms, signs and treatment.

The present study data analyzed through:

1. T test,
2. α^2 test.
3. Percentage.
4. Means.

RESULTS

The study revealed that, admission rates of Brucellosis cases were higher at General Basrah Hospital than those in the other three hospitals underwent the study (Fig. 1), however (Table 1) showed that, the admission number was the highest during (1998) , whereas sex distribution showed that male 73 (68.8 %) and female 33 (31.12 %) forming male to female ratio 2.2:1.



(Fig. 1): Brucellosis Cases Distribution According to Hospitals.

Although, butchers and veterinarians considered the high risk group to contract Brucellosis. (Table 3) showed that the group of the students was significantly the highest morbid group 42 (39.62 %).

All patients presented with fever 106 (100 %), while Arthritis forming the main sign 100 (94 %) Table 4).

Haematological finding status are shown in (Table 5).

Most of patients had been treated by different regiment, combinations of two or three antimicrobial agents (tetracyclin, co-trimoxazole and streptomycin). However all the discharged patients gain improvement except two cases dies of endocarditis (Table 1).

Table (3): Brucellosis case distribution according to accupation and sex

| Sex | Housewife | Child | Student | Worker | Officer | Vet | Butcher | Total |
|--------|-------------|-------------|----------------|-------------|---------------|----------------|----------------|-------|
| Female | 2 | 4 | 11 | 3 | 5 | 5 | 3 | 33 |
| Male | 5 | 4 | 31 | 6 | 6 | 9 | 12 | 73 |
| Total | 7 (6.6%) | 8 (7.5%) | 42 (39.62%) | 9 (8.4%) | 11 (10.37) | 14 (13.20%) | 15 (14.15%) | 106 |

P > 0.05

Table (4): Clinical Presentation of Brucellosis Patients.

| Symptoms & Signs | No. | % |
|-------------------------|-----|-------|
| Fever | 106 | 100 |
| Headache | 100 | 94 |
| Sweating | 94 | 88.8 |
| Rigor | 82 | 77.7 |
| Weakness | 76 | 72.22 |
| Loss of appetite | 70 | 66.66 |
| Git Symptoms | 58 | 55.55 |
| Cardiovascular Symptoms | 17 | 16.66 |
| Respiratory Symptoms | 6 | 5.55 |
| Arthritis | 100 | 94 |
| Pallor | 94 | 88.88 |
| Splenomegaly | 77 | 72.22 |
| Hepatomegaly | 65 | 61.11 |
| Abdominal Tenderness | 29 | 27.77 |
| Lymphadenitis | 12 | 11.11 |
| Jaundice | 6 | 5.55 |
| Signs of Endocarditis | 2 | 1.88 |
| Orchitis Male | 0 | 0 |

Table (5): Haematological Finding Status 1990-1999.

| Test | Status | Brucellosis pt.No. | % |
|------|--------------|-----------------------|---------|
| | Leukocytosis | - | - |
| WBC | Normal | 66 | 62.26% |
| | Leukopenia | 40 | 37.73 % |
| | Total | 106 | 100 |
| ESR | High | 82 | 77.35 |
| | Normal | 24 | 22.64 |
| | Low | 0 | 0 |
| | Total | 106 | 100 |
| Hb % | Anemic | 79 | 74.52 |
| | Not Anemic | 27 | 25.47 |
| | Total | 106 | 100 |

DISCUSSION

Human Brucellosis is considered as one of the health problems in Iraq, which attributed to many factors such as: the prevalence of animal Brucellosis, raw milk consumption, imperfect processing of milk products and awareness of patients to attend health centers ^(7,8,9).

However, the results of this study revealed that, Brucellosis number was higher in 1998 (21 cases).

Our notification about Brucellosis increased during the last five years, due to an increase in animal Brucellosis. However, this is a constant evidence for increase morbidity from Brucellosis and its sequelae during wartime.

There is an agreement with the most previous studies ^(4,5) in that, Brucellosis was found commonly within males 73 (68.8 %) and in patients who reside rural areas 57 (53.77 %) Table 1.

55 (51.88 %) (Table 1) of cases with clear history of contact with animals and their products. This is parallel with previous studies ⁽⁹⁾, therefore we notified highly active group of patients who aged 21-30 years shows high percent 45 (42.45 %) (Table 2).

The Brucellosis number was high among students 42 (39.62 %) (Table 3), which might be attributed to ingestion of infected rawmilk or its products. However, students performing a wide age group. this result is in discrepency to the result of other studies ⁽⁹⁾.

Most of patients in this study presented with a chief complain of fever 106 (100 %) and headache 100 (94.4 %) which might be due to liberation of Brucella endotoxin following intracellular killing of Brucella in Polymorphonuclear Leukocytes, whereas Arthritis performin the main presenting sign 100 (99.9 %) (Table 4), which is less demonstrated in other studies ^(8,10).

However, most of the involved cases in this study present with symptoms and signs of anaemia (Table 5) which is parallel to what found by other studies ^(9, 10).

Tetracyclin in combination with streptomycin and/or cotrimoxazole were employed for all patients (underwent in this study). Gave an encouraged results for all patients who gain improvement except two cases died of Endocarditis.

In general the picture of this study goes with the idea of "iceberg phenomenon", so the number of the patients for each of the previous years (1990-1999) perform the floating part of the iceberg, which is observed in this study and form just a little part of the real number of patients, whereas the sunken part is the major part and presented by one of the following features, firstly a large number of patients were not registered because they are attend out patients and in private clinics only, secondly, moreover many patients presented with a typical clinical features, which might be due to occupational history as in butcher and abattoir.

REFERENCE

1. Joseph V-Zammit-Maempel Brucellosis Med. Int. Infe. J. 2(2): 85 - 88. (1984).
2. Christie A.B. Infectious Disease: Epidemiology and Clinical Practice, 4th ed. Edinburgh E. and S. Livingstone Limited: 1130, Chapter 32: P. 824 - 844. (1987).
3. Joint FAO/WHO: Expert Committee on Brucellosis. Wld.Hlth. Org. Tech. Rep. Ser. No. 464. (1971)
4. Fox M.D., Kanfman: Brucellosis in USA 1965-1974. US Health Report 39: 312. (1977)

5. Al-Abassi Abdrrdha M. & Alwan Saleh G.: Brucellosis in Baghdad Study of 64 cases J. Comm.Med. 4 (2): 131 - 38. (1991)
6. Ian David Farrel: Brucellosis . Middle East Postgrad. Doctor J. 6 (4): 150 -154. (1983)
7. Al-Nadawi Mahjppb, Al-Beiruti Ayman A.R. & Al-Zuhairi Raa'd A.K.: Childhood Brucellosis in Baghdad. Iraqi M.J.: 36 (3): 395 - 410. (1994)
8. Al-Azawi Hussain S. & Al-Lafi Shehab; A study on Brucellosis in Al-Anbar Governorate J. Fac. Med. 36 (1): 87 - 94. (1994)
9. Qasim Nadim A., Al-Rawi Jamal R. & Numan Nadim Chazal Epidemiological study of Brucellosis in Dayla Governorate J. Comm. Med. Iraq: 8 (1). (1995).
10. E. Crosby L., Liosa M. Miro Guesada, C. Carrille A. Yý& E. Cotuzzo Haematological changes in Brucellosis, J. Inf. Dis. 159 (2): 419 - 23. (1989).

Synthesis of Ibuprofen-Proline Conjugate 1-[2-(4-Isobutylphenyl)-Isopropionyl]-L-Proline

SHAKIR M. ALWAN

Pharm.Chem. Dept.,

College of Pharmacy - University of Baghdad.

الخلاصة

تم تحضير مشتق ايبوبرفين-برولين بواسطة ربط المادتين المذكورتين عن طريق اصرة الامايد. استبدلت مجموعة الكاربوكسيل لعقار الايبوبروفين بمجموعة اسيل كلورايد للعقار المذكور وتم اجراء تفاعل مع الحامض الاميني برولين في وسط قاعدي تحت درجة حرارة (0-5°C) في حوض تليجيز اجريت دراسة كيميائية للتعرف على الصيغة الكيميائية للمشتق الجديد بواسطة تقنيات طيف الاسعة تحت الحمراء وتحليل العناصر (C.H.N.) مع مقارنة بواسطة درجة الانصهار وحركتها في كروماتوغرافيا الرقائق (TLC). يعتبر هذا المشتق الجديد اما احدى مشتقات الايبوبروفين كمضاد للالتهابات كمادة غير ستيرويدية او احدى المشتقات المشابهة لمثبطات الانزيم الانجيوتنسين مثل الكابتوبريل وغيره.

ABSTRACT

Ibuprofen-L-Proline conjugate (1-[2-(4-Isobutylphenyl)-Isopropionyl]-L-Proline) was prepared through activating Ibuprofen Carboxyl group by Thionyl Chloride and reacting Ibuprofen Acylchloride with L-Proline. Characterization of this conjugate was achieved by spectral and element micro analysis as well as by Rf values and melting points. The percent yield was reasonable good (80%). This conjugate is considered as an analogue of Ibuprofen Amide of possible anti-inflammatory and analgesic properties or an analogue of Captopril, the Angiotensin converting enzyme inhibitor.

INTRODUCTION

One of the most interestingly active non-steroidal anti inflammatory compounds have been derived from substituted aryl and heteroaryl Alkanoic and Carboxylic Acids. Esters and Amides of these acids may retain the activity of the parent acids, and this is probably related to the rate of Hydrolysis of these derivatives to the free acid *in vivo*. Most of these acids show objectionable side effects, such as low tolerability at the gastric level and toxicity. These factors being important in a long term therapy.

Ibuprofen (P-Isobutyl Phenyl Propionic Acid) is known to be associated with varying degrees of gastrointestinal intolerance, such as erosion, pre-ulcerous changes and bleeding⁽¹⁻³⁾.

Amino acids have been successfully used as pro-moiety in pro-drug synthesis, because of their nature as endogenous, non-toxic and bifunctional agents.

Amide derivatives of Ibuprofen with Lysine, Glutamic acid, Aspartic acid and M-Trifluoro Toluidine have been found to possess anti inflammatory action, besides their greater tolerability at the gastro intestinal tract and lower toxicity (4, 5). The Amide derivatives of Ketoprofen were also shown to possess anti inflammatory activity and used for the treatment of painful musculoskeletal disorder^(6,7).

L-Prolineamide derivatives with certain acids are successfully used as angiotensin converting enzyme inhibitors^(8, 9). A great similarity was indicated between the proposed novel derivative of Ibuprofen-L-Proline and the known potent series of angiotensin converting enzyme inhibitors^(10, 11).

MATERIALS AND METHODS

Ibuprofen is kindly provided by Samara drug industries. Thionyl Chloride (99-101%) and L-Proline are from BDH Lab. Chemicals, England. All other chemicals were analytical grade.

Melting points were determined (uncorrected) in capillaries using Thomas Hoover melting point apparatus. The IR spectra were recorded using KBr disc on Pye Unicam IR spectrophotometer, Model sp3-100. Elemental microanalysis was done by CHN analyzer, Type 1106, Carlo Erba.

CHEMICAL METHODS

The Amide of Ibuprofen with L-Proline was prepared through activating Ibuprofen Acyl Chloride was reacted with L-Proline forming an Amide.

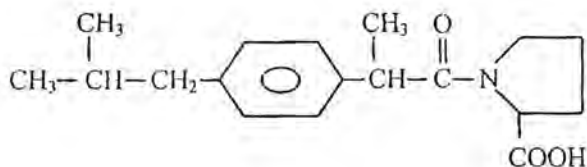
PREPARATION OF P-ISOBUTYL PHENYL PROPIONYL CHLORIDE

This compound was prepared by reacting Ibuprofen (50mM, 10.3g) in Chloroform, (100 ml) with Thionyl Chloride (10ml) added dropwise with continuous stirring during a course of time 20-25 min.

The mixture was then gradually heated up to 75°C for 1h. To follow the reaction mixture was monitored by means of gas trap, until it ceases, which indicate the completion of the reaction. The excess Thionyl Chloride and Chloroform were removed by distillation and the remaining residues comprising the Acyl Chloride of Ibuprofen was collected using dry Acetone, as previously described^(12, 13).

Synthesis of Ibuprofen-L-Proline Conjugate

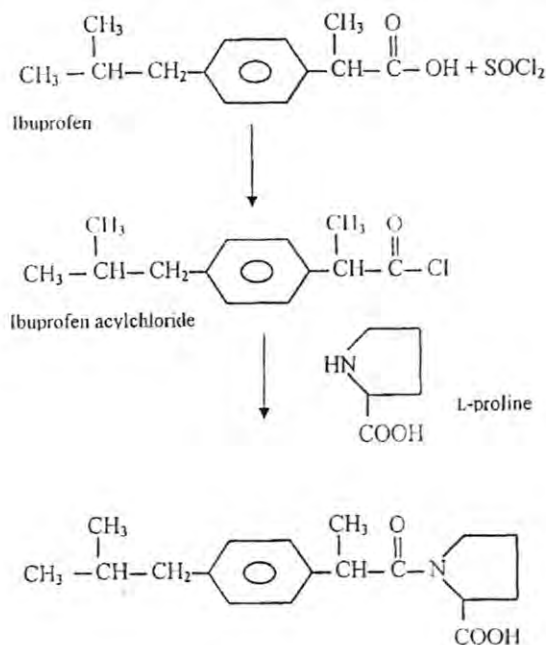
1-[2-(4-Isobutylphenyl)-Isopropionyl]-L-Proline



This conjugate was prepared by reacting Ibuprofen Acyl Chloride with L-Proline in an Alkaline condition. Certain experimental modifications were practiced on the general procedure of reacting Ibuprofen with certain Amino Acids⁽⁵⁾.

L-Proline (50mM, 5.75g) was dissolved in sodium Hydroxide solution (10%, 10ml) and placed in an ice bath. The previously prepared Ibuprofen Acid Chloride was dissolved in dry Acetone (10ml) and added dropwise with continuous stirring to proline solution. The temperature of the mixture was maintained at about 0-5°C using an ice bath with continuous stirring for few hours⁽¹⁴⁾, during which the pH was monitored so as to keep it Alkaline, by the addition of few drops of Sodium Hydroxide solution (10%). The mixture was left overnight, then acidified with diluted HCl. A faint yellow pasty product was precipitated, filtered and dissolved in Chloroform, and washed twice with distilled water. Further washing with a solution of Sodium Bicarbonate (5%) was achieved. The Chloroform layer was dried using Anhydrous Calcium Chloride, filtered and then evaporated to dryness. A faint yellow pasty product of L-Proline-Amide of Ibuprofen was obtained. The percent yield, Rf values and some physical data are given on (Table 1).

Scheme 1 shows the structure and pathway of synthesis.



1-[2-(4-isobutylphenyl)-isopropionyl]-L-proline
 (Ibuprofen-L-proline conjugate)

RESULTS AND DISCUSSION

Ibuprofen-L-Proline conjugate was characterized by IR and UV spectroscopy and elemental micro analysis. The IR spectrum showed the following characteristic bands (KBr disc.). A broad band at $3500-3000\text{ cm}^{-1}$ representing NH group stretching vibration of secondary Amide overlapped with CH stretching vibration of Aromatic ring. A strong band appeared in the region $2950-2850\text{ cm}^{-1}$ representing CH stretching vibration of Alkane, and a strong C=O stretching band at 1680 cm^{-1} for secondary Amide linkage between Ibuprofen Carboxyl group and Proline.

Two bands at 1385 cm^{-1} and 1345 cm^{-1} stretching vibration of Dimethyl group of Isopropyl Moiety. The broad band at $3500-3000\text{ cm}^{-1}$ appeared narrower than that for Ibuprofen ($3400-2500\text{ cm}^{-1}$) for Hydrogen bonded O-H group upon which C-H stretching bands are superimposed. The doublet band for Hydrogen bonded N-H asymmetric (3350 cm^{-1}) and symmetric (3280 cm^{-1}) stretching for Proline are replaced by this broad band secondary Amide overlapped with C-H of aromatic ring. The asymmetrical C=O stretching band in the region $1730-1700\text{ cm}^{-1}$ for Ibuprofen is shifted to 1650 cm^{-1} as indication for stretching band of secondary Amide formation.

Elemental micro analysis was carried out for the prepared conjugate and revealed a reasonably good agreement with the calculated percentage as given on (Table 2). The percent, deviation of observed/calculated was determined and found complies with the accepted accurate analysis ($\pm 0.4\%$ from the theoretical values).

The incentive for preparing such conjugate was to decrease or diminish the side effects of Ibuprofen⁽¹⁻³⁾. This conjugate included an Amide linkage which may regenerate the parent drug (Ibuprofen) upon Hydrolysis by Enzymatic process (γ (Amidases)> This may have different physicochemical properties and long duration of action, since the release of the parent drug requires an enzymatic Hydrolysis by Amidases which are present in a lesser level than esterases.

Additionally, this conjugate is considered as an analogue of Captopril, Enalapril or Lisinopril, Angiotensin converting enzyme inhibitors⁽⁸⁻¹¹⁾, which are widely used as antihypertensive agents. Therefore, it is intended to screen the relative activities of this Ibuprofen-L-Proline conjugate and determine its usefulness as a therapeutic agent.

Table (1) The physical data of Ibuprofen and Ibuprofen-Proline conjugate

| Compound | M.P.C. ^o | Yield (%) | R _f values | |
|-------------------|---------------------|--------------|-----------------------|------|
| | | | A | B |
| Ibuprofen | 75-77 | - | 0.92 | 0.97 |
| Ibuprofen-Proline | 126-128 | 82 | 0.96 | 0.88 |
| Proline | 220-222(dec) | - | 0.75 | - |

Solvent System: A = Ethanol: Chloroform (1 : 3)
 B = Ethylacetate: Chloroform (3 : 1)
 C = Methanol: Ammonia (100 : 1.5)

Table (2) Elemental Microanalysis

| Compound | M.WT. | Mol. Formula | Elem. Analysis | |
|-----------------------|-------|---|-----------------------------|-----------------------|
| | | | Calculated | Observed |
| Ibuprofine | 206 | C ₁₃ H ₁₈ O ₂ | C 75.73 H 8.7 N - | 75.48 8.5 - |
| Ibuprofin- Proline | 303 | C ₂₅ H ₂₅ O ₃ N | C 71.47 H 8.25 N 4.62 | 71.21 8.13 4.54 |

REFERENCE

1. Meyer B., Muller F. & Luis H. Drug Intrest., 4, 215. (1992)
2. Warrington S.D., Halsey A. & O'Donell L. Rheumatology 7, 107. (1982)
3. Scott J.T., Porter I.H. & Lewis S.M. KÝJ. Med. Cjem. 118, 167. (1961)
4. Vrinda R.S., Michaele A. & Rajeer G. J. Pharm.Sci. 81, 149. (1992)
5. Reiner A. Patent Application, GB. 2080797A. (1982).
6. Kitchen A.E., Dowson W. & Rainsford K.D. (1985). In Antinflammatory & Anti-Rheumatic Drugs, Vol. 1, Rainsford K.D. (Ed.) CRC Press Inc., Boca Raton Florida (1977).
7. Jacobi H., Dell H.D., Lorenz D. () Arzneim-Forsch. Res. 27 (11) 1333.
8. Ondetti M.A., Rubin B. & Cushman D.W. Science, 196: 441 - 443. (1977).
9. Bravo E. & Taraz R.C. Hypertension, 1: 39 - 46. (1979).

10. Patchett A.A. et al. *Nature*, 288, 20 Nov., 280 - 283. (1980)
11. McEvoy F.J., Lai F.M. & Albright J.D. *J. Med. Chem.*, 26, 381 - 394. (1983).
12. Turaoni-Franco, *Eur. Patent Applic.* A10036684, March, (1981).
13. Vogel A.I. in *Vogel's Textbook of Practical Chem.*, 4th Ed. (1978)
14. Bruzzese, et al., *United States Patent.*, 4279926, July, (1981).

Sex Ratio in Relation to Parasitic Incidence of Porcellio Evansi (Isopoda: Oniscoidea)

ZUHAIR RADHI ZAHID and JOSEPH KHUDHUR NASSIR
University of Baghdad - College of Medicine - Department of
Anatomy.

الخلاصة

تم اختيار 86 حيوان بشكل عشوائي من عينة مختبرية تحت ظروف محددة من رطوبة ودرجات حراره (تتراوح بين 17 - 38 درجة مئوية) وللفترة من اب 2000 الى مايس 2001 . شرجت الحيوانات تحت المجهر لتحديد نسبة الذكور والاناث وكذلك نسبة الاصابة بالطفيلي (8,19 % في الذكور و 3,2 في الاناث) . نوقشت النتائج في ضوء تأثير الطفيلي على الضيف.

ABSTRACT

Eighty six animals were chosen randomly from a laboratory culture under controlled moisture and temperature from August 2000 - May 2001. After dissection of animals (using a stereoscopic microscope), sexes were identified (50 % for each sex) and parasitic incidence was determined being 19.8 % in males and 2.3 % in females. Results were discussed on the basis of parasitic interaction with the host.

INTRODUCTION

Certain aspects of the reproductive biology of *Porcellio Evansi* have been preliminary studied ⁽¹⁾. Few data showed that sexes are separated and that the reproductive activity is high during the summer. It has been suggested that simultaneous hermaphroditism is probably the primitive mode of reproduction in crustacea ⁽²⁾. Sequential hermaphroditism probably corresponds to a secondary evolution of gonochoristics species owing to its presence in numerous species of parasites and to its irregular distribution in free living species, especially in Malacostraca (Isopoda, Tanaidacea,

Decapoda). Proportions of males, females and hermaphrodites vary between populations^(2,3,4).

MATERIALS AND METHODS

Monthly collection of *Porcellio Evansi* was done according to the method cited in⁽¹⁾. Eighty six animals were chosen randomly from a laboratory culture (on a rearing medium composed of soil and dry leaves in a glass container 13 × 18 × 30 cm between August 2000 - May 2001 at controlled moisture and temperature (ranging from 17 - 38C^o). Animals were killed, crushed in a glass jar containing 3 - 4 drops of water by the aid of a fine forceps and a sharp blade and examined under a stereoscopic microscope type M6c-1 for the detection of the larvae of nematodes. The parasite was fixed in 70 % alcohol, stained in alcoholic solution of eosin, dehydrated in ascending series of alcohol, cleared in xylol and mounted on a concave slide for microscopic examination and photography.

RESULTS AND DISCUSSION

As shown from table (1), the incidence of larvae of nematodes detected in the haemocoel of *Porcellio* differs in the different sexes (19.8 % in males and 2.3 % in females). There is no doubt that this crustacean animal may act as a vector or as intermediate host for the adult of this type of nematodes⁽⁶⁾, and birds as pigeon, house sparrow and other animals may be the final hosts. Surprisingly our results showed that male and female ratio is equal in the sample and parasitic incidence is more frequent in the male in comparison with the female (Table -1-). This could be explained partly on the basis of the fact that gonochorism may have appeared following integration in the host genome of parasitic xenogenous DNA inhibiting expression of male genes but female sex would be anterior to male sex⁽²⁾. We think that the presence of the larvae of nematodes in two females of *P. Evansi* during April may reflect the fact that fertilization of eggs may add a factor for the attraction of the parasite especially during the summer.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would to acknowledge Dr. Zaid A. Majid, head of the Computer Section in the college of Medicine, University of Baghdad for his help in the digital photography.

Table: Parasitic incidence in *Porcellio Evansi*

| Month | Year | No.of animals exam. | Male | Female | No.of males contained the Parasite | No.of Females contained the Parasite |
|-----------|------|---------------------|------|--------|------------------------------------|--------------------------------------|
| August | 2000 | 3 | 3 | - | 2 | - |
| September | = | 4 | 2 | 2 | 2 | - |
| October | = | 4 | 2 | 2 | 1 | - |
| November | = | 7 | 5 | 2 | 2 | - |
| December | = | 11 | 4 | 7 | 3 | - |
| January | 2001 | 10 | 3 | 7 | - | - |
| February | = | 12 | 7 | 5 | 2 | - |
| March | = | 12 | 5 | 7 | - | - |
| April | = | 12 | 6 | 6 | - | 2 |
| May | = | 11 | 6 | 5 | 5 | - |
| Total | | 86 | 43 | 43 | 17 | 2 |



Figure showing the Larva of Nematode (W.M.) detected in *Porcellio Evansi* X65: stained in Alcoholic of Eosin Scale=500 μ m

REFERENCE

1. Zahid Z.R.: Certain Aspects on the Reproductive Biology of Female *Porcellio Evansi* (Isopoda : Oniscoidea). *Al-Mustansirya J. Sc.* (in press). (2001)
2. Juchault P., Hermaphroditism and gonochorism. A new Hypothesis on the Evolution of Sexuality in Crustacea. *C.R. Acad. Sci.* pp 423 -427. (1999).
3. Charniaux-Cotton, H. Rayen, G.G. Ginsburger_Vogel, T. *Arthropoda-Crustacea : Sexual differentistion* . Cited in: Adiyodi K.G., Adiyodi R.G., *Reproductive Biology of invertebrates*, pp. 281-323 J. Wily et Sons, Chichester, NY. (1992).
4. Hurst L.D. The incidences, Mechanisms and Evolution of Cytoplasmic Sex Ratio Distorters in Animals. *Biol. Rev.* pp. 121 - 193. (1993).
5. Martin G., and Juchault P. Androgenic Hormone Specificity in Terrestrial Isopods (Oniscoidea): Systematical Involvements. *Journal of Crustacean Biology*, 19(4): 684-689. (1999).
6. Belding D.L. *Text Book of Parasitology*. Third Edition, page 360 Meredith Publishing Company USA. : (1965).

Typhoid Fever: The Dissemination of Salmonella Typhi Through the Organs of White Mice by Intraperitoneal Infection

KHALIL H. AL-JABOURY* - KHALIFA A. KHALIFA**

TALEB A. MAKKAWI* - MUDHER M. AL-FALUJI***

* Dept. of Pathology - College of Vet. Med. University of Baghdad

** Dept. of Microbiol. Coll. of Med. Univ. of Al-Anbar

*** Dept. of Microbiol. Coll. of Med. Univ. of Al-Mustansiriya

الخلاصة

قُب محاولة لفهم بعض جوانب مرض التيفوئيد في الانسان اجريت تجربة باحداث المرض في الفئران البيضاء. تم عزل جراثيم التيفوئيد من المرضى الراقيدين في مستشفى ابن الخطيب في مدينة بغداد. وقد حددت جرعة العزلة المسببة بامراضية 50% من حيوانات التجربة اذ كانت ($2,5 \times 10^7$ خلية بكتيرية)، حيث استخدمت حشرة اضعافها ($2,5 \times 10^8$) للحصول على اشد حالات المرض وطاة، لقد اعطيت الجرثومة عن طريق الخلب والدراسة مدى انتشار الجرثومة في اعضاء الجسم تم قتل ثلاثة فئران يوميا ولمدة 28 يوما. لقد اتضح ان الجرثومة تتجمع في الكبد، الطحال، الرئتين، دم القلب والعقد اللمفاوية المنصفية خلال ثلاثون دقيقة من الحقن، وقد تم عزل الجرثومة من جميع اعضاء الحيوان بعد 24 ساعة من الحقن. وبين البحث والمتابعة استمرار وجود الجرثومية في الكبد، الطحال والعقد اللمفاوية المنصفية لمدة ثلاثة اسابيع بعد الحقن وفي الرئتين، الدماغ والكلى لمدة اسبوعين بعد الحقن.

ABSTRACT

Typhoid Bacilli were isolated from Typhoid patients. One LFD50 (2.5×10^7) was enough to, produce the disease in experimental animals, however, 10LD50 were used for mice. The microorganisms were inoculated intraperitoneally into the animals, the course of the dissemination within the animals was clarified by sacrificing 3 mice at specific intervals and for 28 days after inoculation. The organs of the sacrificed animals were examined

for the presence of microorganisms. After the first 30 minutes postinfection the microorganisms were found in the liver, spleen, heart blood and mediastinal lymph nodes. They persisted in liver, spleen and mediastinal lymph nodes for 3 weeks or more. As for the brain, lungs and kidneys, the microorganisms were isolated from them 24 hrs., after inoculation and persisted for 2 weeks.

INTRODUCTION

Most studies of *S. Typhi* infection in mice have been limited by the fact that this organism has low pathogenacity for this species. When a challenge dose of 10 millions viable *S. Typhi* ty2 is introduced into normal peritoneal cavity, extensive growth occurs over the first 24 hrs., and the number of viable bacilli within the peritoneal cavity itself and in the draining mediastinal lymph nodes may increase to lethal numbers within few hours^(1,2). On the other hand, when the same dose of the organisms is injected directly into the blood stream, the bacilli are removed by the phagocytic cells of the liver & spleen and there is less opportunity for the bacilli to multiply freely within these tissues^(1,2). The intravenously introduced inoculum is unable to multiply extracellularly and fails to develop into a lethal infection. Gerichter & Boros⁽²⁾ reported that *S. Typhi* multiply in vivo when introduced in very large number (10^9) into peritoneal cavity of white mice. Most of mice died within 24 -48 hrs., after challenge due to overwhelming endotoxemia. A few mice usually survive, and these are found to harbor significant number of viable *S. Typhi* within their spleens for several weeks. Carter and Collins⁽³⁾ reported that even moderate doses of *S. Typhi* can establish persisting systemic infection in the majority of the challenged mice and that small number of bacilli may still be recovered from the tissues for at least 3 weeks. The low degree of mouse virulence shown by *S. Typhi* ty2 is due to the extensive early inactivation of the infective dose during 24 hrs., following challenge. Other animals species such as rabbits, guinea pigs and monkeys have been also used experimentally^(4, 5, 6) and produced the disease process similar to human typhoid.

The objective of the present study was to follow up the distribution of *S. Typhi* through the organs of white mice by intraperitoneal infection.

MATERIALS AND METHODS

White mice weighing 15 - 20 gms, were obtained from Al-Kindi Company for Drug and Vaccines Production. They were healthy and reared on the concentrated food for 2 weeks before the febrile patients, in Ibn-Al-Khatib Hospital. Bacteria were identified according to⁽⁷⁾ and was used in this study. Their LD50 dose corresponded to 2.5×10^7 bacterial cell⁽⁸⁾. A logarithmic phase of *S. Typhi* in trypticase soy broth at 37°C was taken, washed once in Phosphate buffer saline, a suspension of viable count of 10^9 bacterial cell/ml was obtained. Twenty-four groups of mice (each of 5 mice) were injected with 0.25 ml of *S. Typhi* suspension containing 2.5×10^8 bacterial cell (10LD50). Three inoculated mice were sacrificed daily (including dead mice) for a period of 28 days. All the organs of sacrificed and dead mice were taken and examined, looking for the bacterial dissemination.

RESULTS

Distribution of *S. Typhi* in the organs of experimentally infected white mice.

During 28 days of experimental infection of mice with *S. Typhi* an extensive dissemination of this microbe was found in the different organs at different intervals postinfection. It is evident (Table 1) that the liver, spleen and mediastinal lymph nodes were found to be the main target organs of invasion, whereas, kidney, brain and intestinal tract were slightly invaded by this microbe. The spleen had the longest period of infectivity which lasted for 28 days postinfection, whereas the infection lasted for 20 days and 18 days in the liver and in the mediastinal lymph nodes respectively. The lungs and heart blood harbored the organisms for 17 days, whereas, the gall bladder and the intestinal tract for 6-15th day and 7-16th day postinfection. The organisms were isolated from the kidneys and peritoneum during the first 14 days, and from the brain during the first 11 days postinfection.

DISCUSSION

Salmonella Typhi is enteropathogenic bacteria with marked host specificity, strictly pathogenic for human or higher primates but normally

not pathogenic for mice and other experimental animals. However, to produce infection in such unnatural hosts, a large amount of microorganisms should be inoculated into the animals⁽⁹⁾. These findings were confirmed by this work as an extensive disease produced in mice when *S. Typhi* inoculum was 2.5×10^8 bacterial cells. Similar results were reported by others who showed that typhoid like disease was produced in guinea pigs and rabbits using L-strain of *S. Typhi*^(5,6). This study revealed that following an intraperitoneal injection of *S. Typhi* with massive bacterial dose (2.5×10^8) a heavy growth of *S. Typhi* occurred in the peritoneal cavity and in draining mediastinal lymph node (Table 1). The microorganisms reached into the thoracic duct and the blood circulation, they were isolated from blood circulation, spleen, liver and lungs 30 minutes postinfection. These results go along with those reported by⁽¹⁾ who isolated these microorganisms from these organs within 2-3 minutes postinfection and with the results obtained by⁽²⁾ who isolated the microorganisms after one minute postinfection from blood and 3 hrs., from spleen and liver. This variation in dissemination time of the microorganisms might be attributed to different dose volume, in this study 10 folds more microorganisms were used intraperitoneally than^(1,2). In the present study following intraperitoneal injection of *S. Typhi* into white mice, a persisting systemic growth occurred in some of the examined animals, involving many organs, some infected mice died within 48 hrs., postinfection probably due to endotoxemia, others harbored the infection in the mediastinal lymph nodes for 18 days, in the liver for 20 days in the spleen for 28 days postinfection. These findings are in accord with those reported by^(2,3). These results also showed in addition to spleen, liver and mediastinal lymph nodes, where reticuloendothelial tissue, liver and mediastinal lymph nodes where reticuloendothelial tissue, a preferable site for *S. Typhi* is abundant, brain, kidney and lungs harbor the microorganisms for 1-2 weeks postinfection. This may be explained on the basis of metastatic infection through hematogenous route. These findings in brain, lung and kidneys have been reported by⁽¹⁰⁾ in infants and in adult patient⁽¹¹⁾ infected with typhoid bacilli, the infection seems to have been established through hematogenous route metastasis.

Table -1 - Distribution of S. Typhi through the organs of white mice after I/P inoculation

| Intervals PI* | Liver | Spleen | Gall Bladder | Heart blood | Med L.D. | Kidney | lungs | Brain | Intest. contents | Perito- nium |
|------------------|-------|--------|-----------------|----------------|-------------|--------|-------|-------|---------------------|-----------------|
| 30 min. | + | + | - | + | + | - | + | - | - | + |
| 1d | + | + | - | + | + | + | + | - | - | + |
| 2d | + | + | - | + | + | + | + | + | - | + |
| 3d | + | + | - | + | + | + | + | + | - | + |
| 4d | + | + | - | + | + | + | + | + | - | + |
| 5d | + | + | - | + | + | + | + | + | - | + |
| 6d | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + |
| 7d | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 8d | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 9d | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 10d | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 11d | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 12d | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + |
| 13d | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + |
| 14d | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + |
| 15d | + | + | + | + | + | - | + | - | + | - |
| 16d | + | + | - | + | + | - | + | - | + | - |
| 17d | + | + | - | + | + | - | + | - | - | - |
| 18d | + | + | - | - | + | - | - | - | - | - |
| 19d | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 20d | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 25d | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 28d | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - |

* PI Postinfection.

** Rhree mice were sacrificed for each interval.

REFERENCE

1. Gerichter C.B. The dissemination of Salmonella Typhi, S. Paratyphi A. and S. Paratyphi B through the Organs of the White Mouse by oral Infection. J. Hyg. Camb. 58: 307 - 319. (1960).
2. Gerichter C.B. & Boros D.L. Dynamics of Infection of the Blood Stream and Internal Organs of White Mice with Salmonella Typhi by Intraperitoneal Injection. J. Hyg. Camb. 60: 311 - 321. (1962).
3. Carter P.B. & Collins F.M. Growth of Typhoid and Paratyphoid Bacilli in Intravenously Infected Mice Infect. Immun. 10: (4): 816 - 822. (1974).
4. Gaines S., Sprinz H., Tully J.G. & Tigertt W.D. Studies on Infection and Immunity in Experimental Typhoid Fever. VII: The Distribution of Salmonella Typhi in Chimpanzee Tissue Following Oral Challenge and

- the Relationship Between the Number of Bacilli & Morphologic Lesions. *J. Inf. Dic.* , 118: 293 - 306. (1968).
5. Prozorovskii S.V., Tsarevskii C.P., Levida G.A., Gorelov A.L. In Vivo Experimental Modelling of the Infectious Process Caused by Stable L-forms of the Causative Agent of Typhoid. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 8: 10 - 14. (1985).
 6. Dima V.F., Petrovic M., Laxy D. Reaction & Response of Newborn Guinea Pigs to Experimental *Salmonella Typhi* Infection. *Arch-Roum-Pathol-Exp-Microbiol.* 48: 299 - 321. (1989).
 7. Lennette E.H., Balows A., Housler Jr. W.J., Shadomy H.J. *Manual of Clinical Microbiology*, 4th Ed. American Society for Microbiology, (1985).
 8. Reed L.J. and Muench H. A simple Method of Estimation Fifty Percent en Points. *Am. J. Hyg.*, 27: ý(3): 493 - 497. (1938).
 9. KeMinor L., Richard C.I., Molleret H.H., Bercovier H., Alonso J.M., Enterobacteries. In: Le Minor L., Veron M. (Eds.). *Bacteriologie Medical* Paris: Flammarion, pp.: 240 - 315, (1982).
 10. Rajajee S., Anandi T.B., Subha S., Vatsala B.R. Pattern of Resistant *Salmonella Typhi* Infection in Infants. *J. Trop. Pediatre.* 41:(1): 52 - 54. (1995).
 11. Cotran, Kumar & Robbins. *Robbins Pathological Basis of Disease*, 14th Ed., W.B. Saunders International Edition, (1989).

Prevalence of Intestinal Parasites Among People in Kirkuk City From the Period 1998-1999 Using Direct Method of Stool Specimen Preparation

Dr. YAHYA GARGIES SALMAN* , TAWFIQ IBRAHIM AL-AALOUSI** and SADIYA SHIHAB HAMAD**

* Director of Laboratory Department, Al-Tameem Health Authority

** College of Education (Girls), Tikrit University

الخلاصة

اهداف البحث: أ- تحديد الطفيليات المعوية في أبناء مدينة كركوك .
ب- تحديد العلاقة بين نسبة الخمج والعمر والجنس ، ومواسم السنة.
التصميم: فحص الخروج باستخدام طريقة المسحة المباشرة المزدوجة لتحديد الطفيليات المعوية في النماذج المفحوصة.
مكان إجراء الدراسة : نفذت الدراسة في مستشفى التأميم العام - قسم المختبرات من الفترة الاول كانون الثاني 1998 ولغاية نهاية كانون الاول 1999.
القياسات المستخرجة : تم قياس نسبة الخمج بالطفيليات لمعرفة التوزيع والأسباب المؤدية لها باستخدام قيم فحص (ت) الأحصائي ونسبة الثقة 95%.
النتائج: أظهرت الدراسة أن نسبة توزيع الطفيليات المعوية في مدينة كركوك يساوي (54.27%) موزعة في 981 نموذج موجب وأن هذه النسبة كانت موزعة بنسبة (80.71%) الخمج بالابتدائيات و (19.29%) للخمج بالديدان. وان الطفيليات المعوية التي تم عزلها هي الجيارديا لامبليا (44.59%) والمتحولة الزحارية (34.59%)، الدودة دبوسية (17.04%) المحرشفة القزمية (2.24%)، والمشعرة البشرية (1.53%) والأسطوانة الرازية (0.10%).
الاستنتاج : انتشار الطفيليات المعوية كانت عالية في مدينة كركوك. الخمج بالابتدائيات المعوية كانت اعلى من الخمج بالديدان المعوية. أكثر الخمج ظهرت في الأشخاص ذو الاعملر الصغيرة . لم تظهر الدراسة وجود علاقة معنوية بين الخمج بالطفيليات وانتشارها بين الجنس ومواسم السنة.

ABSTRACT

Objectives: (a) To determine the prevalence of intestinal parasites among people in kirkuk city.

(b) To assess the relation ship between the rate of infection & sexes, age groups & seasons.

Design : General stool examination was carried on by using double preparation of each specimen to detect parasites among peoples.

Setting : The study was carried out in Al-Tameem general Hospital, laboratory department, during the period from January 1998 to December 1999.

Participants : Three thousand, seven hundreds and fifty seven patients, aged one month-more than 50 years were included in this study.

Main out come : The prevalence of parasitic infection was estimated to know the distribution and its causes using student t-test & its significance at 95% confidence.

Results : Intestinal parasite were found in 981 patient (54.27%). The rate of protozoan infection (80.71%) was higher than helminthic infection (19.29%). The intestinal parasites were Giardia lamblia (44.59%), Entamoeba histolytics (34.59%), Enterobius vermicularis (17.04%), Hymenolepis nana (2.24%), Trichomonas hominis (1.53%) & Ascaris lumbricodes (0.10%). The rate of infection were highest in patient ageing from (10-20 years) (36.49%) & (1 month – 10 years) (35.77).

Conclusion : The prevalence of intestinal infection is high among people in kirkuk city, the rate of protozoan infection was higher than helminthic infection. The highest rate of infection was recorded in small aged people than in alderly one. No relation ship could be obtained between the rate of infection & sex, seasons.

INTRODUCTION

Intestinal parasites are important in raising community health and well increase in importance in future, this type of infection is common in developing countries, tropical and subtropical areas, it is increase causes mortality and morbidity^(1,2,3). Kadir and Salman⁽⁴⁾ studied the prevalence of intestinal parasites among school children in Al-Tameem province, they

found that the rate of infection was (40.95 %), the highest rate of infection was Giardia Lamblia (30.39 %), followed by Entamoeba Histolytica (19.03 %). Also, they found that the rate of infection was highest in rural area (44 - 92 %) than in urban area (37 - 96 %)

In the same province Jasim, et al.,⁽⁵⁾ in their study, they found that the rate of infection (47 - 7 %), the commonest parasites were (Hymenolepis Nana, Enterobius Vermicularis, Giardia Lamblia, Entamoeba Histolytica and Ascars Lumbricoides) (8 %, 6.6 %, 0.4 %, & 2.4 %) respectively. In Kirkuk also⁽⁶⁾ found that the rate of infection (75 - 84 %), the commonest parasitic infection were Giardia, Entamoeba Coli and Enterobius infection. Chapook⁽⁷⁾ found that the rate of infection of H. Nana in Kirkuk City was (4 - 8 %). In Tikrit [8] reported that the prevalence of intestinal parasites among school children was (92.4 %) divided into Protozoa (18 %), Helminthic (17.2 %) and combination of Protozoa and Helminth (56.3 %). In Diala [9] reported the rate of parasitic infection (30.5 %). In Baghdad⁽¹⁰⁾ found that the rate of infection (34.2 %) this rate included Protozoan infection (31.5 %) and Helminthic infection (3.6 %). In Mosul⁽¹¹⁾ reported that the rate of infection was (50.6 %) of which (29.8 %) were Protozoans, (12.1 %) Helminthic and (8.7 %) mixed infection. Othman⁽¹²⁾ found that the rate of parasitic infection in school children in Kirkuk City was (48.05 %) of which (41.73 %) were Protozoan and (26 %) Helminths. For the reason of variable results in studies described above, so this study was conducted to show parasitic infection using double slide preparation in prolonged period of two years.

MATERIALS & METHODS

Stool Samples

The study carried out from January 1998 to December 1999, in the routine laboratory service at Al-Tameem General Hospital in Kirkuk City. Where more than 1700 stool samples were examined each year. Stool samples randomly selected from these subjects. Minimum inclusion Criteria were:- a knowledge of the age and sex of the patient and adequate quantity of stool for diagnosis were collected in disposable caps.

Stool Examination

Each stool sample was examined by using double preparations of normal physiological saline solution (0.85 %) and Lugol's iodine (1 %) and by the aid of light microscopes as well as macroscopic examination was one

including: colour, consistency of stool, presence of elminthic stages (adult worm, larva and Cestoda Proglottides) and PH of the stool. Results were recorded daily for each specimen

RESULTS

During the period of the study, there were 3757 patients who submitted adequate stool samples, the over all prevalence of parasitic infection was (54.27 %), this percentage was divided into (18.61 %) and (35.65 %) for the years 1998 and 1999 respectively Table (1).

Regarding to the type of parasitic infection, it was found that the Protozoan infection (80.71 %) was higher than Helminthic infections (19.29 %) table (2). The more prevalence species in this study was Giardia Lamblia (44.59 %) followed by Entamoeba Histolytica (34.59 %) and (17.04 %, 2.24 %, 1.53 % and 0.10 %) for Enterobius Vermicularis, Hymenolepis Nana, Trichomonas Hominis and Ascaris Lumbricoides Table (3).

No relationship could be obtained between male and female, although the rate of infection in female (54.17 %) was higher than in male (46.89 %) but statistical analysis shows no significant difference, $p < 0.05$ Table (4).

According to age, the distribution of the parasitic infection was highest among small aged patient comparing with elderly patient Table (5).

Concerning the distribution of the infection rates among seasons, variable results were obtained, it was clearly indicated that the rate of infection was higher in summer season than in autumn Table (6).

Table (1) Distribution of Parasitic Infection among People During (1998 & 1999).

| Years | Total No. of Samples | Percentage % | No. of positive + ve | % of Positive +ve | No. of Negative - ve | % of Negative - ve |
|-------|----------------------|--------------|----------------------|-------------------|----------------------|--------------------|
| 1998 | 2046 | 50.49 | 381 | 18.62 | 1665 | 81.38 |
| 1999 | 1711 | 42.22 | 600 | 35.65* | 1101 | 64.35 |
| Total | 3757 | 92.71 | 981 | 54.27 | 2766 | 145.73 |

* $P < 0.05$

Table (2) Distribution of the Infection According to Type Parasites (Protozoa & Helminthes) in Relation with Time of Study.

| Type of the Parasites | 1998 | | 1999 | | Total of 1998 & 1999 | |
|-----------------------|---------|-------|----------|-------|----------------------|-------|
| | No.+ ve | % | No. + ve | % | No. + ve | % |
| Protozoa * | 306 | 80.31 | 485 | 80.83 | 791 | 80.71 |
| Helminthes | 75 | 19.69 | 115 | 19.16 | 190 | 19.29 |
| Total | 381 | 100 | 60 | 100 | 981 | 100 |

* P < 0.05

Table (3) Infection Rates in Relation to Parasite Species in Both (1998 & 1999)

| Type of the Parasites | 1998 | | 1999 | | Total of 1998 & 1999 | |
|-------------------------|---------|-------|---------|-------|----------------------|--------|
| | No.+ ve | % | No.+ ve | % | No.+ ve | % |
| Entamoeba Histolytica | 106 | 27.82 | 233 | 38.83 | 339 | 34.59 |
| Giardia Lamblia | 193 | 50.65 | 244 | 40.66 | 437 | 44.59* |
| Trichomonas Homnis | 7 | 1.83 | 8 | 1.33 | 15 | 1.53 |
| Enterobius Vermicularis | 63 | 16.53 | 104 | 17.33 | 167 | 17.04 |
| Hymenolepis Nana | 12 | 3.14 | 10 | 1.66 | 22 | 2.24 |
| Ascaris Lumbricoides | 0 | 0 | 1 | 0.10 | 1 | 0.10 |
| Total | 381 | | 600 | | 981 | |

*P < 0.05

Table (4) Infection Rates in Relation to sex

| Years | 1998 | | Male | | Female | |
|-------|----------------------|--------|----------|-------|----------|-------|
| | Total No. of Samples | % + ve | No. + ve | % | No. + ve | % |
| 1998 | 381 | 18.62 | 18 | 49.34 | 193 | 56.56 |
| 1999 | 600 | 35.65 | 272 | 45.33 | 338 | 56.33 |
| Total | 981 | 54.27 | 460 | 46.89 | 531 | 54.17 |

Total number examined in 1998 = 2046

P < 0.05

Total number examined in 1999 = 1711

Total number examined in two = 3757

Table (5) The rate of Parasite Infection in relation to Age Group

| Age groups/years | 1998 | | 1999 | | | Total |
|------------------------|------------|-------|------------|-------|------------|--------|
| | No.+ ve | % | No.+ ve | % | No.+ ve | % |
| 1 → 10 years | 125 | 32.80 | 226 | 37.66 | 351 | 35.77 |
| 11 → 20 | 146 | 38.32 | 212 | 35.33 | 358 | 36.49* |
| 21 → 30 | 44 | 11.54 | 31 | 5.16 | 75 | 7.64 |
| 31 → 40 | 33 | 8.66 | 62 | 10.33 | 95 | 9.68 |
| 41 → 50 years to above | 33 | 8.66 | 69 | 11.5 | 102 | 10.39 |
| Total | 381 | 38.83 | 600 | 61.16 | 981 | 100 |

Total number positive = 981

* P <

0.05

Table (6) Distribution of Parasites Infection in Relation to Seasons

| Seasons | 1998 | | 1999 | | Total No.ve | % |
|---------|------|-------|------|-------|-------------|-------|
| Winter | 86 | 4.20 | 153 | 8.94 | 239 | 6.36 |
| Spring | 20 | 0.97 | 233 | 13.85 | 257 | 6.84 |
| Summer | 130 | 6.34 | 147 | 8.59 | 277 | 7.37 |
| Autumn | 145 | 7.08 | 63 | 3.68 | 208 | 5.53 |
| Total | 381 | 18.62 | 600 | 35.67 | 981 | 26.11 |

Total number examined in 1998 = 2046

P < 0.05

Total number examined in 1999 = 1711

DISCUSSION

Despite the type of the laboratory methods that have been developed to assist in diagnosis of parasitic infection in stool samples, our method (direct preparations both 0.85 % NaCl and Lugol's iodine) is the classical method, but the rate of infections was highest 54 - 27 % when it was compared with the results of⁽⁴⁾ in the same province. An increase in the rate of infection during 1999 in recent study may be related to unhygienic condition, contact with contaminated food or to water supply, which was affected after economic sanction against our country. Also, the prevalence rate in our study was higher than those recorded in Baghdad by^(13,14,15,16), but it was in agreement with that recorded in Tikrit by⁽⁸⁾ who found the higher rate of parasitic infection (92.4 %).

Concerning the obtaining of higher rate of Protozoan infection (80.71 %) than of Helminthic infection., this may be due to using of double slide preparations, which was very useful for detecting of

Trophozoites and cystic stages of Protozoa^[17]. In addition to that our study was included only people in the center of the province, not including rural area in which, the families were with low socio-economic level and poor hygienic condition, this can be explained by the fact the children with bare feet are in contact with larvae of parasite in the farm soil. The high rate of infection with *Giardia Lamblia* and *Entamoeba Histolytica* (44.5 % and 34.51 %) respectively reflects a poor health care and sanitation among people in this city. The high rate of *Enterobius Vermicularis* infection (17.04 %) in this study, indicates that auto-infection is very common in this area due to low standard of living, as all members of the families share the same bed room. Also, this percentage of *Enterobiasis* was higher than that recorded by the other workers in Saudi Arabia [10] and from that recorded in Iraq by^[6].

Regarding the distribution of parasitic infection in relation to sexes, although the differences between male and female was not significant $P < 0.05$, but the rate of infection in female (56.33 %) was higher than in male, this may be attributed to discarding of nail by female which may give rise to good media for transporting the parasitic stages specially ova under nail, this result is in agreement with that recorded by^(18,19)

The higher rate of parasitic infection in small aged children and people (1-10 years and 11-20 years), could be explained by the fact that younger children might be exposed to soil transmitted parasites more than older once by playing outside. Also, poor health care and habit of preferring of eating outside of house and accompanied of education might enhance their exposure to various parasitic agents.

Two years of stool examination yield sufficient information that the distribution of parasitic infection in Kirkuk city was not affected in relation to seasons, although the variable results which were obtained among four seasons.

REFERENCE

1. Kadir M.A., Kadir A.A. & Faraj K.K. Survey Study of Intestinal Parasites among different population of Arbil City. *J. Fac. Med. Baghdad* 2: 455 - 458. (1987).
2. Al-Hanoon Z.A. A study on the Prevalence of Intestinal Parasitic Infection in Mosul. M.Sc. Thesis, College of Medicine, University of Mosul. (1976).

3. Park J.E. and Park. Text Book of Prevention and Social Medicine, 8th Edit. MessersBanars: Das Bhabet Pub. India. (1981).
4. Kadir M.A. and Salman Y.G. Prevalence of Intestinal Parasites among school Children in Al-Tameem province, Iraq. Annals. College of Medicine. 25 (1 + 2): 94 - 98 . (1999).
5. Jassim B.A., Al-Dujaly A.A. and Saleh M.M., Prevalence of Intestinal Parasitic in School Children of Kirkuk City. Iraq J. Biol. Sci. Red., 17: 119 - 125. (1986).
6. Ubrahim M.N. Prevalence of Intestinal Parasitic School Children in Al-Tameem Province. Accepted in J. Educ. College. Tikrit. Univ. (1996).
7. Chapook, Goe. Study on the Prevalence of H. Nana among Primary School Children in Al-Tameem Province , the Effect of Yomesan, Garloc Radish on Experimental Infection of Lab. Mice M.Sc. Thesis, College of Vet. Med. Baghdad University. (1994).
8. Al-Tikrity A.A. Epidemiological Study for Intestinal Parasite in Salahaddin Province with Preliminary Study for Effect of some Extracts of Cardaria Draba Plant on Hanana. M.Sc., Thesis: College of Educ., University of Tikrit. (1997).
9. Mawlood N.A., Abdulla B.T. and Jassim B.A. Isolation of Intestinal Parasite from Pupils in Diala Province. Bull. College of Science, Al-Mustansirya. 81(1): 33 - 37. (1998).
10. Al-Khazraji H.A. Prevalence of Intestinal Parasitic Among Children in Baghdad. M. Sc. Thesis. College of Science, University of Baghdad. (1998).
11. Al-Daood A.A. Epidemiological of Intestinal Parasite among Pupils of a number of Primary School and Foodhandlers in Ninevah Governorate. M. Sc. Thesis., College of Science, University of Mosul. (1998).
12. Othman N.F. Comparison Between Different Lab. Methods for Diagnosis of Cryptosporidium spp. Dissertation of P.C.L.D. College of Medicine, University of Tikrit. (2000).
13. AlOmer N.S. Prevalence of Parasitic Infection in Ninevah Governorate and its effect on Hemoglobin Level Eosinophils, M. Sc. Thesis. College of Science, University of Mosul. (1992).

Sensitivity, Specificity and Predictive Value of Pyuria In Urinary Tract Infection

JINAN CH. ISMAIL - IKRAM A. KHAKI - FAIZA A. MUKHLIS
Department of Microbiology,
College of Medicine - Baghdad University

Keywords: Pyuria; diagnosis; urinary tract infection

الخلاصة

تمت دراسة حساسية، خصوصية والقيمة الاحتمالية لبول القيح كفحص معتمد لتشخيص التهاب المجاري البولية دون الحاجة لزرع الادرار وبالتالي توفير الكلفة العالية للعناية الصحية، حيث تمت مقارنة نتائج تحليل الادرار (عد كريات الدم البيضاء ومسحة مصطبغة بصبغة غرام) على نماذج ادرار غير مرسب بنتائج زرع الادرار لـ 455 مريضا في العيادة البولية لمدينة صدام الطبية، عرف قيح البول على انه مساوي لـ /او اكبر من 10 كريات دم بيضاء لكل ملم³ من الادرار، اما البول البكتريائي عرف على انه مساوي لـ :او اكبر من 1000 وحدة مكونة للمستعمرة لكل مل. اظهرت نتائج الدراسة انه بالرغم من وجود علاقة بين بول القيح والتهاب المجاري البولية الا ان عدم وجود القيح في الادرار لا يمكن اعتباره كدليل على استبعاد وجود الالتهاب ولا وجوده لوحده يمكن اعتباره كدليل على وجود الالتهاب. وقد بينت الدراسة ان القيمة الاحتمالية الموجبة لبول القيح والبول البكتريائي معا 20 ، 82 % تسوغ الوصف السريع للمضادات الحيوية قبل الحصول على نتائج الزرع، بالمقابل فان الاحتمالية الاوطا لبول القيح 79 ، 71 % توصي بتاجيل قرار وصف للعلاج لحين الحصول على نتائج الزرع.

ABSTRACT

Sensitivity, specificity and predictive value of Pyuria as reliable diagnostic test for urinary tract infection was studied to determine whether Pyuria alone in urinalysis can be used in the diagnosis of UTI, avoiding the need for urine culture and sparing large health expenditures. Results of urinalysis (Hemocytometer counts and interpretation of Gram stained

smears) performed on uncentrifuged urine specimens were correlated with urine cultures in 455 patients at Urology Clinic/Saddam City of Medicine. Pyuria was defined as ≥ 10 white blood cells/mm³, bacteruria as any bacteria on any of 20 oil immersion fields in Gram stained smear and a positive culture as ≥ 1000 colony forming units/ml. Results of the study revealed that although there is association between Pyuria and UTI, the absence of pus cells in urine sample can not be taken as evidence of absence of UTI, nor can the presence of Pyuria alone be considered as an indication of infection. The positive predictive value of the combination of Pyuria and bacteria (82.20%) justifies prompt institution of antimicrobial therapy before results are available, whereas the lower predictive value of Pyuria alone (71.79%) dictates delaying treatment decisions until culture results are available.

INTRODUCTION

Urinary tract infections (UTIs) are a common cause of morbidity and can lead to significant mortality. Careful diagnosis and treatment result in successful resolution of infection in most instances. Bacterial urinary tract infection is an inflammatory response of the Urothelium to bacterial invasion that is usually associated with Pyuria and bacteruria. Bacteriuria is the presence of bacteria in the urine, which is normally free of bacteria, and implies that these bacteria are not contaminants from the skin, vagina, or prepuce(1). Pyuria is the presence of more than 10 Polymorphonuclear Leukocyte (PMNs)ml of unspun urine or the presence of more than 5 PMNs/high power field (HPF) on microscopic examination of a spun urine sediment⁽²⁾.

Microscopic examination of urine is done principally to detect presence of increased numbers of Polymorphs (Pyuria) as an indication of infection in the urinary tract when culture may fail to show significant bacteriuria⁽³⁾.

This study was conducted to shed light on the sensitivity, specificity and predictive value of Pyuria in the diagnosis of urinary tract infection.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Urine samples were collected from four hundred and fifty five out patients attending the Urology Clini. Saddam City of Medicine for conditions related to urinary tract infections (UTIs).

Collection of Urine Specimen

Patients were instructed to collect mid stream urine samples into sterile container after careful cleansing of the Labia or Glans with soap (not antiseptic) and water, after allowing the first part of urine stream to be avoided as this help to wash out contaminants in the lower urethra. Urine was obtained from patients who have a catheter in situ by sterile with drawing of the sample with a syringe and needle from the catheter tube, not from the collecting bag ⁽⁴⁾.

Urinalysis

Urinalysis was performed to detect bacteriuria and Pyuria ⁽⁵⁾. Uncentrifuged urine was drawn into a Neubauer Hemocytometer by capillary action. White blood cells (WBCs) were counted on one side of the chamber and multiplied by 1.1 to obtain a total cell count/mm³.

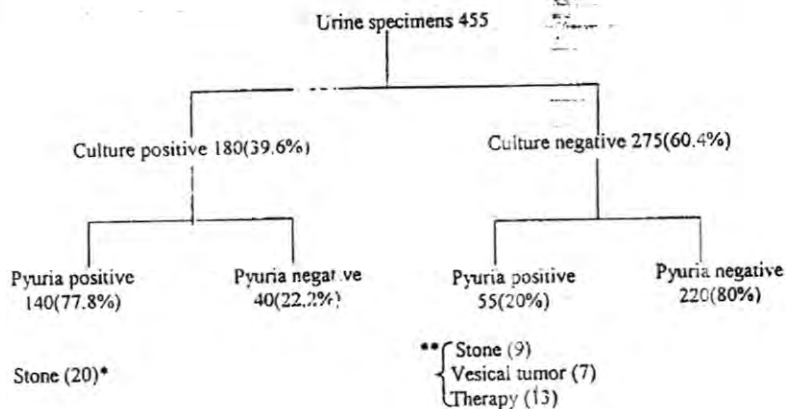
Gram stain the easiest, less expensive and probably the most sensitive and reliable screening method for identification of bacteria in urine specimens. After a drop of well - mixed urine was fixed, stained and examined under oil immersion (x1000). Presence of at least one organism per oil immersion field (examining 20 fields) correlates with significant bacteriuria (> 10⁵ cfu/ml) ⁽⁶⁾.

Urine Culture

A loop calibrated to deliver approximately 0.01 ml of urine was used to inoculate plates containing blood agar and MacConkey agar. All plates were incubated for at least 24 hours at 37C^o. Plates with no growth or tiny colonies were reincubated for further 24 hours before discarded as negative. Colonies on each plate were counted and the number of cell forming unites was multiplied by 100 to determine the number of microorganisms per ml in the original specimens ⁽⁵⁾.

RESULTS

Results of urine culture and Pyuria for 455 out patients, are summarized in figure (1). Of these 455 patients 275 (60.4%) urine specimens were culture negative while only 180(39.6%) urine specimens were culture positive. Of these 180 culture positive specimens 140(77.8%) were Pyuria positive and only 40 (22.2%) were Pyuria negative. Twenty patients with culture positive - Pyuria positive were found to have stone.



* Twenty patients with culture and Pyuria positive were found to have stone on ultrasound.

** Patients with culture negative and Pyuria positive,

1 Nine were found to have stone, and seven patients do have vesicletumor

2 Thirteen of those patients were under antibiotic therapy

Figure 1- Urine culture and Pyuria results for out patients under study.

The diagnostic validity, with the urine culture as gold standard, of the presence of (a) Pyuria alone (b) the combination of Pyuria and bacteriuria are presented in Table 1. The diagnostic validity of the combination of Pyuria and bacteriuria for identifying positive urine cultures results in a sensitivity of (74.44%), a specificity of (89.45%), a positive predictive value (PPV) of (82.20%) and a negative predictive value (NPV) of (84.24%). While the diagnostic validity of Pyuria alone for identifying positive urine cultures results in a sensitivity of (77.77%), a specificity of 80%, a PPV of 71.79% and a NPV of (84.61%).

Table 1-Sensitivity, Specificity and Predictive values of Pyuria* and bacteriuria** compared with Pyuria alone for identifying positive urine culture*** of study patients (N^s-455)

| Analysis | Sensitivity | Specificity | Positive predictive value | Negative predictive value |
|------------------------|-------------|-------------|---------------------------|---------------------------|
| Pyuria | 77.77 % | 80.00 % | 71.79 % | 84.61 % |
| Pyuria and bacteriuria | 74.44 % | 89.45 % | 82.20 % | 84.24 % |

* Pyuria defined as ≥ 10 white blood cells/mm³

** Bacteriuria defined as any bacteria of 20 oil immersion fields in Gram stained smear.

*** Culture - positive defined as growth of a single pathogen at a concentration of ≥ 1000 cfu/ml.

N^s = Total number of out patients under study

DISCUSSION

Diagnosis of UTI in this study was performed depending on results of urinalysis and urine culture. Urinalysis were considered positive when both Pyuria and bacteriuria were present. For urinalysis, performed on an uncentrifuged specimen, Pyuria was defined as at least 10 WBC/mm³ and bacteriuria was defined as the presence of any bacteria per 20 oil immersion field on a Gram stained smear.

The use of an uncentrifuged specimen (a) reduces variability in results caused by centrifugation and resuspension, (b) enables evaluation of a fixed volume of urine and facilitates accurate counting by providing a marked visual field with uniform illumination⁽⁷⁾.

Positive culture was defined as the presence of ≥ 1000 cfu/ml of a single pathogen. Investigations have found that only one - half of women with symptoms of acute lower UTI met the criterion of $\geq 10^5$ cfu/ml⁽⁸⁾. Studies by Kunin et al.,⁽⁹⁾ and Arva-Boger et al.,⁽¹⁰⁾ suggested that low - count bacteria might be an early phase of UTI. The majority of patients with bacterial counts between 10^2 and 10^4 cfu/ml has microorganisms typical for UTI (Escherichia Coli, Staphylococcus, Saprophyticus and enteric Gram-negative bacteria). Symptoms may arise during a transitional phase when the urethra is the primary site of colonization or inflammation. According to this concept bacteria may enter the bladder transiently, but as a result of urodynamic and other host defense mechanisms they are not able to grow sufficiently to achieve the highest densities that are observed in well established UTI. Several theories have proposed to explain the phenomenon of low - count bacteriuria. First, it is likely that symptomatic bacteriuria of $< 10^5$ cfu/ml reflects on going UTI, and therefore, the microbiological criterion should be reduced to 10^2 cfu/ml in symptomatic patients. Second, a low number of bacteria in the urine may be the result of increased urine output due to high fluid intake. Third, low - count bacteriuria may be produced by slow growth of some uropathogens such as S. Saprophyticus. Thus, one major common error in the diagnosis of UTI is to under estimate the significance of low - count bacteriuria. Particularly in men, low bacterial counts with uropathogens may be clinically meaningful, because contamination is uncommon in males⁽⁸⁾.

The absence of Pyuria with culture positive (40 of 180) may be due to the fact, that UTI was at an early phase before a local inflammatory response develops⁽⁷⁾. Other factors can influence the number of cells seen in urine. These include the state of hydration and intensity of tissue reaction⁽¹⁾. Franz and Hori⁽⁸⁾, reported that a low number of bacteria in the urine may be the result of increased urine output due to high fluid intake. According to this concept the present study suggests that the presence of WBCs in urine may greatly fluctuate from time to time during the same day (e.g. when the patient has diuresis or taking large amounts of liquids).

Of all the specimens with sterile culture (275), 55(20%) had Pyuria positive and 220 (80%) were Pyuria negative. Sterile Pyuria (55) can be

attributed to mass lesions of the bladder and kidney such as Neoplasm, Cysts and Calculi can produce Pyuria in the absence of UTI (1,1) Nine patients with sterile Pyuria were found to have stone and seven patients were found to have vesicle tumor. Occasionally, Pyuria without significant bacteria is also found in association with number of conditions, including, following operations of the urinary tract, for some days after successful chemotherapy of UTI, and in a proportion of post partum women (12). In the present study 13 patients with sterile Pyuria were under antibiotic treatment. Occasionally, unusual or fastidious bacteria may induce UTI. These bacteria are difficult to detect without examination of the urine using Gram stain (13). For example, Haemophilus Influenzae and Haemophilus Parainfluenzae which do not grow well in culture media commonly used for enteric bacteria and as a result may go undetected. Other unusual organisms include Pneumococcus, Campylobacter, Legionella Pneumophila, Salmonella, Shigella, Corynebacterium group D2, acid - fast bacilli (including Mycobacterium Tuberculosis and a typical Mycobacteria), and fungi (such as Blastomyces and Coccidioides) also are responsible for sterile Pyuria. So Gram and acid fast stain should be performed for patients with urinary symptoms and Pyuria when routine culture are reported to be negative (8). Another causes of sterile Pyuria including atypical bacteria, Chlamydia and Mycoplasma (3).

The positive predictive value of the combination of Pyuria and bacteriuria (82.20%) justifies prompt institution of antimicrobial therapy before culture results are available whereas the lower predictive value of Pyuria alone (71.79%) dictates delaying treatment decisions until culture results are available. These findings consistent with that of Hoberman and Wald (7), who reported a PPV of the combination of Pyuria and bacteriuria to be (84.6%) and a PPV of Pyuria alone to be 48.0%.

CONCLUSION AND RECOMMENDATION

The present study revealed that although there is an association between Pyuria and UTI, the absence of pus cells in urine sample (negative result) can not be taken as evidence of absence of UTI and further studies are required to investigate the presence of factors might be responsible for the absence of Pyuria in urinary tract infected patients which in turn affect the sensitivity, specificity and predictive value of Pyuria test in the diagnosis of UTI.

REFERENCE

1. Walsh P.C., Retik A.B., Vaughan E.D. and Wein A.J. Infections of the Urinary tract. In: Campbell's urology. W.B.C. Saunders. 7th Edition. P.P.: 534 - 547. (1998).
2. Stamm W.E., Measurement of Pyuria and its relation to bacteriuria. *Am.J. Med.* 75: 53 - 8. (1983).
3. Collee I.G., Fraser A.G., Marminon B.P. and Simmons A. Laboratory Strategy in the diagnosis of infective Syndromes. In: Practical Medical Microbiology . Churchill Livingstone 14th Edition, P. 86. (1996).
4. Mims C, Wakeline D., Playfair J., Williams R. and Ivan Roit Urinary tract Infections. In Medical Microbiology Mosby. 2nd Edition P.: 225. (1998).
5. Forbes B.A., Sahn D.F. and Weissfeld A.S. Infections of the Urinary Tract. In Diagnostic Microbiology. Mosby 10th Edition. PP.: 355 - 361. (1998).
6. Washington J.A. et al., Detection of Significant Bacteriuria by Microscopic examination of urine. *Lab. Med.* 12: 294. (1981).
7. Hoberman A. and Wald E.R. UTI in young children. New Lights on Old Questions. *Contemporary Pediatrics*, 14: 143. (1997).
8. Franz M. and Hori W.H. Common errors in Diagnosis and Management of Urinary Tract Infection. I: Pathophysiology and Diagnostic Techniques. *Nephrol Dial Transplant.* 14: 2746 - 2753. (1999).
9. Kunin C.M., White L.V., A Reassessment of the Importance of "Low-count" Bacteriuria in young Women with Acute Urinary Symptoms. *Ann. Intern. Med.*, 119: 454 - 460. (1993).
10. Arva-Boger B., Leibovici L. and Danon Y.L. Urinary Tract Infections with Low and High Colony Counts in Young Women. Spontaneous Remission and Single-dose vs Multiple-day treatment. *Arch. Intern. Med.*, 1; 4: 300 - 304. (1994).
11. Ouslander J.G., Schapira M., Schnell J.F. and Fingold S., Pyuria Among Chronically Incontinent but Otherwise Asymptomatic Nursing Home Residents *J. AM. Geriatric - So.*, 44: 420 - 423. (1996).
12. Brumfitt W., Davies B.I. and Rosser E. *ApI, Lancet* 2: 1059. (1961).
13. Kunin C.M. Urinary Tract Infections in Females (State of the Art). *Clin. Infect. Dis.*, 18: 1 - 10. (1994).

Urinary Tract Infection and Sterile Pyuria Among Patients With Urolithiasis

*ABID ALI AL-SHAFIE and **IKRAM AMIN KHAKI

, Department of microbiology, College of medicine, Baghdad university

KEY WORDS : urinary tract infection, pyuria, urolithiasis

الخلاصة

شملت الدراسة 450 مريض بالحصوات البولية كانت نسبة اصابة الذكور الى الاناث بالحصوات البولية 1:3. تمت دراسة علاقة وجود الحصى في الجهاز البولي والبول القيحي العقيم واخماج المسالك البولية بينت الدراسة ان نسبة اخماج البول القيحي العقيم كانت اعلى في المرضى الذين يعانون من مرض الحصوات البولية.

ABSTRACT

Four hundred and fifty patients, with urolithiasis were included in this study. Male to female ratio of patients with calculi was 3:1 Association of sterile pyuria and urinary tract infection with urolithiasis was higher than in patients without renal stones (control). Incidence of urinary tract infection was higher among patients with urolithiasis than in control group.

INTRODUCTION

Urinary tract infection may be a cause and complication of urinary tract disease. Recurrent or persistent infection is commonly associated with the presence of large matrix stone from which bacteria can be regularly recovered^(1,2). The relation between urolithiasis and urinary tract infection differs from case to case and with different types of stones.

Individual urinary calculi show varying type of bacteria. The calcium oxalate calculus can be considered as sterile urolithiasis, while calcium phosphate calculi are nearly always infected^(3,4).

The relationship between urea splitting organisms in the urine, mainly *Proteus* and stone composed of magnesium ammonium phosphate and of calcium phosphate is well known^(5,6).

Urea in the renal medulla in high concentration may act as a substrate for urease in *Proteus* and *Klebsiella* organisms and there by promote renal damage and stone formation^(7,8).

It has also been noticed that *Proteus* infection is highly related to stone formation in children^(9,10).

The concept of bacteriuria means a count of 100,000 colony forming unit (cfu) or higher per ml of a single species in the urine is indicative of infection^(11,2). However, other workers suggested that the presence of more than 100 bacteria per ml urine if it is associated with pyuria indicate the presence of urinary tract infection^(12,13).

Several workers reported the association of sterile pyuria with the presence of renal stones⁽¹⁴⁾.

Falthin (1909)⁽¹⁵⁾ was the first to draw attention to cases of pyuria in which no organisms could be demonstrated in urine. While Moore (1946)⁽¹⁶⁾ reported that sterile pyuria is definite entity probably caused by ultra microscopic organisms or sterile pyuria may suggest urinary tuberculosis.

Persistent sterile pyuria require careful reappraisal of the urinary tract for evidence of stones, tuberculosis or papillary necrosis^(17,18,2).

Cases of sterile pyuria should never receive antituberculosis therapy until diagnosis is firmly established.

The purpose of present study is to estimate the incidence of urinary tract infection in patient with urolithiasis, organisms involved and to compare that to control patients (patients with urinary tract infection due to urinary tract complications other than renal stones). Also to estimate the incidence of sterile pyuria in each of these two groups of patients.

PATIENTS AND METHODS

Patients included in this study were six hundred and eighteen (618). These were 410 males and 208 females.

Information regarding age, sex, occupation, antibiotics received, previous operation for renal stone and associated diseases were noted.

The stone was identified by intravenous pyelography (I.V.P.) or by ultra sound examination.

Group II : This included 450 patients (317 males and 133 female). All patients has stones and symptoms suggestive of urinary infection.

Group II : This included one hundred and sixty eight patients (93 male and 75 female).

Those patients had symptoms suggestive of urinary tract infection such as dysuria, loin pain, frequency, burning but without calculi as identified by ultra sound examination or by (I.V.P.).

A clean mid stream urine specimen was collected from all patients. General urine examination was done for specimen and culture on MacConkey agar and blood agar (oxid) were also done. The plates were incubated at 37c for 24h.

RESULTS

Table 1 shows the microorganisms isolated from the urine of patients suffering from renal stones.

From the table it is obvious that *E.coli* and *Klebsiella* are the most common urinary pathogens. This is followed by *Proteus* spp. And other organisms as seen in the table. The table demonstrates the incidence of U.T.I among patient with urolithiasis which is 148 out of 450 patients which gives a ratio of 1:3:2 for 35%.

Table 2 shows the bacteria isolated from the urine of 168 patients without renal calculi from this table it is seen that UTI occurred in 28 out 168 patients which gives a ratio of 1:6.

Table 3 and 4 show the incidence of sterile pyuria among patients with urolithiasis and patients with urinary tract problems other than stones.

Table (1): Microorganisms isolated from 450 patients with urolithiasis

| Microorganisms | Number male | Female | Total |
|-------------------------------|-------------|--------|-------|
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 22 | 12 | 34 |
| <i>Escherichia coli</i> | 14 | 17 | 31 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 12 | 3 | 15 |
| <i>Serratia mercerscens</i> | 9 | 4 | 13 |
| <i>Staph. Epidermidis</i> | 4 | 7 | 11 |
| <i>Strept. Faecalis</i> | 6 | 2 | 8 |
| <i>Staph. Aureus</i> | 4 | 2 | 6 |
| <i>Klebsiella ozanae</i> | 5 | 0 | 5 |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 3 | 1 | 4 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 2 | 2 | 4 |
| <i>Candida spp.</i> | 1 | 3 | 4 |
| <i>Proteus vulgaris</i> | 3 | 0 | 3 |
| <i>Citrobacter spp.</i> | 0 | 2 | 2 |
| <i>Enterobacter cloaca</i> | 0 | 2 | 2 |
| <i>Morganella morgani</i> | 1 | 1 | 2 |
| <i>Providancia stuuardii</i> | 2 | 0 | 2 |
| Mixed growth | 0 | 2 | 2 |
| Total | 88 | 60 | 148 |

Table (2): Microorganisms isolated from 168 patients without renal calculi

| Microorganisms | Number male | Female | Total |
|-------------------------------|-------------|--------|-------|
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 7 | 13 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 1 | 2 | 3 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 3 | 0 | 3 |
| <i>Serratia mercerscens</i> | 0 | 2 | 2 |
| <i>Staph. Epidermidis</i> | 0 | 2 | 2 |
| <i>Cotrobacter spp.</i> | 0 | 1 | 1 |
| <i>Strept. Faecalis</i> | 0 | 1 | 1 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 | 0 | 1 |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 1 | 0 | 1 |
| <i>Candida spp.</i> | 0 | 1 | 1 |
| Total | 13 | 15 | 28 |

Table (3): The incidence of sterile pyuria and UTI among patients with urolithiasis 450

| Investigation | Male | | Female | | Total | |
|------------------------------------|------|------|--------|------|-------|------|
| | No. | % | No. | % | No. | % |
| Sterile pyuria | 141 | 43.5 | 38 | 30.2 | 179 | 39.7 |
| Infection and white blood cells | 82 | 25.3 | 47 | 37.3 | 129 | 28.8 |
| Infection but no white blood cells | 8 | 2.4 | 11 | 8.7 | 19 | 4.2 |
| No infection, no white blood cells | 93 | 28.7 | 30 | 23.8 | 123 | 27.3 |
| Total | 324 | 100 | 126 | 100 | 450 | 100 |

Total No. of patients include males and females.

Table (4): The incidence of sterile pyuria and UTI among 168 patients without renal stones (control)

| Investigation | Male | | Female | | Total | |
|------------------------|------|------|--------|------|-------|------|
| | No. | % | No. | % | No. | % |
| Sterile pyuria | 12 | 12.9 | 7 | 9.3 | 19 | 11.3 |
| Infection and W.B.C | 11 | 11.8 | 11 | 14.6 | 22 | 13.1 |
| Infection but no W.B.C | 2 | 2.2 | 4 | 5.3 | 6 | 3.6 |
| No infection no W.B.C. | 68 | 73.1 | 53 | 70.6 | 121 | 72.1 |
| Total | 93* | 100 | 75* | 100 | 168 | 100 |

* Total No. of patients include males and females.

DISCUSSION

Pyuria and urinary tract infection are common in associated with urinary stone. It is believed that one of the aetiological agents in the formation of stones is urinary tract infection. Stone on the hand, causes constant irritation which leads to the formation of pyuria^(19,20)

The development of quantitative bacteriological techniques has resulted in bacteriuria rather than pyuria becoming the accepted evidence of urinary tract infection. In some circumstances no organisms can be isolated by ordinary methods and pyuria is the only initial evidence of inflammation of urinary tract⁽¹⁹⁾. The presence of excess white cells in the urine indicates inflammation at some point in the urinary tract from the kidney to external urethral orifice. This inflammation may be the result of infection. Pyuria may be absent in up to 25 percent of all patients with significant bacteriuria, particularly those infected with urea splitting organisms such as *Proteus*

spp., Where the urine pH is changed to alkaline leading to leukocytes disintegration and thus lead to false to alkaline leading to leukocytes disintegration and thus lead to false negative finding for pyuria in such patients. In addition, neutropenic patients with symptomatic urinary tract infection may fail to demonstrate pyuria. Therefore, the presence or absence of pyuria is no longer acceptable as an accurate screening test bacterial infection^(21,22). Sterile pyuria may be present when no bacteria is detected by conventional means as in urinary tract tuberculosis, prostatitis, tumors of the bladder, necrosis, systemic lupus erythematosus, bacterial cystitis, urethritis due to Mycoplasma, Chlamydia and viral infection of migrating renal calculi^(23,24).

It has been observed in this work that URI is commoner among patients with urolithiasis than among patients with urinary tract complaints other than renal stones (control). From the 450 patients with urolithiasis 138 had UTI (1:3:2). While among control group which consisted of 168 only 28 with UTI (1:6). It has been suggested that calculi may cause partial or complete obstruction of the urine resulting to incomplete obstruction of the urine resulting to incomplete bladder emptying. This may facilitate bacterial colonization of bladder with subsequent infection.^(25,26) Also, Blandy (1977)⁽²⁷⁾ and Coe and Favous (1987)⁽²⁸⁾ have suggested that obstructive uropathy and stasis will progressively nullify the wash out effect of inflow of fresh urine from the ureters and thus will be a good culture media for growth of organisms and formation of crystals especially magnesium ammonium phosphate. Urolithiasis also causes laceration of tissue, ischaemia and alteration of bladder defense mechanism. All these factors make the urinary tract a privileged site for bacterial growth. In this study, sterile pyuria was observed in the presence of renal stones. Sterile pyuria in patients with urolithiasis was observed to be four times greater than (patients with URI but no stones). This reflects the importance of renal calculi as a predisposing to pyuria. The high incidence of UTI associated with urolithiasis observed in the present work is in agreement with other workers. Al-Naama et al (1987)⁽²⁹⁾ for example observed a percentage of UTI of 43 and Charton et al (1986)⁽³⁰⁾ observed a percentage of 45 Duerden et al, (1976)⁽³¹⁾ reported sterile pyuria in 25% of cases they studied. On the other hand however, Tampyah et al (1976)⁽³²⁾ found that only 8.7% of his patients with renal stones have sterile pyuria. To explain the association of sterile pyuria with stone, Hugh (1967)⁽³³⁾ stated that pus cells originated by inflammatory changes induced within the urinary epithelium by a foreign body. Similarly Moore (1971)⁽¹⁶⁾ reported that constant irritation of the

mucousa by a calculus may be associated with sterile pyuria. In this study the high rate of sterile pyuria in patients with urolithiasis could not be attributed to the presence of stone only. The possible use of antibiotics by an appreciable number of patients could be another factor. Therefore, the recovery of pus cells from the urine is not conclusive for the presence of infection due to bacteria which oppose the opinion that usual urine samples which should be cultured are only those with significant number of pus cells per high power field. In a few cases in this work the urine culture yielded bacterial growth while no pus cells were observed in the urine deposit. This oppose the notion that usual urine samples should be cultured are only those with significant number of pus cells per high power field. The majority of infections in the present work are caused by gram negative bacilli this may be due to the fact that most urinary tract infections are of the ascending type and are therefore caused by bacteria belonging to the gut flora⁽³⁴⁾.

In conclusion the presence of calculus in the urinary tract causes pyuria, the pus originates by inflammatory changes induced in the urinary epithelium by foreign body such as constant irritation of the mucosa by a calculus. Some of these pyuria are sterile.

REFERENCES

1. Risnick, M.L. Evaluation and management of stone. Uro. Clin. No. rth. Am. 8(2): 256-276 (Abstract cited by cexcerpta medica Vol. 16, (1981).
2. Blandy J.; Fowler C. Urology 2nd Ed. Blackwell science com. Ltd. (1996).
3. Harnstein Als Infejuellf; Togeensburg H and Svanborg Eden C. Biology and pathology of urinary tract infection . J. of clin. Path. 34: 695, (1981).
4. Lingman J; Siegel Y; Steeli B. Metabolic evaluation of infected renal lithiasis: Clinical relevance , J Endo Urolo. 9:51, (1995).
5. Nemoy N. J. and Stamy T.A. (1971) Surgical surgical biology and biochemical management of infection stones (J.A.M.A.) 215: (1970).
6. Ingemuchlofer; Haker J. Urinary tract infection, Neirn and Hochdruckkeiten. 28: 78-84, (1999).
7. Alivn, E. and Parrish Kidney stones case studies 3rd Ed. P (104-105) (1986).
8. Gupta S. Short textbook of medical microbiology. 6th Ed. Jaypee brothers medical publisher. (1995).
9. Mann P.G. Proteus urinary infection in childhood in monor hospital, Bath (Abstract cited by cexcerpta medica 7: 1985), (1985).

10. Weiss R.A. Up date on childhood urinary tract infections and reflux. *Dem. Nephrol*, 18: 264-269, (1998).
11. Kass E.H. Bacteriuria and diagnosis of infection of the urinary tract. *Arch. Int. med.* 100: 709, (1957).
12. Stam, W.E. Prevention of urinary tract infection . *Am. J. of Med.* May, 15, (1984).
13. Tortora, Funka and Case : *Microbiology an introduction 6th*. Ed. By the Nenjamin/ Cumming publishing com. Inc. (1998).
14. Dareh, G.W. Urinary lithiasis in urology edited by Campblls 5th Ed. P. 1097, (1989).
15. Dareh, G.W Urinary lithiasis in urology edited by Campblls 5th Ed. P. 1097, (1989).
16. Filtin M. Verb. Bthcong. Med. Chir. Vereing Helsing for cited by Golden O. Horne (1953) A bacterial cystitis, *Ariview. Brit. J. of urol.* 25: 195-215, (1909).
17. Moor Thomas A bacterial pyuria *Br. Med. J.* 1: 25. (1946).
18. John V; Wettanfer A bacterial cystitis treatment with sodium oxychlorosen. *Br. J. Urol.* 116:434, (1976).
19. Cattell W.R. Diagnosis and significant of urinary tract infection in tetorial in post graduate medicine. *Urol.* Edited by G.D. Shisholm. (1980).
20. Moor T; Parker C and Charlton E. Sterile non tuberculous pyuria *Br. Med. J.* 43. 47-51.
21. Schaeffer J; Walsch P et al *Compbells urology.* 7th Ed. Phialidephia WB. Saunders com. 533-559, (1998).
22. Cattell W.R. urinary tract infection in recent and advances in Urology. Edited by W.F. Henery number 2, (1978).
23. Branett. B; Stephens. S. Urinary tract infection an over view, *Am. J. medical sci.* 314: 245-249, (1997).
24. Acar F. and Goldstein F F urinary tract infection recognition understanding treatment edited by pechere J. C, Acar J, (1984).
25. Richard S and Cuerdo P. Urinary tract infection, 5:a (internet). (2000).
26. Reisberg B Cystitis and Pyelonephritis in G.P. youmans. P y paterson and H.M. Sommers (eds) *The biologic and clinical basis of infection disease.* W. Saunders Washington philadelphia. (1975).
27. Bhairrvi K: Urinary tract infection . *J post graduate medicine*, 100, 6, (1997).
28. Blandy W.J. The kidney chronic inflammation in lecture note in urology. 2nd Ed. (1977).

29. Al-Namma L; Amia M; Luay P; Susan Y et al . The incidence and composition of urinary stones in southern Iraq. *Saudi medical J*8(5): 446-456, (1987).
30. Chaton M; Vallancien G; Vellon B et al urinary tract infection in percutaneous surgery for renal calculi *J. urol.* 132, (1986).
31. Duerden B and Moyes A. Comparison of laboratory methods in diagnosis of urinary tract infection. *J. clin. Patholo.* 29: 286-291, (1976).
32. Tambyah. J; Murugasu J; Cheah J. and Posen S. Urinary calculi in Singapore-A study of 254 patients *Br. Med. J.* 13:269, (1972).
33. Hugh E.J. *Nephrolithiasis and Nephrocalcinosis in renal disease* edited by black D.A.J. Black Well Scientific publisher, Oxford 43, (1967).
34. Naber K; Bauernfeind A; Dietlein G; Wittenberger , urinary tract pathogens and bacterial sensitivity in hospitalized urological patients *Scand. J. urol. Nephrolo. Supp.* 104, 47-57 (abstract cited by midline). (1987).

Positron Lifetime Measurements in Deformed Copper

A.A. ABDULLAH, H.M. YOUHANA, S.S. KAMOON

الخلاصة

تم قياس عمر فناء البوزترونات في عينات من النحاس المشوهة وغير المشوهة بواسطة مطياف تطابقي ذو ميز زمني قدره 418 بيكوثانية. واستخدم الصوديوم 22 كمصدر للبوزترونات وبفعالية أشعاعية قدرها 21 مايكروكيوري وكان عمر فناء البوزترونات في عينات النحاس المشوهة 173 بيكوثانية وقد اعتبر هذا الزمن كمعدل لعمر الفناء في الفراغات والانخلاعات. أما عمر فناء البوزترونات الحرة في عينات النحاس النقية غير المشوهة فكان 132 بيكوثانية.

ABSTRACT

Positron lifetime measurements in deformed copper were performed with a fast-slow coincidence spectrometer of 418 ps time resolution (FWHM). The positron source was ^{22}Na with activity of 21 μCi . The bulk lifetime (τ_1) was measured to be 132 ps and the lifetime of the trapped positrons at defects (τ_2) is 173ps which is considered as the wighted average of the lifetime for the positrons trapped at dislocations and vacancies.

INTRODUCTION

The application of positron annihilation technique is to investigate the lattic defects in metals and has shown a high potential for providing detailed information about the nature of crystalline defects, it can also provide a non-destructive test method.

In metals, positrons are very sensitive to defect regions that have electron density lower than the average, such as vacancies, small vacancy clusters, voids, dislocations, grain boundaries and interfaces. The positron lifetime spectrum is defect specific in a given metal, so the nature of defects trapping the psitron can be distinguished. In plastically deformed metals, high concentration of dislocations are to be expected together with point-like defects left behind by movable dislocations⁽¹⁾.

Positron lifetime studies in cold worked single crystals^(2,3), or polycrystals of copper samples^(4,5), have shown that the increase of lifetime observed in deformed copper is due to the positron trapping at dislocations and small vacancy clusters introduced by the plastic deformation. The same results were obtained in the case of fatigued copper samples^(6,7). The present work was undertaken to investigate the influence of the plastic deformation on the positron lifetime spectra and the validity of the trapping model⁽⁸⁾.

EXPERIMENTAL METHOD

The experimental set-up

The positron lifetime measurements were performed with a fast-slow coincidence spectrometer. The spectrometer utilizing two KL236 plastic scintillation detectors of ϕ 2.54x2.54 cm was coupled to Ortec RCA8850 and RCA 8575 photomultiplier tubes and 265 bases as shown in Fig (1). The time resolution of the spectrometer was measured to be 418 ps using ⁶⁰Co radioactive source, where there is no energy selection on both start and stop channels.

The positron source activity was about 21 μ Ci of ²²Na evaporated from NaCl solution onto aluminum foil of 5 micrometer thickness, the diameter of the active spot was about 3mm. The deposited activity was covered with another aluminum foil of the same thickness and fixed by two aluminum rings as shown in Fig(2).

In order to investigate the performance and the characteristics of the spectrometer a series of test measurements were carried out especially those parameters effecting the time resolution and the counting rate, such as, the coincidence resolving time, the effect of detector high-voltage and the width of the energy window. It was found that the time resolution (FWHM), the coincidence count rate and the energy window depend on each other, so a balance between them was achieved by taking an energy window of 40% on both energy channels using ²²Na source and a coincidence resolving time of 100ns, where a time resolution of 430ps and a coincidence count rate of about 60 counts were obtained.

Sample preparation

A rod of poly-crystalline copper of 20 mm in diameter and 99.9% purity was cut into a set of discs of 3 mm thickness each. The samples were well polished and annealed in a sealed quartz tube at 900 °C for six hours,

and then cooled at a rate of about 50°C/ hour, thereafter they were re-polished and etched in a dilute NH₄Cl, washed in alcohol and dried. Positron lifetime measurements were carried out for undeformed samples and for deformed samples as well by compressing them to different thickness reduction at room temperature.

Data analysis

The time spectra obtained from positron annihilation in the various copper samples were analysed using POSITRONFIT program, by fitting of spectrum to the sum of two exponential decay function convoluted with a gaussian resolution function⁽⁹⁾. Since the region of the spectrum close to zero time is dominated by the instrumental measuring, the fitted region was limited to about 90% at the left of the zero time and continued till the data reached almost background level. The background which results from the chance coincidence was subtracted during the fitting procedures and considered as a free parameter. The position of zero time, while not affecting the evaluation of the lifetime of the two fitted components, it did affect the evaluation of the two component intensities, and it was determined with high accuracy.

Positrons are annihilated in the ²²Na material and the source associated foils, thus a small intensity of long lifetime components may present in the measured spectra. To correct for this contribution, the fraction of positrons that are annihilated in the source was calculated using the relation⁽¹⁰⁾:

$$F(E_p, z, Z, d) = \frac{A[E_p, z, Z, d](1 + B(z))}{1 - B(z)(1 - 2A(E_p, z, Z, d))} \quad \dots(1)$$

Where E_p is the mean positron energy in MeV and was taken to be 0.6 MeV for ²²Na with Al-window (11).

$B(z)$ is the fraction of positions back scattered from the sample under investigation and can be estimated from the following empirical Formula (12).

$$B(z) = 0.0577 Z^{0.4724} \quad \dots(2)$$

Z is the atomic number of the sample under investigation

$A(E_p, z, Z, d)$ is the fraction of positrons of energy E_p in a material of atomic number (Z)

RESULTS AND DISCUSSION

The measured positron lifetime spectra were fitted according to two exponential functions with no constraints on any of the lifetime components or their intensities. The results showed that the longer lifetime component τ_2 varied randomly around an average value of 173 ± 7 ps, while the variance of the fit was found to be rather high, indicating that the two lifetime component cannot be resolved reliably from each other. The positron lifetime spectra were, therefore, re-analyzed according to two exponential decay functions keeping τ_2 constrained at 173 ps. The results are tabulated in Table (1).

According to the trapping model (8), the decay rate λ_1 is given by :

$$\lambda_1 = \lambda_f + k \quad \dots(3)$$

$$\text{where } k = (\lambda_f - \lambda_2) I_2/I_1 \quad \dots(4)$$

The best fit of equation (3) yielded:

$$\lambda_1 = 7.680 \pm 0.065 / \text{ns} \text{ corresponding to a lifetime of } \tau_f = 130 \pm 1 \text{ ps}$$

$$\lambda_2 (\lambda_d) = 5.780 \pm 0.066 / \text{ns} \text{ corresponding to a lifetime of } \tau_d = 173 \pm 2 \text{ ps}$$

According to the method that was established by Dlubek et al (13), the specific trapping rate of the positrons trapped at dislocations is :

$$\mu_d = 10^3 b^2 \lambda_f \frac{d(k/\lambda_f)}{d(\epsilon - \epsilon_0)^2} \quad \dots(5)$$

$$\text{or } d(k/\lambda_f) = M d(\epsilon - \epsilon_0)^2 \quad \dots(6)$$

$$\text{where } M = (\mu_d / 10^3 b^2 \lambda_f)$$

b is the Burger constant with an experimental value of 2.4 \AA (7) and ϵ is the strain which can be calculated by the formula (14):

$$\epsilon = (2/\sqrt{5}) \log (d_0/d) \quad \dots(7)$$

d_0 and d are the initial and final thickness of the deformed sample. The data were adjusted to equation (6) by the least squares method. From the fitting parameter M , the value of μ_d was determined to be $1.566 \pm 0.007 \text{ cm}^2/\text{s}$. For copper, the number of atoms/ cm^2 is 1.9×10^{15} (2), then μ_d is equal to $(2.975 + 0.013 \times 10^{15} \text{ s}^{-1})$, which is consistent with the expected value of 2900 ps^{-1} obtained by McKee et al. (2).

As shown in Fig. (3), the short lifetime component τ_1 is plotted as a function of the intensity I_2 , where τ_1 decreases monotonically. This result can be interpreted in the view of trapping model, that is, initially after positrons reached thermal energies, all of which are free (I_2 almost zero and I_1 nearly 100%, where τ_a represents τ_f). Latter on some of positrons are trapped by lattice defects and annihilated therein, resulting in increasing of I_2 and decreasing of τ_1 .

The lifetime spectra were also fitted to one component (τ). The observed lifetime τ related to the trapping rate k through the following relationship (3).

$$\frac{\tau - \tau_f}{(\tau_d - \tau_f)} = \frac{k}{\lambda_f - k} \quad \dots(8)$$

The point defects concentration C_d introduced by the deformation is given by (7):

$$C_d \sim \varepsilon^\alpha \quad \dots(9)$$

$$\text{Since } k = \mu_d C_d, \text{ then } k = G (\Delta d/d_0)^\alpha \quad \dots(10)$$

Where ε is the plastic strain, G and α are parameters and μ_d is the specific trapping rate. Substituting equation (10) in to equation (8) leads to:

$$\frac{1}{\tau - \tau_f} = \frac{\lambda_f}{(\tau_d - \tau_f)G} (\Delta d/d_0)^{-\alpha} + \frac{1}{(\tau_d - \tau_f)} \quad \dots(11)$$

The experimental values were fitted by the least square method according to equation (11), keeping $(\tau_d - \tau_f)$, G and α as variable parameters. The fitting yielded:

$$\frac{\lambda_f}{(\tau_d - \tau_f)G} = 3.88 \pm 0.99 \times 10^3$$

$$\alpha = 1.889 \pm 0.200$$

$$\text{and } \frac{1}{(\tau_d - \tau_f)} = 24.21 \pm 9.92$$

Using these parameters in equation (11), G was determined to be $47.27 \times 10^3 \text{ ns}^{-1}$ and τ_d was 173ps. Using the measured value of the bulk lifetime of copper $\tau_f = 132 \text{ ps}$, the concentration of defects can be calculated using equation (10).

$$C_d = (G / \mu_d) (\Delta d / d_0)^\alpha \quad \dots(12)$$

And

$$C_d = 3.02 \times 10^7 (\Delta d/d_0)^{1.889 \pm 0.200} \quad \dots(13)$$

It may be concluded that, the increasing in lifetime value over the bulk lifetime, which was determined to be 41ps, is attributed to the lifetime components of the positrons trapped at dislocations and vacancies, so that, the present value of $\tau_2 = 173\text{ps}$ is considered as the weighted average value of the two positron lifetime components.

Table (1)

| $(\Delta d/d)\%$ | $\tau_1(\text{ps})$ | $\tau_2(\text{ps})$ | $I_1\%$ | $I_2\%$ |
|------------------|---------------------|---------------------|------------|---------|
| 0.0 | 133±5 | 185±12 | 93.61±1.38 | 6.39 |
| 3.8 | 128±3 | 178±5 | 79.39±2.68 | 20.61 |
| 5.2 | 125±2 | 171±4 | 64.86±1.37 | 35.14 |
| 6.1 | 121±7 | 183±8 | 62.12±5.30 | 37.57 |
| 7.2 | 115±7 | 168±4 | 46.12±4.64 | 53.88 |
| 9.6 | 116±3 | 181±5 | 45.32±1.94 | 54.68 |
| 10.8 | 101±8 | 165±8 | 23.19±5.95 | 76.81 |
| 15.4 | 89±2 | 161±7 | 13.04±1.35 | 86.96 |
| 19.1 | 74±3 | 163±5 | 10.61±1.29 | 89.39 |
| 24.0 | 70±4 | 175±4 | 8.81±2.44 | 91.19 |

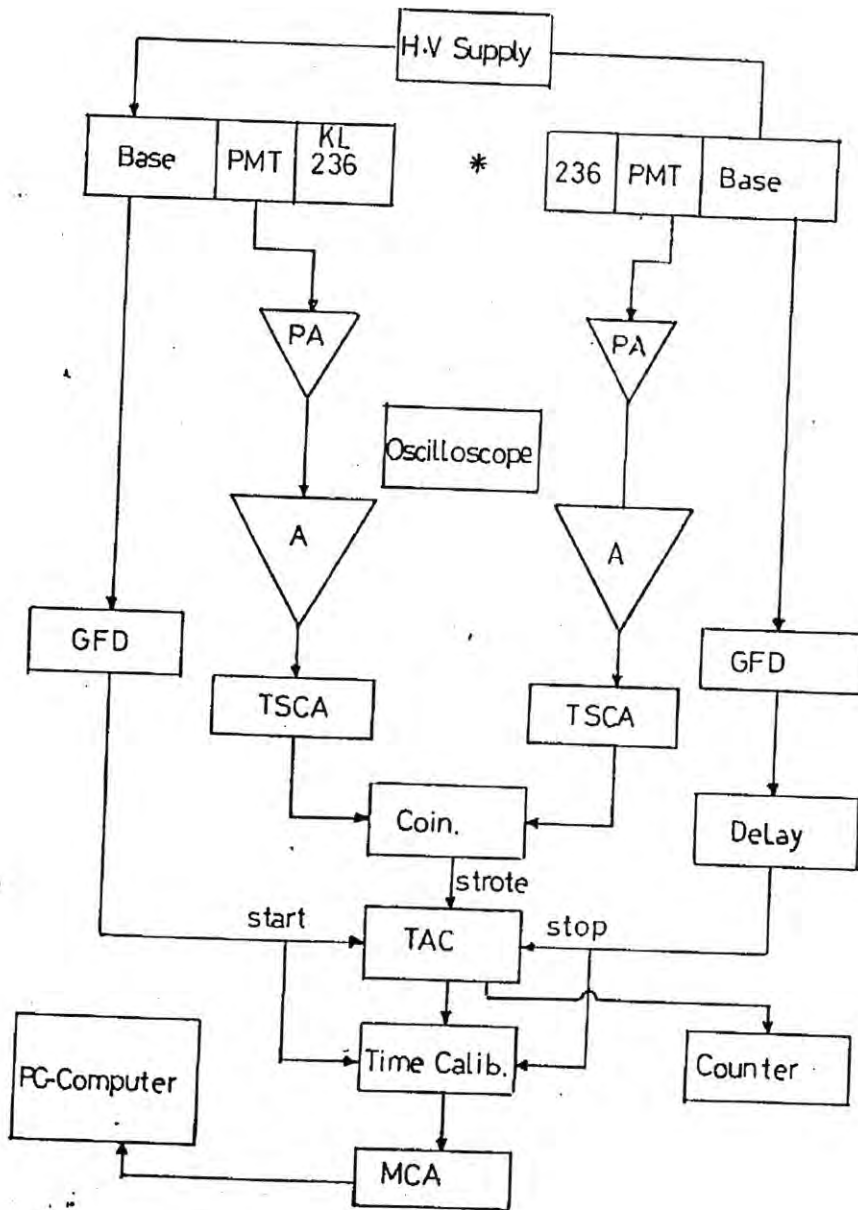


Fig.1. Experimental set-up.

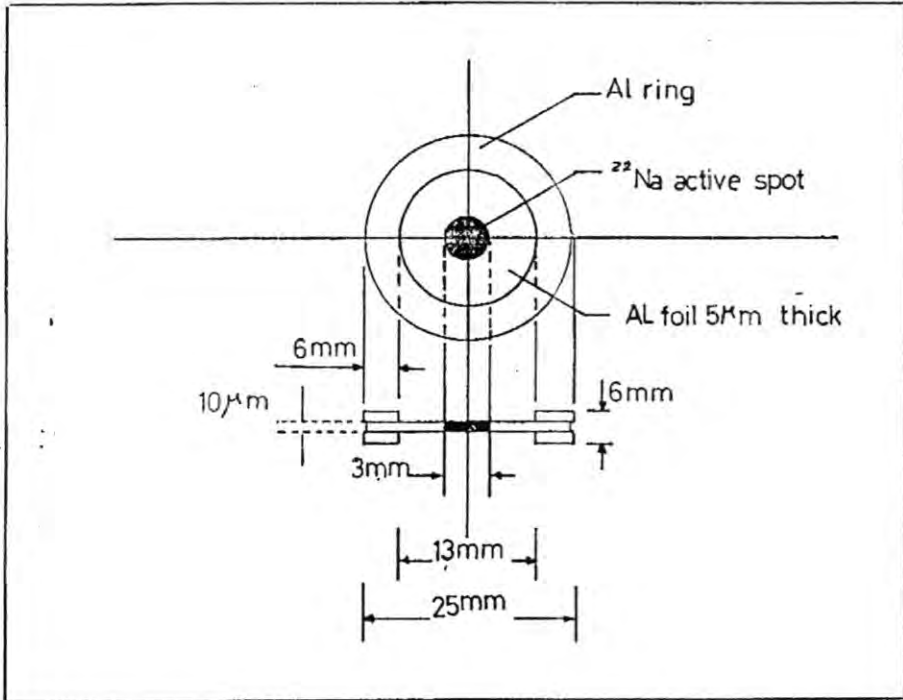


Fig. 2. Source arrangement .

REFERENCES

1. P. Hatogarvi, A.Tamminea and Juho, *Phys. Rev. Lett*, Vol. 24 P459 (1970).
2. B.T.A. McKee, S.Saimoto, A.T. Stewart and M.J. Stott, *Cand. J. Phys.* 52 759 (1974).
3. S.C. Sharma, Y.J. Ataiyan, R.M. Johnson, L.M. Diana, S.Y. Chuang and P.G. Coleman, *Positron annihilation (proceeding of the 6th international coference)* p464 Texas. (ICPA-6) (1982).
4. K.Hinode, S. Tanigawa and M. Doyama, *J Phys. Soc. Jpn* 39, p545 (1975).
5. I.K. Mackenzi, J.A. Eady and R.R. Gingerich, *Phys. Lett. Vol. A33*, 279 (1970).
6. L.P. Karjalainen, T. Judin and M.Karras, *ICPA-6*, P461, Texas (1982).
7. L. DIAS, R. Pareja, M.A. Pedrosa and R. Gonzalex, *Phys. Stat. Sol. (a)* 92, 59 (1985).
8. P. Kirkegard and Eldrup, *Comp. Phys. Commun*, 3, 240 (1972).
9. H. Sormann, P.Kandel and W.Puff, *ICPA-7*, P848 (1985).
10. H. Surbeck, *Helv. Phys. Acat.*, Vol. 15, p 705 (1977).
11. W. Brands, "In positron solid state physics", W. Brandt and A.Dupasquier, Edits (North Holland Pub. Co. Amestrדם) (1983).
12. P.V. ArA.R. Grupper and H. Limkulov, *ICPA-6*, P699 (1982).
13. G.Dulbek, O.B.Brummer and E. Hansel, *Phys. Stat. Sol. Vol. 37*, 952 (1988).
14. Peng Yuging, Zhena Wanhu, Zhu Jiabi and Wang Jingcheng in "Positron Annihilation", "Proceeding of the 6th international conf.), P532, Texas. (1982).

مجلة علوم المستنصرية

مدير التحرير

الدكتور رضا ابراهيم البياتي

استاذ-كيمياء

رئيس التحرير

الدكتور سعد محمود المشهداني

استاذ-علوم حياة

هيئة التحرير

عضو

د. رمزي رشيد علي

عضو

د. عبد العزيز مجيد الكبسي

عضو

د. قيس جميل لطيف

عضو

د. هاشم حميد جواد

عضو

د. محمود خالد الشمري

المحتويات

| <u>رقم الصفحة</u> | <u>الموضوع</u> |
|-------------------|--|
| ١ | تحليل الكبريتات في المطروحات الصناعية المائية بمطيافية الامتصاص الذري غير المباشر هلال شهاب وهاب و مرام ثامر خماس |
| ١١ | دراسة الاجنيت المنتج من قبل العزلات المحلية لبكتريا Pseudomonas Aeruginosa د. رياض عبد الحسين دلول |
| ٢١ | تصنيف حل الدم (الهيمولايسين) لبكتريا القولون المعزولة من العجول حسين حسن خانقاه، رياض عبد الحسين دلول، ميثاق جاسم حسين |
| ٣٥ | استخدام تقنيات المعالجة الرقمية لتحسين صور القمر الاصطناعي الاتوائي أعلى ولد بابا المحجوب، عوني ادوار عبد الأحد و لؤي أدور جورج |
| ٥٣ | مقارنة بين المتحسسين MSS و TM للقمر الاصطناعي LANDSAT من ناحية تأثيرها بالعوامل الجوية والارضية عوني ادوار عبد الاحد ، عمر برهان الجراح ، حازم حمود حسين |
| ٦٧ | تقدير سرعة حركة الغيوم باستخدام المعالجات الرقمية لصور القمر الاصطناعي NETEOSAT-7 أعلى ولد بابا المحجوب ، عوني ادوار عبد الاحد ، لؤي أدور جورج |
| ٩٣ | التغيرات الدموية لثمار نبات الفلفل الاحمر الحار Capsicum frutescens في خنازير غينيا هالة عبد الحافظ عبد الرزاق، ماجد محمد محمود، هشام عطا شحاذه |

رقم الصفحةالموضوع

- ١٠١ التأثير الالتهابي على المستوى النسيجي لثمار نبات الفلفل الأحمر الحار
Capsicum frutescens في الجهاز التنفسي لخنازير غينيا
هالة عبد الحافظ عبد الرزاق، ماجد محمد محمود، سالم رشيد حمودي
- ١٠٩ تنمية بكتريا الستروبتومايسيس *Streptomyces* في اوساط زرعية محضرة
محليا و اوساط صناعية مختلفة ودراسة فعاليتها التضادية ضد البكتريا المرضية
نهي جوزيف قندلا
- ١٢٧ حساب قدرة الايقاف للمركبات في مدى الطاقة (0.2-0.3 MeV)
سحر عبد العزيز، خالد عبد الوهاب، فلاح علي حسين

تحليل الكبريتات في المطروحات الصناعية المائية بمطيافية الامتصاص الذري غير المباشر

هلال شهاب وهاب و مرام ثامر خماس
مركز بحوث الطاقة والبيئة - الجادرية - بغداد - العراق

ABSTRACT

Analysis of Sulfate ion in synthetic and authentic environmental specimen were carried out by indirect atomic absorption spectrometric technique through the determination of the remained Barium ions in the supernatant after complete precipitation of the Sulfates. A simple mathematical expression was derived for the calculation of Sulfate content, based on the equivalency of the Sulfate concentration to the difference in total added Barium ion concentration and the residual after precipitation. The method has shown good reliability and consistency for most of the samples.

الخلاصة

تعتمد تقنية الامتصاص الذري لتحليل الكبريتات على قياس المتبقي من ايونات الباريوم بعد الترسيب الكامل للكبريتات في العينات المختبرية والبيئية. بغية احتساب تركيز جذر الكبريتات تم اعتماد صيغة رياضية مبسطة مبنية على اساس تركيز الكبريتات المكافئ للفرق بين تركيز الباريوم المضاف والباريوم المتبقي في المحلول الرائق بعد عملية الترسيب. اظهرت نتائج التجارب جودة الطريقة وبما توازي وثوقية وجدوى الطرائق القياسية المعتمدة.

المقدمة

تتواجد ايونات الكبريتات في مياه الشرب، الامطار، الصناعية، والخدمية بتركيز متباينة معتمدة على مصادرها وتتصف بتاثيرات تاكلية سلبية وبمختلف انواعها الكيميائية والبايولوجية، المائية منها والهوائية على الاجهزة والمعدات الملامسة لتلك المياه والتي تؤدي بالنتيجة الى

اتلاف تلك المستلزمات الصناعية، وتأسيسا على ذلك فرضت مؤسسات حماية البيئة انظمة لمراقبة تراكيز الكبريتات في المياه اسوة بالايونات المؤثرة الاخرى، ولغرض تحقيق تلك الرقابة والتأكد من عدم تجاوز تركيز الكبريتات الحدود المسموحة، استخدمت طرائق تحليلية الية وتقليدية عديدة لقياسها بشكل مباشر في المياه المختلفة ومنها الطيفية والتعكيرية والوزنية والجهدية (1-3) تشير العديد من النشريات الى الاستخدام الواسع لمطياف الامتصاص الذري في حقل تحليل عير المباشر للعديد من المركبات (4) والايونات (5, 6) وبمختلف التراكيز (7, 8) كطريقة تحليلية موازية للطرائق الاخرى وذلك بسبب الدقة والثوقية والجدوى التي تتصف بها مطيافية الامتصاص الذري.

يهدف البحث الى تحقيق الظروف الملائمة لتحليل جذر الكبريتات في عينات من المطروحات الصناعية باستغلال ظاهرة التحليل غير المباشر لمطياف الامتصاص الذري اللهبى ومقارنة نتائجها من حيث الدقة والسرعة والتداخلات الكيميائية مع طرائق شائعة الاستخدام لتحليل الكبريتات عند التراكيز العالية مثل الوزنية بالترسيب المباشر وعند التراكيز المتوسطة والواطنة نسبيا مثل التعكيرية.

الجزء العملي

1- الاجهزة والمستلزمات المختبرية

- مطياف الامتصاص الذري اللهبى نوع Shimatzu موديل 670.
- المطياف المرئي احادي الحزمة نوع Jenway. موديل PCOI.
- الطارد المركزي نوع Gallenkamp.
- فرن حراري نوع Heraeus.
- حمام مائي نوع Heto.

2- المواد الكيميائية

- غاز اوكسيد النتروز بنقاوة < 99 % .
- كلوريد الباريوم بنقاوة < 99.5 % (BDH).
- كلوريد البوتاسيوم بنقاوة < 99 % (Fluka).
- حامض الهيدروكلوريك، المركز (BDH, 35.4 %).

- محلول قياس للباريوم (1000 ملغم/لتر).

تحضير المحاليل

- كلوريد الباريوم (1000 ملغم/لتر)
 - اذابة 0.8895 غرام من كلوريد الباريوم في الماء المقطر والتخفيف الى 500 مللتر.
- كلوريد البوتاسيوم (5%)
 - اذابة 5 غرام من كلوريد البوتاسيوم في 100 مللتر من الماء المقطر
- المحلول المكيف
 - اذابة 18.75 غرام من كلوريد الصوديوم في ٧٥ ملتر من الماء المقطر و ٢٥ مللتر من الايثول.
 - محلول مزيج من 12.5 مللتر من الكسرين و 7.5 مللتر من حامض الهيدروكلويك المركز.
 - مزج المحلولين اعلاه وتسخين المزيج النهائي في حمام دافئ لمدة ساعة واحدة.
- كبريتات الصوديوم (1000 ملغم/لتر)
 - اذابة 1.479 غرام من كبريتات الصوديوم في الماء المقطر والتخفيف الى 1000 مللتر.

طرائق العمل

تم تحليل الكبريتات للعينات المختبرية والبيئية بثلاث طرائق مختلفة لاغراض المقارنة وبتراكيز 40-600 (ملغم كبريتات/لتر) وكما يلي:

أ - الطريقة الوزنية Gravimetry (1)

- خذ حجم معين من العينة (10 مللتر) واطف عليها 10 ملتر من المحلول القياسي للباريوم وواحد مللتر من محلول كلوريد البوتاسيوم وثلاث قطرات من حامض الهيدروكلوريك المركز.
- اكمل الحجم الى ٢٥ مللتر مع الرج المستمر لمدة 5 دقائق.
- سخن بالحمام المائي (80 درجة مئوية) لمدة ساعة واحدة.

تحليل الكبريتات في المطروحات الصناعية المائية بمطيافية الامتصاص الذري غير المباشر
هلال شهاب وهاب و مرام ناسر خماس

- رشح الراسب باستخدام ورقة عديمة الرماد.

- احرق عند 500 مئوي لحين ابيضاض الراسب (2-3 ساعات).

ب - انعكسية Turbidimetry (3)

- خذ حجم معين من العينة (10 ملتر) واكمل الى 100 مللتر بالماء المقطر.

- اصف 5 مللتر من المحلول المكيف.

- اصف 0.3 غرام من مسحوق كلوريد الباريوم المائي.

- رج المحلول ميكانيكيا لمدة دقيقة واحدة.

- قس الامتصاصية عند الطول الموجي 420 نانومتر كل 30 ثانية ولمدة اربع دقائق.

- خذ اعلى قيمة للامتصاصية لغرض احتساب تركيز الكبريتات.

ج- مطياف الامتصاص الذري غير المباشر Indirect Atomic Absorption Spectrometry

- خذ حجم معين من العينة (10 ملتر) واصل عليه حجم مكافئ من المحلول

القياسي للباريوم (1000 ملغم/لتر).

- اصف (1) مللتر من محلول كلوريد البوتاسيوم وثلاث قطرات من حامض الهيدروكلوريك المركز.

- اكمل الحجم الى 25 مللتر بالماء المقطر.

- رج المحلول لمدة 5 دقائق واتركه يسخن في الحمام المائي عند درجة حرارة 60

مئوي لمدة ساعة لتعجيل عملية الترسب والتلييد.

- اترك المحلول ليبرد الى درجة حرارة المختبر.

- افصل بالطارد المركزي ورشح الراسب وخذ الراشح الرائق لقياس تركيز الباريوم

غير المتفاعل بالامتصاص الذري وفق ظروف الاتية (9).

| | |
|--------------|--|
| Mode | HC Lamp |
| Curent | 12 - 15 mA (for best precision) |
| Wave length | 553.6, 455.4 and 350.1 nm |
| Slit width | 0.4, 0.8 nm |
| Flame type | N ₂ O-C ₂ H ₂ |
| Fuel flow | 4.5 - 5.0 L/min |
| Oxidant flow | 5 L/min |

| | |
|-------------|------------------------|
| Burner type | 5 cm |
| Height | 15 mm |
| Angl | Zero, 45 and 90 degree |

النتائج والمناقشة

تجارب المقارنة

لغرض التعرف على جودة وامكانية طريقة الامتصاص الذري غير المباشر لاحتساب تراكيز معلومة من الكبريتات بدلالة تركيز الباريوم المتبقي في المحلول الرائق بعد ترسيب الكبريتات على هيئة كبريتات الباريوم، تم تحليل عينات مختبرية حاوية على تراكيز مختلفة من الكبريتات (40 - 400 ملغم/لتر) يرينا الجدول (1) النتائج المستحصلة ومدى حيودها عن الاقيام الحقيقية ومن الملاحظ ان نسب الاسترداد تتراوح من % 98 الى % 107 وان نسبة الخطا النسبي لمعدل تحليلين على الاقل لكل تركيز لا تزيد عن % 7 في اسوا الاحوال ويمكن ان يعزى التذبذب النسبي عند بعض التراكيز الى عامل التخفيف ومن الجدير بالذكر تم اعتماد زوايا مختلفة للمذرية (الذهب) وتقليل تيار مصباح الكاثود الى حدود معقولة فضلا عن استخدام اطوال موجية ذي حساسية قليلة كوسيلة تخفيف الية اضافية تجنبنا لظاهرة الامتصاص الذاتي المتناهي من تراكيز الباريوم العالية نسبيا. اضافة على ذلك تلعب درجات حرارة اللهب دورا ملحوظا في تذبذب اقيام الامتصاصية وزيادة الحساسية وزيادة الحساسية ومن المعروف بان المزيج الغازي (N₂O-Air) يولد لها بدرجات حرارة

(2600 - 2800 درجة مئوية) (9) والتي من الممكن ان تؤدي الى تاين ذرات الباريوم وبالتالي الى تذبذب المعطيات العملية وعليه تم استخدام كلوريد البوتاسيوم كمثبط للتاين بسبب درجات الحرارة العالية للمذرية. اختبرت وثوقية الضريقة بمقارنة النتائج التحليلية لمجموعة عينات معلومة مع طرائق قياسية معتمدة، الوزنية (1) والتعكرية (3) حيث نلاحظ من الجدول (2) نسبة التوافقية بين الطريقتين الحالية والوزنية تتراوح ما بين % 95 و % 104، ويرينا الجدول (3) بان معدل الحيود بين الطريقتين الحالية والتعكرية لا يتجاوز 15 ملغم/لتر لمجموعة معطيات المقارنة.

تأثير الايونات المرافقة

نلاحظ من الجدول (4) مدى تداخل الايونات السالبة المرافقة للكبريتات مثل النترات والفسفات على تحليل 10 ملغرامات من الكبريتات بالطريقة الحالية. تشير نتائج الدراسة الى عدم وجود تداخل ملحوظ في العينات الحاوية على 0.25 ملغم من النترات وظهور تداخل هامشي حين زيادة كميات النترات الى 2.5 ملغم.

ويمكن اعتبار هذا التأثير تداخل غير منظور وعلى وجه الخصوص عند التراكيز العالية من الكبريتات حيث لا تتجاوز نسبة التأثير على (% -1.2) في القيمة النهائية. اظهرت ايونات الفوسفات تداخلا محسوسا حين احتواء العينات على 0.125 ملغرام وتزداد نسبة التداخل والتأثير على القيمة النهائية للكبريتات بزيادة كمية الفوسفات في العينات الى 0.625 ملغرام وعليه وبغية ازالة تدخل ايونات الفوسفات يتطلب اما استخدام وسائل الفصل الكيميائي مثل التبادل الايوني او الاستخلاص المذيبى او اعتماد اسلوب الاضافات القياسية (standard addition) المعروف في تحاليل مطيافية الامتصاص الذري كوسيلة ناجحة في توهين او ازالة تأثير المنشأ (Matrix) على العنصر موضوع التحليل. ويفضل الاسلوب الاخير لمحدودية خطوات العمل حيث ان زيادة الخطوات يمكن ان تكون مصدرا اضافيا للاخطاء التحليلية.

العينات البيئية

قورنت النتائج المستحصلة للكبريتات من الطريقة الحالية وكما تظهر في الجدول (5) لعدد من العينات البيئية للمطروحات الصناعية لشركات نصر والقادسية مع الاقيام المستحصلة من طريقة التعكيرية المعروفة (3) والمعتمدة في مراجع ومختبرات عديدة. ومن الملاحظ بان التوافقية في النتائج مقبولة الى حد ما بين الطريقتين لعينات صناعية حاوية على العديد من الايونات السالبة والموجبة المرافقة للكبريتات وبتراكيز مختلفة. ويمكن ان تعزى نسب الحيود بينهما الى خطوات العمل المتعددة في الامتصاص الذري غير المباشر فضلا عن تأثير تواجد الايونات السالبة الاخرى المرافقة للكبريتات في العينات مثل الفوسفات وكما اشرنا الى ذلك سلفا. احتساب تركيز الكبريتات

يمكن احتساب تركيز الكبريتات في العينات باستخدام الطريقة الحالية بوسيلتين اولهما باعتماد الشكل (1) الذي يبين تركيز الباريوم في المحلول الرائق وتركيز الكبريتات في العينات مباشرة في حالة استخدام طريقة العمل المثبتة في هذا العمل البحثي، وثانيهما، باعتماد الصيغة الرياضية الاتية:

$$\text{Sulfate, mg/L} = (A-B) \times D.F. \times MS/MB$$

حيث:

$$A = \text{التركيز الابتدائي للباريوم} = 400 \text{ ملغم/لتر}$$

$$B = \text{تركيز الباريوم في المحلول الرائق بعد الفصل مقاس بمطيافية الامتصاص الذري (ملغم/لتر)}$$

$$D.F. = \text{عامل التخفيف} = 2.5 \text{ (طريقة العمل الحالية)}$$

$$MS = \text{الوزن الجزيئي لجذر الكبريتات} = 96 \text{ غرام/مول}$$

$$MB = \text{الوزن الجزيئي لايون الباريوم} = 137.34 \text{ غرام/مول}$$

حيث تكون صيغة المعادلة كما يلي:

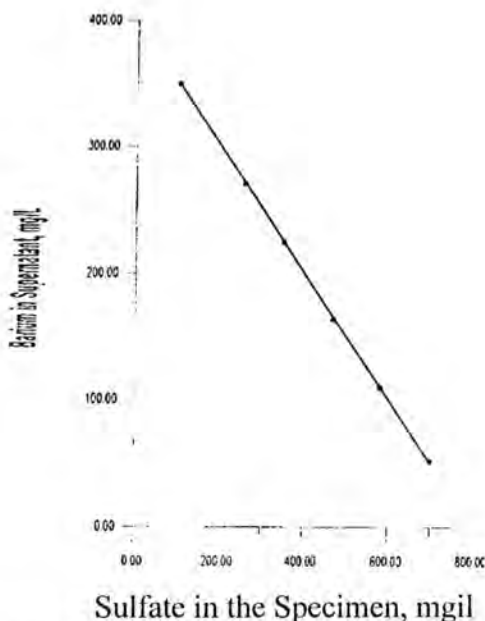
$$\text{Sulfate, mg/L} = (400-B) \times 2.5 \times 96/137.34$$

$$\text{Sulfate, mg/L} = (400-B) \times 2.5 \times 0.699$$

$$\text{Sulfate, mg/L} = (400-B) \times 1.748$$

الاستنتاجات

١. اثبتت طريقة مطيافية الامتصاص الذري غير المباشر كفاءتها لقياس جذر الكبريتات في العينات المختبرية والبيئية بدلالة ايونات الباريوم جنبا الى جنب مع الطرائق القياسية المعتمدة مثل الوزنية بالترسيب المباشر والتعكيرية على ان يغطي تركيز الباريوم التراكيز المتوقعة للكبريتات في العينات وتزيد عليها بغية قياسها بالامتصاص الذري. يمكن تقليل حساسية الطريقة موضوع البحث التراكيز العالية من الباريوم من خلال استخدام اطوال موجية ثانوية ذات حساسيات واطنة وكذلك بتغيير المذرية (الذهب) بزواوية قائمة على انجاه شعاع المصباح الكاثودي فضلا عن امكانية تقليل تياره.



الشكل (1) منحنى احتساب تركيز الكبريتات في العينة بدلالة تركيز الباريوم في المحلولالرائق

الجدول (1) تحليل الكبريتات في العينات المختبرية بطريقة الامتصاص الذري غير المباشر

| Sulfate added mg/L | Sulfate found mg/L | Deviation mg/L | Relative error % | Recovery % |
|-----------------------|-----------------------|-------------------|------------------------|---------------|
| 40 | 40.25 | 0.25 | 0.6 | 100.6 |
| 120 | 125.8 | 5.80 | 4.8 | 104.8 |
| 160 | 171.26 | 11.26 | 7.0 | 107.0 |
| 200 | 201.31 | 1.31 | 0.7 | 100.7 |
| 240 | 248.15 | 8.15 | 3.4 | 103.4 |
| 400 | 392.0 | 8 | 2.0 | 98.0 |

الجدول (2) مقارنة الطريقة الحالية مع الطريقة الوزنية

| Gravimetric method mg/L | Indirect AAS method mg/L | Gravimetric indirect AAS percent |
|----------------------------|--------------------------------|--|
| 38 | 40 | 95 |
| 391 | 392 | 100 |
| 400 | 85 | 104 |
| 404 | 398 | 102 |
| 412 | 434 | 95 |

الجدول (3) مقارنة الطريقة الحالية مع طريقة التعكسية

| Turbidimetry mg/L | Indirect AAS mg/L |
|----------------------|----------------------|
| 33 | 26 |
| 42 | 35 |
| 62 | 86 |
| 110 | 129 |
| 179 | 200 |
| 399 | 385 |

Average deviation = 15 mg/L

الجدول (4) تأثير الايونات السالبة المرافقة على 10 ملغم كبريتات

| Anions | Amount added mg | Sulfate found mg |
|-------------------------------|--------------------|---------------------|
| NO ₃ ⁻ | 0.25 | 9.95 |
| | 2.50 | 9.88 |
| PO ₄ ⁻³ | 0.125 | 10.85 |
| | 0.625 | 11.93 |

الجدول (5) تحليل الكبريتات في العينات البيئية (المطروحات الصناعية)
بالطريقة الحالية

| Company | Turbidimetry mg/L | Indirect AAS mg/L | Bias mg/L |
|------------|----------------------|----------------------|--------------|
| AL Qadsiya | 111.9 | 89.7 | -22.2 |
| AL Qadsiya | 114.9 | 105 | -9.9 |
| AL Qadsiya | 107 | 85.3 | -21.7 |
| AL-Naser | 245 | 210 | -35 |

REFERENCE

- 1.A.I. Vogel, A. Text-book of Quantitative Inorganic Analysis, 3rd Ed., Longman, London (1961).
- 2.H. Hwang and P.K. Dasgupta, Spectrophotometric Determination of Trace Aqueous Sulfate using Barium-Beryllon II, Michrochim Acta, 1, 313 (1985).
- 3.Standard Methods for Water and Waste Water Analysis, American Public Health Association, (1980).
- 4.R.H. Ali, Determination of Some Alkaloids and Nitrogen Compounds Using Indirect Atomic Abs. Spectry., Univ., of Baghdad, Ph.D. Thesis, (1998).
- 5.W.S. Zaugg and R.J. Knox, Indirect Determination of Inorganic Phosphate by Atomic Absorption Spectrophotometric Determination of Molybdenum, Anal. Chem. 38, 1759 (1966).
- 6.T. Hocking and W. Gulick, Determination of Sulfur in Natural Fuel Materials by Atomic Absorption Spect., Anal. Chim. Acta., 151, 195 (1983).
- 7.C.J. Adilson, Indirect Analysis of Sulfate in Brines by Atomic Absorption Spectrometry, A[[. Spect., 34, 28 (1980).
- 8.W. Reichel and L. Acs. Determination of Chlorine in Selenium by a Distillation-Atomic Absorption Procedure, Anal.Chem., 41, 1886 (1969).
- 9.الدكتور فاضل جاسم محمد/التحليل الكيميائي بمطيفية الامتصاص الذري/الجزء الاول/ قسم الكيمياء/كلية العلوم/جامعة بغداد/(1989).

دراسة الاجنيت المنتج من قبل العزلات المحلية لبكتريا *Pseudomonas Aeruginosa*

د. رياض عبد الحسين دلول

قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية،
بغداد - العراق

الخلاصة

تم الحصول على ٦٠ عزلة تعود لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* من نماذج مختلفة (ادرار - قشع - حروق وجروح) وشخصت من بينها ٢٣ عزلة منتجة للاجنيت (Alginate) تميزت بكثافة نموها المخاطي على الأوساط الزرعية التي نمت عليها خاصة وسط غراء الماكونكي المحتوي ٣% كليسيرول. اختبرت حساسية هذه العزلات الـ ٢٣ تجاه ٧ مضادات مختلفة لملاحظة دور الاجنيت في مقاومة العزلات للمضادات الحيوية، اظهرت جميع العزلات مقاومتها لمضاد الامبسلين بينما كانت نصفها تقريبا مقاومة لمضادات البراسلين والجنيتاميسين وبالمقابل كانت اغلب العزلات حساسة لمضاد السبروفلوكساسين. كما تم تحديد التراكيز المثبطة الدنيا لبعض المضادات الحيوية واختيرت لذلك العزلات المنتجة للاجنيت والتي اظهرت مديات مقاومة عالية لمضاد السيفوتاكسيم ومديات متوسطة للجنيتاميسين. كذلك تضمنت هذه الدراسة معرفة دور الاجنيت في عملية الالتصاق البكتيري على الوسط النسيجي Lamb Tests (Lt) باستخدام التركيز تحت المثبط الأدنى (Sub MIC) لثلاثة انواع من المضادات الحيوية وهي Chloramphenicol, Gentamicin, Polymyxin-B. اظهرت هذه المضادات فعالية كبيرة في تثبيط انتاج الاجنيت عندما اضيفت بتركيز الـ Sub MIC الى وسط النمو.

المقدمة

تعد بكتريا *P. aeruginosa* من الممرضات الانتهازية المهمة التي تسبب اصابات خطيرة مثل تسمم الدم، لاسيما للمرضى الذين يعانون من الضعف المناعي، كما تسبب هذه

البكتريا اصابات في الجهاز التنفسي، والمساك البولية والتهابات الجروح والحروق وغيرها من الاصابات^(١).

تمتلك هذه البكتريا عوامل ضراوة كثيرة فضلا عن عوامل التي تساعد على الاستيطان وإحداث الاصابة في خلايا وانسجة المضيف، ومن بين هذه العوامل المهمة هو انتاجها لعديد السكريد او يدعى بالاجنيت⁽²⁾ *Mucoid Exopolysaccharide*، اذ تفرز السلالات المخاطية من هذه البكتريا مادة الاجنيت الذي يعد عامل ضراوة اضافي يعمل على حماية البكتريا من الظروف البيئية غير الملائمة ومن تأثير المضادات الحيوية وكذلك يوفر حماية من عملية البلعمة⁽³⁾.

تستطيع معظم عزلات *P. Aeruginosa* من تصنيع الاجنيت لكن العزلات المخاطية تنتج كميات اكبر من هذه المادة، ويعد الاجنيت المادة المسؤولة عن التصاق البكتريا على الخلايا الطلانية وعلى القصبة الهوائية⁽⁴⁾.

يتكون الاجنيت من بوليمر من β -D-Mannuronic Acid & α -L-Glucuronic Acid ويكونان مرتبطين بواسطة اصره كلايكوسيديه من نوع البيتا 1-4، ويترأوح الوزن الجزيئي للاجنيت بين 100000 الى 480000 دالتون⁽⁵⁾.

تمتلك بكتريا *P. Aeruginosa* قدرة جيئية على تصنيع الاجنيت، فتستطيع معظم انواع هذا الجنس من انتاجه. وجد Darzins وجماعته^(٦) ان العديد من الجينات والانظيمات تدخل في صناعة الاجنيت، وتكون معظم الجينات المسؤولة عن عملية التصنيع متجمعة في عنقود Alg D على الكر وموسوم.

تبدأ عملية تخليق الاجنيت بتكوين الجزيئة *GDP-Mannuronate* أنتاجة عن فعالية الجينات Alg A, Alg C, Alg D، ومن ضمن الجينات المهمة في عملية تخليق الاجنيت هو الجين Alg D الذي يشفر لصناعة *GDP-M Dehydrogenase* المسؤول عن اهم خطوة في عملية تخليق الاجنيت وهي تحويل *GDP-Mannose* الى *GDP-Mannuronic Acid*، اما الجين Alg G فانه يشفر لعملية تحويل أل Mannuronic إلى أل Guluronate، بينما يشفر الجين Alg L لانظيم *Alginatelyase* الذي يعزي الى له القدرة على بلمرة الاجنيت، ويعمل الجين Alg F بالتشفير الى انظيم أل *Acetylase*، اما الجين Alg A فانه يشفر الى *Phosphomanose* الذي يقوم بتحويل الفركتور 6- فوسفيت الى مانوز 6- فوسفيت من ثم يحفز على انتاج ال *GDP Mannose*^(٧).

وفي دراسة اخرى، قام Deretic وجماعته^(٨) بدراسة الجينات المسؤولة عن اظهار صفة المخاطية لعزلات *P. Aeruginosa* فوجد ان الجين Alg R يسيطر على الجين Alg D وهذا الجين بعد الاهم في تخليق الاجنيت اذ ان الجين Slg R من الجينات التي تتاثر بالظروف المحيطة بالبكتريا.

واشار Marty وجماعته^(٩) ان انتاج الاجنيت يتاثر كثيرا باظروف البيئية المحيطة بالبكتريا وب عوامل التغذية، فمثلا وجد ان تغير المصدر الكربوني يؤدي الى تغير مفاجئ في انتاج الاجنيت.

كما ان لارتفاع تركيز ايونات الصوديوم والبوتاسيم والكالسيوم التي تتعرض لهل البكتريا تساعد على ظهور الصفة المخاطية للسلاطات البكتيرية لان الجين Alg D المسؤول عن تخليق الاجنيت يزداد بزيادة تراكيز هذه الايونات^(١٠).

وجد Devault وجماعته^(١١) ان انخفاض درجة حرارة التحضين واطافة الكليسيروول الى الوسط الزراعي يعملات على ظهور الصفة المخاطية كما ان لتركيز ١% من الايثانول في الوسط الزراعي يؤدي الى زيادة واضحة في فعالية الجين Alg D وهذا يؤدي الى ظهور الصفة المخاطية.

كذلك فان للاوساط الزراعية المستعملة دور وتأثير واضح في اظهار الصفة المخاطية ، اذ وجد Baltimore & Sheldd^(١٢) ان استخدام وسط Muller-Hinton يجعل البكتريا تفقد الصفة المخاطية على الوسط عند تنميتها عليه.

جاءت هذه الدراسة لتهدف الى الحصول على عزلات ذات طبيعة مخاطية من بكتريا *P. Aeruginosa* منتجة للاجنيت ومن حالات مرضية مختلفة واختبار حساسيتها للمضادات الحيوية الشائعة وتقدير التركيز المثبط الادنى لبعض المضادات تحاه هذه العزلات المخاطية ثم معرفة دور الاجنيت في الالتصاق البكتيري على الوسط النسجي Lamb Test، واستخدام التركيز تحت المثبط الادنى (Sub MIC) في تثبيط الالتصاق البكتيري.

المواد وطرائق العمل

١- العزلات البكتيرية:

تم عزل بكتريا *P. Aeruginosa* من سريرية عديدة (الادرار - الحروق والجروح - القشع) (١٢٣ عينة) لمرضى من مستشفيات مختلفة في مدينة بغداد، تم زرع النماذج على وسط غراء الدم ووسط ماکونكي، وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ م لمدة ٢٤-٤٨ ساعة، وشخصت العزلات بشكل نهائي باستخدام عدة التشخيص API 20 E وحسب ماجاء في (١٢).

٢- فحص الحساسية للمضادات الحيوية:

اعتمدت طريقة Baure وجماعته (١٤) لدراسة مقاومة العزلات المنتجة للاجنيت تجاه

المضادات الحيوية التالية:

Ampicillin (Amp 10 µg), Gentamicin (G 10 µg), Pipracillin (PRL 100 µg), Cefotaxim (CTX 30 µg), Tetracyclin (TET 30 µg), Tobramycin (TM 10 µg), Ciprofloxacin (CF 5 µg).

٣- تحديد التراكيز المثبطة الدنيا (MIC):

تم اجراء هذا الفحص اعتمادا على (١٥) باجراء التخفيف بوسط المرق المغذي باستخدام

مضادات

.GM, PRL, CTX, CF

٤- الالتصاق البكتيري:

اجريت عملية الالتصاق البكتيري على الوسط النسيجي Lt، بعد تحضير هذا الوسط

حسب طريقة (١٦).

٥- تثبيط الالتصاق البكتيري على الوسط النسيجي Lt:

اعتمدت طريقة (١٧) لدراسة تاثير التركيز Sub MIC لثلاثة مضادات

(Chloramphenicol - Gentamicin - Polymyxin-B) على انتاج الاجنيت وعملية

الالتصاق البكتيري.

النتائج والمناقشة

تم تشخيص بكتريا *Pseudomonas Aeruginosa* في ٦٠ نموذج وكان من بين هذه العزلات ٢٣ عزلة منتجة للالجنيت وقد تميزت هذه العزلات بكثافة نموها المخاطي على الاوسط الزرعية التي نمت عليها خاصة على وسط غراء الماكرنكي الذي يحتوي ٣% من ماجة الكليسيول.

في هذه الدراسة تم اختبار حساسية ال ٢٣ عزلة اعلاه تجاه ٧ مضادات مختلفة (حسب ماورد في طرق العمل). اظهرت النتائج ان هناك اختلاف في مقاومة العزلات المدروسة للمضادات الحيوية المستخدمة، وسجلت نسبة مقاومة ١٠٠% تجاه مضاد الامبسلين (جدول ١) وهذا يتفق مع نتائج^(١٨) الذي اشار الى المقاومة العالية لعزلات هذه البكتريا تجاه مضادات الامبسلين والاموكزسلين. فيما كانت نسبة المقاومة لمضادات السيوفوتاكسيم والتتراسايكلين هي ٥.69% و 3.19% على التوالي وهذا يدل على ان عزلات هذه البكتريا قادرة على انتاج انزيمات السيفالوسبورينز التي تهاجم مضادات السيفالوسبورينات وتجعلها مركبات غير فعالة، وان سبب المقاومة العالية لمضاد التتراسايكلين قد يعود الى امتلاك هذه البكتريا صفة المقاومة الطبيعية، اضافة لانتاج مادة الالجنيت بالنسبة للعزلات المخاطية التي تتميز بمقاومتها العالية للمضادات الحيوية.

واظهرت نتائج هذه الدراسة ايضا ان عموم العزلات اظهرت تحسسا واضحا لمضاد ال Tobramycin وكانت نسبة التحسس ٨٦.٠% وهذا يتفق مع نتائج^(١٩) الذي اكد ان هذا المضاد فعال ضد عزلات بكتريا *P. Aeruginosa* مقارنة فعالية المضادات الاخرى مثل مجموعة البيتالانثام. ومن نتائج الجدول (١) ايضا يمكن ملاحظة ان اعلى نسبة تحسس بلغت ٣٩١% تجاه مضاد السبروفلوكساسين اذ اظهرت معظم العزلات تحسسا واضحا لهذا المضاد، وتتفق هذه النتيجة مع ما اورده^(١٨) اذ سجلت نتائجه نسبة تحسس لمضاد السبروفلو كساسين بلغت ٤٨٩%

جدول رقم (١) حساسية العزلات المنتجة للاجنيت تجاه ٧ مضادات مختلفة

| المضاد | % المقاومة |
|--------|------------|
| Amp | 100 |
| PRL | 65.2 |
| CTX | 69.5 |
| Tet | 91.3 |
| Gm | 43.3 |
| Tm | 39.1 |
| Cf | 8.69 |

من جانب اخر فقد تم تحديد التركيز المثبط الادنى لبعض المضادات الحيوية التي اختريت كونها تمثل المضادات الاكثر استعمالا لمعالجة اصابات بكتريا *P. Aeruginosa* وهي مضادات GM, CF, PRL, CTX، اظهرت النتائج ابداء العزلات المخاطية لهذه البكتريا مقاومة عالية لمضاد CTX حيث ترواح قيمة ال MIC له ١٦-٥١٢ مايكرو غرام/مل وربما يعود السبب الى استخدام هذا المضاد بشكل واسع، اما مديات قيم ال MIC لمضادات PRL, GM فكانت (٤ - ٥١٢) و (٦٤ - ١٠٢٤) مايكرو غرام/مل على التوالي وربما يعود سبب المقاومة هذه الى الاستخدام الواسع لهذه المضادات في بلدنا وكذلك فان العزلات التي تم اخيارها تمثل العزلات الاكثر ضراوة والتي تحمل صفة المخاطية أي لها القابلية على انتاج ماجة الاجنيت المقاومة لفعل المضادات الحيوية بشكل واسع.

ولمعرفة دور الاجنيت في الالتصاق البكتيري على الوسط النسيجي الـ Lamb Tests اختيرت ثلاثة عزلات احداها مخاطية مهدبه، والثانية غير مخاطية مهدبه والثالثة غير مخاطية غير مهدبه، وبعد اجراء عملية الالتصاق البكتيري لهذه العزلات على الوسط المذكور اعلاه لوحظ وجود فرق معنوي بين معدل التصاق العزله المخاطيه المهدبه والذي بلغ 20.1 ± 83.1 جدول (٢) مقارنة بمعدل التصاق معامل السيطرة الذي بلغ 3.5 ± 0.1 . ووضحت نتائج التحليل الاحصائي باستخدام اختبار t عن وجود فرق معنوي ($p \leq 0.01$) وهذا يثبت ان العزلات المخاطية تلتصق بمعدل اكبر من معدل التصاق العزلات غير المخاطية على كل انواع الخلايا.

جدول (٢) دور الالجنيت في عملية التصاق بكتريا *P. Aeruginosa*على خلايا الوسط *L t*

| عدد الخلايا الملتصقة/خلايا الوسط النسبي الانحراف المعياري \pm المعدل | العزلات البكتيرية المنتجة |
|---|---------------------------|
| 20.1 ± 1.83 * | عزلة مخاطية مهدبة |
| 11.5 ± 1.2 * | عزلة غير مخاطية مهدبة |
| 3.5 ± 1.5 | عزلة غير مخاطية غير مهدبة |

* وجود فروق معنوية ($P \leq 0.01$)

مما تقدم يتبين ان للالجنيت المنتج من هذه العزلات دور مهم في مقاومة هذه البكتريا للمضادات الحيوية وكذلك الالتصاق البكتري على الوسط النسيجي *L t*، وفي محاولة لتنشيط الالتصاق البكتيري تم استخدام ثلاثة انواع من المضادات الحيوية وبالتركيز تحت التركيز المثبط الأدنى Sub MIC وعلى خلايا الوسط *L t* اوضحت النتائج ان هنالك فرقا معنويا ($p \leq 0.01$) بين معدل التصاق العزلة المخاطية المهذبة على وسط *L t* (جدول ٣) اذ يبلغ معدل الالتصاق بوجود هذه المضادات ، (4.0 ± 1.0) ، (14.3 ± 1.2) ، (3.3 ± 0.9) على التوالي لمضادات Gentamicin, Chloramphenicol, Polymyxin - B وتم مقارنة معدل الالتصاق بعد المعاملة مع معدل الالتصاق قبل المعاملة الذي بلغ 20.1 ± 1.83 .

جدول رقم (٣) تثبيط عملية التصاق بكتريا *P. Aeruginosa* المخاطية المهذبة علىالوسط النسيجي *Lt* باستخدام تركيز Sub MIC للمضادات الحيوية

| عدد الخلايا البكتيرية الملتصقة/خلية في الوسط النسيجي <i>Lt</i> hbkpvt hgludhvd \pm hglu]g | المضادات الحيوية |
|---|------------------|
| 3.3 ± 0.9 * | Polymyxin - B |
| 4.0 ± 1.0 * | Gentamicin |
| 14.3 ± 1.2 * | Chloramphenicol |
| 20.1 ± 1.83 | السيطرة |

* وجود فروق معنوية ($p \leq 0.01$)

يتضح من ذلك ان التراكيز الواطنة للمضادات الحيوية لها تاثير كبير في التصاق
البكتريا انذي يعتبر الخطوة الاولى للغزو والاستيطان وحدوث الاصابة.

REFERENCE

1. Dasilva Filho, .L. V. F., Levi J. E. et al. Molecular Epidemiology of P. Aerug. Infection. J. Med. Microb. 50: 261 - 267. (2001).
2. Brooks G. F., Butley J. J. & Morse S. A. Medical Microbiology. 21st Ed. Middle East Ed. Beirut, Lebanon. (1998).
3. Schur M.J., Martin D.W. et al., Gene Cluster Controlling Conversion to Alginate - Overproducing Phenotype in P. Aeruginosa. J. Bacteriol. 808 - 815. (1994).
4. Pederson S.S., Espersen F. Immunoglobuline A and IgG Antibody Response to Alginate. J. Clin. Microb. 28: 747 - 755. (1990).
5. Hoby N., Pederson S.S., Shand G.H. et al., P. Aeruginosa Infection. Antibiot Chemo. Ba Sd, Krager, 42: 56 - 61. (1989).
6. Darins A., Wang S.K. et al. Clustering of Mutation. Affecting Alginic Acid Biosynthesis in Mucoid P. Aerug J. Bacteriol. 164: 516 - 524. (1985).
7. Deretic M., Schurr M.J., et al. Conversion of P. Aerug. to Mucoidy in Cystic Fibrosis. J. Bacteriol. 176: 2773 - 2780. (1994).
8. Deretic M., Dikishit R., Konyecsni W.M., et al. The Alg R Gene. Which Regulates Mucoid in P. Aerug. J. Bacteriol. 171: 1278 - 1283. (1989).
9. Marty N., Psquier C., et al. Effect of Characterised. P. Aeruginosa Exopolysaccharide. J. Med. Microb. 47: 129 - 134. (1998).
10. Berry A., De. Vault J.D., et al. High Osmolarity is a Signal for e Thanol Alg D Transcription in Mucoid and non-Mucoid P. Aerug. J. Bacteriol 171: 2313 - 2317. (1989).
11. Devault J.D., Kimbara D. & Charkabarty A.M. Pulmonary Dehydration & Infection in Cystic Fibrosis. Mol. Microbiol 4: 737 - 745. (1990).
12. Baltimore R.S. & Shedd D.G. The Role of Complement in The Opsonization of Mucoid & Non - Mucoid Strain of P. Aerug. Pediatier. Res. 17: 952 - 956. (1983).
13. Baron E.J. & Finegold S.M. Diagnostic Microbiology. 9th Ed. Mosby. (1994).

14. Baur A.W., Kirby W.M., et al. Antibiotic Susceptibility Testing by Standard Disk Method. *Am. Clin. Pathol.* 45: 493 - 496. (1966).
15. Nurry P.R., Baron E.J. et al. *Manuel of Clinical Microbiology* 7th Ed. Washington, DC. Vol. 1. (1999).
16. Plowright W. & Ferris R. The growth & Cytopathogenicity of Sheep Pox in Tissue Culture. *Br. J. Pathol.*, 39: pp. 424. (1958).
17. DiMartion P., Huet J. & Hulen C. Effect of Antibiotics on Adherence of *P. Aeruginosa* to Pneumocyte Cells. *Chemotherapy.* 46: 129 - 134. (2000).
18. Luzzaro F., Mantengoli E. et al. Dynamics of Nosocomial out break of MDR *P. Aeruginosa*. *J. Clin. Microb.* 39: 1865 - 1870. (2001).
19. Shawar R.M., Macleod D.L. et al. Activities of Tobromycin & six other Antibiotics Against *P. Aerug.* *Antim. agent Chemoth.* 43: 2877 - 2880. (1999).

تصنيف حل الدم (الهيمولايسين) لبكتريا القولون المعزولة من العجول

حسين حسن خانقاه ، رياض عبد الحسن دلول ، ميثاق جاسم حسين

قسم علوم الحياة

كلية العلوم - الجامعة المستنصرية

ABSTRACT

A ne Haemlysin typing method for differentiating epidemic strains of E. Coli was followed with the aid of several types of blood (from Horses, Sheep, Cattle and the four human types) the strains were isolated from calves suffering from white scours and heal the calves> the method has reasonabley good reprducibility and can be used as diagnostic and epidemiological marker through the information supplied which concern the relationship of some typed strains with the isolation sources and with the behaviour of the strains (Pathogenic or not). The method was, finally, a covering tool connecting the relation between strains isolated at different times and in different regions.

الخلاصة

صنف ٩٠ عترة من بكتريا الاشريشيا القولون المعزولة من العجول اعتمادا على انتاجها لمادة الهيمولايسين التي تحل كريات الدم الحمر الماخوذة. من مصادر مختلفة، وقد كانت نسبة الجراثيم المصنفة ٨٥,٥% ، واتضح امكانية اعتماد طريقة التصنيف هذه كأداة وبائية تشخيصية من خلال المعلومات التي تم التوصل اليها والتي تتعلق بارتباط بعض الاصناف بمناطق عزل معينة وبنوع الجراثيم المعزولة (مرضية او غير مرضية)، وقد كانت الطريقة ايضا وسيلة واقية للحفاض على صلة الايشيريشيا المعزولة من امكنة واوقات متباعدة.

المقدمة

تعد بكتريا الايشيرشيا القولون *Escherichia Coli* من الممرضات المهمة للانسان والحيوان اذ يساعدها على ذلك تكيفها ومقاومتها للعديد من مضادات الحياة، وامتلاكها عوامل ضرواوة متنوعة^(١) [Brooke et al. 1998]، وان من اهم عوامل الضرواوة هذه، انتاج الهيمولاسين والقابلية على الالتصاق بالخلايا الطلائية (Uro-Epithelium) وانتاج البكتريوسين المعروف بـ Colicin^(٢).

يعد الهيمولاسين مادة سامة فهو يقوم بتدمير الغشاء الخلوي لكريات الدم الحمراء ولان انتاجه يرتبط غالبا بالعزلات المرضية لذلك عد من العوامل التي تزيد من ضرواوة البكتريا^(٣) [Swihart & Welch, 1990]. اكد العديد من الباحثين على دور الهيمولاسين في الامراضية بصفة عامل ضرواوة مهم للبكتريا، فقد اشار Piccini وجماعته^(٤) [Piccini et al., 98] الى ان السلالات المحللة للدم كانت اكثر ضرواوة من السلالات غير المحللة للدم عند حقنها بالفئران، كذلك فقد لاحظ Hacker وجماعته^(٥) [Hacker et al., 1986] ان العزلات المرضية المسببة لالتهاب الجلية والتي ازيل منها (cured) بلازميد الهيمولاسين قد فقدت قليليتها على احداث المرض في الجرذان لكنها استعادتها عند اعادة البلازميد الى داخل الخلية ومن جانب اخر، اوضح كل من [Cavalieri & Synder 1982]^(٦) التأثير السام الفاهيمولاسين المنقى جزئيا والماخوذ من البكتريا المعزولة من الانسان على كريات الدم البشرية وخلايا الفايبروبلاست (Fibroblasts) و اشار باحثون اخرون الى ان تحلل كريات الدم الحمراء ينتج عنه توفر الحديد الذي يساعد البكتريا على النمو^(٧) [Waalwijk et al. 83].

كما هو معروف فان تصنيف بكتريا الايشيرشيا القولونية *E. Coli* المعزولة من مصادر مختلفة امر ليس باليسير ذلك لان التصنيف المصلي المعتمد يتطلب وقتا وجهدا ومختبرات متخصصة بعض الشيء. من هنا اتجهت انظار الباحثين لمحاولات تصنيفية اخرى مثل الاعتماد على انتاج الكولسين (Colicin Typing) او التصنيف العائلي (Bacteriophage Typing) وغير ذلك. وفي هذه الدراسة وضمن اطار البحث عن طرق تصنيفه وتضخيصية جديدة حلولنا تصنيف بكتريا *E. Coli* المعزولة من العجول اعتمادا على انتاجها لمادة الهيمولاسين وملاحظة تأثير هذه المادة على كريات الدم الحمراء الماخوذة من مصادر مختلفة (الانسان وثلاثة اجناس من الحيوانات).

المواد وطرائق العمل

العزلات البكتيرية:

تم الحصول على ٩٠ عزلة تعود لبكتريا E. Coli وقد قسمت الى ثلاث مجاميع: المجموعة الاولى محلية معزولة من عجول عراقية مصابة بمرض الاسهال الابيض (التسلسل من ١ الى ٤٩) والمجموعة الثانية من عجول عراقية سليمة ظاهريا (من ٥٠ الى ٦٤) اما المجموعة الثالثة فهي معزولة من حالات الاسهال من عجول اجنبية (من ٦٥ الى ٩٠).

التشخيص:

واكد التشخيص باستخدام نظام E 20 api وحسب ما جاء في [Baron & Fine Gold, 1998]. (٨)

انتاج الهيمولايسين:

استعملت اوساط اكار الدم (Difco) Blood Agar للكشف عن قابلية هذه العزلات على انتاج الهيمولايسين وتحديد قابلية هذا الانزيم على تحليل سبعة انواع من الدم، اربعة منها تعود الى الدم البشري بفصائل الاربعة وثلاثة اخرى تمثل دم الخراف والابقار والخيول. زرعت العزلات طويلا على كل واحد من الاطباق الحاوية على مصادر دم مختلفة وحضنت بدرجة ٣٧°م لملاحظة انتاج العزلات للهيمولايسين التي تسبب تطلا حول خط الزرع البكتيري حيث سجلت النتائج النوعية (+ منتجة، - غير منتجة) بعد يوم واحد وبعد يومين من الحضن.

النتائج والمناقشة

يقصد بالتصنيف الهيمولايسين في هذه الدراسة ليس نوع الهيمولايسين المنتج ، وانما ملاحظة التغيرات في حساسية كريات الدم الحمر المأخوذة من مصادر مختلفة مثل الانسان وبعض الحيوانات الحقلية نتيجة لنمو بكتريا اللاشريشيا عليها، وقد بنيت الدراسة ايضا على مراقبة تحليل كريات الدم على الوسط الزراعي خلال فترة زمنية محددة بيوم ويومين بعد زرع الجراثيم على الاطباق الحاوية على اكار الدم وحضنها.

لقد جرت العادة على اعطاء الرمز β لحل الخلايا الحمر الكامل في وسط الدم الزرعى بينما يعطى الرمز α لحل الخلايا الحمر غير الكامل والذي يرافقه ظهور اللون الاخضر حول الزرع الجرثومي المسبب الا اننا نستطيع التمييز بين نوعي الهيمولائسين هذين بالنسبة لبكتريا الاشريشيا القولونية وهي حقيقة اكدها ايضا ^(٩) Smith (1963). وهذا ما جعلنا نستبد اعتماد هذين النوعين في تصنيف الجراثيم غير ان ^(١٠) Holding & Collee (1961) وصفا نوع اخر من الهيمولائسين تنتج بعض الجراثيم واعطياه الرمز α ليشيرا الى تاثير في احداث دموي جزئي غير واضح. وربما كان هذا موجودا ولم يمكن ملاحظته خلال اليوم الاول في الايشيرشيات التي سمينها فيما بعد متأخرة حل الدم (Late Hemolytic) أي التي انتجت هيمولائسين ملحوظ بعد يومين فقط في دراستنا هذه.

جرى الكشف عن انتاج الهيمولائسين بزرع بكتريا الاشريشيا على اطباق تحوي مقادير متساوية من الاكار والدم وبسبك متجانس، وقد جربنا استخدام مرق البيتون الحاوي على كريات الدم الحمر المغسولة كوسط زرعي للجراثيم وحصلنا على نتائج مطابقة عدا الفترة الزمنية حيث ظهر انتاج الهيمولائسين بعد يوم واحد فقط وذلك عند اجراء الاختبار اوليا وهذا ما جعلنا نهمل هذه المناهج ولم نشلها في الجدول التصفي المعتمد بالاضافة لبعض التحفظات التي تخص هذه الطريقة مثل الجهد الذي تتطلبه وكذلك ادخال مؤثرات خارجية على الاختبار قد تغطي على تاثير الجراثيم الحقيقي ومثال ذلك الملاحظة التي وجدناها بان غسل الدم بمحلول الملح الفسلجي او ياحد المحاليل الدرائة Buffer Solutions قد ادى الى تكسر بعض الخلايا الحمر بالاضافة الى ان بعض انواع الهيمولائسين تعتمد على الكالسيوم في تاثيرها وتثبط بوجود محلول دارىء حاوي على الفوسفات او السترات ^(١٠) Holding & Collee (1970) هذا فضلا عن ان بعض النواع الهيمولائسين غير طبيعيا في وسطه السائل يتطلب اضافة مادة واقية مثل الجيلاتين او الاليومين ^(١١) Brooks et al., (1957).

يوضح الجدول رقم ١ نتائج التطبيق العملي حيث نلاحظ فيه ان هناك عثر من بكتريا الاشريشيا احدثت تحللا في انواع الدم السبعة التي استخدمت، في حين انعدم تاثير بعض العثر على تلك الانواع كلها وهذا يعني ان انواع كريات الدم تلك مقاومة لتاثير الهيمولائشين المنتج، وان تلك العثر لا تبثج الهيمولائسين اطلاقا. كما وترواحت عثرا اخرى بين هذين الحدين أي انها انتجت هيمولائسين ملحوظ للتاثير على قسم من انواع الدم فقط هذا جانب، اما الجانب الاخر الذي يوضحه الجدول فهو الوقت اللازم لاكمال تحلل الدم وهو عامل استنتاج ان يكون فرقا مميذا بين

عتر عديدة. ان الحصول على الايشيرشيات متاخرة حل الدم (وهي ملاحظة تاكدت عند اعادة الاختبار مرتين) ربما كان سببه احتواء الدم على اجسام مضادة الهيمولايسين والتي تتناسب طرديا مع عدد الجراثيم الموجودة طبيعيا في امعاء المصدر الماخوذ منه الدم. وبهذا فان العدد اذا كان كبيرا فان الاجسام المضادة ستكون كبيرة العدد تبعا لذلك وهذا يجعلها اكثر مقاومة للهيمولايسين الذي تنتجه الجرثومة والتي لا يمكنها احداث باثرها بفعل ذلك الا بعد فترة زمنية اطول كما هو الحال مع دم الخيول او ليس على الاطلاق كما هو الحال بالنسبة لبعض العتر مع دم الابقار المستخدم الذي يحتوي على كمية عالية جدا من الاجسام المضادة للهيمولايسين^(٩) (Smith 1963)، وربما كانت هناك عوامل اخرى تقنية او جرثومية تؤدي الى هذه الظاهرة أي تاخر حل الدم منهاز تركيز المسط الزرعي والذي يعتمد طبعا على تركيز الدم المستخدم وسرعة انتشار الهيمولايسين في ذلك الوسط وكذلك فعالية الجرثومية في انتاجها للمادة ونموها في ظروف استثنائية متنوعة كالظروف اللاهوائية ولا نعتقد ان لشدة مرضية الجراثيم دورا في سرعة التحلل لان العتر المعزولة من مصادر غير مرضية اظهرت نتائج لا تكاد تختلف عن العتر المعزولة من مصادر مرضية.

ان الجدول رقم (١) يوضع ايضا العلاقة بين بعض الجراثيم وبعض انواع الدم حيث يشير لخصوصية تأثيرها كما هو الحال مثلا مع العترة رقم (٢) التي لا تبدي أي تأثير على دم الخراف والخيول رغم مرور يومين من النمو وكذلك العترة رقم (٣) التي نستطيع وصفها بانها متاخرة حل الدم الماخوذ من الحيوانات الثلاثة بينما ليس لها تأثير على أي من اصناف دم الانسان الاربعة. وهكذا الامر تقريبا الى ان نصل الى العترتين رقم (٩) و (١٠) واللتين تبديان تأثيرا واضحا وسريعا على اصناف دم النسان الاربعة وتشارك معهما في هذه الصفة ٥٤ و ٥٥ ... اما العتر رقم (١) فان ما يميزها هو انها سالبة لكل انواع الدم المستخدمة سواء كانت من مصدر انساني او حيواني وبهذا تكون العتر المحلية الوحيدة التي تظهر هذه الصفة، اما ما يميز العتر ١٣ و ٤٠ و ٥٢ و ٥٩ فهو كونها سالبة التأثير على دم الابقار فقط، ومحللة لبقية انواع كريات الدم وقد يبدو هذا غريبا بسبب ال العتر معزولة من الابقار غير ان السبب قد يكون كما ذكرنا هو احتمال وجود الاجسام المضادة العالية في دم الابقار ضد العتر المعزولة من المصدر نفسه مهذه النتيجة لا تحبذ بالطبع ولا توصى باستخدام دم من مصادر عزل الجراثيم للكشف عن انتاج الهيمولايسين.

ان حساسية اصناف دم الانسان الاربعة لفعل الهيمولاسين متقاربة حيث ان الصنف O اظهر هيمولاسين ملحوظا لعشرين عترة يليه الصنف AB الذي ابدت ١٩ تاثيرها عليه. ثم الصنف B (١٨ عترة)، واخيرا الصنف A (١٥)، بينما كان هناك فرق كبير لدى استخدام دم الحيوانات في تحضير الوسط الزراعي لمراقبة انتاج الهيمولاسين عليه حيث ابدت ٧٠ عترة فعلها على اطباق الدم الماخوذ من الخيول، اما اطباق الدم الماخوذ من الخراف فقد اظهرت تحللا بفعل ٤١ عترة واقلها كان دم الابقار الذي اظهر هيمولاسين ملحوظ يفعل ١٢ عترة فقط. ويظهر الجدول رقم (٢) عدد بكتريا الايشريشيا المنتجة للهيمولاسين على اوساط الدم الزراعية المختلفة موزعة حسب مصادرها والذي منه نتوصل الى الملاحظة المهمة المتعلقة بعدم تاثير أي عترة معزولة من مصادر غير مرضية (وعدها الكل ١ ٥ عترة) على دم الابقار وهي ملاحظة ايجابية تصب في الجهد الجاري حول ايجاد وسيلة تفريق بين العتر المرضية وغير المرضية من بكتريا الايشريشيا، اما التباير الجغرافي فيوضحة الجدول ايضا من خلال ملاحظة قللة عدد العتر المنتجة الكلي المعزولة من مصادر اجنبية قياسا الى عدد العتر المحلية التي شملتها الدراسة حيث كانت عترة محلية واحدة فقط سالبة على كل انواع الدم من مجموع ٧٥ عترة معزولة من مصادر مرضية وغير مرضية بينما كان عدد العتر السالبة الاجنبية هو ٢١ من مجموع ٢٩ عترة وهذا يشير لاختلاف واضح في طبيعة العتر الاجنبية وفعاليتها المختلفة عن العتر المحلية.

يظهر الجدول رقم (٣) الاصناف الجرثومية التي تم التوصل اليها اعتمادا على حل انواع الدم المختلفة وحسب الرموز المقترحة المذكورة في الجدول، وقد قسمت العتر التسعين الى ٢٤ مجموعة مختلفة بالاضافة الى مجموعة اخرى تمثل العدد الكلي السالب على كل انواع الدم (١٣ عترة) والتي اعطيت الرمز - لقد كان الصنف الجرثومي (H) هو الاكبر بين بقية الاصناف فقد ضم ٢٧ عترة اشتركت بهذه الصفة - أي متأخرة حل الدم الماخوذ من الخيول - كما يوضح الجدول رقم (٣) ذلك، ويليه الصنف (S) (H) أي مجموعة الجراثيم متأخرة حل الدم الماخوذ من الخيول و الخراف حيث كان ددها ١٥ عترة بينما انتشرت بقية العتر على الاصناف المتبقية وباعداد قليلة.

ترتبط بعض الاصناف بشكل او اخر مع مصادر عزلها حيث لوحظ ان الاصناف

المرقمة تسلسلا

او ٥ و ٦ و ٩ و ١١ و ١٢ و ١٣ لم تحو سوى بكتريا الايشريشيا المعزولة محليا وبالعكس فان الاصناف المرقمة من ٢١ الى ٢٤ ضمت عترا اجنبية فقط، بينما كانت الاصناف من ١٤ الى ٢٠ اصناف خاصة بالعتر المعزولة من عجول غير مريضة - الجدول رقم (٤).

ان هذه الملاحظات لهل اهميتها البوانية اذا ما اريد البحث عن اصل هذه العزول وتغاير مصادرها، بالاضافة الى ان ارتباط اصناف معينة بجراثيم غير مرضية كما لوحظ يشير الى خصوصية مهمة لتلك اذ اصبح بإمكاننا القول وعلى سبيل المثال ان العتر التي تتبع الصنف تسلسل رقم ١٥ - (H), O, AB, B, A هي عتر غير مرضية بينما اذا عزلت ايشيرشيات تتبع الصنف تسلسل رقم AB, O, S-7, A, B فسوف نميل الى الاعتماد بمرضيتها هذا الصنف لم يحو عتر غير مرضية في دراستنا هذه زرز و هكذا.

اما عن العلاقة المصلية، فقد ذكر بعض الباحثين ان الجراثيم المنتجة للهيمولايسين متجانسة مصليا اكثر من الجراثيم غير المنتجة حيث تنتمي الى اصناف مصلية محددة مثل (١٢) Gregory (1960) 02, 04, 06 وهو تعميم لا نستفيد منه كثيرا لان ما يهمنا ليس الصفة الانتاجية فقط بل موقع الجرثومة داخل الجدول التصنيفي الذي يعتمد على انتاج الهيمولايسين وتأثيره على كريات الدم الحمر مختلفة المصادر وعلاقة ذلك بالتصنيف المصلي.

يظهر الجدول رقم (٥) توافق بعض العتر في تصنيفها المصلي والهيمولايسين حيث نلاحظ ان الصنف المصلي 06:K? قد ضم ثلاث عتر تحت الصنف الهيمولايسين S(H) الذي يحل دم الخراف ومتاخر حل الدم الماخوذ من الخيول وثلاث عتر اخرى باصناف مختلفة، أي كلمة اخرى امكن تصنيف هذا الصنف المصلي الى اربعة مجاميع مختلفة، وكذلك الصنف المصلي 06:K? الذي ضم تسع عتر كانت سبع منها تتبع الصنف الهيمولايسين (H) والاثنتين الباقيتين تبعت الصنف (H), (S) وهذا يشير الى علاقة قريبة بين تلك العتر تقترب من التمثل، كما ان تقسيم الصنف المصلي هذا الى مجموعتين اعتمادا على التصنيف الهيمولايسين يؤيد فكرة تجانس المجموعة المصلية التي ذكرها الباحثون، اما المجموعة المصلية 0119:K69 فقد قسمت الى صنفين هما S, C, H (عترتين) S) C, H) عترة واحدة والصنفين كما يلاحظ متقاربين في صفتها، وقد اظهرت المجموعة المصلية 026:K60 سلوكا متشابهها باحتوائها على الاصناف الهيمولايسين

1, 7, 8, 10, 12, 13 حيث ان هذه الاصناف رغم كثرتها هي اصناف مبنية على تحلل انواع دم الانسان الاربعة رغم انها ضمت ايضا الصنفان المرقمان تسلسلا 4, 11 أي الصنف (H)

حسين حسن خاتقاه وجماعته

والصنف (H) و (C) و (S) و O، اما المجموعة المصلية 0111:K55 فقد قسمت الى صنفين هما (H) , (B) ثلاث عتر، (H) عتران، والمجموعة 020:K? ضمت ثلاث عتر غير منتجة للهيمولاسين وعتره واحدة من الصنف (H) وهكذا استمر الامر بالنسبة للمجموعات المصلية المتبقية التي ضمت عتره واحدة او عترتين تبعت احد الاصناف الهيمولاسين.

ان التجانس والعلاقة القريبة ملحوظة في العتر المحلية اكثر من العتر الاجنبية بسبب كون الاولى اكثر تحديدا في مجاميعها المصلية في حين انتشرت العتر الاجنبية على مجموعات مصلية اكثر رغم عددها الاقل، وكذلك الحال مع العتر المعزولة من مصادر غير مرضية التي بسبب ان معظمها لم يكن قابلا للتصنيف المصلي لم نستطع ملاحظة وجود علاقة مع اصنافها المبنية على حل الدم التي توصلنا اليها.

جدول رقم (1) نتائج تحلل كريات الدم الحمر مأخوذة من مصادر مختلفة
بفعل العتر الجرثومية التسعين بعد 24 و 48 ساعة من الحقن

| رقم العترة | اصناف الدم الاسباب الاربعة | | | | | | | | | | | |
|---------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | دم مأخوذ من الحيوانات الحقلية | | | | | | الخراف الاقطار الخيول | | | | | |
| | O | | AB | | B | | A | | | | | |
| الوقت والساعة | الوقت والساعة | الوقت والساعة | الوقت والساعة | الوقت والساعة | الوقت والساعة | الوقت والساعة | الوقت والساعة | الوقت والساعة | الوقت والساعة | الوقت والساعة | الوقت والساعة | الوقت والساعة |
| | 48 | 24 | 48 | 24 | 48 | 24 | 48 | 24 | 48 | 24 | 48 | 24 |
| 1 | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - |
| 2 | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - |
| 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 4 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 5 | + | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| 6 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 7 | + | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| 8 | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| 9 | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 10 | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + |
| 11 | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 12 | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 13 | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 14 | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 15 | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 16 | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 17 | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 18 | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 19 | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 20 | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + |

+ حدوث تحلل دموي في الوسط الزرع

- عدم حدوث تحلل

جدول رقم (٢) عدد الجراثيم المنتجة للهيمولايسين على الاوساط الزرعية
الدموية المختلفة عدد الجراثيم المعزولة

| العدد الكلي | الأجنبية | غير المرضية | المحلية | الصنف الدموي |
|-------------|----------|-------------|---------|--------------|
| 15 | 1 | 7 | 7 | A |
| 18 | 2 | 9 | 7 | B |
| 19 | 2 | 9 | 8 | AB |
| 20 | 2 | 8 | 10 | O |
| 41 | 7 | 5 | 29 | S |
| 12 | 2 | 0 | 10 | C |
| 70 | 15 | 13 | 42 | H |

جدول رقم (٣) نتائج التصنيف الهمولايسيني المقترح

| التصنيف حسب تأثير الهيمولايسين على كريات الدم الحمراء الماخوذة من مصادر مختلفة | العترة | التصنيف حسب تأثير الهيمولايسين على كريات الدم الحمراء الماخوذة من مصادر مختلفة | العترة |
|--|--------|--|--------|
| (H) | 21 | A,B,AB,O,S,(C),(H). | 1 |
| (S),(H) | 22 | (S),(H) | 2 |
| (H) | 23 | S(C)(H) | 3 |
| (S),(H) | 24 | (H) | 4 |
| S,(H) | 26 | (S),(C),(H) | 5 |
| (H) | 27 | (S),(H) | 6 |
| O,(S),(C),(H) | 28 | S,C,H | 7 |
| O,(S),(C),(H) | 29 | (H) | 8 |
| (H) | 30 | A,B,AB,O,S | 9 |
| (H) | 31 | A,B,AB,O | 10 |
| A,B,AB,O,S,(C),(H) | 32 | - | 11 |
| (S),(H) | 33 | S(H) | 12 |
| (H) | 34 | A,B,AB,O,S,(H) | 13 |
| (S),(H) | 35 | S,(H) | 14 |
| (H) | 36 | (S),(H) | 15 |
| (S),(H) | 37 | (H) | 16 |
| (H) | 38 | (H) | 17 |
| (H) | 39 | S,(H) | 18 |
| A,B,AB,O,S,(H) | 40 | S,(C),(H) | 19 |
| (S),(H) | 41 | (S),(H) | 20 |
| (B) AB O (S) (H) | 63 | (H) | 42 |
| (H) | 64 | A,B,AB,O,S,(C),(H) | 43 |
| (H) | 39A | (S),(H) | 44 |
| (S)(C)(H) | 39B | S(C)(H) | 45 |
| - | 43A | (H) | 46 |
| (S)(H) | 43B | (S),(C),(H) | 47 |
| (S) (H) | 41A | (S),(H) | 48 |
| (H) | 4B | S,C,H | 49 |
| (S)(H) | 42C | (H) | 50 |
| (C)(H) | 42B | A,B,AB,O,S | 51 |
| | | A,B,AB,O | 52 |

الجدول (٣) تكملة

| العتره | تصنيفها حسب تأثير الهيمولاسين على كريات الدم الحمر الماخوذة من مصادر مختلفة | العتره | تصنيفها حسب تأثير الهيمولاسين على كريات الدم الحمر الماخوذة من مصادر مختلفة |
|--------|---|--------|---|
| 53 | - | 1.58 | - |
| 54 | S(H) | 1.27 | (S) |
| 55 | A,B,AB,O,S,(H) | 28A | (S),(H) |
| 56 | S,(H) | 28B | - |
| 57 | (S),(H) | 14A | - |
| 58 | (H) | 14C | - |
| 59 | (H) | 145A | (H) |
| 60 | S,(H) | 145B | - |
| 61 | S,(C),(H) | 146 | - |
| 62 | (S),(H) | | |
| 147 | A,B,AB,O,S, | 122A | (H) |
| 148A | (H) | 122B | - |
| 156A | - | 117A | - |
| 156B | - | L3 | (H) |
| 157A | B,AB,O,(H) | 190A | - |
| 157B | (H) | 196B | (H) |

المفتاح:

الرمز S يعني الدم الماخوذ من الخراف

C يعني الدم الماخوذ من الابقار

H يعني الدم الماخوذ من الخيول

O, AB, B, A اصناف دم الانسان الاربعة

ذكر أي رمز من الرموز السبعة في وصف جرثومة الهيمولاسين فهذا يعني ان الجرثومة احدثت تحللا فيه بعد ٢٤ ساعة اما اذا غحيط ذلك الرمز بقوس فهذا يعني ان تحلل قد حدث بعد ٤٨ ساعة فقط.

و الرمز - يعني ان العتره سالبة لجميع انواع الدم المستخدمة

مثال = العتره رقم ١ = (H), (C), S, O, AB, B, A يعني هذا انها تحلل الاصناف الدمويه الاربعة للانسان وكذلك دم الخراف بعد ٢٤ ساعة وتحلل دم الابقار والخيول بعد ٤٨ ساعة العتره رقم ٢ = (H) (S) توصف هذه العتره متاخرة حل الدم الماخوذ من الخراف والخيول فقط.

العتره رقم ٣ = (H), (C) S تحلل دم الخراف بعد ٢٤ ساعة ودم الابقار والخيول بعد

٤٨ ساعة.

العترة رقم ٤ = (H) عترة متأخر حل الدم الماخوذ من الخيول فقط وهكذا.

جدول رقم (٤) توزيع العتر حسب مجموعاتها الرئيسية الثلاث
على الاصناف الهيمولائسين

| عدد العتر الجرثومية المعزولة | | | | التصنيف الهيمولائسين | التسلسل |
|------------------------------|----------|-------------|---------|--------------------------|----------|
| العدد الكلي | الاحنبية | غير المرضية | المحلية | | التصنيفي |
| 2 | | | 2 | A, B, AB, O, S, (C), (H) | 1 |
| 15 | 4 | 1 | 10 | (S), (H) | 2 |
| 3 | | | 3 | S, (C), (H) | 3 |
| 27 | 8 | 4 | 15 | (H) | 4 |
| 1 | | | 1 | (S), C, H | 5 |
| 2 | | | 2 | S, C, H | 6 |
| 2 | 1 | | 1 | A, AB, O, S | 7 |
| 2 | | 1 | 1 | A, B, B, O | 8 |
| 4 | | | 4 | S, (H) | 9 |
| 3 | | 1 | 2 | A, B, AB, O, S, (H) | 10 |
| 2 | | 1 | 2 | O, (S), (C), (H) | 11 |
| 1 | | | 1 | A, B, AB, O, (S), (H) | 12 |
| 1 | | | 1 | (AB), O, (S) | 13 |
| 1 | | 1 | | O, (S), (H) | 14 |
| 2 | | 2 | | A, B, AB, O, S, (H) | 15 |
| 1 | | 1 | | (A), (B), AB, O | 16 |
| 1 | | 1 | | (A), (B), A, B, O, (H) | 17 |
| 1 | | 1 | | B, AB, (H) | 18 |
| 1 | | 1 | | (A), (B), A, B, (S), (H) | 19 |
| 1 | | 1 | | (B) A, B, O, (S), (H) | 20 |
| 1 | 1 | | | (S), (C), (H) | 21 |
| 1 | 1 | | | (C), (H) | 22 |
| 1 | 1 | | | (S) | 23 |
| 1 | 1 | | | A, AB, O, (H) | 24 |
| 13 | 12 | | 1 | - | 25 |

جدول رقم (٥) نتائج التصنيف المصلي و الهيمولايسين

| رقم العترة | التصنيف المصلي | التصنيف الهيمولايسين | رقم العترة | التصنيف المصلي | التصنيف الهيمولايسين |
|------------|----------------|----------------------|------------|----------------|----------------------|
| 1 | 026.K60 | A,B,AB,O,S,(C), (H) | 24 | 086:K61 | (S),(H) |
| 2 | 02:K? | (S),(H) | 26 | 018:K61 | S,(H) |
| 3 | 02:K? | S,(C)(H) | 27 | 018:K77 | (H) |
| 4 | 06:K? | (H) | 28 | 026:K60 | O,(S),(C),(H) |
| 5 | 019:K69 | (S),C,H | 29 | 026:K60 | O,(S),(C),(H) |
| 6 | 06:K? | (S),(H) | 30 | 06:K? | (H) |
| 7 | 019:K69 | S.C.H | 31 | 086:K61 | (H) |
| 8 | 06:K? | (H) | 32 | 026:K60 | A,B,AB,S,O,(C),(H) |
| 9 | 026:K60 | A,B,AB,O,S | 33 | 0126:K71 | (S),(H) |
| 10 | 026:K60 | A,B,AB,O | 34 | 0114:K90 | (H) |
| 11 | 02:K? | - | 35 | 0125:K70 | (C),(H) |
| 12 | 02:K? | S,(H) | 36 | 06:K? | (H) |
| 13 | 026:K60 | A,B,AB,O,S,(H) | 37 | 06:K? | (S),(H) |
| 14 | 02:K? | S,(H) | 38 | 0142:K86 | (H) |
| 15 | 0111:K55 | (S),(H) | 39 | 06:K? | (H) |
| 16 | 026:K60 | (H) | 40 | 0125:K70 | A,B,AB,),(S,(H) |
| 17 | 06:K60 | (H) | 41 | 0114:K90 | (S),(H) |
| 18 | 06:K? | S,(H) | 43 | 06:K? | (H) |
| 19 | 02:K? | S,(C),(H) | 44 | 026:K60 | A,B,AB,O,(S),(H) |
| 20 | 086:K61 | (S),(H) | 46 | 0126:K71 | (H) |
| 21 | 0111:K55 | (H) | 47 | 0128:K67 | S,(C),(H) |
| 22 | 0111:K55 | (S),(H) | 48 | 026:K60 | (AB),O,(S) |
| 23 | 0111:K55 | (H) | 49 | 0119:K69 | S,C,H |
| 50 | 0?=K? | O,(S),(H) | 42C | 0101:K32 | (S),(H) |
| 51 | 0?=K? | (H) | 42B | 0101:K? | (C),(H) |
| 52 | 0?=K? | A,B,AB,O,(H) | 078:80 | 078:80 | - |
| 53 | 0?=K? | (H) | L58 | 0?:H11 | (S),(H) |
| 54 | 0?=K? | A,B,AB,O | L27 | 0101:K? | - |
| 55 | 0?=K? | (A),(B),A B O | 28A | 0101:K? | - |
| 56 | 0?=K? | (A)(B)A B O (H) | 28B | 0101:K? | - |
| 57 | 0?=K? | (S)(H) | 14A | 0?:K85 | - |
| 58 | 0?=K? | (H) | 14C | 0?:K? | - |
| 59 | 0?=K? | A,B,AB,O,S(H) | 145A | 09:K? | - |
| 60 | 0?=K? | A,B,AB,O(H) | 145B | 09:K? | - |
| | | | 146 | 015:K?:H27 | - |
| | | | 147 | 015:K?:H27 | A,B,AB,O,S |
| رقم | التصنيف | التصنيف | رقم | التصنيف | التصنيف |

| العنزة | المصلي | الهيمولايسين | العنزة | المصلي | الهيمولايسين |
|--------|---------|----------------|--------|------------|--------------|
| 61 | O?=K? | A,AB,(H) | 148A | 015:K?:H19 | (H) |
| 62 | O?=K? | (A)(B)AB(S)(H) | 158A | 020:K? | - |
| 63 | O?=K? | (B)A.B.O(S)(H) | 156B | 020:K? | - |
| 64 | O?=K? | (H) | 157A | 0125:K70 | AB,AB,O(H) |
| | | | | 08=K25:H4 | (H) |
| 39A | 09:K35 | (H) | 122A | 08:K?H4 | (H) |
| 39B | 09:K? | (S),(C),(H) | 122B | 02:K? | - |
| 43A | 001:K30 | - | 117A | 017:K?H18 | - |
| 43B | 0101:K? | (S),(H) | L3 | 02:K60 | (H) |
| 41A | 09:K30 | (S), (H) | 190A | 0114:K?H4 | - |
| 41B | 09:K? | (H) | 196A | 011:K?:H21 | (H) |

REFERENCE

1. Brooks G.F., Butel J.S. and Morse S.A. Jawtz, Menick and Adelberg's Medical Microbiology. (21st) Ed. Middle East Ed. Beirut, Lebanon. (1998).
2. Murinda S.E., Roberts R.F. & Wilson R.A. Evaluation of Colicin for Inhibitory Activity Against Diarrheagenic E. Coli Strains, Appl. Environ. Microb. 62: 3196. (1996).
3. Swihart K.G. and Welch R.A. Cytotoxic Activity of the Proteus Hemolysing Hpm A. Infect. & Immun. 58: 1861 - 8. (1990).
4. Piccini C.D., Barbe F.M. and Legnani C.L. Identification of Iron-Regulated Outer Membrane Proteins in Uropathogenic Proteus and it's relationship with Heme Uptake. FEMS. Left. 15: 243 - 8. (1998)
5. Hacker J., Hof H., Emody L. and Goebel W Influence of Cloned E.Coli Hemolysin Genes, S. Fimbriae and Serum Resistance on Pathogenicity in Different Animal Models. Microb. Patho. 1: 533 - 547. (1986).
6. Cavalieri S.J. and Synder I.S., Effect of E. Coli Alpha-hemolysin on Human Peripheral Leukocyte Viability in Vitro. Infect. & Immun. 36: 455 - 461. (1982).
7. Waalwijk C., Vanderbosch J. et al. Hemolysin-Plasmid Coding for the Virulence of Pathogenic E.Coli Strain. Infect.& Immun. 35: 32 - 37. (1982).
8. Baron E.J. and Finegold S.M. Baily & Scott's Diagnostic Microbiology. (10th) Ed. Mosby Company, U.S.A. (1998).
9. Smith W.H. The Hemolysin of E.Coli. J. Path. 85: 197. (1963).
10. Holding A.J. and Collee J.G. Routine Biochemical Tests. Methode in Microbiology. 6A:Z. (1971).

11. Brooks E.M., Sterne M. etal. J. Path. Bact. (1957).
12. Grogory D.W. Experemntal Iedema Disease (Hemolytc E.Coli Toxaemia) in Pigs and Mice Am. J. Vet. Res. Z / 288. (1960).

استخدام تقنيات المعالجة الرقمية لتحسين صور القمر الاصطناعي الأنوائي GMS

أعلى ولد بابا المحجوب ، د. عوني أدوار عبد الأحد و د. لؤي أدور جورج

ABSTRACT

In this study digital image processing methods were applied on meteorological satellite (GMS).. The received images have a lot of distortions such as noise, therefore the application of enhancement techniques is significantly improve its quality as applying image processing techniques which carried out on computer using "QUICK BASIC" language. Qbasic language can provide the required facilities to match the needs of applying the digital processing methods with reasonable treatment time. The sources of deformations implied by received weather images may due to the effect of weather conditions on the radio wave propagation, and to the mail function of the receiving systems. In order to make image corrections, Digital filters were used to improve the subjective quality of the received images. The existence of noise were reduced by using smoothing filters, while the details of the images were sharpened through the use of sharpening filters. Moreover, some coloring methods were implemented to improve the visualization of the features of the meteorological images, this due to fact that the color visualization is more useful than displaying the image features in gray mode.

الخلاصة

خلال هذه الدراسة تم تطبيق تقنية المعالجة الرقمية للصور على صور ملقطة من قبل القمر الاصطناعي الأنوائي GMS وتحديد الصور تحت الحمراء IR من خلال اعداد حزمة برمجية متكاملة بلغة البيسك السريع تلبية كل متطلبات المعالجة الرقمية لهذه الصور وبسرعة معقولة. تم معالجة المشاكل والتشوهات التي تعاني منها نتيجة لتأثير العوامل الجوية على الموجة الراديوية وكفاءة أجهزة الاستلام. تم استخدام بعض المرشحات الرقمية لتحسين الصورة مثل تخفيف تأثير الضوضاء (مرشحات التنعيم)، وزيادة حدة تفاصيل الصور، وأخيراً تم تلوين الصور للحصول على معالم أكثر وضوحاً.

المقدمة

ينبع الاهتمام بطرق معالجة الصور الرقمية من مجالين تطبيقيين أساسيين أولهما تحسين المعلومات من أجل تفسيرها من قبل الإنسان، وثانيهما معالجة بيانات المنظر لإدراكه من قبل الآلة بشكل طوعي. وقد اقترن التطور الحاصل في تقنيات تحسين الصور الرقمية بتطور استخدام الحاسب في معالجة الصور وكذلك تطور تطبيقات تكنولوجيا الفضاء وتسخير إمكانياتها لأغراض التحسس النائي فقد أدى ظهور الحاسبات المتطورة وبرامج الفضاء في نفس الوقت تقريباً لتطور مفاهيم استخدام تقنيات معالجة الصور الرقمية.

تقنية المعالجة الرقمية للصور

يستعمل مصطلح صورة أحادية اللون (Monochrome image) أو ببساطة صورة لنرمز إلى دالة شدة إضاءة ثنائية الأبعاد $f(x,y)$ حيث (x,y) تشيران إلى الإحداثيات المكانية (Spatial coordinates) قويمة f عند أي نقطة (x,y) تتناسب مع الإضاءة أو (المستوى الرمادي) للصورة عند تلك النقطة. الصورة الرقمية هي دالة $f(x,y)$ قطعت في كل من الإحداثيات الحيزية واللعمان، ومن جهة أخرى يمكن أن تعد الصورة الرقمية مصفوفة يحدد دليلي صفها وعمودها مكان النقطة في الصورة، وقيمة عنصر المصفوفة الموافق يحدد قيمة المستوى الرمادي عند تلك النقطة. إن عناصر مصفوفة رقمية كهذه تسمى عناصر الصورة، (Image، elements) أو (Picture element) أو (Pixels) والاسمان الأخيران هما الاختصاران المستعملان بشكل شائع. وعلى الرغم من أن قياس الصورة الرقمية يتنوع تبعاً للتطبيق، إلا أن اختيار عدد مستويات رمادية مساوية لقيم مرفوعة لقوى صحيحة للعدد (2) هو الأكثر استخداماً. فعلى سبيل المثال، إن قياساً نموذجياً مماثلاً في النوعية لصورة تلفزيون أبيض وأسود هو مصفوفة فيها 128 مستوى رمادي⁽¹⁾.

إن الهدف الرئيسي من عمليات التحسين هو معالجة صورة معينة بحيث تكون النتيجة أكثر ملاءمة من الصورة الأصلية لتطبيق محدد، حيث أن كلمة "محدد" مهمة لأنها تؤكد من البداية على أن التقنيات تعتمد بشكل كبير جداً على المسألة التي نعالج الصورة من أجلها. وهكذا فإن طريقة مفيدة جداً لتحسين صور الأشعة السينية ليست بالضرورة أفضل أسلوب لتحسين صور الأقمار الصناعية المرسله بواسطة موجات كهرومغناطيسية أخرى عبر الأثير ولذلك كان

لابد لنا من التركيز على بعض طرق لتحسين الصورة ذات العلاقة بموضوعنا ومن هذه الطرق ما يلي:

الجانب النظري

تنعيم الصورة

تستعمل عمليات التنعيم في الأصل لإضعاف الآثار الزائفة التي يمكن أن تكون موجودة في الصورة الرقمية نتيجة لنظام إعتيان (Sampling) رديء أو الآثار الناتجة عن ظهور الضوضاء الذي مصدره قناة الاتصال⁽²⁾. ومن أهم التقنيات المتبعة لتنعيم الصورة الرقمية :

توسيط الجوار

إن توسيط الجوار تقنية مباشرة لتنعيم الصورة. فإذا كانت لدينا صورة $f(x,y)$ أبعادها $N \times N$ ، فإن إجراء التوسيط هو توليد صورة منعمة $g(x,y)$ يتم الحصول على مستوياتها الرمادية عند كل نقطة (x,y) بأخذ متوسط قيم المستويات الرمادية لعناصر f المحتواة في جوار (x,y) بعبارة أخرى يتم الحصول على الصورة المنعمة باستعمال العلاقة :

$$g(x,y) = \frac{1}{M} \sum_{(n,m) \in S} f(n,m) \quad \dots\dots(1)$$

حيث $(n,m) \in S$

من أجل $x,y = 0,1, \dots\dots N-1$ إن S هي مجموعة إحداثيات النقاط الموجودة في جوار النقطة (x,y) بما فيها (x,y) نفسها، و M هو العدد الإجمالي للنقاط في الجوار. في الحقيقة لسنا مقيدين بالجوارات المربعة في المعادلة (1) ولكن هذه الجوارات الأكثر استعمالاً وذلك لسهولة تنفيذها ومن الملاحظ أن درجة الضوضاء (noise) تتناسب بشكل مطرد مع قياس الجوار المستعمل. ومن أجل جوار معين، يمكن تخفيض أثر التغيّش الناتج عن توسيط الجوار وذلك بإجراء تعتیب thresholding، أي، بدلا من استعمال المعادلة (1) نشكل $g(x,y)$ وفق المعيار التالي :

$$g(x,y) = \begin{cases} \frac{1}{M} \sum_{(n,m) \in S} f(n,m) & \text{if } \left| f(x,y) - \frac{1}{M} \sum_{(n,m) \in S} f(n,m) \right| > T \\ f(x,y) & \text{otherwise} \end{cases} \dots(2)$$

حيث T هي عتبة محددة غير سالبة. وإن الدافع لهذا الأسلوب هو تخفيض التغبيش (blurring) بترك مناطق الصورة ذات الاختلافات الكبيرة (مقارنة مع T) في المستوى الرمادي بدون تغيير، وعموماً نتوقع أن تحدث هذه الاختلافات عند مناطق الحواف (Edges)، ولذلك فلن استعمال المعادلة (2) سينخفض درجة تغبيش الحواف. أما المناطق الأخرى من الصورة فتعالج كما شرحنا في السابق⁽³⁾.

الترشيح الأوسطي

إن إحدى الصعوبات الرئيسية للطريقة التي نوقشت في القسم السابق هي أنها تشوش الحواف والتفاصيل الحادة الأخرى. وعلى الرغم من أنه يمكن التغلب على هذه المشكلة باستعمال عتبة، فإن اختيار هذه العتبة يعتمد الى حد كبير على التجربة والخطأ (Trial and Error). إن استعمال المرشحات الأوسطية (median filters) هو أحد الأساليب البديلة التي يستبدل فيها المستوى الرمادي لكل عنصر صورة بالقيمة الوسطية للمستويات الرمادية في مجاورات ذلك لعنصر، بدلا من المتوسط. وإن هذه الطريقة فعالة بخاصة عندما يتألف نمط الضوضاء (noise) من مركبات قوية ذات ننوات مدببة وحيث تكون الخواص التي يجب أن نحافظ عليها هي حدة الحواف.

نذكر أن أوسطي مجموعة قيم (m) يكون في وسطها، أي أن نصف هذه القيم أصغر من (m) والنصف الآخر أكبر منها، ولكي نجري الترشيح الأوسطي في جوار عنصر، نقوم أولاً بترتيب قيم العنصر ومجاوراته، ونحدد أوسطها وتنسب هذه القيمة الى العنصر. فعلى سبيل المثال، الأوسط في جوار أبعاده 3*3 هو خامس أكبر قيمة، وفي جوار أبعاده 5*5 هو القيمة الثالثة عشرة الأكبر، وهكذا. وعندما تتساوى عدة قيم في نفس الجوار، تجمع جميع القيم المتساوية كما يلي:

نفرض أن جوارا أبعاده 3×3 في القيم التالية :

(10,20,20,20,15,20,20,25,100) نقرر هذه القيم كما يلي :

(10,15,20,20,20,20,20,25,100) مما يعطي حداً وسطياً مقداره (20) إن القليل من التفكير يظهر أن الوظيفة الرئيسية للترشيح الأوسطي هي إظهار النقاط التي لها شدات مميزة جداً، بحيث تكون أكثر شبيهاً بمجاوراتها وهكذا نحذف فعلياً الشدات الحادة التي تظهر معزولة في منطقة نافذة المرشح (4). عند تطبيق المرشح الأوسطي على الصورة يبقى نقاط لامعة والنتيجة عن التركيز الكبير للضوضاء (noise) عند تلك النقاط مما يؤدي إلى انحياز حساب الأوسط، ولكن بالمرور على الصورة مرتين أو ثلاثة بهذا المرشح تحذف هذه النقاط.

المرشح الأعظم

هو مرشح يستخدم لإزالة الضوضاء (noise) الحاصل في الصور وكذلك زيادة معدل إضاءة الصورة ومبدأ عمله هو فرز قيم المستوى الرمادي لعناصر الصورة تصاعدياً وتأخذ أكبر قيمة ضمن هذا الجوار فعلى سبيل المثال يأخذ قيم المثال السابق ونقرزها تصاعدياً كما يلي :

(10,10,10,20,20,20,20,30,50) فتكون قيمة المرشح الأعظم هي (50)

المرشح الأصغر

وهو أحد المرشحات المهمة لتنعيم الصورة وتقليل معدل إضاءة الصورة ومبدأ عمله عكس المرشح السابق ذكره أعلاه أي المرشح الأعظم (Maximum filter) مثلاً قيمة المرشح الأصغر في المثال السابق هي (10) (2).

مرشح النقطة الوسطي

في هذا المرشح نقوم بجمع أكبر قيمة ضمن قيم المستويات الرمادية لمجاورات العنصر مع أقل قيمة ونأخذ معدلها، كما في المعادلة التالية:

$$\text{Mid Point} = \frac{I_1 + I_2}{2}$$

حيث $I_1 \leq I_2 \leq \dots \leq I_N$

أي أنه يمثل معدل المرشح الأعظم والمرشح الأصغر (5).

زيادة حدة تفاصيل الصورة

إن زيادة حدة التفاصيل مفيدة في الأصل كأدوات لإبراز الحواف في الصورة. وتعرف الحافة بأنها الحد بين منطقتين لهما خصائص مستويات رمادية متميزة نسبياً، وإن الفكرة التي تتضمنها أغلب تقنيات كشف الحواف أساساً هي حساب عامل مؤثر تفاضلي موضعي⁽⁶⁾. وسنعرض فيما يلي عاملين يستخدمان لزيادة حدة تفاصيل الصورة :

عامل سوبل

هو عامل تفاضلي من الدرجة الأولى يستخدم لزيادة حدة تفاصيل الصورة أو لكشف الحواف التي قد تكون غير متميزة بسبب زيادة نسبة الضوضاء (noise) أو وجود حالة التغبيش في الصورة، ويوصف هذا العامل بالمعادلة التالية:

$$\bar{V} = \left(\frac{\partial}{\partial x} \right) \bar{i} + \left(\frac{\partial}{\partial y} \right) \bar{j}, \quad \dots(3)$$

أي أنه يتكون من مركبتين إحداهما باتجاه محور (X) والثانية باتجاه محور (Y) وهي تعطي كما يلي :

نأخذ منطقة الصورة الفرعية المبينة في الشكل (1 أ) حيث تمثل (x₅) المستوى الرمادي في الموضع (x,y) وتمثل (x_i) الأخرى المستويات الرمادية لمجاورات (x,y) الثمانية، حيث تعرف مركبة مرشح سوبل في الاتجاه (X) كما يلي :

$$G_x = (x_7 + 2x_8 + x_9) - (x_1 + 2x_2 + x_3)$$

وفي الاتجاه (Y)

$$G_y = (x_3 + 2x_6 + x_9) - (x_1 + 2x_4 + x_7)$$

ومما جاء أعلاه يمكن حساب G_x باستخدام النافذة المبينة في الشكل (1 ب) و G_y باستخدام النافذة المبينة في الشكل (1 ج).

| | | |
|----|----|----|
| X1 | X2 | X3 |
| X4 | X5 | X6 |
| X7 | X8 | X9 |

(أ)

| | | |
|----|----|----|
| -1 | -2 | -1 |
| 0 | 0 | 0 |
| 1 | 2 | 1 |

(ب)

| | | |
|----|---|---|
| -1 | 0 | 1 |
| -2 | 0 | 2 |
| -1 | 0 | 1 |

(ج)

الشكل (1) نوافذ عامل سويل

عامل لابلاس

هو عامل مؤثر تفاضلي من الدرجة الثانية ويعرف كما يلي:

$$\bar{\nabla}^2 = \left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} \right) + \left(\frac{\partial^2}{\partial y^2} \right) \quad \dots(4)$$

وبالرجوع الى الشكل (2-1 أ) يعرف عامل لابلاس الرقمي (Laplacian digital) في نقطة ما (x,y) ذات مستوى رمادي x_5 كما يلي:

$$L[f(x,y)] = x_2 - x_4 + x_6 + x_8 - 4x_5 \quad \dots(5)$$

إن عامل لابلاس يساوي الصفر في المناطق الثابتة وفي انحدار الحافة كما هو متوقع من مشتق الدرجة الثانية.

وفي الشكل (2) أدناه النافذة (Widows) المستخدمة لحسابه.

| | | |
|---|----|---|
| 0 | 1 | 0 |
| 1 | -4 | 1 |
| 0 | 1 | 0 |

الشكل (2) النافذة المستخدمة لحساب عامل لابلاس

وعلى الرغم من أن عامل لابلاس يستجيب بفترة للانتقالات في الشدة فإنه نادراً ما يستخدم وحده لكشف الحافة وذلك لكونه عاملاً مؤثراً من الدرجة الثانية وهو حساس بشكل غير مقبول للضوضاء (noise). وهكذا فإن هذا العامل المؤثر يستخدم للدور الثانوي الذي يخدم فيه ككشف لبيان فيما إذا كان عنصر معين يقع في الجانب المعتم أو الجانب الفاتح للحافة⁽⁷⁾.

طريقة العمل والنتائج

يتم تحسين الصورة (Image Enhancement) باستخدام مجموعة من المرشحات (Filters) لإزالة الضوضاء الحاصل في الصورة بفعل المؤثرات التي تتعرض لها أثناء الإرسال، فضلاً عن استخدام عدة تقنيات رقمية أخرى لمعرفة حدود حواف الصورة وتوزيع الألوان فيها وكذلك تم تلوين الصورة لكي تتضح معالمها بشكل أكبر مما لو تم عرضها باستخدام التدرج الرمادي (Gray Level).

خزن الصور باستخدام صيغة ملف (Bitmap) القياسية

إن نجاح أية معالجة للصور يقاس بمدى الاستفادة من نتائجها وهو الأمر الذي لن يتحقق إلا بخزن النتائج (الصور) باستخدام صيغ قياسية بحيث يمكن فتحها والتعامل معها عبر أي برنامج أو حزمة برمجية تتعامل مع الصور ومن أكثر صيغ ملفات الصور استخداماً صيغة (Bitmap)، وخلال هذا البحث تم إعداد برنامج يحول بيانات الصور إلى صيغة الملف (Bitmap) ليتسنى الاطلاع عليها من قبل الجهات ذات العلاقة وكافة مستخدمي الحاسوب. إن صيغة الملف (Bitmap) للصور يتألف بشكل عام من ثلاثة أجزاء وهي⁽⁷⁾:

تنعيم الصورة

إن أية تقنية معالجة رقمية لصور الأقمار الصناعية الأنوائية لا يكتمل نجاحها دون تحقيق هدف رئيسي وهو إزالة الضوضاء (Noise) الحاصل في الصور. وسعياً منا لبلوغ هذا الهدف قمنا بتطبيق مجموعة من المرشحات (Filters) حاولنا قدر الامكان ان تكون متعددة وشاملة لإزالة أكبر كم ممكن من الضوضاء (Noise) الحاصل في الصورة، وقد اعتمد مبدأ عمل هذه المرشحات على حقيقة كون نقاط الصورة المتجاورة مترابطة وهذا الترابط يمكن استثماره لبتتر تأثير الضوضاء في الصورة بشكل تلقائي وشامل. وذلك معيار عام يمكن التعبير بواسطته عن تأثير الصور أو التغييرات التي تحدث عليها عند تطبيق مرشحات التنعيم عليها وقد ارتأينا توضيحه قبل مناقشة تأثير كل مرشح على حدة وهو كالتالي :

- ◀ إذا كان مجموع معاملات أو عناصر النافذة (window) المستخدمة لحساب المرشح يساوي واحد (1) فإن معدل سطوع (Brightness) للصورة يبقى على حاله بلا تغيير.
- ◀ إذا كان مجموع قيم النافذة المستخدمة يساوي الصفر (0) فإن الصورة الناتجة سوف تتضمن مناطق الحواف في الصور، الشكل (3) يمثل صورة خالية من انواع التصحيح التزامني.



الشكل (3) يعرض الصورة المعدلة والخالية من أنواع التصحيح التزامني (Sync) والتي سيتم تطبيق تقنيات التحسين عليها.

المرشح الوسطي

الشكل (4) يعرض نتائج تطبيق المرشح الوسطي على إحدى صور القمر الصناعي (GMS) والمبينة في الشكل (3) وبشكل عام يمكن ملاحظة تأثير مرشح (Mean) من خلال

أستخدام تقنيات المعالجة الرقمية لتحسين صور القمر الاصطناعي الأنواعي GMS
أعلى ولد بابا المحجوب وجماعته

مقارنة الصورة الأصلية مع الصورة المطبق عليها هذا المرشح، إذ نجد أنه ينعم الصورة بشكل واضح أي أنه يعمل كمنعم (Softer) وكذلك يغبش (Blur) حواف الصورة.



الشكل (4) يوضح نتائج تطبيق المرشح الوسطي على الصورة

المرشح الأوسطي

يمكن ملاحظة تأثير هذا المرشح من خلال مقارنة الصورة الأصلية مع الصورة التي طبق عليها والمبينة في الشكل (5)، إذ من الملاحظ أنه يزيد تنعيم الصورة ويزيل الضوضاء (Noise) بشكل كبير، ألا انه يترك بعض النقاط المضيئة في الصورة والتي يمكن إزالتها بتمرير المرشح على الصورة عدة مرات. كما أنه يغبش (Blur) الحواف ولنفس الأسباب التي يغبشها المرشح الوسطي (Mean) تقريباً.



الشكل (5) يوضح نتائج تطبيق المرشح الأوسطي على الصورة

المرشحان الأصغر والأعظم

نجد أن المرشح الأصغر (Minimum Filter) يعتم الصورة (Darken image) كما موضحة في الشكل (6)، في حين يؤدي استخدام المرشح الأعظم (Maximum filter) الى زيادة إنارة الصورة (Brighter) كما في الشكل (7)، وفي بعض الأحيان قد لانختار القيمة العظمى او الصغرى ضمن النافذة وذلك عندما تكون القيم متباعدة بشكل كبير بسبب كثرة الضوضاء (Noise) في الصورة، غير أن بعض الصور تكون حساسة لهذا النوع من الاختيار حيث تظهر الصورة مضاءة بشكل كبير.



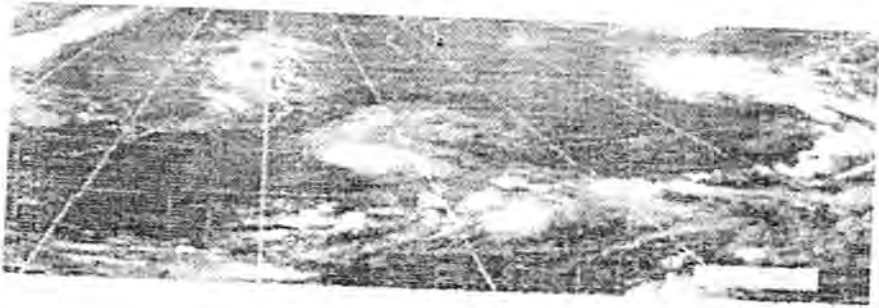
الشكل (6) يوضح نتائج تطبيق المرشح الاصغر على الصورة



الشكل (7) يوضح نتائج تطبيق المرشح الأعظم على الصورة

مرشح النقطة الوسطى

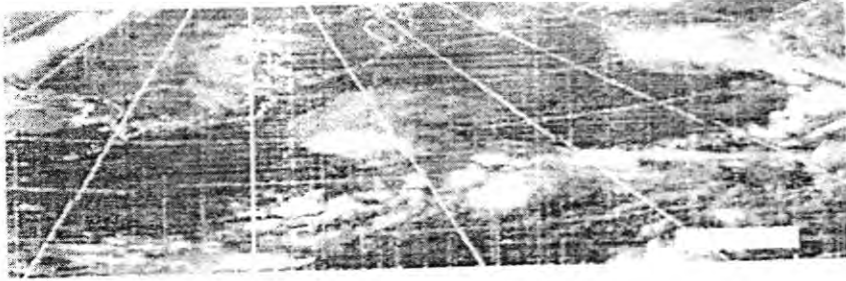
يمكن اعتباره مرشحاً مصححاً للمرشحين الأصغر والأعظم. ويمكن ملاحظة ذلك من خلال الشكل (8) حيث نرى انه يزيل الضوضاء ويبقى الصورة ذات تباين (Contrast) واضح.



الشكل (8) يوضح نتائج تطبيق مرشح النقطة الوسطية على الصورة

المرشح الخاص

تم اقتراح استخدام مرشح جديد على الصور قيد الدراسة يهدف الى تنعيم الصورة بعد التأكد من كون نقطة الصورة تحتوي على ضوضاء أو أنها منطقة حافة أو لا تحتوي على كلا النوعين. وهذا المرشح يعتمد على تمشيط الصورة باستخدام نافذة صورة (Window) ذات ابعاد (3×3) . ومبدأ عمله هو أخذ القيمة المركزية لقيم المستويات الرمادية ضمن النافذة المستخدمة ومقارنتها مع المجاورات الثمانية لها فإذا كانت هذه القيمة مساوية لقيم بعض عناصر الصورة فإنه يتركها على حالها بدون تغيير، أما إذا كانت هذه القيمة مختلفة عن جميع القيم فإنه يقوم بحذفها معتبراً إياها ضوضاءاً ويضع عوضاً عنها معدل الجيران الثمانية، مما يعني أن هذا المرشح يجمع بين طريقتي عزل نقطة الضوضاء (Isolated) والوسط الحسابي (Mean). وعند تطبيقه على الصورة ظهرت كما في الشكل (9) إذ يلاحظ أنه يزيل الضوضاء بشكل جيد وبنفس الطريقة التي يعمل بها مرشح (Mean) تقريباً وهذا أمر طبيعي حيث أنه وكما أشرنا أعلاه يجمع بين فكرة هذا المرشح وفكرة عزل عناصر المستويات الرمادية. ويلاحظ بأنه يحافظ على وجود الحواف في الصورة دون تغشيبها.



الشكل (9) يوضح نتائج استخدام المرشح الخاص على الصورة

زيادة حدة تفاصيل الصورة Image sharpening

إن تقنية زيادة حدة تفاصيل الصورة مهمة جداً لإبراز الحواف ففي بعض الاحيان يلاحظ أن معالم الصورة تكون مغبشة مما يصعب عملية التمييز لتلك المعالم. وفي هذا البحث استخدم بعض المرشحات لزيادة حدة تفاصيل الصورة. وللحصول على هذه النتائج تم إعداد خوارزمية لكل مرشح من هذه المرشحات مبدأ عملها هو تمشيط حواف الصورة بواسطة كل مرشح على حدة والذي بالنتيجة سيؤدي الى زيادة حدة معالم الصورة، ومن المرشحات التي استخدمت في هذا البحث.

عامل سوبل Sobel Operator

يتألف هذا العامل من نافذتين (Windows) إحداهما تعمل على كشف الانحدار باتجاه محور السينات (X-axis) والأخرى كشف الانحدار على محور الصادات (Y-axis) وهما مبيتان في الفصل السابق (الفصل الثاني) وبواسطة هاتين النافذتين يتم تمشيط الصورة في الاتجاهين الأفقي والعمودي ومن ثم يتم جمع هذه المعلومات في مصفوفة واحدة. تقوم كل نافذة من هذه النوافذ بتمشيط الصورة عند كل موقع عنصر صورة (pixel) ويتم الحصول على القيمتين (S_1) و (S_2) واللتي تمثلان نتائج التفاف (Convolved) النافذتين على المنطقة المحيطة بعنصر الصورة ويتم استخدام هاتان القيمتان لحساب قيمة الحافة واتجاهها وكما يلي :

أعلى ولد بابا المحجوب وجباسته

$$\text{Edge Magnitude} = \sqrt{S_1^2 + S_2^2}$$

$$\text{Edge direction} = \tan^{-1} \left[\frac{S_1}{S_2} \right]$$

وعند تطبيق عامل سوبل على الصورة ظهرت النتائج كما هو مبين بالشكل (10)، حيث ان اتجاه الحافة يكون عمودياً على الحافة نفسها وذلك لأن الاتجاه هو اتجاه الانحدار على طور تغيير المستوى الرمادي



الشكل (10) يوضح نتائج تطبيق عامل سوبل على الصورة

عامل لابلاس Laplacian Operator

وهو عامل تفاضلي من الدرجة الثانية يستخدم لكشف حواف الصورة. وقد قدمنا في الجانب النظري (الفصل الثاني) النوافذ (Windows) المستخدمة لحسابه وكذلك معادلاته. وعلى الرغم من أنه يستجيب للانتقالات في الشدة فإنه نادراً ما يستخدم وحده لكشف الحافة وذلك لكونه عاملاً مؤثراً من الدرجة الثانية وهو حساس بشكل غير مقبول للضوضاء (Noise) وهكذا فإن هذا العامل يستخدم للدور الثانوي الذي يخدم فيه ككاشف لتأسيس ما إذا كان عنصر معين يقع في الجانب المعتم أو الجانب الفاتح للحافة. الشكل (11) يبين نتائج استخدام عامل لابلاس على الصورة.



الشكل (11) يوضح نتائج استخدام عامل لابلاس على الصورة

تلوين الصورة Image coloring

إن عملية تلوين الصورة وكما تم توضيحه في الجانب النظري هي أن ننسب إلى كل تدرج رمادي في الصورة أحد الألوان، الأمر الذي يساعد على إبراز الكثير من معالم الصورة التي كانت غير مرئية أو واضحة نتيجة لعدم قدرة العين البشرية على إدراك كل تدرجات اللون الرمادي.

في الغالب يكون التدرج الرمادي للصورة مقسم إلى (16) شريحة ولأجراء عملية التلوين بتوزيع المستوى الرمادي (0-255) إلى تدرجات لونية تنتقل بين أربعة ألوان رئيسة تقع عند:

قيمة الصفر (0) يكون اللون الأسود قيمة (85) يكون اللون الأحمر. قيمة (170) يكون اللون الأخضر. وأخيراً قيمة (255) يكون اللون الأبيض. وبذلك فإن العناصر التي تقع قيمها بين (85-0) ستكون ألوانها هي ألوان التدرج اللوني من الأسود إلى الأحمر، وبنفس المعنى فإن قيم العناصر الواقعة بين (85-170) تتلون بالتدرج بين الأحمر والأخضر، ونفس الطريقة للعناصر بين (170-255) تأخذ ألوان التدرج من الأخضر إلى الأبيض. ومن الواضح أن بعض الألوان قد تظهر في الصورة وهي غير تلك المذكورة أعلاه وهذه الألوان ناتجة عن عملية الانتقال اللوني فعلى سبيل المثال يظهر اللون الأصفر كلون وسطي عند الانتقال من الأخضر إلى الأحمر أو بالعكس كما في الشكل (12).



الشكل (12) يبين نتائج تطبيق طريقة تلوين الصورة على صور القمر الصناعي (GMS).

الاستنتاجات

1. خلال هذا البحث تم اعداد حزمة برمجية متكاملة بلغة البيسك السريع (Quick Basic) تلبى كل متطلبات المعالجة الرقمية لصور القمر الصناعي الأنوائي (GMS) على الرغم من أن هذه الحزمة البرمجة قد كتبت بلغة برمجية تعمل تحت مظلة نظام التشغيل (DOS) إلا أنها تلبى كل الفعاليات بشكل سريع وسهل الاستخدام فقد تم ربط البرنامج بواجهة رئيسة يمكن من خلالها الوصول الى كل برنامج جزئي (Subroutine) بسهولة.
2. ان المرشحات (Filters) التي تم استخدامها في هذا البحث لازالة اثار الضوضاء (noise) في صور (GMS) أعطت نتائج مشجعة وتحديداً عندما تكون نوافذها (Windows) ذات ابعاد (3*3) ولكن المرشح الخاص (Special Filter) أعطى نتائج أفضل لكونه يقوم بفحص نقطة الصورة قبل مقارنة قيمة مستواها الرمادي مع مجاورتها للتأكد من كونها تمثل نقطة ضوضاء أو نقطة حافة (Edge) أو كلاهما معاً. وقد أعطى هذا المرشح نتائج جيدة في الحفاظ على وضوح الصورة بعد ازالة الضوضاء.

REFERENCES

1. User's Guide for building and operating Environmental satellites receiving stations, 1997, National oceanic and atmospheric Administration, U.S Department of comerce, Washington, D.C., July, (1997).

2. Rafael. G. Gonzalez and Paul Wintz, ; Digital Image processing, Addison-Wesley, (1977).
3. Kenneth. R nad Castleman, : Digital Image Processing, Prentice-Hall, (1979).
4. Williams. K and Pratt, ; Digital Image Processing, Wiley and sons, (1978).
5. Azriel Rosenfeld and Avinash. G. kak, : Digital Picture Processing, Academic Press, (1982).
6. Williams K. Pratt, ; Digital Image Processing, University of southern california, (1978).
7. Scott Eumbough, ; Computer Vission and Image Processing, a practical Approach using CVIP tools, (1998).

مقارنة بين المتحسسين MSS و TM للقمر الاصطناعي LANDSAT من ناحية تأثيرها بالعوامل الجوية والارضية

د. عوني ادوار عبد الاحد ، د. عمر برهان الجراح ، السيد حازم حمود حسين
(قسم الانواء الجوية - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية)

ABSTRACT

Analysis of reflectivity values from Spectral Satellite Images for water, shadows of topographies and clouds are compared for two sensors, MSS and TM of LANDSAT satellite which specialized by study the Earth's surface. The reflectivity measurements for MASS and TM were recorded by using two bands, channel (4) and channel (7). The spectral rang of band (4) is (0.5 - 0.6) for MASS and (0.76 - 0.9) for TM, while the spectral range of band (7) is (0.8 - 1.1) micron for MSS and (2.08 - 2.35) micron for TM. The actual reflective values which recorded by MSS and TM are graphically represented as a scatter plots on X, Y axis. The Best fit line through the data points were carried out to show the influence of Meteorological factors and other factors making a different line off set on either one of the axis. It has found that both, MSS and TM images would be effected by Meteorological and Earth's features factors. TM images is less influenced and both have a deferent response.

الخلاصة

تم تحليل قيم الانعكاسية والانبعاثية الطيفية للماء وظل التضاريس الارضية والغيوم المسجلة بالمتحسين MSS و TM المجمولين على سلسلة القمر الاصطناعي LANDSAT المختص بدراسة سطح الارض. في هذه الدراسة تم مقارنة قيم الانعكاسية للقناتين (٤) و (٧) المسجلة بواسطة المتحسسين MSS والمتحسسين TM وللقطات مختارة في العراق. تم تمثيل القيم بيانياً كرسم منتشر ورسم افضل خط مستقيم يمر باكبر عدد من النقاط حيث ان قيمة الاراحة على أي من المحورين X, Y يمثل تأثير العوامل الجوية، العوامل الارضية، التربة (نوعها

مقارنة بين المتحسين MSS و TM للقمر الاصطناعي LANDSAT من ناحية تأثيرها بالعوامل الجوية والارضية
عوني الدوار عبد الاحد وجماعته

ومحتواها)، الغطاء النباتي، وضلال التضاريس والغيوم، تم مقارنة قيم الازاحة الناتجة من المتحسين ووجد ان المتحس TM يتاثر بالعوامل المختلفة المذكورة اعلاه اقل من المتحسس MSS وان المتحسين يتباين تأثيرهما بالعوامل الجوية والارضية وفي قسم منها وجد تداخل بين هذه المؤثرات واحيانا" يلغي احدهما عمل الاخر.

المقدمة

الهدف من البحث مقارنة الانعكاسية او الانبعائية الطيفية المقاسة بواسطة القنوات (٤) و (٧) للمتحسين MSS و TM المحمولين على سلسلة الاقمار الاصطناعية LANDSAT التي تتاثر بطبيعة الهدف الارضي وبالظواهر الانوائية من غبار وبخار ماء اثناء مسير الاشعاع الى المتحسسات في القمر الاصطناعي وضمن القنوات المختارة وذلك لدراسة الاختلاف في القياسات وللاطلاع على دقة النتائج. اختيرت اللقطات لحالات مختلفة مثل المواقع المائية او ظلال التضاريس الارضية والغيوم، اضافة الى التنوع في الحالات الجوية المختارة.

الجانب النظري

يتعرض الاشعاع الشمسي الواصل الى سطح الارض لجملة تغيرات ناشئة عن مكونات الغلاف الجوي حيث ينحصر تأثير هذه المكونات بعمليات اساسية ثلاث هي التشتت والانعكاس والامتصاص.

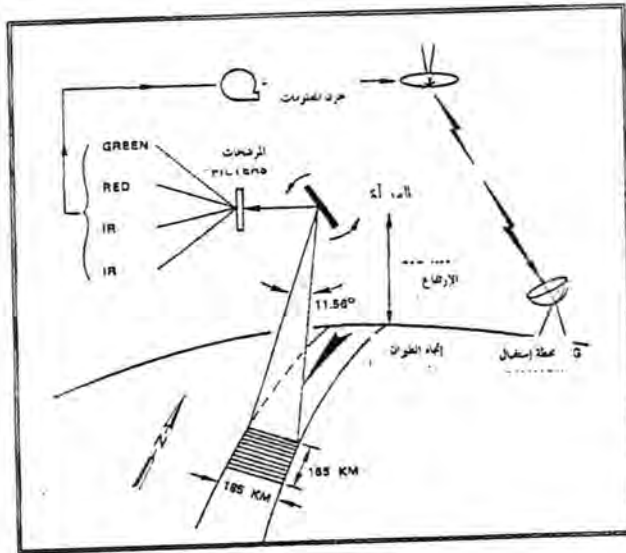
الانعكاسية هي النسبة بين شدة الطاقة الكهرومغناطيسية عن سطح معين بطول موجي محدد او الحزمة الموجية نفسها ويعبر عنها كنسبة مئوية تكون قيمتها محصورة بين (٠ - ١٠٠%)^(١). تعتمد انعكاسية السطح كثيرا" على خشونته، فالانعكاسية تعتمد على طبيعة السطح والطول الموجي للاشعاع الساقط عليه.

يعتبر الغبار والرطوبة من اهم المشتتات للاشعاع الشمسي، حيث ان زيادة الرطوبة في الجو تؤدي الى انخفاض الانعكاسية. اضافة الى تأثير درجة الحرارة وخصوصا" ان القناة (٧) في MSS والقنوات (٤) و (٧) في TM تقع اطيافها ضمن الاشعة نحن الحمراء.

متحسسات القمر الصناعي لاندسات

ان متحسسات القمر الصناعي لاندسات نوع (TM) ونوع (MSS) تمثل النوع الرقمي من المتحسسات و الشكل (١) يبين الية عمل هذين المتحسين. ان كل وحدة تصويرية (Pixel) للارض تعكس او تبعث الاشعاع الى المرآة المتذبذبة الموجودة في المتحسس والتي تقوم بعكسها الى بصريات اخرى داخله ثم توجيهها الى عازل ثنائي يقوم بفصل الاشعة المنعكسة عن الاشعة المنبعثة فتوجه الاشعة المنعكسة نحو مرآة عاكسة ، ثم نحو موشور يقوم بدوره بعزلها الى طاقات مختلفة تشمل الاشعة الرئية او تحت الحمراء المنعكسة وتوجه كل واجدة منها نحو كاشف يجعل منها حرما" متعددة بشكل قنوات تقاس قجرتها الاشعاعية كل منها منفردة وتجري العملية نفسها على الاشعة المنبعثة وبكواشف خاصة بها. تقوم هذه المتحسسات بتحويل الطاقة المنعكسة او المنبعثة الى اشارات كهربائية او ارقام ثم تبث الى محطات ارضية يتم خزنها باشكال مختلفة لغرض المعالجة و الدراسة.

من الجدير بالذكر ان عملية قياس الطاقة الاشعاعية الارضية بواسطة هذه المتحسسات تتم على امتداد خط مسح عمودي خط مسار القمر الصناعي.



الشكل (١) الية عمل المتحسسات الفضائية متعددة الاطراف (٢)

١- المتحس MSS

يحمل هذا المتحس في الجيلين الاول والثاني لسلسلة القمر الصناعي لاندسات يقوم هذا المتحس بمسح سطح الارض بواسطة مرآة متحركة ذهابا وإيابا وتمثل كل ذبذبة منها خط مسح واحد. يكون عرض المسح (١٨٥) كم وبواقع (٢٣٤٠) خط مسح ويتكتم خط المسح الواحد من (٣٢٤٠) بكسل والجدول (١) يبين القنوات الاربعة لهذا المتحس واطوالها الموجبة والموقع الطيفي لكل قناة من هذه القنوات واستخداماتها والقدرة التمييزية لكل قناة^(٣).

جدول (١) القنوات الطيفية للمتحس MSS واطوالها الموجبة واستخداماتها^(٤).

| القناة | الطول الموجي (مايكرون) | الموقع الطيفي | القدرة التمييزية (متر) | التطبيقات الرئيسية |
|--------|------------------------|-----------------------|------------------------|--|
| ٤ | ٠,٥-٠,٦ | اخضر | ٨٢ | استكشاف المعالم الحضرية والغطاء النباتي واختراق المياه |
| ٥ | ٠,٦-٠,٧ | احمر | ٨٢ | استكشاف المقالع الحصوية وتمييز انواع النباتات والمعالم الحضرية |
| ٦ | ٠,٧-٠,٨ | احمر-تحت حمراء القريب | ٨٢ | جراحة المسطحات المائية والدراسات الجيولوجية |
| ٧ | ٠,٨-١,١ | تحت الحمراء القريب | ٨٢ | دراسة المسطحات المائية |

٢- المتحس TM

يحمل هذا المتحس على الجيل الثاني من سلسلة الاقمار الصناعية لاندسات يتضمن هذا المتحس تحسينات عديدة بالمقارنة مع المتحس MSS الجيل الاول حيث يحتوي على سبع قنوات طيفية مبنية بالجدول (١) في حين يحتوي MSS اربع قنوات فقط، ويبين الجدول ايضا الاطوال الموجبة لهذه القنوات ومواقعها الطيفية والتطبيقات الرئيسية والقدرة التمييزية لكل قناة. ان مبدا عمل هذا الجهاز هو نفس مبدا عمل MSS ولكن باختلاف مراته المتذبذبة لانها تقوم بتسجيل المعلومات ذهابا وإيابا بينما مرآة MSS تقوم بتسجيل المعلومات باتجاه واحد فقط. من

مميزات هذا المتحسس بان له القدرة على كشف ٢٥٦ مستوى من المستويات الاشعاعية الواصلة اليه من سطح الارض لكل قناة بينما MSS له ٦٤ مستوى فقط لكل قناة (٣).

جدول (٢) القنوات الطيفية للمتحسس TM واطوالها الموجية واستخداماتها(٤).

| القناة | الطول الموجي (مايكرون) | الموقع الطيفي | القجرة التمييزية (متر) | التطبيقات الرئيسية |
|--------|------------------------|---------------------|------------------------|--|
| ١ | ٠.٤٥-٠.٥٢ | أزرق | ٣٠ | اختراق المياه وتميز التربة والغطاء النباتي والمعالم الحضرية |
| ٢ | ٠.٥٢-٠.٦٠ | أخضر | ٣٠ | صمم لقياس ذروة انعكاسية اللون الأخضر للغطاء النباتي ويفيد في تمييز المعالم الحضرية |
| ٣ | ٠.٦٣-٠.٦٩ | غمر | ٣٠ | تمييز أنواع النباتات وتميز المعالم الحضرية |
| ٤ | ٠.٧٦-٠.٩ | تحت الحمراء القريب | ٣٠ | تحديد الكتل المائية وتميز رطوبة التربة وتحديد أنواع النباتات |
| ٥ | ١.٥٥-١.٧٥ | تحت الحمراء المتوسط | ٣٠ | يستخدم للتمييز بين الثلج والغيوم |
| ٦ | ١.٠٤-١.٢٥ | تحت الحمراء الحراري | ١٢٠ | تمييز رطوبة التربة ويفيد في تحليل اصابات الغطاء النباتي |
| ٧ | ٢.١٨-٢.٣٥ | تحت الحمراء المتوسط | ٣٠ | يفيد في تمييز المعادن والنوع الصخور وهو حساس للرطوبة في الغطاء النباتي |

التشوهات الحاصلة في تسجيلات TM , MSS

يمكن تقسيم التشوهات الحاصلة في تسجيلات TM, MSS الى ثلاثة اقسام هي

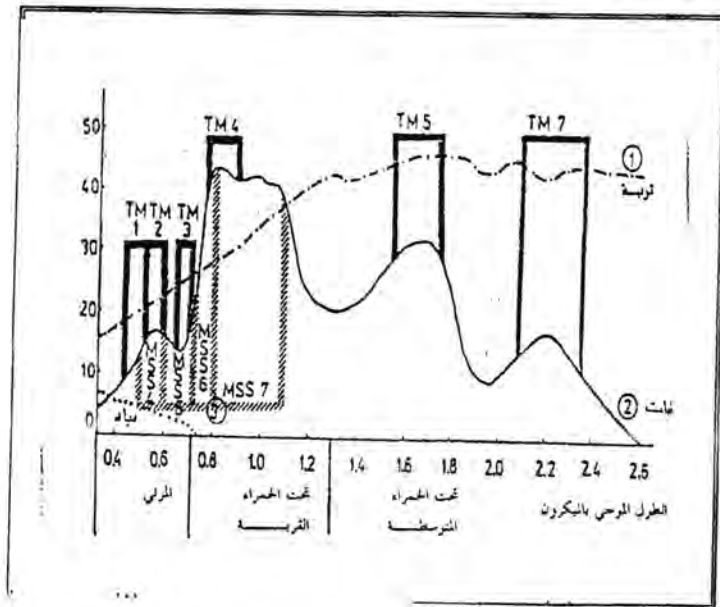
- ١- التشوهات الهندسية: وسببها تغير في ارتفاع او اتجاه او سرعة القمر الصناعي او بسبب انحناء الارض وانكسار الطاقة في الجو.
- ٢- التشوهات الاشعاعية: وسببها ان الطاقة الاشعاعية المقاسة باي نظام تحسس (TM, MSS) ليهدف ما نتاثر بعده عوامل كتغير اضاء الهدف وحالة الجو حيث تتعقد اضاءة المنظر بالشمس بتاثير الجو عليه وتتاثير الطاقة الاشعاعية ايضا بهندسة الابصار وخواص اسجابة الاجهزة. ان موضع بحثنا يتعامل مع التشوهات في المقياس الاشعاعي الناتج عن تاثير الغلاف الجوي على

الطاقة الشمسية المنبعثة من سطح الارض وهذه التشوهات ناتجة بصورة اساسية من التشوهات الجوية.

٣- تشوهات الضوضاء: وسببها يرجع الى محدودية التحسس وترقيم الاشارة وتسجيل البيانات وهذه قد تنتج عن خلل في كشافات المتحسس او التداخل الالكتروني بين مكونات جهاز التحسس.

منحني الانعكاسية الطيفية

تتغير الانعكاسية الطيفية لجسم ما مع طول الموجة لذا يمكن رسم منحنى لهذه العلاقة يدعي منحنى الانعكاسية الطيفية ويعرف هذا المنحنى بكونه سجلا لنسب الانعكاسية لجسم ما ضمن حزم طيفية مختلفة. ان شكل المنحنى يختلف من جسم لآخر ومن طول موجي لآخر فيعطى بذلك معلومات ضمنية عن الخواص الطيفية للجسم، وللمنحنى ايضا تأثير فعال في اختيار الطول الموجي المناسب والذي ضمنه يمكن الحصول على بيانات بالتحسس النائي عن ذلك الجسم والشكل (٢) يبين منحنيات الانعكاسية الطيفية للمعالم الرئيسية التي تغطي سطح الارض وهي النباتات والتربة والماء وكذلك يبين القنوات الطيفية للمتحسين (TM, MSS)^(٢).



شكل (٢) منحنيات الانعكاسية الطيفية للنبات والماء والتربة^(٢)

النتائج والمناقشات

تم اختيار تسجيلات فضائية لمناطق في العراق والتي تم الحصول عليها من مركز البتاني لبحوث الفضاء حيث حققت الحالات المختلفة من مياه وظلال التضاريس الارضية وظلال الغيوم وتم مراعاة التنوع المكاني والزمني لهذه الحالات. الجدول (٣) يبين مواقع النقاط المختارة ونوع المتحسس المستخدم وتاريخ النقاط الحالة حسب الاحداثيات الفضائية للقمر الاصطناعي والحالة الجوية، علماء ان وقت التسجيل اختير الساعة العاشرة صباحاً مقاسه لاقرب محطة للرصد الجوي للمنطقة. ان التغير الفصلي والظهري لقيم الانعكاسية يجب ان تؤخذ بنظر الاعتبار حيث ان انعكاسية موقع ما في فصل الشتاء تختلف عنها في فصل الصيف بسبب تغير كمية الاشعاع الشمسي وزاوية سقوط - لاختلاف موقع الكرة الارضية بالنسبة لمدارها البيضي حول الشمس. اضافة الى احتمالية وجود الغيوم في الشتاء او وجود الغبار بانواعه المختلفة في الصيف. كذلك اختلافات الغطاء النباتي بين هذين الفصلين او المحتوى المائي للتربة واختلاف الرطوبة النسبية للجو بينهما. اما بالنسبة لفصلي الربيع والخريف فاختلاف مناسب المياه من جفاف في الخريف وقيضان في الربيع وكذلك اختلاف الغطاء النباتي بينهما واختلاف المحتوى المائي للتربة التي تعتبر من اهم المظاهر لهذين الفصلين. من جهة اخرى يعتبر اختيار المكان يعتمد على الطبيعة الجيولوجية للتربة والصخور في العراق واختلاف نوع المياه وعمقها وملوحتها فالمياه المالحة تكون ذات انعكاسية كبيرة والمياه العميقة تكون انعكاساتها اقل من المياه الضحلة^(١). تم اختيار لقطات فضائية تحقق افضل احتمالية لتغير نتائج قياسات الانعكاسية وتمثيلها احصائياً بالجزئين (٤) و (٧) حيث تحتوي اللقطة الواحدة على مياه وظلال غيوم وظلال تضاريس جميعها او قسم منها وكما مبينة في الجدول (١) اضافة الى الجوية في وقت اللقطة. شملت الدراسة على ما يلي:

- ١ - تم قياس تسجيلات الانعكاسية للماء (عميق ونقي) باستخدام جهاز الراديوميتر لمناطق مختلفة من القطر بقنوات مناظرة للمتحسس الفضائي MSS والتي كانت على ارتفاع ٢ متر من الهدف (بفرض اهمال تأثير الغلاف الجوي). كما يلاحظ في الشكل (٣) ان قيمة الازاحة الناتجة = ٣.

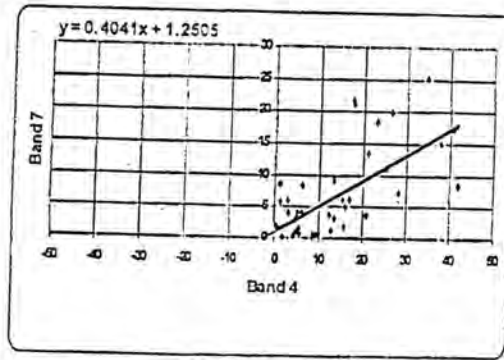
- ٢ - تم تسقيط قيم الانعكاسية الطيفية للماء وظل التضاريس وظل الغيوم على الاحداثيات الانتشارية والمسجلة لجميع الحالات والظروف للمتحسين MSS و TM، حيث اعطت الشكلين (٤) و (٥) على التوالي. قيمة الازاحة الناتجة من الشكل (٣) والذي يمثل الانعكاسية المسجلة بالمتحس MSS كانت (٩٣)، وقيمتها بالمتحس TM كانت (١٣). ان هذا الاختلاف في مقدار الازاحة يعود الى سببين الاول هو نوع المتحس TM، اما السبب الثاني فيعود الى وجود جميع الؤثرات الجوية كالغبار. لاجل التحقق من النتائج تم تسجيل قيم الانعكاسية الطيفية للمناطق متعددة من المياه ذات عمق كبير ونقاوة عالية بواسطة جهاز الراديوميتر وباطوال موجية مطابقة للقناتين (٤) و (٧) الخاصة بالمتحس الفضائي MSS حيث كانت مقدار الازاحة الناتجة (٣) وهذا دليل على ان هذين القناتين يظهران نسبة خطأ ليست بالقليلة حتى في حالة اهمال تأثير الغلاف الجوي.
- ٣ - من تسجيلات الانعكاسية الطيفية للماء ولمناطق مختلفة من العراق وبتواريخ مختلفة المقاسة بالمتحسين MSS و TM التي غطت ظروف جوية مختلفة يوضح الشكل (٦) مقدار الازاحة الناتجة من المتحس MSS والتي بلغت (٩١) والشكل (٧) للمتحس TM والتي بلغت (١٦). الاختلاف في مقدار الازاحة الحاصلة يعود الى اختلاف المتحس الذي سجلت بواسطته الانعكاسية والظروف الجوية التي تم بها التسجيل حيث ان الظروف الجوية لتواريخ تسجيلات MSS كانت اكثر تعقيدا لوجود حالات الغبار والغشاوة في اكثر من لقطه.
- ٤ - من تسجيلات ظلال التضاريس لمناطق متعددة ومختلفة للمتحسين التي غطت جميع الحالات والظروف، وجد ان تسجيلات المتحس MSS لظل التضاريس والموضحة بالشكل (٨) تفرز مقدار ازاحة (١٨)، اما قيم الانعكاسية باستخدام المتحس TM والموضحة بالشكل (٩) فيمكن ملاحظة ان مقدار الازاحة الناتجة تساوي (٤). الاختلاف في مقدار الازاحة للشكلين ناتج عن اختلاف نوع المتحس المستخدم وكذلك وجود الغبار كحالة جوية في وقت التسجيل لقيم الانعكاسية باستخدام المتحس MSS وانعدامه في وقت تسجيلات المتحس TM.
- ٥ - تم الحصول على قراءات لانعكاسية ظل الغيوم لمناطق واوقات وظروف جوية مختلفة. نلاحظ في الشكل (١٠) ان مقدار الازاحة الحاصلة في حالة استخدام المتحس MSS لقيم

الانعكاسية كانت (٨٣) وهي كبيرة مقارنة بقيمة الازاحة الحاصلة باستخدام TM والتي كانت (٧) كما مبينة في الشكل (١١)، والسبب ايضا " وجود الغبار في الجو.

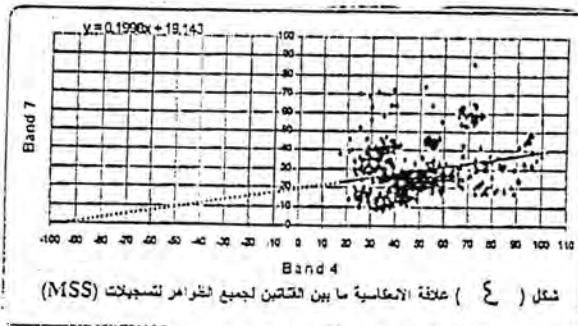
الاستنتاجات

يمكن الاستنتاج ان قيم الانعكاسية المسجلة بواسطة المتحسين MSS و TM تتاثران ان بالعوامل الجوية والارضية، وان المتحس MSS ذو كفاءة اقل بكثير من المتحس TM حتى في الظروف المثالية لحالة الغلاف الجوي مثل ان يكون الجو خالي من الغبار ورطوبة نسبية ودرجة حرارة منخفضة اضافة الى ان تكون المياه عذبة وعميقة بالنسبة لانعكاسية المسطحات المائية. ان الجيل الثاني من المتحس TM كان من المفروض عدم تاثيره بالعوامل الجوية مثل المتحس MSS وكما اعلنت الشركة المنتجة له. فلقد وجد في هذه الدراسة ان المتحس TM اقل تاثيرا " بحالة الغلاف الجوي والعوامل الارضية وهذا ناتج من اختبار الأطوال موجية على قنواته التصميمية. عليه فان تسجيلات قيم الانعكاسية الطيفية لكلا المتحسين لا يمكن الاعتماد على دقتها.

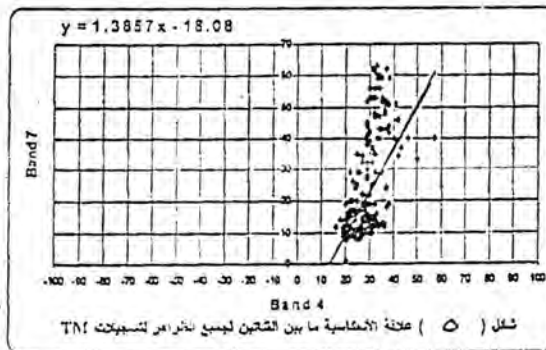
مقارنة بين المتحسين MSS و TM للقمر الاصطناعي LANDSAT من ناحية تأثيرها بالعوامل الجوية والارضية
عوني الدوار عبد الاحد وجماعته



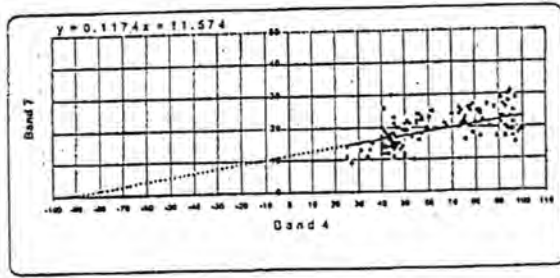
شكل (٣) علاقة انعكاسية الماء للقتانين 7 و 4 مسجلة
بجهاز الراديو ميتر مستنبط من [32]



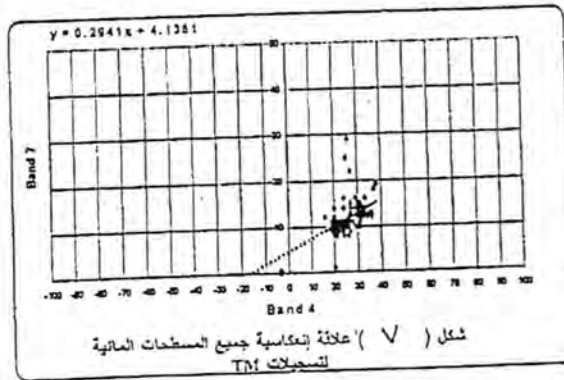
شكل (٤) علاقة الانعكاسية ما بين القتانين لجميع الظواهر لتسجيلات (MSS)



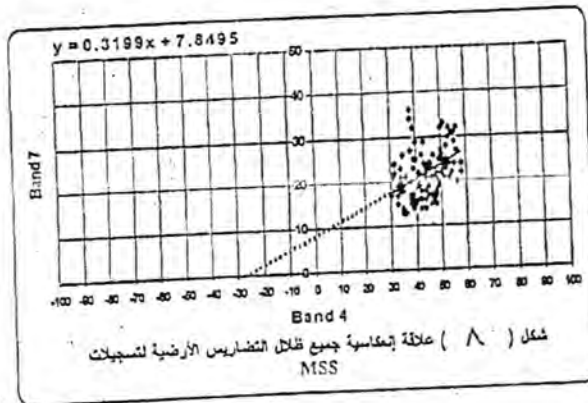
شكل (٥) علاقة الانعكاسية ما بين القتانين لجميع الظواهر لتسجيلات TM



شكل (٦) علاقة انعكاسية جميع المسطحات المائية لتسجيلات MSS

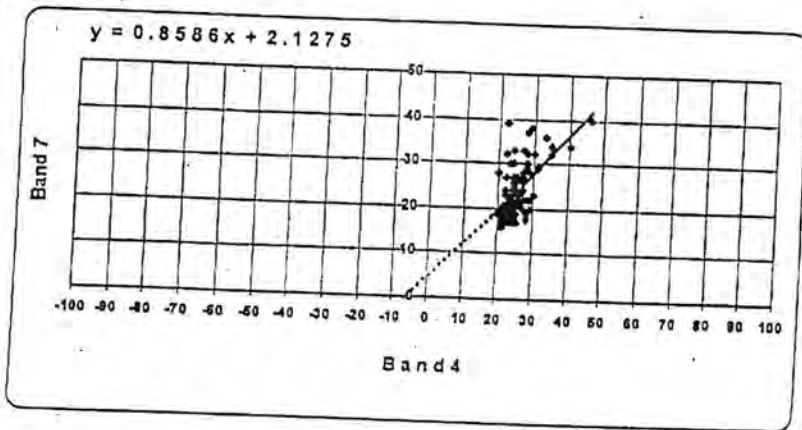
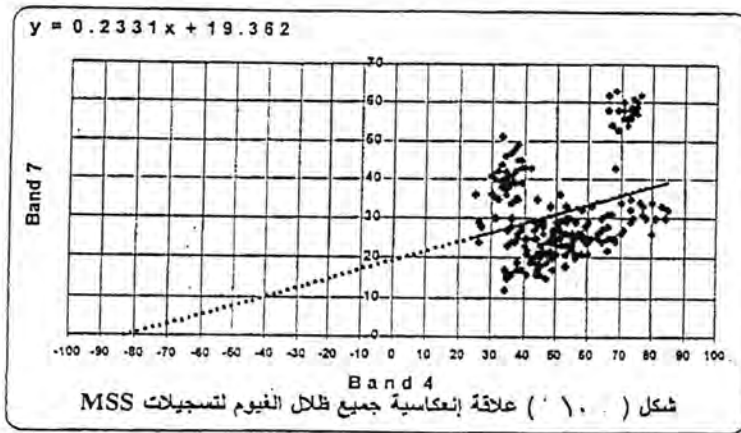
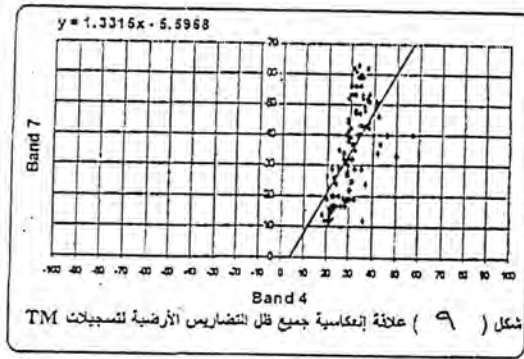


شكل (٧) علاقة انعكاسية جميع المسطحات المائية لتسجيلات TM1



شكل (٨) علاقة انعكاسية جميع ظلال التضاريس الأرضية لتسجيلات MSS

مقارنة بين المتحسين MSS و TM للقمر الاصطناعي LANDSAT من ناحية تأثيرها بالعوامل الجوية والارضية
عوني ادوار عبد الاحد وجماعته



المصادر

1. Roy A.K. Landsat Imagery Interpretation, D28, N.R.S.A. India Photo Interpretation, India pp. 10(1989).
٢. مراد الشيخ، مكرم انور علم التحسس البعيد، بغداد، هيئة المعاهد الفنية/٢٢/صفحة ٥١٥، (١٩٩٩).
3. NOAA Landsat Data Users Notes, Issue No. 35, pp. 4. (1986).
٤. ليلساند كيفين الاستشعار عن بعد وتفسير المرئيات، ترجمة دز حسن حلمي، خروف، المنظمة العربية للتربية والثقافة والعلوم، سوريا - دمشق، صفحة ٩٧٤، (١٩٩٤).
5. Gomarasea M.A. and Lechi G.M. Fundamentals of Remote Sensing, Telerile Vamento, Milano, pp. 21 - 28. (1993).
6. Sabins F.F. Remote Sensing Principles and Introduction, San Francisco, pp. 246. (1978).

تقدير سرعة حركة الغيوم باستخدام المعالجات الرقمية لصور القمر الاصطناعي 7 - METEOSAT

أعلى ولد بابا المحجوب د. عوني أدوار عبد الأحد د. لؤي أدور جورج
(قسم الانواء الجوية - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية)

ABSTRACT

Meteorological images were found in some Web sites in the "Internt" which can offer periodically the latest images by the satellite (METEOSAT-7) and for the region part "D3" which includes Iraq. A digital image package was suggested to define the regions of cold and high clouds in these meteorological images and calculate their areas, their center coordinates, and their horizontal and vertical extension. A comparison between the positions and areas of the clouds detected in the successive images were utilized to calculate the motion distance of the detected clouds. In order to calculate the geographical locations (i.e. longitude and latitude coordinations) a theoretical treatment was performed to transform the coordinates from image coordinates to longitudes and latitudes.

الخلاصة

من خلال الشبكة الدولية للمعلومات الانترنيت (Internet)، تم الحصول على صور انوائية لمنطقة من قبل القمر الصناعي (7-METEOSA) لمنطقة (D3) والتي يقع القطر العراقي ضمنها. لقد اقترحت حزمة برمجيات للمعالجة الرقمية للصور الانوائية وذلك لغرض تحديد مناطق الغيوم الباردة والعالية فيها وحساب مساحاتها واحداثيات مراكزها وامتداداتها الافقية والعمودية، كذلك اجراء مقارنة بين كتل هذه الغيوم خلال صور متتالية لحساب المسافة التي تحركتها خلال الفترة الزمنية الفاصلة بين زمن النقاط هذه الصور، ليتم في النهاية تحويل احداثيات مراكز الغيوم من احداثيات الشاشة الى احداثيات طول وعرض لغرض تقدير سرعة حركة الغيوم فب الصور. ولغرض حساب المواقع الجغرافية للغيوم تم مضع المعالجات النظرية

اللازمة لتحويل الاحداثيات من وحدات عنصر صورة (Pixel) الى مواقع جغرافية بدلالة خطوط الطول والعرض.

المقدمة

تعتبر الاقمار الاصطناعية من اهم الوسائل التي تستخدم في العديد من التطبيقات الفضائية كالاتصالات والاستطلاع والاستكشاف والمتابعة. ومنذ ولوجها مجال الانواء الجوية مع اطلاق اول قمر صناعي انوائي في الاول من نيسان 1960 فقد اسيحت تطبيقاتها كثيرا في تطور هذا العلم، وذلك لمدى قدرة المتحسسات الموصوعة على هذا الاقمار على استكشافات الغلاف الجوي للارض بمساحات واسعة جدا فضلا عن ذلك تستخدم الاقمار الصناعية بشكل فعال في المراقبة الانبية والسريعة للكورة الارضية اذ توجد شبكة واسعة منها منتشرة حول العالم. حيث اصبحت من الممكن الحصول على صور تحوي معلومات قيمة عن الغيوم واشكالها وتوزيعاتها وامتدادها الراسي مما ساعد على اعطاء معلومات موثقة عن الطقس والاستدلال على مواقع وشدة انظمتته الرئيسة.

تزداد الاقمار الاصطناعية العاملين في البحث والتنبؤ بسلسلة متعاقبة من الصور والتي تغطي مساحات واسعة من سطح الارض وهي بدورها تحوي معلومات لنشوء وتطور حركة منظومات الطقس. والتي يتم استلامها من قبل محطات ارضية لتجرى عليها عمليات التقويم والتصحيح وترسل بعد ذلك الى الجهات المستفيدة منها الموزعة في كافة انحاء العالم عبر اجهزة الارسال الراديوي المتوفرة في المحطات.

الجانب النظري

صور الاقمار الاصطناعية الانوائية:

يتم الحصول على المعلومات من خلال استخدام المتحسسات المحمولة على الاقمار الصناعية عبر مناطق الغلاف الجوي التي تشمل على بخار الماء (المناطق الرطبة)، هذا فضلا

عن استخدام بعض نوافذ الغلاف الجوي للتصوير. وهناك عدة أنواع شائعة الاستخدام من الصور الانوائية اهمها:

١. الصور المرئية (VIS) Images

٢. الصور لبخار الماء (WV) Water Vapor Images

٣. الصور تحت الحمراء (IR) Infrared Images

في هذه الدراسة استخدمت صور IR والتي يقصد بها الصور الحرارية المنبعثة ضمن طيف تحت الحمراء، ويتم الحصول على هذا النوع من الصور من خلال الانبعاثية من الارض والغلاف الجوي بواسطة الاشعة تحت الحمراء الحرارية وبالطوال موجية بين (10-12 μm) وهي تزودنا بدرجة حرارة سطح الارض او الغيمة. من الطبيعي ان تقل درجة الحرارة مع الارتفاع قرب سطح الارض كما ان الاشعة تحت الحمراء (IR) ذات الشدة الواطئة تنبعث من الغيوم الباردة والاعى والتي تظهر بيضاء والاقبل سمكا تظهر سوداء أي عكس ما هو الحال في الصور المرئية. ان الاشعة الحرارية تحت الحمراء تنبعث من الارض والغلاف الجوي حيث تمتلك اليابسة والبحر والغيوم السمكة عند هذا المدى من الاطوال الموجية، العكسية تكاد ان تساوي صفرا والانبعاثية قريبة من الواحد، الامر الذي يمكن من خلاله القول بان ذده السطوح (اليابسة والبحر والغيوم السمكة) هي مشعات جسم اسود^(١) (٢).

من ناحية اخرى فان الاشعة تحت الحمراء التي تقيسها الاقمار الصناعية والتي ترتبط مباشرة بدرجة حرارة سطح الجسم الاسود يتم وصفها قانون ستيفان بولتزمان (Stefan Boltzman Law). فالغلاف الجوي شفاف بصورة كبيرة للاشعاع ذي الاطوال الموجية المستخدمة في اجهزة التحسس للاشعة تحت الحمراء، ولذلك فان هذه الصور تشكل خارطة حرارية لسطح الارض وقمم الغيوم.^(٧)

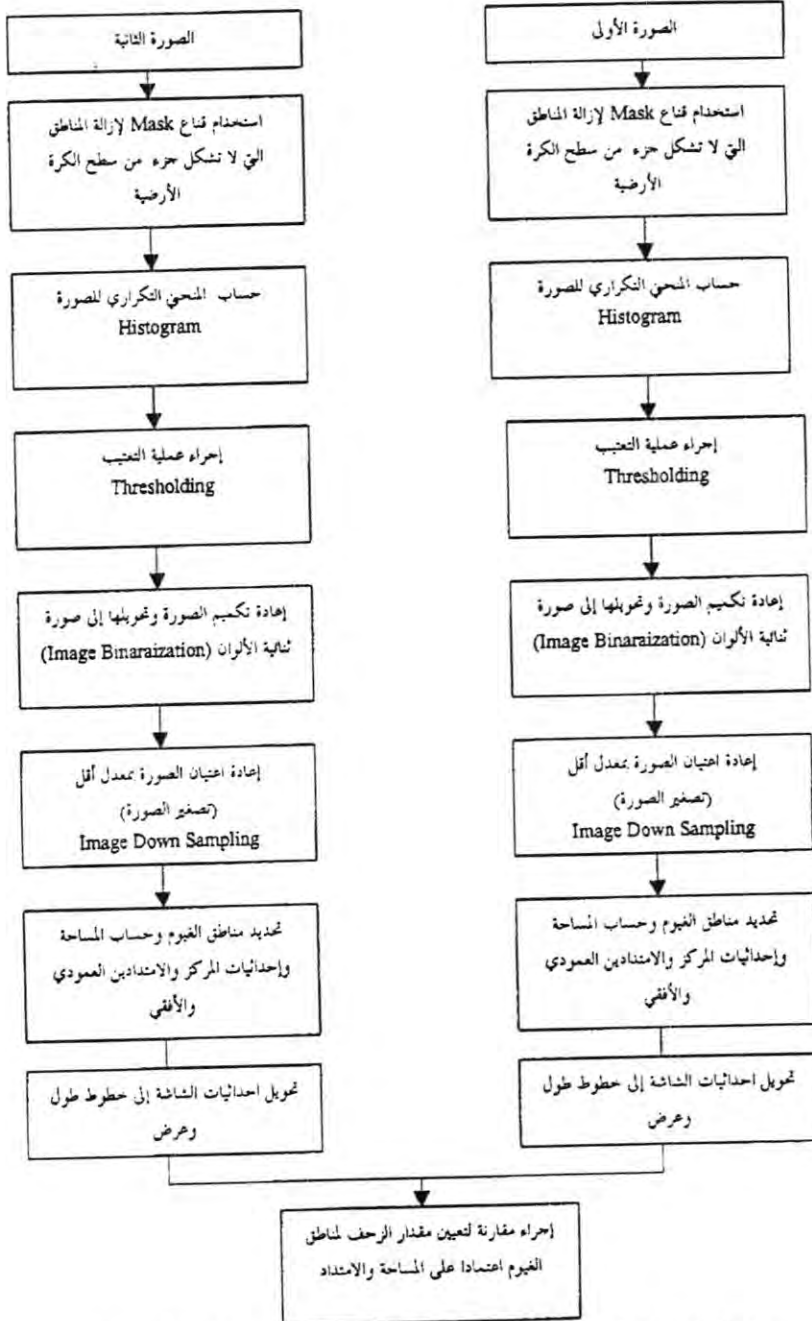
اهتم البحث بتصميم وتنفيذ طريقة لمعالجة صور القمر الصناعي (METEOSAT-7) لاستنباط حركة الغيوم وتحديد سرعتها واتجاهاتها، والتي يمكن الاستفادة منها في تحديد التغيير الزمني في سلوك الغيوم، حيث اعتمدت المقترحة على استخدام تقنية العتبية (Thresholding) لتحديد مناطق الغيوم الباردة وقياس مساحتها ومن ثم تتبع مواقعها ضمن صور انوائية متتالية.

الجانب العلمي والنتائج

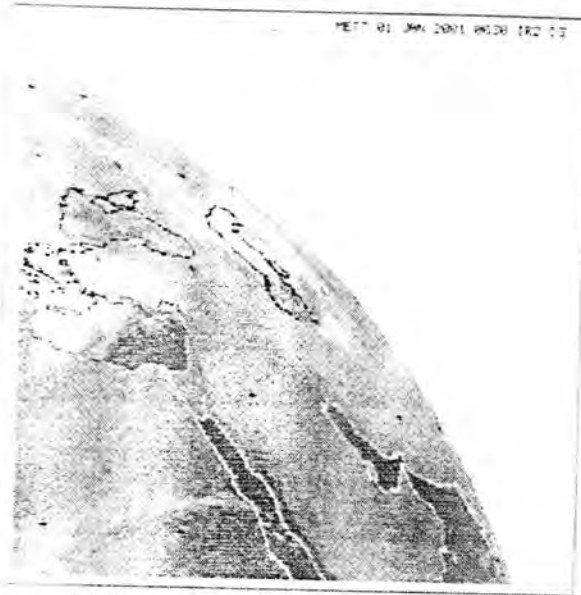
في هذا العمل تم اقتراح منظومة متكاملة لدراسة حركة الغيوم في صور القمر الصناعي الانوائي (7-METEOSAT)، الملتقطة لمنطقة (D3) التي تغطي القطر والمناطق المجاورة له. تم الحصول على نماذج من هذه الصور من خلال بعض المواقع على الشبكة الدولية انترنت (Ineternet). تهدف هذه الدراسة الى مجموعة من تقنيات المعالجة الرقمية، لغرض تحديد مناطق توزيع الغيوم في هذه الصور وتحديد نسبها، خاصة مناطق الغيوم الباردة والعالية لاهميتها في مجال الانواء الجوية. ومن ثم حساب مساحات هذه الغيوم وامتداداتها ومراكزها عبر مجموعة صور متسلسلة ومقارنة مواقع الغيوم في تلك الصور لتحديد مقدار الزحف الذي تحركت به الغيوم من صورة الى اخرى. وبعد ذلك يتم تحويل احداثيات الشاشة الى جطوط عرض وطول (Latitude and Longitude) باستخدام معادلات التحويل التي تم استنباطها لهذا الغرض ليتسنى حساب سرعة حركة الغيوم بوحدات السرعة. ولتحقيق هذا الغرض فان المنظومة المقترحة مكونة من عدة تقنيات مرتبطة مع بعضها البعض، وكما مبين في المخطط الكتلي في الشكل (1).

دراسة حركة الغيوم

خلال هذه المرحلة سيتم شرح مفاصل حزمة البرمجيات المقترحة لدراسة حركة الغيوم والتي تتضمن المراحل المبينة في المخطط الكتلي، الشكل (1)، اذ يتم تطبيق هذه البرمجيات على اية صورتين متلاحقتين لنفس المشهد من سطح الكرة الارضية.



الشكل (١) يعرض المخطط الكنتي للمنظومة المقترحة لدراسة حركة الغيوم



شكل (٢) عرض صورة منقضة من قبل القمر الصناعي
(METEOSAT-7) منطقة (D3)



شكل (٣) عرض صورة منقضة من قبل نفس القمر الصناعي
(METEOSAT-7) منطقة (D3) بعد ٣٠ دقيقة

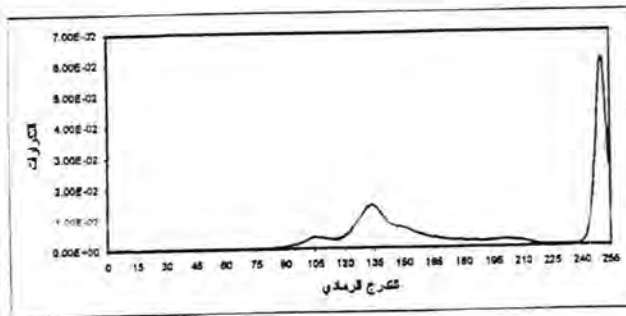
ان المراحل التي تتضمنها المنظومة تشتمل على:

١- استخدام طريقة المسح (Scan) لازالة مناطق الفضاء الخارجي في الصور لغرض ازالة المناطق ذات اللون الابيض خارج قرص الكرة الارضية تم تصميم قناع (Mask) يمكن من خلاله تحديد عملية مسح عناصر الصورة وجعلها تشتمل فقط مناطق الصورة الواقعة ضمن حدود الرقعة الجغرافية لسطح الارض. ان الية احتساب قيم عناصر القناع تتضمن الاجراءات التالية:

١-١ حساب المنحني التكراري للصورة الانوائية وتحديد قيمة العتبة (Threshold). الشكل (٤) يبين المنحني التكراري للصورة الانوائية المبينة في الشكل (٢) حيث يتبين ان هنالك قمة في الجانب العلوي من التدرج الرمادي وهو في الغلب يعود الى عناصر الصورة التي تمثل الفضاء الخارجي المحيط بالكرة الارضية. لقد تم اختيار قيمة العتبة (I) في منطقة السوادي (Valley) التي تفضل القمة العليا عن الجزء السفلي من المنحني التكراري.

٢-١ نجعل قيمة حد القناع $\{X_{mask}(r)=0\}$ بالنسبة للسطر الاول ($r=0$) من الصورة. حيث ان جميع عناصر الصورة في السطر الاول تقع ضمن الفضاء الخارجي. ١-٣ نجري مسح لعناصر السطر التالي (r) من اليمين الى اليسار، على ان يتم التوقف عن عملية المسح عند الوصول الى العنصر $I(r, c)$ بحيث ان:

$$I(r, c) < T, \dots\dots\dots (1)$$



الشكل (٤) يبين المنحني التكراري للصورة الأولى قبل إزالة مناطق الفضاء الخارجي

١-٤ عند تحقق الشرط في (١) نجري مقارنة بين قيم (c) وقيمة $Mask(r-1)$ فإذا تحقق الشرط:

١-٤: عند تحقق الشرط في (١) تجري مقارنة بين قيم (c) وقيمة $Mask(r-1)$ فإذا تحقق الشرط:

$$(2) \quad (c - Mask(r-1)) \geq 1, \dots\dots\dots$$

حينئذ يتم اعتبار قيمة القناع للسطر (r) هي:

$$(3) \quad Mask(r) = c, \dots\dots\dots$$

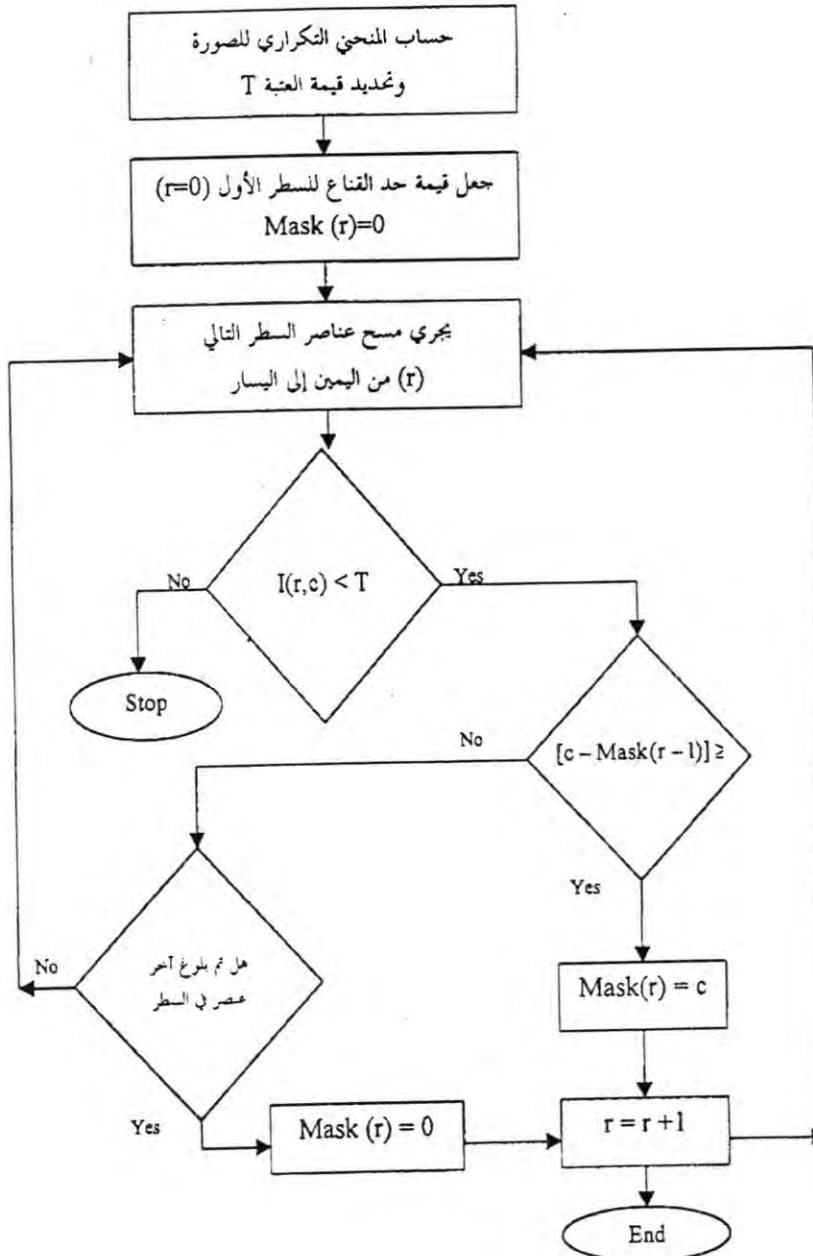
والانتقال الى الخطوة اللاحقة (١-٥).

اما اذا لم يتحقق الشرط (٢) ولم يتم الوصول الى اخر منصر في السطر تستمر عملية المسح و ذلك من خلال العودة الى الخطوة (١-٣). اما اذا تم بلوغ اخر عنصر في السطر ولم يتحقق الشرط (٢). فعندئذ يتم اعتبار قيمة القناع للسطر (r) هي:

$$(4) \quad Mask(r) = \dots\dots\dots$$

وبعدها يتم الانتقال الى الخطوة اللاحقة (١-٥).

١-٥ في حالة كون هنالك سطر اخر مثبت في الصورة تتم العودة الى الخطوة (١-٣) بعد قيمة عدد السطر (r) بمقدار (1). الشكل (٥) يبين المخطط الانسيابي لعملية مسح الصورة بواسطة القناع. والشكل (٦) يبين شكل القناع المتكون من تطبيق الطريقة اعلاه على الصورة الانوائية المبينة في الشكل (٢). وقد تم اختيار قيمة العتبة $(T = 235)$.



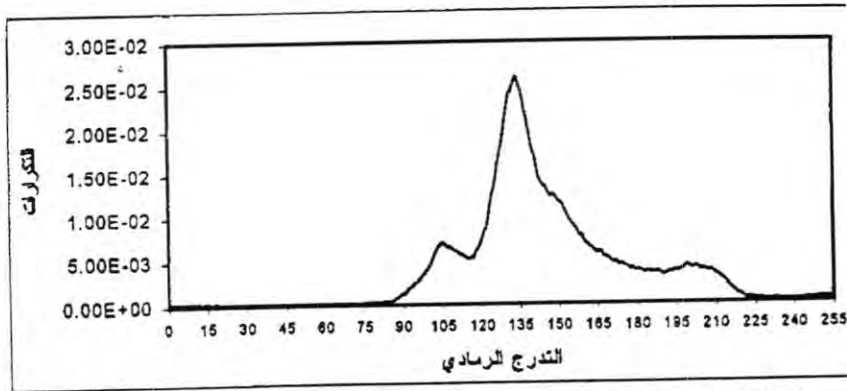
الشكل (٥) يعرض المخطط الإنسيابي لعملية مسح الصورة بواسطة القناع Mask



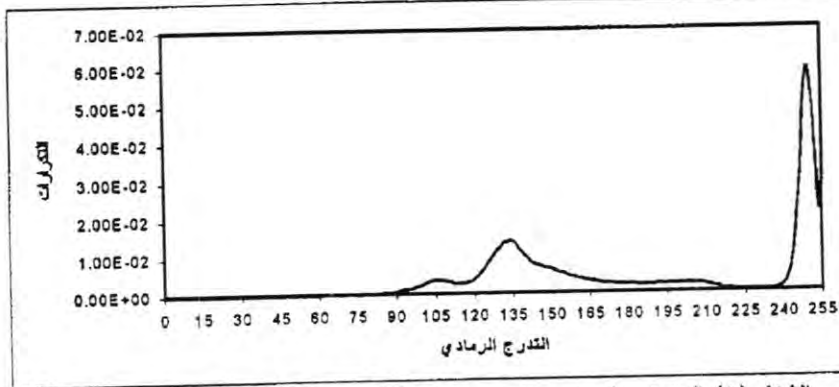
تقدير سرعة حركة الغيوم باستخدام المعالجات الرقمية لصور القمر الاصطناعي (Space)

المنحني التكراري

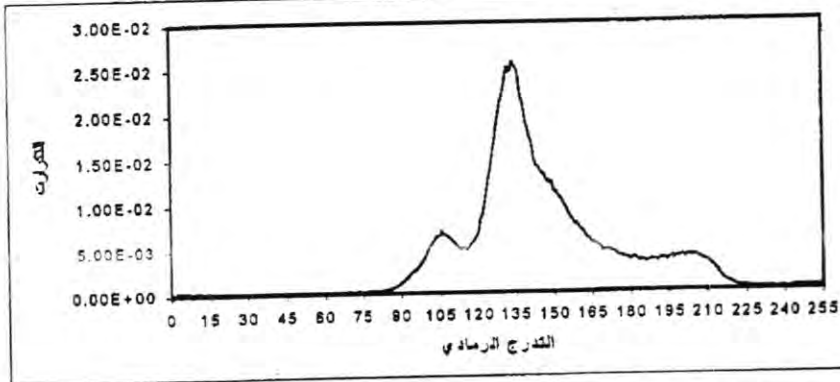
تم استخدام المنحني التكراري لحساب نسبة المستويات الرمادية العالية في الصورة، وذلك بعد ازالة المناطق الظاهرة خلف قرص الكرو الارضية لتفادي تأثير عناصر الصورة التي تمثل هذه المنطقة على حساب قيمة العتبة التي تفصل المستويات الرمادية في الصورة. عن حساب المنحني التكراري دون تفادي وجود هذه المناطق في الصورة سيؤدي الى ان تكون العناصر ذات اللون الابيض تشكل النسبة الاكبر من مساحة الصورة مما سينعكس سلبا في زيادة الخطا في تقدير مساحة الغيوم (مناطق التدرج الرمادي البيضاء) في الصورة^(٣). الشكل (٤) يوضح المنحني التكراري لجميع عناصر الصورة بينما يبين الشكل (٧) المنحني التكراري للصورة بعد ازالة المناطق المذكورة. ويستفاد من هذا المنحني في تقدير حد العتبة الذي سيتم شرحه لاحقا. كذلك يبين الشكل (٨) ، (٩) المنحني التكراري للصورة الانوائية الثانية المبينة في الشكل (٣) قبل وبعد ازالة مناطق الفضاء الخارجي على التوالي.



الشكل (٧) المنحني التكراري للصورة الأولى بعد إزالة مناطق الفضاء الخارجي



الشكل (٨) المنحني التكراري للصورة الثانية قبل إزالة مناطق الفضاء الخارجي



الشكل (٩) المنحني التكراري للصورة الثانية بعد إزالة مناطق الفضاء الخارجي

التعتيب

ان التعتيب هو احد طرق تجزئة الصورة بالاعتماد على المنحني التكراري للمستويات الرمادية للصورة. وقد استخدمت هذه العملية في الصورة لفصل مناطق الغيوم التي تمثل المناطق الباردة والتي تظهر في الحزمة تحت الحمراء في صور القمر الصناعي الانوائي (Meteosat-7) بمناطق بيضاء ضمن التدرج الرمادي. ولغرض جعل عملية اختيار قيمة العتبة التي ستستخدم كحد فاصل بين مناطق الغيوم الباردة والمناطق الاخرى تجري بشكل طوعي دون الحاجة الى اختيار قيمتها من قبل مستخدم البرنامج، تم تنفيذ الخوارزمية التالية:

١-٢ تحديد نسبة (R) لمنطقة الغيوم من قبل مستخدم البرنامج. ولاغراض التوصل الى قيمة مناسبة تم اجراء تحليل مسهب فيه حيث اخذت عدة قيم لـ (R) (ولوحظ ان القيمة = R) (0.05) تعطي نتائج مناسبة في تحديد مناطق الغيوم من حيث الشكل والحجم.

٢-٢ حساب قيم المنحني التكراري لعناصر الصورة بعد ازالة منطقة الفضاء الخارجي وذلك باستخدام طريقة الفناع التي سبق وان تم شرحها.

٣-٢ تعيين اعلى قيمة (T) التي تحقق الشرط:

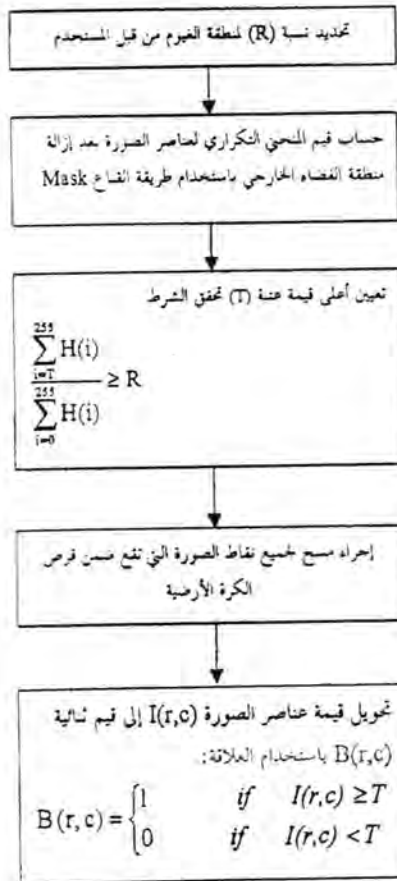
$$\frac{\sum_{i=T}^{255} H(i)}{\sum_{i=0}^{255} H(i)} \geq R, \dots\dots\dots(5)$$

حيث ان قيمة T ستمثل قيمة العتبة التي تفصل نسبة R من مناطق الغيوم الباردة عن باقي مناطق الصورة.

٢-٤ اجراء مسح لجميع نقاط الصورة التي تقع ضمن قرص الكرة الارضية وتطبق عملية تحويل قيمة عناصر الصورة I(r,c) الى قيم ثنائية B(r,c) وذلك باستخدام العلاقة التالية:

$$B(r,c) = \begin{cases} 1 & \text{if } I(r,c) \geq T \\ 0 & \text{if } I(r,c) < T \end{cases}, \dots\dots\dots(6)$$

الشكل (١٠) يعرض المخطط الكتلّي للخوارزمية المستخدمة لاجراء عملية التعتيب وتحويل الصورة الى نظام ثنائي. في حين يعرض الشكل (١١) نتائج تحويل الصورة الاولى الى ثنائي باستخدام النسبة (R=0.05)، ومن خلال الخوارزمية اعلاه وجد ان قيمة العتبة المحسوبة تلقائيا كانت (T=204). وكما ملاحظ من الشكل نجد ان نتيجة عملية التعتيب هي ظهور مناطق الغيوم الباردة وعزلها عن بقية مناطق الصورة، الا ان هذه المساحات من الغيوم يظهر فيها عدد كبير نسبيا من الفجوات (Holes) بالاضافة الى ان حدودها (Boundaries) تعاني من وجود تعرجات كبيرة. هذا بالاضافة الى مساحات صغيرة بيضاء في الصورة، الامر الذي سيؤدي الى ازدياد صعوبة حساب المناطق الباردة وتحديد اشكالها الهندسية.



الشكل (١٠) المخطط الكتلّي لخوارزمية التعتيب وتحويل الصورة إلى نظام ثنائي



نمط (١١) ناتج عملية تنعيم وتحذير لصوره
نميه في نمط (٢) الى صورة ثنائية

٣- اعادة عملية اعيان الصورة (تصغيرها)

لغرض ازالة المناطق (النقاط) الصغيرة البيضاء وازالة القجوات والتعرجات في حواف الصور الناتجة بعد اجراء عملية تحويل الصورة الى نظام ثنائي الالوان. والتي من الصعب ازلتها باستخدام القنيات التي سبق وان تم عرضها. فقد استخدمت تقنية اعادة اعيان الصورة الثنائية بمعدل اقل أي تصغير الصورة ومن ثم اعادة تكبيرها. فبالاضافة الى قدرة هذه العملية على تنعيم (Smooth) مكونات الصورة وازالة الفجوات والنقاط وتعديل الحواف فان هذه التقنية يمكن تنفيذها بسهولة ولا تحتاج الى جيد حسابي كبير (Comutation Load). في هذه الطريقة تم تصغير الصورة بابعاد مختلفة من ابعادها الاصلية البالغة (800×400) عنصر صورة الى (400×400) عنصر صورة و (200×200) عنصر صورة، وصولا الى ابعاد (100×100) عنصر صورة. عن مبدا تقنية التصغير هو دمج كل مجموعة اربعة (2*2) عناصر صورة، متحاورة في عنصر واحد وقد تم اعتماد العلاقة التالية:

$$I'(r,c) = \text{int} \left(\sum \sum \frac{I(2r+i,2c+j)+2}{4} \right), \dots\dots\dots(٧)$$

حيث ان:

$I(r,c)$ تمثل قيمة عنصر الصورة عند الموقع (x,y) .

$I'(r,c)$ تمثل قيمة عنصر الصورة بعد عملية التصغير.

وبعد تكون الصورة المصغرة يتم استخدام المرشح الوسطي (Mean Filter) على الصورة المتكونة لازالة جزء اخر من المناطق البيضاء. الشكل (١٢) يبين نتائج تطبيق تقنية اعادة اعتيان الصورة على الصورة الثنائية المبينة في الشكل (١٣)، ويتبين من الصورة اختفاء نسبة كبيرة من الفوجات والمناطق الصغيرة البيضاء. والشكل (١٤) يبين نتائج تطبيق عملية اعادة اعتيان الصورة المبينة في الشكل (٣).



الشكل (١٢) نتائج تطبيق عملية
إعادة اعتيان الصورة المبينة
في الشكل (١١)



الشكل (١٣) نتائج تطبيق عملية
إعادة اعتيان الصورة الثنائية
المبينة في الشكل (٣)

٤ - تحديد مواقع الغيوم وخصائصها

بعد تحويل الصورة الى نظام ثنائي (Binarization) وتصغيرها الى حجم مناسب بمقدار (100×100) عنصر صورة. سلاحظ ان الصورة ستحتوي على قطع (Segments) من تشكيلات المناطق الباردة من الغيوم، ولغرض توفير امكانية كشف طوعي لمناطق الغيوم لتحديد عددها، مساحتها، امتداداتها، و مراكزها فقد تم تصميم وتنفيذ خوارزمية لمسح عاصر الصورة لاستخراج المعلومات المذكورة.

ان الخوارزمية المستخدمة تتضمن الاجراءات التالية:

١. اختبار صفوف الصورة (Image Row) ابتدا من احداثيات النقطة العليا اليسرى، وبمسط مسح عنصر - فعنصر وصولا الى اول عنصر (Q) ذو لون ابيض والذي يمثل بداية احدى الغيوم العليا الظاهرة في الصورة.
٢. تحديد احداثيات اول عنصر (Q) ذو لون ابيض لتبدا عملية تتبع العناصر المجاورة باستخدام نافذة (Window) ذات ابعاد (3×3) وقبل البدء بعملية التتبع يعطي رقم (i=1) بكون النقطة تنتمي الى اول غيمة في الصورة، وان عملية التتبع تتضمن الخطوات التالية:
 - أ. الغاء النقطة (Q) من الصورة (أي تحول قيمتها الى صفر بدلا من الواحد).
 - ب. تخصيص حاوية في الذاكرة (Memory Buffer) لغرض جمع مواقع عناصر الصورة التي سيتم تسجيلها كمناطق تنتمي الى الغيمة.
 - ج. ملء الحاوية بموقع النقطة المكتشفة (Q) كعنصر اول {M(1)} لغرض جمع مواقع عناصر الصورة التي سيتم تسجيلها كمناطق تنتمي للغيمة.
 - د. تعيين قيمة المؤشر (P=1) ليؤشر على اول عنصر في الحاوية.
 - هـ. تعيين قيمة العداد (c=1) لبيان عدد العناصر المسجلة في الحاوية.
- و. البدء بعملية تدقيق العناصر الثمانية المحيطة بالعنصر ذو التسلسل (P) في الحاوية لكشف فيما اذا كانت جزء من منطقة الغيمة ام لا، ففي حالة كون أي من العناصر المجاورة (N) ينتمي الى الغيمة (أي غيمة ١):
 - اولا: زيادة قيمة العداد (c) بمقدار واحد.
 - ثانيا: يضاف موقعه الى الحاوية {M(c)}.
 - ثالثا: الغاء النقطة المجاورة (N) من الصورة.

ز. بعد انجاز عملية تدقيق العناصر الثمانية المجاورة للعنصر (P) تتم زيادة قيمة المؤشر (P) بمقدار واحد،

ففي حالة كون قيمة (P) اصغر او تساوي (c) تتم العودة الى الخطوة (و). اما في حالة كون (P) اكبر

من (c) فيتم الانتقال الى الخطوة (١).

٣. ان محتويات حاوية الذاكرة المؤلفة من عناصر عددها (c) ستتضمن مواقع النقاط التي تنتمي الى احدى الغيوم الظاهرة في الصورة. ويمكن حساب مساحة (A) الغيمة بوحدات عنصر صورة (Pixels) وامتداداتها L_x و L_y ومواقع مراكزها (x_c, y_c) باستخدام العلاقات التالية:

$$\text{Area}(i) = c$$

$$L_x(i) = \text{Max}(M(i) - x \parallel 1 \leq i \leq c) - \text{Min}(M(i) - x \parallel 1 \leq i \leq c)$$

$$L_y(i) = \text{Max}(M(i) - y \parallel 1 \leq i \leq c) - \text{Min}(M(i) - y \parallel 1 \leq i \leq c)$$

$$x_c(i) = \frac{1}{c} \sum_{i=1}^c M(i) - x$$

$$y_c(i) = \frac{1}{c} \sum_{i=1}^c M(i) - y$$

٤. بعد الانتهاء من حساب خصائص الغيمة تتم العودة الى عملية مسح الصورة (المشار إليها في الخطوة ١) ولكن الشروع في اكمال عملية المسح سيكون ابتداء من النقطة (Q)، وتستمر عملية المسح لحين العثور على نقطة جديدة (Q) تمثل نقطة لغيمة جديدة او الانتهاء من عملية مسح جميع نقاط الصورة دون العثور على غيمة جديدة، وفي حالة العثور على نقطة جديدة (Q) عندئذ:

اولاً: زيادة قيمة العداد (i) بمقدار واحد.

ثانياً: العودة الى الخطوة (٢) في اعلاه.

اما في حالة الانتهاء من عملية المسح دون العثور على اثار غيمة جديدة فعندئذ سيفتهي عمل الخوارزمية وذلك لانتهاء عملية المسح. الجدول (١) يبين قيم المساحات

والامتدادات ومراكز الغيوم التي تم كشفها في الصورة المبينة في الشكل (١٢)، والجدول (٢) يبين قيم نفس المعاملات للغيوم التي تم كشفها في الصورة المبينة في الشكل (١٣).

جدول (١) يبين قيم المساحات والامتدادات ومراكز الغيوم التي تم كشفها

في الصورة (١٢) بوحدات عنصر صورة

| | A | X_c | Y_c | L_x | L_y |
|---|-----|--------|--------|-------|-------|
| 1 | 261 | -317.3 | -20.2 | 176 | 160 |
| 2 | 75 | -103.1 | -109.4 | 120 | 64 |
| 3 | 30 | -201.1 | -228.3 | 112 | 64 |
| 4 | 25 | -362.6 | -245.8 | 64 | 48 |

جدول (٢) يبين قيم نفس المعاملات للغيوم التي تم كشفها في الصورة (١٣)

| | A | X_c | Y_c | L_x | L_y |
|---|-----|--------|--------|-------|-------|
| 1 | 265 | -313.4 | -22.5 | 184 | 152 |
| 2 | 77 | -104.2 | -106.9 | 120 | 64 |
| 3 | 21 | -200.4 | -229 | 88 | 56 |
| 4 | 21 | -366.5 | -249.5 | 56 | 40 |

٥- تحويل الاحداثيات

ان القيم المحسوبة لمواقع الغيوم، مساحتها وامتداداتها باستخدام طريقة كشف الغيوم تكون بوحدات عنصر صورة (Pixels)، وهذه الوحدات غير مناسبة لمعرفة مواقع الغيوم فعلياً ومساحتها وامتداداتها الجغرافية سيما اذا اخذنا بنظر الاعتبار ان المساحة الجغرافية التي يغطيها كل عنصر صورة ليست قيمة ثابتة وانما تتغير بتغير الموقع على قرص الأرض، فعلى سبيل المثال تكون المساحة الجغرافية لكل عنصر صورة كبيرة في المناطق القريبة من حافات قرص الأرض بالمقارنة مع المساحات التي يشغلها عنصر الصورة في المناطق القريبة من مركز الصورة او المناطق القريبة من موقع مسقط القمر على قرص الأرض.

ولغرض اجراء عملية تحويل الاحداثيات من وحدات عناصر صورة الى قيم خطوط طول وعرض (يعبر عنها بوحدات الدرجة Degree)، تم وضع الصيغات الظرية اللازمة الابداع معادلات التسقيط (Projection)، لاحداثيات سطح الكرة الارضية على سطح التسقيط

(Projection Plane) لمنظومة الكاميرا لمحمولة على القمر الصناعي. ولتجديد معاملات التحويل بشكل كامل فقد تطلب الامر تعريف قيم المعاملات التالية:

١. موقع القمر الصناعي

أ. خط الطول (θ_0) .

ب. خط العرض (θ_0) .

ج. البعد عن مركز الارض (D).

٢. موقع نقطة مركز النقطة:

أ. خط الطول (θ_1) .

ب. خط العرض (θ_1) .

ج. معامل التكبير (S = Scaling Factor).

ان معاملات التحويل المستنبطة بعد سلسلة المعالجات النظرية اخذت الشكلين التاليين:

$$X_p = \frac{S \{ e_1 \cos(\theta) \cos(\theta) - e_2 \sin(\theta) \cos(\theta) + e_3 \}}{d1 \cos(\theta) \cos(\theta) + d2 \sin(\theta) \cos(\theta) + d3 \sin(\theta) + d4} \quad (٨) \dots \dots \dots$$

$$Y_p = \frac{S \{ f_1 \cos(\theta) \cos(\theta) + f_2 \sin(\theta) \cos(\theta) + f_3 \sin(\theta) \}}{d1 \cos(\theta) \cos(\theta) + d2 \sin(\theta) \cos(\theta) + d3 \sin(\theta) + d4}$$

حيث ان X_p ، Y_p هما الاحداثيان لسيني والصادي لموقع نقطة في الصورة.

θ ، θ ؛ قيمتا خط الطول وخط العرض لموقع النقطة على سطح الكرة الارضية. وان:

$$d1 = R \cos(\alpha) \cos(\beta)$$

$$d2 = R \sin(\alpha) \cos(\beta)$$

$$d3 = R \sin(\beta)$$

$$d4 = -D \{ \cos \theta_0 \cos \theta_0 \cos(\beta) - \sin \theta_0 \cos \theta_0 \sin(\alpha) \cos(\beta) + \sin \theta_0 \sin(\beta) \}$$

$$e_1 = -R \sin(\alpha)$$

$$e_2 = -R \cos(\alpha)$$

$$e_3 = -D \{ -\cos \theta_0 \cos \theta_0 \sin(\alpha) + \sin \theta_0 \cos \theta_0 \cos(\alpha) \}$$

$$f_1 = R \cos(\alpha) \sin(\beta)$$

$$f_2 = -R \sin(\alpha) \sin(\beta)$$

أعلى ولد بابا المحجوب وجماعته

$$f_1 = -R \cos(\beta)$$

$$f_4 = -D \{ \cos \vartheta_0 \cos \theta_0 \cos(\alpha) \cos(\beta) - \sin \vartheta_0 \cos \theta_0 \sin(\alpha) \sin(\beta) + \sin \vartheta_0 \cos(\beta) \}$$

$$R = 6372 \text{ Km (Radius of the Earth)}$$

$$\Delta X = R \cos \vartheta_1 \cos \theta_1 - D \cos \vartheta_0 \cos \theta_0$$

$$\Delta Y = R \sin \vartheta_1 \cos \theta_1 - D \sin \vartheta_0 \cos \theta_0$$

$$\Delta Z = R \sin \theta_1 - D \sin \theta_0$$

$$\alpha = \tan^{-1} \left(\frac{\Delta Y}{\Delta X} \right), \beta = \tan^{-1} \left(\frac{\Delta Z}{\sqrt{(\Delta X)^2 + (\Delta Y)^2}} \right)$$

ولتحديد قيم المعاملات $(\vartheta_0, \theta_0, D, \vartheta, \theta, S)$ للقمر الصناعي (METEOSAT-7) وللمنطقة (3) استخدمت المعادلات (4-9) بطريقة عكسية وذلك من خلال الاستعاضة بمواقع النقاط المرجعية الظاهرة في الصورة والتي تمثل النقاط بين خطوط الطول $(20^\circ, 30^\circ, 40^\circ, 50^\circ, 60^\circ)$ مع خطوط العرض $(30^\circ, 40^\circ, 50^\circ, 60^\circ, 70^\circ)$.

فقد:

1. تم تحديد موقع (23) نقطة مرجعية سواء بدلالة إحداثيات الصورة (x, y) او بدلالة خطي الطول

والعرض (θ, ϑ) .

2. استخدام طريقة ادنى مربع خطأ (Least Square Error) لإيجاد قيم المعاملات $(\vartheta_0, \theta_0, D, \vartheta, \theta, S)$

وذلك باستخدام المعادلة التالية:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^{24} \{ (X - X_p)^2 + (Y - Y_p)^2 \}$$

حيث ان قيم (X_p) و (Y_p) يتم حسابها من خلال المعادلتين (4-9).

وقد وجد ان اللقطة (D3) من صور القمر الصناعي (METOSAT-7) تكون قيم المعاملات:

$$\theta_0 = 0 \text{ degree}$$

$$\theta_0 = 0.1207 \text{ degree}$$

$$D = 41960 \text{ Km}$$

$$\theta_1 = 38.712 \text{ degree}$$

$$\theta_1 = 52.54 \text{ degree}$$

$$S = 7910$$

لغرض التمكن من اجراء التحويلات بشكل معكوس أي من احداثيات (x,y) لنقطة على صورة الى احداثيات موقع على سطح الكرة الارضية، فقد اجريت معالجات رياضية مطولة للمعادلتين (٨) وكانت النتيجة المعادلات التالية:

$$\theta = \frac{1}{2} \left\{ \cos^{-1} \left(\frac{2r - r_3 - r_1}{\sqrt{r_2^2 (r_1 - r_3)^2}} \right) + \tan^{-1} \left(\frac{r_2}{r_1 - r_3} \right) \right\} \quad (9) \text{ و } \dots \dots \dots$$

$$\theta = \tan^{-1} \left\{ \frac{P_1 \cos \theta + P_2 \sin \theta}{P_3} \right\}$$

حيث ان

$$\begin{aligned} r_1 &= q_3^2 P_1^2 - P_3^2 q_1^2 & , & & r_2 &= 2(q_3^2 P_1 P_2 - P_3^2 q_1 q_2) \\ r_3 &= q_3^2 P_2^2 - P_3^2 q_2^2 & , & & r_4 &= -P_3^2 q_3^2 \\ P_1 &= g_1 h_4 - h_1 g_4 & , & & P_2 &= g_2 h_4 - h_2 g_4 & , & & P_3 &= h_3 g_4 - g_3 h_4 \\ q_1 &= g_1 h_3 - h_1 g_3 & , & & q_2 &= g_2 h_3 - h_2 g_3 & , & & q_3 &= h_4 g_3 - g_4 h_3 \\ g_1 &= x d_1 - S e_1 & , & & g_2 &= x d_2 - S e_2 \end{aligned}$$

أعلى ولد بابا المحبوب وجماعته

$$g_3 = x d_3$$

$$g_4 = x d_4 - S e_3$$

$$h_1 = y d_1 - S f_1$$

$$h_2 = y d_2 - S f_2$$

$$h_3 = y d_3 - S f_3$$

$$h_4 = y d_4 - S f_4$$

الجدول (٣) يبين مواقع مراكز الغيوم المشار إليها في الجدول (١) واستداداتها بدلالة خطوط الطول والعرض، بينما يبين الجدول (٤) يبين المعلومات الجغرافية للغيوم المشار إليها في الجدول (٢). من الواضح بان الغيوم التي تقع عند حافة القرص بالرغم من كون مساحتها قد تكون صغيرة بدلالة عناصر الصورة الا انها قد تغطي مساحات جغرافية واسعة، وسبب كونها صغيرة في الصورة يعود الى ان مسقطها يكون مائلاً جداً بالنسبة لمنظومة التصوير في القمر، هذا بالتأكيد يؤدي الى ظهور اخطاء كبيرة في تقدير المساحات اخذين بنظر الاعتبار احتمالات ان اجزاء من الغيمة الظاهرة عند حافة القرص قد تكون ممتدة لتقع ضمن الجزء الغير منظور من القرص وهذا بالتأكيد سيؤدي الى جعل عملية تقدير مواقع مركز الغيمة غير دقيقة مما سيؤثر سلباً على تقدير سرعة واتجاه حركة الغيوم الظاهرة عند حافة القرص. وعليه يفضل عدم استخدام الطريقة المقترحة في هذا البحث لتقدير الغيوم الظاهرة عند حافات قرص الارض.

الجدول (٣) يبين مواقع مراكز الغيوم المشار إليها في الجدول (١)

وامتداداتها بدلالة خطوط الطول والعرض

| | خط الطول درجة | خط العرض درجة | امتداد الغيمة الافقي / درجة | امتداد الغيمة العمودي / درجة |
|---|------------------|------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| 1 | 26.162 | 35.625 | 12.689 | 9.389 |
| 2 | 37.746 | 31.431 | 9.342 | 3.384 |
| 3 | 29.049 | 25.01 | 7.32 | 3.396 |
| 4 | 20.291 | 23.847 | 3.609 | 2.363 |

الجدول (٤) يبين مواقع مراكز الغيوم المشار إليها في الجدول (٢)

وامتداداتها بدلالة خطوط الطول والعرض

| | خط الطول درجة | خط العرض درجة | امتداد الغيمة الأفقي درجة | امتداد الغيمة العمودي درجة |
|---|------------------|------------------|------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 26.356 | 35.504 | 13.252 | 8.993 |
| 2 | 37.742 | 31.565 | 9.342 | 3.606 |
| 3 | 29.059 | 24.975 | 5.829 | 2.939 |
| 4 | 20.06 | 23.663 | 3.118 | 1.966 |

٦- اجراء مقارنة بين الصور لتقدير سرعة الغيوم فيها

من خلال المعلومات الواردة في الجدولين (٣) و (٤) يمكن اجراء مقارنة بين الغيوم من حيث المساحة واحداثيات المركز والامتدادين الأفقي والعمودي. ولحساب سرعة حركة الغيوم تجري مقارنة معلومات كل غيمة في الصور الاولى مع قائمة المعلومات المتعلقة بالغيوم المسجلة في الصورة الثانية، ويتم اختيار معلومات الغيمة التي تعطي اقرب مسافة من مركز الغيمة التي تجري دراستها في الصورة الاولى، بالاضافة الى المسافة فان سعة المسافة بين الغيمتين ينبغي ان تتجاوز حدود مدى معين، وفي هذه الدراسة افترض بان سعة المسافة تتراوح ضمن [2 - 0.5].

ان المسافة (D) الفاصلة بين مركزي أي غيمتين تحسب باستخدام العلاقة:

$$D = (R + h) \alpha \quad (10)$$

حيث ان: R = نصف قطر الارض ، h = ارتفاع الغيمة، α = الزاوية المحصورة بين الخطين الواصين بين موقع الغيميتين و مركز الكرة الارضية، و يمكن حسابها من خلال العلاقة التالية:

$$\alpha = \cos^{-1} \{ \cos\theta_1 \cos\theta_2 \cos(\theta_2 - \theta_1) + \sin\theta_1 \sin\theta_2 \} \quad (11)$$

θ_1 و θ_2 = هما خطي الطول والعرض لمركز الغيمة الاولى.

θ_2 و θ_1 = هما خطي الطول والعرض لمركز الغيمة الثانية.

تقدير سرعة حركة الغيوم باستخدام المعالجات الرقمية لصور القمر الاصطناعي METEOSAT - 7
أعلى ولد بابا المحجوب وجماعته

من خلال المعادلة (١٠) يتبين بان هناك حاجة لمعرفة ارتفاع الغيمة (h) للتمكن من حساب قيمة (D). ولما كانت قيمة ارتفاع العيمة (h) هي اصفر بكثير من قيمة نصف قطر الارض (R)، فعليه يمكن الغاء قيمة (h) من المعادلة (١٠) دون ان يؤدي ذلك الى احداث خطأ كبير في حساب قيمة (D)، اخذين بنظر الاعتبار ان هناك العديد من التقريبات قد تخللت عمليات تقدير مراكز الغيوم وهذه بالتأكيد لها تأثير اكبر على مقدار الخطا المتولد في تقدير المسافة (D) لحركة الغيوم. بعد حساب القيمة التقديرية لمسافة حركة الغيمة، يمكن استخدام العلاقة الآتية في تقدير سرعة الحركة:

$$V = \frac{D}{T} \quad , \dots\dots\dots (١٢)$$

حيث ان T تمثل الفترة الزمنية الفاصلة بين توقيتَي التقاط الصورتين الانوانيتين المتلاحقتين.

الجدول (٥) يبين القيمة التقديرية لمسافة وسرعة حركة الغيوم المدرجة في الجدولين

(٣) و (٤).

الجدول (٥) يبين انقيمة التقديرية لمسافة وسرعة حركة الغيوم

في الجدولين (٣) و (٤)

| | الخط الطول درجة | خط العرض درجة | المسافة كم | السرعة كم/ساعة |
|---|--------------------|------------------|---------------|-------------------|
| 1 | ٢٦،١٦٢ | ٣٥،٦٢٥ | ٢٢،١١ | 44.22 |
| 2 | ٣٧،٧٤٦ | ٣١،٤٣١ | ١٤،٢٦ | 29.84 |
| 3 | ٢٩،٠٤٩ | ٢٥،٠١ | ٣،٨١ | 7.62 |
| 4 | ٢٠،٢٩١ | ٢٣،٨٤٧ | ٣١،١١ | 62.22 |

الاستنتاجات

١. لقد وفرت الشبكة الدولية للمعلومات انترنت (Internet) امكانية كبيرة في الحصول على المعلومات بشكل سريع وقليل التكاليف اذ يمكن الحصول من خلالها على صورة لمختلف الاقمار الصناعية الانوائية وبشكل اني تقريبا. تتسم الصور المستلمة عبر شبكة انترنت بالوضوح تصلح كبديل افضل من الصور المستلمة عن طريق البرقيات الجوية (HF-Fax) التي تظهر فيها الكثر من المشاكل بسبب عمليتي الارسال و الاستلام. ان المنظومة المقترحة في هذا البحث لدراسة حركة الغيوم في الصور تحت الحمراء (IR) ليست بديلا عن عمليات رصد الغيوم والتنبؤ بحركتها، ولكنها محاولة لاستخدام الحاسوب لاجراء عمليات التحليل والمتابعة بشكل طوعي وحساب قيم تقديرية لسرعة حركة الغيوم، لتكون رافدا مساعدا للمنبئين الجويين في تحديد اتجاه حركة منظومات الطقس في صور الاقمار الصناعية الانوائية، هذا فضلا عن توفير الوقت والجهد.

REFERENCE

1. Conover J.H. 1965 "Cloud and Terrestrial Albedo Determination From Tiros Satellite Pictures", Journal of Applied Meteorology Volume 4. No.3 (1965).
2. "Environmental Satellite Data and Information Service", Technical Report, National Oceanic and Atmospheric Administration, U.S. Department of Commerce. (1998).
3. J.M. Soha and A.A. Schwartz, 1978. "Multispectral Histogram Normalization Contrast Enhancement". Proceeding of the 5th Canadian Symposium on Remote Sensing, August, (1978).

التغيرات الدموية لثمار نبات الفلفل الاحمر الحار

Capsicum frutescens

في خنازير غينيا

هالة عبد الحافظ عبد الرزاق - الجامعة المستنصرية - كلية العلوم - قسم علوم الحياة

ماجد محمد محمود - الجامعة المستنصرية - كلية العلوم - قسم علوم الحياة

هشام عطا شحاذه - الجامعة المستنصرية - كلية العلوم - قسم علوم الحياة

ABSTRACT

Alcoholic extract of the hot pepper *Capsicum frutescens* was tested by intratracheal challenge in order to investigate it's inflammatory effect on some immune cells of guinea pigs. The findings of the present study were a significant increase in numbers of WBC and Eosinophils, the experimental animals revealed breathing difficulties, wheezing coughing and frequent urine.

الخلاصة

تم استخدام الخلاصة الكحولية لثمار نبات الفلفل الاحمر لدراسة تأثيرها على بعض انواع الخلايا المناعية لخنازير غينيا، وذلك من خلال احداث التأثير الالتهابي في المسالك الهوائية عن طريق التحدي القصبي، وقد اظهرت النتائج حدوث زيادة معنوية في اعداد خلايا الدم البيض ومنها الحمضة رافق ذلك ظهور مجموعة من الاعراض المرضية تضمنت:

صعوبة وعدم الانتظام في التنفس، ازير، سعال، ازدياد ضربات القلب وانزواء الحيوان وتبول متكرر.

المقدمة

يعود نبات الفلفل الاحمر الحار Hot Red Pepper نوع *Capsicum frutescens* الى العائلة الباذنجانية Solanaceae والذي تجلت اهميته الاقتصادية في استعمال الخلاصة الكحولية Alcoholic Extract او ما يدعى بالراتنج الزيتي Oleoresin⁽¹⁾ فان احتواء الثمار على مركبات الكابيساينويدات Capsaicinoids (النسبة المئوية بحوالي 1-1.5% اعطيا الطعم الحاد او اللاذع Pungent Taste وتوصف هذه المركبات بكونها مهيجات عصبية Neuroexciters⁽²⁾ فعند التعامل مع ثمار النبات تسبب تبيجا شديدا في الجلد والاعشبية المخاطية التنفسية مسببة السعال Cough والعطاس Sneezing والرشح الانفي Nasal Secretion وضيق في التنفس Dyspnea توصف هذه الظاهرة بالالتهاب ذو المنشأ العصبي Neurogenic Inflammation⁽³⁾ لان سبب حدوث هذا النوع من الالتهاب هو افراز البيبتيدات العصبية Neuropeptides من الاعصاب الحسية Sensory Nerves منبهة الى زيادة في نفاذية الاوعية الدموية Vascular Permeability⁽⁴⁾ ومن تلك البيبتيدات ما يعرف بقينينات التسريع Tachy Kinis ومن اعضائها مادة Substance P (sp) P و القينين العصبي Neurokinin A (NKA) A والقينين العصبي Neurokinin B (NKB) B و البيبتيد المتصل بجين الكلسيتونين Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP)⁽⁵⁾ تقوم تلك القينينات بدور ناقل عصبي حسي Sensory Neurotransmitters ومن خلال مستقبلاتها المعروفة بمستقبلات القينين العصبي Neurokinin receptors المنتشرة على اغشية الخلايا البدنية المنتشرة على طول المسالك البوائية Airways محدثة افراز لوسائط الالتهاب Inflammatory Mediators ومن ضمنها عوامل الجذب الكيمياوي Chemotactic Factors فتزداد بذلك اعداد الخلايا العدلة والحمضة Neutrophil and eosinophil في الدم المحيطي⁽⁶⁾ حيث اشار (De, 1994) في دراسته التي تمت على الجهاز التنفسي لفلاحين يزاولون مهنة زراعة نبات الفلفل الاحمر الحار في سيرلانكا، حيث لاحظ عند استنشاق ابخرة الفلفل Chili Vapor المتضاعدة اثناء الحصاد او عند استنشاق غبار الفلفل Chili Dust المتضاعد اثناء طحن الثمار المجفف ازدياد اعداد الخلايا البيض والحمضة في عينات الدم بعد مرور (30) دقيقة من التعرض، رافق ذلك ظهور اعراض تمثلت بالعطاس والسعال ورشح انفي، اكد فين (Veen, 1998) في دراسته التي اجراها على متطوعين اصحاء بعد تعرضهم لاختبار التحدي الانفي

لمجموعة من المبيجات لاسيما مادة الكابيساين، حصول ارتفاع في اعداد خلايا العدة والحمضة بعد مرور (١٥) دقيقة من التعرض.

ولعدم توفر دراسات حول هذا الموضوع أرتأنا اجراء الدراسة الحالية هادفين الى تأثير الكابيساينويدت على الخلايا المناعية في خنازير غينيا.

المواد وطرق العمل

يراعى ارتداء قناع الوقاية والقفازات مع استخدام الملاقط اثناء العمل بثمار نبات الفلفل الاحمر الحار تجنباً لحدوث حالة يبيح في الجهاز التنفسي والجلد.

تسحق الثمار المجففة سحقاً جيداً باستخدام المطحنة الكهربائية ويوزن (١٠) غرامات من المسحوق ويجري الاستخلاص بجهاز Soxhlet باضافة (٢٠٠) مل من الكحول الايثيلي بتركيز (٩٥%) وبعد ذلك يتم تركيز الخلاصة بجهاز الدور بدرجة (٤٠)°م لمدة (٢٠) دقيقة ثم يحفض النموذج بدرجة (٤)°م لحين الاستعمال (٩) يحدد تركيز الخلاصة بتعبير وزن/وزن حيث يكون (١) ملي غرام لكل كيلو غرام ثم يتم تعميمها بامرارها خلال (Fliter 0.45 Millipore) بعد اذابتها بمحلول السواغ او الاذابة Vehicle Solution المتكون من (٨٠) مل من محلول ملح الطعام القياسي المعقم Normal Saline و(١٠) مل لكل من محلول (Tween 80) المركز والكحول الايثيلي بتركيز (٩٥%) (١٠).

اجرى اختبار التحدي القصبي Intratracheal Challenge على (١٢) من خنازير غينيا وكانت من الذكور فقط وبوزن (٣٥٠ - ٤٠٠) غم والتي قسمت بدورها الى مجموعتين ضمت كل منها (٦) حيوانات، تعامل احدهما بمحلول السواغ فقط وتعد سيطرة بينما تعامل الاخرى بالخلاصة الكحولية، تضمن اجراء هذا الاختبار بتخدير الحيوان موضعياً في منطقة الرقبة بمادة الزايلوكين بتركيز (٢٠) ملي غرام لكل مل بجرعة (٥٠) مايكروليتر تحت الجلد.

يراقب الحيوان الى ان تبطن حركته عندئذ وتحت ظروف معقمة وباستخدام ادوات شريح معقمة يتم عمل فتحه صغيرة في الرقبة بشق الجلد، بعدها نزاح العضلات الى ان يتوضح الرغامي ثم تحقن الخلاصة الكحولية بجرعة (٠،١) مل بواسطة حقنة طبية بحجم (٠،١) مل نوع (BCG) ذات ابرة بفتحة (8/3 27 G 1/2) (11) ثم يخاط الجلد. نراقب الحيوانات

وتسجل كافة الاعراض المرضية بعدها يسحب الدم من قلب الحيوان بواسطة حقنة طبية حجم (٣) مل، بعد مسح المنطقة بالكحول بتركيز (٧٠%) وجمع في انابيب معقمة حاوية على مادة (EDTA) المانعة للتخثر^(١٢) وبحسب العدد الكلي لخلايا الدم البيض Total Count of White Blood Cells والعدد الكلي لخلايا الحمضة Total Count of Eosinophile^(١٣) تم تحليل نتائج الدراسة احصائيا باستخدام اختبار T-test لتحديد الفروق بين معدلات مجاميع البحث باستخدام اقل فرق معنوي Least Significant Differential مقارنة بالسيطرة وثبتت النتائج بالاعتماد على المتوسط الحسابي \pm الانحراف المعياري^(١٤).

النتائج والمناقشة

ابدت الحيوانات المعاملة بالخلاصة الكحولية من اعراض مرضية انعكست من خلال: صعوبة وعدم الانتظام بالتنفس وازيز وسعال وازدياد ضربات القلب وانزواء الحيوان مع تبول متكرر.

اظهرت النتائج الموضحة في الجدول زيادة معنوية ($P < 0.01$) في معدل اعداد خلايا الدم البيض ومنها الخلايا الحمضية بعد المعاملة بالخلاصة الكحولية لثمار الفلفل الاحمر الحار بلغ معدل اعداد خلايا الدم البيض الكلي (13666.67 \pm 24.67) خلية لكل سم^٣، بلغ معدل الخلايا الحمضة لوحدها (2483 \pm 51.26) خلية لكل سم^٣، مقارنة بمجموعة السيطرة المعاملة بمحلول السواغ فقد كان معدل اعداد خلايا الدم البيض الكلي (5444 \pm 26.9) ومعدل اعداد خلايا الحمضة (550 \pm 0.94) خلية لكل سم^٣. يتضح من نتائج الدراسة بان الخلاصة الكحولية تثير تهيجي Irritative Effect على الاغشية المخاطية المبطنة للمسالك الهوائية لاحتوائها على مركبات الكابيساسينويدات وهي مواد الفة للشحوم Lipophilic تتركز بعد زرقها داخل الرغامى في الاماكن الغنية بالمواد الدهنية وبالاخص النهايات العصبية الحسية Sensory Nerves Terminals الحاوية على مستقبلات المهيج Irritant receptors ومن خلال التأثير على تلك المستقبلات يحدث منعكسا في العصب المبهم Vagal Reflex يؤدي الى طرح الببتيدات العصبية التي تعمل من خلال مستقبلاتها الواقعة على اغشية الخلايا البدينة المنتشرة في الطبقة المخاطية للمسالك الهوائية منبهة الى افراز الوسائط الالتهابية بفعل اليه تجيب تلك الخلايا Degranulation مؤدية الى زيادة في نفاذية الاوعية الدموية مسببة في تجمع السوائل في الفراغ

الهوائي Airway Lumen وبالتالي الاختناق بالإضافة الى حثها على تقلص العضلات الملساء الموجودة على طول المسلك الهوائي مثيرة السعال والعطاس^(١٥).

ان من الوسائط الكيميائية التي تفرزها الخلايا البدنية من جراء التحفيز لمستلمات القينين العصبي عوامل نمو وتحفيز نسل الخلايا Growth and Stimulation Factors كعامل تحفيز نسل الخلايا الحبيبية والوحيدة الفواة (GM-CSF) Granulocytes and Monocyte Clone Stimulating Factor وعامل

تحفيز النسل للخلايا الحبيبية (G-CSF) Granulocytes Clone Stimulating Factor منبهة الى ازدياد اعداد خلايا الدم البيض في الدم المحيطي^(١٦).

لقد اكد دي (De, 1992) حصول زيادة معنوية في معدل اعداد خلايا الحمضة في خنازير غينيا بعد المعاملة بالخلاصة الكحولية للفلل كتحذ انفي مقارنة بمعدل اعدادها في الحيوانات بعد المعاملة بمادة الكابسياسين، وقد عطل ذلك الى وجود حمض الاسكوربيك Ascorbic Acid والكاروتينات Carotenoids مع مركبات الكلبيامينويدات في ثمرة الفلفل فتزداد قابلية تلك المركبات في احداث الالتهاب ذو المنشأ العصبي.

كما اشار كل من بيكرمان وفيركاني (Peakman & Vergani, 1997) الى دور الوسيط عامل تنشيط الصفائح الدموية (PAF) Platelet Activating Factor من تنشيط الخلايا الحبيبية والصفائح الدموية اثناء التعرض الى المهيجات وقد اوعز درم وجماعته (Durham et al., 1988) حصول الاستجابة الالتهابية في الطور المتأخر Late Phase لمرضى الربو الى ازدياد اعداد الخلايا العذلة والحمضة ووحيد النواة Monocyte في الدم المحيطي بفعل عوامل الجذب الكيميائي المفروزة من الخلايا البدنية.

وقد لاحض سانيكو وجماعته (Sanico et al., 1998) حدوث زيادة معنوية في اعداد خلايا الدم البيض لدى عينات مرضى التهاب الأنف الغير ارجي Non-allergic Rhinitis مقارنة بتلك الزيادة الحاصلة في اعداد الخلايا البيض عند الأشخاص الاصحاء من جراء استنشاق مادة الكابسياسين كما عانى المرضى من سعال وتضيق قصبي شديد.

التغيرات الدموية لثمار نبات الفلفل الاحمر الحار *Capsicum frutescens* في خنازير غينيا
هالة عبد الحافظ عبد الرزاق وجماعتها

جدول: يوضح معدل اعداد الخلايا البيض الكلي ومعدل اعداد خلايا الحمضة الكلي/سم² من الدم في مجاميع خنازير غينيا (2,1) عند حقنها بالخلصة الكحولية لثمار نبات الفلفل الاحمر الحار بجرعة (0,1) مل كجرعة مهيجة عن طريق التحدي القسبي.

| المجموعة | معدل اعداد الخلايا البيض الكلي/سم ² | معدل اعداد الخلايا الحمضة الكلي/سم ² |
|-----------------|--|---|
| السيطرة (1) | 5544 ± 26,9 | 500 ± 0,94 |
| خلصة كحولية (2) | ± 67 ± 24,67 ** 13666 | 2483 ± 51 ± 51,26 ** |

عبر عن نتائج بدلالة M ± SD

** معنوي عند مستوى P < 0.01

ملاحظة: كل رقم يمثل معدل ستة مكررات

REFERENCE

1. Chakravarty H.L. Plant Wealth of Iraq. Vol. 1. Cambridge, Unesco Professor, India. (1979).
2. Simpson B.B. & Ogorzaly M.C. Economic Botony, 2nd Ed. McGraw-Hill International, Singapore. (1986).
3. Garland A., Ray D.W., Doerschuk C.M., Alger L., Eappon S., Hernandez C., Jakson M. & Solway J. Role of Tachykinins in Hyperpnea - Induced Bronchovascular Hyperpermeability in Guinea Pigs. J. Appl. Physiol. Vol. 70: 27 - 35. (1991).
4. Solway J. & Leff A.R. Sensory Neuropeptides and Airway Function. J. Appl. Physiol. Vol. 71: 2077 - 2087. (1991).
5. Delaunois A., Gustin P. & Ansay M. Altered Capillary Filtration Coefficient in Parathion-and Paraoxon-Induced Pulmonary Edema in Isolated and Perfused Rabbit Lungs. Toxicol Appl. Pharmacol. Vol. 116: 161 - 169. (1992).
6. Delaunois A., Gustin P. & Ansay M. Effects of Capsaicin on the Endothelial Permeability in Isolated and perfused Rabbit Lungs. Fundam. Clin. Pharmacol. Vol. 7: 81 - 91. (1993).

7. De A.K.: Chilli. D.K. Fine Press, Delhi, India. (1994)
8. Ven V.D. Mechanisms in Human Models of Allergy and Asthma. Thesis University of Amsterdam. (1998).
9. Polesello A. T.L. C. Separation and Capsaicin Evaluation in Red Pepper. STANU. Vol. 5: 305 - 6. (1976).
10. Barnes P.J. Neuropeptides in the lung, Localization, Function and Pathophysiologic Implications. Allergic and Clinical immunology. Vol. 79(2): 285 - 295. (1986).
11. Govindarajan V.S. & Sathyanarayana M.N. Capsicum-production, Technology, Chemistry and quality. Part V. Impact on Physiology, Pharmacology, Nutrition and Metabolism, Structure, Pungency, Pain and Desensitization Sequences. Food Science and Nutrition Vol. 29: 433 - 474. (1991).
12. Combell D.H., Garvey J.S., Germer N.E. & Susssard D. M. Method in Immunology W. A. Benjamin, Inc. New York, Amsterdam. (1964).
13. Dacie S.J. V. & Lewis S.M. Partical Hematology. 6th Ed. Churchill Livingstone, London. (1984),
14. Daniel W.W. Biostatistics. Foundation for Analysis in the Health Sciences. 3rd Edition. Cohn Wiely and Sons. (1983).
15. Anderson J.R. Muir's Textbook of Pathology, 11th Ed. Edward Arnold, Ltd., Britain. (1980b).
16. Bremm K.D., Konig W., Spur B., Crea A., Galanos & C. Generation of Slow-Reacting Substance (Leukotrienes) by Endotoxin and Lipid A from Human Polymorphonuclear Granulocytes. Immunology. Vol. 35: 299 - 305. (1984).
17. De. A.K. Capsaicin. The Wonder drug from Chilli. Everyman's Science. Vol. 6(20). 47 - 50. (1992).
18. Peakman M. & Vergani D. Basic and Clinical Immunology. 1st Ed., Churchill Livingstone, London. (1997).
19. Durham S.R., Craddock C.F., Cookson W.O. & Benson M.K. Increases in Airway Responsiveness to Histamine Precede Allergen-induced Late Asthmatic Responses. J. Allergy Clin Immunol. Vol. 82: 764 - 770. (1998).
20. Sanico A.M., Philip G., Proude D., Naclerio R.M. & Togiase A., Comparison of Nasal Mucosal Responsiveness to Neuronal Stimulation in Non-Allergic and Allergic Rhinitis. Effects of Capsaicin Nasal Challenge. Clinical & Experimental Allergy. Vol. 28: 92. 100. (1998)

التأثير الالتهابي على المستوى النسيجي لثمار نبات الفلفل الأحمر الحار *Capsicum frutescens* في الجهاز التنفسي لخنازير غينيا

هالة عبد الحافظ عبد الرزاق* ، ماجد محمد محمود* و سالم رشيد حمودي**
* كلية العلوم / الجامعة المستنصرية / فرع علوم الحياة
** كلية الطب / جامعة بغداد / فرع الباثولوجي

ABSTRACT

Alcoholic extract of the hot red pepper (*Capsicum frutescens*) was tested by intratracheal challenge in order to investigate its inflammatory effect on airways of guinea pigs. The findings of the present study were histopathological changes in lung, represented as inflammatory sings in the wall of air passages, including damage in cells of epithelium lining the airways, congestion, vasodilation, increase in the permeability of blood vessels, infiltration of inflammatory cells, Oedema formation and separation of the epithelial layer from the underneath muscular layer and mucous plague and fluid in airways lumen.

الخلاصة

تم استخدام الخلاصة الكحولية لثمار نبات الفلفل الأحمر الحار لدراسة تأثيرها على الجهاز التنفسي لخنازير غينيا عن طريق التحدي القصي، أظهرت النتائج إن لهذه الخلاصة تأثيرات التهابية تمثلت بتغيرات نسيجية مرضية واضحة في مقاطع الرئة بحدوث علامات التهاب في جدار المسلك الهوائي شملت تلف في طبقة الظهارة المهدبة والمبطنة للمسلك الهوائي، احتقان وتوسيع الأوعية الدموية مع زيادة نفاذيتها وارتشاح الخلايا الالتهابية وحدوث الوذمة Oedema مع انفصال الظهارية عن الطبقة العضلية للمساء اضافة الى انسدادات في المسالك الهوائية النهائية بمواد مخاطية وسوائل الوذمة.

المقدمة

على الرغم من الاستعمالات الكثيرة لثمار نبات الفلفل الأحمر الحار نوع *Capsicum frutescens* في نواحي اقتصادية عدة، إلا أن احتواءها على مركبات الكبيساسينويدات Capsaicinoids والتي توصف بكونها مهيجات عصبية Neuroexciters جعلت هذه الثمار مادة سامة Toxic agent⁽¹⁾ فهي تحدث تهيج شديد في الجلد والاعشية المخاطية التنفسية مسببة السعال Cough والعطاس Sneezing والرشح الانفي Nasal secretion وضيق في التنفس Dyspnea⁽²⁾ تعرف هذه التأثيرات بالالتهاب ذو المنشأ العصبي Neurogenic inflammation⁽³⁾ الناتج عن إفراز الببتيدات العصبية Neuropeptides من الأعصاب الحسية Sensory nerves ومن تلك الببتيدات ما يعرف بقينينات التسريع Tachykinins⁽⁴⁾ ومن خلال التأثير على مستقبلاتها المعروفة بمستقبلات القينين العصبي Neurokinin receptors المنتشرة على سطوح الأنسجة المتأخمة للأعصاب الحسية محدثة تغيرات نسيجية شملت التضيق القسبي في المسالك الهوائية Bronchoconstriction نتيجة لتقلص العضلات الملساء القصبية يرافقه توسع في الأوعية الدموية Vasodilation وبالأخص الوريدات عقب الشعيرية Post capillary venules والوريدات المتجمعة Collecting venules وزيادة نفاذيتها Vascular permeability مؤدية إلى التسرب البلازمي Plasma leakage داخل المسلك الهوائي وتجمع السوائل البروتينية البلازمية بالإضافة إلى تحفيز الغدد المخاطية المنتشرة على طول المسلك وأفراز محتوياتها من المخاط مسببة معاً في انسدادها، كما ويحصل تلف في الطبقة الظهارية التنفسية وأفراز الوسائط الالتهابية Inflammatory mediators من الخلايا البدينة mast cell المتمثلة بالهستامين Histamine والبروستغلاندينات Prostaglandins والليوكوترينات Leukotrienes والبراديكنن Bradykinin وعامل تنشيط الصفائح الدموية Platelet-activating factor. وعامل النخر الورمي Tumor necrosis factor مؤدية إلى حصول الوذمة المخاطية Mucosal Oedema فضلاً عن إفرازها لعوامل الجذب الكيمياوي Chemotactic factors فتزداد بذلك أعداد الخلايا العدلة والحمضة Neutrophil and eosinophil في منطقة التعوض للمهيجات⁽⁵⁾.

وبالنظر لعدم توفر دراسات محلية حول الموضوع لذا ارتأينا اجراء الدراسة الحالية هادفين الى تقصي تأثير الكابيساينويدات في احداث التفاعلات الانتهايية ودراسة تلك الاستجابة تجريبياً باستخدام الخلاصة الكحولية لثمار نبات الفلفل الأحمر الحار.

المواد وطرائق العمل

يراعى ارتداء قناع الوقاية والقفازات مع استخدام الملقط أثناء العمل بثمار نبات الفلفل الأحمر الحار تجنباً لحدوث حالة تهييج في الجهاز التنفسي والجلد. تسحق الثمار المجففة سحقاً جيداً باستخدام المطحنة الكبريتائية ويوزن (10) غرامات من المسحوق الناتج ويجري الاستخلاص بجهاز Soxhelt بإضافة (200) مل من الكحول الايثيلي بتركيز (95%) وبعد ذلك يتم تركيز الخلاصة بجهاز المنخر الدوار بدرجة (40) م لمدة (20) دقيقة ثم يحفظ النموذج بدرجة (4) م لحين الاستعمال⁽⁶⁾.

يحدد تركيز الخلاصة بتعبير وزن / وزن حيث يكون (1) ملي غرام لكل كيلو غرام ثم يتم تعقيمها بإمرارها خلال (Millipore filter 0.45) بعد إذابتها بمحلول السواغ أو الإذابة Vehicle Solution المتكون من (80) مل من محلول ملح الطعام القياسي المعقم و (10) مل لكل من محلول (Tween 80) المركز والكحول الايثيلي تركيز (95%)⁽⁷⁾.

أجري اختبار التحدي القصيبي Intratracheal Challenge على (12) من خنازير غينيا وكانت من الذكور فقط وبوزن (350-400) غم والتي قسمت بدورها الى مجموعتين ضمت كل منها (6) حيوانات، تعامل حدهما بمحلول السواغ فقط وتعد سيطرة بينما تعامل الأخرى بالخلاصة الكحولية، وتضمن إجراء هذا الاختبار بتخدير الحيوان موضعياً في منطقة الرقبة بمادة الزالوكين بتركيز (20) ملي غرام لكل مل بجرعة (50) مايكروليتر تحت الجلد.

يراقب الحيوان الى أن تبطأ حركته عندئذ وتحت ظروف معقمة وباستخدام ادوات تشريح معقمة يتم عمل فتحة صغيرة في الرقبة بشق الجلد بعدها تراح العضلات الى ان يتوضح الرغامي ثم تحقن الخلاصة الكحولية بجرعة (0.1) مل بواسطة حقنة طبية بحجم (0.1) مل نوع BCG ذات أبرة بفتحة (1/2 cc27 G3/8)⁽⁸⁾ ثم قتلت الحيوانات بطريقة التخيع بعد مرور (20) دقيقة وأخذت قطع صغيرة من الثلث الأخير للرئة وتم تحضير مقاطع نسيجية منها وأجريت لها دراسة نسيجية⁽⁹⁾.

النتائج والمناقشة

لم تعاني مجموعة حيوانات السيطرة المعاملة بمحلول السواغ من تغيرات نسيجية مرضية عن طريق التحدي القصي حيث بدى نسيج الرئة طبيعياً محتويماً على القصيبات Bronchioles المبطنه بالخلايا الظهارية المكعبة Cuboidal epithelial وحولها طبقة العضلات الملساء القصبية وظهرت القنوات السنخية Alveolar duct والسنخات Alveoli خالية من أي ارتشاح للخلايا الانتهابية صورة (1) بينما لوحظت جملة تغيرات نسيجة مرضية في نسيج الرئة لحيوانات التجربة بعد مرور (20) دقيقة من المعاملة بالخالصة الكحولية شملت ارتشاح ضئيل لخلايا الالتهاب مع افرازات مخاطية Muscus secretion قليلة في القصيبات انتفاخ الخلايا الظهارية المبطنه للقصبية Swelling احتقان وعائي وتثخن قليل في الغشاء القاعدي صورة (2).

يتضح من نتائج الدراسة بأن للخالصة الكحولية تأثير تهيجي Irritative effect على الأغشية المخاطية المبطنه للمسالك الهوائية لاحتوائها على مركبات الكابيساينويدات وهي مواد ألفة للشحوم Lipophilic تتركز بعد زرقها داخل الرغامي في الأماكن الغنية بالمواد الدهنية وبالأخص النهايات العصبية الحسية Sensory nerves terminals الحاوية على مستقبلات المهيج Irritant receptors ومن خلال التأثير على تلك المستقبلات يحدث منعكساً في العصب المبهم Vagal reflex يؤدي الى طرح البيبتيدات العصبية التي تعمل من خلال مستقبلاتها الواقعة على سطح الأنسجة المجاور للأعصاب الحسية بصورة مباشرة (10) أو بصورة غير مباشرة من خلال تلك المستقبلات الواقعة على أغشية الخلايا البدنية المنتشرة في الطبقة المخاطية للمسالك الهوائية منبهة التي افراز الوسائط الالتهابية بفعل آلية إزالة تحسس تلك الخلايا Degranulation⁽¹¹⁾.

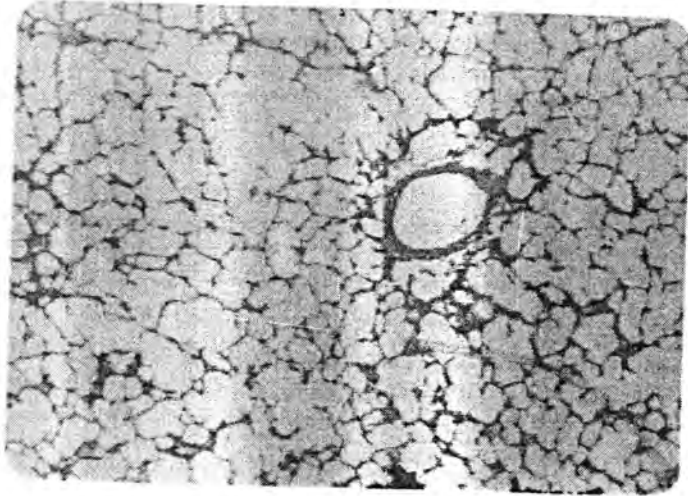
لذلك تنسب التغيرات النسيجية المرضية الحاصلة في الرئة من جراء المعاملة بالخالصة

الكحولية الى التنبه العصبي Neurostimulation⁽¹²⁾.

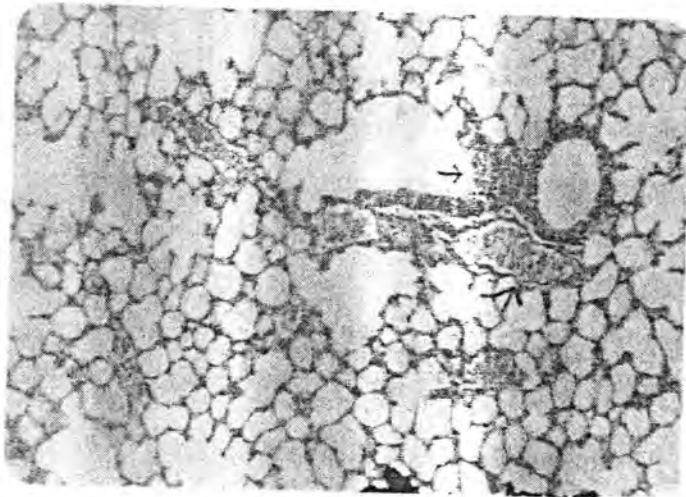
هذا وقد ماثلت نتائج الدراسة الحالية النتائج لدراسات سابقة فقد لوحظ وجود تغيرات نسيجية مرضية في مرضى ربو القصبات الارجي Allergic bronchial asthma سواء كلنوا يعانون من متلازمات اعراض معتدلة ام متقطعة Mild and intermittent syndromes عند مستوى الطبقة المخاطية القصبية Bronchial mucosa اشتملت آفات ظهارية Epithelial lesions تثخن الغشاء المخاطي القاعدي Thickening of basement membrans وارتشاح

التهابي Inflammatory infiltration، تضمن على حمضات نشطة Activated eosinophils ولمفاويات نوع الثانية المساعدة -2-Th2-lymphocytes خلايا بدنية أزيل تحببها Degranulated mast cell ونسب حصول تلك التغيرات الى هجرة Migration الحمضات باتجاه الخلايا الظهارية وتحطيم التراكيب الظهارية Structures epithelial كما أكد على حدوث إعادة إصلاح للخلايا الظهارية المحطمة بفعل Transforming growth factors- Alpha (TGF- α) المنتج من الحمضات، الا ان هذه الخلايا والخلايا المحطمة غير قادرة على الاشتراك بصورة فعلية في العملية الالتهابية الا بعد تحفيزها بفعل وسيطين هما عامل النخر الورمي نوع الفا Tumor-necrosis factor-alpha وعامل الانترلوكين بيتا (IL-1 β) (Interleukine-1 β) المنتجات من الخلايا البدنية والبلاعم، فتستطيع تلك الخلايا الظهارية افراز العديد من القينينات الخلوية Cytokines و (IL-1, IL-6, IL-8, IL-11, GM-CSF) والقينينات الكيمائية Chemokines (كبروتينات الجذب الكيمائي للوحيدة) MCP-3, MCP-4) (Monocyte chemotactic proteins) ووسائط 15-hydroxy LTs, PGs. وبالتعاون مع عوامل منتجة بواسطة الخلايا البدنية والثابتة المساعدة (2) وبقية الخلايا الموجودة في منطقة الالتهاب تؤدي الى تضخم الأفات الالتهابية Amplify the inflammatory lesions⁽¹³⁾.

إن عاقبة حصول الالتهاب في المسالك الهوائية هو اصابة الظهارة Epithelial injury والتي تتراوح بين التمزق البسيط Minor disruption مع فقدان الخلايا المهذبة Ciliated cells الى التعري الكامل للخلايا الظهارية Complete denudation. ويعزى سبب ذلك أيضاً الى افراز وسائط الحمضة والتي تضمنت مجموعة من البروتينات القاعدية الموجودة داخل حبيبات سايتوبلازمية كبروتين الحمضة الرئيسي Major basic protein (MBP)، وبروتين الحمضة السابطي Eosinophil cationic protein (ECP)، بيروكسيدات الحمضة Eosinophil derived Eosinophil peroxidase (EPO)، الديفان العصبي الحمضي Eosinophil neurotoxin (EDN) كما وتوجد وسائط فعالة أخرى تنتج من الغشاء البلازمي للخلايا الحمضة كالليوكترين (LT-c4) - Leukotrien، والعامل المنشط لتصفحات الدموية Platelet activate factor (PAF)، اللابوكسيجيناز 5-Lipoxygenase⁽¹⁴⁾.



صورة مجهرية (1) لمقطع من نسيج الرئة الطبيعي، تظهر خلايا رئوية سليمة وبنية خلوية طبيعية.



صورة مجهرية (2) لمقطع من نسيج الرئة بعد المعالجة، تظهر خلايا رئوية متضررة وبنية خلوية غير طبيعية. (الأسهم تشير إلى التغيرات النسيجية).

المصادر

1. Buchanan, R.L.: Toxicity of spices containing methylene-dioxy-benzene derivatives: a review. *J. Food Saf.* Vol. 1: 275 (1978).
2. Watanabe, T.; Kawada, Yamamoto, M. & Iwai, K.: Capsaicin, A pungent principle of hot red pepper, evokes catecholamine secretion from the adrenal medulla of anesthetized rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* Vol. 142: 259-268 (1987).
3. Saria, A.; Martling, CR.; Yan,Z; Theodorsson-Norheim,E.; Games, R. & Lundbery, J.M. : Release of multiple techykinins from capsaicin-sensitive sensory nerves in the lung by bardykinin, histamine, dimethylphenyl piperazinium and vagal nerve stimulation. *Am. Rev. Respir. DIS.* Vol. 137: 1330-1335, (1988).
4. Kowalski, M.L.; Diaier, A. & Kaliner, M.A.: Neurogenic inflammation in the airways. I. Neurogenic stimulation induces plasma protein extravasation into the rat airway lumen. *Am. Rev. Respir. Dis.* Vol. 140: 101-109, (1989).
5. Palevitch, D. & Craker, L.E. : Nutritional and medical importance of red pepper (*Capsicum* spp.). *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants.* Vol. 3(2): 55-83, (1995).
6. Polesello, A. : T.L.C. separation and capsaicin evaluation in red pepper. *STANU.* Vol. 5: 305-6. (1976).
7. Barnes, P.J. : Neuropeptides in the lung: Localization, function, and pathophysiologic implications. *Allergic and clinical immunology.* Vol. 79(2): 285-295, (1986).
8. Govindarajan, V.S. & Sathyanarayana, M. N. : Capsicum production, technology, chemistry and quality. Part. V. Impact on physiology, pharmacology nutrition and metabolism, structure, pungency, pain and desensitization, sequences, *Food. Science and Nutrition.* Vol. 29: 433-474. (1991).
9. Fujimura, M. Kasahara, K. Yasui, M., Nyou, S. Ishiura, Y. Kamio, Y. Hashimoto, T& Matsuda, T. : Atopy in cough sensitivity to capsaicin and bronchial responsiveness in young females. *Eur. Respir. J.* Vol. 11: 1060-1063, (1998).
10. Saria, A. Skofitsch, G.& Lembeck, F. : Distribution of capsaicin in rat tissues after systemic administration. *J. pharmacol.* Vol. 34: 273-275, (1982).
11. Daniel, G.H. : *Pathophysiology* . 2nd ed. W.B. Saunders company, (1985).

12. Gleich, G.J.: The eosinophil and bronchial asthma current understanding. J. Allergy. Clin. Immunol. Vol. 85: 422-436 (1990).
13. Ricci, M. Matucci, A & Rossi, -O. : New advances in the pathogenesis and therapy of bronchial asthma. Ann Ital Med. Int. Vol. 13(2): 93-110, (1998).
14. Reeb-Whitaker, C.K., BA, Harrison, D.J., BS, Jones, R.B. BS, Kacergis, J.B. MPS, Myers, D.D. DVM. & paigon, B. : Control strategies for aeroallergens in an animal facility. J. Allergy Clin Immunol. Vol. 103: 139-46, (1999).

تنمية بكتريا الستروبتومايسيس *Streptomyces* في اوساط زرعية
محضرة محليا و اوساط صناعية مختلفة ودراسة فعاليتها التضادية ضد
البكتريا المرضية

نهى جوزيف قندلا

قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية

ABSTRACT

Thirty isolate of bacteria related to genus *Streptomyces* were tested for their antibacterial activity against different types of pathogenic bacteria including (*Staph aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) on artificial media (Causa agar, Starch nitrate agar, tryptone-Yeast agar, Shimi agar, Shimi agar, Minimal agar) with media which prepared locally and containing different concentrations of seed powders (Shalgham agar, Shuwandar agar, Cotton agar and Corn agar). Fifteen isolates showed antibacterial activity on other artificial and local media. Depending on the results obtained in this study, one isolate was selected to study its activity against tested bacteria (*Staph aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*) using all artificial and locally prepared media. This isolate was subjected to the following studies: detecting of the growth mass and antibacterial activity at different pH values using local liquid media. The results were compared with best artificial media, beside the morphological characteristics were also conducted on different local media. This isolate showed increasing in their growth and antibacterial activity at pH (7) when growth was on (Cotton media, Causa media and Corn media) except the corn media gave best growth at pH (6). while this isolate showed variety in its growth characteristics and antibacterial activity at different pH, when grew on the (Cotton media, Shalgham media and shuwandar media) maximum growth was reached (0.51, 0.6) gm/100ml on the (Shalgham media and shuwandar media) at pH (8), at the same time the maximum antibacterial activity at the isolate was exhibited at pH (7) and the isolate showed variation activity on local and control media according to their activity on different bacterial types. To enhance the growth of this isolate a

mixture of different seeds extracts were used. Growth was proliferated on (mixture media of Shalgham, Shuwandar, Cotton and Corn), (mixture media of Shalgham, Shuwandar and Cotton), (mixture media of Shalgham and Shuwandar), (mixture media of Shalgham, Cotton and Corn), (mixture media of Shalgham and Cotton), (mixture media of Shuwandar and Cotton).

الخلاصة

اختبرت فعالية (٣٠) عزلة مشخصة الى الجنس من بكتريا الستربتومييسيس ضد انواع مختلفة من البكتريا المرضية شملت (*Pseudomonas, aeruginosa Klebsiella pneumoniaem E. coli, Bacillus subtilis, Staph aureus*) على اوساط زرعية صناعية شملت (Shimi agar, Minimal media, Causa aga, Tryptone-Yeast agar, Starch Nitrate agar), (وسط الشلغم, Shalgham agar, وسط الشوندر, Shuwandar agar, وسط القطن, Cotton agar, وسط الذرة, Corn agar). وقد اظهرت (١٥) عزلة من مجموع (٣٠) فعالية تضادية على الوسط الصلب الصناعي (Starch Nitrate agar, Causa agar) و على الوسط المحلي وسط الشلغم Shalgham agar و (١٣) عزلة على وسط الشوندر Shuwander agar في حين تباينت قابلية العزلات في اظهار فعاليتها التضادية على بقية الاوساط الصلبة الصناعية والمحلية. وعلى ضوء النتائج المستحصلة تم انتخاب عزلة كفوءة من بكتريا الستربتومييسيس والتي اظهرت فعالية جيدة ضد الانواع البكتيرية (*Bacillus subtilis, E.coli, Staph aureus*) على جميع الاوساط الزرعية المصنعة والمحلية و اخضعت لعدة دراسات شملت مقدار النمو على اساس الكتلة الحيوية و الفعالية ضد البكتريا وتحت درجات مختلفة من الاس الهيدروجيني على الاوساط السائلة المحلية ومقارنتها بالوسط الصناعي الامثل لنموها، درست صفاتها المطهرية على الاوساط المحلية المختلفة. وقد اظهرت العزلة زيادة في الكتلة الحيوية والفعالية المضادة عند الاس الهيدروجيني (٧) للاوساط الزرعية (وسط القطن, Cotton agar, وسط كاوز, Causa Agar, وسط الذرة, Corn aga) باستثناء وسط الذرة Corn agar و الذي اظهرت العزلة فيه افضل نمو عند الاس الهيدروجيني (٦). في حين اظهرت العزلة تباين في الكتلة الحيوية والفعالية التضادية باختلاف الاس الهيدروجيني على الاوساط (وسط الشوندر

Shuwander agar، وسط الشلغم Shakgham agar، وسط القطن Cotton Agar حيث بلغت اعلى كتلة حيوية (0.6, 0.51) غم/١٠٠ مل على وسطي (وسط الشوندر Shuwandar Agar، وسط الشلغم Shalgham agar) على التوالي عند الاس الهيدروجيني (٨)، في الوقت نفسه كانت اعلى انتاجيه للعزلة للوسطين اعلاه عند الاس الهيدروجيني (٧)، وقد اظهرت العزلة تغاير في اقطار التثبيط على الاوساط المحلية ووسط السيطرة حسب تاثيرها على سلالات الاختبار البكتيرية. ولتعزيز نمو العزلة تم مزج خلاصات البذور المختلفة مع بعضها مما شجع النمو بشكل ملحوظ وخاصة الاوساط (وسط خليط الشلغم و الشوندر و القطن و الذرة)، (وسط خليط الشلغم و الشوندر)، (وسط خليط الشلغم و القطن و الذرة)، (وسط خليط الشلغم و القطن).

المقدمة

تعد بكتريا الستربتوميسيس من الاحياء المهمة والتي تنتمي الى مجموعة Actinomycetes، حيث تمتاز بكونها بكتريا خيطية متفرعة مكونة للمايسليا الهوائية والارضية منتجة للصبغات تتواجد بصورة طبيعية في التربة. يشغل هذا الجنس حيز كبير من الاهتمام لتمييز انواعه في انتاج نواتج حيوية ثانوية تاتي في مقدمتها المضادات الحيوية (Champrness and Chater, 1994)، وتتمتاز ايضا بقدرتها على انتاج الانزيمات المحللة للمركبات الكربوهيدراتية والبروتينية لاستغلالها كمصادر للكربون والنايتروجين لعملياتها الحيوية اثناء نموها (Williams et al: 1989). وتتأثر عملية انتاج المضادات الحيوية كما ونوعا بعدة عوامل منها طبيعة الكائن المنتج والاس الهيدروجيني ودرجة الحضانة والتبوية وكمية وطبيعة العوامل الغذائية الداخلة في تركيب الوسط الزراعي من مصادر كاربونية و نيتروجينية واملاح وفيتامينات والتي تدخل في تخليق مكونات الخلية وفي انتاج النواتج الايضية المختلفة (Rassol, 1980).

يستعمل عادة في تنمية الاحياء المجهرية نمطين من الاوساط الزرعية هما الوسط التركيبي والذي يحضر من مواد كيميائية نقية مصنعة والوسط المغذي والذي هو حصلية هضم مواد حيوانية مختلفة مثل لحوم البقر او مصادر نباتية كالبطاطا والشعير والذرة وقد تضاف مواد مغذية مثل الدم والحليب بغية تزويد الاحياء المجهرية المراد تنميتها بالمتطلبات الغذائية من

احماض امينية وقواعد نيتروجينية وفيتامينات وعناصر اخرى (السعد، ١٩٨٢). تشكل كلفة الاوساط الزرعية الانتاجية جزءا مهما وكبيرا من الكلفة الاجمالية للتخميرات الصناعية لذلك فمن الضروري التوجه الى استخدام المنتجات الزرعية والصناعية الرخيصة والمتوفرة محليا كمصادر للاوساط المستخدمة في التخمرات الصناعية وان يتم انتقاؤها على اساس احتوائها على نسب عالية من المصادر الكربونية والنيتروجينية. يعتبر العراق قاعدة زراعية مناسبة مقارنة بالدول الاخرى في المنطقة لذلك فمن الضروري الاستمرار في التحري عن خامات زراعية متوفرة محليا ورخيصة الثمن ، وقد استخدمت بعض الخامات من قبل (Ali et al: 1993) في تحضير الاوساط الزرعية مثل كسبة زهرة الشمس وبعض منتجات التمور ومثبقاتها كرماد نوى التمر والتي استخدمت في تحسين الانتاجية للمضاد الحيوي Oxy Tetracyclin، كما استخدمت اوساط محضرة من بذور الفت كاوساط تخميرية لتنمية الانواع البكتيرية المنتجة للمضادات الحيوية مثل *Thermophilus Bacillus* (Yeoman & Edwards, 1992) ، واستخدمت الاوساط المعقدة والاوساط الدنيا لانتاج المضاد Anthramycin من بكتريا (Wright, 1983) *S. refuineus*. من البذور المتوفرة محليا بذور الشلغم والثوندر والقطن والذرة. حيث يعد الشلغم (الفت) *Brassica* ، والذي ينتمي الى العائلة الصليبية *Gruciferae* من الانواع التي تستخدم بذورها في صناعة الزيوت اما مخلفات البذور بعد الاستخلاص تستخدم كمصدر غني بالبروتين والالياف وتتكون بذوره من مصادر كربونية ونايتروجينية رخيصة حيث تحتوي على كاربوهيدرات وبروتينات والياف وفيتامينات (B1, B6, B2, C) (بيتشوب وجماعته، ١٩٨٣، Al-Rawi and Chakravarty, 1988 ، اما الثوندر والذي ينتمي الى العائلة الرمدامية *Chemopdiaceae* تتكون بذوره من نفس مكونات بذور الشلغم ولكن بنسب اقل. ويستخدم عصير الذرة *Zea mays* في صناعة مضاد البنزول بنسب اقل. ويستخدم (السعد، ١٩٨٢)، ويحتوي على كميات متناسبة من المصدر الغذائي الكاربوني كالكسريات والنايتروجين و الاحماض الامينية واملاح الكالسيوم، والبوتاسيوم والفيتامينات كالبايوتين والرايبوفلافين والتي تساعد على نمو الاحياء المجهرية. ويتبع القطن الجنس *Gossypium* والذي ينتمي الى العائلة الخبازية *Malvaceae* وتعتبر بذوره مصدر غني بالبروتين (بيتشوب وجماعته، 1983).

ونظرا للظروف الاقتصادية الصعبة نتيجة للحصار وشحة المواد الزرعية المستوردة التي تستخدم لتنمية الاحياء المجهرية وزيادة الحاجة لها، جاء هذا البحث ليهدف الى استخدام

بدائل محلية من مطحون البذور المختلفة (الشلغم، الشوندر، القطن والذرة) كإوساط غذائية لتنمية عزلات بكتريا الستربتومايسيس ودراسة الفعالية التضادية ضد الأنواع البكتيرية ومقارنتها مع الأوساط المصنعة ودراسة تأثير الأس الهيدروجيني المختلف على الكتلة الحيوية والفعالية التضادية.

المواد وطرائق العمل

العزلات البكتيرية وظروف التنمية

استخدمت (٣٠) عزلة من بكتريا الستربتومايسيس *Streptomyces* والتي عزلت باستخدام الكحول من قبل (Bagir and Kandala, 2000)، نشطت العزلات بزرع (0.1) مل من عالق الأبواغ لكل عزلة من بكتريا الستربتومايسيس والمحضّر استناداً إلى ما جاء في (Hopwood et al, 1985) إلى وسط *Caus broth* و حضنت بدرجة (28) °م لمدة (14) يوم وكررت عملية التنشيط بتنمية العزلات على وسط *Cause agar*.

الأوساط الزرعية المستخدمة

شملت الأوساط الزرعية التي يراد اختبار قابليتها على انماء عزلات بكتريا الستربتومايسيس ودراسة فعاليتها التضادية وكالتالي:
أ- الأوساط الصناعية:

١. وسط *Causa agar*: حضر هذا الوسط اعتماداً على ماورد في (Kamagata, 1985)

٢. وسط *Tryptone-yeast extract agar*: حضر هذا الوسط حسب ماورد في (Williams & Cross, 1977)

٣. وسط *Starch Nitrate agar*: حضر حسب ما جاء في (Goodfellow et al: 1987)

٤. وسط *Shimi agar*: تم تحضير هذا الوسط اعتماداً على ما جاء في (Shimi et al, 1977)

٥. *Minimal Media*: حضر حسب ماورد في (Hopwood, 1967)

ب- الاوساط المحلية:

تم اختيار مجموعة من البذور المتوفرة محليا لاختبار قدرتها على انماء عزلات بكتريا
الستربتوميسيس ودراسة فعاليتها التضادية وشملت كلا من مطحون بذور (الشلغم، الشوندر،
القطن، الذرة) وحضرت هذه الاوساط كالآتي:

1- وسط الشلغم *Shalgham Media*

حضر باضافة كميات مختلفة من مسحوق بذور الشلغم كلا على انفراد بمقدار
(10,20,40,60,80,100)غم الى لتر من الماء المقطر ثم سخن لحد الغليان لمدة (5) دقائق وبعد
التبريد رشح اولا خلال طبقات من القطن باستخدام ورق ترشيح، وعدل الاس الهيدروحيثي الى
(7) بعدها اذيب (20) غم اكار في 1 لتر من هذا الراشح وعقم بالموصدة بحرارة (121) م
لمدة (15) دقيقة.

2- وسط الشوندر *Shuwander Media* ووسط القطن *Cotton Media* ووسط الذرة *Corn Media*

حضرت هذه الاوساط كما ورد في الفقرة (1) من (ب) ولكن باضافة مسحوق بذور
الشوندر او القطن او الذرة كلا على انفراد بدلا من مسحوق بذور الشلغم. وقد حضرت الاوساط
السائلة لهذه المستخلصات بنفس طريقة التحضير اعلاه لكن بدون اضافة الاكار.
كما حضرت اوساط مختلفة من خليط من مطحون البذور المذكورة اعلاه شملت (وسط
خليط الشلغم والشوندر)، (وسط خليط الشلغم والقطن)، (وسط خليط الشوندر والقطن)، (وسط
خليط الشلغم والذرة)، (وسط خليط الشوندر والذرة)، (وسط خليط الشلغم، الشوندر والقطن)،
(وسط خليط الشلغم، الشوندر والذرة)، (وسط خليط الشلغم، القطن والذرة)، (وسط خليط
الشوندر، القطن والذرة)، (وسط خليط الشلغم، الشوندر، القطن والذرة) وبتركيز (10) غم في لتر
من الماء المقطر لكل نوع من البذور على انفراد في الوسط وحضرت هذه الاوساط بنفس طريقة
التحضير المذكورة في فقرة (1) من (ب).

الفعالية التضادية لعزلات بكتريا الستربتوميسيس على الاوساط الزرعية الصناعية والمحلية:

اختبرت الفعالية التضادية لعزلات بكتريا الستربتوميسيس ضد السلالات البكتيرية
بطريقة الانتشار بالاكار على الاوساط الزرعية الصناعية والاوساط المحضرة محليا وحسب
الطريقة المتبعة في (Mahamad, 1989) واستخدمت السلالات البكتيرية الاختبارية التالية

(*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*,
Klebsiella pneumoniae)

تأثير الاس الهيدروجيني

انتخبت عزلة من بكتريا الستربتومايسيس والتي اعطت فعالية تضادية جيدة على الاوساط الزراعية المذكورة اعلاه، واخضعت لعدة دراسات شملت:

1- تأثير الاس الهيدروجيني المختلف على الفعالية التضادية للعزلة المنتخبة
 اختبار تأثير الاس الهيدروجيني المختلف على الفعالية التضادية لعزلة بكتريا الستربتومايسيس المنتخبة وحسب الطريقة التي وردت في (Wright and Hopwood, 1976).

2- تأثير الاس الهيدروجيني المختلف على نمو العزلة المنتخبة
 تم تحديد الكتلة الحيوية للعزلة (S27) المنماة في الاوساط الزراعية المحلية والصناعية والمذكورة اعلاه ووفق الطريقة التي وردت في (Stainer, 1986).

3- الصفات المظهرية للعزلة المنتخبة على الاوساط المحلية والوسط الصناعي
 درست الصفات المظهرية للعزلة (S27) على الاوساط المحضرة محليا من خليط من البذور ومقارنتها مع الوسط الصناعي الامثل لنموها وحسب ماجاء في (Shirling and Gottlieb, 1966).

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج اختبار الفعالية المضادة لجميع عزلات بكتريا الستربتومايسيس والمبنية في (جدول 1) ان (15) عزلة من الستربتومايسيس من مجموع (30) عزلة ذات فعالية تضادية على وسط (Causa agar) تضمنت (9) عزلات فعالة ضد (*B. subtilis*) و (5) عزلات اربع منها فعالة ضد (*E. coli*, *B. subtilis*) وعزلة واحدة فعالة ضد (*E. coli*, *B. subtilis*, *Staph aureus*)، بينما تأثرت البكتريا السالبة للملون غرام (*E. coli*) بعزلة واحدة من الستربتومايسيس. اما على وسط Starch Nitrate Agar اظهرت (15) عزلة من بكتريا الستربتومايسيس فعالية تضادية ضد سلالة او اكثر من البكتريا ومن جهة اخرى لم تظهر عزلات

بكتريا الستربتوميسيس أي فعالية تذكر على وسط Minimal Media باستثناء عزلتين كانت فعالة ضد (*E. coli*, *B. subtilis*)، في حين تباينت الفعالية التضادية لعزلات الستربتوميسيس على بقية الأوساط الصناعية. اما على الأوساط المحضرة محليا (جدول 1)، اظهرت (15) عزلة من بكتريا الستربتوميسيس فعالية ضد سلالة بكتيرية او اكثر على وسط Shalgham Media وكانت (9) عزلات منها ذات فعالية ضد البكتريا (*B. subtilis*) فيما بلغ عدد العزلات المؤثرة على البكتريا الموجبة والسالبة لملون غرام (5) عزلات اربع منها فعالة ضد (*E. coli*) (*B. subtilis*) وعزلة واحدة فعالة ضد السلالتين بالإضافة الى (*Staph aureus*) وكانت هناك عزلة واحدة من الستربتوميسيس مؤثرة على *E. coli*، اما Shuwandar Media اظهرت به عزلات بكتريا الستربتوميسيس فعالية اقل مما اظهرته على Shalgham Media حيث بلغت (13) عزلة. بينما الفعالية التضادية للستربتوميسيس على وسطي (Cotton Media, Corn Media) (على الرغم من النمو الجيد للعزلات على هذه الأوساط) كانت اقل من بقية الأوساط، حيث بلغ مجموع العزلات المنتجة (7,6) عزلة لكل من وسطي (Cotton Media, Corn Media) على التوالي.

ومن ملاحظة النتائج اعلاه نجد تباين في قابلية العزلات في اظهار فعاليتها ضد الانواع البكتيرية على الأوساط الزرعية المختلفة وقد يرجع هذا الى نوع عزلات بكتريا الستربتوميسيس ونوع المضاد المنتج منها وتأثيرها بمكونات الوسط الزراعي من مصادر كاربونية ونيتروجينية وفوسفات واملاح وعناصر معدنية وفيتامينات التي قد تكون محفزة او مثبطة للعملية الانتاجية (Egorov, 1985).

وهذا ما نجده واضحا عندما اظهرت عزلات الستربتوميسيس اعلى انتاجية على الأوساط المصنعة (Starch Nitrate Agar, Causa Agar) و يمكن اعتبارهما من الأوساط الانتقائية المصنعة الجديدة في دراسة الانتاجية لما يحتويه هذان الوسطان من مكونات غذائية مثل النشا كاربوني واملاح وفيتامينات ومصدر فوسفاتي (Goodfellow et al., 1987, Kamagata 1980)، وتعكس هذه النتائج ما اشار اليه الباحثون (Demain 1984) و (رشيد، 1991) عن الدور المهم لمكونات الوسط الزراعي في اظهار فعالية العزلات المنتجة والتي تعتبر عامل اساسي في التفاعلات الانزيمية الخلوية وتحفيز العملية الانتاجية وتدخل في تركيب العديد من المضادات الحيوية، ولاتتفق بعض هذه النتائج مع ما توصل اليه ناجي (1994) في ان وسط التريبتون - مستخلص الخميرة الصلب من افضل الأوساط الثلاثة (وسط منقوع شراب الذرة،

وسط كاوزا) التي استخدمت في دراسة الانتاجية في حين اظهر الرواي (١٩٩٨) والعقيدى (١٩٩٠) ان وسطي (النشا الصلب، كاوزا الصلب) من الاوساط الجيدة في دراسة الفعالية المضادة للستربتومييسين.

ووسط Shalgham Agar اعطى اعلى انتاجية لعزلات الستربتومييسين (١٥) عزلة وهي تماثل عدد العزلات التي اظهرت فعالية تضادية على وسطي (Causa Agar, Starch Nitrate Agar) المصنعيين، في حين كان عدد العزلات الفعالة على وسط Shuwander Agar (١٣) عزلة، وقد يرجع هذا الى الاختلاف الضئيل في نسب مكونات البذور لكلا النوعين وبالاخص الفيتامينات، حيث تتكون بذور الشلغم من (٩١) غم ماء، (١) غم كاربوهيدرات، (0.1) غم الياف، (0.07) ملغم B2، (0.56) B6، (28) ملغم فيتامين C، ودهون اثار. اما بذور الشوندر تتكون من (88) غم ماء، (١) غم بروتين، (10) غم كاربوهيدرات، (0.8) غم الياف، (0.02) ملغم B1، (0.04) ملغم B2، (0.2) ملغم B2، (7) ملغم فيتامين C، دهون اثار (بيتشوب وجماعته، Al-Rawi and Chackravarty 1988, 1982). و يمكن الاستدلال ان وسطي (Shuwandar Agar, Shalgham Agar) من الاوساط المحلية التحضير والتي يمكن استخدامها كاوساط في التخمرات الصناعية حيث اعطت نتائج ايجابية جيدة مقارنة بباقي الاوساط حيث يعتبران وسطين غنيين بالبروتين (الاحامض الامينية) و مصدر نايتروجيني وكاربوني وفيتامينات وهذه المكونات تلعب دور اساسي في النواتج الايضية الثانوية وفي تحفيز العملية الانتاجية. اما Corn Media, Coton Media اظهرا انتاجية قليلة على الرغم من النمو الجيد لعزلات الستربتومييسين على هذه الاوساط، وقد يعود هذا الى المكون الغذائي لنقيع الذرة الذي يحتوي على كميات متناسبة من المصدر الغذائي الكاربوني والذي يشمل حامض اللاكتيك والسكريات المتعددة المعقدة التركيب ومصادر نيتروجينية تضم العديد من الاحماض الامينية واملاح معدنية والتي تساعد على نمو الاحياء المجهرية (السعد، 1982) وقد يرجع قلة تحفيزها لانتاج المضادات لانها تحوي مصادر نيتروجينية بطيئة الاستهلاك لاتحفز انتاج المضادات الاضافة مصادر نيتروجينية معقدة التركيب الى الوسط التخمرى كماحصل في انتاج مضاد النتراسايكلين بحدود (5) اضعاف بعد الاضافة (Rassol 1980)، اما القطن فهو مصدر غني بالبروتين بنسبة (35 - 45)% ويعتبر مكون غذائي جيد لنمو الاحياء المجهرية.

تأثير الاس الهيدروجيني المختلف على الكتلة الحيوية والفعالية المضادة للعزلة المنتخبة على الايوساط والصناعة

درس تأثير الاس الهيدروجيني على الكتلة الحيوية للعزلة المنتخبة (S27) وكما يظهر في (الشكل - 1) ان اعلى كتلة حيوية كانت عند الاس الهيدروجيني (7) لكل من الاوساط الزرعية (Causa Agar, Corn Media) عندما بلغت الكتلة الحيوية (0.5, 0.4) غم/100ملى على التوالي، اما وسطي (Shalgham Media) (Shuwandar Media) فقد انتجت اعلى كتلة حيوية عند الاس الهيدروجيني (8) و التي بلغت (0.6, 0.51) غم/لتر على التوالي، في حين اظهرت العزلة افضل نمو عند الرقم الهيدروجيني (6) على وسط Corn Media عندما بلغت الكتلة الحيوية (0.35) غم/100 مل. و من النتائج اعلاه نجد ان افضل اس هايدروجيني لنمو عزلة الستربتومييسيس (S27) تراوح بين (7, 8). باختلاف الاوساط الزرعية، وتنعكس هذه النتائج ما اثار اليه العديد من الباحثين الى قدرة بكتريا الستربتومييسيس على النمو في مدى واسع من الاس الهيدروجيني (5, 9) غير ان نموها الامثل بين (7, 8)، وقد اكد (Stainier 1986) الى اهمية الرقم الهيدروجيني للوسط الزراعي اثناء نمو العزلات المنتجة للمضادات وتأثيره على كمية الانتاج.

ومن خلال تتبع الانتاجية للعزلة (S27) على الاوساط الزرعية المختلفة وفي درجات الاس الهيدروجيني المختلف (شكل - 2) نجد اختلاف في الفعالية المضادة للعزلة ضد بكتريا *E. coli* باختلاف الاس الهيدروجيني حيث اظهرت اعلى انتاجية عند الاس الهيدروجيني (7) عندما بلغت اقطار مناطق التثبيط (17, 12, 15, 16, 20) ملم لكل من الاوساط الزرعية (Causa Agar, Cotton Media, Corn Media, Shuwander Media, Shalgham Media) على التوالي. اما اعلى انتاجية ضد البكتريا *B. subtilis* (شكل - 3) كانت عند الاس الهيدروجيني (7) عندما بلغت اقطار التثبيط (18, 10, 18, 18) ملم للاوساط الزرعية (Causa Agar, Cotton Media, Shuwandar Media, Shalgham Media) على التوالي. في حين لم تظهر العزلة أي فعالية تذكر ضد بكتريا *Staph aureus*, *B. subtilis* (شكل -3) (شكل -4) عند الاس الهيدروجيني (4, 6, 7, 8, 9) على (Corn Media, Cotton Media) و على (Shuwandar Media) لم تظهر العزلة أي فعالية ضد *Staph aureus*, *B. subtilis* (شكل -3) (شكل -4) عند الاس الهيدروجيني (4, 9)، وبلغت (اعلى انتاجية بكتريا الستربتومييسيس ضد *Staph Aureus* عند الاس الهيدروجيني (7) باقطار تثبيط (14, 125, 14)

ملم لكل من الاوساط (Causa Agar, Shuwander Media, Shalgham Media). ومن النتائج اعلاه نجد ان كتلة النمو لم تتفق دائما مع الفعالية التضادية للعزلة ضد البكتريا وهذه يظهر واضحا على وسطي Shalgham Media, Shuwandar Media عندما اظهرت العزلة افضل نمو عند الاس الهيدروجيني (8) بينما كانت افضل فعالية تضادية بالرقم الهيدروجيني (7) لهذين الوسيطين بالاضافة الى Cotton Media والذي اظهر افضل نمو للعزلة عند الاس الهيدروجيني (6). وتتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه الباحثين (Piret and Demain 1983) ان انتاجية المضاد تتخفض بعد الرقم الهيدروجيني (8) وعند الرقم الهيدروجيني (5.5)، فمن بكتريا الستربتومايسيس تنتج اعلى كمية من مضاد Alborixin عند الاس الهيدروجيني 7.5 (Delhomme et al., 1976)، وان تفسير تاثير الاس الهيدروجيني على عمليات انتاج المضادات الحياتية من قبل العزلات المدروسة يعود الى تاثير الانزيمات المشتركة في عملية انتاج المضادات الحياتية او تلك المسؤولة عن تحديد كمية الانتاج بحموضة الوسط اذ ان لكل منها رقم هيدروجيني مثالي لفعاليتها (Magee 1987).

الصفات المظهرية للعزلة S27 على الاوساط المحلية ووسط السيطرة

تبين النتائج الاولية المقدره الجيدة لكل من الاوساط المحضرة من مطحون بذور متوفرة محليا والمذكورة انفا والموضحة في (جدول -2) على نمو العزلة المنتجة عند جميع التراكيز المستخدمة لجميع الاوساط المحضرة على الرغم من التباين في اللون الماييليا الهوائية وكثافة النمو التي ترواحت بين نمو قد يفوق احيانا النمو بالوسط الصناعي المثالي لنموها (Causa Agar) الى نمو جيد وخاصة عند التراكيز (20, 40, 80) غم/لتر و الذي لم تظهر فيه العزلة تغاير في لون الماييليا الهوائية لكل الاوساط المستخدمة باستثناء Corn Media حيث كان النمو فيه اقل مقارنة بوسط السيطرة Causa Agar، لذا يمكن اعتبار (20) غم/لتر افضل تركيز للنمو المثالي لبكتريا الستربتومايسيس على الاوساط المحضرة محليا من مطحون بذور مختلفة، ولم تنتج العزلة صبغات على ايا من الاوساط المنماة عليها باستثناء وسط Shuwandar Media، ولتعزير نمو العزلة تم مزج خلاصات البذور المختلفة و (الجدول -3) يوضح افضل نمو للعزلة في الوسط المحضر من خليط البذور (الشلغم و الشوندر و القطن و الذرة)، اما بقية الاوساط (شلغم و شوندر و قطن) (شلغم و قطن و ذرة) (شلغم و شوندر) (شوندر و قطن) (شلغم و قطن) كان نموها مماثل للنمو على وسط السيطرة Causa Agar واظهرت العزلة نموا اقل

تتمية بكتريا الستربتومييسيس *Streptomyces* في اوساط زرعية محضرة محليا و اوساط صناعية مختلفة ودراسة فعاليتها
التضادية ضد البكتريا المرضية
نهى جوزيف قندلا

على بقية الاوساط. وهذا يقودنا الى امكانية اعتبار الاوساط المحضرة محليا من خلاصة مطحون البذور المختلفة وبالاخص مطحون بذور الشلغم و الثوندر و القطن كاوساط منفردة او عند مزجها مع بعض او مع بقية البذور (الذرة) من الاوساط الملائمة والتي تدعم نمو بكتريا الستربتومييسيس والتي اعطت نمو مماثل او يفوق احيانا نموها على الاوساط التقليدية المصنعة والتي استخدمت، كسيطرة باعتبارها اوساط عينة بالبروتينات كمصدر نايتروجيني و مصدر كاربوني و فيتامينات والتي تعتبر مصدر غذائي مهم لنمو الاحياء المجهرية ذات الاهمية الاقتصادية ويمكن تحضيرها طبيعيا وبتكاليف قليلة (20) غم/لتر مقارنة بالاوساط الصناعية ذو التكاليف الباهظة.

جدول 1 - فعالية عزلات بكتريا الستربتومييسيس المنمأة على الاوساط الصلبة الصناعية والمحلية ضد الانواع البكتيرية

| مجموع | الفعالية ضد انواع البكتيرية | | | عدد عزلات | | الاوساط الزراعية | |
|-------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|----------------|--------------------------|---------------------|-----------------------------|
| | العزلات الفعالة | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>E. coli</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Staph aureus</i> | المنتجة الصناعية والمحلية |
| 15 | - | - | - | + | - | 9 | Causa Agar |
| | - | - | ** | - | - | 1 | |
| | - | - | + | + | + | 5 | |
| 15 | - | - | - | ** | - | 11 | Starch Nitrate Agar |
| | - | - | - | - | - | - | |
| | - | - | + | + | - | 4 | |
| 13 | - | - | - | + | - | 12 | Tryptone Yeast Extract Agar |
| | - | - | - | - | - | - | |
| | - | - | + | + | - | 1 | |
| 7 | - | - | - | + | - | 6 | Shumi Agar |
| | - | - | - | - | - | - | |
| | - | - | - | - | - | 1 | |
| 2 | - | - | - | + | - | 1 | Minimal Media |
| | - | - | - | - | - | 0 | |
| | - | - | + | + | - | 1 | |
| 15 | - | - | - | ** | - | 9 | Shalgham Media |
| | - | - | + | - | - | 1 | |
| | - | - | + | + | - | 5 | |
| 13 | - | - | - | ** | - | 11 | Shuwander Media |
| | - | - | - | - | - | 0 | |
| | - | - | + | + | + | 2 | |

| مجموع العزلات الفعالة | الفعالية ضد الانواع البكتيرية | | | عدد العزلات | | الايوساط الزراعية | |
|--------------------------|-------------------------------|------------------------------|----------------|--------------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>E. coli</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Staph aureus</i> | المنتجة | الصناعية والمحلية |
| 8 | - | - | - | ** | - | 6 | Coton Media |
| | - | - | - | - | - | 0 | |
| | - | - | + | + | - | 2 | |
| 6 | - | - | - | + | - | 5 | Corn Media |
| | - | - | - | - | - | 0 | |
| | - | - | + | - | - | 1 | |

جدول 2- لون الماسيليا الهوائية وكثافة النمو لنعزلة S27
بتركيز مختلفة من الاوساط المحلية

| تركيز الوسط % | | | الايوساط المحلية | | |
|-------------------|---------------------|---------------------|-------------------|---------------------|-----------------|
| 10 | 20 | 40 | 80 | 100 | |
| بيض (++) | رصاصي فاتح (+++) | رصاصي فاتح (+++) | بيض (+++) | بيض (++) | Shalgham Media |
| بيض (--) | رصاصي فاتح (+++) | رصاصي فاتح (+++) | رصاصي (++) | رصاصي ابيض (+++) | Shuwandar Media |
| رصاصي فاتح (-) | رصاصي فاتح (+++) | رصاصي (+++) | رصاصي (+++) | رصاصي فاتح (+++) | Coton Media |
| بيض رصاصي (-) | رصاصي ابيض (++) | رصاصي ابيض (++) | رصاصي فاتح (+) | رصاصي فاتح (-) | Corn Media |

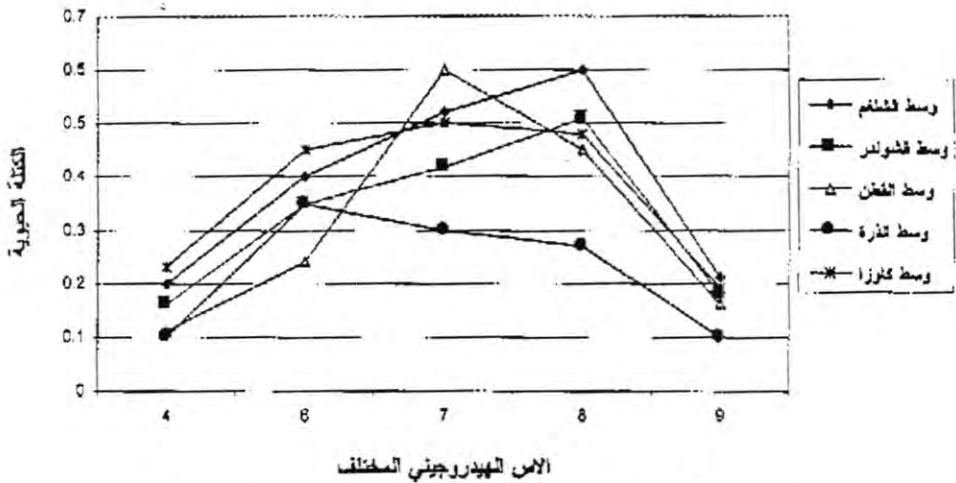
(+) = نمو ضعيف (++) = نمو جيد (+++) = نمو جيد جدا

تنمية بكتريا الستروبتومايسيس *Streptomyces* في اوساط زرعية محضرة محليا و اوساط صناعية مختلفة ودراسة فعاليتها
التضادية ضد البكتريا المرضية
نهى جوزيف قندلا

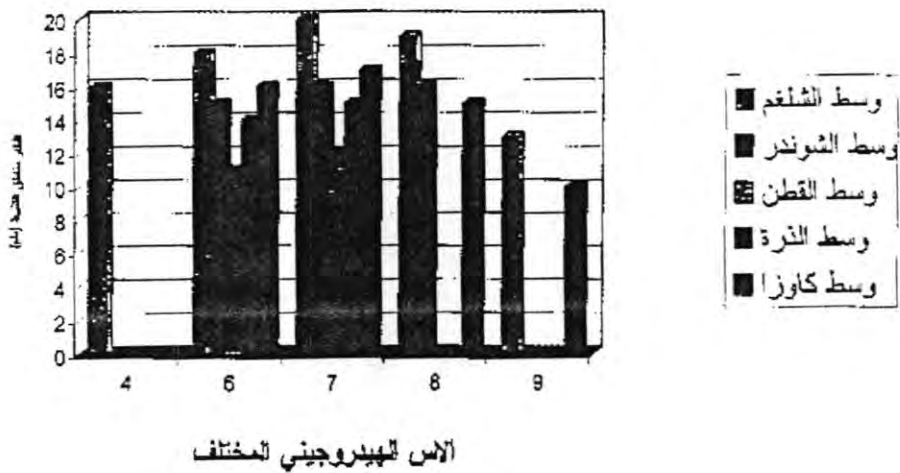
جدول ٣- الصفات المظهرية للعزلة S27 على خليط الاوساط المحلية

| كثافة النمو | الصبغات الذاتية | لون المايسليا الهوائية | خليط الاوساط المحلية |
|-------------|-----------------|------------------------|--------------------------|
| ++++ | + | رصاصي | ثلغم + شوندر + قطن + ذرة |
| +++ | - | رصاصي ابيض | ثلغم + شوندر + قطن |
| ++ | - | رصاصي | ثلغم + شوندر + ذرة |
| +++ | - | رصاصي | شوندر + قطن + ذرة |
| +++ | - | وردي | ثلغم + قطن + ذرة |
| +++ | - | رصاصي ابيض | ثلغم + شوندر |
| ++ | - | رصاصي | قطن + ذرة |
| ++ | - | رصاصي فاتح | ثلغم + قطن |
| ++ | - | رصاصي فاتح | ثلغم + ذرة |
| ++ | - | وردي | شوندر + ذرة |
| ++ | - | رصاصي | شوندر + قطن |
| +++ | - | رصاصي ابيض | وسط كاوزا |

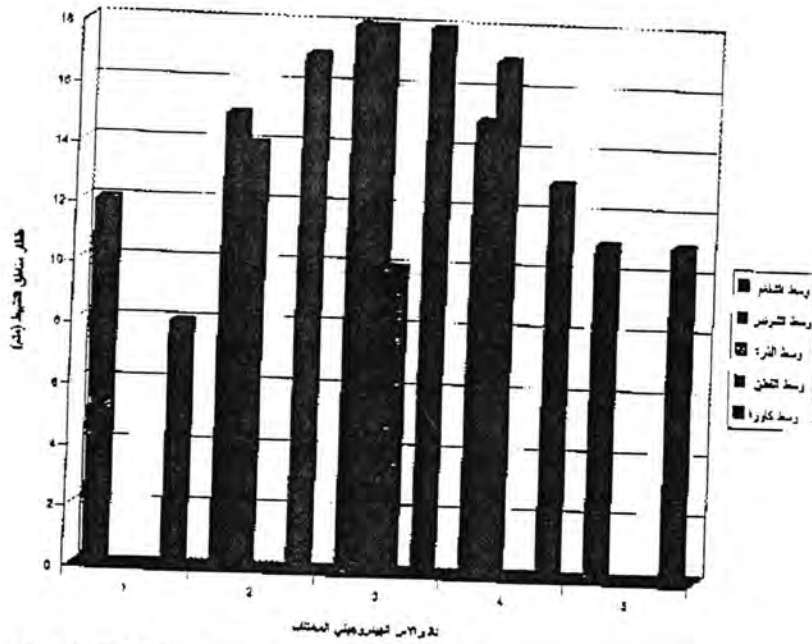
(+) = نمو ضعيف (++) = نمو جيد (+++) = نمو جيد جدا (++++) = نمو كثيف



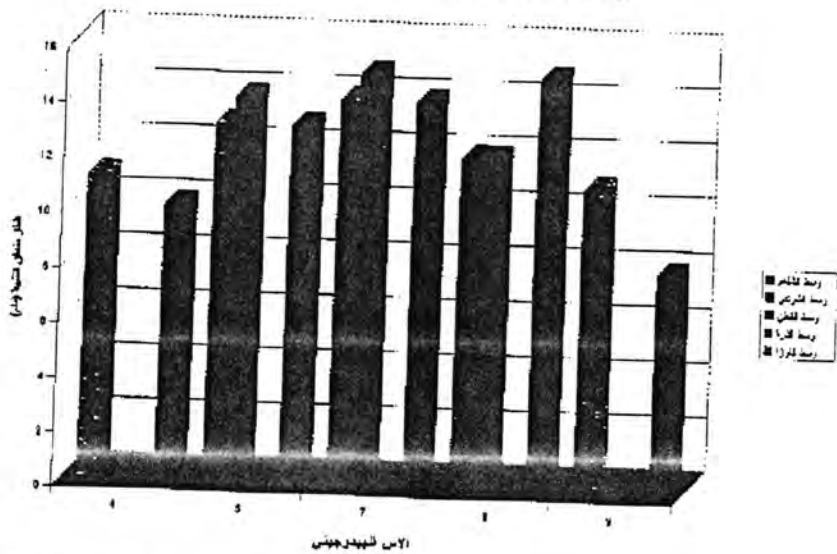
شكل-1 : تأثير الأس الهيدروجيني المختلف على مقدار الكتلة الحيوية للتعزلة S27 في الأوساط المحلية والصناعية



شكل-2 : تأثير الأس الهيدروجيني المختلف على الفعالية التضامية للتعزلة S27 ضد بكتيريا *E. coli* والمنعامة على الأوساط المحلية والصناعية



شكل- 3 : تأثير الأوساط الهيدروجينية المختلفة على الفعالية المضادة للمضادة للعزلة S27 والمنمأة في الأوساط المحلية والصناعية ضد بكتريا *Bacillus subtilis*



شكل- 4 : تأثير الأوساط الهيدروجينية المختلفة على الفعالية المضادة للمضادة للعزلة S27 والمنمأة في الأوساط المحلية والصناعية ضد بكتريا *Staph aureus*

المصادر

١. السعد، مها رؤوف ميادي فسلجة الاحياء المجهرية . الطبعة الاولى . جامعة الموصل. (1982).
٢. العقيدى، فوزية محمود عواد. دراسة الخواص الظهريية والفسلجية لبعض عزلات بكتريا الستربتومايسيس المحبة للحرارة والمعزولة من تربة منطقة الفاو ... رسالة ماجستير، كلية العلوم. جامعة صلاح الدين. (1990).
٣. بيشوب، د. دوجلاس: كارتز، ب. لارك: تشابمان، ر. ستيفن وبينت، فا. ويليم. علم المحاصيل ونتاج الغذاء. طبع بمطابع القاهرة. (1983)
٤. رشيد، شوان كامل. دراسة انتاج المضادات الحياتية من قبل بعض عزلات ال Streptomyces. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة صلاح الدين. (1991).
٥. ناجي، زينب معين. دراسة عن دور البلازميدات في انتاج المضادات الحيوية من بكتريا الستربتومايسيس المعزولة محليا. رسالة ماجستير. كلية العلوم. جامعة بغداد. (1994).
6. Ali N.A., Abdelrahman N. and Baghla A. Use of date products in production of Oxtetracyclin by Streptomyces rimsus. Biotech. Biochem. 57: 987-988. (1993).
7. Bagir A.W., Kandala N.J. Efficiency of Three different Methods for Isolation of Strptomyces from Iraqi soil. Iraqi J. Microb. Vol. 12(2). (2000).
8. Champness C.W. and Chater K.F. Regulation and Integration of Antibiotic Production and Morphological Differentiation in Streptomyces spp. in: Regulation of Bacterial Diffrentation . Piggot P. and Moran C., (ED.) Washington, Dc. Am.Soc.Microbial in Press. (1994).
9. Delhomme C., Kergomard G. Alborixin, a new Antibiotic Hnophore. Taxonomy, Isolation and Biological Properties, J. Antibiotic. Vo. 29: (692 - 95). (1976).
10. Egorov N.S. Antibiotics Scientific Approach. Mir Puplisher, Moscow. (1985).
11. Goodfellow M.D., Lacey J. and Todd C. Numerical Classification of Thermophilic Streptomyces. J. Gen. Microbial. 133: 3135 - 314. (1987).
12. Hopwood D., Bibb M.J., Chater K.F., Kieser T., Burton C.T., Lydiate D.J., Smith C.D., Ward J.M. and Schrepf H. Genetic Manipulation of

- Streptomyces*. A Laboratory Manual. John Innes Foundation, Norwich, U.K. (1985).
13. Kamagata K. Catalogue of Strains, Japan Collection of Microorganisms, 3rd (Ed.) Pup. Tokyo. (1989).
 14. Magee R.J. and Kosark N. Advance in Applied Microbiology. Harcourt Brace Jovanovich Puplichers Acad. Press. INC (London): 107 - 8. (1987).
 15. Mahmoud J.M.J., Jawad A.J., Hussain A.M., Al-Omari M. and Al-Naib A. In vitro Antimicrocial Activity of *Salsola Rosmarinus* and *Adiantum capillus veneris*. Int. J. Crude Drug. Res. Vol. 27: 14 - 16. (1989).
 16. Piret J.M. and Demain A.L. Sporulation and Spore Properties of *Bacillus brevis* and its Gramicidine S-Negative Mutant J.G., En. Microbiol, 129: 1309 - 1316. (1983).
 17. Rassol A.K. Interactions Between Tetracycline Producing Organisms and Bacteria in Continuous Culture. M.SC Thesis, University of Cardiff, U.K. (1980).
 18. Shimi I.R., Nadia A. and Shadia F. Cairomycin B, A New Antibiotic. Antimicrob. Chemother. Vol. 11: 373 - 75. (1977).
 19. Shirling E.B. and Gottlieb D. Method for Characterization of *Streptomyces* spp. Int. Sys. Bacterial., 16(3): 313 - 340. (1966).
 20. Stainer R.Y. General Microbiology, MacMillian Education LTCI Pub. Hong Kong. (1986).
 21. Williams S.T., Godfellow M. and Alderson G. Genus *Streptomyces*. Waksman and Henrici (1943) in: Bergeys Manual of Systematic Bacteriology. Williams S.T., Sharpe M.E. and Holt M.E. (Ed.) Vol. 4: 2452 - 2492. (Williams and Wilkins Co., Baltimor. (1989).
 22. Wright J.L.C. The Lincomycin - Gelesticetin. Anthramycin Group P: 311 - 328. In L.C. Vining (Ed.) Biochemistry and Genetic Regulation of Commercially Important Antibiotics. Addison-Wesley Publishing Company Reading, Massachusetts. U.S.A. (1983).
 23. Wright L.F. and Hopwod D.A. Identification of the Antibiotic Determined by the SCPI Plasmid of *Streptomyces Coelicolor* A3(2). J. Gen. Microbiol. 95: 96 - 100. (1976).
 24. Williams S.T. and Cross T. Actinomycetes in: Methods in Microbiology. Norris J.R. and Ribbons D.W. (ED.) Vol. 4: 295 - 234. Academic Press, London. (1971).
 25. Yeoman K.H. and Edwarvs C.. Growth of Thermophilic Bacteria in Rapemeal-derived Media. J. Appl. Bacterial., 73: 120 - 125. (1992).

حساب قدرة الإيقاف للمركبات في مدى الطاقة (0.2-0.3 MeV)

سحر عبد العزيز، خالد عبد الوهاب، فلاح علي حسين

الجامعة المستنصرية / كلية العلوم / قسم الفيزياء

ABSTRACT

Theoretical study is performed to improve the Bragg's rule for calculation the stopping power in compounds at low-energy region where the chemical effects are significant. The improvement has been noticed when we take in the consideration the stopping power of cores S_{Cores} and the stopping power of bonds S_{Bonds} . We got a good agreement between our theoretical results and the previous experimental measurements .

الخلاصة

تم إجراء دراسة نظرية حول تطوير استخدام معادلة براك لحساب قدرة الإيقاف للمركبات ضمن مدى الطاقة الواطئة حيث تزداد أهمية تأثير الحالة الكيميائية الناتج عن الاختلاف في قيمة معدل جيد التأين المداري لذرات الهدف الذي ينتج عن الاختلاف الذي يحصل بالكثرونات التكافؤ للذرة. وقد لوحظ أن هناك تحسن كبير في حساب قدرة الإيقاف للمركبات من خلال الاعتماد في حسابها على حساب قدرة الإيقاف للمراكز (Cores) والأواصر (Bonds). تم حساب المدى لجسيمة ألفا في عدد من المركبات الغازية بالاعتماد على قدرة الإيقاف للمراكز والأواصر من خلال وضع صيغة شبه تجريبية، وكانت النتائج مقاربة للقياسات العملية.

المقدمة

تعرف قدرة الإيقاف $\left(-\frac{dE}{dx}\right)$ بأنها معدل الطاقة المفقودة لوحدة المسار⁽¹⁾ حيث أن -

dE يمثل معدل الطاقة المفقودة و (x) طول المسار. وقد وضع العالمان (Bragg &

⁽²⁾Kleeman (1905) قاعدة لحساب قدرة الإيقاف للمركبات عن طريق جمع قدرات الإيقاف

للعناصر المكونة للمركب موزونة بنسبة تواجد العنصر في المركب. لكن قاعدة براك تعمل تأثير

سحر عبد العزيز وجماعتها

الاصرة الكيميائية والحالة الفيزيائية فأن نتائجها لا تكون دقيقة ضمن مدى الطاقة الواطئة، حيث يكون تأثير التركيب الكيميائي على قدرة الإيقاف للمركبات واضح في مدى الطاقة حول ودون القمة من منحني القدرة، ولتلاشي عدم الدقة في قاعدة براك أشار⁽³⁾ (Koln 1975) الى أهمية إضافة تأثير الاصرة الكيميائية إلى قاعدة براك أي انه

$$S_{comp} = \sum_i n_i S_i + \Delta S \quad \dots\dots(1)$$

حيث أن:

$$\sum_i n_i S_i : \text{قيمة قدرة الإيقاف باستخدام قاعدة براك للعنصر } S_i \text{ بنسبة } n_i .$$

ΔS : مجموع الاصرة الكيميائية للنظام (الهدف).

وطورت هذه الصيغة من قبل⁽⁴⁾ (Sabin & Oddershede 1987) من خلال

الاعتماد في حساب قدرة الإيقاف للمركب على تجزئة الذرة الى جزئين المركز (Core) الذي يمثل بالمدار ($1S^2$) والجزء الخارجي والصيغة الموضوعه للحساب هي كما يلي:

$$S_{comp} = \sum_i S_i^{Cores} + \sum_j S_j^{Bonds} \quad \dots\dots(2)$$

حيث S_{CAB} : قدرة الإيقاف للمراكز والأواصر.

S_j^{Bonds}, S_i^{Cores} : قدرة الإيقاف للمراكز (Cores) والأواصر (Bonds) على الترتيب

ويمكن تعريف قدرة الإيقاف للمراكز (Cores) بأنها معدل الطاقة المفقودة لوحدة

المسار نتيجة التفاعل بين الجسيم المشحون الساقط وإلكترونات المدارات المغلقة لذرات الهدف،

أما قدرة الإيقاف للأواصر فتعرف بأنها الطاقة المفقودة لوحدة المسار نتيجة التفاعل بين الجسيم

المشحون الساقط وإلكترونات الأواصر لذرات الهدف، ومن المعلوم إن هذه الأواصر تكون

مختلفة مثل H-C, C=C, C-O وغيرها.

نظراً لأهمية الشحنة الفعالة في مدى الطاقة الواطئة، من الممكن الاعتماد عليها في

حساب قدرة الإيقاف للمركبات حيث انه من الممكن حساب قدرة الإيقاف لأي أيون بالاعتماد على

قدرة الإيقاف للبروتون والذي يتحرك بنفس سرعة الأيون مضروبة بالشحنة الفعالة للبروتون أي انه:

$$S_{Z1} = S_p (\gamma \cdot Z_1)^2 \quad \dots(3)$$

حيث أن :

S_{Z1}, S_p : تمثل قدرة الإيقاف للبروتون والجسيم الساقط على التوالي.

$(\gamma \cdot Z_1)$: تمثل حالة الشحنة للجسيم الساقط.

وبالرجوع إلى ⁽⁵⁾ (Thawites) حيث انه من الممكن حساب قدرة الإيقاف للمركب

باستخدام الصيغة الآتية :

$$S_{comp} = S_{Bragg} \frac{f(\chi)^{comp} \cdot 125eV}{f(\chi)^{Bragg} 125kEV} \quad \dots(4)$$

من المعادلة (4) و (3) نحصل على :

$$S_{Z1} = (\gamma \cdot Z_1)^2 S_{Bragg}^p \left[f(v) \left(\frac{S_{CAB}}{S_{Bragg}} \right)_p^{125KeV} \right] \quad \dots(5)$$

حيث أن :

$S_{Bragg}(v)$: يمثل قدرة الإيقاف للبروتون عند السرعة (v)

$[S_{Bragg}, S_{CAB}]^{125KeV/amu}$: يمثلان قدرة الإيقاف للبروتون والمحسوبيتان بطريقة المراكز

والأواصر وبطريقة براك عند طاقة 125KeV.

$f(v)$: تمثل دالة اختفاء الانحراف في معادلة الجمع لبراك في الطاقات العالية وقد فرضت من

خلال العمل كما يلي :

$$f(v) = \frac{2\alpha}{1 + Ae^{\lambda v}} \quad \dots(6)$$

حيث v_r : يمثل النسبة بين سرعة إلكترونات الأيون إلى سرعة إلكترونات الهدف.

حيث أن :

$$v_r = \frac{v_1}{v_0 Z^{2/3}}$$

α : كمية ثابتة ($\alpha=1$)

A, λ : كميات ثابتة

ومن صفات الدالة $f(v)$ عند السرعة الواطية $v_r \rightarrow 0$ لذا فان الدالة $f(v) \rightarrow 1$ أي أن الثابت $A \rightarrow 1$ ولكن عند السرعة العالية $v_r \rightarrow \infty$ فان الدالة $f(v) \rightarrow 0$.

الجزء النظري

من الممكن الاعتماد على الصيغة الآتية لحساب قدرة الإيقاف للمركبات في مدى الطاقة

الواطنة أي انه ⁽⁶⁾ (Sorenson) :

$$S_e = \left(\frac{0.307072\pi^3}{\beta^2} \right) Z_1 \left(\frac{Z_2}{A} \right) \chi^6 C(\chi) \left(\frac{v}{v_0} \right)^3 \quad \dots(8)$$

$$S_e : \text{بوحدة } \frac{\text{MeV.Cm}^2}{\text{gm}}$$

حيث أن :

(χ) : معامل الكثافة Density Parameter وتساوي

$$\chi = \left(\frac{3.250}{1\text{eV}} \right)^{1/3} \quad \dots(9)$$

$C(\chi)$: دالة التوقف (Stopping Function) وتساوي :

$$C(\chi) = C_1(\chi) + bC_2(\chi)$$

$C_1(\chi)$ و $C_2(\chi)$: تمثل دالة معامل الكثافة Density Dunction

b : يمثل كمية ثابتة

v_0, v_1 : سرعة بور وسرعة الأيون الساقط.

Z_1 و Z_2 : العدد الذري للجسيم والوسط.

A : العدد الكتلي للوسط.

$$\frac{v}{c} = \beta$$

ومن الممكن كتابة معادلة (8) كما يلي :

$$S_{\text{comp}} = f(\beta) f(\chi) \quad \dots\dots(10)$$

حيث أن :

$$f(\beta) = \left(\frac{0.307072 \cdot \pi^3}{\beta^2} \right) Z_1 \left(\frac{v}{v_0} \right)^3$$

$$f(\chi) = \left(\frac{Z_2}{A} \right) \chi^6 C(\chi)$$

ولكون قاعدة براك للجمع لا تصح في مدى الطاقة الواطئة لذلك وجب تصحيح براك وكما يلي :

$$S_{\text{Bragg}} = \sum_i w_i S_i \quad \dots\dots(11)$$

حيث أن :

S_i : قدرة الإيقاف للعنصر المكون للمركب.

w_i : نسبة تواجد العنصر في المركب.

يمكن اعادة كتابة معادلة (11) كما يلي :

$$S_{\text{Bragg}} = f(\beta) \sum_i w_i \left(\frac{Z_2}{A} \right) \chi_i^6 C(\chi) \quad \dots\dots(12)$$

أي أن :

$$S_{\text{Bragg}}(\chi) = f(\beta) \sum_i f(\chi_i) \quad \dots\dots(13)$$

بقسمة معادلة (10) على معادلة (13) نحصل على :

$$S_{\text{comp}} = S_{\text{Bragg}} \frac{f(\chi)_{\text{comp}}}{f(\chi)_{\text{Bragg}}} \quad \dots\dots(14)$$

أي بمعنى آخر :

$$\frac{S_{\text{comp}}}{S_{\text{Bragg}}} = \left(\frac{\chi_{\text{comp}}}{\chi_{\text{Bragg}}} \right)^6 \left(\frac{C(\chi_{\text{comp}})}{C(\chi_{\text{Bragg}})} \right) \quad \dots(15)$$

ولكون

$$\chi^6 \propto I^{-2} \quad \dots(16)$$

عندئذ تصبح معادلة (17) كالآتي :

$$S_{\text{comp}} = S_{\text{Bragg}} \left(\frac{I_{\text{Bragg}}}{I_{\text{comp}}} \right)^2 \left(\frac{C(\chi)_{\text{comp}}}{C(\chi)_{\text{Bragg}}} \right) \quad \dots(17)$$

النتائج والحسابات

تم حساب قدرة الإيقاف بدون المراكز والأواصر باستخدام معادلة (8) ومقارنتها مع معادلة براك المعدلة (14) ومقارنتها مع قدرات الإيقاف العملية للباحثين⁽⁷⁾ (Al-Din (1984) وReiter (1990)⁽⁸⁾ للمركبات الغازية (CO₂, C₆H₁₄, C₅H₁₂, C₄H₁₀, CH₄) وتم مقارنة النتائج اعلاه مع قدرات الإيقاف مع المراكز والأواصر حيث تم حسابها باستخدام معادلة (2) وعند طاقة 125KeV ولجميع المركبات.

ولتوضيح عملية حساب قدرة الإيقاف للبروتون للمراكز والأواصر SCAB لمركب الميثان (CH₄) كمثال وهو احادي الاصرة وبالاعتماد على قيم قدرات الإيقاف للمراكز والأواصر لـ⁽⁹⁾ (Ziegler).

$$\begin{aligned} S(\text{CH}_4) &= 4(\text{Hcore}) + 1 (\text{cores}) + 4 (\text{C-H bond}) \\ &= 4(0.0) + 1 (6.145) - 4(7.224) \\ &= 35.041 \end{aligned}$$

وهكذا بالنسبة لبقية المركبات. وكما تم تطبيق معادلة (5) لحساب قدرة الإيقاف لجسيمة الفا في المركبات المذكورة وقد تم حساب قيمة المعاملات A. λ. في معادلة (6) بالاعتماد على طريقة المربعات الصغرى والموضحة قيمها في الجدول (1).

جدول (1)

يمثل افضل القيم للمعاملات λ , A في معادلة (6)

| رمز المركب | A | λ |
|--------------------------------|---------|--------------|
| CH ₄ | 1.827 | -0.367±0.002 |
| C ₄ H ₁₀ | 0.872 | 0.026±0.005 |
| C ₅ H ₁₂ | 2.948 | -0.905±0.013 |
| C ₆ H ₁₄ | 4.792 | -1.338±0.016 |
| CO ₂ | 0.33689 | 15.1627 |

كما يوضح الجدول (2) التركيب الكيميائي للمركبات المستخدمة وقيمة قدرة الإيقاف للبروتون للمراكز والأواصر وقدرة الإيقاف للبروتون لبراك وعند طاقة 125KeV. ويجدر الإشارة هنا الى انه تم حساب العدد الذري للمركب بالاعتماد على معامل التقييس (Sermad) (Scaling Parameter) (Zr)⁽¹⁰⁾ (1999).

جدول (2): يمثل التركيب الكيميائي للمركبات الغازية المستخدمة وقدرة الإيقاف

للمراكز والأواصر للبروتون عند طاقة 125keV/amu وقدرة إيقاف براك للبروتون عند طاقة 125KeV

| اسم المركب | الرمز | التركيب الكيميائي | S _{CAB} (125keV) | S _{Bragg} (125keV) |
|----------------|--------------------------------|---|---------------------------|-----------------------------|
| Methane | CH ₄ | H H - C - H H | 35.041 | 34.989 |
| N-Butane | C ₄ H ₁₀ | H H H H H - C - C - C - H H H H H | 108.634 | 108.107 |
| N-[entane] | C ₅ H ₁₂ | H H H H H H - C - C - C - C - H H H H H H | 133.165 | 132.480 |
| N-hexane | C ₆ H ₁₄ | H H H H H H H - C - C - C - C - C - H H H H H H H | 157.696 | 156.852 |
| Carbon Dioxide | CO ₂ | O=C=O | 44.889 | 47.22 |

يوضح الشكل (1) مقارنة بين قدرات الإيقاف لجسيمة ألفا في المركبات الغازية (هكسان

C₆H₁₄، بنتان C₅H₁₂، بيوتان C₄H₁₀، الميثان CH₄، ثاني اوكسيد الكربون CO₂).

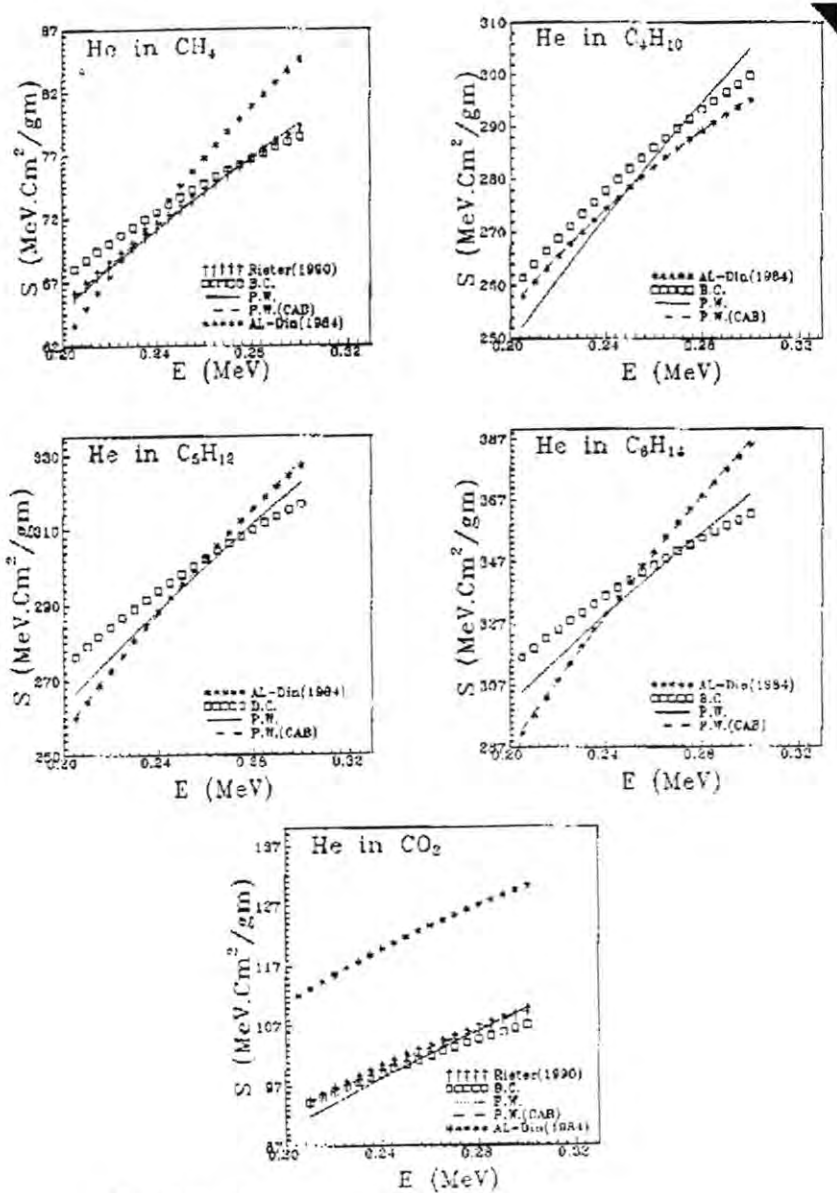
سحر عبد العزيز وجماعتها

ونلاحظ من الشكل وجود تطابق كبير بين قدرات الإيقاف المحسوبة بالاعتماد على المراكز والأواصر وقدرات الإيقاف العملية ولجميع المركبات. وكما يبين الشكل (١) انه بالاعتماد على معادلة (8) لحساب قدرة الإيقاف (بدون المراكز والأواصر) قد حصلنا على نتائج انحرافها عن القياسات العملية مساوية تقريباً الى تلك المحسوبة باستخدام تصحيح براك والسبب في ذلك يعود الى اعتماد صيغة معادلة (٨) في الحساب على معدل جهد التأين للمركب من خلال الاعتماد على معامل الكثافة.

المناقشة

يتبين من خلال البحث انه عند الأخذ بنظر الاعتبار تفاعل الأيون الساقط مع جميع الكترولونات المركب (المراكز Cores، الأواصر Bonds) نحصل على قيم لقدرات الإيقاف مطابقة إلى القيم العملية وكما يتبين انه عند حسابها بدون المراكز والأواصر فاننا سوف نحصل على انحراف عن العملية ولكنها تكون افضل من الحساب بالاعتماد على صيغة براك. إضافة إلى انه عند الطاقات الواضئة يجب اخذ الشحنة الفعالة بنظر الاعتبار. كما ان معدل جهد التأين (I) له تأثير مهم في حساب قدرة الإيقاف.

ونلاحظ من الشكل أن قدرات الإيقاف للمركبات التي تحتوي على عدد ذرات كاربون اكبر وأواصر هيدروجينية اكثر تكون أعلى من قدرات الإيقاف للمركبات التي تحتوي ذرات كاربون اقل وأواصر اقل وتفسير ذلك انه بزيادة عدد الذرات والأواصر سوف تزداد قدرة الإيقاف لها وهذا يؤثر بالطبع على قدرة الإيقاف الكلية.



B.C. = تصحيح براك

شكل (١)

مقارنة بين القدرات للإيقاف للمراكز والأواصر وبدون المراكز والأواصر وتصحيح براك وقدرات الإيقاف
العملية للمركبات الغازية
[CH_4 , C_4H_{10} , C_5H_{12} , C_8H_{18} , CO_2]

المصادر

1. ICRU, Recommendation of ICRU, Natl. Bur. Handbook, Wahington 85:4, (1964).
2. Bragg.W.H. & Kleeman, B. Philos. Mag. And J. of Science, 10:318-346, (1905).
3. W. Neuwirth, W. Pietsch, K. Richter and Hauser, Z. Physik A275 , 215(1975).
4. Sabin, J.R.&Oddershede, J. Nucl. Inst. And Meth. B27:280-286, (1987).
5. Thwaites, D.I. Nucl. Inst. And Meth. B69:53-63,(1992).
6. Sorenson, A.H. Nucl. Inst. And Meth. B48:10-13, (1990).
7. Al-Din, E.S. Ph.D. Thesis, University of Dundee, (1984).
8. Reiter, Kniest N., Pfaff, E. & Clausnitzer, G. Nucl. Inst. And Methods in Physics B44, 399-411, (1990).
9. Ziegler, J.F. & Manayan J.M. Nucl. Inst. And Meth. B35, 215-228, (1988).
10. Sermad, Phy. Rev. A 58, 5008-5010, (1998).