

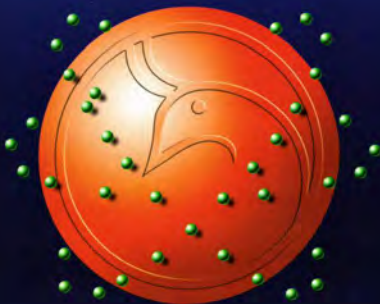


Al-Mustansiriyah

ISSN 1814 - 635X

Journal of Science

Vol. 15, No. 1, 2004



Issued by College of Science - Mustansiriyah University

**AL-MUSTANSIRIYA
JOURNAL OF SCIENCE**

**Head Editor
Prof.Dr.
Abdul Samee AL-Janabi**

**General Editor
Dr.
Salah M. Aliwi**

Editorial Board

Dr. Hassan H.Salman	Member
Dr. Khalil M.Khammas	Member
Dr. Mohammed El-Sherbini Ali	Member
Dr. Tariq S.Najim	Member
Dr. Abid Ali H.Altai	Member
Dr. Kadum H.Mossawi	Member

Contents

<u>Item</u>	<u>Page No.</u>
Purification of IgA protease from Native strain of streptococcus sanguis (N14). Nada H.A.Al-Mudallal, E.F.A.Al-Jumaily, Subhi J.Hamza and A.W.R.Hamad.	1
Comparative study on in vitro Activity of Cefepim & Ciprofloxacin Against G-Ve Bacilli In A General Hospitals in Baghdad. Mohammed F.Al-Marjani, Fouad A.Al-Kassmii, Abbaas A.Al-Duliamy	15
Phagocytosis of leishmania donovani amastigote by activated macrophages induced by polysaccharide extracted from. Dr.Bedir Al-Azawi, Hasna'a Hamid.	26
Couglase negative Staphylococcus aureus in Postoperative wound infection and otitis media. Shama M.Jawad saadaldin Al-Sadidi.	37
Alkaline phosophtase level in sera of patient's with chronic renal failure. Sura Ahmed Al-Emami, Nada Noori Hussan.	45
Determination of Molybdenum and Chromium in alloy steel and water sample by liquid chromatograph. Hadi Hassen Jasim.	55
Scrum Uric acid level in non dnsulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM) . Sura Ahmed Al-Emami	63
Pregnancy Diagnosis test by optical Means. Hashim H.Jawad, Zaydoon A.Hafid, Hamed M.Amin, Amer D.Majeed.	71
الجاذب الغريب البعد والحركة الفوضوية لتطبيق ثنائي البعد غير خطي وقابل للانعكاس. صبيا نوري مجيد.	75

Purification of IgA protease from Native strain of *Streptococcus sanguis* (N14)

Nada H. A.Al-Mudallal * E.F.A.Al-Jumaily Subhi J. Hamza** and A.W.R. Hamad

Biotechnology Dept. College of Science, University of Saddam

* Biotechnology Dept. , Genetic engineering and Biotechnology Institute , University of Baghdad

** Biotechnology Dept. College of Science, University of Baghdad

الخلاصة

تم فصل وتنقية انزيم البروتيز المنقى من العزلة (*Streptococcus sanguis* (N14) باستخدام الترسيب بكبريتات الامونيوم بنسب اشباع تراوحت بينت (1-30%) و (30-60%) ، كروماتوغرافيا التبادل الايوني باستخدام عمود DEAE-cellulose ، ثم جمعت الاجزاء التي اظهرت افعالية لانزيم البروتيز والتي تمثل الانزيم المنقى بصورة جزئية ومررت خلال كوزماتوغرافيا الترشيح الهلامي باستخدام عمود الـ Sepharose 6B ، وقد وجد ان الانزيم المنقى يحمل فعالية انزيمية مقدارها 100 وحدة/ مليليتر وتركيز بروتين مقدار 1.8 ملغم/مليليتر ، بفعالية انزيمية 555.5 وحدة / ملغم بروتين وبعد مرات تنقية مقدارها 4.33 وبحصلية انزيمية مقدارها 7.2%. تم تقدير الوزن الجزيئي لانزيم البروتيز المنقى باستخدام كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي باستخدام عمود الـ Sepharose 6B وباستخدام مجموعة من البروتينات القياسية ذات اوزان جزيئية واطنة ، وقد وجد ان البروتيز المنقى يحمل جزيئياً مقداره 56231 دالتون . وجد بان الفعالية الانزيمية قد ثبتت تماماً خلال المفاعلة مع 50 ملي مولار EDTA و NaF (0.015 مولار) و SDS (2%) . وقد وجد ان احسن مثبط لفعالية الانزيم هو الـ SDS بالمقارنة مع EDTA و NaF .

Abstract

Separation and purification of *S. sanguis* (N14) proteolytic enzyme was done by gradual precipitation with (0-30%) and (30-60%) saturated ammonium sulfate, ion exchange chromatography on DEAE cellulose column then, the active fractions of partially purified protease were further purified through gel filtration chromatography on sepharose-6B column. Purified protease gave an activity of (100 unit/ml), protein concentration of (1.8 mg/ml) , specific activity of (555.5 unit/mg) with purification folds of (4.33) and a yield of (7.2%).

Determination of *S. sanguis* (N14) purified protease molecular weight was elucidated by the use of gel filtration on Sepharose -6B column, which determined as (56231 dalton). Complete inhibition of enzyme activity was found with (0.05M) EDTA. (0.015M) NaF and (2%) SDS. SDS was best inhibitor of proteolytic activity.

Introduction

The first detection for changes in the structure of IgA induced by bacteria in vitro was demonstrated by Muller in 1971, who reported that strains of *Niesseria meningitides* and *Niesseria gonorrhoeae* possess proteolytic activity that invariably induced selective changes in the electrophoretic mobility of human IgA⁽¹⁾.

IgA protease plays a role in bacterial virulence because it is very specific for human serum and secretory IgA (Immunoglobulin A) of A1 subclass. This enzyme does not hydrolyze either human IgA2 or human immunoglobulin of other classes. It has also no action against human kappa or lambda light chain and IgA proteins from other species with the exception of the serum IgA from two higher primates, the gorilla and chimpanzee.^(2,3)

The partial purification of the enteric microbial IgA protease, was achieved by column chromatography⁽⁴⁾, Plaut *et al.*,⁽³⁾ also described partial purification of the gonococcal, meningococcal and streptococcal IgA proteases by several methods and an enzyme preparation that produced approximately 3,800 folds of purification and exhibited two bands (65,000 to 70,000 daltons).

All IgA proteases, described as extracellular, metal-chelator sensitive endopeptidases. The enzymes which produce by *S. sanguis*, *S. mitior* and *S. pneumoniae* were inhibited by EDTA with low concentration 5mM, and that means they are metal-dependent proteases. Neutral proteases and alkaline proteases. *S. sanguis* IgA protease are inactivated by 5 and 10 mM sodium fluoride^(5,6).

The aims of this study are separation and purification of IgA protease from *Streptococcus sp.* and *in vitro* study of cleavage of the isolated IgA protease on human colostrum (S-IgA).

Materials and Methods

Chemicals:

Sepharose-6B ,DEAE-cellulose DE-52, Column were purchased from Pharmacia Fine Chemicals. Coomassie Brilliant Blue, protein standards (SDS-7) were obtained from Sigma Co. other chemicals were supplied by BDH Chemicals.

Bacterial isolates :

Isolation of bacteria *Streptococcus sanguis* (N14) was isolated from plaque, which obtained from Biotechnology Department , College of Science , Saddam University.⁽⁷⁾

Growth of bacteria

Bacterial isolate was grown on the surface of brucella agar medium supplemented with (5%) horse blood, and incubated at 37°C for 48 hours. A stock culture suspension was prepared by inoculating a separated colony in (5ml) Todd-Hewitt broth tube and incubated at 37°C to (O.D= 3.5). A (2.5 ml) of this stock culture was inoculated into (250ml) Todd-Hewitt broth flask and incubated for 24-48 hours at 37°C to (O.D=0.75).

Production of protease

S. sanguis (N14) was suspended on Todd-Hewitt broth medium which was known to stimulate enzymatic production. Viable count of bacterial culture was estimated, bacterial density in all cultures was followed to obtain an equal growth in all experiments and considered as O.D.= 0.35 which represent 46×10^8 cells/ml.

Separation of IgA protease:

The broth culture was centrifuged at (5,000xg) for 30 minutes, 4°C. The pH of supernatant was adjusted to (7.2) with (1N) NaOH, Protease activity was determined ⁽⁸⁾ and Protein concentration was determined ⁽⁷⁾.

A quantity of (16.4g) of solid ammonium sulfate was slowly added at 4°C to each (100ml) of supernatant, while the broth was stirred to yield saturated solution of (0-30%), then centrifuged at (5000xg) for 30 minutes at 4°C. Supernatant was separated, and another portion (18.1g) of ammonium sulfate was then added to each (100ml) of supernatant to obtain the saturation of (30-60%). Protease activity and protein concentration were estimated for the precipitates after dissolving in a small volume of (0.05M) Tris-HCl buffer (pH 8.0), then dialyzed against (1000ml) of (0.05M) tris- HCl buffer (pH8.0) for 24 hours.

c. Purification of IgA protease by ion exchange chromatography:

DEAE-cellulose column (10X1.5cm) was prepared and packed following the method described by Pharmacia company, and equilibration was done with (0.02M) Tris-HCl buffer (pH 8.0). An amount of (8ml) of dialyzed protease was passed through DEAE-cellulose column and equilibrate with (50ml) of (0.02M) Tris-HCl buffer (pH8.0). Then a (200ml) of a gradient of (0.02M) Tris-HCl buffer (pH 8.0) to (0.3M) NaCl, was passed through the exchanger at a flow rate of (50ml/hour). A (5ml) fractions were collected.

Purification of IgA protease by gel filtration chromatography:

Sepharose 6B column (57X2.1cm) was prepared and packed according to the instruction of the manufacturing company Pharmacia. The column was equilibrated with (0.2M) Tris-HCl buffer (pH8.0), at a flow rate of (60ml\hour).

A quantity of (3ml) sample of partially purified IgA protease was added to the column, carefully using pasture pipette. Elution of protein was done with the application of (325ml) (0.2M) Tris-HCl buffer (pH8.0). A (5ml) fractions were collected, then protein content was estimated by measuring the absorbency at (280nm). The major peaks were determined by plotting the absorbency of protein fractions versus the elution volume.

Determination of molecular weight of IgA protease by gel-filtration

1.Determination of the void volume (v_0) of the column :

Sepharose 6B column (57X2.1cm) was prepared and packed according to the instructions of the manufacturing company (Pharmacia-Sweden). The column was equilibrated for 24 hours with (0.2M) Tris-HCl buffer (pH8.0), at a flow rate of (60ml/hours).A (2ml) of blue dextrane 2000 solution was passed through the column, then (0.2M) Tris-HCl buffer (pH8.0),about (215ml) was added to the column. Fractions of (5ml) were collected. The absorbency at (600nm) for each fraction was measured. The column (void volume) was determined by estimation of total volume of the fractions as characterized with start point movement of the blue dextrane to that of the climax of absorbency of the blue dextrane.

Determination of IgA protease's elution volume (v_e):

Sepharose 6B column (57x2.1cm) was prepared, packed and equilibrated for a second time. A (3ml) of purified protease sample was passed through Sepharose 6B column carefully and eluted with (325ml) of (0.2M) tris-HCl buffer (pH8.0), at a flow rate of (60ml/hour).

Fractions of (5ml) each of protein were collected.The elution volume (v_e) was estimated for the separated and dissolved fractions of the enzyme, by following the absorbency at (280nm).

Measurement of standard protein's elution volume (v_e):

A quantity of (2ml) of the following standard proteins (Therglobulin A., 660.000; Eerritin, 440.000; Catalase, 230.000; Aldolase, 150.000.) were applied through Sepharose 6B column (57x2.1cm), then eluted with (0.2M) Tris-HCl buffer (pH8.0) , at a flow rate of (60 ml/hour) .

The elution volume (v_e) was estimated for each standard protein by following the absorbency for the separated fractions at wave length of (280nm).

The (v_e/v_0) ratio was calculated for each standard proteins and for the dissolved fractions and separated fractions of purified protease, then standardization was done by plotting the elution volume (v_e) of each standard protein to the void volume (v_0) of the blue dextrane 2000(v_e/v_0) versus the log value of molecular weight ^(9,10). The protease molecular weight accordingly calculated.

Inhibitors studies:

A mixture of (200 μ l) of purified protease about (100unit/ml) with (1800 μ l) of (2%) casein, incubated at 37⁰C for 30 minutes with (200 μ l) of each concentration of the following inhibitors: EDTA 0.05,0.025,0.015,0.010 and 0.005M .NaF 0.025,0.015,0.010 and 0.005M .SDS 1% and 2% .

The mixture was halted with (3ml) of (5%) TCA as described previously in (3.1.3.3.a). After centrifugation at (3000xg) for 30 minutes ,the absorbency was determined at (275nm) for the supernatant ,and protease activity was estimated in according to tyrosine standard curve.

Protease activity was also determined for the control (free of inhibitors).Blank of protease with inhibitors containing (1800 μ l) of (2%) casein with (3ml) of (5%) TCA and (200 μ l) of each concentration of each inhibitor, to prevent any reaction between protease and the casein.

Results and Discussion

Separation of protease:

Separation of IgA protease from culture of *S.sanguis* (N14) was done by using centrifugation at 5000xg for 30 minutes at 4°C. Protease activity, protein concentration and specific activity was determined for the supernatant of the culture fluid, after each precipitation and for the purified enzyme. Results shown in table (1), indicate that during gradual precipitation of crude protease with saturated ammonium sulfate, visible activity was determined when (30-60%) saturated ammonium sulfate was used. An amount of protein (0.4mg/ml) was precipitated which represent activity of (115 unit/ml). Specific activity was also determined which found to be (287.5unit/mg) of protein after (2.25) folds of purification which represent (69%) yield of enzyme. This result agreed with the finding of ⁽¹²⁾, who find a high portion of protease was precipitated during gradual precipitation with (30-60%) saturated ammonium sulfate.

The precipitated crude enzyme was subjected to various steps of purification prior to activity determination.

Purification of IgA protease:

Purification by ion exchange chromatography:

Purification of IgA protease was done by ion exchange chromatography using DEAE-cellulose column. Results shown in figure (1) indicate that washing with (50 ml) of 0.02M Tris-HCl buffer (pH8.0), allowed the appearance of small peak represent fractions (5-10). Plotting (200ml) gradient of 0.02M Tris-HCl buffer with 0.3M NaCl solution, one peak was obtained and represented by fractions (18-50), each combined fractions was tested for protease activity, protein concentration and specific activity. Accordingly, only fractions (24-26) gave protease activity.

Purification of IgA protease from Native strain of Streptococcus sanguis (N14)

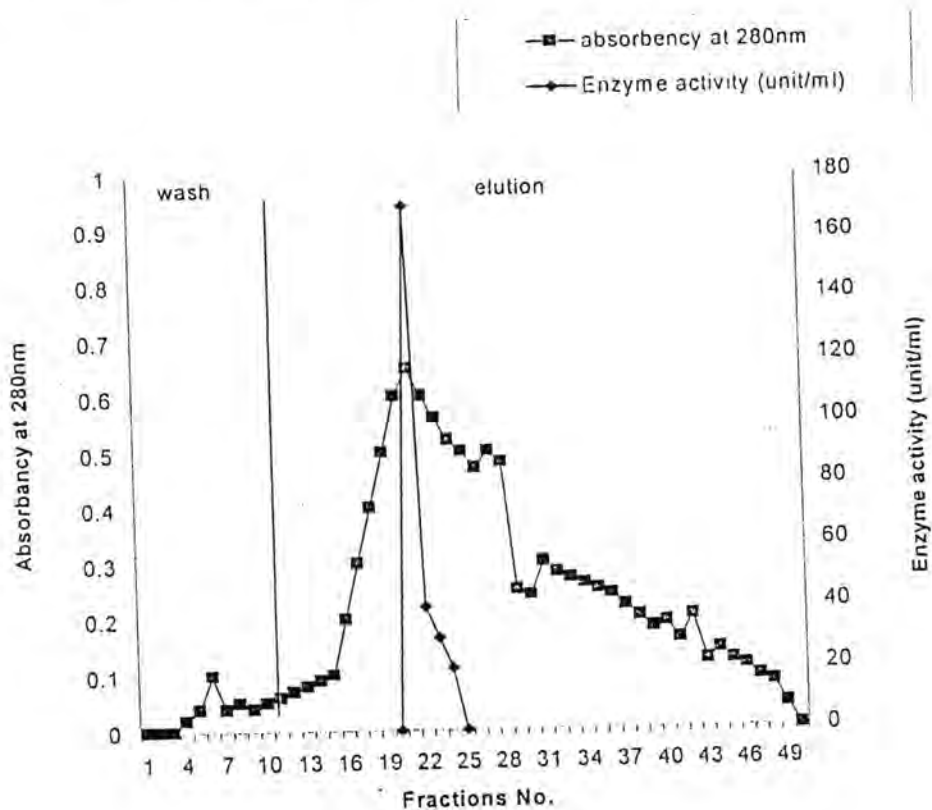
*Nada H. A.Al-Mudallal * E.F.A.Al-Jumaily Subhi J. Hamza** and A.W.R. Hamad*

Results shown in table (1). indicate that, an amount of (175 unit/ml) with a protein concentration of (0.25 mg/ml) and specific activity (700 unit/mg) of protein was obtained with purification folds (5.46) and yield of protease of (21%).

Table(1):Purification steps and yield of IgA protease from *S.sanguis* (N14).

Steps	Volume (ml)	Enzyme activity (unit/ml)	Protein conc. (mg/ml)	Specific activity (unit/mg protein)	Purification factor (fold)	Yield (%)
Crude extract	250	50	0.39	128.20	1	100
Sat. ammonium sulphate (30-60%)	75	115	0.4	287.5	2.25	69
Ion-exchange DEAE-cellulose column	15	175	0.25	700	5.46	21
Gel-filtration Sepharose-6B column	9	100	0.18	555.5	4.33	7.2

Figure (1): Purification of IgA protease on DEAE-cellulose column (10x 1.5 cm), washing with 50ml of 0.02M Tris-HCl buffer pH8.0) and eluted with 200ml of a gradient of 0.02M Tris-HCl buffer (pH8.0) to 0.3M NaCl.

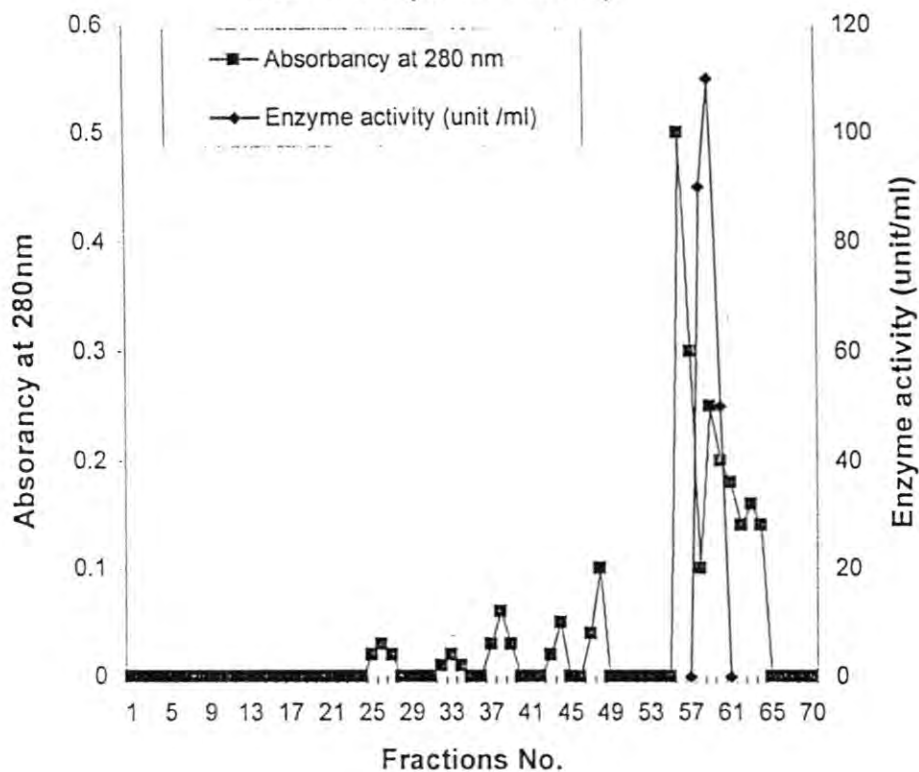


Purification of IgA protease by gel filtration chromatography:

Partially purified protease represented by fraction (24-26) was subjected to further purification processes using gel filtration column. Results shown in figure (2) indicate the presence of two major peaks, the first peak represented by fractions (55-58), and the second peak represented by fractions (58-60). Each fraction was tested for protease activity results show that fractions (55-58) poss. no protease activity. However, most of the activity was noticed related to fractions (58-60) which represent the second peak that pooled together and their activity.

rotein concentration and specific activity was determined. Results shown in table (1), indicate that protease activity of (100 unit / ml) with a protein concentration of (0.18 mg/ml) and specific activity of (555.5 unit/mg) with purification folds of (0.072) and yield of enzyme of (7.2%) were obtained.

Figure (2) : Purification of IgA protease on sepharose 6B column (57x2.0 cm) eluted with 0.2M Tris-HCl buffer (pH8.0), flow rate (60ml / hour)



Determination of molecular weight of IgA protease by gel filtration chromatography:

Molecular weight of IgA protease was determined using sepharose 6B column. The void volume (v_0) of the column was calculated estimating void volume of blue dextran 2000 to the elution volume (v_e) for each one of standard proteins and for the dissolved and separated fractions of purified protease.

The ratio of the elution volume of each standard proteins as well as the dissolved and separated fractions of the purified protease, to that of void volume (v_e) of the blue dextran 2000 was calculated.

Results of table (2), show that the (v_e/v_0) ratio of purified protease was about 3.02, which located between ovalbumin and bovine serum albumin. The ratio of (v_e/v_0) of each standard protein to the log molecular weight of each standard protein was plotted. Results of figure (3), indicated that molecular weight of purified protease was estimated as (56.231 dalton) which located between bovin serum albumin of(67000 dalton) and that of ovalbumin of (43000 dalton). This result disagrees with that of⁽¹⁵⁾, who find that molecular weight of IgA protease of *S.sanguis* isolated from patients with Behcet's disease was only about (100000 dalton) as measured by SDS-PAGE electrophoreses . However, our results agreed with that of⁽¹²⁾,who estimate the molecular weight of IgA protease, isolated from *Proteus mirabilis* as (50117 dalton).

Table (2): The elution volume to void volume (v_e/v_0) ratio of standard proteins and purified protease.

Standard proteins and purified protease	(v_e/v_0) ratio
Ribonuclease A	3.90
Chymotrypsinogen A	3.60
Ovalbumin	3.26
Bovine serum albumin	2.81
Purified protease	3.02

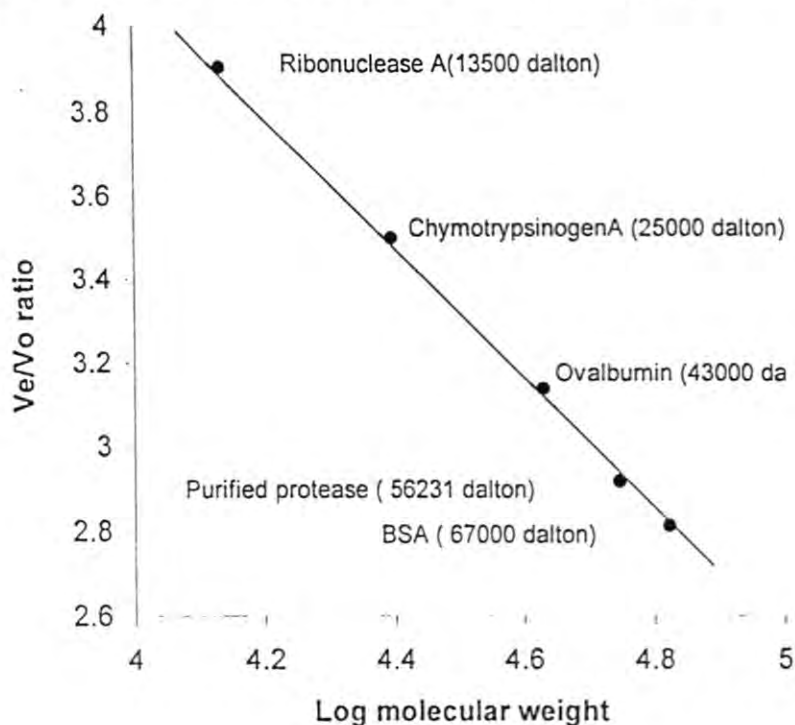


Figure (3): Standardization of IgA protease in accordance to the ratio of void volume and elution volume (v_e/v_o) ratio.

Inhibitors:

Experiment was conducted to study the effect of selected compounds expected to be inhibitors for activity of IgA protease. Different concentrations of inhibitors ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA), sodium fluoride (NaF) and sodium dodecyl sulfate (SDS) were used. Experiments were performed at 37°C with the presence of casein as substrate. After 30 minutes of incubation, reaction was halted by the use of trichloro acetic acid (TCA), and activity was determined in supernatant. Results shown in table (3), indicate that a complete reduction in activity was noticed with all concentrations of EDTA used in the experiment. However, complete inhibition was found with EDTA concentration of 0.05M. Such results were disagreement with⁽¹⁴⁾, who found that *S.sanguis* IgA protease activity was inhibited by 0.005M EDTA.

No difference in the behavior of sodium fluoride on activity of IgA protease was found, reduction in activity was clear in most concentrations of sodium fluoride with a complete inhibition at a concentration of 0.025M sodium fluoride as shown in table (4-7), Our results agreed more or less with ⁽⁶⁾, who found that IgA protease activity of *S.sanguis*. was complete inhibited at 0.01M of sodium fluoride.

Protease activity was also tested with the presence of different concentrations of SDS inhibitor. Results of table (4-7), indicate that reduction in activity was noticed with 1% SDS. However, a complete loss in activity was clear with 2% SDS in regard to concentration, SDS considered as the most effective inhibitor as long as complete loss of activity was visible with lower concentrations of SDS as compared with others.

Table (3): Effect of inhibitors on the activity of IgA protease.

Inhibitors	Concentrations M	Remaining activity (%)
Control	-	100
EDTA	0.005	85
	0.010	66.6
	0.015	58.3
	0.025	22.66
	0.050	0
NaF	0.005	77.3
	0.010	33.3
	0.015	1.33
	0.025	0
SDS	1%	33.33
	2%	0

Purification of IgA protease from Native strain of Streptococcus sanguis (N14)

Nada H. A. Al-Mudallal * E.F.A. Al-Jumaily Subhi J. Hamza** and A.W.R. Hamad

References :

1. Kilian, M.; Thomsen, B.; Peterson, T.E. and Beely, H.S. (1983). Occurrence and nature of bacterial IgA proteases. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 409: 612-624.
2. Plaut, A.G.; Geneco, R.J. and Tomasi, T.B. (1974). Isolation of an enzyme from *Streptococcus sanguis* which specifically cleaves IgA1. *J. Immunol.* 113: 289-291.
3. Plaut, A.G.; Giller, J.V. and Rule, A. (1978). Isolation and properties of the immunoglobulin A proteases of *N. gonorrhoeae* and *Streptococcus sanguis*. In "Immunobiology of *N. gonorrhoeae*" Brooks, G.F., Gotschlick, E.C., Holmes, K.K., Swayer, W.D., and Young, F.E. (eds.), Pp. 279-284.
4. Metha, S.K.; Plaut, A.C.; Calvanico, N.J. and Tomasi, T.B. (1973). Human immunoglobulin A: production of an Fc fragment by an enteric microbial proteolytic enzyme. *J. Immunol.* 111: 1274-1276.
5. Blake, M.S. and Swanson, J. (1978). Studies on gonococcal immunoglobulin A protease. In "Immunobiology of *N. gonorrhoeae*". Brooks, G.F.; Gotschlick, E.C.; Holmes, K.K.; Sawyer, W.D. and Young, F.E. (eds.). Pp. 285-289. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Duguid, R. and Senior, B.W. (1997). The effect of fluoride of *Streptococcus sanguis* 7363 IgA1 protease production and activity. *Archs Oral Biol.* 24: 821-825.
7. Al-Mudallal, N.H.A. (2002). Evaluation of human oral *Streptococcus species* for production of IgA protease. M.Sc. Thesis. College of Science. Saddam University.
8. Whitaker, J.R. and Granum, P.E. (1980). An absolute method for protein determination based on difference in absorbency at 235 and 280 nanometer. *Anal. Biochem.* 109: 150-159.
9. Whitaker, J.R. (1970). Protease of *Endothia parasitica*. In: "Methods in Enzymology" Perlmann, G.E. and Lovand, L. (ed.) Vol. 19, Pp. 436-445. Academic Press. New York.
10. Whitaker, J.R. (1963). Determination of molecular weight of protein by gel filtration on sephadex. *Anal. Chem.* 35: 1950-1953.
11. Stellwagen, K. (1990). Gel filtration. In: "Methods in Enzymology" Deutscher M.P. (ed.). vol. 182, Pp. 317-328. Academic Press. New York.
12. Al-Rubaii, B.L. (2001). Enzymatic study on the protease produced by *proteus mirabilis* causes urinary tract infections. MSc. Thesis. College of Science, University of Baghdad.
13. Yokota and Oguma, (1997). IgA protease produced by *Streptococcus sanguis* and antibody production against IgA protease in patients with Bahcet's disease. *Microbiol. Immunol.* 41: 925-931.
14. Morihara, K. (1974). Comparative specificity of microbial proteinase. *Adv. Enzymol.* 41: 179-243.
15. 4. Yokota, K. and Oguma, K. (1997). IgA protease produced by *Streptococcus sanguis* and antibody production against IgA protease in patients with Bahcet's disease. *Microbiol. Immunol.* 41: 925-931.

Comparative *in Vitro* Activity of Cefepim & Ciprofloxacin Against G-Ve Bacilli In A General Hospitals in Baghdad.

Mohammed F. Al-Marjani; Fouad A. Al-Kassmii & Abbaas A. Al-Duliamy
Dept. of Biology. College of Science Al-Mustansiriyi. University Baghdad-Iraq.

الخلاصة

تم مقارنة فعالية مضاد الـ Cefepim (من مضادات سيفالوسبورينات الجيل الرابع) مع مضاد الـ Ciprofloxacin (من مضادات الكوينولونات الحديثة) اتجاه ١٢٠ عزلة مرضية تعود للعائلة المعوية، وكانت هذه العزلات موزعة بشكل ٣٠ عزلة لكل من: *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* والمعزولة من مصادر التهابات مختلفة ومن عدة مستشفيات في مدينة بغداد. اوضحت النتائج ان مضاد الـ cefepim كان هو الاكثر فعالية ضد هذه العزلات حيث سجلت له مقاومة واطئة وبنسبة ٢,٥% مقارنة بمقاومة مضاد الـ Ciprofloxacin والتي وصلت الى ١٤.١%.

تم الكشف عن قابلية العزلات على انتاج انزيمات البيتالاكتاميداز واسعة الطيف (ESBLs). كانت 6 عزلات (20%) تعود لبكتريا *P.aeruginosa* منتجة لهذه الانزيمات، اما بقية العزلات فكانت نسبة انتاجها وبالترتيب 16.6%، ٢٦,٦%، 30% لبكتريا *Pr. mirabilis* و *E. coli*، *K. pneumoniae*. ولدراسة انتقال صفة مقاومة مضاد الـ Cefepim و الـ Ciprofloxacin اجريت تجارب الاقتران البكتيري، نجحت عزله واحده لبكتريا *P.aeruginosa* (من بين عزلتين كانت مقاومة المضاد الـ Cefepim) في نقل صفة مقاومة الـ Cefepim. اما مقاومة الـ Ciprofloxacin قد نجحت عزله من 4 عزلات لبكتريا *K. pneum.* وعزله من 3 عزلات للـ *Pr. mirab* وعزله من 4 عزلات للـ *E.coli* في نقل هذه الصفة الى السلالة القياسية المستلمة.

Abstract:-

The *in vitro* activity of ciprofloxacin, a new Fluoro quinolone and cefepim, a reference fourth generation cephalosporine on 120 clinical isolates of G-Ve bacilli was comparable.

The isolates were 30 isolates for each of *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *E coli* and *Klebsiella pneumoniae*.

Comparative Study on in Vitro Activity of Cefepim & Ciprofloxacin Against G-Ve Bacilli In A General Hospitals in Baghdad.

Mohammed F. Al-Marjani; Fouad A. Al-Kassmii & Abbaas A. Al-Duliamy

Cefepime was more potent than comparater Ciprofloxacin against these isolates, when the resistance to cefepim was 2.5%, it was 14.1% for ciprofloxacin.

Results also showed that 20% (6 isolates) of *Pseudo aeruginosa* had the ability to produce extended spectrum β -Lactamases (ESBLs), while 16.6% (5 isolates), 26.6% (8 isolates), 30% (9 isolates) of *Pr. mirabilis*, *E coli* and *K. pneumoniae* respectively, were able to produce these Enzymes (ESBLs).

Mating expirement was done for studying the transfer of the genetic determinants of cefepim and ciprofloxacin resistance.

Antibiotic susceptibility test was performed for all transconjugant cells and the results revealed that one for 2 isolates of *P. aeruginosa* was resistant cefepim, Two from 6 isolates of *P. aeruginosa*, one for three isolates of *Pr. mirabilis*, one from 4 isolates of *K. Pneumonia* and one from 4 isolates of *E. coli* were resistant to ciprofloxacin, which may indicate that resistance to these antibiotic in this isolates is under plasmid control.

Introduction:-

Prevalent species belonging to *Enterobacteriaceae* with multiple resistance are *K. pneumoniae*, *Enterobacter* and *E. coli*, the outbreak of such resistant strains has become critical especially in hospitals and special department, where they can be a source of nosocomial infections (1, 2).

Multidrug resistance mutants exhibited resistance to tetracyclin, penicillins, cephalosporins, Rifampin, Laterly, the resistance was, extended to include Quinolones (3).

Ciprofloxacin is highly active against G-Ve bacilli, including, penicillinase - producing strains, but the continued moderate use of it lead to increading levels of ciprofloxacin- resistant G-Ve bacilli (4).

Quinolones resistance was discovered inadvertently during a study of the properties of a plasmid, PMG 252, that gives broad resistance to β -Lactam Antibiotics, this plasmid conferred resistance to ceftazidime, cefotaxime, etc....(5).

Cefepime and cefpirome, which are rapid permeants and are more, also retain reasonable activity against derepressed enterobacteria, compared with cefotaxime and ceftazidime. the combination of β -lactamase production and impermeability confers resistance to cefepime, terocillin and cefpirome as well as to other β -Lactam (6).

The transferable resistance to a wide range of β -Lactame. The enzyme is usually encoded by large (60-120K.b) self-transmissible plasmids.

The gool of this study was to survey the *in vitro* activity of cefepime (Fourth generation cephalosporins) comparable to that of ciprofloxacin (a new flouro quinolone) a gainst clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in a general hospitals in Baghdad.

Materials & Methods:-

- Clinical isolates: A total of 120 isolates of G-Ve bacilli were collected from patients from different sources in three Hospitals in Baghdad (these are Al- mansour pediatric Teaching Hospital, Saddam's central teaching hospital and Ibn- Al- Baladi hospital). The following isolates were 30 isolates for each: *P. aeruginosa*, *Pr. mirabilis*, *E. coli* & *K. pneumoniae*. The isolates were identified at the hospitals by classical microbiological methods and using ApI-20 E system according to (7).
- Antibiotic susceptibility tests: were performed by serial twofold dilution tests in muller-Hinton agar according to (8).
All isolates were tested for susceptibility to cefepim (from Bristol – myers sauibb (U.S.A.)) and ciprofloxacin (uses from Ibn- sina center – (Baghdad)).
- Determination of ESBLs: were done according to (9), by uses a clavulanate double - disk diffusion.
- Bactrial conjugation: was conducted according to (10) by using a standard strain of E coli MM 294 as a recipient. One selective media, containing two markers of antibiotics were prepared. The first marker was 100µg/ml rifampicin and the second was 100µg/ml of another antibiotic that donor isolate resist it.

Results & Discussion:

Cefepim was more potent than ciprofloxacin against G-Ve bacilli, whose the resistance to cefepim = 2.5%, Ciprofloxacin=14% (table-1).

The isolates were 30 isolates for each of *P. aeruginosa*, *Pr. mirabilis*, *E coli* and *k. pneumoniae*.

Comparative Study on in Vitro Activity of Cefepim & Ciprofloxacin Against G-Ve Bacilli In A General Hospitals in Baghdad.
 Mohammed F. Al-Marjani; Fouad A. Al-Kassmii & Abbaas A. Al-Duliamy

Table -1- Resistance of 120 isolates of G-Ve bacilli to ciprofloxacin & cefepim.

Antimicrobial agent Bacterial isolates	Ciprofloxacin		cefepim	
	No.	%	No.	%
<i>P. aeruginosa</i>	6	20	2	6.6
<i>Pr. Mirabilis</i>	3	10	0	0
<i>E. coli</i>	4	13.3	0	0
<i>K. pneumonia</i>	4	13.3	1	3.3

Table -1- also showed that the resistance to ciprofloxacin of the *P. aeruginosa* isolates was higher than resistance in other species. Similar result was obtained by (11) who reported resistance to ciprofloxacin at range 10-30%.

The low percentage of susceptibility to ciprofloxacin may reflect the ubiquitons of quinolones in the community.

Marrazo *et al* (12), reported that the emergence of multi- resistance has probably been determined by the widespread use of antibiotics for prophylactic and therapeutic purposes in the nosocomial environment.

Cefepim retains reasonable activity against derepressed enterobacteria, compared with cefotaxime and ceftazidime, in this study we characterized 2.5% of isolates with reduces susceptibility to cefepim as stated earlier by (13) who mentioned a resistance to cefepim (Fourth generation cephalosporins) through out his study on *klebsiella pneumonia* isolates, and the analysis of a crude extract showed the presence of 3 β -lactamases enzymes with iso electric point of 6.6, 7.5 & 8.2.

The combination of β -lactamases production and impermeability confer resistance to cefepim, terocillin and cefpirome as well as to other β -lactam (6).

This resistance is oftenly due to the production of plasmid mediated β -lactamases (OXA-31) that are able to inactivate extended spectrum cephalosporins (14).

In addition to this findings, table -2- revealed that 20% (6 isolates), 16.6% (5 isolates), 26.6% (8 isolates) and 30% (9 isolates) of *P.aeruginosa*, *Pr. mirabilis*, *E. coli* and *K. pneumoniae* respectively, were able to produce extended-spectrum β -lactamases (ESBLs).

Mutations in the genes of β -lactamases such as TEM & SHV resulted in ESBLs production; may cause resistance to extened cephalosporines, in addition to the older β -lactams (15).

Table -2- ESBLs Produced by G-Ve bacilli.

Bacterial isolates	ESBLs production	
	No.	%
<i>P. aeruginosa</i>	6	20
<i>Pr. Mirabilis</i>	5	16.6
<i>E. coli</i>	8	26.6
<i>K. pneumonia</i>	9	30

Results of mating experiments revealed that one from 2 isolates of *P. aeruginosa* was resistant to cefepim, Two from 6 isolates of *P. aeruginosa*, one from 3 isolates of *Pr. mirabilis*, one from 4 isolates of *K. pneumoniae* and one from 4 isolates of *E. coli* were resistant to ciprofloxacin, which may indicate that resistance to these antibiotics in this isolates is under plasmid control.

The frequencies of conjugation, ranged from 10^{-6} to 10^{-3} (table-3)

Table -3- frequency of cojugation of selected isolates.

Isolate No.	Frequency of conjug.
<i>P. aerug.</i>	
1	3×10^{-6}
2	1×10^{-5}
3	2×10^{-6}
<i>Pr. Mirabilis</i>	
1	2×10^{-5}
<i>K. pneumonia</i>	
1	3×10^{-3}
<i>E. coli</i>	
1	4×10^{-5}

*Comparative Study on in Vitro Activity of Cefepim & Ciprofloxacin Against G-Ve Bacilli
In A General Hospitals in Baghdad.*

Mohammed F. Al-Marjani; Fouad A. Al-Kassmii & Abbaas A. Al-Duliamy

References:-

- 1- Brooks, G. F.; Butel, J. S. and Morse, S. A. (1998). Jawtz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. 21 st ed. middle E ast ed. Beirut, Lebanon.
- 2- Bujdakova, H.; Lausova, A. et al. (1998). Study of β -lactam resistance in ceftazidime - resistance clinical isolates. J. Antim. Agent. 10: 13541.
- 3- Alekshun, M. N. and levy, S. B. (1997). regulation of chromosomally mediated MAR. J. Antim. Agent 41: 2067-8.
- 4- Lee, YL.; Casario, T. et al. (1998). Low-Level colonization & infection with ciprofloxacin - resistance G-Ve bacilli. Am. J. I. F 26: 552-7.
- 5- Martinez - Martinez, L.; Pascual, A. and Jacoby, G. A. (1998). Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet. 351: 797-99.
- 6- Livermore, D. M. (1995). B-Lactamases in Laboratory and clinical resistance. Microb. Review. 8: 557-84.
- 7- Baron, E. J. and Finegold, S. M. (1994). Baily & Scott's Diagnostic microbiology. 9 th ed . mosby company. U. S. A.
- 8- Stocks, E. J. and Ridgway, G. L. (1987). Handling clinical specimens for microbiological studies p: 173-201. (3 th) ed. churchill Livingstone Edinburgh.
- 9- Jarlier, V.; Bicolos, M. and Philippon, A. (1988). ESBLs coferring transferable resistance to newr B-Lactam a gent in Enterobacteriaceae. Rev Infect. Dis. 10: 867-78.
- 10- O' connell, M. (1984). Genetic transfer in prokaryotes transformation, Transduction & Conjugation, Advanced molecular Genetics by puhler, A & Timms, K. Springer. velug. Berlin.
- 11- Sidorenko, Sv.; Strachunski, Ls. et al. (1999). the results of a multicenter study of the comparative activity of cefepim. Anti khimioter. 44: 7-16.
- 12- Marrazo, M.; Agodi, A. et al. (1996). Molecular typing of klebsiella isolate from a neonatal care unit. microbiologica 19: 293-300.
- 13- Laksai, Y.; Severino, M. et al. (2000). First identification of an SHV-12 ESBL in K. pneumonia isolated in italiy. J. Antim. chem 45: 349-51.
- 14- Aubert, D.; Poirel, L.; Chevalier, J. et al. (2001). Oxacillinase - mediated Resistance to cefepim and suseptibility to ceftazidime in Ps. aeruginosa. Antim. Agent. chem. 45: 1615-1620.
- 15- Jacoby, G. A. & Sutton, L. (1991). Properties of plasmids responsible for production of ESBLs. Antim Agent chem 35: 164-69.

Four epidemiological maps of visceral leishmaniasis (1998-2001) From Saddam Hospital of Children, Baghdad

Shihab Ahmed SALMAN
Tropical Disease Research Unit

الخلاصة

تم توزيع الحالات المسجلة بمرض اللشمانيا الاحشائية والمسجلة من مستشفى صدام للاطفال خلال الأعوام 1998 و1999 و2000 و2001 على خارطة العراق لمعرفة توزيعها الوبائي.

Abstract

The distribution of visceral Leishmaniasis cases which were reported from Saddam Hospital of Children in 1998,1999,2000 and 2001 on Iraqi map to know the epidemiology of the disease.

Introduction

The visceral leishmaniasis is one of the endemic diseases in Iraq⁽¹⁾. The capital Baghdad forms the center of a circle with about 100-km of a diameter⁽²⁾. There are many traditional foci in the central region of Iraq⁽³⁾. The incidences of cases were reported from several rural areas in this endemic region of the country.

The elements of a focus are highly affected with density of sandfly, high number of rodents and canine population⁽⁴⁾. The traditional distribution of cases presents on the endemic area is associated with the cultivated area near Tigris-Euphrates and Diala rivers in the central region of Iraq^(1,3).

High numbers of the patients were children under two years of age⁽⁵⁾. The annual average of cases was in the eighteenth about 500-case/year^(2,6).

The aim of this study is to map the reported cases of kala-azar from one Hospital (Saddam Hospital of Children /Baghdad) in the endemic area.

Materials and methods

All the cases were reported monthly from Saddam Hospital for Children (Baghdad) during the period of the study.

Mapping of cases is in order to assess the prevalence of visceral leishmaniasis in the central region of Iraq. All previous studies were used to compare the results.

Results and discussion

The geographical distribution of the reported cases in the four maps indicates that the prevalence of cases is mainly around Baghdad⁽²⁾ (Figures 1-4, each point = one case). Figure (1) shows that the prevalence of 63 cases in 1998. High number of the reported cases was from the traditional endemic area in the central region^(1,3). Eight cases were from the southern provinces (Maysan, Thi-Qar and Basrah); no cases were mentioned in the north region of Iraq in the reported cases.

The geographical distribution of 69 cases in 1999 was rather similar to the president year with form like (K) letter around Baghdad in the center (Fig .2). In 2000 the reported cases (123 cases) were in few traditional foci like Falluja, Abou- Grabe, Latifiya, Mahmoudiya, Aziziya and Diala province⁽¹⁾ (Fig.3). The distribution of (121) cases in 2001 (January – November) was similar to that of 1998 with limited different.

What are the indications of these maps?

- 1- High numbers of cases were from the traditional foci⁽³⁾.
- 2- The geographical distribution of the reported cases among four years was focusing around Baghdad⁽¹⁾.
- 3- The endemic area in fact is the alluvial plain cultivated with different kinds of vegetation irrigated from rivers.
- 4- The isolated cases in the maps may be due to the followings :

- The cases were reported from one Hospital in Baghdad, and this is not representative to the country⁽²⁾.
- Cases may be exported to Baghdad from another foci, thus the cases were reported from the center of Baghdad must be reviewed.
- No limit between the districts of Baghdad as Dwora (were high numbers of cases were reported in the four years) and the neighbors traditional foci as Rashid and Yousofiya.
- The number of cases were increased during the last two years (from the same Hospital), all the new reported cases were from Baghdad area. This increase may be due to the effect of dryness in Iraq, which affected the numbers of rodents as possible reservoir of the disease.

The four maps are interesting to study the prevalence of kala – azar in the endemic area, but the disadvantage of this study is that the reported cases was from one Hospital in Baghdad, and this is not representative to Iraq^(1,2,3,5).

The epidemiological maps of visceral leishmaniasis in Iraq must be based on all reported data from all Hospitals (from the north to the south of the country). The maps must be included the address of patient in order to map each case in the correct place in the endemic area. The total number (case / province) is not enough to locale the exact place of each reported cases in each province. This study can be helped to find more base line data on the epidemiological studies of Leishmaniasis in Iraq.

Summary

The distribution of visceral Leishmaniasis cases which were reported from Saddam Hospital of Children in 1998,1999,2000 and 2001 on Iraqi map to know the epidemiology of the disease.

Four epidemiological maps of visceral leishmaniasis (1998-2001) From Saddam Hospital of Children, Baghdad

Shihab Ahmed SALMAN

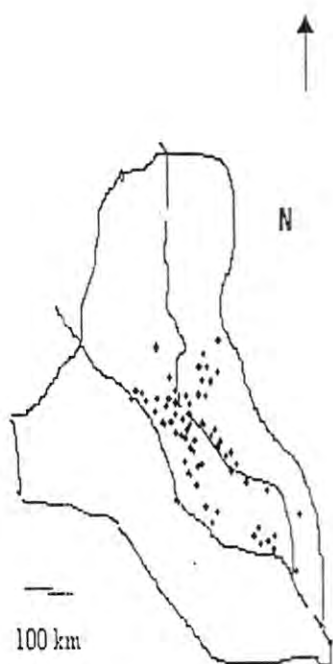


Fig.1: The reported cases in 1998.



Fig.2 : The reported cases in (1999).

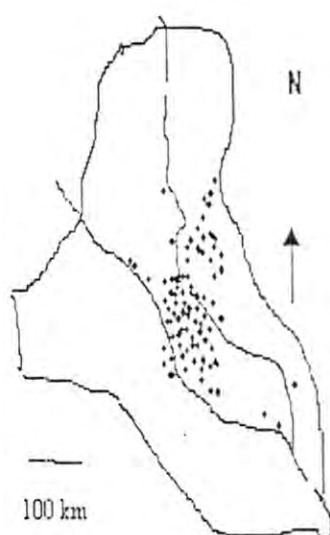


Fig.4: The reported cases in (2001).

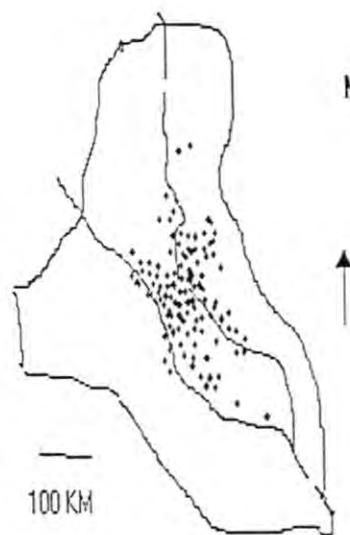


Fig.3: The reported cases in (2000).

REFERENCE

- 1- Adler, S. and Theodor. O. (1929 a) : The distribution of sand fly and Leishmaniasis in Palestine , Syria and Mesopotamia .
Ann . Trop . Med . Parasitol . 23 , 269 – 303 .
- 2-Sukker, F. (1972): Visceral Leishmaniasis in Iraq. Bull.End.Dis.Bagh.13 (4) 77-83.
- 3-AL-Alak, S. F: Study in the epidemiology of visceral leishmaniasis (KALA-AZAR) in AL-Maggar district –Missan province. Vet.Coll.Uni.Bagh. Thesis, M. Sc. Pp.: 77, (1996).
- 4-Pringle, G.: kala-azar in Iraq, Preliminary Epidemiological consideration. Bull. End. Dis. Bagh. 1: (4), 275-294, and (1956).
- 5- AL-Shanawi, F. A.: Experimental infection of dogs with *Leishmania donovani*. J. Biol. Scie. Res., 17(3), 47-54, (1986).
- 6-Jawdat S. Z; Ali N .A; Rifaat L. Kh. and Rutha KY: The incidence of kala – azar in an endemic focus in central Iraq.J.Biol.Sci.Res, 148:81-87 (1983).

Phagocytosis of leishmania donovani amastigote by activated macrophages induced by polysaccharide extracted from

Dr. Bedir AL-Azawi
Dept of Biological Science

Hasna`a Hamid
Jumah MS.C/ Biology

Science College / AL-Mastansiriya Un

This study was designed to investigate the effect of polysaccharide extracted from *pseudomonas aeruginosa* before and after the infection of BALB/c. mice with leishmania donovani. A number of amastigotes in liver and spleen were studied. Percentage of peritoneal macrophages infection and number of macrophages forming formazan, total and different count of WBC. The results of these studies were included decrease in number of amastigote in spleen and liver for mice treated with polysaccharide after and before infection and there has been an increase in the total count of WBC accompanied by an increase in the lymphocyte percent with decrease in mice. percent in mice treated with Ps before and after infection mice, the total number of the WBC and the lymphocyte have decreased while the monocyte have increased. Also the percentage of peritoneal macrophages infection also was decrease in mice treated with Ps before and after infection where as number of macrophages forming formazan was increased comparing with infected mice.

الخلاصة

شملت الدراسة معرفة تأثير عديد السكريات المستخلص من بكتريا *Pseudomonas areuginosa* بعد الخمج بالشمانيا الحشوية في الفئران البيضاء BALB/C ومن خلال تتبع التغيرات الحاصلة خلال فترة التجربة والتي شملت التأثير على اعداد كريات الدم في الكبد والطحال واعداد كريات الدم في الدورة الدموية وقد اظهرت النتائج قلة الشكل اللاسوطي للشمانيا الحشوية في الطحال والكبد بعد الخمج بعديد السكريات. مقارنة بالفئران غير معاملة وكذلك ازدياد العدد الكلي لخلايا الدم البيض مع ازدياد عدد الخلايا للمفاوية وانخفاض اعدادها في الفئران المعاملة بعديد السكريات مقارنة بالفئران غير المعاملة بعديد السكريات. فقد استمرت التغيرات في الاسبوع الرابع حصل فيها انخفاض في خلايا الدم البيض والخلايا للمفاوية وكذلك انخفاض نسبة الاصابة في بلاعم التجويف الصفاتي للفئران المعاملة بعديد السكريات لفئران مختلفة قبل الخمج بالشمانيا يقابل زيادة في اعداد البلاعم المكونة للفورمازان اما في الفئران المخمجة غير المعاملة فقد حصلت زيادة في نسبة الاصابة يقابله انخفاض في اعداد البلاعم المكونة للفورمازان. وهذا يرشح ان ادخال عديد السكريات يؤدي تنشيط خلايا الدم البيضاء والمفاوية التي تقاوم طفيليات اللشمانيا.

phagocytosis of *Leishmania donovani* amastigote by activated macrophages induced by polysaccharide extracted from *Pseudomonas aeruginosa*.

Introduction

visceral Leishmaniasis considered to be an important public health problem in many countries and could be as reemerging disease in areas with known foci of transmission (10). The fundamental principle of immuno regulation of leishmaniasis is that parasite which replicates in macrophages is killed by activated macrophages (8) the use of cytokine and other types of immuno therapy combined with chemotherapy for leishmaniasis remains experimental (3) various types of vaccines with or without cytokines are being investigated but no vaccine is ready to prevent leishmaniasis (11) macrophages are a key element of immune system leishmania replicate only within macrophages of an infected host elimination the parasite and resolution of disease must invoke extraordinary changes in the infected macrophages (7) generally bacterial polysaccharides are usually associated with outer surface of the bacterium (12). Polysaccharides antigen have the ability to induce both cellular and human immunity response and it considerable as T-independent antigen (15) high molecular weight polysaccharide can be isolated from cultural substrates or from the extra cellular slime of *pseudomonas aeruginosa* (11) the polysaccharides are composed principally of carbohydrates with molecular weight in the range of $10^5 \times 10^5$ to 205×10^5 (11) , (2) demonstrated the ability of polysaccharides extracted from *pseudomonas aeruginosa* to induce immune-response the goal of study was demonstrated the effect of polysaccharide. Extracted from *pseudomonas aureginosia* on visceral leishmaniasis before and after infection.

Materials and method

The experiment was done in the lab of biology Department/ Science College. Al- Mustansiryha university and the lab of medical college university of Baghdad.

In this experiment prepare normal saline Hunk's Balance Salt solution, Sodium bicarbonate and Turkeys solution According to (14)

They prepare nutrient agar, Biphasic and liquid media According to (1) *pseudomonas aeruginosa* (PS) culture obtained from department of biology college Science, AL- Mustansyria University

The polysaccharides extract was prepared from *pseudomonas aeruginosa* According to (14) the culture of *leishmania donovni* strain MHOM/IQ/BRCI(AA3) was obtained from department of biology-college of science, Baghdad university the animal of test were obtained from medical college which have (11-20) grm weight in this study The group of animal was treated with 250 /100 and 150 / 20gm b. w.t of (PS) on 3,6 day before infection and the animal were scarified after 8 weeks.

And measurement the white blood cell count & differential count, spleen and liver weight change., calculate of leishmanial index , infection percent and macropages number . the statistical analysis of data were expressed as a mean standard . deviation and statistical significant was calculated by mean of the T tests .

Result & Discussion

table (1) and fig (2) showed the changes in amastigotes leads and reduction percent in number of parasites in spleen and liver of mice treated with (100, 150, 250)µg ps on day 3 or daily for six days before infected with *leishmania donovani* and the same change for infected mice – all treatment in the liver & spleen caused significant suppression parasite burdens ($p < 0.005$). the parasite burden were (1.59×10^6) in spleen and (8.6×10^6) in liver, while increase in reduction percent reached to (97.0) in spleen and (96-8) in liver Tables (2) , fig (3) showed the Activation of macrophages by polysaccharides leads to changes in macrophages-surface receptor which used by leishmanial promastigotes for entering macrophages . it is possible that immigrant monocytes represent the respond in grm effect or phagocytes (9). Also polysaccharides will stimulate antibody depended cellular. The results consistent with (4) , have the same results when treated visceral leishmaniasis in mice with IFN %, (5) observed the same result when treated mice with Iridium compound .

Phagocytosis of leishmania donovani amastigote by activated macrophages induced by polysaccharide extracted from

Dr. Bedir AL-Azawi , Hasna`a Hamid

these result demonstrated that immunization with ps induced significant protection in mice against infection with *L. donovani* Table (3), fig (4) showed the changes in mean macrophages number forming fromazan in mice pre treatment with (100,150,250) μg ps on 3,6 daily for six days)before infection with *L. donovani* . also for infected mice and mice treated with ps. NBT were reduced by activate macrophages for all treatment depend on reduce $\delta 2$ produce from activate macrophages (2) which have increased of macrophages forming formazan whent treated with(50, 100) μg of ps extracted from ps. The infected macrophages with leishmanial increas or decrease with leishmanial increase or decrease to reduce NBT depend on produce $\delta 2$ (14).

Fig (5,6) shown the changes of WBC & differential count for immunized mice pre-treatment with polysaccharides 100, 150, 250 μg pson (3,6 daily for six days) before infection with leishmaniasis and for infection mice and mice treated with polysaccharides. WBC were increased for all treatment group in comparison with infected mice the higher level of WBC count were obtained in the group with 100, 150, 250 μg of ps daily for six day. The increase in WBC count and Lymphocyte percent were depend on the ability of polysacchrides on activation macrophages and secrete monokines which help in lymphocyte proliferation . this result consistent with (12) when activate peritoneal macrophages with BCG the WBC count and lymphocyte percent were increased Monocyte were decreased for all treatment because the monocytes returned to immigration of it from blood to parasite position and confirm to Marophages (6).

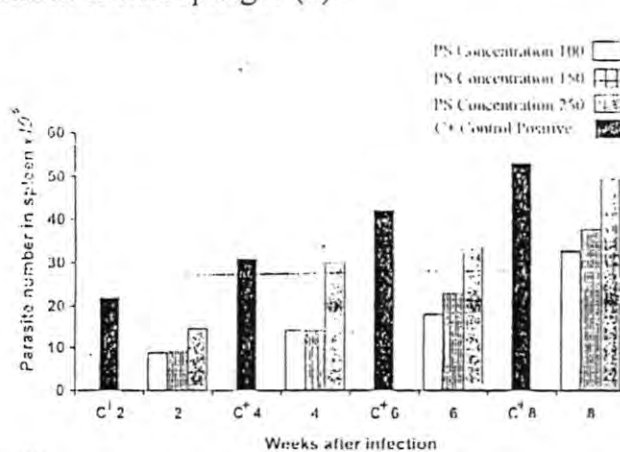


Fig (1) Effect of PS on parasite number in Spleen for mice treated with PS on day 7 post infection with *Leishmania donovani* and comparison with infected mice.

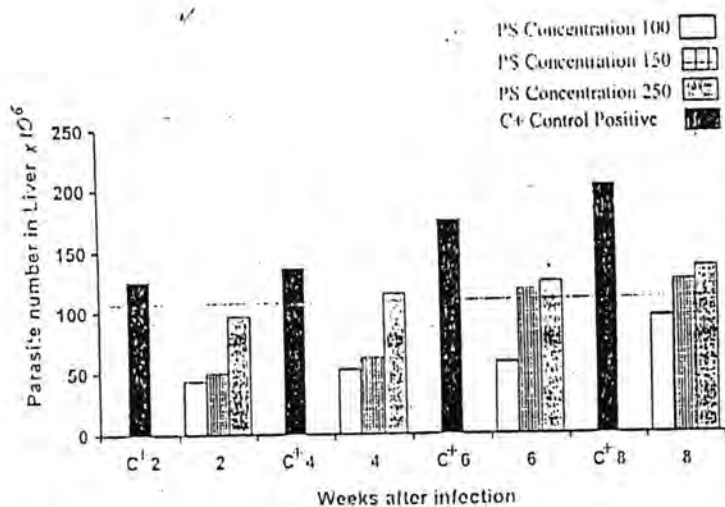


Fig (2) Effect of PS on parasite number in Liver for mice treated with PS on day 7 post infection with *Leishmania donovani* and comparison with infected mice.

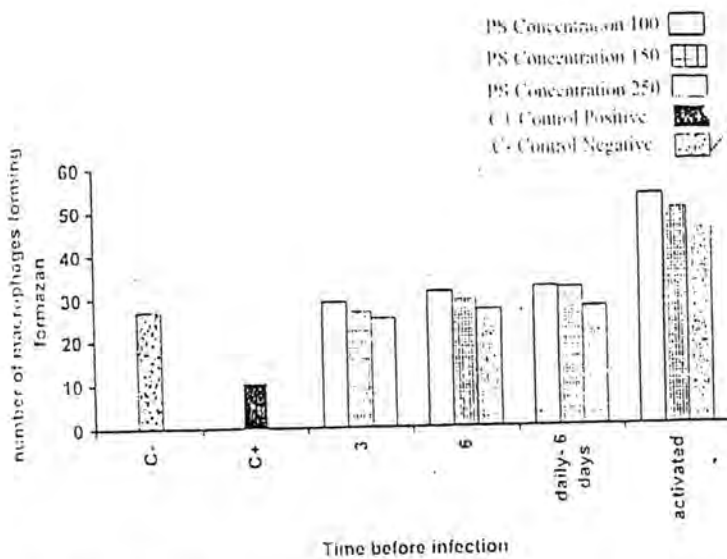


Fig (3)): Effect of PS on number of peritoneal macrophages forming formazan for mice pre-treatment with PS for different periods before infection, and comparison with infected mice.

Phagocytosis of leishmania donovani amastigote by activated macrophages induced by polysaccharide extracted from

Dr. Bedir AL-Azawi , Hasna'a Hamid

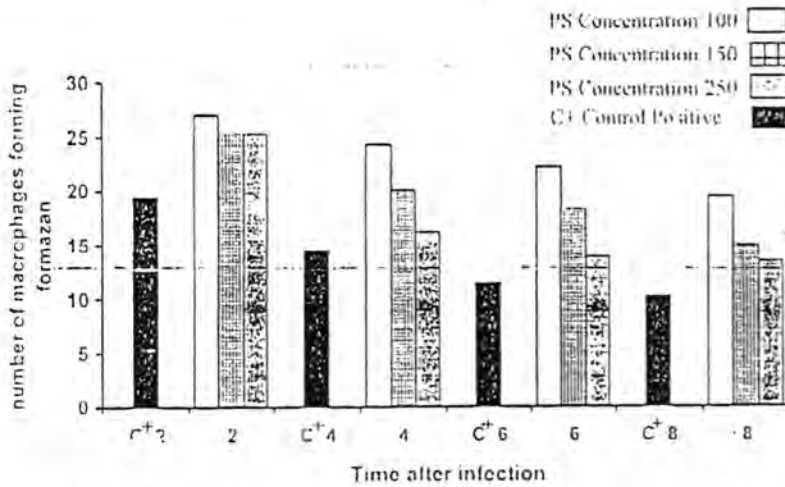


Fig (4) Effect of polysaccharides on number of peritoneal macrophages forming formazan for post-treatment with PS on day 7 post infection with *L. donovani* and comparison with infected mice.

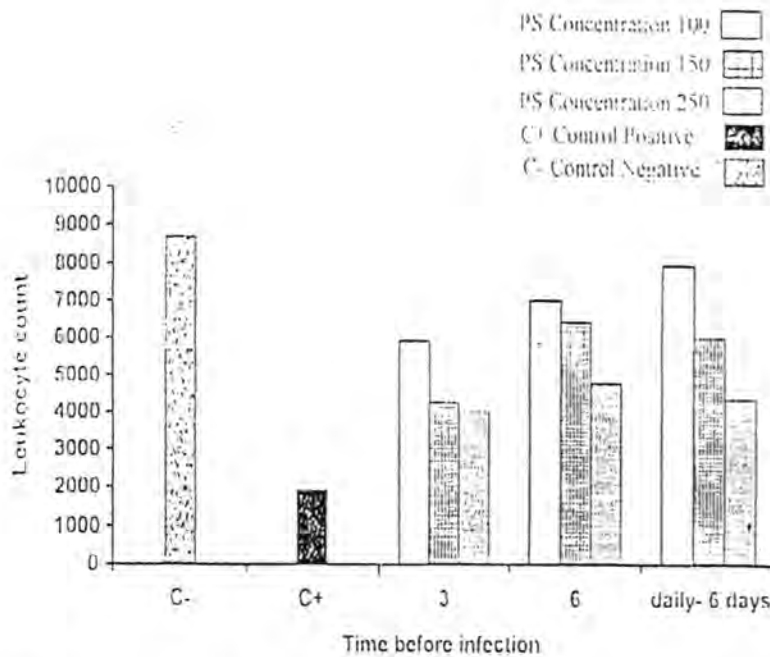


Fig (5) Leukocyte (WBC) count for BALB/c mice pre-treatment with PS on different periods before infection with *Leishmania donovani* and comparison with infected mice.

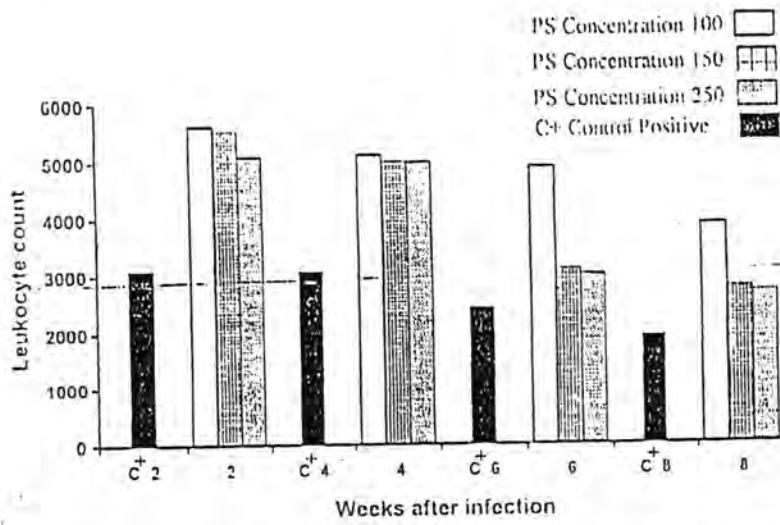


Fig (6) Leukocyte (WBC) Count for BALB /c mice post-treatment with PS on day 7 after infection with *Leishmania donovani*, and comparison with infected mice

Table (1): effect of polysaccharides on parasite number in liver and spleen and reduction % for BALB / c mice pre-treatment with PS for different periods before infection, and comparison with infected mico.

PS Concentration	Time before infection	Parasite burden in Spleen Mean $\times 10^6$ \pm SD	Reduction percent %	Parasite burden in liver Mean $\times 10^6 \pm$ SD	Reduction percent %
100	3	*4.3 \pm 0.365	91.46	*22.25 \pm 1.15	91.2
150	3	*4.59 \pm 0.55	90.2	*47.7 \pm 1.36	89.25
250	3	*6.421 \pm 0.29	88	*60.71 \pm 1.46	85.33
100	6	*2.92 \pm 0.6	93.8	*15.7 \pm 0.409	49.41
150	6	*3.39 \pm 0.48	93.1	*38.48 \pm 1.96	89.75
250	6	*5.19 \pm 0.22	89.7	*51.5 \pm 4.58	88.47
100	Daily-six days	*0.59 \pm 0.06	93.9	*8.6 \pm 0.31	96.8
150	Daily-six days	*1.988 \pm 0.506	97.00	*61.8 \pm 0.98	94.2
250	Daily-six days	*3.86 \pm 0.06	92.13	*40.6 \pm 2.25	90.4
C+	8-weeks	53.3 \pm 2.18	-	*203.8 \pm 7.01	

C+ Control Positive

•P<0.05

Mean \pm standard deviation for six mice

Table (2): Effect of PS on infectious % and Leishmanial Index for peritoneal macrophages in BALB/c mice Pre-treatment with PS for different period before infection, and comparison with infected mice

PS Concentration	Time before infection	Infectious percent Mean \pm SD	Leishmanial Index
100	3	*21.4 \pm 8.88	82.12
150	3	*27.2 \pm 11.23	81.9
250	3	*30.6 \pm 12.56	84.23
100	6	*18.6 \pm 7.63	86.31
150	6	*24.6 \pm 10.61	85.2
250	6	*25.6 \pm 10.09	81.9
100	Daily-6 days	*19.4 \pm 8.08	87.2
150	Daily-6 days	*23 \pm 9.45	85.41
250	Daily-6 days	*24 \pm 9.87	82.11
C+		*87 \pm 0.707	-

C⁺ Control Positive

• P<0.05

Mean \pm standard deviation for six mice

Table (3): Effect of PS on number of peritoneal macrophages forming formazan for mice Pre-treatment with PS for different periods before infection, and comparison with infected mice.

PS Concentration	Time before infection	Number of macrophages forming formazan Mean \pm SD
100	3	*29.00 \pm 0.57
150	3	*26.6 \pm 2.7
250	3	*25.00 \pm 2.00
100	6	*31.00 \pm 3.05
150	6	*29.33 \pm 1.00
250	6	*27.00 \pm 4.00
100	Daily for 6 days	*32.00 \pm 2.00
150	Daily for 6 days	*31.6 \pm 1.00
250	Daily for 6 days	*27.33 \pm 3.50
100	Activated	*53.00 \pm 3.60
150	Activated	*50.00 \pm 2.7
250	Activated	*45.00 \pm 3.05
C+		*10.3 \pm 0.207
C-		27 \pm 0.57

C+ Control Positive

C- Control Negative

• P<0.05

Mean \pm standard deviation for six mice.

References

1. L-Bashir, N.M (1990) Avenic amastigote of leishmania parasite cultivation and relation ship to promastigote and intracellular amastigote . M.Sc. thesis Univesity of Baghdad .
2. AL-Neiam . K.N.A. (200) immunological study of some antigens pseudomonas aeruginosa M.S.C thesis, University of AL- Mustansiriya
3. Berman, J.D. (1997) Human leishmaniasis clinical., diagnostic and chemo other apeutic devlopment in the last 10 years . clinical infection Dis 24:684-703.
4. Cook, J.A., Halbrokk, J.W. and Parker B.W. (1979) Viscerel Leishmaniasis in mice, Protective effect of glucan journal of reticuloendothelial society 27 (6) . 566-573.
5. Croft, S.L.; Neal, R.A; craciunscu. D.G and Certadm F.G. (1992). The activity of platinum iridium and rhodium drug complex against leishmania donovani tropical medicine and parusitology43 19-28.
6. Davis , D.E. and lioyd J.B. (1989) monocyte to macrophaye transition in vitro A systemic study using human cells isolted by fraction or percoll J. Immunol methods 118:9-16.
7. Green. S.J. and Meltzer, M.S. (1990) Activated macrophages destroy intra cellular leishmania major Amastigotes by an arginine . L-arginine dependent killing mechanism Amer. Assoc. Immunol. Vol 144(I): 278-283
8. Herwaldt, BL. (1999) leishmaniasis the lancet 354(2): 1191-1199.
9. Murray, H.W. (1989) effect of continous administration in interferon (7) in experimtel visceral leishmaniasis. The journal of infection disease (6):992-994.
10. Neouimine, N.I. (1996) leishmaniasis in estern Mediterranean Region Eastern mediterranean. Health Journal WHO. 2(1) :94-101.
11. Pier, G.B. (1982) crosss protection by *pseudomonas aeruginosa* polysaccharides infecct. Immune. 38(3): 1117-1122.
12. Reuben, J. M., Tanner, C. Eand portelance, V. (1979) protection of cotton rats against experimental echinococcus multi localaris infection with BCG cell walls infection and immunity 23 (3)582-586.
13. Roberts, I.S. (1996) the biochemistery and genetics of capsular polysaccharide production in Bacteria- Annu. Reve. Microbial 50:285-315.
14. Taci, A. A-K (1992) the role of types of straine of pseudomonas aeruginosa to induco sugarht syndrom MSc . thesis university of AL- Mustansyria .
15. Threadigill, D.S., McCormick. L. L. Mc Cool, LT. L.; Greenspan, N.S. and Schreiber, J.R. (1998) . Mitogenic Synthetic polynucleotides suppress the antibody response to bacterial polysaccharide Vaccine 16 (1): 76-82 .

Coagulase negative *Staphylococcus aureus* in postoperative wound infection and otitis media

Shama M. Jawad Saadaldin Al-Shadidi
Microbiology Department / College of Medicine / Almustanseria University

المخلص:

جمعت اثنان وثمانون عينة من المرضى الراقدين في مستشفى اليرموك التعليمي. ثمانية واربعون منهم يعانون من التهاب في جروح ما بعد العمليات بينما اربعة وثلاثون عينة جمعت من المرضى المصابين بالتهابات في الاذن الوسطى. جميع العينات خضعت للتشخيص المختبري الدقيق وعرفت على انها مكورات عنقودية ذهبية. هذه الدراسة بينت بشكل واضح ان وجود المكورات العنقودية الذهبية الموجبة الانزيم التجلط في جروح ما بعد العمليات يشكل نسبة 77% في حين تلك التي لا تمتلك انزيم التجلط تكون نسبة 23%. بينما اظهرت النتائج ان جميع العينات المعزولة من الاذن الوسطى كانت موجبة لانزيم التجلط.

ABSTRACT

A total of 82 specimens were collected from patients attending Al-Yarmouk Teaching Hospital, 48 of them were exhibiting post-operative infective wounds, whereas 34 were collected from patients with otitis media. All isolates were purified and then subjected to standard diagnostic tests for *Staphylococcus aureus*.

This study showed post infected wound harbouring more coagulase positive staphylococci (77%) than coagulase negative staphylococci whereas all the staphylococci isolated from otitis media were strictly coagulase positive.

INTRODUCTION

Surgical site infections are a significant problem all over the world, these infections rank third in prevalence among all nosocomial infections (1).

Staphylococcus aureus is one of the most important bacteria for man since it can cause superficial as well as deep-seated pyogenic infections (10). It can be acquired from the hospitals, therefore it is reported to be one of the main nosocomial contaminant since it is still isolated from clean, contaminated, and dirty wound (9). *Staphylococcus aureus* was carried asymptotically on mucous membranes in the anterior nares, nasopharynx, vagina and / or rectum, besides it can produce variety of antigens and superantigens (4).

Staphylococcus aureus is a gram positive microorganism that grouped in clumps. All *Staphylococcus aureus* are coagulase positive but very few of them may exhibit coagulase negative character. Coagulase negative staphylococci are normally considered as less virulent and therefore express fewer virulence factors (5). Few *Staphylococcus aureus* are coagulase negative, and most of these strains were encountered in cardiac surgical wounds (6).

Meanwhile, the available cases of otitis media were screened for the presence of coagulase negative staphylococcus aureus, since both bacterial otitis media and surgical wound infections are acquired from hospital and both led to immunosuppression. (7) (8)

The aims of this study was partly to investigate the sources of coagulase negative staphylococci in post – operative wound infections, and partly to find the antimicrobial susceptibility pattern of coagulase negative staphylococci in comparison with coagulase positive *Staphylococcus aureus* .

MATERIALS AND METHODS

Specimen: All specimens used in this study were collected from inpatients attending the surgical ward at Al -Yarmook Teaching Hospital as well as outpatients of E.N.T unit at the same hospital.

Bacteriological media :

Blood agar base (Oxoid) + Blood , Mannitol salt agar (Difco), Deoxyribonuclease agar (Difco). *Staphylococcus aureus* 110 agar (Oxoid). Muller Hinton agar (oxoid) , were used throughout this study , to confirm the diagnosis of staphylococcus aureus . Fresh undiluted human plasma is used for coagulase test according to the method described by Collee (3) .

All bacteriological cultures results were confirmed by api staph. diagnostic kit. Antibiotic susceptibility tests were performed on Muller-Hinton agar according to Kirby – Bauer standardized single disc method (2).

The available antibiotic discs used were: Penicillin 10 I.U , cephalothin 30 µg, gentamycin 10 µg, ampicillin 10µg , ciprofloxacin 5µg , cloxacillin 20µg , Amoxicillin 20 µg methicillin 5 µg. A representative disc from each cartridge was tested with a control standard bacterial strain of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

All samples collected onto sterile cotton swabs were dipped into brain heart infusion and incubated at 37 C for 24 hours. Gram staining was performed to assure the presence of staphylococci, then samples were reinoculated onto different biochemical media commonly used for differentiation and diagnosis.

RESULTS AND DISSCUSION

Table (1) shows the distribution of *Staphylococcus aureus* isolates according to site of infection, presented along with their results of free and bound coagulase tests, done in a test-tube in the first and on slide in the second where staphylococcus are clumped. It seemed that post-operative contaminated wound harboured a high percentage of coagulase positive staphylococci 77%, whereas coagulase negative staphylococci exhibits 23% only. Ear swabs from otitis media were totally dominated by coagulase positive *Staphylococcus aureus*. The differences may be attributed to the fact that the patients in postoperative contaminated wound may be exposed to variety of antibiotics and disinfectants which might alter the characteristics of *staphylococci*. Besides the patients are stressed normally by surgical operation, whereas the micro and macro environment of ear is guarded by protective wax which prevent the growth of most bacteria except these which are resistant like virulent *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Table 1: Distribution of *Staphylococcus aureus* according to coagulase reaction

Distribution	Total No.	Co - ve	Co + ve
Post operative wound infection	48	11 (23%)	37 (77%)
Ear swab	34	-	34 (100%)
Total	82	11	71

Co-ve : Coagulase negative

Co+ve : Coagulase positive

Table 2 : Growth characteristics of the two types of *Staphylococcus aureus* on different culture media.

S. aureus from	No.	Growth characteristic on*						
		MSA	St. 110	MacC.	Blood	Dnaase	Coagulase	
							slide	Tube
Post operative Wound infection	37	++	++	-	β-hem	+	+	+
	11	++	+	-	α-hem	+	±	-
Ear swab	34	++	++	-	β-hem	+	+	+

+ Scanty growth

++ Moderate growth

- no growth

MSA: Mannitol salt agar

ST.110: *Staphylococcus aureus* 110 agar

MacC: MacConkey agar

DNase: Deoxyribonuclease agar

Hem: Hemolysis

Table 3: Antibiotic susceptibility of different antibiotics for both isolated included in this study.

Antibiotic	Disc potency	No. of coagulase positive staphylococci (total no. 71)		No. of coagulase negative staphylococci (total no. 11)	
		R	S	R	S
Penicillin	10 I.U	69	2	10	1
Ampicillin	10 µg	63	8	9	2
Amoxicillin	20 µg	65	6	8	3
Cloxacillin	20 µg	56	15	6	5
Methicilin	5 µg	43	28	1	10
Cephalothin	30 µg	14	57	1	10
Ciprofloxacin	5 µg	11	60	1	10
gentamycin	10 µg	17	54	1	10

R: Resistant

S: Sensitive

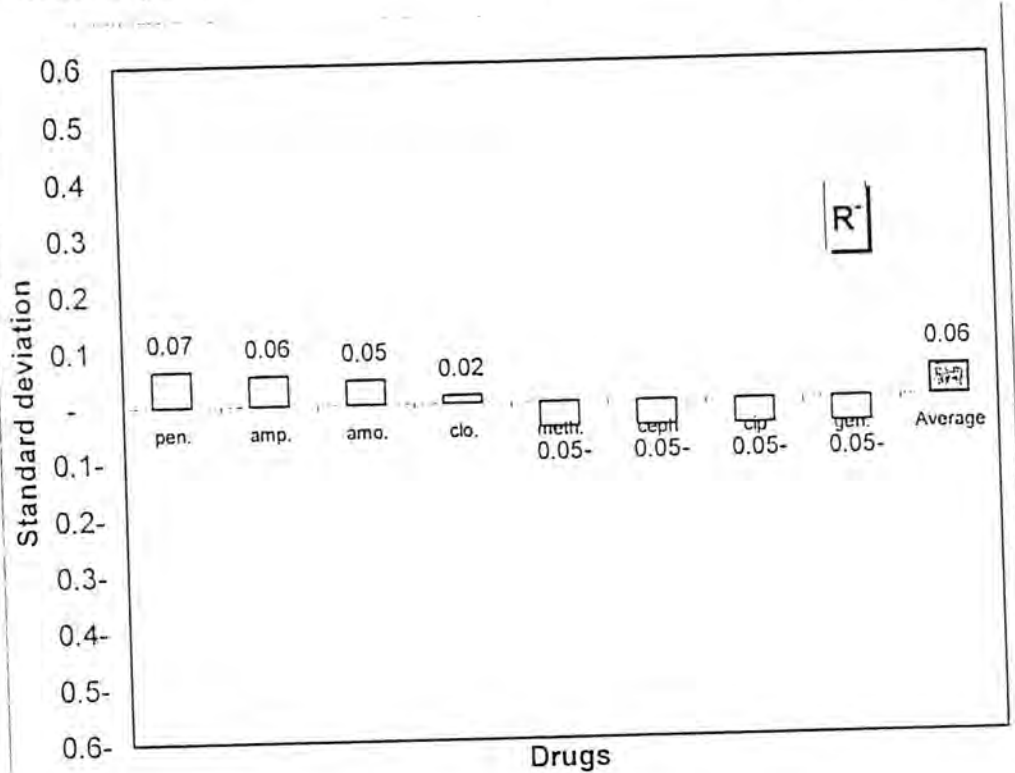


Fig. 1-a: Histogram showing standard deviation between the resistant coagulase negative staphylococci vs. it's average.

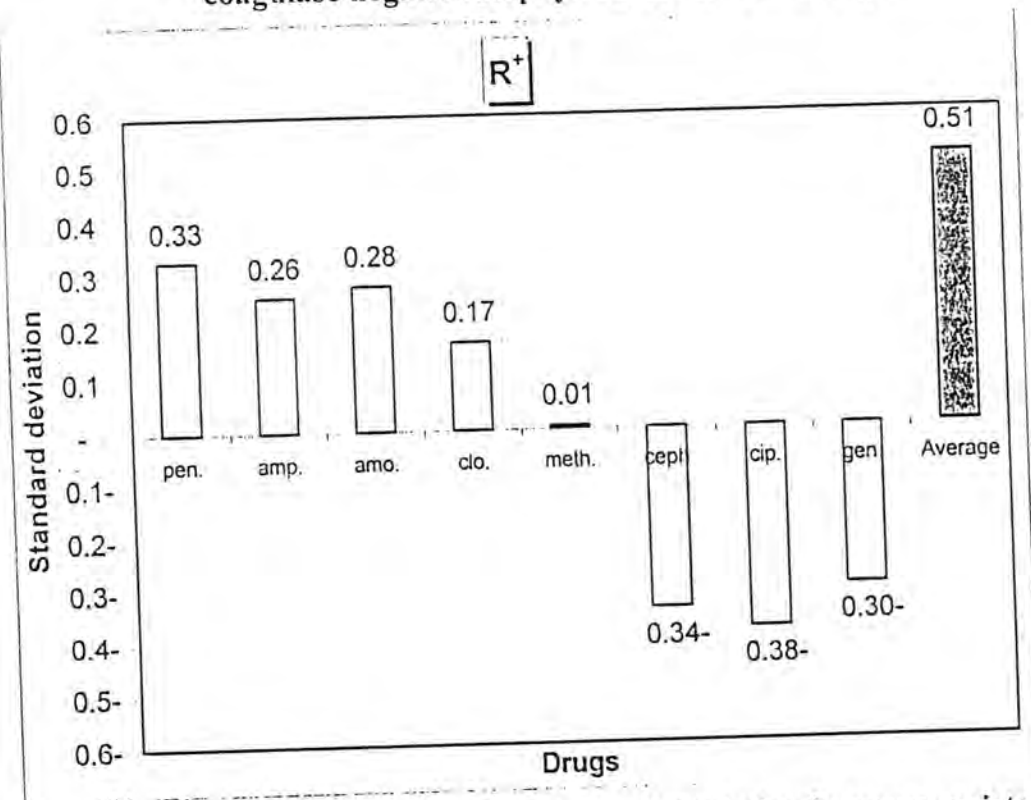


Fig. (1-b): Histogram showing standard deviation between resistant coagulase positive staphylococci vs. it's average .

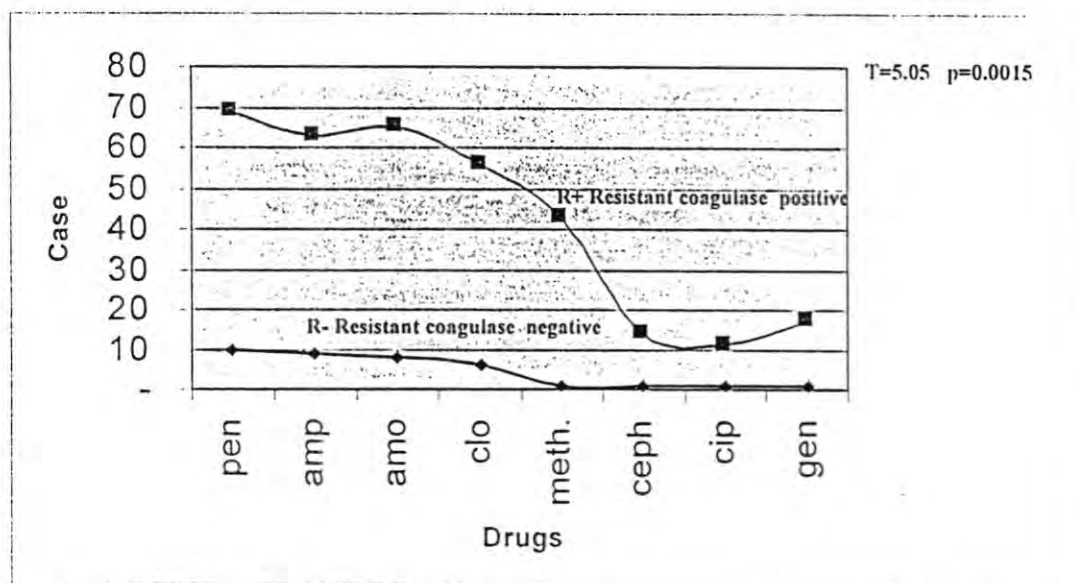


Fig. (2): Variation between the antibiotic susceptibility test of Resistant coagulase positive vs. Resistance coagulase negative strains

Fig (1) a and b showed variations among the outcome results of antimicrobial susceptibility tests of the *staphylococci* recovered and statistical analysis revealed no significant differences among the drugs efficacy according to t-test at (0.0015).

Fig (2) demonstrated clearly the variation between the antibiotic susceptibility tests of coagulase positive vs. coagulase negative staphylococci. In this Fig. coagulase negative *Staphylococcus aureus* are more susceptible to cloxacillin, amoxicillin , ampicillin and penicillin than coagulase positive *Staphylococcus aureus* , but the later are more resistant in general than the former.

Staphylococcus aureus often exhibited multi resistance to antibiotic therapy probably due to acquisition of extrachromosomal plasmids or additional genetic information via transposon , or other types of DNA insertion or by mutation in chromosomal genes. Besides there are four mechanisms of resistances of staphylococci to antibiotics viz : Enzymatic inactivation of the drug, alteration of the target site to prevent binding, accumulation of antibiotic due to change in permeability or due to changes in porin or lipopoly saccharide molecules or may involve an active efflux system. (5)

Microbial resistance and the related problem of nosocomial infections especially with *staphylococci* exert a significant tool in terms of costs. Increased consumption of health care resources and extended length of hospital stay are two of the significant economic ramifications of *staphylococci* infections. (7)

References

- 1- Archer , G. L. (1996) : Staphylococcal infection in Cecil text Book of medicine edited by Bennetto J.C., Plum F. 20th .Ed. Philadelphia. W.B. Saunders co.
- 2- Bauer , A.W., Kirby , W.M.M. Sherris , J.C. and Turck , M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single Disc Method. Am. J. Clin. Path., 45 , 493-496.
- 3- Collee, J.G., Marmion , B.P. ; Fraser , A.G. ; Simmons , A. Mackie and McCartney . (1996). Practical medical microbiology 41th edition. Churchill Livingstone London.
- 4- Dahmash NS, Chowdhury MNH, Fayed DF. (1994)Coagulase negative staphylococcal bacteremia with special reference to septic shock experience in an intensive care unit. J. Infect. 29: 295.
- 5- Devesiewicz , R.L. (1998) . Staphylococcal infections in Harrisons principles of internal medicines edited by Fauci , A.S, Martin , J.B., Braunwald , E., Kasper , D.L., Isselbacher K.J., Hauser S.L.
- 6- Emori TG., Gaynes RP. (1993) : An overview of nosiocomial infection. Clin. Microbiol. Rev. : 6: 428-442.
- 7- Jung, T. T. ; Hanson J. B. (1999): Classification of otitis media and surgical principles. J. Otolaryngologic Clinic of North America. 32 (3). 369-383.
- 8- Rudy M., (1997): Bacterial flora in chronic middle ear infections in adults, Med. Dosw. Microbial . 49 (1-2): 83-7.
- 9- Greenwood , D., Slack . R.C.B., Peutherer , J.F., (1997) . Medical Microbiology . Churchill . Livingstone. UK .
- 10- Rupp ME, Archer GL (1994) : Coagulase negative staphylococci pathogen associated with medical pyogens. Clinical Infect. Dis. 19:231.

Alkaline phosphatase level in sera of patient's with chronic renal failure

Sura Ahmed AL-Emami / Al- Mustansiriya University / College of Science /
Department of Chemistry
Nadia Noori Hussan / Al- Karrama hospital

الخلاصة

تم قياس مستوى أنزيم الفوسفاتيز القاعدي في عينات مصل الدم المأخوذة من أشخاص طبيعيين ومرضى مصابين بداء الفشل الكلوي بعد إجراء الفحوصات المختبرية كقياس مستوى اليوريا والكرياتين في مصل الدم. وقد تم اعتماد الطريقة اللونية في قياس كل من أنزيم الفوسفاتيز القاعدي واليوريا والكرياتين في مصل الدم لكلا المجموعتين 0 بينت هذه الدراسة حدوث ارتفاع في مستوى أنزيم الفوسفاتيز القاعدي بنسبة 43% من مجموع المرضى المصابين بداء الفشل الكلوي المزمن.

Abstract:

Alkaline phosphatase level was determined by colorimetric method in sera of controls healthy and patients with chronic renal failure after check up by laboratory examination such as urea and creatinine. This study indicated that alkaline phosphatase levels were increased in sera of patients with chronic renal failure in ratio 43%.

Introduction:

Chronic renal failure (CRF) is an irreversible deterioration in renal function which classically develops over a period of years⁽¹⁾.

It is usually the end result of a variety of conditions which include chronic glomerulonephritis, chronic obstructive uropathy, polycystic disease, renal artery stenosis, and any of condition causes of tubular dysfunction⁽²⁾.

In early CRF, the patient is often asymptomatic. Renal failure may present as a raised blood urea and creatinine found during routine examination, often accompanied by hypertension, protein-uria or aniaemia⁽¹⁾.

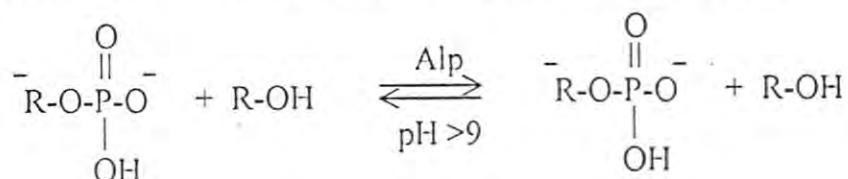
In end stage renal failure, patients appear ill and anaemic. They do not necessarily retain fluid, and may show signs of sodium and water depletion⁽¹⁾.

When chronic renal failure is advanced, blood potassium and phosphates are elevated, while calcium is usually low⁽³⁾.

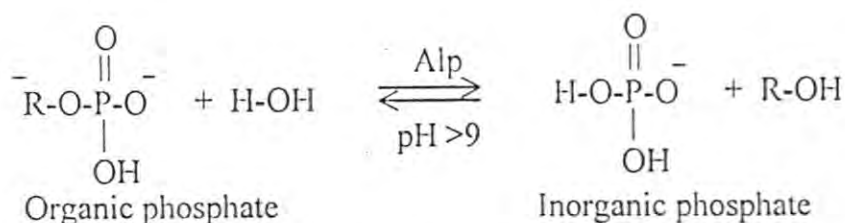
In chronic renal failure which has lasted for several years secondary hyperparathyroidism may lead to bone disease with high level of alkaline phosphatase⁽²⁾. Alkaline phosphatase (AIP) [ortho-phosphoric monoester phosphohydrolase], are a group of relatively non-specific enzymes which hydrolyse a variety of ortho phosphates esters under alkaline conditions (pH 9-10.5)⁽⁴⁾.

Alkaline phosphatase is a plasma membrane enzyme found in all body tissue⁽⁵⁾ and in serum⁽⁶⁾ according to the IUB, AIP belongs to the third class. The classification number of AIP is (3.1.3.1), this is given according to the transferred of the hydrolyzed phosphorly group involved in the reaction.

Phosphatases transfer a phosphate moiety⁽⁵⁾ from one group to another, forming an alcohol and a second phosphate compound.



When water is the phosphate acceptor, inorganic phosphate is formed.



Optimum activity of these enzymes is exhibited at a pH of approximately 10.0. Alkaline phosphatase requires Mg+2 ion for stability and maximum activity, it is inhibited by inorganic phosphate⁽⁷⁾. Alkaline phosphatase is present in practically all tissues of the body especially at or in the cell membranes, and it occurs at particularly high levels in intestinal⁽⁸⁾ epithelium, kidney tubules, bone (osteoblasts)⁽⁹⁾, liver and placenta^(11,12). It is also found in chromosome⁽¹³⁾, mammary gland and milk⁽¹⁴⁾.

The aim of this work is to determine the AIP level in sera of normal, and patients with chronic renal failure by enzymatic method.

Method and Patients:**Chemicals:**

- * Phosphatase alkaline- kit (bio Merieux Vitek, Inc.).
- * Urea- kit s 1000 (bio Merieux Vitek, Inc.).
- * Creatinine- kit (Randox, Inc.).

Instruments:

Centrifuge type universal 16A, Memmert water bath and LKB ultraspec 4050 spectrophotometer were used.

Patients:

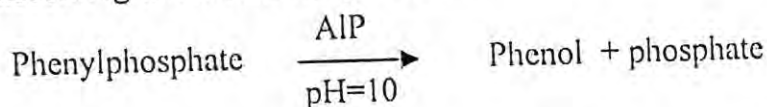
A total of 77 patients presented with chronic renal failure were included in this study. The peritoneal dialysis patients were assessed by artificial kidney branch of Internally part in Karrama hospital.

Serum sampling:

Blood samples (5ml) of venous were obtained from patients with chronic renal failure and controls. Blood samples were centrifuged at (3000 rpm) for 10 min after allowing the blood to be settled.

Determination of alkaline phosphatase in sera of patients with chronic renal failure and controls:

Serum levels of alkaline phosphatase were determined by colorimetric method according to the following reaction:



The phenol liberated is measured in the presence of amino-4-antipyrine and potassium ferricyanide. The presence of sodium arsenate in the reagent stops the enzymatic reaction.

Range of expected values in serum adults (3-13) kind and king U/dl.
The assay procedure is described in (table 1)

Table "1": Enzymatic assay procedure of ALP

	Serum sample	Serum blank	Standard	Reagent blank
Reagent 1	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Incubate for 5 minutes at 37°C				
Serum	50 µl	—	—	—
Reagent 2	—	—	50 µl	—
Incubate for exactly 15 minutes at 37°C				
Reagent 3	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
Mix well				
Reagent 4	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
Serum	—	50 µl	—	—
Distilled water	—	—	—	50 µl
Mix. let stand for 10 min. in the dark and measure at 510 nm.				

Reagent:

The reagent provided in the (ALP) kit from Bio Merieux Vitek were used:

- 1- Reagent 1 (substrate buffer): The vials contain dinatrium phenyl phosphate (5 mmol/L) and carbonate bicarbonate buffer pH 10 (50 mmol/L).
- 2- Reagent 2 (standard): The vials contain phenol (20 kind and king U).
- 3- Reagent 3 (inhibitor): The vials contain amino-4- antipyrine (60 mmol/L) and sodium arsenate (75 g/L).
- 4- Reagent 4: (Colour reagent): The vials contain potassium ferricyanide (150 mmol/L).

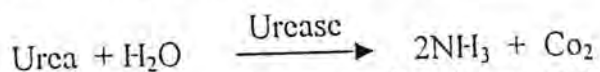
Calculation:

$$\frac{A. \text{ Serum sample} - A. \text{ Serum blank}}{A. \text{ Standard}} \times n$$

Kind and king U/100 ml: n = 20.

Determination of urea in sera of patients with chronic renal failure and controls:

Serum levels of urea in the current study were determined by enzymatic method according to the following reaction:



In an alkaline medium, the ammonium ions react with the salicylate and hypochlorite to form a green coloured indophenol (2, 2- dicarboxyl indophenol).

Range of expected values in serum or plasma: (15-45)mg/dl

The assay procedure is described in table 2.

Table "2": Enzymatic assay procedure of urea

	Reagent blank	Standard	Sample
Standard (Reagent 1)	—	10 μ l	—
Sample	—	—	10 μ l
Working reagent (R2+R3)	1 ml	1 ml	1 ml
Mix. incubate for at least 3 min at 37°C			
Reagent 4	200 μ l	200 μ l	200 μ l
Mix. Incubate for at least 3 min at 37°C and measure at 580nm.			

Reagent:

The reagent provided in the urea kit from Bio Merieux Vitek were used:

- 1-Reagent 1 (Standard): The vials contain urea (8.3mmol/L)(50mg/dl).
- 2- Reagent 2 (Enzyme): The vials contain urease \geq 5000 U/L.
- 3- Reagent 3 (Colour reagent): The vials contain phosphate buffer pH=8, (40 mmol/L) and sodium salicylate (52 mmol/L) sodium nitroprusside (2.83 mmol/L) and EDTA (1mmol/L).
- 4- Reagent 4: (Alkaline reagent): The vials contain sodium carbonate (83 mmol/L) and sodium hypochlorite (3.75 mmol/L)

Calculation:

$$\frac{\text{A. Sample}}{\text{A. Standard}} \times n \quad n = \text{concent of standard}$$

Determination of Creatinine in sera of patients with chronic renal failure and controls:

Serum levels of Creatinine were determined by colorimetric method. The method is based on the creatinine in alkaline solution reacts with picrate to form a complex colour. The assay procedure is described in table 3.

Table "3": Colorimetric assay procedure of Creatinine

	Blank	Standard	Sample
Trichloro acetic acid	0.5 ml	0.5 ml	1 ml
Distilled water	0.5 ml	—	—
Serum	—	—	1 ml
Standard	—	0.5 ml	—
Mix, centrifuge the sample tube at 2500 rpm for 10 min then pour off the supernatant			
Supernatant	—	—	1.0 ml
Reagent mixture (R2+R3)	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml
Mix, let stand for 20 min at 25°C. Measure the absorbance of sample and standard against blank at 520 nm.			

Reagent:

The reagent provided in the creatinine kit from Randox were used:

- 1- Reagent 1 (Standard): (177 µmol/L) (2 mg/dl).
- 2- Reagent 2 (Picric acid): (35 mmol/L).
- 3- Reagent 3 (Sodium hydroxide): (1.6 mol/L).
- 4- Reagent 4: (Trichloro acetic acid TCA): (1.2 mmol/L).

Normal values in serum:

Men 0.6-1.1 mg/dl

Women 0.5-0.9 mg/dl

Calculation:

$$\frac{\text{A. Sample}}{\text{A. Standard}} \times 2 = \text{mg/dl}$$

Results:

Two groups were included in this study: Group I patients with chronic renal failure and group II controls as shown in table 4 which give the age and the number.

Table "4" show the no. and age of renal failure patients and controls

Group	No.	Age
Group I	77	20-75
Group II	25	24-52

In each group blood urea were determined by enzymatic method, creatinine by colorimetric method and alkaline phosphatase by colorimetric method.

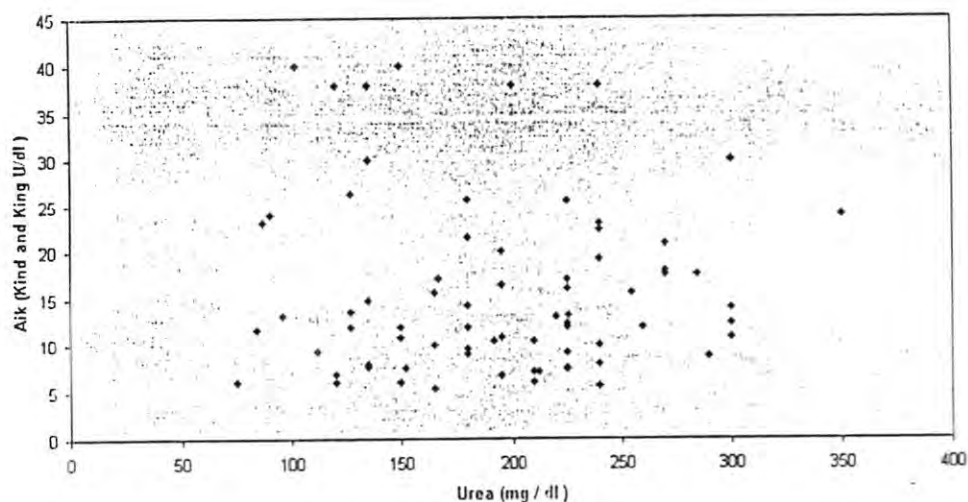
Table 5 shows the min, max and mean with SD. values of urea, creatinine and ALP in-patients with chronic renal failure and controls

Figure "1" show the serum Alkaline phosphatase values in chronic renal failure patients.

Table 5: show the ALP, urea and creatinine values in sera of patient's with (CRF) and controls

	Min	Max	Mean ± S.D
Group I ALP	5.4 k&ku/dl	40 k&ku/dl	15.7 k&ku/dl ± 4.18
Urea	84 mg/dl	350 mg/dl	192 mg/dl ± 59.4
Creatinine	2.5 mg/dl	14 mg/dl	7.6 mg/dl ± 2.59
Group II ALP	4.0 k&ku/dl	11.2 k&ku/dl	7.64 k&ku/dl ± 2.0
Urea	18 mg/dl	32 mg/dl	25.7 mg/dl ± 3.56
Creatinine	0.5 mg/dl	0.9 mg/dl	0.66mg/dl ± 0.1155

Figure "1" show the relation between Alp levels and urea in sera of patient's with (CRF)



Metabolic bone disease might commence early in the course of renal failure⁽¹⁵⁾. Chronic renal failure is often associated with bone disorders, including secondary hyperparathyroidism, aluminum related low- turnover bone disease, osteomalacia, dynamic osteopathy, osteoporosis, and skeletal beta 2- microglobulin amyloid deposits⁽¹⁶⁾. The aim of the study was to determine the alkaline phosphatase levels in-patients with chronic renal failure undergoing peritoneal dialysis. We studied two groups: group I patients with end- stage renal failure: 77 peritoneal dialysed aged (20-75) years and group II was control healthy subjects aged (24-52) years. Serum urea, creatinine and alkaline phosphatase were determined by laboratory methods. Mean values of urea in sera of patients with CRF and controls were 192 mg/dl and 25.7 mg/dl respectively. These values differ significantly ($p > 0.05$). Mean values of creatinine in sera of patients with CRF and controls were 7.6 mg/dl and 0.66 mg/dl respectively. These values differ significantly ($P > 0.05$) while the mean values of alkaline phosphatase for two groups patients and controls were 15.7 kind & king U/dl and 7.64 kind & king U/dl respectively. These values not differ significantly ($P < 0.05$).

Many studies indicate that total AIP activities were increased in CRF (17,18,19,20)

Figure "1" show the alkaline phosphatase levels in sera of patients with CRF. We observed increased levels of AIP on a ratio 43%.

This value mean that 43% of total peritoneal dialysis patient's suffer from bone disorders as a result of chronic renal failure.

References:

- 1- Christopher Haslett, Edwin R. Chiwers, John A.A. Hunter, Nicholas A. Boon "Davidson's principles and practice of medicine", 1999: p. 433.
- 2- Joanf. Zilva and P. R. Pannall, "Clinical Chemistry in diagnosis and treatment", 1984, 4th Ed.: p.17.
- 3- C. H. Gray and P. J. N. Howorth, "Clinical Chemical Pathology", 1979, 9th Ed.: p.16.
- 4- Varly, H; Gowenhol, A.H. and Bell, M, "Practical Clinical Chemistry", 1980, 5th Ed.: p.559.
- 5- Elaine, M; "Biochemistry" J. 1987, 244: p.725.
- 6- Donald W. Moss, Clin-Chem., 1982, 28/10p: p. 2007-2016.
- 7- Kaplan, A; "Clinical Chem. Theory analysis and correlation", 1989, 2nd Ed.: p.904.
- 8- Garner P; Shin, W.J, Gineyts E, Karpf DB, Delmas PD, J. Clin. Endo Cri Metab, 1994, 79: p. 1693-1700.
- 9- Hoffraan w. E. and Dorner, J. L., J. Am-Anin. Hosp- Assoc., 1975, 11(3): p.283.
- 10- Trepanier, J. M. Seargeant, L.E. and Stinson R.A; Biochem. J. 1976, 155: p.653.
- 11- Chosh. N. K. and Fishman, W. H., J. Biochem. 1968, 108: p.179.
- 12- Gonnelli, S; Cepollaro, Montagnani A, Eur. J. Clin. Invest. 1996, 26: p. 391-396.
- 13- Dixon, M. and Webb, E. C., "Enzymes", 1964, 2nd ed.: p. 635.
- 14- Carpenter, P. L; "Microbiology", 1961: p.316.
- 15- Rix- M; Andreassen-H; Eskildsen-P; Langdahl-B; Olgaard-K, Kidney- Int., 1999 sep; 56(3): p. 1084-1093.
- 16- Urena- P; De-Vernejoul-Mc, Kidney- Int., 1999 Jun; 55(6): p. 2141-2156.
- 17- Magnusson-P; Sharp- C- A; Magnusson, -M; Risteli-J; Davic, M-W; Larsson, Kidney- Int., 2001 Jul.; 60(1): p. 257-265.
- 18- Refaie- MO; Abo-Zaid-H; Gomma-NA; Aboul-Encin-HY, Prep- Biochem. Biotechnol., 2000 May; 30(2): p. 93-106.
- 19- Esposito-C; Semeraro- L; Bellotti-N; Fasoli-Fornoni-A; Rampino-T; Klersy-C; Campana-C; Gavazzi-A; Vigano-M; Dal-Canton-A , Nephron, 2000 Jan.; 84(1): p. 21-28.
- 20- Duarte- ME; Peixoto- AL; Pacheco-AS; Peixoto -AV; Rodriguez- RD; Lugon-JR; Cruz-EA, Paul-Med., 1998 sep. -Oct.; 116(5): p. 1790-1797.

Determination of Molybdenum and Chromium in alloy steel and waste water sample by liquid chromatograph

Hadi Hassen Jasim

الخلاصة:

تم تقدير كل من المولبيديوم رباعي الشحنة Mo^{4+} والكروم ثلاثي الشحنة Cr^{3+} المستخدمين على نطاق واسع في صناعة الستلس ستيل وبتراكيز واطئة جداً. وكذلك تعيين نسب كل منهما في صناعة الستلس ستيل للتأكد من مدى جودة الإنتاج لهذه الصناعة، استخدم في هذا البحث تقنية كروماتوغرافيا السائل المعكوس لتقدير كل من العنصرين على انفراد على هيئة مركبات كيليتية باستخدام 2-(5-برومو برديل آزو)-5-ثنائي أثيل أمينو فينول. حيث تذاب هذه الكيليتات الفلزية في محلول (50%) إيثانول.

استخدم طور متحرك يتكون من مزيج (الميثانول + تتراهيدروفوران + ماء) والحاوي على محلول كبريتات الليثيوم (0.01M) ومحلول بفر (pH=7.7) وبمعدل جريان مقداره واحد مل بالدقيقة (1ml/min). وأن مقدار الاحتباس لهذين العنصرين Cr, Mo كان على التوالي 0.06×10^{-9} gm, 0.12×10^{-9} gm. استخدمت هذه الطريقة في فصل وتقدير التراكيز الضئيلة لهذين العنصرين في سبائك الستلس ستيل ومياه فضلات الغسيل.

Abstract:

Reversed phase liquid chromatographic was used for determination of molybdenum (Mo^{VI}) and chromium (Cr^{III}) as chelates with 2-(5-bromopyridlazo)-5-diethyl aminophenol. The metal chelates in (50%) ethanol solution were separated within (15min) by using [methanol: tetrahydrofuran: water (13:17:70)] containing (0.01M) Li_2SO_4 and (0.005M) Tris buffer (pH=7.7) as the mobile phase at a flow- rate of (one ml/min) and were detected at 600nm.

The detection limits for chromium and molybdenum are (0.066×10^{-9}) and (0.12×10^{-9}) gm respectively. The method has been applied to the determination of chromium and molybdenum in alloy steel and wastewater samples.

Introduction:

Liquid chromatography has been shown to be convenient method for the separation and determination of trace amounts of metal ions as chelates. Excellent reviews of this subject are available⁽¹⁻⁴⁾. Many reagents, including B- diketones⁽⁵⁾, 8-hydroxy quinoline⁽⁶⁾, dithizone⁽⁷⁾, dithiocarbamates and 4-(2-pyridylazo) resorcinol (PAR)⁽⁹⁻¹²⁾ have been used to chelate metal ions prior to RPLC separation.

2-(5-Bromo pyridylazo)-5-diethyl amino phenol (5-Bromo PADAP) has been used extensively for the spectrophotometric determination of transition metals⁽¹³⁻¹⁵⁾, and in thin- layer chromatography⁽¹⁶⁾. No liquid chromatographic method using this reagent has been reported for metal ions, (5-Br-PADAP) is an unselective chelating agent that forms water- insoluble chelates with most transition metals and the high sensitivity of most (5-Bromo PADAP) chelates that absorb in the visible region suggests that they would be stable under RPIC conditions.

In this study, the separation and simultaneous determination of chromium and molybdenum in the form of (5-Br-PADAP) chelates by RPLC are described.

Experimental:

1-Apparatus:

Liquid chromatography was carried out using a Shimadzu Model LC-4 AHPLC instrument with a Model SPD-1 spectrophotometric detector and chromatopac C-R₂A data processor. A 10 μ m particle size Shim-pack PNH₂ column. A Shimadzu Model UV-240 recording spectrophotometer was used for spectral measurements. pH- meter S-2 pH was also used.

2- Reagents:

Analytical reagent grade 2-(5-bromo PADAP) was obtained from Beijing chemicals Factory (England). A certain amount of this reagent dissolved in ethanol to give a 5×10^{-3} M concentration. Buffer solution (hydroxymethylaminomethane 0.1M) was prepared by dissolving in water and adjusting to (pH=7.7) with dilute sulphuric acid (0.1M).

Standard solution (1×10^{-5} M) of Cr^{IV} and Mo^{IV} were prepared by dissolving K₂CrO₄ and ammonium molybdate, respectively, in water. The mobile phase was a mixture (methanol + tetrahydrofuran + water) (13:17:70) v/v containing (0.01M) Li₂SO₄ and 5×10^{-3} M tris buffer adjusted to pH 7.7 by adding dilute sulphuric acid prior to the addition of methanol and tetrahydrofuran.

3- Procedure:

2 ml sample solution containing (0.5-30) μg Cr^{IV} and (0.1-60) μg of Mo^{IV} , 2 ml of 0.1M Tris buffer solution (pH=7.7), 1 ml of 10% m/v hydroxylamine hydrochloride ($\text{NH}_2\text{-OH} \cdot \text{HCl}$) solution and 2 ml of $5 \times 10^{-3}\text{M}$ ethanolic solution (5-Br-PADAP) were added. The mixture was heated in boiling water for about 20 min. After cooling, 5ml of ethanol were added and the solution was diluted to 10 ml.

The solution was filtered through a 0.45 μm membranes and a 20 ml aliquot was injected on the column.

The (5-Br-PADAP) chelates were eluted with (methanol + tetrahydrofuran + water) mobile phase at a flow rate of 1 ml min^{-1} . The chelates in the eluate were detected at 600 nm, the sensitivity being set at 0.02 or 0.01 absorbance for full-scale deflection. The amount of each metal was determined by measuring the peak heights.

Results and Discussion:

I- Chromatogram:

A typical chromatogram for the separation of the (5-Br-PADAP) chelates of (Cr^{III}) and (Mo^{VI}) is shown in figure (1). The retention times for the chelates are 3.4 and 5.5 min, respectively, at a flow-rate of 1 ml min^{-1} . Base line separation of both chelates was achieved. The slopes and intercepts of the calibration graphs for the simultaneous determination of (Cr^{III}) and (Mo^{VI}) calculated by linear regression analysis of the peak height (absorbance versus metal ion concentration (p.p.m) data are summarized in table 1. The absolute detection limits calculated as the amount indicated that gave a signal twice the background noise (signal to noise ratio 2:1) were a 0.066 ng for chromium and 0.12 ng for molybdenum (full-scale deflection = 0.01 A).

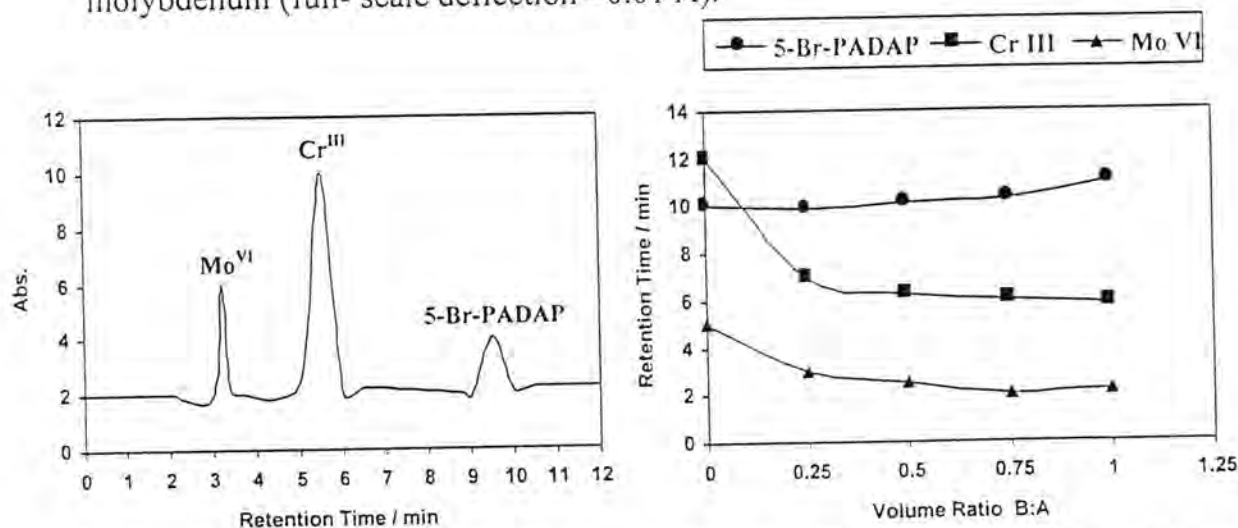


Fig. (1): Chromatogram of Cr^{III} and Mo^{VI} - 5-Br-PADAP chelates using (methanol + tetrahydrofuran + water) as a mobile phase at a flow-rate of (1 ml min^{-1}). Detector wave length at 600nm

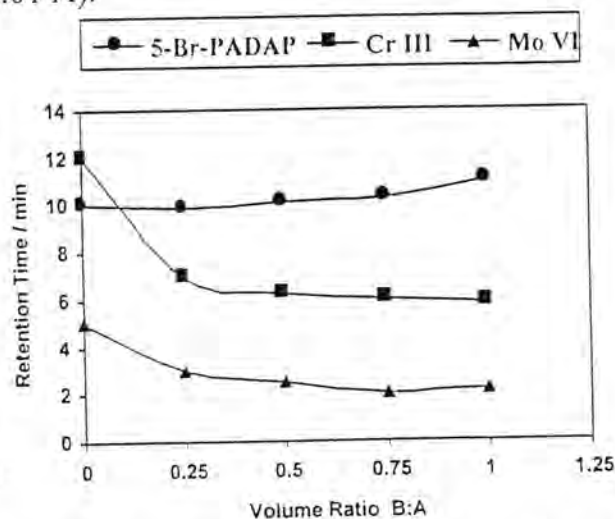


Fig. (2): Effect of conc. Of methanol and tetrahydrofuran in the mobile phase on the retention times of 5-Br-PADAP chelates with Cr^{III} and Mo^{VI} mobile phase content 0.01 M Li_2SO_4 and $5 \times 10^{-3}\text{M}$ Tris buffer pH= 7.7.

2- Effect of concentrations of methanol and tetrahydrofuran:

A number of combinations of organic solvents with water such as methanol- acetonitrile- tetrahydrofuran- ethanol- acetone- isopropyl alcohol and ethyl acetate- water, were investigated as mobile phases, but none of the binary mobile phase systems was found to be satisfactory for the separation of the (5-Br-PADAP) chelates of (Cr^{III}) and (Mo^{VI}).

Therefore, several ternary mobile phase systems were examined. A methanol + tetrahydrofuran + water system (40% methanol and 20% tetrahydrofuran in water v/v) was found to be the most suitable for the separation of the chelates. A mixture methanol- tetrahydrofuran- water ternary mobile phase, however, gave poor peak shapes and low sensitivities. When Li_2SO_4 and tris buffer were added to the ternary mobile phase, an improve in peak shapes and high sensitivities were obtained. The effect of the concentration of methanol and tetrahydrofuran in the mobile phase on the retention of the chelates is shown in figure 2. The optimum results were obtained with 25% A and 75% B (methanol + tetrahydrofuran + water 7.5 : 22.5 : 70 v/v).

3- Effect of pH buffer to the mobile phase:

To examine the optimum pH range of the mobile phase two buffers (0.01M) were tested, potassium dihydrogen phosphate, disodium hydrogen phosphate and Tris, and the latter was found to be the more suitable for the separation of the chelates and maximum peak heights were obtained. The results obtained are shown in figure 3.

It is evident that the retention of the molybdenum^{VI} chelate remained unchanged in the pH range⁽⁷⁻⁸⁾, but those of the chromium chelate and unreacted (5-Br-PADAP) increased in the pH range⁽⁷⁻⁸⁾. A constant peak height for each chelate was obtained in the pH range (7—7.8).

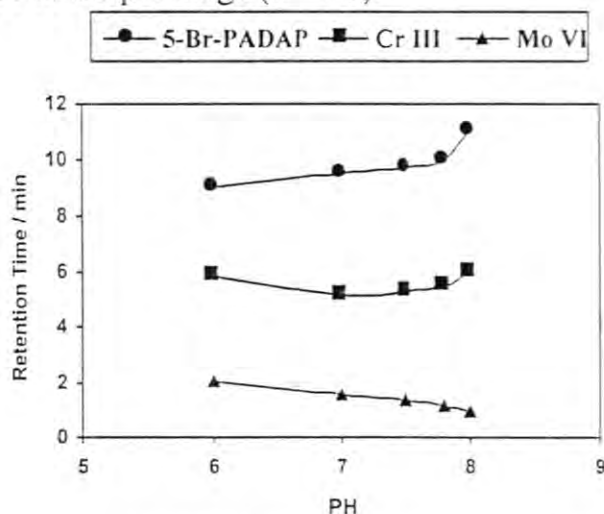


Fig. (3): Effect of pH Of Tris buffer in the mobile phase using the same condition of fig.(4) except that the concentration of lithium sulphate = 0.01M

Figure 3 shows the effect of pH of tris buffer on the mobile phase using the same condition on figure 4 except that the concentration of lithium sulphate = 0.01M.

4- Effect of Concentration of Lithium Sulphate:

The effect of Lithium sulphate on the retention of each chelate was examined by adding the salt to the mobile phase. As shown in figure 4, the retention of all the species increased with increasing salt concentration as a result of salting out effects.

The optimum chromatogram was obtained with 0.01M Lithium sulphate in the mobile phase.

5- Selection of Detection Wave length:

The absorption maxima of the Cr^{III} and Mo^{VI} chelates were exhibited at 595 and 605 nm, respectively, which were consistent with the data measured spectrophotometrically in 50% ethanol solution. The detection wave length was set at 600 nm.

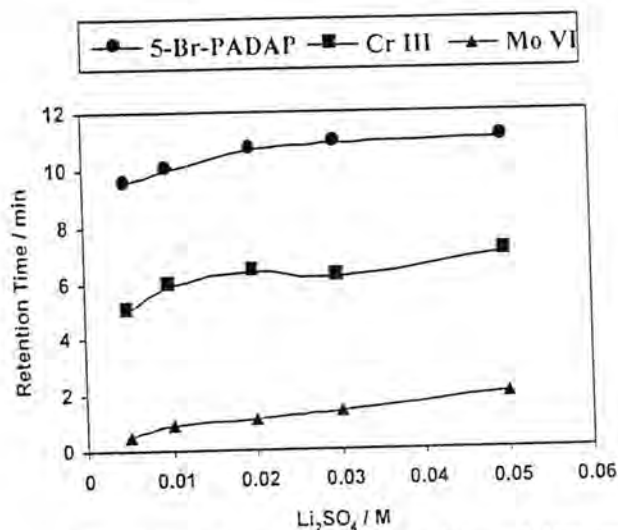


Fig. (4): Effect of concentration of lithium sulphate on the retention times of 5-Br-PADAP chelates with Cr^{III} and Mo^{VI} using methanol + tetrahydrofuran + water (13:17:70) as mobile phase.

6- Pre- column Derivation of chelates:

Preliminary experiments indicated that Mo(VI) formed a chelate with (5-Br-PADAP) only in the presence of hydroxylamine hydrochloride in the appropriate pH range at 100°C.

Hydroxylamine hydrochloride has the dual functions of reducing chromium(VI) to chromium(III) [which reacts with (5-Br-PADAP) to form the [chromium(III) (5-Br-PADAP) chelate] and accelerating the color development of both chelates.

To examine the optimum pH range of the color development of both chelates, a Tris- sulphuric acid and acetic acid buffer system was used. The peak heights of the chelates were almost constant in the pH range (4—8), and buffer concentrations < 0.05M did not effect the peak heights. The effect of varying the concentration of (5-Br-PADAP) in the sample solution containing 5µg each of chromium^{VI} and molybdenum^{VI} on the peak heights of their chelates was examined. Constant peak heights for the Cr^{III} and Mo^{VI} chelates were obtained in the concentration range (5×10^{-4})-(2.5×10^{-3})M.

Hence, 1 ml of 10% m/v hydroxylamine hydrochloride solution, 2 ml of 0.1M Tris buffer solution (pH=7.7) and 2 ml of (5×10^{-3} M) (5-Br-PADAP) ethanol solution were used in subsequent determinations. Neither Cr^{III} nor Mo^{VI} reacted with (5-Br-PADAP) at room temperature, therefore the sample solution had be heated in boiling water- bath for (15-30) min to accelerate the reactions. Both chelates formed with (5-Br-PADAP) under the above mentioned conditions were stable for at least one month.

7- Alloy steel analysis:

An alloy steel sample was dissolved with (H₂SO₄ + HNO₃). After appropriate dilution, chromium was oxidised with sodium persulphate in the presence of silver ions, and the excess of persulphate was destroyed by boiling. The solution was diluted to about 100 ml and adjusted to slightly acidic. A 50ml volume of 5% m/v NaOH was added to precipitate iron, nickel, cobalt, copper, titanium, manganese, etc. The precipitate was filtered and washed with 1% m/v NaOH solution. The filtrated was adjusted to be slightly acidic with sulphuric acid, transferred into a 250 ml calibrated flask and diluted to volume. A 2ml aliquot of the solution was taken, and Cr^{III} and Mo^{VI} (5-Br-PADAP) chelates were derived and determined by liquid chromatography as described. The results showed good agreement with the certified values (table 2).

8- Waste water analysis:

The result of the determination of Cr in chromium plating electrolyte waste water and industrial waste water by coupling a standard additions procedure with the liquid chromatographic separation of Cr^{III} (5-Br-PADAP) chelates are shown in table 3.

The recoveries of chromium were 97-100%. Six replicate analysis of chromium plating electrolyte waste water A and industrial waste water A gave a verge chromium concentrations of 7.4 and 1.73 mg/L with relative standard deviations of 3.5 and 4.2% respectively.

Table (1) Coefficients of linear regression analysis for calibration of the chromatographic detector

Parameter	Cr ^{VI}	Mo ^{VI}
1- Conc. Range p.p.m	0.05-3.0	0.01-6.0
2 Rand of amount	1-60	0.2-120
3- Slope, A ml g ⁻¹	0.031	0.014
4- Intercept, A	0.0016	-0.00008
5- Correlation coefficient	0.9998	0.9997

Table (2) Determination of Cr and Mo in alloy steel

Sample types	Found*% w/w		Certified value% w/w	
	Cr	Mo	Cr	Mo
70	0.23	0.3	0.23	0.315
42	0.07	—	0.072	—
96	1.18	—	1.16	0.612

Table (3) determination of chromium in waste water samples

Sample	Sample volume taken/ml	Chromium adding/ μ g	Chromium found*/ μ g	Recovery %
1- chromium - plating electrolyte waste water A	1.0	0	7.5	98
	1.0	5	12.4	
2- chromium - plating electrolyte waste water B	1.0	0	13.1	100
	1.0	5	18.2	
3- Industrial waste water A	2.0	0	3.5	99
	2.0	10	13.4	
4- Industrial waste water B	2.0	0	1.5	97
	2.0	10	11.2	

* Average of two parallel determination

References:

- 1- Schwedt, G., *Chromatographia*, 12, 613 (1979).
- 2- O. Laughlin, J. W., *lig. Chromatogerphy*. 7, 127, (1984).
- 3- T. J. Bahowick, Ion chromatographic determination of chlorot, oxalate, and sulphate in Bayer liquor, *Analyst*, vol.12, 1663 (2000).
- 4- Larny Squow, *Appli catrons of Ionchromatorgraphy for characterization of unknown materials* vol. 3. 17 (2000).
- 5- G. Urira, r. C. and Carr, P. W. *J. chromatgraphy*, vol.20, 461 (1982).
- 6- Berthod, A. Kolosky, M. Rocca, J. L. and Vittori, O., *Analysis*, Vol. 7, 395 (1979).
- 7- Ohashi, K. Lwai, S. and Horguchi, M. *Bunseki Kagaku*, vol. 31, P. E. 285 (1978).
- 8- Schwedt, G. *Chrojmatographia*, vol. 12, p.289 (1979).
- 9- Watanabe, E., Nakejima, H. Ebina, T., Hoshini, H. and Yotsuyanagi, T. *Bunseki Kagaku*, vol. 32, P. 469 (1983).
- 10- Roton. D. A., *Anal. Chem.*, vol. 56, p. 241 (1988).
- 11- Hoshiuo, H., and Yotsuyanagi, T., *and chem.* Vol. 57, p. 625 (1985).
- 12- Zhang, X. S., Zhu, X. P., and Lin, C. S., *Talanta*, vol.33, p. 838 (1986).
- 13- Dinunzio, J. E., Yost, R. W., and Hutch. Son, E. K., *Talnta*, vol.32, p. 803 (1985).
- 14- Shibata, S., in *flaschka, H. A., and Barnard, A. J., Editors, Chelates in Analytical chemistry*, vol.4, p.194-202 (1972).
- 15- Johnson, d. A., and Fbrence, T. M., *Talanta*, vol. 22, p.253 (1975).
- 16- Hu, Z, D., and Zhang. Y. S. *Chin. J. Chromatogr.* Vol. 3 p. 191 (1985).

Serum Uric acid level in Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM).

Sura Ahmed Al- Emami- Al-Mustansiryah University College of Science
Department of Chemistry

الخلاصة

تم قياس مستوى حامض اليوريك في عينات مصل الدم المأخوذة من أشخاص طبيعيين، مرضى مصابين بداء السكري غير المعتمد على الأنسولين (NIDDM)، وقد تم اعتماد الطريقة الأنزيمية (Uricase) في قياس حامض اليوريك وطريقة الكلوكوز الأنزيمية لقياس مستوى السكر في مصل الدم لكلا المجموعتين، حيث أوضحت هذه الدراسة أن مستوى حامض اليوريك في أمصال نم المصابين بداء السكري غير المعتمد على الأنسولين هو ضمن المستوى الطبيعي.

Abstract:

The level of uric acid was determined by uricase assay in sera of normal persons, Patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. The level of glucose was also determined in both groups by enzymatic assay. This study indicated that the levels of serum uric acid in-patients with non-Insulin dependent diabetes mellitus were in the normal range.

Introduction:

Uric acid is the major product of the catabolism of the purine nucleotides, adenosine and guanosine (A,G)^(1,2). Purines from catabolism of dietary nucleic acid are converted to uric acid directly⁽²⁾. However the bulk of purines ultimately excreted as uric acid in the urine arises from degradation of endogenous nucleic acids^(3,4,5). The catabolism of purines is illustrated in outline in figure (1)⁽⁶⁾.

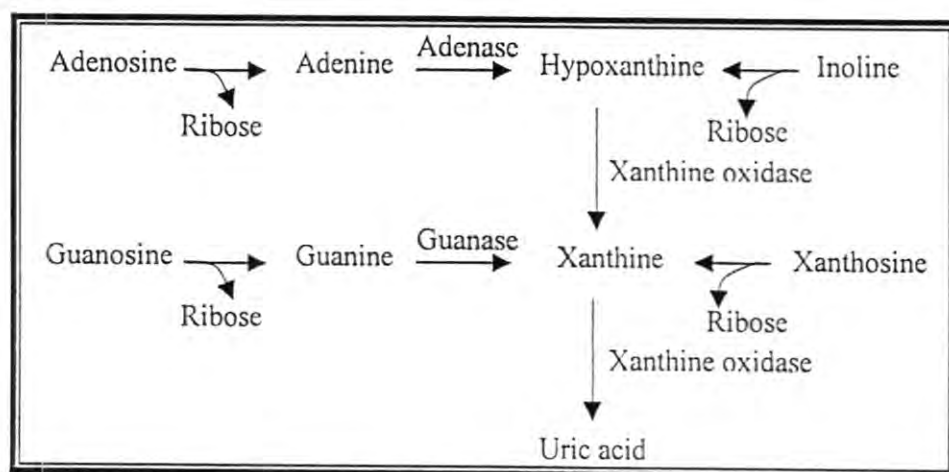


Figure "1": The catabolism of purines

Approximately 75% of uric acid excreted are lost in the urine. Most of the remainder is secreted into gastrointestinal tract where it is degraded to allantoin and other compound by bacterial enzymes^(3,4).

Purine nucleotide are degraded to uric acid in many organism including humans and other primates, dogs birds, snakes and lizards⁽⁵⁾. Many animals degrade uric acid further. Urate oxidase converts uric acid to allantoin, an excretory product in many mammals⁽⁷⁾.

Allantoinase catalyzes the hydration of allantoin to form allantoate, which is excreted by bony fish. Other fish as well as amphibians produce allantoicase, which splits allantoic acid into glyoxylate and urea. Finally marine invertebrates degrade urea to NH_4^+ and CO_2 in a reaction catalyzed by urease⁽⁷⁾.

Uric acid and its urate salts are quite insoluble. The insolubility of urates can present difficulties in mammalian metabolism⁽¹⁾. Several diseases result from defects in purine catabolic pathways⁽⁷⁾. Gout, which is often characterized by high blood levels of uric acid and recurrent attacks of arthritis, is caused by several metabolic abnormalities⁽⁷⁾. In humans about 3 individuals in 1000 suffer from hyperuricemia chronic elevation of blood uric acid levels well beyond normal limits⁽¹⁾. Although the biochemical reasons for hyperuricemia vary, the condition goes by the single clinical name of gout⁽¹⁾. Gout patients often have various characteristics of insulin resistance (IR) syndrome such as glucose intolerance, hyperlipidemia, hypertension and obesity⁽⁸⁾. Insulin resistance has been increasingly implicated in the pathogenesis of gout⁽⁹⁾.

Previous reports showed significantly increased serum uric acid levels in (NIDDM)^(10,11,12,13,14). Another report showed a different serum uric acid pattern⁽¹⁵⁾.

The aim of this work is to explore the relationship between serum uric acid levels (U.A) and fasting blood sugar (F.B.S) on Diabetic Iraq Population.

Experimental:

Chemicals:

- * Enzymatic colorimetric assay (GOD- PAP) kit for glucose (Biomaghreb Inc.).
- * Enzymatic colorimetric test (Uricase- PAP) kit for uric acid (Biomaghreb. Inc.).

Instruments:

Centrifuge type Janetzki T₅ (5000 rpm), Memmert water bath. LKB Ultraspec 4050 spectrophotometer.

Patients:

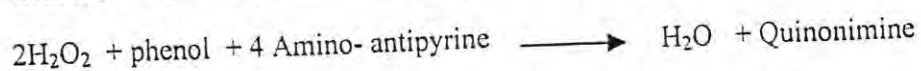
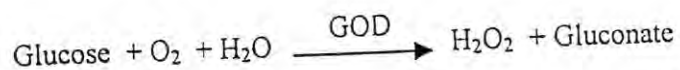
All the patients included in the current study were assessed by International Diabetic Center and had the diagnosis of non-insulin diabetes mellitus (NIDDM). A total number of 82 patients (52 male and 30 female) were included in this study 56 of them considered as uncontrolled diabetic as the fasting blood sugar not dropped below 180 mg/dl and 26 of them belonged to controlled diabetic with a range of fasting blood sugar (80-120) mg/dl.

Serum Sampling:

Blood samples (5ml) of Venous were obtained from patients with NIDDM (Group 1) and controls (Group II). Blood samples were centrifuged at (3000 rpm) for 10 min after allowing the blood to coagulate.

Determination of Glucose in sera of patients with (NIDDM) and controls:

Serum levels of glucose were determined by enzymatic colorimetric method. The method is based on the glucose is oxidized by glucose-oxidase to gluconate and hydrogen peroxide according to the following equation:



The assay protocol is described in (table 1).

Table "1": Enzymatic assay protocol of serum Glucose

	Blank	Standard	Sample
Standard	∣	10 µl	∣
Sample	∣	∣	10 µl
Working reagent	1 ml	1 ml	1 ml

Mix, incubate 10 min at 37°C or 30 min at room temperature (20-25)°C and read the absorbance at 505nm.

Reagent:

The reagents provided in the glucose kit from Biomaghreb were used:

- 1- Reagent 1 (Buffer solution): The vials contain Tris buffer pH 7 (100 mmol/l) and phenol (0.3 mmol/l)
- 2- Reagent 2: The vials contain glucose oxidase 10000 U/l, peroxidase 1000 u/l and 4- amino antipyrine 2.6 mmol/l.
- 3- Reagent 3 (standard): The standard concentration is 100 mg/dl.
- 4- Working reagent: This reagent is prepare by dissolve each vial R2 with buffer R1 (stability in brown vial) 8 weeks at 20-25°C, 8 months at 2-8°C.

Calculation:

$$\text{Glucose conc.} = \frac{\text{Abs. Sample}}{\text{Abs. Standard}} \times n$$

mg/dl: n =100

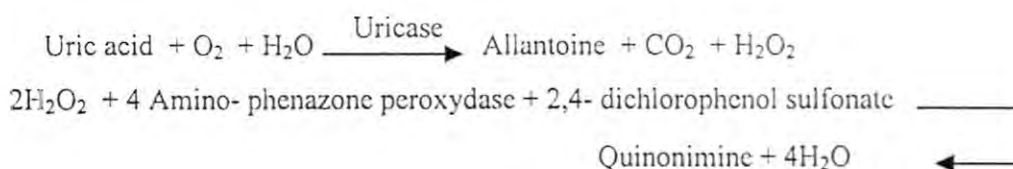
g/l: n =1

mmol/l: n= 5.56

Determination of uric acid in sera of patients with (NIDDM) and controls:

Methods in current use for assay of uric acid fall into two group: phosphotungstic acid (PTA) methods and uricase methods⁽²⁾.

Serum levels of uric acid in the current study were determined by enzymatic colorimetric test (uricase) method. The method is based on the uric acid oxidation by uricase to allantoin and hydrogen peroxide according to the following equation:



The assay protocol is described in (table 2).

Table "2": Enzymatic assay protocol of uric acid

	Blank	Standard	Sample
Standard		20 µl	
Sample			20 µl
Working reagent	1 ml	1 ml	1 ml

Mix, incubate 5 min at 37°C or 30 min at room temperature (20-25)°C. The colour is stable for 30 min. Read the absorbance at 510 nm.

Reagent:

The reagents provided in the uric acid kit from Biomaghreb were used:

- 1- Reagent 1 (Buffer solution): The vials contain phosphate buffer pH 7.4 (50 mmol/l) and 2-4 DHBS (4 mmol/l).
- 2- Reagent 2 (vial of enzymes): The vials contain uricase 70 U/l, peroxidase 660 U/l and 4- amino phenazone (1 mmol/l).
- 3- Reagent 3 (standard): The standard concentration is 6 mg/dl.
- 4- Working reagent: This reagent is prepared by dissolve the contents of one bottle R2 with 30 ml of buffer R1. This working reagent is stable 3 weeks at 2-8°C, 7 days at 20-25°C.

Calculation:

$$\text{Uric acid conc.} = \frac{\text{Abs. Sample}}{\text{Abs. Standard}} \times n$$

$$\text{mg/dl: } n = 6$$

$$\text{mg/l: } n = 60$$

$$\mu\text{mol/l: } n = 357$$

Results:

Two groups of patients were included in this study: group I uncontrolled diabetic and group II controlled diabetic as shown in table 3 which give the age and the number.

Table "3": Show the no. and age of uncontrolled diabetic and controlled diabetic

Group	No.	Age
Uncontrolled diabetic "I"	56	(20-69)
controlled diabetic "II"	26	(28-70)

In each group fasting blood sugar (F.B.S) and serum uric acid (U.A) were determined as shown in table "4".

Table "4": Show the uric acid and fasting blood sugar values

	Min.	Max	Range	Mean \pm S. D
Group "I" F.B.S	180 mg/dl	460 mg/dl	280 mg/dl	258.7 \pm 70.7 mg/dl
U. A	2.0 mg/dl	7.0 mg/dl	5.8 mg/dl	4.0 \pm 1.22 mg/dl
Group "II" F.B.S	80 mg/dl	120 mg/dl	107 mg/dl	106.4 \pm 14.4 mg/dl
U. A	2.0 mg/dl	7.5 mg/dl	4.5 mg/dl	4.7 \pm 1.4 mg/dl

Figure "2" show the serum uric acid levels in non- insulin dependent diabetes mellitus patients.

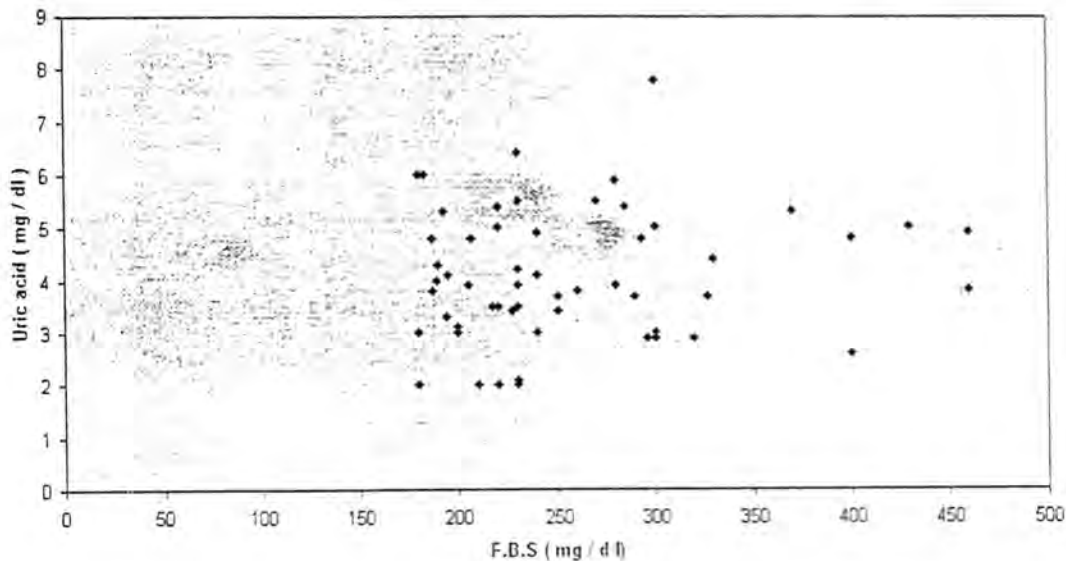


Figure "2": Show the uric acid levels in sera of patients' with NIDDM

Discussion:

The recent research is directed towards understanding the relationship of uric acid with diabetic mellitus. Hyperuricemia is the most commonly defined by serum or plasma uric acid concentration > 7.0 mg/dl in men or >6.0 mg/dl in women⁽²⁾.

The major causes of hyperuricemia are summarized as renal retention, increased turnover of nucleic acids deficiency of hypoxanthine, guanine phosphoribosyl transferase and abnormal phosphoribosyl pyrophosphate synthetase⁽¹⁶⁾. Gout occurs when monosodium urate precipitates from super saturated body fluids the deposits of urate are responsible for the clinical signs and symptoms⁽²⁾.

Many studies indicate that hyperuricemia in patients with NIDDM⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾ while uricemia was decreased in insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) patients^(17,18).

Another report indicate that uric acid level and physical inactivity during leisure time were associated with higher level of risk in women patients with NIDDM only⁽¹⁹⁾. Another report showed that elevated levels of uric acid should alert physicians to the possibility of insulin resistance and plasma glucose levels more strongly in females than in males⁽²⁰⁾.

In type 2 diabetes (NIDDM) hyperuricemia seems to be associated with the insulin resistant syndrome and with early onset or increased progression to overt nephropathy, while hypouricemia is associated with worse metabolic control, hyperfiltration and late onset or decreased progression to overt nephropathy⁽¹⁵⁾. The results of this study reveals that for uric acid levels between 2 and 7.5 mg/dl with mean 4.7 mg/dl for controlled group and (2 to 7.0) mg/dl with mean 4.0 mg/dl for uncontrolled group. These values are not significantly different ($P < 0.1$). Some studies showed that the low levels of uric acid is due to drugs that taken by patients with diabetes⁽²¹⁾.

In this study we found that the levels of uric acid were low as normal to purine nucleoside phosphorylase deficiency which are increased levels of purine nucleotide and decreased synthesis of uric acid⁽⁴⁾.

References:

- 1- Christophers K. Mathews, K. E. Van Holde and Kevin G. Ahem "Biochemistry" (2000) 3rd edition: 803.
- 2- Tietz; N., 1982 "Fundamentals of clinical chemistry" p: 684.
- 3- Geoffrey Zubay "Biochemistry and biosynthesis" (1993) 3rd ed.: 572-574.
- 4- Tomas M. Devlin "Biochemistry with clinical correlations" (1986) 2nd ed.: 502-507.
- 5- J. David Rawn "Biochemistry" (1989) 654-658.
- 6- Josephi. Routh "Introduction to Biochemistry" (1978) 2nd ed.: 156.
- 7- Trudy McKee and James R. McKee "Biochemistry An Introduction" (1996): 426-427.
- 8- Iwatani-M; Wasada-T; Iwamoto-Y;Kamatani-N, Nippon Rinsho,(2000)Feb;58(2):430-434
- 9- Desein-PH;Shipton-EA;Stanwix-AE;Joffe-BI;Ramokgadi-J,Ann-Rheum-Dis.(2000)Jul;59(7):539-543.
- 10-Zazgornik. J.; Biesenbach G;Janko-O;Grafinger-P;Kaiser-W;Stubny-U;Hubmann-R,Wein- Med- Wochenshr. (1996)146(5) : 102-104.
- 11- Sinagra D; Scarpitta Am;Bonaventura-V;Greco-D;Perrone-P;Picone-G;Brigandi-M, Riv.Eur.Sic.Med.Farmacol. (1996) Jul. Aug; 18(4): 173-177.
- 12- Wasada T., Katsumori K; Saeki-A; Iwatani-M, Nippo Rinsho, (1996) Dec; 54 (12): 3293-3296.
- 13- Wun-YT.; Chan-CS. and Lui-CS., Diabetes-Nutr-Metab. (1999) Aug; 12(4): 286-291.
- 14- Madianov-IV; Balabolkin MI; Markov-DS; Markova-TN, Ter-Arkh; (2000) 72(2): 55-58.
- 15- Bo,-S; Cavallo-Perin-P;Gentile,-L;Repetti,-E;Pagano,- ,Eur-J- Clin-Invest (2001) Apr 31(4): 318-321.
- 16- H. Robert Horton, Laurence A-Moran, Raymond S.Ochs,J.David Rawn and K.Gray Scrimgeourl, "Principles of Biochemistry" (1996) 2nd ed.; 551.
- 17- Courderot- Masuyer, C; Lahet, J- J;Verges,-B;Brun,-J-M;Rochette,-L, Cell- Mol- Bio (Noisy- le- grand) (2000), Dec; 46(8): 1397-1401.
- 18- Conzalez- Sicilia-L; Garcia-Estan-J;Martinez-Blazquez-A;Fernandez-Pardo-J;Quiles-JL;Hernandez-J,Horm- Metab- Res.(1997) Oct; 29(10): 520-523.
- 19-Meisinger MD,Thorand PhD, MPH,Schneider,Stieber MD,Doring MD,Loewel MD, Arch. Intern. Med. (2002) 162: 82-86.
- 20- Chou-P; Linl, K-C; Lin,-H-Y;Tsai,S-T, J. Rheumatol. (2001) Mar; 28(3): 571-576.
- 21- Shichiri M. Iwanotolt, and Shiigai T, Arch. Intern. Med.,(1987) 147(2): 225-228.

Pregnancy Diagnosis test by optical Means

Hashim H. Jawad

Zaydoon A.Hafid

Hamed M. Amin

Amer D. majeed

AL- Mustansiriah University college of Science

Abstract

In women with normal pregnancy the concentration of human Chorionic Gonadotropin (HCG) in serum and urine start to increase after 7-11 days ovulation. Discloses the gonadotropin hormone is an important to diagnosis the human pregnancy.

In this work using the optical method (fluorescence) to diagnose the pregnancy without using any chemical material such as anti- HCG. The fluorescence spectrum is measured by an instrument (spectra fluorophotometer- model RF-540) equipment from japan shimadzu company.

The relative fluorescence intensity less than 20% indicates (-) pregnancy the relative fluorescence intensity mor than 100% indicates (+) pregnancy.

Introduction

Human chorionic Gonadotropin (HCG) is amember of glycoprotein hormone family ^[1].s are proteins containing carbohydrates in varying amounts attached as short or long (up to 15 units) branched or unbranched chains. Such chains are usually called oligosaccharied chains ^[2].

HCG is composed two peptides, the HCG-ALFA and HCG-BETA subunits,joined noncovalently. Approximately 30% of the molecular weight of HCG comprises carbohydrate side chains: four N-linked oligosaccharide and four O-linked oligosaccharide ^[3].Molecular forms of HCG and it's subunits ^[4]. HCG is produced primarily by the placental trophoblast, serving maintains steroid production by corpus luteum in early pregnancy: it is also produced in very small quantities by the pituitary in both men and women ^[5-6].

In women with normal pregnancy the concentration of HCG in serum starts to increase 7-11 days after ovulation ,corresponding to 21-25 days after the last menstrual period ^[7]. The increase is nearly exponential during the first 5 weeks after implantation ^[8].

The concentration after 10 weeks decreases and reach at the beginning trimester ^[9].

At 1928 Ashime and zotech were found the gonadotropin in urine of pregnancy .Disclosed the gonadotropin hormone is an important to diagnose the human pregnancy. Ashime and Zotech were measured by biological method. At 1965 they used immunological testes^[10].

Serum assay specific determination of HCG in serum from non pregnant subjects was first performed by radio immunoassay (RIA) with antiserum SB6^[11].

HCG can be detected in urine by specific mass spectrometric methods ^[12].

Material and method

In this work the fluorescence spectrum is measured by an instrument (spectro fluorophotometer-model RF-540)equipment from Japan shimadzu company . which implies the xenon lamp it's power (150)watt and covers ultra-violet and visible region at a range (200-700)nm from the electromagnetic spectrum.The instrument select to measure the fluorescence

At parameters

Abscissa scale x2 : ordinate scale x2

Scan speed very fast : Sensitivity High

Excitation slit 10 nm : Emission slit 10 nm

Excitation wavelength 475 nm : Emission wavelength 475 nm.

The fluorescence spectrum were performed on urine samples of pregnant womens and determine.

Results and discussion

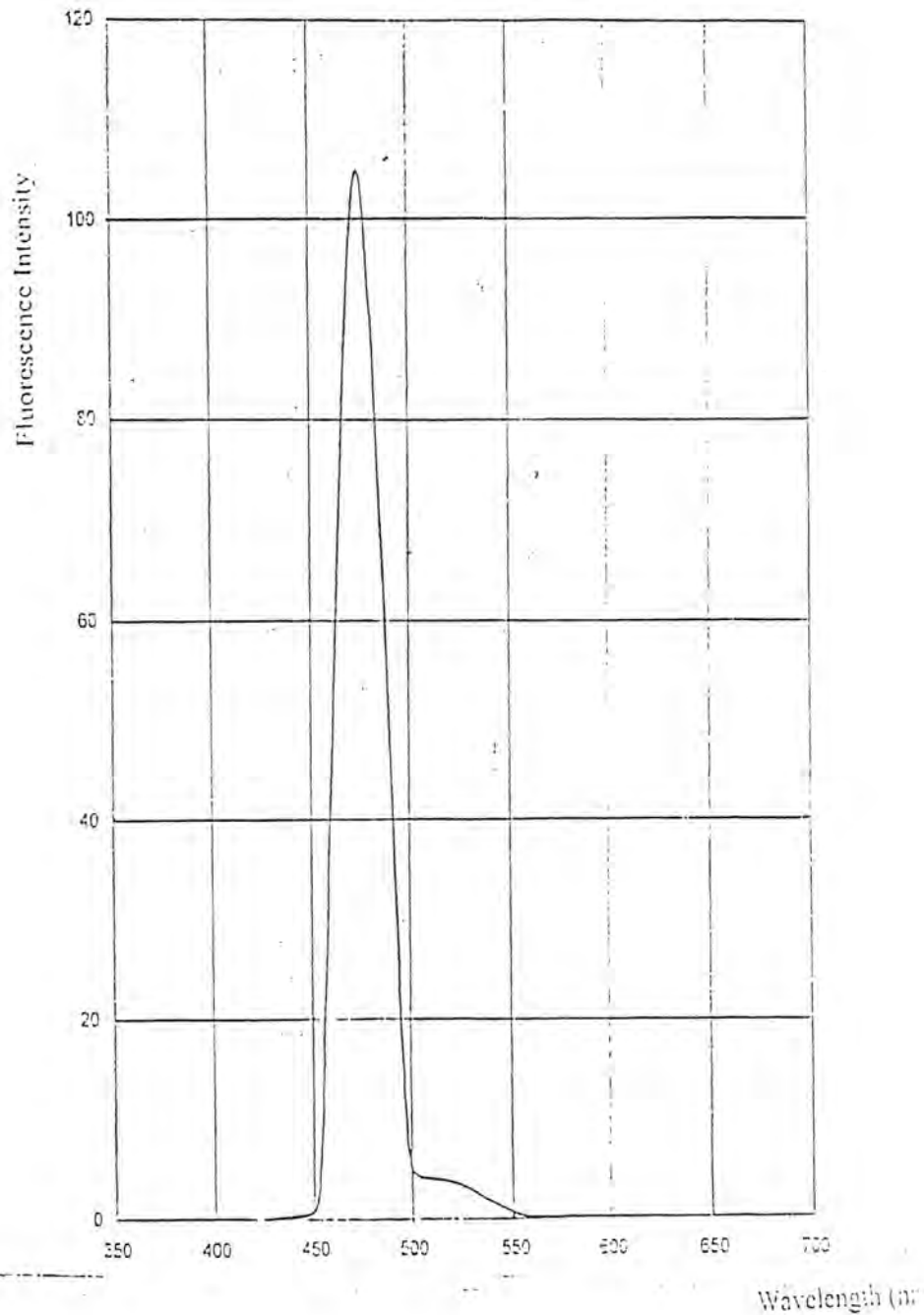
The fluorescence wavelength of solutions contain HCG is found at 475 nm.(figure 1) illustrates the fluorescence spectrum for (+) ve of pregnancy. .(figure 2) illustrates the fluorescence spectrum for (-) ve of pregnancy.

The relative fluorescence intensity less than 20% indicates (-) ve pregnancy

The relative fluorescence intensity mor than 100% indicates (+) ve pregnancy.

The relative intensity of the fluorescence of the HCG that was increasing during pregnancy when the proper wavelength after exciting the scanning wavelength by the monochromator for emission (fluorescence). The hormone HCG has a resonance fluorescence spectrum (absorption energy=emission energy) obviously, when excitaion occurs the states transfer from the ground level to the highest excitation level, these leveles are populated (low density) and this leads to of possiblity of collision or completely disappeared, finally the quenching become less.

Successful performance in the field of fluorescence procedures has reduced the cost of endocrine function testing by some 95%. Perhaps of still greater importance is the lesson that newly established clinical laboratories in our country need not be depended on kit methods as the currently appear even in analytical areas as sensitive and sophisticated as hormone RIA..



[Fig 1] illustrates the fluorescence spectrum for (+) case of pregnancy.

References

- 1- Bidart J, Puisieux A, troalen F, Foglietti M, Bohuon C, and Bellet D, "characterization of cleavage produte in the HCG beta- subunit". *Biochem Biophys Res Commun* (1988): 154:626-23.
- 2- Harpers, Murray, Granner, Mayes, and Rodwell. *Biochemistry*. (1988).
- 3- Cole L, and Kardona A. "Discordant results in HCG assays". *Clinical chem* (1992):38:263-70.
- 4- ULF- Hakan S, Leila U, juha K, and Henrih A. "immunoprocedures for detecting HCG: clinical aspects and doping control". *Clinical chemisrty* (1997):43:71293-1298 .
- 5- Birken S, Maydelman Y, Gawinowicz M, Pound A, Liu Y, and Harder A. "Isolation and characterization of human pituitary chronic gonadotropin". *Endocrinology* (1996):137:1402-11.
- 6- Hoermann R, Spoettl G, Moncayo R, and Mann K. "Evidence for the presence of HCG and free beta- subunit of HCG in human pituitary". *J clinical Endocrinol metab* (1990):71:179-86.
- 7- Manshall J, Hammond C, Ross G, Jacobson A, Ragford P, and O dell W. "Plasma and urinary chorinic gonadotropin during early human preгнаancy". *Obstet Gynocol* (1968):32:760-4.
- 8- Pittaway D, Reish R, and Wentz A. "Doubling times of HCG increace in early Viable intrauterine pregnancies" *Am Jobstet Gynocol* (1986):152: 299-302.
- 9- Alfthan H, Schroder J, Frasen R, Koskimies Ahalila H, and Stenman U. "choriogonado tropin and it's B subunit sepanated by hydrophobic - intraction chromatogaraphy and quantified in serum during pregnansy by time- resolved immunofluometric assays". *Clinical-chem* (1988):34:1758-26.
- 10- George H.Bell, Davidson J.Norman, and Donald E.Smith."Text book of physiology and Biochemistry".(1972):Eight edition London.
- 11- Vaitukaitis J, Braunstein G, and Ross G. "A radioimmunassay which specifically measures HCG in the presence of human luteninizing hormone". *Am J Obstet Gynocol* (1972):133:751-8.
- 12- Laidler P, Cowan D, Hider R, Keane A, and Kiceman A, "Tnybtic mapping of HCG by matrix assisted laser desorption/ ionization mass spectrometry". *Rapid Commun Mass spectrum* (1995):9:1021-6.

الاجاذب الغريب البعد والحركة الفوضوية لتطبيق ثنائي البعد غير خطي وقابل للتعكاس

صبا نوري مجيد

جامعة بغداد- كلية التربية ابن الهيثم - قسم الرياضيات

المستخلص:

يتضمن البحث، عرض للتطور المصاحب للحركة الفوضوية لدالة ثنائية البعد غير خطية قابلة للتعكاس وظهور ما يسمى بالاجاذب الغريب (Strange attractor)، ويقدم (تطبيق هينون) كمثال للنظام المذكور أعلاه مع طريقة مبسطة لحساب ما يسمى (بالبعد الكسري) والذي يعد أحد الصفات الأساسية للاجاذب الغريب.

ABSTRACT

In this work, a review will be presented of developments related to strange attractor and chaotic motions of 2- dimensional dynamical system, **Henon** map will be an example to the above system with simple method to calculate it's fractal dimension (capacity dimension), which it one of the basic property of "Strange attractor".

S. 1

Introduction

A general two – dimensional map can be written as:

$$x_{n+1} = f_1(x_n, y_n) \dots\dots(1)$$

$$y_{n+1} = f_2(x_n, y_n)$$

The map is invertible if (1) can be solved uniquely for x_n and y_n as a function of x_{n+1} and y_{n+1} ; $x_n = g_1(x_{n+1}, y_{n+1})$ and $y_n = g_2(x_{n+1}, y_{n+1})$ i.e., it's possible to go either back wards or for words in time, see [1].

The theory of dynamical systems was put in shape by Poincare and his followers, who considered only finite dimensional spaces, the first systems studied were, quite naturally, the simplest ones, for instance in the plane, were the only limit sets and attractors are points of equilibrium (rest point), periodic solutions (closed orbits) or other things not much more complicated.

In studying tridimensional systems there appeared limit sets of structure not so simple, for these systems, there is no theorem telling us what the limit sets or the attractors should look like see [2].

i.e., of one consider a system and its phase space the initial conditions may be attracted to some subset of the phase space (the attractor) as time $t \rightarrow \infty$. For example for a damped harmonic oscillator (Fig. 1, a) the attractors is the point at rest (in this case origin) for periodically driven oscillator in its limit cycle the limit set is a closed curve in the phase space (fig. 1, b).

In the above two example, the attractors were point (Fig. 1,a) which is a set of dimension (zero), and a closed curve (Fig. 1, b), which is a set of dimension (one), for many other attractors, the attracting set can be much more irregular (some would say pathological and in fact can have a dimension that is not an integer, such sets have been called (fractal) and, when they are attractors, they are called "strange attractors" see [3].

S.2

Strange Attractors

There can be attractors which have non- integer dimension (at least according to the definition of dimension that we will use).

Such attractors would be termed "strange" the relevant definition of dimension is that due to Hausdorff [1], (called the box – counting or capacity dimension [3]), and defined as follows:

$$d = \lim_{\epsilon \rightarrow 0} \frac{\ln(N(\epsilon))}{\ln(1/\epsilon)} \dots\dots(2)$$

Examples:

* As an example of equation (2), if the set in question is a point, then $N(\epsilon) = 1 = \epsilon^0$, and according to (2) the Housdrof dimension (capacity dimension) is zero, i.e. $d = 0$.

* If the set in question is the section of the xy – plane given by $0 < x < 1$ and $0 < y < 1$, then $N(\epsilon) = \epsilon^{-2}$, and the Housdorf dimension is two, i.e. $d = 2$.

* If the set is a straight line joining $(0, 0)$ and $(1, 0)$ then $N(\epsilon) = \epsilon^{-1}$ and the Housdorf dimension is one, i.e. $d = 1$.

* As an example of a set with non – integer dimension, consider the following which is evident from (Fig. 2).

* Thus from (2) $d = \ln(2) / \ln(3) = 0.630$

Note that the Cantor set just constructed has the property of scale invariance i.e., by the nature of the construction, the set between 0 and 1 will look precisely, the same as the part of it between 0 and 1/3, if the latter is examined under magnifying glass which magnifies by a factor of three.

Henon Attractor

About 25 years ago the French astronomer- mathematician Michel Henon was searching for simple two properties of more complicated systems, the result was a family of functions denoted by H_{ab} and given by

$$H_{ab} \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} \begin{bmatrix} a - ax^2 + y \\ bx \end{bmatrix} \dots\dots(3)$$

where a and b are real numbers the maps defined in (3) is called

Henon Map

Henon map was 1-1, invertible map with two fixed points:

$$P = \begin{bmatrix} 1/2a \left(b - 1 + \sqrt{(1-b)^2 + 4a} \right) \\ b/2a(b-1) + \sqrt{(1-b)^2 + 4a} \end{bmatrix}$$

$$\text{and } q = \begin{bmatrix} 1/2a \left(b - 1 - \sqrt{(1-b)^2 + 4a} \right) \\ b/2a(b-1) - \sqrt{(1-b)^2 + 4a} \end{bmatrix}$$

where p is an attracting fixed point when a is a non zero number lying in the interval $J = (-1/4(1-b)^2, 3/4(1-b)^2)$, and q is a saddle fixed point when a is a non-zero number and $a > -(1-b)^2/4$ where $0 < b < 1$ see [4], p. 171 and p. 176.

S. 3

Analytic Look

In this section we will analyse the chaotic iterated motion of Henon map in equation (3).

As a increases further, H_{ab} undergoes a period doubling cascade, for $b = 0.3$ the bifurcation values of a is as follows see [4], P. 172.

Period n – cycle appears	Bifurcation of a
1	-0.1225
2	0.3675
4	0.9125
8	1.0260
16	1.0510...
32	1.0565

For $a > 1.06$ the iterates of virtually any initial point would be sprinkled unpredictably throughout a region in the plane for example let $a = 1.4$, $b = 0.3$, if we neglect the first few iterates of 0 and plot the next 10,000 then we obtain that the shape A_{11} appearing in (Fig. 3) the set A_{11} is called **Henon attractor**, because the iterates of every point in a certain quadrilateral Q surrounding A_{11} approach the attractor. (Note, take initial value near one of the unstable fixed points such as $x = 0.631355$, $y = 0.18941$ these values yield in the $x y$ - plane the strange attractor with its (basin of attraction in black); initial condition in the white regions outside the basin are (attracted to infinity).

Although A_{11} may appear to consist of a few fairly simple curves (Fig. 4) when we zoom in on a small rectangle containing the fixed point p , we see that there are several strands (Fig. 4(a)) no matter how much we magnify the region, nearly identical new sets of strands appear (Fig. 4(b), 4(c)). It turns out that there are really an infinite number of such strands that make the region near to P look like a product of a line and "Cantor set".

Capacity Dimension of Henon Map

(Russell et al., 1980) [1] P. 661 tried to approximate the capacity dimension to the strange attractor of Henon map gives $d \cong 1.26$. To do so see Fig. 5, notice that the number of rectangles that intersect A_{11} are 89 if we let ϵ equal to the high of each rectangle, then

$$\epsilon = \frac{1.15}{23} = 0.05, \quad 1/\epsilon = 20$$

so that

$$d = \frac{\ln N(\epsilon)}{\ln(1/\epsilon)} = 1.498$$

Note:

Fig. 5 gain by using basic statement language, the program executed on a Pentium pro computer.

References

- [1] Edward Ott, Strang attractors and Chaotic motion of dynamical systems, reviews of modern physics, vol. 53, No. 4, part 1 October 1981, p.p. 655-671.
- [2] Carles Perello, Faultat de Ciences, Seccio de Mathematiques, Universitat Autonoma de Bercelona Bellaterra, Barrcelona (Spain, 1983) P.P. 307- 320.
- [3] Celso Grebogi, Edward Ott, James A. Yorke, Chaos, Strange Attractors, and Fractal basin boundaries in nonlinear dynamic, (Science, vol. 238, No. 4827), 1987, P.P. 632-638.
- [4] Denny Glick, Encounters with Chaos, 1992, P. P. 167-176.

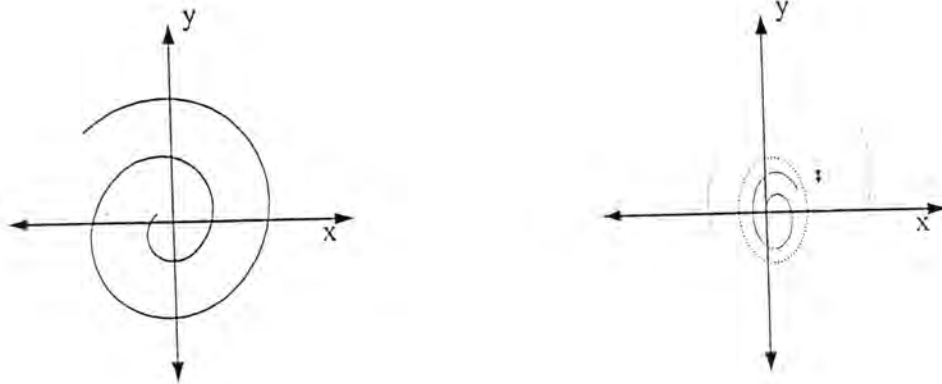


Fig. 1

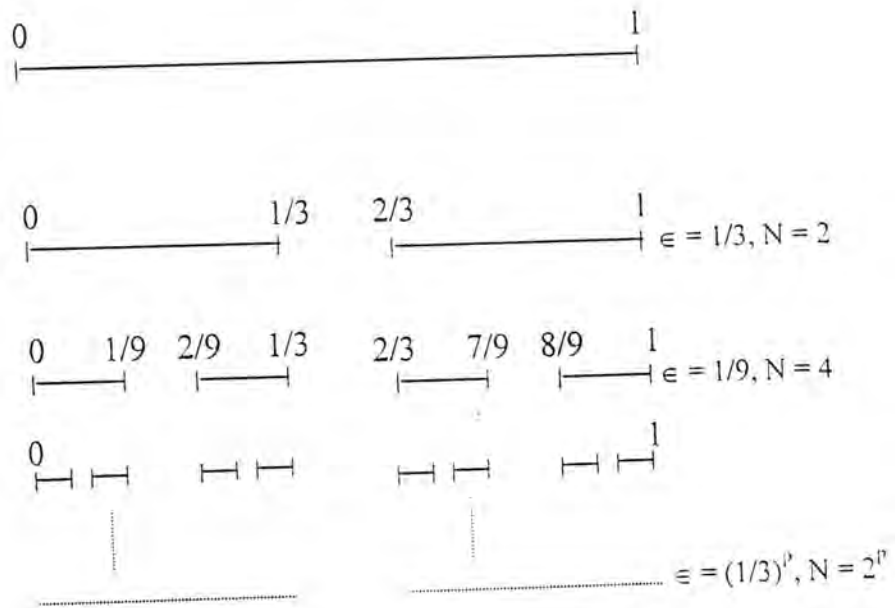


Fig. (2)

صبا نوري مجيد

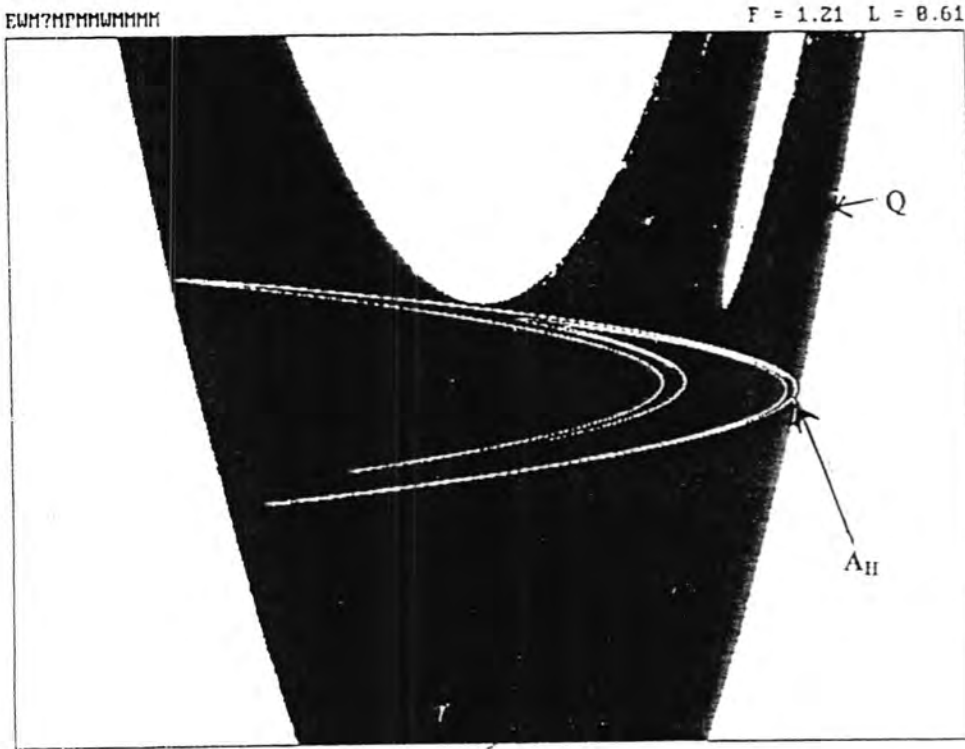


Fig. 3

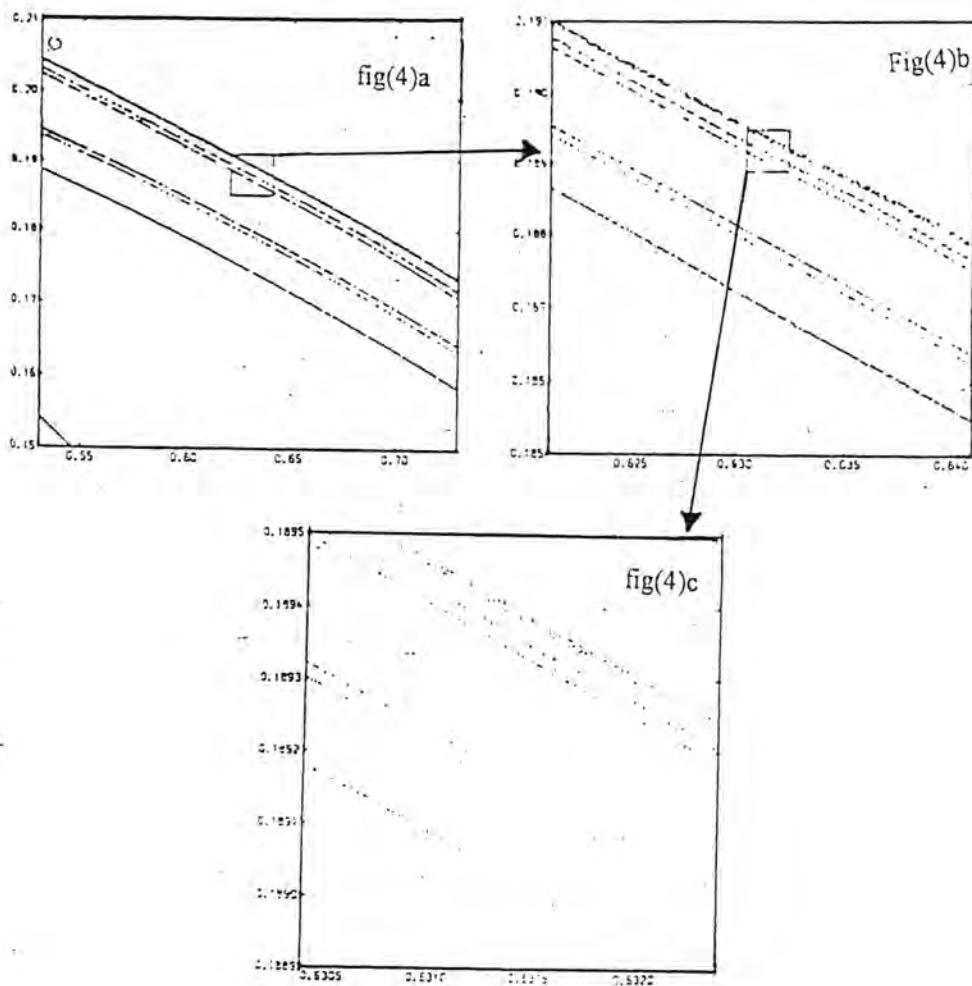


Fig.4 (a,b,c)

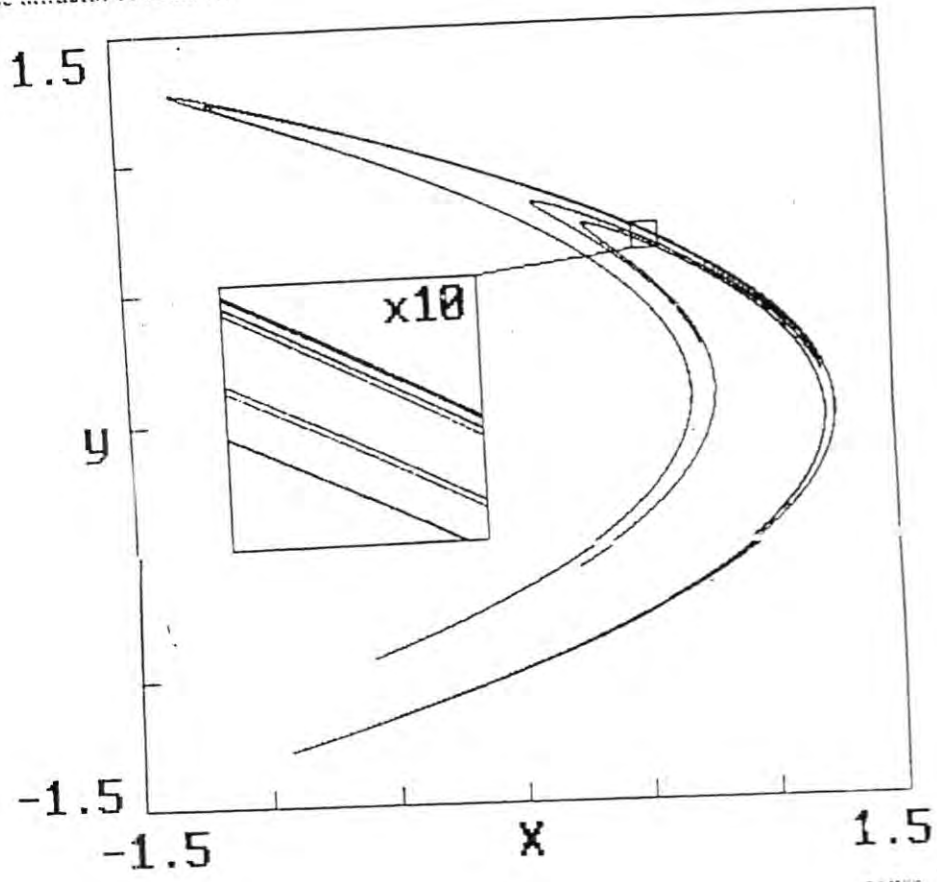


Fig.4

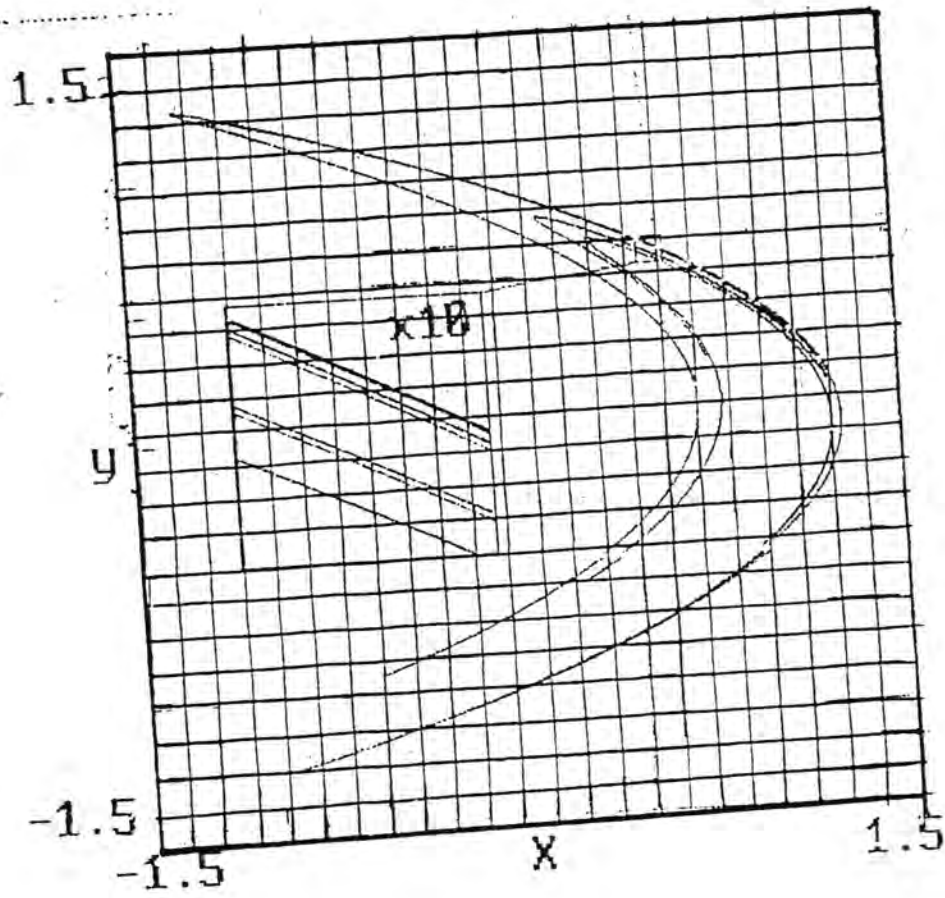


Fig.5

مجلة علوم المستنصرية



ISSN 1814 - 635X



تصدرها كلية العلوم بالجامعة المستنصرية - بغداد - العراق

مجلة علوم المستصرية

مدير التحرير
الاستاذ الدكتور صلاح محسن
عليوي

رئيس التحرير
الاستاذ الدكتور عبد السميع عبد
الرزاق الجنابي

هيئة التحرير

عضو	أ. د حسن هاشم سلمان
عضو	أ.م.د خليل مصطفى خماس
عضو	أ.م.د محمد الشريبي علي
عضو	أ.م.د طارق سهيل نجم
عضو	أ.م.د عبد علي حمودي الطائي
عضو	م.د كاظم جسن حسين الموسوي

مجلة علوم المستنصرية / كلية العلوم / الجامعة المستنصرية

تذير للسادة الباحثين والمقيمين

الفقرات أدناه تذير بتعليمات النشر مجلة علوم المستنصرية يرجى مراجعتها والتقييد بها مع جزيل الشكر .

١. تقوم المجلة بنشر البحوث الرصينة التي لم يسبق نشرها في مكان آخر بعد إخضاعها للتقويم العلمي من قبل مختصين وبأي من اللغتين العربية او الانكليزية .
٢. يقدم الباحث طلبا تحريريا لنشر البحث في المجلة على أن يكون مرفقا بثلاث نسخ من البحث مطبوعة على الحاسوب ومسحوب بطابعة ليزرية وعلى ورق ابيض قياس (A4) مع قرص مرن (Disk) محمل بأصل البحث ويرفض البحث الذي يكون عدد صفحاته اكثر من ١٥ صفحة وبضمنها الاشكال والجداول على ان لا يكون الحرف اصغر من قياس ١٢ .
٣. يطبع عنوان البحث واسماء الباحثين (كاملة) وعناوينهم باللغتين العربية والانكليزية على ورقة منفصلة شرط ان لا تكتب اسماء الباحثين وعناوينهم في أي مكان اخر من البحث ، وتعاد كتابة عنوان البحث فقط على الصفحة الاولى من البحث .
٤. تكتب اسماء الباحثين كاملة بحروف كبيرة وفي حالة استخدام اللغة الانكليزية وكذلك الحروف الاولى فقط من الكلمات (عدا حروف الجر والاضافة) المكونة لعنوان البحث ، وتكتب عناوين الباحثين بحروف اعتيادية صغيرة .
٥. تقدم خلاصتان واقتان لكل بحث ، احدهما بالعربية والاخرى بالانكليزية وتطبع على ورقتين منفصلتين بما لا يزيد على (٢٥٠) كلمة لكل خلاصة .
٦. تقدم الرسوم التوضيحية منفصلة عن مسودة البحث ، وترسم على ورق شفاف (Tracing Paper) بالحبر الصيني الاسود ، وترفق ثلاث صور لكل رسم وتكتب المعلومات عنها على ورقة منفصلة .

٧. يشار الى المصدر برقم يوضع بين قوسين بمستوى السطر نفسه بعد الجملة مباشرة وتطبع المصادر على ورقة منفصلة ، ويستخدم الاسلوب الدولي المتعارف عليه عند ذكر مختصرات اسماء المجالات .

٨. يفضل قدر الامكان تسلسل البحث ليتضمن العناوين الرئيسية الاتية : المقدمة ، طرائق العمل ، النتائج والمناقشة ، الاستنتاجات ، المصادر ، وتوضع هذه العناوين دون ترقيم في وسط الصفحة ولا يوضع تحتها خط وتكتب بحروف كبيرة عندما تكون بالانكليزية .

٩. يتبع الاسلوب الاتي عند كتابة المصادر على الصفحة الخاصة بالمصادر: ترقيم المصادر حسب تسلسل ورودها في البحث ، يكتب الاسم الاخير (اللقب) للباحث او الباحثين ثم مختصر الاسمين الاولين فعنوان البحث ، مختصر اسم الجملة ، المجلد او الحجم ، العدد ، الصفحات ، (السنة) . وفي حالة كون المصدر كتابا يكتب بعد اسم المؤلف او المؤلفين عنوان الكتاب ، الطبعة ، الصفحات ، (السنة) الشركة الناشرة ، مكان الطبع .

١٠. بخصوص اجور النشر يتم دفع مبلغ (١٠٠٠٠) عشرة الاف دينار عند تقديم البحث للنشر وهي غير قابلة للرد ومن ثم يدفع الباحث (١٥٠٠٠) خمسة عشر الف دينار عند قبول البحث للنشر وبهذا يصبح المبلغ الكلي للنشر خمس وعشرون الف دينار .

الى السادة الباحثين والتدريسين كافة

تنويه

يسر هيئة تحرير مجلة علوم المستنصرية ان تعلن للتدريسين والباحثين الكرام عن استمرارها في اصدار اعداد المجلة بعد الأحداث الأخيرة في العام الماضي حيث فقدت اثناء الأحداث الكثير من اوليات المجلة والأمكانيات التي كانت متاحة في اصدارها . وبعد عام من التوقف تعود المجلة للأصدار في (المجلد الخامس عشر / العدد الأول / لسنة ٢٠٠٤) املين رفد الأعداد القادمة بالنتائج العلمية الرصينة خدمة لبلدنا العزيز

أ. د صلاح محسن عليوي
مدير التحرير

المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
١	بعض التغيرات الحاصلة في مكونات الدم في الاطفال المصابين بطفيلي اللشمانيا الاحشائية <i>Leishmania donovani</i> مع قياس ايون الكالسيوم قبل العلاج وبعده. بان موحان محسن و د. شاهناز عبد القادر و د. سالم رشيد العبيدي
١٥	استخدام روبيان المالح <i>Artemia Salina</i> من القشريات اللادرية في قياس السمية الحادة لمخلفات مصفى الدورة العظمية. محمد جابر لفنة العبيدي
٢١	بعض التغيرات المصلية المتأخرة في مصل المصابين بطفيلي اللشمانيا الاحشائية <i>L. donovani</i> قبل العلاج وبعده في الاطفال. بان موحان و د. شهر عبد القادر و د. سالم رشيد العبيدي
٣٤	دراسة كفاءة الطعوم النظرية للقشريات المعزولة من النمرصر الامريكي <i>(Periplaneta Americana (L.))</i> لـ <i>(Dictyoptera: Blattidae)</i> في مقاومته حياتيا. مهني خلف محمد امين و أ.م.د. صلاح مهدي البدر و علاء صبيح جبار
٤٢	تأثير مستخلص اوراق السدر في زيادة العمر التسويقي لبعض ثمار الفواكه والخضراوات. احمد صالح ساجد و سعود رشيد العاني و مهدي ضمد القيسي و اوس هلال العاني
٥٢	التكرار الجيني لبعض الصقات الوراثية البشرية لسكان محافظة النجف. ستار جاسم الراححي
٦١	تأثير الاصابة بداء السكري على انواع البكتريا المسببة للتهابات المجازي البولية. فاطمة عبد الحمزة الفتلاوي و رعد خليل الحسيني و علي نقي اللداوي
٧٥	تحديد حساسية القوقع (<i>Bulinus truncates</i>) لبعض المركبات الكيماوية. شهاب احمد سلمان و عمارة عدنان و خولة ابراهيم
٨٥	عزل واستخلاص المستضدين السوطي و عديد السكريد و بكتريا <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . اخلاص نوري علي و د. رجوة حسن عيسى

المحتويات

رقم الصفحة	الموضوع
١٠١	تحضير ودراسة معقدات بعض العناصر الانتقالية لليكاندتيوريل ثايو سميكاربازون. احمد حسين اسماعيل
١١٥	حساب سمك السحابة في المادة ما بين النجوم. ليث محمود ود. هزار عبد الغني يوسف الملاح.

بعض التغيرات الحاصلة في مكونات الدم في الاطفال المصابين بطفيلي اللشمانيا

الاحشائية *Leishmania donovani*

مع قياس ايون الكالسيوم قبل العلاج وبعده

بان موحان محسن ود. شاذانز عبد القادر علي د. سالم رشيد العبيدي
الجامعة المستنصرية - كلية العلوم - قسم علوم الحياة - بغداد - العراق

الخلاصة

أجريت دراسة لبعض جوانب الإصابة بطفيلي اللشمانيا الاحشائية قبل العلاج ٢٠٠٠/٢/١ وبعده في الأطفال للفترة من ولغاية ٢٠٠٠/٦/١ وتهدف هذه الدراسة إلى معرفة تأثير الإصابة بطفيلي اللشمانيا الاحشائية على تغيرات الحاصلة في بعض مكونات الدم Hb. P.C.V,R .B.C , W.B.C Eosinophil count ,M.C.V , M.C.H.C , وعدد الصفائح الدموية وقياس ايون الكالسيوم في مصل الأطفال المصابين قبل العلاج وبعده ومقارنتها في الأطفال غير المصابين بها . أظهرت النتائج وجود انخفاض كبير في معدلات مكونات الدم قبل العلاج وارتفاعها بعد العلاج بعقار البننوستام ونقل الدم كما بينت النتائج انخفاض بسيط في ايون الكالسيوم وارتفاعه بعد العلاج ونقل الدم.

المقدمة

مرض الداء الاسود : انكالاازار Kala- azar او اللشمانيا الاحشائية مرض عام مزمن يسببه طفيلي *Leishmania donovani* (Marquardt, etal , 2000) . ينتشر داء اللشمانيا الاحشائية في (٨٨) دولة استوائية وشبه استوائية يرتبط بانتشار حشرة ذبابة الرمل التي تعد الناقل للمرض كما تنتقل عدوى الإصابة على نحو موسمي ويرتبط انتقاله من شخص لآخر بكثافة الناقل وربما المضائف الخازنة في بؤر الإصابة (Bora , 1999) . يتميز المرض بحمى وتضخم الطحال والكبد والعقد اللمفاوية وفقر الدم مع قلة كريات الدم البيض وهزال متزايد وضعف عام . ويكون المرض مميتا اذا لم يعالج (WHO , 1998) . يصيب هذا المرض في العادة الاطفال من الفئة العمرية (١-٤) سنوات وقد يحدث في سنوات المراهقة وتكون الإصابة في الذكور اكثر من الاناث (WHO , 1984 , 1997) .

بعض التغيرات الحاصلة في مكونات الدم في الاطفال المصابين بطفيلي الشمانيا الاحشائية *Leishmania donovani* مع قياس ايون الكالسيوم قبل العلاج وبعده
بان موحان حسن د. شاهناز عبد القادر علي د. سالم رشيد العبيدي

اما في العراق فينتشر المرض في جميع مناطقه خاصة بين سكان الارياف وضواحي المدن ويكثر بين الاطفال دون الثالثة من العمر ومن كلا الجنسين (عبد الكريم وشعبان ١٩٨٧) .
وكما استحوذ عقار البنثوستام على اهتمام الكثير من الباحثين لكونه فعال في القضاء على الطفيلي وذو سمية قليلة على جسم الانسان .

المواد وطرائق العمل

جمعت نماذج دم من ١٠٠ طفل مصاب بداء الحمى السوداء من الفئة العمرية (١-٢) سنة والراقدين في مستشفى الصويرة العام في قضاء الصويرة / محافظة واسط الذي يبعد ٥٥ كم جنوب شرق بغداد وتم تشخيص الإصابة باستخدام اختبار فحص الومضان المناعي غير المباشر IFAT وأخذت العياريات 128,64,32,16

طريقة العمل

١- اختبار الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)

Indirect Immunofluorescent Antibody Test

ان اختبار الومضان المناعي غير المباشر هو احد الاختبارات الشائعة والمستخدم في تشخيص الإصابة بالكالازار في مستشفيات القطر ويتضمن الخطوات الاتية : -
توضع قطرة دم من الشخص المشكوك باصابته على ورق نشاف خاص نوع Watman No.3 وترفق مع استمارة الفحص التي تحتوي على كافة المعلومات عن المريض كالاسم ، الجنس ، العلاج .

توضع ورقة الترشيح الحاوية على دم المريض في محلول داربي الفوسفات وباس هيدروجيني (7.2-7.4) مع مراعاة الدقة ، وفي حالة توفر المصل فانه يستخدم مباشرة بعد تخفيفه بداريء فوسفات لمعرفة شدة الإصابة ويوضع على شرائح المستضدات المحضرة والمحافظة في الثلجة [حيث يتم تحضير المستضد من مزروع اللشمانيا دونافاني بسحب كمية من المزروع النامي على وسط N.N.N ثم غسله عدة مرات بمحلول ملح الطعام القياسي ثم اضافة الفورمالين لقتله بعدها يطبع على الشرائح الزجاجية وتحفظ لحين استخدامها] بعدها تحضن الشرائح التي وضع عليها مصل الدم لمدة (٣٠) دقيقة في درجة (٣٧) م في حمام مائي ثم ترسل الشرائح بثلاث مراحل اثنان منها بمحلول داربيء الفوسفات بعدها بالماء المقطر

لازالة املاح الداريء ، ثم اضيف المقترن (Conjugate) الذي هو عبارة عن (المضاد للضد (Anti - antibody) للكلوبولينات المناعية IgG او IgM او خليط منهما مقترنة مع صبغة ايزو ثايو سيانيت) ثم حضنت الشرائح في الحاضنة بدرجة (٣٧) م ولمدة (٣٠) دقيقة ثم غسلت مرة اخرى بثلاث مراحل كما في السابق ثم بعدها جففت الشريحة قليلا و اضيف لها داريء كليسرول (Glycerol buffer) فحصت بالمجهر المشع علما بان المستضد المستخدم هو الطور المسوط لطفيلى الليشمانيا الاحشائية حيث يشع الطفيلي في حالة اصابته المريض ولا يشع في حالة عدم الاصابة (منظمة الصحة العالمية ، ١٩٩٦) .

(٢) قياس مكونات الدم MEASUREMENT OF BLOOD CONTENT تم قياس العدد الكلي لكريات الدم البيض خضاب الدم ، عدد كريات الدم الحمراء ، معدل تركيز خضاب الدم في الكرية الحمراء (M.C.H.C.) ، معدل حجم كرية الدم الحمراء (M.C.V) وعدد الصفيحات الدموية لجميع عينات الدم التي تم اخذها من المرضى وذلك بواسطة جهاز (Ms9) حيث وضعت عينات الدم المأخوذة من المرضى والموضوعة في الانابيب الحاوية على مانع التخثر (E.D.T.A.) في الجهاز المازج لمدة (١٠) دقائق وضعت بعدها هذه الانابيب واحدة بعد الاخرى في جهاز (Ms9) ويسحب الجهاز (١٠) مايكرو لتر فقط من الدم الموجود في الأنبوبة . وبعدها سجلت القراءات من على شاشة الحاسوب بواسطة انطابعة المرتبطة مع الجهاز . علما ان الجهاز اضيف إليه أربعة محاليل Transflux Detergent لغرض غسل الجهاز ، Isoflux Diluent لغرض تخفيف العينة ، Hemoref Hb REF Reagent لتحضير خضاب الدم .

أما قياس حجم كريات الدم المرصوصة فتم باستخدام أنابيب شعيرية تحتوي على مانع التخثر (HEPARIN) و وضعت في جهاز (HAEMATOKRIT) (منبذة خاصة لهذا الغرض) لمدة ٥ دقائق ثم تم قياس حجم خلايا الدم المرصوصة بواسطة مسطرة قياس مدرجة خاصة.

(٣) الفحص التفريقي لشرائح الدم Differential Count

حضرت شرائح دم نظيفة لجميع العينات التي تم جمعها من المرضى حيث تم عمل مسحات من الدم على شرائح زجاجية وتركت لتجف، ثبتت بعدها بواسطة الكحول الأيثلي ٩٥% لمدة عشر دقائق وتركت لتجف ثم غمرت الشرائح بصبغة غمزا وبتركيز ٣% لمدة ٣٠ دقيقة بعدها غسلت بالماء وتركت لتجف، ثم فصلت تحت المجهر الضوئي بواسطة العدسة الزيتية بعد إضافة قطرة من زيت الفحص (منظمة الصحة العالمية ١٩٩٦).

بعض التغيرات الحاصلة في مكونات الدم في الأطفال المصابين بطفيلي الشمانيا الاحشائية *Leishmania donovani* مع قياس ايون الكالسيوم قبل العلاج وبعده
بان موحان حسن د.شاهناز عبد القادر علي د.سالم رشيد العبيدي

٤) قياس كمية ايون الكالسيوم في المصل

Measurement of Calcium Ion in Serum

تم قياس الكالسيوم بالطريقة اللونية باستخدام المحاليل المحضرة من قبل شركة

.Biomerieux

التحليلات الإحصائية

حللت النتائج باستعمال X^2 واختبارات (T- test) عند مستوى معنوية (0.05) و(0.01) وقد ثبتت النتائج على شكل المعدل الحسابي \pm الانحراف المعياري .

النتائج

١. تم تشخيص الإصابة باستخدام اختبار الومضان المناعي غير المباشر وهو اختبار مصلي وكانت العيارات للمصابين 128,64,32,16
٢. كانت تغيرات مكونات الدم كالاتي:
 - أ. انخفاض في عدد كريات الدم البيض الكلي والحمضات لدى المصابين قبل العلاج وكان اشدها عند عيارية 128. وارتفع بعد العلاج ووصل أعلى ارتفاع عند عيارية 16. وكان اقل انخفاضاً بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. كما هو في جدول رقم (1).
 - ب. كانت نتائج أعداد كريات الدم الحمراء وكمية خضاب الدم وحجم كريات الدم المرصوصة منخفضة قبل العلاج وأوطأ قراءة كانت عند عيارية 128 ارتفعت قليلاً بعد العلاج إلا أنها كانت أقل مقارنة بمجموعة السيطرة جدول رقم (2,3,4).
 - ج. بينت نتائج فحص مكونات الدم انخفاضاً في معدل تركيز خضاب الدم في الكرية الحمراء (M.C.H.C.) ومعدل حجم الكرية الحمراء (M.C.V.) وكان اشدها انخفاضاً عند عيارية 128، وارتفع بعد العلاج قليلاً إلا انه أكثر انخفاضاً مقارنة مع مجموعة السيطرة. جدول رقم (٥ و٦).
 - د. انخفضت معدلات الصفائح الدموية انخفاضاً كبيراً قبل العلاج للعيارات الأربعة وكان اشدها عند عيارية 128 ارتفع بعد العلاج وكان أوطأ مقارنة مع مجموعة السيطرة. جدول رقم (7).

٣. أظهرت نتائج قياسات أيون الكالسيوم انخفاضاً ملحوظاً قبل العلاج للعياريات الأربعة وكان أكثرها انخفاضاً عند عيارية 128 وارتفع بعدها معدل قياسات أيون الكالسيوم بعد العلاج للعياريات الأربعة وكانت أقل من مستواه في مجموعة السيطرة. جدول رقم (8).

المناقشة

أظهرت النتائج بأن معدلات كريات الدم البيض قد انخفضت بشدة نتيجة للإصابة وقبل العلاج مقارنة بمعدلها في مجموعة السيطرة وهذا يتفق مع ما توصل إليه Berral,et al.,(1986) و Kocch,et al., (1987) حيث السبب قد يعزى باعتقادنا إلى التوقف الجزئي لنقي العظم عن إنتاج كريات الدم البيض خاصة المحببة نتيجة لإصابته بالطفيلي وإلى تحطم كريات الدم البيض عند مهاجمتها للطفيلي وابتلاعه بالتالي تكاثره بداخلها ثم انفجارها نتيجة زيادة أعداد الطفيلي وزيادة فعاليتها الأيضية. ثم عادت لترتفع بعد العلاج ارتفاعاً ملحوظاً وهذا قد يعود لعدة عوامل أهمها عملية العلاج بالعقار ونقل الدم للطفل المصاب وبالتالي إلى تحسن وضع نقي العظم وعودته لإنتاج كريات الدم البيض بنسبة قليلة وحسب نسبة الشفاء (Musumeeec, et al., 1976).

أما بالنسبة للحمضات فالمعروف إن الحمضات تزداد في حالة الإصابة بالطفيليات إلا أن النتائج أشارت إلى انخفاض أعدادها قبل العلاج وبعده وهذا قد يرجع إلى أن المنتج منها قليل وفقدانها نتيجة لمهاجمتها للطفيلي وهذا يختلف مع ما سجله Change (1981) الذي أشار إلى بقاء نسبة الحمضات ثابتة نتيجة لضعف العترة وضعف الإصابة ويتفق مع ما سجله Santos,et al.,(1987) حيث ذكروا أن نسبة الحمضات تنخفض عن معدلاتها في حالة الإصابة بالشمانيات الاحشائية نتيجة لمهاجمتها للطفيلي وقد يعزى أيضاً إلى قلة المنتج منها في نخاع العظم وإلى شدة الإصابة حيث كلما كان عدد الطفيليات أكثر كلما زاد تحطم الحمضات .

وتبين من هذه الدراسة بأن فقر الدم سائد في جميع العياريات وكان على أشده في عيارية ١٢٨ قبل العلاج حيث تميزت بانخفاض شديد وحاد في كمية خضاب الدم وعدد الكريات الحمراء وحجم كريات الدم المرصوفة وحجمها وهذا يكون بسبب تحضير المتمم حيث يترسب الجزء الثالث للمتمم على سطح الكرية الحمراء ، مؤدياً إلى تحللها وتكسرها في الطحال (Woodruff,1973;Marwaha,1991) وتتفق نتائج الدراسة مع ما توصل إليه Hassan(1991) و Rothagi,etal.,(1996) قد يرجع السبب في ذلك إلى احتمال قصور

بعض التغيرات الحاصلة في مكونات الدم في الاطفال المصابين بطفيلي المشمانيا الاحشائية *Leishmania donovani* مع قياس ايون الكالسيوم قبل العلاج وبعده
بان موحان حسن د.شاهناز عبد القادر علي د.سالم رشيد العبيدي

في دورة حياة الكرية الحمراء وهشاشتها فضلا عن ان الجسم واقع تحت اجهاد الاصابة وأيضا يقشل في تمثيل كميات كافية من احتياط الحديد من الغذاء الذي يتناوله من جهة ومن جهة اخرى ترسب الحديد في الانسجة وعدم الاستفاده منه في بناء خضاب الدم يضاف الى ذلك كله تأخر الجهاز المولد للدم في تعويض كمية الدم المفقود بشكل يكافيء النقص الحاصل .

النزف الحاصل في الاطفال المصابين يعود الى انخفاض اعداد الصفيحات الدموية كما اثبتتها النتائج نتيجة اصابة نخاع العظم وبالتالي قلة تصنيعها والنزف المستمر يعود الى قلة عوامل التجلط والكبد هو المسؤول عن تكوين هذه العوامل (Dennis,etal ., 1985) . والارتفاع الحاصل في كمية خضاب الدم وعدد كريات الدم الحمراء وحجم كريات الدم المرصوصة وعدد الصفيحات الدموية فقد يعود باعتقادنا الى عملية نقل الدم للاطفال المصابين لانه نخاع العظم يحتاج (1-2) اسبوع لكي يعيد بناء وتكوين كريات الدم , حيث ان نقص الحديد في الادوار الاولى للاصابة يعوض عنه من غذاء الفرد الا ان تردي الحالة الصحية بسبب فقدان الشهية التي تلازم المريض فتقلل من اخذ الحديد من الغذاء وتتفق النتائج مع ما سجله Broderson ,etal, (1986) لتشابه الظروف المحيطة بالمصابين والمعروف ان فقر الدم في الحمى السود يتصف بكريات دم حمراء سوية (Normoeytic) وكريات سوية الصباغ (Normochromic) ولكن في هذه الدراسة فقد كانت الكريات الحمراء غير سوية من حيث الحجم (microcytic) وغير سوية الصباغ (Hypochromic) وبهذا تختلف نتائج هذه الدراسة مع نتائج التي حصل عليها Knight ,etal ., (1967), فبسبب قد تعود الى اختلاف البيئة والعمر والوراثة والمستوى الصحي .

ومن دراسة مستوى ايون الكالسيوم في المصل ظهر بأن مستواه في الأطفال المصابين انخفض قبل العلاج ثم اخذ بالارتفاع بعد أسبوع مدة العلاج وهذه النتائج جاءت مطابقة لما ذكره Prasad and Flink, (1958) من ان مستوى الكالسيوم لا يهبط مع هبوط الألبومين لأن هناك كميات كبيرة نسبيا من الكالسيوم غير مرتبط مع الألبومين في المصل فضلا عن وجود الطفيلي في القنوات الصفراوية يؤدي إلى اضطراب في إفراز الصفراء او عبورها إلى الأمعاء وهذا بالمقابل قد يسبب اضطرابات في امتصاص الكالسيوم . أما الارتفاع الحاصل بعد العلاج فقد يعود الى عملية نقل الدم وتحسن وضع الطفل التدريجي وتحسن شهيته وبالتالي امتصاص الكالسيوم في الأمعاء ، يتضح مما تقدم بأن الإصابة بطفيلي المشمانيا الاحشائية يحدث تغيرات في مكونات الدم وفي كمية ايون الكالسيوم ويختلف تأثيرها في هذه الجوانب حسب شدة المرض وطول مدته وتحسن حالة المصاب بعد العلاج من خلال ملاحظة تحسن الوضع العام للمريض .

جدول رقم (1) عدد كريات الدم البيض ($10^3 \times$ /ملم³ دم) في الأطفال المصابين باللشمانيا
الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عياريات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128	64	32	16		
14.15 + -	14.15 + -	14.15 + -	14.15 + -	المعدل +	السيطرة
1.45	1.45	1.45	1.45	الانحراف المعياري	
B** 3.65 + -	B** 4.03 + -	B** 4.20 + -	B** 4.26 + -	المعدل +	قبل العلاج
2.09	2.40	9.18	2.82	الانحراف المعياري	
A** 4.91 + -	A** 5.32 + -	A** 5.43 + -	A** 5.40 + -	المعدل +	بعد العلاج
3.10	3.20	3.08	3.65	الانحراف المعياري	

- * : فروق معنوية ($p < 0.05$) بين مجموعتي قبل العلاج وبعده
- ** : فروق معنوية ($p < 0.01$) بين مجموعتي قبل العلاج وبعده
- A : فروق معنوية ($p < 0.01$) بين مجموعتي السيطرة وقبل العلاج
- B : فروق معنوية ($p < 0.01$) بين مجموعتي وبعد العلاج

بعض التغيرات الحاصلة في مكونات الدم في الاطفال المصابين بطفيلي اللشمانيا الاحشائية *Leishmania donovani* مع قياس ايون الكالسيوم قبل العلاج وبعده
 بان موحان حسن د.شاهناز عبد القادر علي د.سالم رشيد العبيدي

جدول رقم (2) النسبة المئوية لعدد الحمضات (%) في العد التفريقي لكريات الدم البيضاء في دم الاطفال المصابين باللشمانيا الاحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128	64	32	16		
7.40 + -	7.40 + -	7.40 + -	7.40 + -	المعدل + -	السيطرة
0.51	0.51	0.51	0.51	الانحراف المعياري	
B**3.90 + -	B**3.70 + -	B**3.50 + -	B**3.60 + -	المعدل + -	قبل العلاج
0.67	0.67	0.67	0.69	الانحراف المعياري	
A**4.80 + -	A**4.20 + -	A**4.60 + -	A**4.20 + -	المعدل + -	بعد العلاج
0.52	0.48	0.51	0.63	الانحراف المعياري	

* : فروق معنوية ($p < 0.05$) بين مجموعتي قبل العلاج وبعده

** : فروق معنوية ($p < 0.01$) بين مجموعتي قبل العلاج وبعده

A : فروق معنوية ($p < 0.01$) بين مجموعتي السيطرة وقبل العلاج

B : فروق معنوية ($p < 0.01$) بين مجموعتي وبعد العلاج

جدول رقم (3) كمية خضاب الدم (غم/100مل دم) في الأطفال المصابين بالشماتيا الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128	64	32	16		
14.16 + --	14.16 + --	14.16 + --	14.16 + --	المعدل + --	السيطرة
1.07	1.07	1.07	1.07	الانحراف المعياري	
B**6.04 + --	B**7.26 + --	B**7.94 + --	B**9.04 + --	المعدل + --	قبل العلاج
0.66	0.86	1.50	1.52	الانحراف المعياري	
A**9.16 + --	A**9.70 + --	A**9.80 + --	A**11.22 + --	المعدل + --	بعد العلاج
0.80	1.08	1.40	1.63	الانحراف المعياري	

جدول رقم (4) عدد كريات الدم الحمراء ($10^6 \times$ ملم³ دم) في الأطفال المصابين بالشماتيا الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128/1	64/1	32/1	16		
5.38 + --	5.38 + --	5.38 + --	5.38 + --	المعدل + --	السيطرة
0.27	0.27	0.27	0.27	الانحراف المعياري	
B**3.96 + --	B**3.00 + --	B**3.28 + --	B**3.47 + --	المعدل + --	قبل العلاج
0.46	0.46	0.69	0.76	الانحراف المعياري	
A**3.97 + --	A**4.26 + --	A**4.37 + --	A**4.85 + --	المعدل + --	بعد العلاج
0.56	0.53	0.65	0.57	الانحراف المعياري	

بعض التغيرات الحاصلة في مكونات الدم في الأطفال المصابين بطفيلي اللشمانيا الاحشائية *Leishmania donovani* مع قياس ايون الكالسيوم قبل العلاج وبعده
 بان موحان حسن د.شاهناز عبد القادر علي د.سالم رشيد العبيدي

جدول رقم (5) النسبة المئوية (%) لحجم كريات الدم المرصوصة في الأطفال المصابين باللشمانيا الاحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128	64	32	16		
42.20 + -	42.20 + -	42.20 + -	42.20 + -	المعدل +	السيطرة
1.75	1.75	1.75	1.75	الانحراف المعياري	
B**22.40 + -	B**23.00 + -	23.20B** + -	B**27.00 + -	المعدل +	قبل العلاج
2.75	2.82	2.64	3.29	الانحراف المعياري	
A**27.20 + -	A**28.50 + -	A**28.90 + -	A**34.10 + -	المعدل +	بعد العلاج
2.69	2.54	4.60	4.84	الانحراف المعياري	

جدول رقم (6) معدل تركيز خضاب الدم في الكرية الحمراء (غم/100مل) في الأطفال المصابين باللشمانيا الاحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128	64	32	16		
39.00 + -	39.00 + -	39.00 + -	39.00 + -	المعدل +	السيطرة
1.80	1.80	1.80	1.80	الانحراف المعياري	
B**26.91 + -	B**29.70 + -	B**30.50 + -	B**31.10 + -	المعدل +	قبل العلاج
2.51	3.20	2.10	2.40	الانحراف المعياري	
A**30.50 + -	A**31.40 + -	A**33.20 + -	A**33.90 + -	المعدل +	بعد العلاج
2.65	1.62	1.80	1.30	الانحراف المعياري	

جدول رقم (7) معدل حجم الكرية الحمراء / فل في الأطفال المصابين بالشمانيا الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128	64	32	16		
91.00 + -	91.00 + -	91.00 + -	91.00 + -	المعدل + -	السيطرة
3.20	3.20	3.20	3.20	الانحراف المعياري	
B**70.60 + -	B**71.50 + -	B**75.30 + -	B**83.00 + -	المعدل + -	قبل العلاج
2.50	2.10	3.40	2.80	الانحراف المعياري	
A**73.30 + -	A**76.40 + -	A**78.80 + -	A**86.90 + -	المعدل + -	بعد العلاج
2.10	2.80	1.51	1.30	الانحراف المعياري	

جدول رقم (8) عدد الصفائح الدموية ($10^3 \times$ / مل³ دم) في الأطفال المصابين بالشمانيا الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128	64	32	16		
400.90 + -	400.90 + -	400.90 + -	400.90 + -	المعدل + -	السيطرة
2.72	2.72	2.72	2.72	الانحراف المعياري	
B**81.60 + -	B**85.30 + -	B**79.70 + -	B**113.7 0 + -	المعدل + -	قبل العلاج
2.01	2.71	2.62	2.66	الانحراف المعياري	
A**87.00 + -	A**91.00 + -	A**105.0 0 +	A**120.8 0 +	المعدل + -	بعد العلاج
1.34	2.25	3.83	2.82	الانحراف المعياري	

بعض التعبيرات الحاصلة في مكونات الدم في الاطفال المصابين بدفتلي اللشمانيا الاحشائية *Leishmania donovani* مع قياس ايون الكالسيوم قبل العلاج وبعده
 بان موحان حسن د. شاهناز عبد القادر علي د. سالم رشيد العبيدي

جدول رقم (٩) كمية ايون الكالسيوم (ملغم / ١٠٠ ملم) في مصل الاطفال المصابين باللشمانيا الاحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الاربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابية
128	64	32	16		
11.03 + -	11.03 + -	11.03 + -	11.03 + -	المعدل + -	السيطرة
1.01	1.01	1.01	1.01	الانحراف المعياري	
B**7.15 + -	B**7.30 + -	B**7.42 + -	B**7.77 + -	المعدل + -	قبل العلاج
0.66	0.52	0.72	0.87	الانحراف المعياري	
A**7.99 + -	A**8.08+ - 0.53	A**8.42 + -	A**8.50 + -	المعدل + -	بعد العلاج
0.65		0.66	0.70	الانحراف المعياري	

المصادر

- ١- منظمة الصحة العالمية (١٩٩٦) . دليل مكافحة داء اللشمانيا الحشوي ، جنيف . ص ١٠ - ٧٠ .
- ٢- عبد الكريم ، بندر محمد وشعيان ، ابراهيم (١٩٨٧) . علم الطفيليات . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد ، ١٢٢ - ١٣٣ ، ٤٩ ، ٥٣٤ - ٥٤٣ .
- 3- Barral , B Carvalho , E.M., Badaro , R. and Barral – Netto, M. (1986) . Suppression of Lymphocyte proliferative responses by ser from patients with American visceral Leishmaniasis . Am.J.Trop.Med .Hyg., 35 (4) :7-34-742.
- 4- Koech, D.K; Iha , D.w.; Ho ,M. and wamachi,A.N.(1987) Contribution of adherent cells and serum components to immune suppression in Kenyan visceral Leishmaniasis . Am. Trop.Med. Hyg; 36(3): 501-504.
- 5- Musumec; S; Dagata, A; Schiliro ,G.and Fisher, A. (1976) studies of the neutropenia in Kala-azar-Results in two patients. Tarn. R.Soc. Trop.Med. Hyp; 70(16): 500-503.
- 6- Santos ,J.I.D; Morgado , M.G. and Gastro , B.G.(1987).Human visceral Leishmaniasis : Analysis of the specificity of Humral (Immune Response to polypeptiades of *Leishmania donovani* chagasi; Am.J.Trop. Med. Hyg; 32(2):263-270.
- 7- Change, K.P. (1981) Leishmanicidal mechanisms of Human polymorphonuclear phagocytes. Am . J . Trop.Med. Hyg; 30(2); 322-333.
- 8- Woodruff, A.w. (1973) . Mechanisms involved in anemia associated with infection and splenomegaly in the tropics. Tran. R.Soc. Trop.Med. Hyg; 67: 313-328.
- 9- Marwaha , N, sarode, R; Gupta, R K; Garewal, G. and Desh, S. (1991) . Clinico haematological characteristics in patients with Kala-azar: A study from Northwest India, Trop. Geogra. Med; 43 (4): 357 – 367. Ab-Hassan, A.K. (1991). Additional method explaining the cause of anemia in visceral leishmaniasis. Al-Mustansirya. J.sci; 3(1): 71-74.

- بعض التغيرات الحاصلة في مكونات الدم في الاطفال المصابين بطفيلي المشمانيا الاحشائية *Leishmania donovani* مع قياس ايون الكالسيوم قبل العلاج وبعده
 بان موحان حسن د. شاهناز عبد القادر علي د. سالم رشيد العبيدي
- 10- Rothagi, A; Agrarwal, SK; Bose, M; chattopadhya, D. and saha, K. (1996). Blood. Bone marrow and splenic lymphocyte subset profiles in India visceral leishmaniasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*; 90(4): 431-434.
- 11-Dennis, V.A; Chapman, W.L, Hanson, W.L and Lujan, R. (1985). *Leishmania donovani*: clinical, Haemato logic and Hepatic characters Squirrel Monkeys (*Saimin Sciurerus*). *J. Parasitol*; 71(5): 76 – 80.
- 12-Broaderson, J.R; Chapman, W. L. and Hanso, W.L. (1968). Experimental visceral leishmaniasis in the owl Monkey, *vet. Pathol*; 23:293 – 302.
- 13-Knight, R.A; wood ruff, W. and Pettit, L.E.(1967). Studies of the neutropenia in Kala-azar. Results in two patients, *Tran.R.Soc.Trop. Med. Hyg*; (61): 701.
- 14-Prasad, A.S. and Flink, E.(1958). The base binding property of the serum proteins with respect to calcium. *J. Labo. And clin. Med.*; 51 (3): 345 –350.
- 15-Bora , D. (1999) . Epidmiology of visceral Leishmaniasis in India . *Natal . Med . J . India* ; 12(2) : 62 – 68 .
- 16-Marquardt , W.C ; Demaree , R. and Grieve , R.B. (2000) . A cademic press ; pp : 57- 71 .
- 17- WHO (1984) . Leishmaniasis . Geneva ; PP. : 10- 11 , 16-17 , 19 – 50 .
- 18- WHO (1997) . Tropical disease research . Geneva ; PP.: 101 – 110 .
- 19- WHO (1998) . Leishmania and HIV in Gridlok : Rep :5-9.

استخدام روبيان الممالح (*Artemia salina*) من القشريات
اللادرعية في قياس السمية الحادة لمخلفات مصفى الدورة النفطية

محمد جابر لفته العبيدي

وحدة بحوث أمراض المناطق الحارة - كلية طب الكندي - جامعة بغداد - بغداد - العراق

Summary

The brine shrimp *Artemia salina* used as an indicator to determine the acute toxicity of Aldaura refinery hydrocarbon wastes. This study shows that *Artemia salina* is a good indicator to determine this kind of water pollution.

الخلاصة

تم استخدام روبيان الممالح *Artemia salina* من صنف القشريات اللادرعية (شعبة المفصليات) في تحديد درجة السمية الحادة للمخلفات الهيدروكربونية من مصفى الدورة، كحيوان تجارب مختبري يوفر طريقة قياس سريعة لسمية الملوثات في تجارب الفحص الحيوي. وقد أظهرت الدراسة امكانية استخدام هذا الكائن كاحد الدلائل لتلوث المياه بهذا النوع من الملوثات.

المقدمة

يعد صنف اللادرعيات و التي يعود أليها النوع (*Artemia salina*) من القشريات الشائعة الاستخدام في البحوث والدراسات و لاسيما تلك المتعلقة بالتلوث و السمية و ذلك لسهولة الحصول عليه و تربيته و حساسيته العالية للملوثات النفطية (١). يعيش روبيان الممالح في البرك و المستنقعات الرائدة ذات التركيز العالي من الأملاح (اكثر من ١٥ و ٥٠%) و خاصة في أيام الصيف الحارة حيث تصل درجة الحرارة الى اكثر من ٤٥ درجة مئوية و معدلات التبخر إلى مستويات عالية (٢). إن سمية المواد تتأثر بشكل مباشر أو بشكل غير مباشر بالعوامل البيئية و الكيماوية و الفيزيائية و تأثيرها هذا قد يزيد سميتها أو يقللها. فقد وجد مثلاً بأن الجسيمات الصلبة تقلل من سمية المواد في البيئة المائية (٣).

تعد المخلفات النفطية الناتجة من مصافي النفط من المشاكل البيئية المهمة تكون المخلفات النفطية بنوعين صلبة و سائلة و التي تكون حاوية على كمية من الهيدروكربونات و كميات من الكبريت و النتروجين و غيرها (٤). و لتلافي تلوث المياه بهذه المخلفات فإن المصافي

استخدام روبيان الممالح (*Artemia salina*) من القشريات اللادرعية في قياس السمية الحادة لمخلفات مصفى الدورة النفطية
محمد جابر لفته العبيدي

تكون حاوية على وحدات معالجة تتضمن معالجات ميكانيكية وكيميائية وحيوية لهذه المخلفات
قبل أن تلقى الى البيئة المائية.

ان المراقبة الحيوية لسمية المخلفات الناتجة من المصافي تكون اكثر جدوى من
المراقبة الكيميائية وذلك لأن المراقبة الحيوية تعطينا فكرة عن التأثيرات الحيوية في الأحياء
التي تعيش في المياه وهذا يعد أهم من معرفة التركيب الكيميائية لتلك المخلفات (٥،٤).
تهدف الدراسة لتحديد إمكانية استخدام روبيان الممالح *Artemia salina* في
المراقبة الحيوية لمخلفات مصفى الدورة في بغداد والكشف عن مدى تحمل هذا الكائن للمواد
السامة التي تحويها.

المواد وطرق العمل

١. جمعت عينات المخلفات النفطية من مصفى الدورة واختير موقعان للجمع في وحدة المعالجة
الموجودة في المصفى بحيث كان الموقع الأول يمثل المخلفات غير المعالجة والموقع الثاني يمثل
المخلفات المعالجة ميكانيكيا وحيويا وكيمياويا .

٢. وقد جمعت عينات المخلفات في قناني بلاستيكية سعة ٥ لتر وروعي عند الجمع ملء القنينة
كليا وعدم ترك فسحة هوائية قبل إغلاق القنينة وحفظت في ثلاجة بدرجة حرارة ٤ م ولمدة لا
تتجاوز أسبوعا واحدا (٦) .

٣. تم جمع عينات روبيان الممالح *Artemia salina* من البرك الملحية المجاورة لخط
المرور السريع قرب اللطيفية ٥٥ كم جنوب مدينة بغداد خلال شهر كانون الثاني ٢٠٠١ م .

٤. تم وضع العينات في حوض مائي زجاجي سعة ٣٦ لتر يحوي ماء فيه ملح كلوريد الصوديوم
تركيزه ٠,٥٠ غرام /لتر وخالي من اليود وأقلمت لظروف المختبر (درجة حرارة ٢٥ م و ١٢
ساعة ضوء) .

٥. تم تحضير سلسلة التراكيز من ١٠% و ٢٠% و ٣٠% و ٤٠% و ٥٠% من المحلول الأصلي
١٠٠% (وذلك لتحديد تركيز الملح في الماء بما يتناسب مع التفاوت الكبير في درجات الحرارة
في الصيف في بيئة العراق والسرعة الكبيرة في تبخر الماء) وذلك بإضافة حجم معين من ماء
النهر بعد ترشيحه وغليه وإضافة ملح كلوريد الصوديوم بنسبة ٥٠% (لأن روبيان الممالح
يعيش في مياه راكدة مالحة جدا) أجريت تجارب الفحص الحيوي bioassay (٢) .

٦. وضعت عشرة أفراد بحجم متقارب في دوارق زجاجية سعة ٣٠٠ مل بواقع أربع مكررات
إضافة الى مجموعة السيطرة وتركت الدوارق مفتوحة خلال مدة التجربة وحسبت أعداد الأفراد
الميتة كل ٢٤ ساعة أزيلت واتخذت عدم القدرة على الحركة والركود في قعر الإناء كدليل
موت ونقطة نهاية للتجارب.

٧. تم حساب التركيز المميت لنصف حيوانات التجربة LC50 بطريقة تحليل وحدات الاستقامة Probit واستخرجت العلاقة بين زيادة التراكيز والنسب المئوية للموت.

النتائج والمناقشة

لقد اظهرت الدراسة ان هناك علاقة طردية بين زيادة تراكيز المخلفات النفطية لمصفي الدورة وبين النسب المئوية لارتفاع هلاكات افراد روبيان الممالح *Artemia salina*. وقد وجد كذلك ان هناك علاقة طردية بين نسبة هلاكات افراد روبيان الممالح ومدة التعرض من ٢٤ و ٤٨ و ٧٢ و ٩٦ ساعة. فعند زيادة التركيز من ١٠% الى ٥٠% زادت نسبة الموت من ٢٧% (التركيز ١٠%) الى ٣٧% (التركيز ٥٠%) بالنسبة للمخلفات المعاملة وزادت من ٣٠% الى ٥٢% بالنسبة للمخلفات غير المعالجة كما ان زيادة زمن التعرض من ٢٤ ساعة الى ٩٦ ساعة في التركيز ١٠% قد سبب زيادة نسب الموت من ٢٧% الى ٧٩% في المخلفات المعالجة وزادت من ٣٠% الى ٨٣% في المخلفات غير المعالجة (جدول رقم ١).

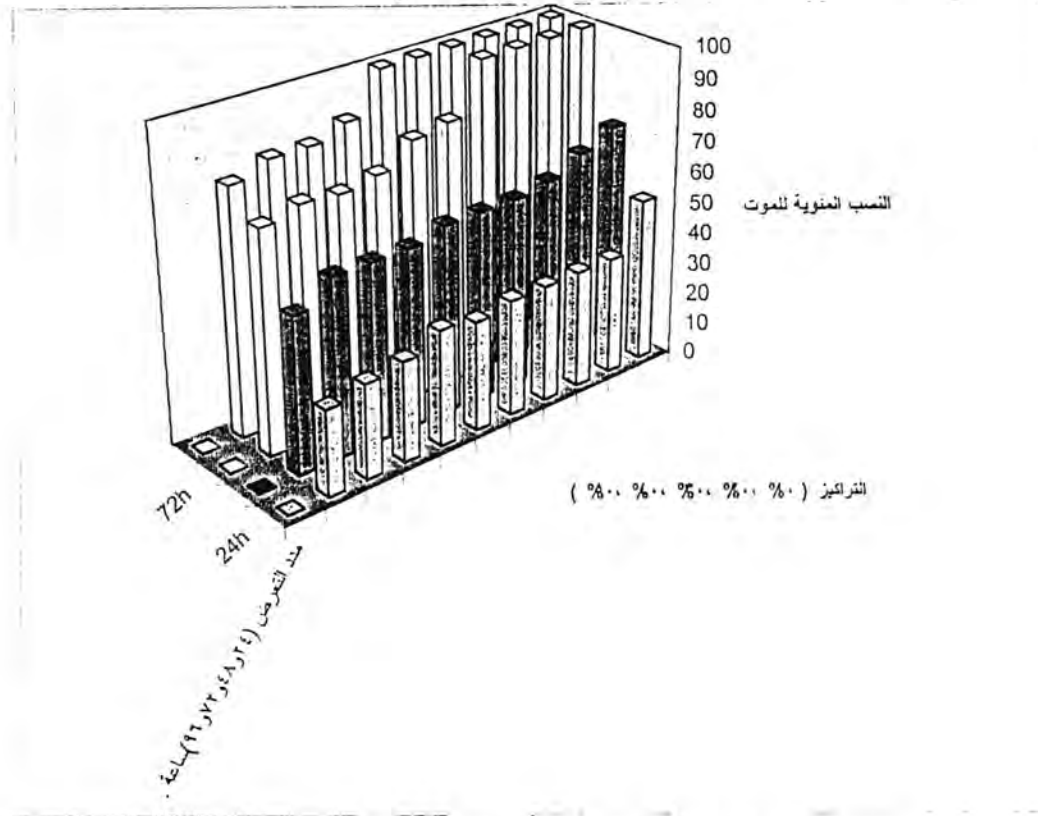
في التراكيز العالية (٤٠% و ٥٠%) وصلت نسبة موتها الى ١٠٠% خلال مدة التعرض ٧٢ و ٩٦ ساعة على التوالي كما في الشكل (رقم ١).

كانت متوسطات التراكيز المميتة عالية للمخلفات المعالجة وغير المعالجة في مدد التعرض الواطئة. على العكس من ذلك انخفضت قيم هذه التراكيز بزيادة مدد التعرض. وهذا يدل على ان السمية الواطئة في التراكيز القليلة يمكن ان تسبب اضرار مميتة للكائنات المعرضة ولكن تتطلب وقت اكثر مما تتطلبه التراكيز العالية (جدول رقم ٢). وهذا على ما يبدو عائد الى ان تاثير الهيدروكربونات النفطية في الاحياء المعرضة يكون بمراحل تدها بالخمول نتيجة تاثر الجهاز العصبي للكائن يتبع ذلك تغيرات في معدل التنفس و السلوك متمثلا بحركات سريعة للاطراف واجزاء الفم منتبهة بالموت (٨).

اد ان تاثير الهيدروكربونات النفطية في الاحياء يدها من التراكم في انسجتها ومن ثم التأثير السلبي على الفعاليات الحيوية (٩، ١٠).

لقد اظهرت هذه الدراسة ان المخلفات النفطية التي يمكن ان تتسرب الى المسطحات المائية لها مفعول سلبي على (*Artemia salina*) التي يمكن استخدامها كموشرات حيوية على نسبة (درجة) تلوث المياه بالمشتقات النفطية لاسيما وان هذه الحيوانات منتشرة على نطاق واسع في المنطقة الجنوبية والوسطى من العراق التي تكثر فيهما المسطحات المائية المالحة.

شكل (١) العلاقة بين تراكيز مخلفات مصفى الدورة والنسب المئوية لموت افراد روبيان المالح



جدول (١) : النسب المئوية لموت روبيان المالح *Artemia salina* المعرضة

لمخلفات مصفى الدورة المعالجة (TW) وغير المعالجة (NTW) لمدة ٩٦ ساعة.

Con %	Type of wastes	Percentage of mortality			
		24hr	48hr	72hr	96hr
Control	----- ---	0	0	0	0
10	TW	27	50	71	79
	NTW	30	57	74	83
20	TW	32	57	73	83
	NTW	37	57	75	87
30	TW	35	60	82	100
	NTW	37	60	84	100
40	TW	37	60	100	100
	NTW	37	62	100	100
50	TW	37	67	100	100
	NTW	52	72	100	100

جدول رقم ٢ متوسطات التراكيز المميتة للمخلفات النفطية المعالجة وغير المعالجة لمدد تعرض مختلفة .

Type of wastes	24hrLC50	48hrLC50	72hrLC50	96hrLC50
NTW	49.1	10.2	5.3	2.2
TW	62	10	6.4	3.7

References

- 1-Nelson-Smith, A. (1972) Effect of the oil industry on shore life in estuaries preceding of the royal society of London series b: biological sciences. 180(61): 487-496.
- 2- Persoone, G. and Sorgeloos, P. (1980) General aspect of the ecology and biogeography of *Artemia salina*. J.of Brine shrimp *Artemia* .3: 24.
- 3-Moles, A. (1998) Sensitivity of ten aquatic species to long-term crude oil exposure Bull. Environ. Contam. And Toxicol. 61(1): 102-107.
- 4-Buikema, A.L.Jr.B.R.Niederlener and J. Cairns (1981) The effect of a simulated refinery effluent and its components on the estuarine crustacean *M. bahia*. Arch. of Environ. Contam. And Toxicol. 10(2): 231-240.
- 5- Slooff, W. (1988) Benthic macro invertebrates and water quality assessment: some toxicological consideration. Environ. Poll. Bull. 13(5).
- 6- Schiff, K.C.; D.J.Reish; J.W.Anderson and S.M.Bay (1992) Comparative evaluation of produced water toxicity. Produced Water Ed. By J.P.Ray and. Enghart. Plenum press, New York.
- 7- Goldstein, A.; L.Aronow and S.M.Kolman (1974) Principle of Drug Action 2nd ed. John Wiley and Sons. Toronto Canada.
- 8- Sothward A.J. (1982) An ecologist's view of the implications of the observed physiological and biochemical effects of petroleum compounds on marine organisms. Phil. Trans. R.Soc. 297: 241-255.
- 9- Hydon D.A. J. Requen and D.W. Urban (1980) Some effects of aliphatic hydrocarbons on the ecological capacity and ionic currents of the squid giant axon membrane .J. Physiology. London .245:299-309.
- 10- Orbea, A.;I. Marigomez ;C.Fernandez;J.V.Tarazona ;I. Concio and M.P. Cajaraville (1999) Structure of Peroxisomes and activity of the marker enzyme catalase in digestive epithelial cells in relation to PAH content of mussel s from two Basque estuaries (Bay of Biscay). Seasonal and sito-specific variations. Arch. Environ.Contam. Toxicol. 63: 158 - 166.

بعض التغيرات المصلية المناعية في مصل المصابين بطفيلي اللشمانيا الأحشائية

L donovani قبل العلاج وبعده في الأطفال ..

بان موحان ود . شاهناز عبد القادر ود . سالم رشيد العبيدي
الجامعة المستنصرية - كلية العلوم - قسم علوم الحياة - بغداد - العراق

الخلاصة

أجريت دراسة لبعض جوانب الإصابة بطفيلي اللشمانيا الأحشائية قبل العلاج وبعده في الأطفال للفترة من ٢٠٠٠١٢١١ ولغاية ٢٠٠٠١٦١١ وتهدف هذه الدراسة إلى معرفة تأثير الإصابة بطفيلي اللشمانيا الأحشائية على التغيرات الحاصلة في بعض التغيرات المصلية المناعية في مصل دم الأطفال المصابين قبل العلاج وبعده ومقارنتها في الأطفال غير المصابين بها.

ومن نتائج هذه الدراسة تبين إن هناك ظاهرة فرط الكاماكلوبيولين ويتطابق مع ارتفاع البروتينات (الكلوبيولينات) وأظهرت النتائج أيضاً ارتفاع في نسبة المتمم C₃ و C₄ .

المقدمة

مرض الداء الأسود: الكالازار Kala-azar أو اللشمانيا الأحشائية مرض عام مزمن يسببه طفيلي *Leishmania donovani* (Marquardt, et al., 2000).

ينتشر داء اللشمانيا الأحشائية في (88) دولة استوائية وشبه استوائية يرتبط بانتشار حشرة ذبابة الرمل التي تعد الناقل للمرض كما تنتقل عدوى الإصابة على نحو موسمي ويرتبط انتقاله من شخص لآخر بكثافة الناقل وربما المضائف الخازنة في بؤر الإصابة (Baro, 1999).

يتميز المرض بحمى وتضخم الطحال والكبد والعقد اللمفاوية وفقر الدم مع قلة كريات الدم البيض وهزال متزايد وضعف عام، ويكون المرض مميتاً إذا لم يعالج (WHO, 1998). يصيب هذا المرض في العادة الأطفال من الفئة العمرية (1-4) سنوات، وقد يحدث في سنوات المراهقة وتكون الإصابة في الذكور أكثر من الإناث (WHO, 1984, 1998).

أما في العراق فينتشر المرض في جميع مناطق العراق خاصة بين سكان الأرياف وضواحي المدن ويكثر بين الأطفال دون الثالثة من العمر ومن كلا الجنسين (عبد الكريم وشعبان 1987).

بان موحان ود . شاهناز عبد القادر ود . سالم رشيد العبيدي

وكما استحوذ عقار البنثوستام على اهتمام الكثير من الباحثين لكونه فعال في القضاء على الطفيلي وذو سمية قليلة على جسم الإنسان .

المواد وطرائق العمل

جمعت نماذج دم من 100 طفل مصاب بداء الحمى السوداء من الفئة العمرية (1-2) سنة في مستشفى الصويرة العام في قضاء الصويرة/محافظة واسط الذي يبعد ٥٥ كم جنوب شرق بغداد وتم تشخيص الإصابة باستخدام اختبار الومضان المناعي غير المباشر (IFAT) وأخذت العيارات (16, 32, 64, 128)

اختبار الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)

Indirect Immunofluorescent Antibody Test

إن اختبار الومضان المناعي غير المباشر هو أحد الاختبارات الشائعة والمستخدمة في تشخيص الإصابة بالكالازار في مستشفيات القطر ويتضمن الخطوات الآتية:-
توضع قطرة دم من الشخص المشكوك بإصابته على ورق نشاف خاص نوع Watman.No. 3 وترفق مع استمارة الفحص التي تحتوي على كافة المعلومات عن المريض كالاسم، الجنس، العلاج.

توضع ورقة الترشيح الحاوية على دم المريض في محلول دارى الفوسفات وبأس هيدروجيني (7.2-7.4) مع مراعاة الدقة، وفي حالة توفر المصل فانه يستخدم مباشرة بعد تخفيفه بدارى فوسفات لمعرفة شدة الإصابة ويوضع على شرائح المستضدات المحضرة والمحافظة في التلاجة [حيث يتم تحضير المستضد من مزروع اللشمانيا دونوفاني بسحب كمية من المزروع النامي على وسط N.N.N ثم غسله عدة مرات بمحلول ملح الطعام القياسي ثم إضافة الفورمالين لقتله بعدها يطبع على الشرائح الزجاجية وتحفظ لحين استخدامها] بعدها تحضن الشرائح التي وضع عليها مصل الدم لمدة (30) دقيقة في درجة (37) مئوية في حمام مائي ثم تغسل الشرائح بثلاث مراحل اثنان منها بمحلول دارى الفوسفات بعدها بالماء المقطر لإزالة أملاح الدارى، ثم أضيف المقترن (Conjugate) الذي هو عبارة عن (المضاد للضد (Anti-antibody) للكلوبولينات المناعية IgG أو IgM أو خليط منها مقترنة مع صبغة ايزو ثايو سيانيت) ثم حضنت الشرائح في الحاضنة بدرجة (37) درجة مئوية ولمدة (30) دقيقة ثم غسلت مرة أخرى بثلاث مراحل كما في السابق ثم بعدها جفقت الشريحة قليلاً أضيف لها دارى كلسيرول (Glycerol buffer) فحصت بالمجهر

الطفيلي في حالة إصابة المريض ولا يشع في حالة عدم الإصابة (منظمة الصحة العالمية، 1996) صورة رقم (9, 10, 11) تبين إشعاع الطفيلي في حالة الإصابة.

١. قياس بروتينات مصّل الدم Measurement of serum blood protein تم قياس بروتينات مصّل الدم بطريقة الترحيل الكهربائي (Protein electrophoresis).

حيث أخذت ورقة سليولوزية (cellulose acetate) ونقعت بدارئ باربيتال لمدة خمس دقائق نشفت بعدها بورقة ترشيح من المحلول الزائد ووضعت على جسر خاص في خلايا صغيرة (micro zone-cell) يحتوي على دارئ باربيتال، بعد تثبيت الورقة وضعت الأمصال في جهاز (Applicator) وأضيفت إلى الورقة المثبتة على الجسر ومرر تيار بمقدار (200) فولت بما يعادل (1) ملي أمبير لمدة (20-25) دقيقة بعد انتهاء الوقت وضعت الورقة السليولوزية في صبغة بوناسين (Ponacen) الخاصة لمدة (10) دقائق وغسلت بعدها بحامض الخليك (Acetic Acid) بتركيز 5% إلى أن أصبحت بيضاء بعدها تركت لتجف ثم وضعت في مادة بارافين السائل (liquid paraffin) أقل من دقيقة إلى أن أصبحت شفافة وضعت على شريحة زجاجية بعد إزالة الزائد من البارافين ثم قرأت النتائج بعد رسمها بجهاز الرسم البياني (scanner) الخاص بهذه الطريقة.

٢. قياس عيارية الكلوبولينات المناعية والمتمم

Measurement titer of Immunoglobulins and complement

استخدمت عدة تحديد عيارية الأجسام المضادة والمصنعة من قبل شركة (Sanofi) بحسب الطريقة المشار إليها في النشرة المرفقة مع العدة حيث تم قياس الكلوبولينات المناعية (IgA, IgM, IgG) وجزئي المتمم C₃, C₄ وحسب طريقة الانتشار الشعاعي ذو الاتجاه الواحد.

النتائج

١. تم تشخيص الإصابة باستخدام اختبار الومضان المناعي غير المباشر وهو اختبار مصلي وكانت العيارات للمصابين (16, 32, 64, 128).

٢. أظهرت نتائج الترحيل الكهربائي للبروتين انخفاضاً بمعدلات البروتين الكلي والألبومين وكان أوطأها انخفاضاً عند عيارية (128) وارتفعت معدلاتها بعد العلاج. جدول رقم (2,1)

٣. سجلت نتائج الكلوبولين قبل العلاج ارتفاعاً ملحوظاً في جميع أجزائه ألفا -1، ألفا -2، بيتا، الكاما وخاصة في الكاما-كلوبولين للعيارات الأربعة وعند عيارية (128).

بان موحان ود . شاهناز عبد القادر ود . سالم رشيد العبيدي

وانخفضت معدلاتها قليلاً بعد العلاج وبقيت مرتفعة في الكاما إلا أنها كانت أعلى مقارنة مع مجموعة السيطرة جدول رقم (3,4,5,6,7).

٤. ارتفعت عيارية الأضداد (IgA, IgM, IgG) قبل العلاج واستمرت بالارتفاع بعد العلاج وكانت أعلى بكثير مقارنة بمجموعة السيطرة، ووصل أعلى معدلاتها بعد العلاج عند عيارية (128). جدول رقم (8,9,10).

٥. ارتفعت عيارية جزئي المتمم (C₃ و C₄) قبل العلاج وبعده للعياريات الأربعة حيث كانت أعلى من معدلات مجموعة السيطرة، ووصل أعلى ارتفاع بعد العلاج عند عيارية 128 . جدول رقم (11,12).

المناقشة:

أظهرت نتائج هذه الدراسة ومن خلال الإصابة بطفيلي اللشمانيا الأحيائية انخفاضاً قليلاً في البروتين الكلي للعياريات الأربعة قبل العلاج، ومن التغيرات الحاصلة انخفاض نسبة الألبومين وارتفاع في نسبة الكلوبولين في كل من العياريات الأربعة وتتفق النتائج مع ما توصل إليه (Ali, et al., (1979) و (Al-Rawi, et al., (1984، حيث قد يعزى السبب إلى تلف في نسيج الكبد وتحطم خلاياه خلال تكاثر الطفيلي فيه والمعروف إن الكبد هو المسؤول عن بناء الألبومين ونقصه يعود إلى قلة تصنيعه في الكبد وإلى قلة التغذية والسبب الثاني يعود إلى فقدانه عبر الكلية نتيجة ترسب المعقدات المناعية على جدران الكلية الداخلية وحصول ضرر في تلك الجدران نتيجة تحفيز المتمم وبالتالي تسرب الألبومين عبرها إلى خارج الكلى أمل الزيادة في الكلوبولين فتراجع إلى الارتفاع في أجزائه (ألفا-1 -، ألفا-2 -، بيتا، كاما) وأعلى زيادة تكون في الكاما كلوبولين والتي بدورها تعزز قدرة المضيف على إنتاج الأضداد وهذه الزيادة هي التي تقلل من الانخفاض الحاصل في البروتين الكلي نتيجة نقص الألبومين. ولوحظ بأن أعلى نسبة للكاما كلوبولين في الأطفال المصابين كانت عند عيارية 128 وبدل ذلك على إن الاستجابة المناعية لهؤلاء الأطفال تزداد مع التقدم في شدة المرض إلا إنها في حالة عدم معالجة الإصابة تنخفض ويكون الموت نتيجة الإصابات الثانوية (Garces, et al., (1990).

ومن نتائج هذه الدراسة تبين بأن هناك ظاهرة فرط الكاما كلوبولين المناعي في مرض اللشمانيا الأحيائية ونلاحظ إن هذا يتطابق مع نتائج البروتينات (الكلوبيولينات) والسبب في فرط الكلوبولين المناعي (Hyper gama globulinemia) قد يعود إلى تحفيز الخلايا للمفاوية البائية متعددة النسائل (polyclonal B-cell) وبمساعدة الخلايا للمفاوية البائية تكون الخلايا البلازمية التي تعمل على بناء الكلوبولينات المناعية

وبالتالي الأجسام المضادة IgA, IgM, IgG (Chatterjee, et al., 1999; Neogy, et al., 1986; Reiner, 1987) ولوحظ خلال الدراسة أرتفاع الأضداد في مجموعة قبل العلاج وبعده للعتاريات الأربعة وكانت أعلى نسبة في عيارية 128. وتتفق هذه النتائج مع ما سجله :

(Al-Naimi, 1986) و (Campose-NetoodBun-Moreno, 1982)

(Anam, et al., 1999)

إن هذه الزيادة قد ترجع في أعداد الطفيليات وهذا بالتالي يؤدي إلى تحفيز عدد أكبر من الخلايا اللمفاوية البائية متعددة النسائل وبالتالي زيادة في معدلات الكلوبيولينات المناعية، واستمرت كذلك بعد العلاج حيث تبقى الخلايا اللمفاوية البائية تولد خلايا بلازمية وبالتالي الأضداد إلى فترة طويلة بعد العلاج ثم تبدأ بالانخفاض (Santos, et al., 1987) . أما الزيادة في نسبة المتمم فقد يكون باعتقادنا بسبب وجود المعقدات المناعية المدارية (Circulating Immune Complex) المتكونة نتيجة للإصابة وزيادة في إفراز الضد وتتفق النتائج مع (Carvalko, et al., 1983; Hassan, 1991).

Abstract

This study aims to know the effect of visceral leishmaniasis infection on changes in some seroimmunological changes in infected children before and after treatment and compare it with infect children from 1-2-2000 to 1-6-2000. It is clear the infection with visceral leishmaniasis makes changes in some immunological features infected children, in away that stimulates the immune system as a result of infection. The changes in Immunoglobulins and complement, rising in the Immnuoglobulins and complement C₃, C₄.

L donovani

بعض التغيرات المصلية المناعية في مصل المصابين بطفيلي اللشمانيا الأحشائية قبل العلاج وبعده في الأطفال ..
بان موحان ود . شامناز عبد القادر ود . سالم رشيد العبيدي

جدول رقم (1) كمية البروتين الكلي (غم/100 مل) في مصل الأطفال المصابين باللشمانيا الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128/1	64/1	32/1	16/1		
7.84	7.84	7.84	7.84	المعدل	السيطرة
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
0.35	0.35	0.35	0.35	الانحراف المعياري	
B**5.64	B**5.78	B**6.48	B**6.60	المعدل	قبل العلاج
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
1.37	0.37	0.41	0.38	الانحراف المعياري	
A**6.03	A**6.20	A**7.03	A**7.00	المعدل	بعد العلاج
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
1.38	0.42	0.44	0.20	الانحراف المعياري	

جدول رقم (2) كمية الألبومين (غم/100 مل) في مصل الأطفال المصابين باللشمانيا الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128/1	64/1	32/1	16/1		
4.64	4.64	4.64	4.64	المعدل	السيطرة
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
0.38	0.38	0.38	0.38	الانحراف المعياري	
B**2.32	B**2.48	B**2.95	B**3.12	المعدل	قبل العلاج
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
0.80	0.23	0.12	0.10	الانحراف المعياري	
A**2.74	A**2.87	A**3.36	A**3.76	المعدل	بعد العلاج
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
0.68	0.24	0.47	0.20	الانحراف المعياري	

- * : فروق معنوية ($p < 0.05$) بين مجموعتي قبل العلاج وبعده.
** : فروق معنوية ($p < 0.01$) بين مجموعتي قبل العلاج وبعده.
A** : فروق معنوية ($p < 0.01$) بين مجموعتي السيطرة وبعده العلاج.
B** : فروق معنوية ($p < 0.01$) بين مجموعتي السيطرة وقبل العلاج.

جدول رقم (3) كمية الكلوبيولين الكلي (غم/100مل) في مصل الأطفال المصابين باللشمانيا الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابات
128/1	64/1	32/1	16/1		
2.37	2.37	2.37	2.37	المعدل	السيطرة
+	+	+	+		+
-	-	-	-		-
0.24	0.24	0.24	0.24	الانحراف المعياري	
B 4.32	B 3.53	B 3.46	B*3.07	المعدل	قبل العلاج
+	+	+	+		+
-	-	-	-		-
0.28	0.28	0.65	0.10	الانحراف المعياري	
A 4.08	A 3.44	A*3.07	A*2.94	المعدل	بعد العلاج
+	+	+	+		+
-	-	-	-		-
0.41	0.17	0.86	0.84	الانحراف المعياري	

- * : فروق معنوية ($p < 0.05$) بين مجموعتي قبل العلاج وبعده.
- ** : فروق معنوية ($p < 0.01$) بين مجموعتي قبل العلاج وبعده.
- A : فروق معنوية ($p < 0.01$) بين مجموعتي السيطرة وبعد العلاج.
- B : فروق معنوية ($p < 0.01$) بين مجموعتي السيطرة وقبل العلاج.
- A* : فروق معنوية ($p < 0.05$) بين مجموعتي السيطرة وبعد العلاج.
- B* : فروق معنوية ($p < 0.05$) بين مجموعتي السيطرة وقبل العلاج.

L donovani

بعض التغيرات المصلية المناعية في مصل المصابين بطفيلي اللشمانيا الأحشائية
قبل العلاج وبعده في الأطفال ..
بان موحان ود . شاهناز عبد القادر ود . سالم رشيد العبيدي

جدول رقم (4) كمية ألفا -1- كلوبيولين (غم/100مل) في مصل الأطفال المصابين
باللشمانيا الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عباريات فحص الومضان المناعي غير المباشر				الإحصاء	مجاميع الإصابة
(IFAT)					
128/1	64/1	32/1	16/1		
0.34	0.34	0.34	0.34	المعدل	السيطرة
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
0.10	0.10	0.10	0.10	الانحراف المعياري	
B 0.58	B* 0.46	B 0.42	B 0.41	المعدل	قبل العلاج
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
0.04	0.26	0.53	0.31	الانحراف المعياري	
A 0.52	A 0.43	0.39	0.36	المعدل	بعد العلاج
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
0.10	0.04	0.60	0.66	الانحراف المعياري	

جدول رقم (5) كمية ألفا -2- كلوبيولين (غم/100مل) في مصل الأطفال المصابين باللشمانيا
الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عباريات فحص الومضان المناعي غير المباشر				الإحصاء	مجاميع الإصابة
(IFAT)					
128/1	64/1	32/1	16/1		
0.60	0.60	0.60	0.60	المعدل	السيطرة
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
0.12	0.12	0.12	0.12	الانحراف المعياري	
B 0.92	B 0.84	B 0.78	B 0.72	المعدل	قبل العلاج
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
0.23	0.02	0.10	0.30	الانحراف المعياري	
A 0.82	A 0.77	A 0.71	A 0.60	المعدل	بعد العلاج
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
0.20	0.26	0.41	0.24	الانحراف المعياري	

جدول رقم (6) كمية البيتا-كلوبولين (غم/100 مل) في مصل الأطفال المصابين بالشلل
الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عياريات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128/1	64/1	32/1	16/1		
0.61 + -	0.61 + -	0.61 + -	0.61 + -	المعدل + -	السيطرة
0.14	0.14	0.14	0.14	الانحراف المعياري	
B 0.82 + -	B 0.74 + -	0.69 + -	0.68 + -	المعدل + -	قبل العلاج
0.10	0.18	0.22	0.17	الانحراف المعياري	
A 0.79 + -	A 0.71 + -	0.64 + -	0.62 + -	المعدل + -	بعد العلاج
0.16	0.27	0.11	0.41	الانحراف المعياري	

جدول رقم (7) كمية الكاما-كلوبولين (غم/100 مل) في مصل الأطفال المصابين بالشلل
الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عياريات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128/1	64/1	32/1	16/1		
0.69 + -	0.69 + -	0.69 + -	0.69 + -	المعدل + -	السيطرة
0.81	0.81	0.81	0.81	الانحراف المعياري	
B 2.02 + -	B 1.65 + -	B 1.40 + -	B 1.35 + -	المعدل + -	قبل العلاج
0.92	0.86	0.97	0.97	الانحراف المعياري	
A 2.10 + -	A 1.70 + -	A 1.44 + -	A 1.40 + -	المعدل + -	بعد العلاج
0.15	0.36	0.47	0.47	الانحراف المعياري	

L donovani

بعض التغيرات المصلية المناعية في مصل المصابين بطفيلي اللشمانيا الأحشائية
قبل العلاج وبعده في الأطفال ..
بان موحد ود . شاهناز عبد القادر ود . سالم رشيد العبيدي
جدول رقم (8) عيارية الكلوبولين المناعي G (IgG) (وحدة عالمية (I.U) / مل) في مصل
الأطفال المصابين باللشمانيا الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128/1	64/1	32/1	16/1		
139.00	139.00	139.00	139.00	المعدل	السيطرة
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
3.16	3.16	3.16	3.16	الانحراف المعياري	
B**269.0	B**218.0	B**178.5	B**166.0	المعدل	قبل العلاج
0	0	0	0	+	
+	+	+	+	-	
-	-	-	-		الانحراف المعياري
4.21	3.68	3.16	3.16		
A**277.0	A**225.5	A**185.0	A**172	المعدل	بعد العلاج
0	0	0	+	+	
+	+	+	-	-	
-	-	-			الانحراف المعياري
4.21	3.68	3.16	3.16		

جدول رقم (9) عيارية الكلوبولين المتاعي M (IgM) (وحدة عالمية (I.U) / مل) في مصل
الأطفال المصابين باللشمانيا الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128/1	64/1	32/1	16/1		
133.00	133.00	133.00	133.00	المعدل	السيطرة
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
3.15	3.15	3.15	3.15	الانحراف المعياري	
B**235.00	B**187.00	B**170.00	B**144.50	المعدل	قبل العلاج
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
5.27	5.27	4.21	4.74	الانحراف المعياري	
A**245.00	A**196.00	A**178.00	A**153.00	المعدل	بعد العلاج
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
5.27	4.74	4.21	4.21	الانحراف المعياري	

جدول رقم (10) عيارية الكلوبولين المناعي A (IgA) (وحدة عالمية (I.U.) /مل) في
مصل الأطفال المصابين بالشلل الحاد قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عياريات فحص الومضان المناعي غير المباشر				الإحصاء	مجاميع الإصابة
(IFAT)					
128/1	64/1	32/1	16/1		
105.20	105.20	105.20	105.20	المعدل	السيطرة
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
4.13	4.13	4.13	4.13	الانحراف المعياري	
B**203.5	B**175.0	B**156.5	B**139.0	المعدل	قبل العلاج
0	0	0	0	+	
+	+	+	+	-	
-	-	-	-		
4.74	5.27	4.74	4.21	الانحراف المعياري	
A**209.2	A**184.5	A**165.5	A**144.1	المعدل	بعد العلاج
0	0	0	0	+	
+	+	+	+	-	
-	-	-	-		
7.05	4.74	4.74	6.31	الانحراف المعياري	

جدول رقم (11) عيارية الجزء الثالث للمتمم C₃ (ملغم / 100مل) في مصال الأطفال
المصابين بالشلل الحاد قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عياريات فحص الومضان المناعي غير المباشر				الإحصاء	مجاميع الإصابة
(IFAT)					
128/1	64/1	32/1	16/1		
176.60	176.60	176.60	176.60	المعدل	السيطرة
+	+	+	+	+	
-	-	-	-	-	
3.16	3.16	3.16	3.16	الانحراف المعياري	
B**248.8	B**224.0	B**182.0	B**178.4	المعدل	قبل العلاج
0	0	0	0	+	
+	+	+	+	-	
-	-	-	-		
3.16	3.27	2.58	3.09	الانحراف المعياري	
A**255.4	A**230.0	A**187.4	A**180.0	المعدل	بعد العلاج
0	0	0	0	+	
+	+	+	+	-	
-	-	-	-		
3.09	3.16	3.09	2.58	الانحراف المعياري	

L donovani

بعض التغيرات المصلية المناعية في مصل المصابين بطفيلي المشمانيا الأحشائية
قبل العلاج وبعده في الأطفال ..
بان موحان ود . شاهناز عبد القادر ود . سالم رشيد العبيدي

جدول رقم (12) الجزء الرابع للمتمم C₄ (ملغم / 100مل) في مصل الأطفال المصابين
بالمشمانيا الأحشائية قبل وبعد العلاج للعياريات الأربعة

عيارات فحص الومضان المناعي غير المباشر (IFAT)				الإحصاء	مجاميع الإصابة
128/1	64/1	32/1	16/1		
41.64 + -	41.64 + -	41.64 + -	41.64 + -	المعدل + -	السيطرة
1.45	1.45	1.45	1.45	الانحراف المعياري	
B**60.64 + -	B**59.96 + -	B**56.15 + -	B**47.61 + -	المعدل + -	قبل العلاج
1.34	1.56	2.58	3.28	الانحراف المعياري	
A**63.02 + -	A**62.85 + -	A**61.15 + -	A**53.06 + -	المعدل + -	بعد العلاج
2.15	2.30	2.68	2.74	الانحراف المعياري	

References

1. عبد الكريم ، بندر محمد وشعبان ، إبراهيم (1987). علم الطفيليات. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد، 122-133، 534-543
2. Ali, S.A; Jaber, M. H. and Singh, KR. Suresh (1979). Serum-protein changes in lambs given dictyocaulus Filarial vaccine. Ind. J. Anim. Sci; 49 (5): 373-376.
3. Al-Rawi, A.G.Z; Salloum, Z.Z and Salih, A. (1984). Study of serum immunoglobulin in Kala-Azar patients in Iraq. Med. J; 32: 38-43.
4. Garces, J.M; Tamos, S; Rubies, P.J; Gimeno, J.L. and Dobnic, L. (1990). Bacterial infection as a presenting manifestation of visceral leishmaniasis. Rev. Infec. Dis; 12 (3): 518-519.
5. Chatterji, M; Jaffe, cl; Sundar, S; Basu, D \; Sen, S. and Mandal, C. (1999). Diagnostic and prognostic potential of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for leishmaniasis in India. Clin. Disg. Lab. Immunol; 6 (4): 550-554 .
6. Campos-Neto, c. and Bun-Moreno, M.M. (1982). Polyclonal B-cell activator in hamsters infected with parasites of the genus Leishmania. Infect. Immune.; 38 (3): 871-876.
7. Al-Naimi; S.A. (1986). M.D thesis, Some Immunological parameters before and after treatment with "Parazianantel in patients with

- schistomsomiasis” College of Medicine, Al-Mustansiryia University in medical microbiology.
8. Anam, K; Afrin, F; Banerjee, D; Pramanik, N; Guha, Sk; Goswami, R P; Gupta, PN; Saha, SK. And Ali, N. (1999). Immunoglobulin subclass distribution and dignostic value of *leishmaniadonovani*: antigen specific immunogloblun G₃ in India Kala-azar patients. Clin. Diagn. Lab. Immunol; 6 (2): 231-235.
 9. Reiner, N.E. (1987). Parasitic-accessoty cell interaction inmurine leishmaniasis: 1: Evasion and Stimulus-depended supperssion of the macrophage: Mouse strain responses in prostanoid synthesis. AM.J. Trop. Med. Hyg; 38 (1): 59-64.
 10. Caralho, E.M; Andrews, B.S; Martinelli, R; Durta, M. and Rocha, H.(1983). Circulating immune complexes and rheumatiod Factor in shistosomiasis and visceral liechmaniasis, Am. J. Trop. Med. Hyg; 32(1): 61-68.
 11. Hassan, A.K. (1991). Additional method explaining the cause of anemia in visceral leishmaniasis. Al-Mustansiryia. J. Sci; 3(1): 71-74.
 12. Neogy, A.B; Nandy, A; Dastidar, B. G. and Chowdhury, A.B. (1986). B-Lymphocyte Population and Immunoglobulin in Indian Kala-azar in response to chemotherapy. Acta. Trop; 43: 237-244.
 13. Bora, D. (1999). Epidemiology of visceral Leishmaniasis in India. Natl. Med. J. India; 12 (2): 62-68.
 14. Marqurtd, W.C; Demaree, R. and Grieve, R.B. (2000). Parasitology vector biology. 2nd. ed. Academic press; PP: 57-71.
 15. WHO (1984). Leishmaniasis. Geneva; PP: 10-11, 16-17, 19-50.
 16. WHO (1997). Tropical disease research. Geneva; PP: 101-110.
 17. WHO (1998). Leishmania and HIV in Gridlok: Rep;; 5-9.

دراسة كفاءة الطعوم الفطرية للفطريات المعزولة من الصرصر الأمريكي
Periplaneta americana (L.) — (Dictyoptera: Blattidae) في مقاومته حياتياً

مهند خلف محمد أمين و ا.م.د. صلاح مهدي البدر وعلاء صبيح جبار
 كلية العلوم - جامعة البصرة - قسم علوم الحياة - بغداد - العراق
 كلية الزراعة - جامعة البصرة - قسم وقاية النبات - بغداد - العراق

((الملخص))

تم عزل اربعة عشر فطرا" من الاطوار المختلفة لحشرة الصرصر الأمريكي
Periplaneta americana وذلك من الحشرات الميتة والتي ظهرت عليها علامات
 مرضية وتعود الفطريات المعزولة الى الاجناس *Aspergillus* و *Fusarium* و *Mucor*
 و *Paecilomyces* و *Penicillium* و *Scopiolariopsis* و *Myceliophthora*
 و *Geotrichum* و *Chaetomium* و *Rhizopus* .
 وكانت الفطريات *A. flavus* و *A. restrictus* و *C. hispanicum*
 و *Fusarium sp.* و *P. variotii* و *M. ferrugosa* و *S. flava* ذات معدلات قتل
 عالية عند اختبار القدرة الامراضية لها بطريقة الطعوم الفطرية ، كما زادت معدلات القتل
 للحشرات عند خلط الطعوم بمسحوق الزجاج ، وقد حلت النتائج احصائيا" باستخدام اختبار
 ANOVA و اظهرت فروقات معنوية .

Abstract

Fourteen fungi were isolated from different stages, which died or showing pathogenic symptoms of American cockroach Insect *Periplaneta americana*(L.). These were assigned to the genera: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Chaetomium*, *Mucor*, *Myceliophthora*, *Scopiolariopsis*, *Geotrichum* and *Rhizopus*. The pathogenic test by using fungal baits showed that: *A. flavus*, *A. restrictus*, *P. variotii*, *Fusarium sp.*, *F. hispanicum*, *M. ferrugosa* and *S. flava* high mortality, and when mixed the fungal baits with glass crystals led to increase of the mortality, all results are analysis by ANOVA test.

((المقدمة))

تعد الصراصير من الحشرات العالمية الانتشار (Stenbrink ، 1987) وهي من الحشرات المزعجة للإنسان والملوثة لغذائه وتمثل آفة حشرية عند زيادة اعدادها بسبب رداءة الظروف الصحية (Cornwell ، 1968) كما انها تنقل العديد من الممرضات للإنسان (Willis , Roth , 1957 . Cloarec ، 1992)

ودرس الفطريات المصاحبة للصراصير اذ عزل Verret وجماعته (1987) نوع جديد من خميرة الـ *Candida* من حشرة الصراصير الأمريكية كما عزل Fateder وجماعته (1992) عدة انواع تابعة للانجاس *Candida* و *Mucor* و *Al ternaria* و *Aspergillus* من حشرة الصراصير الالمانى ، ان استخدام الفطريات المصاحبة للحشرات في مكافحة الحيوية لها يلقى اهتماماً متزايداً في مختلف دول العالم كما في مكافحة من الحنطة والجراد الصحراوي (Wang و Knudsen 1993 ; Koogmar , Godonou 1993)

وفي العراق سبق وان درست الفطريات المصاحبة لبعض الحشرات وامكانية استعمالها في مكافحة الحيوية وهي حشرات الذباب المنزلي ودودة البنجر السكري وحشرة الارض (خلف وجماعته ، 1995 و عيلان وجماعته ، 1997 ومنصور وجماعته ، 1998) اما حشرة الصراصير الأمريكية فالدراسات حولها محدودة في العالم وتعد هذه الدراسة الاولى في القطر لعزل الفطريات المصاحبة للحشرة وبيان كفاءة طعومها في مكافحة الحيوية .

طرائق العمل

جمعت 1500 من حوريات وبالغات الصراصير الأمريكية الميته والتي شوهدت عليها مظاهر الاصابة بالحركة البطيئة وقصر وتعرج قرون الاستشعار وعدم انتظام او تساوي الاجنحة Archbold وجماعته (1986) من اربعة مواقع منتخبة في مدينة البصرة ، تم غسل نصف الحشرات بالماء المقطر المعقم ثم غُيم سطحها بهايوكلورات الصوديوم بتركيز 10% لمدة خمسة دقائق ثم جففت على ورق ترشيح No.1 معقم بعدها قطعت الحشرات (المعقمة وغير المعقمة) الى ثلاث قطع للحشرة الواحدة وزعت كل سنة قطع في طبق بتري زجاجي قطره (9 سم) حاوي على الوسط الزراعي Potato Dextros agar المعقم مضافاً له المضاد الحيوي Chloramphenicol بتركيز 100 ملغم/لتر حضنت الاطباق

دراسة كفاءة الطعوم الفطرية للفطريات المعزولة من الصرصر الأمريكي (*L. Periplaneta americana*) في مقاومته حياتياً
(Dictyoptera: Blattidae)

مهند خلف محمد امين و ا.م.د. صلاح مهدي البدر وعلاء صبيح جبار

نسبة القتل التي 93.3% في معاملة الفطر *A. restrictus* . بعد مرور اسبوعين من المعاملة تلتها معاملة الفطريات *A. niger* و *A. flavus* .
و *C. hispanicum* . اذ اصيحت 86.6% ولجميع المعاملات المذكورة وكما موضحة في الشكل (2) وان اقل نسبة قتل كانت في معاملة الفطر *Rhizopus sp.* والذي لم يختلف معنوياً عن معاملة المقارنة . اما بالنسبة لتأثير الطعوم في حوريات الطور السادس فقد بينت النتائج الموضحة في الشكل (3) تفوق الفطر *A. restrictus* معنوياً عن باقي المعاملات اذ بلغ معدل نسبة القتل له 63.3% وتلتها الفطريات *A. flavus* و *M. ferggusa* و *Myceiophthora* و *S. flava* . اذ كان معدل نسبة القتل لهم 56.6% وكان معدل نسبة القتل 53.3% في معاملة الفطريات *A. niger* و *C. hispanicum* .
و *Fusarium sp.* وسجل اقل معدل نسبة قتل في معاملة الفطر *Rhizopus sp.* اذ كانت 10% . كما اظهرت النتائج المبينة في الشكل (3) تفوق الفطر *A. restrictus* عند اختبار تأثير الطعوم على البالغات معنوياً عن باقي المعاملات اذ بلغ معدل نسبة القتل له 56.6% تلاه الفطر *Paecilomyces variotii* اذ بلغ معدل نسبة القتل له 53.3% تلتها معاملة الفطريات *A. flavus* و *A. niger* و *C. hispanicum* و *M. ferggusa* اذ كان معدل نسبة القتل 46.6% ولجميع المعاملات وكان اقل معدل نسبة قتل جراء المعاملة بالفطر *Rhizopus sp.* اذ كانت 6.6% الذي لم يفرق معنوياً عن معاملة المقارنة . وعند خلط الطعوم الفطرية بمسحوق الزجاج اظهرت معاملة الفطرين *A. flavus* و *A. restrictus* و كما موضحة في الشكل (4) اعلى معدلات نسب قتل لحوريات الطور السادس ، اذ بلغت 90% و 86.6% على التوالي واختلفت بفروق عالية معنوية عن بقية المعاملات تلتها طعوم الفطريات *C. hispanicum* و *M. hemalis* و *M. ferggusa* و *P. variotii* اذ بلغ معدل نسبة القتل 76.6% ولكل منهم ، بينما كان اقل معدل نسبة قتل في معاملة الفطرين *A. niger* و *G. candidum* . اذ بلغ 66.6% لكليهما واختلفت بفروق عالية معنوية عن معاملي المقارنة . اما في تجربة البالغات فقد بينت النتائج ان اعلى معدل نسبة قتل كان في معاملة الفطرين *A. niger* و *A. restrictus* .
و *M. hemalis* اذ بلغ معدل نسبة القتل لهما 66.6% وان اقل معدل نسبة قتل لوحظت في معاملة الفطر *G. candidum* اذ بلغت 53.3% واختلفت بفروق عالية معنوية عن معاملي المقارنة .

المناقشة

ان بيئة الصرصر الأمريكي غنية بغازات ثاني اوكسيد الكربون والميثان والامونيا (Cano , Colom , 1986) اذ تعمل هذه الغازات على اجهاد الفطريات في هذه البيئة وان تسجيل خمسة انواع للفطر *Aspergillus* يدل على قابلية هذا الجنس على تحمل الاجهاد البيئي فضلا عن كفاءة النشاط الانزيمي الخارج خلوي لانواعه المعزولة من البيئة المحيطة بالحشرات او من اجسام الحشرات نفسيا (Muhsin و Al-Hadi , 2000 و Abdullah Al - Bader , 1998 و Ameen وجماعته 1998)

بينت الدراسة حساسية الطور الاول الشديدة لفعل الطعوم الفطرية وهذا متأني من قلة الخلايا الدفاعية والمناعية في جسم الحشرة مقارنة بالاطوار المتقدمة اذ اشار Wheeler (1963) ان عدد الخلايا المناعية يزداد بتقدم العمر وعند حسابها في حوريات الصرصر الأمريكي كان عددها 15 مليون خلية وعند تحول الحشرة من الحورية الى البالغة اصبح عددها 22 مليون خلية . فضلا عن الزيادة في الطبقة الدهنية الحشوية الموجودة حول القفاة الیضمية في الاطوار المتقدمة اذ تعمل هذه الدهون على عرقلة نمو وتطور الفطريات الى داخل جسم الحشرة ، اذ وجد (Ten , 1978 , Smith , Guala , 1982 , Siato , Aoki , 1983) ان الدهون تلعب دورا " كبيرا" في تثبيط نمو الفطريات داخل جسم الحشرة وان الاحماض الدهنية ذات السلاسل القصيرة (C6 - C12) هي المسؤولة عن عملية التثبيط .

كما اظهرت النتائج اختلاف تأثير الفطريات على الحشرة وهذا قد يعود لاختلاف القابلية الانزيمية الخارج خلوية للفطريات التي لها دور مهم في عملية الاحتراق اذ اشار Samson وجماعته (1988) ان كمية الانزيم ونوعيته وتزامن افرازه مهم جدا" في عملية الاحتراق واحداث الاصابة في الحشرات .

وقد تعود قابلية الفطر *A. restrictus* في قتل اعداد كبيرة من الحشرات باختلاف اطوارها إلى نشاطه المميز في افراز انزيم البروتيز والكاييتيز واللايبيز (Ameen وجماعته ، 1998) ، اما ضعف الفطر *Rhizopus sp.* في احداث اصابة في الحشرات قد يعود الى ضعف النشاط الانزيمي للفطر في افراز انزيم البروتيز والكاييتيز واللايبيز (Ameen وجماعته ، 1998) .

دراسة كفاءة الطعوم الفطرية للفطريات المعزولة من الصرصر الأمريكي (*Periplaneta americana* (L.)) في مقاومته حياتياً (Dictyoptera: Blattidae)

سهند خلف محمد امين و اوم د. م. د. صلاح مهدي البدر وعلاء صبيح جبار

ان ارتفاع معدلات القتل للحشرات عند خلط مسحوق الزجاج مع الطعوم يعود الى احداث جروح وشقوق في الغشاء الحول الغذائي Peritrophic membrane وجدار القناة الهضمية الوسطى Mide gut wall والتي تسهل دخول الفطر داخل جسم الحشرة كما تسهل نفاذ الافرازات الى داخل جسم الحشرة ايضا" (1997 , Fargues , Vey) .

المصادر العربية

1. خلف ، جنان مالك وديوان ، مجيد متعب (1995) المقاومة الحيوية للذباب المنزلي *Musca domestica* (Muscidae : Diptera) باستعمال بعض انواع الفطريات . رسالة ماجستير - كلية الزراعة - جامعة البصرة ، 80 صفحة .
2. عيلان ، عبد الحميد مالك وديوان ، مجيد متعب (1997) المقاومة الحيوية لدودة البنجر السكري *Spodoptera exigna* (Noctuidae : Lipedoptera) بأستعمال بعض انواع الفطريات ، رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة ، 82 صفحة .
3. منصور ، زينب فاضل وعبدالله ، سمير خلف وحسن ، كاظم صالح (1999) المجموعة الفطرية المصاحبة لنوعين من حشرة الارضة واستخدام بعض انواعها في السيطرة الحيوية ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة البصرة ، 93 صفحة .

المصادر الانكليزية

1. Abdullah , S. K., and Al-Bader S.M (1990) . On the thermophilic and thermotolerant mycoflora of Iraq soils
2. Ameen, M.K ; A bdul-Jabbar , A.S.,and Al-Bader, S.M. (1998) Astudy on the biological control efficiency of fungi isolated from the American cockroach *Periplaneta americana*(L.)(Dictyopera: Blattidae).M.Sc.thesis , Basrah , Uniniversity , 85 pp.
3. Archbold , E . f., Rust , M.K ; Reievson D.A. and Atkinson ,K.D., (1986) Charactrization of a yeast infection In the american cockroach (Dictyoptera : Blattidae). Environ .Entomol ., 15:221 – 226 .
4. Bateman, R.P.(1997) . Development of a ycoinsecticide for Conro of locusts and grasshoppers . out look on Agriculture 26 (1) : 13 – 18 .
5. Cloares,A.Rivanlt , C .; Fontaine. F.and Leguyader, A. (1992) Cockroach as carriers of bacteria in multi : family dwellings ,Epiderniolinfect , 109(3): 489 – 490 (abstra) .
6. Colome,J.S.and Cano,R.J.(1986) . Microbiology , West Puplshing company , U.S.A. Chop . 33 , 888pp .

7. Cornwell.P.B.(1968)The Cockroach , Volum I .Hutchinson ,London , Anchor press , 391 p.
8. Fatedar,R.;Benerjee,U.andShinwas,U.B.(1992). Nosocomial Fungal infection study of Possiblerole of cockroach (Blattodea germanica) as Vactors . Acta – Trop . 50(4) : 339 – 343 .
9. Kooymar,C.and Godonou,I.(1997) Infection of Schistocerca gregaria (Orthoptera : Acrididae) and grass hoppers by Metarhizium flavoveride (Deutromycotina : Hyphomycets) Conidia in an oil formulation applied under desert condition .Bulletin Ento.Res. 87 . 105 – 107 .
10. Moor , D. and Caudwell . R.W.(1997) .Formulation of Entomopathogens for control of gross hoppers and locusts , The Entomological Society of Canda 173 : 400 pp .
11. Muhsin,T.M.and Al-Hadi:,R.B.(2000).Astudy on the fungi In sewage habitats of Basrah. M.Sc. thesis , Basrah Un . 75 pp.
12. Noland,J.L.;Lilly,J.H.&Baamaum,C.A.(1949).Alabratory Methods for rearing cockroachs and its application to dictary Studies on the German roach . Ann. Entomol.Soc.Am.42 : 154 – 164 (c.f.Pritom sigh , 1969) .
13. Prior,C.(1997).Susceptibility of carget acridoids and non - target organisms to Metarhizzium anisoplea and M .flavoveride Inver . Path . 20 : 115 – 117 .
14. Roth,L.M.and Willis,E.R.(1957).The medical and veterinary important of cockroach . Smithsonian Misc. Collect.134(10): 1 – 147 (c.f.cornwell , P, B . 1968) .
15. Samson, A. R.; Evans,. & Latge ,J . (1988). Atlas of entomopathogenic fungi.Printed in the Netherland ,NewYork , 187P .
16. Siato,T. and Aoki,J.(1983).Toxicity of free fatly acids on the Larval surface of two lepidopterous insects towards Beauveria bassiana and Paecilomyces fumosovoseus (Deutromycotina: Monilias) APP,Ent.zool. 12 : 225 – 233 .
17. Smith,R.J.and Grula,E,A.(1982).Toxic Components on the larval Surface of the corn earworm (Heliothis zea) and their of effects on germination of Beauveria bassiana .J.Inve.Path.39:15:23.
18. Stein brink, H. (1987). Occurrence distribution and control at Cockroachs in the Eadt German distirict Rotock. Angew Parasitol 28(1) : 8 – 53 .
19. Ten,J.S.(1987).Toxicity of short – chain fatty acids and alcohols Towards Cladesporium resiniae App.Microbial 82:840-844 .

مهند خلف محمد امين و ا.م.د. صلاح مهدي البدر وعلاء صبيح جبار

20. Verrett, J M., Gree, KB.; Gamble, LM. and Crochen, FC (1987). Ahemocolic Candida parasite of the american cockroach (Dictyoptera : Blattidea) J, E.on: Ent.80 : 1205 – 1212 .
21. Vey, A. and fargues, J.(1997) .Histological and Ultera structural Studies of Beauveria bassina infection in Leptinotarsa decemlineata larvae during ecodysis .J.Inve.Path.31:207-215cf .
22. Wang, ZG. and Knudsen, GR.(1993).effect of Beauveria bassiana (fungi : Hyphomycetes) on fecundity of the Russian wheat aphid (Homoptera : Aphididea). Environ.Ent.22:874- 878.
23. Wheeler ,R.E.(1963).studies on the total haemocytes count and haemolymph volume in Periplaneta americana(L.) with special refereuce to the last molting cycle.J.Insect.Physiol 9:223-235 .

تأثير مستخلص اوراق السدر في زيادة العمر التسويقي لبعض ثمار الفواكه والخضر

احمد صالح ساجت، سعود رشيد العاني، مهدي ضمد القيسي واوس هلال العاني
دائرة البحوث الزراعية والبايولوجية، ص.ب. ٧٦٥، بغداد - العراق

Abstract

Active substances in ziziphus tree leaves (Flavonoids) were extracted by distilled water at 80°C for 40 min. with two concentration (5 and 10% of ziziphus leaves). Some types of fruits and vegetables (tomato, cucumber, yellow fig, table grape and apricot) were treated with ziziphus leaves extract by dipping method for 5 min. and stored at room temp. and refrigerator in order to extend shelf life of these fruits and vegetables. Results showed that ziziphus leaves extract (10%) was more active in reducing total count of bacteria than chemical treatment of 200 ppm chlorine and control treatment, also results shows that conc. 5% and 10% ziziphus leaves extract have the same effect of chlorine treatment in reduction total count of mold than control treatment.

الخلاصة

استخلصت المادة الفعالة في اوراق شجرة السدر (المركبات الفلافونويدية الحرة) باستعمال الماء المقطر وعلى درجة حرارة 80 م/40 دقيقة، حيث حضرت المستخلصات المائية بتركيزين هما 5 و 10% اوراق سدر جافة.

عوملت بعض انواع الفواكه والخضر وهي (الطماطة، خيار الماء، تين اصفر، عنب حلواني و المشمش) مع المستخلصات المائية لاوراق السدر بطريقة الغمر لمدة ٥ دقائق ثم الخزن بدرجة حرارة الغرفة ودرجة حرارة التلاجة بهدف اطالة العمر التسويقي لهذه الفواكه والخضر بالمقارنة مع المعاملة بالكلورين ppm 200/5 دقيقة.

بينت النتائج المتحصل عليها ان مستخلصات اوراق السدر لها فعالية جيدة في خفض العدد الكلي للبكتريا وتأخير تلف الثمار وبالأخص المعاملة بتركيز 10% اوراق سدر والتي كانت اكثر فعالية من المعاملة الكيماوية بمحلول الكلورين ppm 200. كما اظهرت النتائج ان مستخلصات اوراق السدر 5 و 10% كانت لها نفس كفاءة محلول الكلورين ppm 200 في خفض العدد الكلي للاعفان بالمقارنة مع معاملة السيطرة.

المقدمة:

تعد الفواكه والخضر الطازجة من المواد الغذائية سريعة التلف نتيجة لما تتعرض له من اصابة بالاحياء المجهرية والحشرات سواء في الحقل او اثناء التداول بالأسواق (الكوري، 2000) لذا يلجأ المزارعون والباعة الى غسل هذه الفواكه والخضر بالماء لتقليل الملوثات التي تصيبها وايصالها طازجة وسليمة للمستهلك. لقد وجد ان هذا ليس كافياً لحماية هذه المواد الغذائية من التلف السريع لذا وجدت بعض الطرق الاخرى منها معاملة الفواكه والخضر ببعض المواد الكيماوية المعقمة مثل الكلورين وبرمكنات البوتاسيوم، ولا يخلو استعمال هذه الكيماويات من بعض الاثار الجانبية غير المرغوبة (Simmons, et al., 1997)، ان الاتجاه العالمي في الوقت الحاضر هو العودة الى المواد الطبيعية لتلافي اضرار المواد الكيماوية، ومن هذه المواد الطبيعية هي الفلافونويدات (Flavonoids) وهي عبارة عن مركبات متعددة الفينول تدوب بالماء ويكثر وجودها في الاجزاء النباتية كالثمار والاوراق والجذور ولها نشاطات فسيولوجية متعددة منها عملها كمضادات للفطريات والبكتريا والفيروسات (الكوري، 2000). يهدف البحث الى ايجاد مصدر طبيعي متوفر ورخيص يحتوي على هذه المركبات الفلافونويدية وقد تم اختيار اوراق شجرة السدر كمصدر لها ((Nawwar et al., 1984 حيث تعد شجرة السدر من الاشجار متعددة الاغراض وواسعة الانتشار في القطر.

المواد وطرائق العمل

1. المواد الكيماوية
 - 1-1 محلول هايپوكلورات الصوديوم (الكلورين) تركيز 30% منتج من شركة حريز السدة ومنه حضر المحلول المستعمل في البحث 200 ppm .
 - 1-2 الوسط الزراعي Nutrient agar لحساب العدد الكلي للبكتريا منتج من شركة Biolife الايطالية.
 - 1-3 الوسط الزراعي Potato dextrose agar لحساب العدد الكلي للاعفان منتج من شركة Biolife الايطالية .
2. اوراق السدر
جمعت اوراق السدر من اشجار معمرة (اكثر من 10 سنوات) من منطقة المدائن في بغداد ، حيث جرى تجفيف اوراق السدر بالمجفف الكهربائي على درجة حرارة 40-45 م° ثم طحنت الاوراق الجافة واعدت بشكل مسحوق وذلك لكون التجفيف يزيد من حصيله المستخلص (Wollenweber, 1972) .

3. نماذج الفواكه والخضراوات

انتخبت بعض انواع الفواكه والخضروات المتوفرة باحدى المزارع حول بغداد خلال فترة اجراء البحث (شهر حزيران) وهي الطماطة *Lycopersicon esculentum* ، خيار الماء *Cucumis sativas*، تين اصفر *Ficus carica* عنب حلواني *Vitis vinifera* والمشمش *Prunus armeniaca* وكانت كل عينات البحث (عمر يوم واحد) وموزعة على مرحلتين نضج هما النضج البستاني ومرحلة ما فوق النضج، علماً ان حجم العينة بلغ 1.5 كغم وبمعدل ثلاث مكررات.

4. استخلاص المادة الفعالة لاوراق السدر:-

استعمل الماء المقطر للحصول على المادة الفعالة من اوراق السدر وهي عبارة عن مواد كليكوسيدية وفلافونويدات متعددة الهيدروكسيل تم التعرف عليها من قبل (الكوري ، 2000)، وقد استعملت اوراق السدر الجافة بتركيزين هما 5 و 10% حيث اضيفت الاوراق للماء المقطر وسخنت في حمام مائي على درجة حرارة 80 م° / 40 دقيقة، ثم رشحت المستخلصات المائية للتخلص من بقايا الاوراق باستخدام طبقتين من قماش النايلون والقطن (Pratt, 1972). جرى معاملة الفواكه والخضر بمستخلص اوراق السدر بطريقة الغمر لمدة ٥ دقائق يتبعها تنشيف الفواكه والخضر بالمناديل الورقية ووضعها داخل اكياس بولي اثيلين سعة 1كغم متقبة (8 تقوب)، ثم خزنت المعاملات في جو الغرفة وجو الثلجة. جرى تقدير العدد الكلي للبكتريا والعدد الكلي للاعفان لمعاملات الفواكه والخضر الطازجة بالمستخلصات المائية لاوراق السدر ومقارنتها بمعاملة الغمر بمحلول الكلورين 200 ppm لمدة 2 دقيقة وكذلك المقارنة مع معاملة السيطرة (غسل بماء الاسالة) (Wallenweber, 1972).

5. حساب العدد الكلي للبكتريا بطريقة الفحص المجهرى Direct microscopic والعدد الكلي للاعفان بطريقة العد المباشر باستعمال Hemacytometer وصبغة Trypane bleu (الشيخلي، 1970).

6. تم تحليل النتائج باتباع تصميم التجربة العاملية وقورنت المعدلات حسب اختبار (Duncan, 1957).

النتائج والمناقشة

درس تأثير المادة الفعالة في المستخلص المائي لأوراق السدر ضد الأحياء المجهرية المسؤولة عن تلف الأغذية الطازجة، ومنها الفواكه والخضر، ويبين جدول (1) تأثير مستخلصات أوراق السدر في خفض العدد الكلي للبكتريا للنماذج المعاملة بها مقارنة مع المعاملة الكيماوية المألوفة وهي الغسل بالكلورين وكذلك المقارنة مع معاملة السيطرة وهي الغسل بماء

الاسالة حيث اظهرت النتائج ان معاملة الفواكه والخضر بمستخلص 5% اوراق سدر اظهرت وجود فروق معنوية مع معاملة السيطرة ولكنها لا تختلف معنوية مع معاملة الكلورين 200ppm لمدة 2 دقيقة، اما مستخلص 10% اوراق سدر فكان له تأثير معنوي مع كل من معاملة السيطرة ومعاملة الكلورين خلال مدة الخزن البالغة 12 يوم، اذ لوحظ ان الغمر بمستخلص 5% اوراق سدر كان ذو تأثير مشابه لتأثير معاملة الكلورين في خفض العدد الكلي للبكتريا لجميع المعاملات وكما لاحظ ذلك ايضا (Naim, et al., 1976) و (Beuchat and Brackett, 1990).

وعند دراسة تأثير مستخلصات اوراق السدر على العدد الكلي للاعفان في معاملات الفواكه والخضر المعاملة بها، اظهرت النتائج في جدول (2) ان مستخلصات اوراق السدر والمعاملة بالكلورين كانت جميعها متفوقة وبفروق معنوية مقارنة مع معاملة السيطرة، كما وجد ان مستخلصات اوراق السدر ذات فروق غير معنوية عند مقارنتها مع معاملة الكلورين ppm 200/2 دقيقة في تأثيرها على العدد الكلي للاعفان في معاملات الفواكه والخضر، فقد بين (Naim, et al. 1974) ان المركبات الفلافونودية تمتلك خصائص مضادة للاعفان ويمكن استعمالها في حفظ الاغذية، و امكن زيادة العمر التسويقي للفواكه والخضر بنوعيتها الطازجة والمتقدمة بالنضج وذلك بأخضاع النماذج لعملية الغمر بمستخلصات اوراق السدر بالتركيز 5 و 10% مع اجراء الخزن في جو الغرفة والثلاجة.

بالنسبة للنماذج متقدمة النضج يظهر في جدول (3) ما يلي:

أ. وجود فروق معنوية عند مستوى $P < 0.05$ بين ظروف الخزن في جو الغرفة ودرجة حرارة الثلاجة لجميع المعاملات، وهذا عائد الى انخفاض نشاط الانزيمات الموجودة داخل الثمار عند خزن الثمار بالثلاجة مما ساعد على زيادة العمر التسويقي للثمار متقدمة النضج بحدود 3 يوم، بينما بلغت الزيادة بالعمر التسويقي عند الخزن بجو الغرفة 1-2 يوم والذي يعزى لنشاط الانزيمات المذكورة التي غطت على مفعول مستخلصات اوراق السدر، وهذا يتفق مع ما ذكره (Sapers, 1994) في اثر حرارة الخزن على نوعيه ثمار الفطر. لدى دراسة عن الاستمرار الانزيمي في الفطر الغذائي المصنع.

٢. وجود فروق معنوية عند مستوى $P < 0.05$ بين معاملة السيطرة وبقية المعاملات، كذلك فيما بين معاملة اوراق السدر 10% ومعاملة الكلورين 200 ppm / 2 دقيقة، بينما لم تكن هناك فروق معنوية بين معاملة 5% اوراق سدر ومعاملة الكلورين. يتضح ان استعمال تركيز 10% اوراق سدر كان اكفاً من معاملات السيطرة والكلورين نتيجة زيادة تركيز المادة الفعالة الذائبة بالماء وبالتالي تحقيق قابلية حفظ افضل لانواع الثمار المعاملة بها (Nawwar, et al. 1984) و (Zhuang, et al. 1995).

وعند دراسة اطالة العمر التسويقي للفواكه والخضر الطازجة يبين جدول (4) ان المعاملات المخزونة بدرجة حرارة الثلجة تميزت بكفاءة خزنية افضل من مثيلاتها المخزونة بدرجة حرارة الغرفة، ويتضح ذلك من التحليل الاحصائي الذي يشير الى وجود فروق معنوية بين ظروف الخزن، ويعزى ذلك الى السيطرة على نشاط الانزيمات المحللة الموجودة داخل انسجة الفواكه والخضر (Nawwar, et al. 1984) و (Zhuang, et al. 1995). كما يشير التحليل الاحصائي لنتائج اطالة العمر التسويقي الى وجود فروق معنوية عند مستوى $P < 0.05$ بين معاملات اوراق السدر والكلورين وبين معاملة السيطرة، وكذلك وجود فروق معنوية بين معاملة 10% اوراق السدر وبين معاملة الكلورين مما يؤكد النتائج المتحصل عليها في جدول (3) على الثمار المتقدمة بالنضج، اما الفروقات المتحققة بالعمر التسويقي بين التركيز 5% اوراق سدر وبين معاملة الكلورين كانت غير معنوية . ان الزيادة بالعمر التسويقي للفواكه والخضر المعاملة بمستخلصات اوراق السدر كانت افضل من معاملة الكلورين 200 ppm لمدة 2 دقيقة وهذا يعود الى احتواء اوراق السدر على الفلافونيدات الكلايكوسيدية الذائبة بالماء والتي تمتلك خصائص سمية تجاه الفيروسات والبكتريا والفطريات (Naim, et al. 1976) و (الكوري، 2000).

التوصية

نظراً لأحتواء اوراق السدر على بعض المواد المنظمة مثل السابونين وكذلك وجود العديد من الفلافونويدات الفعالة تجاه الاحياء المجهرية المختلفة كما بينت الدراسات السابقة نوصي بأرشاد باعة الفواكه والخضر وكذلك ربوات البيوت بأستعمال المستخلص الملئي لأوراق شجرة السدر (تركيز 10%) في غسل وتعقيم الثمار بدلاً من استعمال الماء الجاري لوحده او استعمال المواد الكيماوية مثل الكلورين والبرمنكنات نتيجة عدم خلو هذه الكيماويات من بعض الاثار الجانبية على الصحة العامة اضافة لأرتفاع ثمنها.

تأثير مستخلص اوراق السدر في زيادة العمر التسويقي لبعض ثمار الفواكه والخضر

احمد صالح ساجت، سعود رشيد العاني، مهدي ضمد القيسي، اوس هلال العاني

جدول (1): تأثير المعاملة بمستخلصات اوراق السدر على العدد الكلي للبكتريا للفواكه والخضر المشمولة بالدراسة بمرحلة النضج البستاني عند الحضان على درجة حرارة 37 م° / 48 ساعة

النماذج (عمر يوم واحد)	المعاملة	العدد الكلي للبكتريا (خلية/غم) اثناء مدة الخزن البالغة 12 يوم*		
		صفر يوم	6 يوم	12 يوم
طماطة	معاملة سيطرة (ماء اسالة) الغمر بمحلول 5% سدر لمدة 5 دقائق الغمر بمحلول 10% سدر لمدة 5 دقائق الغمر بمحلول الكلورين 200 ppm لمدة 2 دقيقة	a ٨ ١.٠٠٦	a ٩ ١.٠٠٣	a ١٠ ١.٠٠٢
		b ٤ ١.٠٠٢	b ٦ ١.٠٠٦	b ٨ ١.٠٠٤
		c ٣ ١.٠٠١,٥	c ٥ ١.٠٠٧	c ٧ ١.٠٠٦
		b ٤ ١.٠٠٥	b ٦ ١.٠٠١,٥	c ٧ ١.٠٠٣
خيار ماء	معاملة سيطرة (ماء اسالة) الغمر بمحلول 5% سدر لمدة 5 دقائق الغمر بمحلول 10% سدر لمدة 5 دقائق الغمر بمحلول الكلورين 200 ppm لمدة 2 دقيقة	a ٧ ١.٠٠٤	a ٧ ١.٠٠٨	a ٨ ١.٠٠٣
		b ٥ ١.٠٠٦	b ٥ ١.٠٠٩	b ٦ ١.٠٠٣
		c ٣ ١.٠٠٨	c ٤ ١.٠٠٥	c ٤ ١.٠٠٨
		b ٥ ١.٠٠٥	b ٦ ١.٠٠٢	b ٦ ١.٠٠٧
تين اصفر	معاملة سيطرة (ماء اسالة) الغمر بمحلول 5% سدر لمدة 5 دقائق الغمر بمحلول 10% سدر لمدة 5 دقائق الغمر بمحلول الكلورين 200 ppm لمدة 2 دقيقة	a ٩ ١.٠٠٣	a ٩ ١.٠٠٨	a ١٠ ١.٠٠٦
		b ٥ ١.٠٠٤	b ٦ ١.٠٠٧	b ٧ ١.٠٠٣
		c ٤ ١.٠٠٢	c ٥ ١.٠٠٤	c ٥ ١.٠٠١,٥
		b ٥ ١.٠٠٣	b ٦ ١.٠٠٣	b ٧ ١.٠٠٥
عنب حلواتي	معاملة سيطرة (ماء اسالة) الغمر بمحلول 5% سدر لمدة 5 دقائق الغمر بمحلول 10% سدر لمدة 5 دقائق الغمر بمحلول الكلورين 200 ppm لمدة 2 دقيقة	a ٩ ١.٠٠٧	a ٩ ١.٠٠٦	a ١٠ ١.٠٠٤
		b ٤ ١.٠٠٦	b ٥ ١.٠٠٨	b ٦ ١.٠٠٢
		c ٣ ١.٠٠٤	c ٤ ١.٠٠٢,٥	c ٥ ١.٠٠٧
		b ٤ ١.٠٠١,٢	b ٥ ١.٠٠٩	b ٦ ١.٠٠٤
مشمش	معاملة سيطرة (ماء اسالة) الغمر بمحلول 5,٠% سدر لمدة 5 دقائق الغمر بمحلول 10% سدر لمدة 5 دقائق الغمر بمحلول الكلورين 200 ppm لمدة 2 دقيقة	a ٧ ١.٠٠٨	a ٨ ١.٠٠٦	a ٩ ١.٠٠٢
		b ٤ ١.٠٠٦	b ٥ ١.٠٠٥	b ٧ ١.٠٠١,٥
		c ٣ ١.٠٠٧	c ٤ ١.٠٠٤	c ٦ ١.٠٠٢
		b ٤ ١.٠٠٤	b ٥ ١.٠٠١,٥	b ٧ ١.٠٠٣

* المتوسطات الحسابية للعدد الكلي للبكتريا على اساس ثلاث مكررات متبوعة باحرف مختلفة

تشير للفروق المعنوية عند مستوى $p < 0.05$ حسب اختيار (Dunan 1957)

جدول (2) : تأثير المعاملة بمستخلصات اوراق السدر على العدد الكلي للاعفان للفواكه والخضر المشمولة بالدراسة بمرحلة النضج البستاني عند الحضان على درجة حرارة 28 م° لمدة 7 يوم.

النماذج (عمر يوم واحد)	المعاملة	العدد الكلي للاعفان * مستعمرة /غم
طماطة	معاملة سيطرة (ماء اسالة) الغمر بمحلول ٥% سدر لمدة ٥ دقائق الغمر بمحلول ١٠% سدر لمدة ٥ دقائق الغمر بمحلول الكلورين ٢٠٠ppm لمدة ٢ دقيقة	a ٤ ١٠.٧ b ٣ ١٠.٧,٥ b ٣ ١٠.٦,٨ b ٣ ١٠.٥,٦
خيار ماء	معاملة سيطرة (ماء اسالة) الغمر بمحلول ٥% سدر لمدة ٥ دقائق الغمر بمحلول ١٠% سدر لمدة ٥ دقائق الغمر بمحلول الكلورين ٢٠٠ppm لمدة ٢ دقيقة	a ٤ ١٠.٦,٥ b ٣ ١٠.٦ b ٣ ١٠.٥,٥ b ٣ ١٠.٥,٢
تين اصفر	معاملة سيطرة (ماء اسالة) الغمر بمحلول ٥% سدر لمدة ٥ دقائق الغمر بمحلول ١٠% سدر لمدة ٥ دقائق الغمر بمحلول الكلورين ٢٠٠ppm لمدة ٢ دقيقة	a ٤ ١٠.٩ b ٤ ١٠.١,٢ b ٣ ١٠.٩ b ٣ ١٠.٧,٢
عنب حلواني	معاملة سيطرة (ماء اسالة) الغمر بمحلول ٥% سدر لمدة ٥ دقائق الغمر بمحلول ١٠% سدر لمدة ٥ دقائق الغمر بمحلول الكلورين ٢٠٠ppm لمدة ٢ دقيقة	a ٥ ١٠.٢ b ٤ ١٠.٢,٦ b ٤ ١٠.١,٨ b ٤ ١٠.١,٣
مشمش	معاملة سيطرة (ماء اسالة) الغمر بمحلول ٥% سدر لمدة ٥ دقائق الغمر بمحلول ١٠% سدر لمدة ٥ دقائق الغمر بمحلول الكلورين ٢٠٠ppm لمدة ٢ دقيقة	a ٤ ١٠.٨ b ٤ ١٠.١,١ b ٣ ١٠.٨ b ٣ ١٠.٦,٢

• المتوسطات الحسابية للعدد الكلي للاعفان على اساس ثلاث مكررات متبوعة بأحرف مختلفة تشير للفروق المعنوية عند مستوى $P < 0.05$ حسب اختبار (Duncan, 1957).

تأثير مستخلص اوراق السدر في زيادة العمر التسويقي لبعض ثمار الفواكه والخضر
احمد صالح ساجت، سعود رشيد العاني، مهدي ضمد القيسي، اوس هلال العاني

جدول (3): مقدار زيادة العمر التسويقي لاناوع الفواكه والخضر المشمولة بالدراسة بمرحلة ما فوق النضج والمعاملة بمستخلصات اوراق السدر لحين ظهور علامات التلف.

مقدار الزيادة بالعمر التسويقي / يوم*		المعاملة	النماذج (عمر يوم واحد)
الخزن بجو الثلجة	الخزن بجو الغرفة		
0.6 ± 2 Ba 0.57 ± 4 Bb 0.1 ± 5 Bc 0.56 ± 4 Bb	0.57 ± 1 Aa 0.55 ± 2 Ab 0.58 ± 2 Ab 0.55 ± 2 Ab	معاملة سيطرة (ماء اسالة) العمر بمحلول 5% سدر لمدة 5 دقائق العمر بمحلول 10% سدر لمدة 5 دقائق العمر بمحلول الكلورين 200 PPM لمدة 2 دقيقة	طماطة
0.56 ± 4 Ba 0.6 ± 5 Bb 0.57 ± 7 Bc 0.55 ± 5 Bb	0.58 ± 2 Aa 0.8 ± 3 Ab 0.55 ± 4 Ac 0.8 ± 3 Ab	معاملة سيطرة (ماء اسالة) العمر بمحلول 5% سدر لمدة 5 دقائق العمر بمحلول 10% سدر لمدة 5 دقائق العمر بمحلول الكلورين 200 PPM لمدة 2 دقيقة	خيار ماء
0.58 ± 2 Ba 0.6 ± 4 Bb 0.7 ± 5 Bc 0.6 ± 4 Bb	0.1 ± 1 Aa 0.5 ± 2 Ab 0.8 ± 3 Ac 0.5 ± 2 Ab	معاملة سيطرة (ماء اسالة) العمر بمحلول 5% سدر لمدة 5 دقائق العمر بمحلول 10% سدر لمدة 5 دقائق العمر بمحلول الكلورين 200 PPM لمدة 2 دقيقة	تين اصفر
0.57 ± 3 Ba 0.8 ± 6 Bb 0.6 ± 8 Bc 0.8 ± 7 Bd	0.6 ± 1 Aa 0.5 ± 3 Ab 0.58 ± 5 Ac 0.5 ± 3 Ab	معاملة سيطرة (ماء اسالة) العمر بمحلول 5% سدر لمدة 5 دقائق العمر بمحلول 10% سدر لمدة 5 دقائق العمر بمحلول الكلورين 200 PPM لمدة 2 دقيقة	عنب حلواني
0.56 ± 3 Ba 0.5 ± 6 Bb 0.6 ± 7 Bc 0.55 ± 6 Bb	0.1 ± 1 Aa 0.4 ± 3 Ab 0.3 ± 5 Ac 0.4 ± 3 Ab	معاملة سيطرة (ماء اسالة) العمر بمحلول 5% سدر لمدة 5 دقائق العمر بمحلول 10% سدر لمدة 5 دقائق العمر بمحلول الكلورين 200 PPM لمدة 2 دقيقة	مشمش

* المتوسطات الحسابية والاحراف المعياري للمتوسطات على اساس ثلاث مكررات متبوعة
باحرف تشير للفروق المعنوية عند مستوى $p < 0.05$ حسب اختيار (Duncan , 1957).

جدول (4): مقدار زيادة العمر التسويقي للفواكه والخضراوات المشمولة بالدراسة بمرحلة النضج البستاني والمعاملة بمستخلصات أوراق السدر لحين ظهور التلف.

مقدار الزيادة بالعمر التسويقي / يوم *		المعاملة	النماذج (عمر يوم واحد)
الخزن بجو الغرفة	الخزن بجو الثلاجة		
0.5 ± 5 Ba 0.57 ± 8 Bb 0.1 ± 10 Bc 0.6 ± 7 Bb	0.1 ± 2 Aa 0.6 ± 5 Ab 0.08 ± 6 Ac 0.6 ± 5 Ab	معاملة سيطرة (ماء اسالة) العمر بمحلول ٥% سدر لمدة ٥ دقائق العمر بمحلول ١٠% سدر لمدة ٥ دقائق العمر بمحلول الكلورين PPM ٢٠٠ لمدة ٢ دقيقة	طماطة
0.8 ± 5 Ba 0.1 ± 9 Bb 0.58 ± 11 Bc 0.1 ± 9 Bb	0.07 ± 3 Aa 0.57 ± 6 Ab 0.1 ± 7 Ac 0.57 ± 6 Ab	معاملة سيطرة (ماء اسالة) العمر بمحلول ٥% سدر لمدة ٥ دقائق العمر بمحلول ١٠% سدر لمدة ٥ دقائق العمر بمحلول الكلورين PPM ٢٠٠ لمدة ٢ دقيقة	خيار ماء
0.6 ± 10 Ba 0.1 ± 13 Bb 0.2 ± 16 Bc 0.08 ± 14 Ba	0.58 ± 4 Aa 0.1 ± 7 Ab 0.6 ± 8 Ac 0.2 ± 6 Ab	معاملة سيطرة (ماء اسالة) العمر بمحلول ٥% سدر لمدة ٥ دقائق العمر بمحلول ١٠% سدر لمدة ٥ دقائق العمر بمحلول الكلورين PPM ٢٠٠ لمدة ٢ دقيقة	تين اصفر
0.1 ± 9 Ba 0.2 ± 15 Bb 0.57 ± 18 Bc 0.25 ± 14 Bb	0.11 ± 4 Aa 0.5 ± 7 Ab 0.1 ± 10 Ac 0.5 ± 7 Ab	معاملة سيطرة (ماء اسالة) العمر بمحلول ٥% سدر لمدة ٥ دقائق العمر بمحلول ١٠% سدر لمدة ٥ دقائق العمر بمحلول الكلورين PPM ٢٠٠ لمدة ٢ دقيقة	عنب حلواني
0.1 ± 10 Ba 0.5 ± 14 Bb 0.5 ± 17 Bc 0.57 ± 15 Bb	0.6 ± 3 Aa 0.8 ± 6 Ab 0.5 ± 8 Ac 0.7 ± 7 Ab	معاملة سيطرة (ماء اسالة) العمر بمحلول ٥% سدر لمدة ٥ دقائق العمر بمحلول ١٠% سدر لمدة ٥ دقائق العمر بمحلول الكلورين PPM ٢٠٠ لمدة ٢ دقيقة	مشمش

* المتوسطات الحسابية والانحراف المعياري للمتوسطات على اساس ثلاث مكررات متبوعة بأحرف مختلفة تشير للفروق المعنوية عند مستوى $p < 0.05$ حسب اختبار (Duncan, 1957).

المصادر

1. الكوري، طلال عبد الرزاق (2000). عزل بعض المركبات الفلافونيدية من اوراق السدر واستعمالها مواداً مضادة للاكسدة ومقيدة للمعادن في الزيوت . اطروحة دكتوراه مقدمة الى قسم الصناعات الغذائية -كلية الزراعة - جامعة بغداد.
2. الشيلخي، جودت سامي (1970). التجارب المختبرية في ميكروبات الاغذية والالبان. مطبعة المعارف - بغداد.
3. Beuchat, L.R. and Brackett, R.E. (1990) Survival and growth of *listeria monocytogenes* of lettuce as influenced by shredding, chlorine treatment, modified atmosphere packaging, and temperature. J. food Sci., 55; 755-758.
4. Duncan, D. (1957). Multiple range test for correction and heteroscedastic means. J. Biometrics B:13: 164.
5. Naim, M., Gestetner, B., Zilkah, S., Birk, Y. and Bondi, A.(1974) Soybean isoflavones, charactrization, determination, and antifungal activity J. Agric. Food chem., 22: 806 - 810.
6. Naim, M., Gestetner, B., Bondi, A. and Birk, Y. (1976). Anti oxidative and antihemolytic activities of soybean isoflavones. J. Agric. Food Chem. 24: 1174-1177.
7. Nawwar, M.A., Ishak, M.S., Michael, H.N. and Buddurst, J.(1984). Leaf flavonoids of *Ziziphus spina christi* J.phytochemistry, 23: 2110-2111.
8. Pratt, D.E. (1972). Water soluble anti oxidant activity in soybeans. J.food Sci, 37: 322-323.
9. Sapers, S.W. (1994). Enzymatic browning control in minimally processed mushroom. J.Food Sci., 59: 1042-1047.
10. Simmons. G.F., Smilanick, J.L., John, S. and Margosan, D.A. (1997) Reduction of microbial population on prunes by vapor phase hydrogen peroxide. J. Food Protec., 60: 188-191.
11. Wollenweber, E.(1972). "plant preparation, extraction, and preliminary purification". J.Phytochemistry, Vol.11,425.
12. Zhuang, R.Y., Beuchat, L.R. and Angulo, F.J. (1995). Fate of *Salmonella montevideo* on and in raw tomatoes as effected by temperature and treatment with chlorine. J. Appl. Environ. Microbiol. 61: 2127-2131.

التكرار الجيني لبعض الصفات الوراثية البشرية لسكان محافظة النجف

ستار جاسم الراجحي

قسم علوم الحياة - كلية التربية كربلاء - جامعة بابل - بابل - العراق

Abstract

This Projkect Was Proposed to study the frequency of recessive and domeneant inheratance that are responsible for ten morphological character in random sample consisted .

From (I-e 2400 males and 1900 females) in Najaf town . Gene Frequencies Were determined for studied strutures used by frequency was comporizing with exception of Hardy weinberg Law. The causes and -Weinberg Variation of the morphological characteristic were stuies .

المستخلص

تناولت هذه الدراسة تردد الموروثات السائدة والمتحية لعشر صفات مظهرية لعينة عشوائية لسكان محافظة النجف . ضمت العينة 2400 ذكر و 1900 أنثى تم استخراج تردد كل موروث من الموروثات تحت الدراسة.

الدراسة، كما تم التعرف على الانحرافات التي تحصل في تردد التراكيب الوراثية عما هو متوقع طبقاً لقانون هاردي - واينبرك ومعرفة الأسباب التي تؤدي إلى تلك المتغيرات، فـي الصفات المظهرية المدروسة .

المقدمة

تدرس وراثة العشائر (Population Genetic) في التكوين الوراثي للعشائر وكيفية انتقال جيناتها من جيل إلى آخر كذلك نبحث في تفسير وتحليل التغيرات في التكرارات الجينية بالإضافة إلى ما ذكر فان وراثة العشائر تعين الباحث في وضع إصبعه على الجينات الغير مرغوب بها والجينات المرغوب بها فتساعد على التخلص من الأولى وتشجيع وتثبيت الثانية . مما يؤدي إلى حل كثير من المشاكل المتعلقة بالأمراض الوراثية للإنسان ومحاولة التخلص منها بشكل من الأشكال (1) ورغم تقدم كثير من الدراسات الوراثية بعد اكتشاف قوانين مندل في الوراثة إلا انه يلاحظ ندرة الدراسات الخاصة في إثبات الحقائق العلمية وتوارثها في الإنسان وذلك لصعوبة تحليل كثير من الصفات الوراثية وعدم القدرة على التحكم ببعض الموروثات التي تسيطر عليها وغياب التطبيق التجريبي (1-2) .

ستار جاسم الراجحي

ويبني علم الوراثة العشائري على أساس قاعدة وضعها في عام (1908) كل من (Hardy) في إنكلترا و (Weinberg) في ألمانيا كل على حدة وتختص هذه القاعدة بتكرارات كل من الجينات (Gene Frequencies) والتركيبة الوراثية (Genotypic Frequencies) وقد أظهرت هذه الدراسات أن العشائر تحتوي على الصفات السائدة والمتحية وبأى نسبة وأنه ليس صحيحاً إن الجينات السائدة أكثر تكراراً والمتحية أقل تكراراً (3-4) فلقد برزت في الأونة الأخيرة دراسات تهتم بوراثة العشائر معتمدة على الإحصاء دليلاً وقد قدمت معلومات جيدة في مجال تربية وتحسين إنتاجية الحيوان والنبات . وبما أن المجتمعات البشرية تخضع لنفس القوانين والنواميس الطبيعية التي تخضع لها هذه الكائنات لذا فقد أجريت العديد من الدراسات عن الإنسان في سبيل الوصول إلى حياة أكثر رفاهية و أوفر صحة للإنسان .

تهدف هذه الدراسة على إحصاء المورثات السائدة والمتحية ومعرفة التغيرات التي تحدث في التكرارات والتركيبة الوراثية هذا يساعد في تحديد المورثات التي تتحكم بصفات مظهرية غير متميذاً للبحث في تحجيمها والحد من تأثيرها.

المواد وطرائق البحث:

تناول هذا البحث عينة عشوائية من سكان محافظة النجف عام 1995 منحدرين من مناطق جغرافية مختلفة من القطر كمنطقة مركز المحافظة والكوفة والمشخاب والحيدرية والعباسية ومناطق أخرى وكانت الدراسة محصورة بالأشخاص البالغين حصراً وكان عدد أفراد العينة (4300) ضمنت (2400) رجلاً و (1900) امرأة .

شملت الدراسة عشر صفات مظهرية بشرية وهي :

١. استخدام اليد .
٢. لون العين .
٣. فصوص الأذن .
٤. وجود الشعر في السلامية الوسطى للأصابع .
٥. انثناء إصبع الخنصر في الرجل .
٦. شكل الشعر .
٧. الصلع .
٨. المفصل المزدوج في الإبهام .
٩. مجاميع الدم .

أما صفة مجاميع الدم فقد تعيين مجاميع الدم في مختبرات مستشفى صدام العام . وبعض المراكز الصحية في المحافظة ومختبرات قسم علوم الحياة , كلية التربية للبنات باستخدام أنبوبتان حاوية على الأجساد المضادة (Anti B - Anyi A) (4-2) ويتم حساب التكرار الجيني وتكرار التراكيب الوراثية لكافة الطرز المظهرية وذلك بواسطة قانون (هاردي - واينبرك) حيث استخدمت المعادلة التالية $P+q=1$ الخاصة بتحليل زوج من الأليلات والتي يكون تكرار التراكيب الوراثية وفق مفكوك المعادلة $(P+q)^2 = P^2 + 2Pq + q^2 = 1$ أما في حالة الأليات المتعددة والخاصة لمجاميع الدم فقد استخدمت المعادلة التالية : $P + q + r = 1$

النتائج و المناقشة

الجدول (1) شخصت فيه الصفات المظهرية السائدة و المتنحية للعينة المدروسة في الجدول (2) بين أعداد الأشخاص الحاملين للمورثات السائدة و المتنحية والتي تتحكم بالصفات المظهرية للأشخاص الحاملين لإليتها جدول (3) تظهر فيه حساب تردد التكرار الجيني للمورثات السائدة و المتنحية حيث تشير النتائج إلى أن تردد الموروث السائد المسؤول عن صفة استخدام اليد اليمنى (Handedness) هو 0,809 أعلى من تردد اليد المسؤول عن استخدام اليد اليسرى $r = 0.1906$ وعند حساب التكرارات الوراثية النقية و الخلطة المتوقعة حصلنا على النتائج التالية:

$$0.367 = rr \quad , \quad 0.3084 = 2Rr \quad , \quad 0.655 = RR$$

وهذه النتائج تتفق مع عينة راوة وعينة بابل (6,5) بالنسبة إلى الصفات الثانية هي فصوص الأذن (Ear lobes) الحرة والمتصلة فقد أظهرت العينة تكرار الأليل السائد 0.8571 لفص الأذن الحرة و هو أعلى من تردد أليله المتنحي المسؤول عن فصوص الأذن الملتحمة هي $I=0.1479$ في حين أظهرت عينة بابل $I=0.5706$ ، $I=0.4294$ بينما كانت عينة راوة $I=0.6938$ ، $I=3062$ أما الصفة الثالثة فهو لون العين (eye clour) فمن المعروف أن كمية الصبغة الداكنة في بؤبؤ العين يتحكم فيه أليل السائد وأليل المتنحي يتحكم باللون الأزرق . ومن الجدول رقم (2) نلاحظ أن تكرار الأليل السائد $B=0.5425$ في حين تكرار أليله المتنحي هو $b=0.4823$ المسؤول عن اللون الأزرق وهذه النتائج تتفق مع عينة بابل في حين كانت عينة راوه $B=0.5178$ ، $b=0.4823$ أما الصفة الرابعة التي تناولتها الدراسة هي وجود الشعر في السلامية الوسطى لأصابع اليد (Mid digital hair) والتي يتحكم فيها أليل سائد فقد لوحظ ترده في العشرة $H=0.7546$ وكان تردد أليله المسؤول عن عدم وجود الشعر $h=0.2654$ وهذه النتيجة تتفق مع عينة بابل ولا تتفق مع عينة راوه .

ستار جاسم الراجحي

الصفة الخامسة صفة انثناء أصابع الخنصر (Bent tittle finger) باتجاه أصابع الأرجل والذي يتحكم فيه أليل سائد فقط $b=0.1306$ بينما كان تكرار أليله المتنحي 0.8694 بينما ظهر تكرار الأليل السائد في عينة بابل $p=0.0545$ والمتنحي $q=0.945$ بينما كان تكرار الأليل السائد في عينة راوة $p=0.4822$ والمتنحي هو $q=0.517$ الصفة الأخرى التي درست هي شكل الشعر (Hair shap) وهي من الصفات التي يتحكم بها آليات غير تامة السيادة حيث الموروث السائد في الحالة النقية CC ويعطي شعرا مستقهما

وفي الحالة الهجينية Cc يعطي شعرا متموجا ، اما أليله المتنحي النقي فيعطي الشعر المجعد وكان تردد التكرارات المظهرية في العينة المدروسة كالاتي:

$$CC=0.6340, Cc=0.3245, cc=0.415$$

والنتيجة هذه تتفق مع عينة بابل ولا تتفق مع عينة راوة.

اما الصفة السائدة في الصلع (Baldness) وهي صفة متأثرة بالجنس حيث تكون سائدة لدى الذكور ومنتهية لدى الإناث فقد درست هذه الصفة في الذكور فقط والصفات المتأثرة بالجنس هي الصفات التي عندها يكون تركيبها هجينياً تصبح متغلبة في الذكور بينما تكون متنحية في الإناث وذلك بسبب تاثير الهرمونات الذكرية و الأنثوية ومن خلال جدول (3) يظهر تكرار الأليل السائد المسؤول عن صفة الصلع $B=0.3542$ وهو اقل من تردد أليله

المتنحي $b=0.6458$ وهذه النتيجة تتفق مع عينة راوه وبابل (6.5) الصفة الأخرى التي درست هي قابلية بعض الأشخاص على ثني اللسان (Tongue Rolling) من الجوانب أو الخلف وهو أليل سائد على أليله المتنحي المسؤول عن اللسان المستقيم والذي لا يستطيع صاحبه طيه او ثنيه وفي العينة المدروسة كان تردد الأليل السائد $S=0.6042$ وهو أعلى من تردد أليله المتنحي $s=0.345$ هذه النتيجة تتفق مع عينة راوة و بابل (6-5) أما صفة المفصل المزدوج في الإبهام (Double Joited) قابلية تحركه إلى الأمام و الخلف وكان تردده $D=0.0595$ في حين كان تردد أليله المتنحي المسؤول عن عدم وجود تلك القابلية إلى حركة الإبهام نحو الأمام فقط $d=0.9464$ في حين كانت عينة بابل $d = (0.9928, D=0.0072)$

ورثة نظام الدم في الإنسان A,D,O تخضع لثلاث آليات هي I^A, I^B, i بما أن I^A هو المسؤول عن تكرار الموروث عن فصيلة (A) وكان تردده $I^A=0.2496$ بينما كان تكرار الموروث المسؤول عن فصيلة (B) هو $I^B=0.1225$ وكان تردد الموروث المسؤول عن فصيلة (O) 0.6279 وهذه النتيجة تتفق مع عينة راوة وبابل (6.5) تظهر هذه الدراسة انتشار هذه الصفات وتجمعها بهذا الشكل لمعظم الصفات ربما يعود إلى وجود نسبة عالية من الزواج الداخلي (بين الأقارب) حيث لا توجد زيجات خارج العشيرة إلا القليل أن هذا النمط من الزواج سيؤدي بمرور الزمن إلى انتشار صفات معينة تتحكم بها موروثات سائدة أو متنحية في العشيرة .

جدول رقم (1) يبين الصفات السائدة والمنتحية الصفات المظهرية تحت الدراسة.

الملاحظات	الصفة المنتحية	الصفة السائدة	الصفة
	اليـد اليسرى	اليـد اليمنى	استخدام اليـد
	متصلة مع الفك	حرة	فصوص الأذن
	زرقاء	ملونة	لون العين
درست في الذكور	عدم وجود الشعر	وجود الشعر	وجود الشعر في السلامية الوسطى للأصابع
	الإصبع مستقيم	ينتهي باتجاه الأصابع المجاورة	انثناء إصبع الخنصر في الأرجل
درست في الذكور	مجعد	مستقيم	شكل الشعر
درست في الذكور	غير اصلع	اصلع	الصلع
	اللسان المستقيم	طي اللسان	طي اللسان
	يتحرك إلى الأمام فقط	يتحرك إلى الأمام و الخلف	المفصل المزدوج في الإبهام
	O	A,B,AB	مجاميع الدم

ستار جاسم الراجحي

رقم (2) يبين عدد الصفات المظهرية والسائدة والمتنحية لسكان محافظة النجف

المجموع		الأفراد الحاملين لصفة المتنحية		الأفراد الحاملين للصفة السائدة		عدد أفراد العينة		الصفة المظهرية	
الصفة المتنحية	الصفة السائدة	إناث	ذكور	إناث	ذكور	ذكور	إناث		
820	3480	400	420	1500	1980	1900	2400	استخدام اليد	
856	3444	686	170	1214	2230	1900	2400	فصوص الأذن	
900	3400	350	550	1550	1850	1900	2400	لون العين	
637	1763		637	250	1763	1900	2400	وجود الشعر	
3250	1050	1650	1600		800	1900	2400	انثناء اصابع الخنصر في الرجل	
1489	911		1489		911	1900	2400	شكل الشعر	
1550	850		1550		850	1900	2400	الصلع	
1702	2598	300	1402	1600	998	1900	2400	طي اللسان	
2044	256	186	5	2179	35	221	1900	2400	المفصل المزدوج في الأبهام
						1900	2400	مجاميع الدم	
	1130					530	600	A	
	720					370	350	B	
	950					400	550	AB	
1500						600	900	O	

جدول رقم (3) حساب التكرارات الجينية والوراثية الصفات تحت الدراسة

التكرار الجيني	مجموع النسب الجينية المتشابهة	التكرار الوراثي	التراكيب الوراثية المتوقعة	التراكيب الوراثية	الأشكال المظهرية
Q=0.1906	0.9637	0.6551	P ²	RR	استخدام اليد اليمنى
P=0.8094		0.3086	P ² d	Rr	
		0.307	Q ²	Rr	اليسرى
					فصوص الأذن
Q=0.1479	0.2782	0.7261	P ²	Ii	فصوص الأذن الحرة
P=0.8521		0.252	P ² d	Ii	
		0.0218	Q ²	ii	فصوص الأذن الملتحمة
					لون العين
P=0.5425	0.7907	0.2443	P ²	BB	العين الملونة
Q=0.4575		0.4964	P ² d	Bb	
		0.2093	Q ²	bb	العين الزرقاء
					وجود الشعر وجوده
P=0.746	0.9296	0.5390	P ²	HH	
Q=0.2654		0.3900	P ² d	Hh	
		0.0704	Q ²	hh	عدم وجوده
					انثناء إصبع الخنصر في الرجل
P=0.1306	0.2442	0.0171	P ²	PP	انثناء الإصبع باتجاه
Q=0.8694		0.2271	P ² d	Pp	
		0.7558	Q ²	pp	الإصبع مستقيم
					شكل الشعر
P=0.2038	0.9585	0.6340	P ²	CC	الشعر المستقيم
Q=0.7962		0.3225	P ² d	Cc	الشعر المتموج

التكرار الجيني لبعض الصفات الوراثية البشرية لسكان محافظة النجف

ستار جاسم الراجحي

التكرار الجيني	مجموع النسب الجينية المتشابهة	التكرار الوراثي	التراكيب الوراثية المتوقعة	التراكيب الوراثية	الأشكال المظهرية
		0.415	Q^2	cc	الشعر المتجدد
					الصلع
Q=0.9458	0.8645	0.4171	P^2	BB	اصلع
P=0.3542		0.4574	P^2d	Bb	
		0.1255	Q^2	bb	غير اصلع
					طي اللسان
			P^2	Ss	انثناء اللسان
			P^2d	Ss	اللسان
			Q^2	Ss	اللسان المستقيم
					المفصل المزدوج في الإبهام
P=0.0595		0.1155	0.0035	DD	قابلية تحرك الإبهام إلى الأمام والخلف
Q=0.9405			0.1120	Dd	
			0.8845	dd	حركة الإبهام إلى الأمام فقط
					مجاميع الدم
P=0.2496	0.1235	0.0623	P^2	$I^A I^A$	مجموعة الدم (A)
		0.0616	2Pr	$I^A I$	
Q=0.1225	0.5481	0.3443	Q^2	$I^B I^B$	مجموعة الدم (B)
		1.1538	2Pr	$I^B I$	
		0.3134	2Pr	$I^A I^B$	مجموع الدم (AB)
R=0.6279		0.0150	R^2	ii	مجموعة الدم (O)

المصادر

- ١ الحاج قاسم، محمود والصالح، عباس وعبد القادر محمد (١٩٨٢) علم الوراثة- وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة بغداد.
- ٢ العذاري، عدنان حسن (١٩٩٥) أساسيات علم الوراثة - ٢١ وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل.
- ٣ الجبوري ، حيدر هاشم (١٩٩٥) صفات الخطوط الجلدية في مرض داء السكر، رسالة ماجستير، كلية التربية ، ابن الهيثم ، جامعة بغداد.
- ٤ غزال، نجيب توفيق (١٩٨٢) الوراثة الكمية وتحسين الحيوان ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل .
- ٥ عبد العزيز، عبد المجيد (١٩٩٢) التكرار الجيني لبعض الصفات الوراثية في مدينة راوة- بحث القي في المؤتمر الأول لجامعة الأنبار.
- ٦ الجنابي ، عباس عبد الله والراجحي ستار جاسم (١٩٩٩) . التكرار الجيني والتكرار المظهري لبعض الصفات الوراثية لسكان محافظة بابل ، مجلة جامعة بابل - المجلد الرابع - العدد الثالث.

تأثير الإصابة بداء السكري على أنواع البكتريا المسببة لالتهابات المجاري البولية

فاطمة عبد الحمزة الفتلاوي، رعد خليل الحسيني، علي تقي البلداوي
الجامعة المستنصرية - كلية العلوم - قسم علوم الحياة
جامعة صدام - كلية الطب

المقدمة

تحضى التهابات المجاري البولية باهتمام الباحثين والعاملين في المجال الطبي، فهي تعد أحد مشاكل الصحة العامة ومن الأمراض المنتشرة ومتكررة الحدوث، وتأتي في المرتبة الثانية بعد أمراض الجهاز التنفسي وضمن الالتهابات المتعلقة بالمجتمع (1). تعتبر البكتريا المسبب الرئيسي لالتهابات المجاري البولية، سيما البكتريا السالبة لصبغة كرام، وان أفراد العائلة المعوية المتمثلة ببكتريا *Escherichia coli* و *Klebsiella*، *Enterobacter*، *Proteus* هي الأكثر تسبب في إحداث مثل هذه الالتهابات (2). ولا يخفى على الذهن ما لبكتريا المكورات العنقودية من دور في أحداث التهابات المجاري البولية ولكن استعمال مضادات الحياة بكثرة أدى إلي تقليل دورها في حدوث الالتهابات (2)، وأصبحت العصيات السالبة لصبغة كرام هي الأكثر بروزا (2). وبصورة عامة تتميز البكتريا المسببة لهذه الالتهابات بقدرتها على مقاومة مضادات الحياة المختلفة، وعليه ظهرت ولا تزال تظهر بشكل واسع سلالات من البكتريا المقاومة للمضادات مما نشأ عنه حصول الالتهابات من النوع المتكرر أو المنتكس وصولا إلى النوع المزمن (3). يعتبر داء السكري من الأمراض المزمنة غير القابلة للشفاء، وقد يعود سبب حدوثه إلي نقص مطلق أو نسبي في كمية الأنسولين المفرز من خلايا بيتا في البنكرياس، وهو يقسم اعتمادا على نوع المعالجة إلى نوعين رئيسيين:

الأول: المعتمد على الأنسولين

Type-1: Insulin- Dependent Diabetes Mellitus (IDDM)

الثاني: غير المعتمد على الأنسولين

Type -2: Non Insulin – Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM)

وعليه فقد استهدفت الدراسة الحالية عزل وتشخيص أنواع البكتريا المسببة لالتهابات المجاري البولية عند المصابين وغير المصابين بداء السكري بغية التعرف على أهم الأنواع المسببة لهذه الالتهابات ومدى تغيرها اعتمادا على وجود أو عدم وجود داء السكري وعلى طبيعة المعالجة المستخدمة.

طرائق العمل

جمع العينات :

أجريت الدراسة في المستشفى الجامعي لكلية صدام الطبية للفترة من شهر آب سنة 2000 ولغاية شهر نيسان سنة 2001 ، إذ جمعت عينات الإدرار من 300 مريض تراوحت اعمارهم من 10 سنة ولغاية 70 سنة يعانون من التهابات المجاري البولية وقسموا إلى مجموعتين :

الأولى : المرضى المصابين بالتهابات المجاري البولية (150 مريض) من غير المصابين بداء السكري (63 ذكور ; 87 إناث) .

الثانية : المرضى المصابين بالتهابات المجاري البولية (36 مريض) وداء السكري المعتمد على الأنسولين (12 ذكور ; 24 إناث) ، و 114 مريض من المصابين بداء السكري غير المعتمد على الأنسولين (36 ذكور ; 78 إناث) .

تحليل عينات الإدرار :

جمع الإدرار الوسطي من كل مريض في أوعية معقمة واجري عليه الفحص العام مباشرة بعد زرعه على الأوساط الزرعية . شمل التحليل العام للإدرار ما يلي : (4) التعرف على لون الإدرار - درجة العكورة - الرقم الهيدروجيني (تم قياسه بورقة اللتيموس) والتحرري عن الزلال والسكر والأجسام الكيتونية .

التحرري عن الزلال Albumin :

وضع 5 مل من الإدرار في أنبوبة اختبار أضيف إليها ثلاث قطرات من كاشف Trichloroacetic acid بتركيز 20 % وعند ظهور التضبب تضاف عدة قطرات من محلول حامض الخليك 3 % ، ويدل اختفاء التضبب على وجود البلورات ، وعند عدم اختفائه تكون نتيجة الفحص موجبة وحسب شدة التضبب .

التحرري عن السكر Sugar :

وضع 5 مل من محلول بندكت في أنبوبة اختبار أضيف لها ثمانية قطرات من الإدرار ، ثم سخن في حمام مائي مغلي لمدة عشرة دقائق . لوحظ بعدها تغير لون محلول بندكت الأزرق إلى الأخضر الفاتح (+) أو الأخضر الغامق (++) أو الأصفر (+++) وأخيرا الأحمر النحاسي (++++) دلالة على كثافة السكر الموجود في الإدرار .

التحرري عن الأجسام الكيتونية :

تم الكشف عنها باستخدام uriscan strips المجهزة من شركة Yeongdong الكورية ويدل تغير لون الشريط من الأبيض إلى الوردي أو البنفسجي بعد وضعه في الإدرار على وجود الأجسام الكيتونية واعتمادا على كميتها .

الفحص المجهرى للإدرار :

وضعت عينات الإدرار في أنابيب جهاز الطرد المركزي وطردت بسرعة 5000 دورة / دقيقة لمدة عشرة دقائق . أهمل السائل الطافي ورج الراسب بجهاز Vortex للمجانسة . وضعت قطرة من الراسب على شريحة زجاجية نظيفة ووضع فوقها غطاء الشريحة وفحصت بقوة التكبير الكبرى للمجهر لمشاهدة وجود خلايا الخراج (pus cells) والتي قدرت أعدادها في الحقل المجهرى الواحد كالاتي :

قليل ، + ، ++ ، +++ ، ++++ ، والتي تعادل تقريبا 1-6 ، ١٥-8 ، 16-25 ، 26-35 ، 36-100 خلية/ حقل مجهرى أو FHP عند تغطية الحقل المجهرى بأكمله كذلك مشاهدة وجود كريات الدم الحمراء والتي قدرت أعدادها باستخدام نفس العلامات التي استخدمت لتقدير خلايا الخراج .

زراع الإدرار :

زرعت عينات الإدرار باستخدام ناقل الزرع القياسي المعقم على الوسطين الزرعيين اكار قاعدة الدم ومكونكي ، وحظنت الأطباق بحرارة 37 م° لمدة 18-24 ساعة. حسب أعداد المستعمرات النامية وتم التعبير عن كثافة النمو باستخدام المعايير . نمو ضعيف (Scanty) ، متوسط (Moderate) وكثيف (Heavy) (4)

تشخيص العزلات :

شخصت المستعمرات النامية مبدئيا بالاعتماد على الصفات الشكلية للمستعمرات والمتضمنة حجم ولون وحافات وارتفاعات المستعمرات ، ثم صفات البكتريا تحت المجهر بعد تصبغها بصبغة كرام . استخدمت العدد التالية في التشخيص النهائي :

1- عدة التشخيص api E20 :

استخدمت لتشخيص البكتريا العصوية السالبة لصبغة كرام من أفراد العائلة المعوية وبكتريا السيدوموناس وحسب تعليمات الشركة المصنعة للعدة .

2- عدة التشخيص api Staph. :

استخدمت لتشخيص البكتريا الكروية الموجبة لصبغة كرام وحسب تعليمات الشركة المصنعة للعدة.

تأثير الإصابة بداء السكري على أنواع البكتريا المسببة لالتهابات المجاري البولية

فاطمة عبد الحمزة الفتلاوي، رعد خليل الحسيني، علي تقي البلداوي

النتائج والمناقشة

الفئات العمرية وأجناس المرضى:

تراوحت أعمار المرضى المشمولين بالدراسة من عشرة ولغاية سبعون عاماً من الذكور والإناث والذين قسموا إلى ثلاث فئات عمرية، الأولى تضمنت الأعمار أقل من 18 سنة، والثانية الأعمار من 18-40 سنة والثالثة الأعمار أكثر من 40 سنة (الجدول رقم 1). يتضح من الجدول أن نسب الإناث المصابات بداء السكري (68%) تفوق نسب الذكور (32%) لمجموع مرضى الدراسة، واتضح نفس النتيجة في حالة المرضى غير المصابين بداء السكري (الإناث 58% والذكور 42%)، إلا أن الفارق في نسب الإناث إلى الذكور يكون أكبر في حالة المصابين بداء السكري عنه عند غير المصابين بهذا الداء. كذلك فإن غالبية الإصابات قد تركزت في الفئة العمرية الثالثة عند المصابين بداء السكري (الإناث 81.4% والذكور 81.2%). في حين بلغ أعلى تجمع للمصابين في الفئة العمرية الثانية ضمن مجموعة غير المصابين بداء السكري (54% إناث و 38.1% ذكور). من الجدير ذكره أن أقل النسب المسجلة كانت في الفئة العمرية الأولى لكل من مجموعة المصابين وغير المصابين بداء السكري، وبذلك يتضح جلياً أهمية عامل تقدم العمر عند المصابين بداء السكري مقارنة بمجموعة غير المصابين. أن تركز الإصابة بتقدم العمر قد تم تفسيرها من قبل عدد من الباحثين حيث اعزوا ذلك إلى عوامل عدة منها ضعف المناعة الطبيعية للجسم وزيادة فرص الإصابة بأمراض الكلية وارتفاع ضغط الدم، فضلاً عن وجود داء السكري الذي يرافقه ظهور سكر الكلوكوز في الإدرار مما يجعله وسطاً ملائماً لتكاثر البكتريا وزيادة فرص حصول الالتهابات (5)

تمثل أعمار الفئة العمرية الثانية قمة النشاط الجنسي والسن الملائم للزواج والحمل وما يرافق ذلك من تداخلات تزيد من فرصة تلوث الجهاز البولي للإناث غير المصابات بداء السكري، وأن الاختلاف التشريحي بين الذكور والإناث يجعل الإناث أكثر عرضة للالتهاب إذ أن قصر الاحليل عندهن يجعلهن أكثر عرضة للتلوث سيما النساء المتزوجات والحوامل (6)

الجدول رقم 1-: الفئات العمرية و أجناس المرضى المصابين وغير المصابين بداء السكري

الفئات العمرية (سنة)	المصابين بداء السكري		غير المصابين بداء السكري	
	ذكور (%)	إناث (%)	ذكور (%)	إناث (%)
أقل من 18	-	5 (4.9)	4 (6.3)	8 (9.2)
18-40	9 (18.8)	14 (13.7)	24 (38.1)	47 (54.0)
أكثر من 40	39 (81.2)	83 (81.4)	35 (55.5)	32 (36.8)
المجموع	48 (32.0)	102 (68.0)	63 (42.0)	87 (58.0)

*- النسب المئوية محسوبة على أساس المجموع الكلي لكل فئة

معنوية النمو البكتيري للإدرار :

حددت معنوية النمو البكتيري لعينات الإدرار المزروعة وفق مقياس Kass ، وهو وجود البكتريا في الإدرار بعدد 10^5 وحدة تكوين مستعمرة / مل (CFU) ادرار من نوع واحد من البكتريا (7) والموضحة في الجدول رقم-2. يتعرض غالبية المصابين بداء السكري إلى التهابات المجاري البولية ، فقد أشارت أحد الدراسات إلى ان 44.6% من المصابين بداء السكري معرضين لخطر التهابات المجاري البولية (8) وقد لا تكون الأعراض واضحة كحرقة البول ولكن عند زرع الإدرار يتضح وجود نمو بكتيري مسؤول عن حصول هذا الالتهاب (9). إن داء السكري غير المعتمد على الأنسولين والذي يصيب المراحل المتقدمة من العمر يمثل خلل جزئي في إفراز الأنسولين وأن كمية السكر في الدم والإدرار لا تكون عالية مقارنة بمجموعة المعتمد على الأنسولين والذي يكون عادة منذ الطفولة أو بالأعمار الصغيرة وذلك كنتيجة مندلية متحفية وبذلك تكون الفرصة أكبر للبكتريا للنمو في إدرار المجموعة الأخيرة (10) . وهذا ما تبين جليا من نتائج هذه الدراسة .

الجدول رقم - 2 : معنوية النمو البكتيري لعينات الإدرار المزروعة موزعة حسب الفئات العمرية

المصابين بداء السكري		المصابين بالتهابات المجاري البولية		العينات ذات النمو البكتيري المعنوي	العينات عديمة النمو	العمر (سنة)
غير المعتمد على الأنسولين	المعتمد على الأنسولين	العينات ذات النمو البكتيري المعنوي	العينات ذات النمو البكتيري المعنوي			
العينات عديمة النمو	العينات ذات النمو البكتيري المعنوي	العينات عديمة النمو	العينات ذات النمو البكتيري المعنوي	العدد (%)	العدد (%)	
العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)			
-	-	2 (40)	3 (60)	7 (58.3)	5 (41.7)	أقل من 18
5 (50)	5 (50)	2 (15.4)	11 (84.6)	36 (50.7)	35 (49.3)	18-40
42 (40.4)	62 (59.6)	8 (44.4)	10 (55.6)	34 (50.7)	33 (49.3)	أكثر من 40
47 (41.2)	67 (58.8)	12 (33.3)	24 (66.7)	77 (51.3)	73 (48.7)	المجموع

* - النسب المئوية محسوبة على أساس مجموع كل فئة عمرية

أنواع البكتريا المعزولة :

تم تحديد الأنواع البكتيرية المعزولة من إدرار المصابين بالتهابات المجاري البولية من المصابين وغير المصابين بداء السكري موزعة حسب الفئات العمرية والجنس في الجدول رقم -3. إذ يتضح منه إن البكتريا *Escherichia coli* كانت هي الأكثر عزلا (45.2 %) ضمن مجموعة غير المصابين بداء السكري ، تلتها بكتريا *Staphylococcus aureus* (16.4 %) في حين تساوت نسب عزل *Staphylococcus epidermidis* من

تأثير الإصابة بداء السكري على أنواع البكتريا المسببة لالتهابات المجاري البولية

فاطمة عبد الحمزة الفتلاوي، رعد خليل الحسيني، علي تقي البنداوي

و *Enterobacter agglomerans* (5.5%)، بينما تدرجت نسب عزل كل من *Klebsiella pneumoniae* و *Proteus mirabilis* ; *pneumoniae* بواقع 11% ; 9.6% و 6.8% لكل منهم . كذلك فإن نسب الإناث المصابات ضمن هذه المجموعة هو (56.2%). من ملاحظة أنواع البكتريا ونسبها المنوية المعزولة من مرضى السكري المعتمد على الأنسولين يلاحظ وجود فروقات في النسب المنوية لعزل كل نوع وكذلك تسلسل عزل الأنواع ، فقد كانت نسب عزل كل من *E.E.coli* ، *Staphylococcus aureus* ، *lebsiellapneumoniae* و *Proteus mirabilis* هي : 25% ، 20.8% ، 20.8% و 20.8% حسب التعاقب ، في حين أحثل النوع *Staphylococcus epidermidis* الموقع الخمس (8.4%) ، وجاءت بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في المرتبة الأخيرة (4.8%) . ولم يتم عزل بكتريا *Enterobacter agglomerans* من إدرار هذه المجموعة، كذلك فإن نسب الإناث المصابات (70.8%) كان أكثر بكثير من نسب الذكور المصابين (29.2%) .

وعند ملاحظة المجموعة الأخيرة الممثلة لمجموعة المصابين بداء السكري غير المعتمد على الأنسولين نجد إن صورة توزع الأنواع قد اختلفت عن سابقتها ، فقد احتلت بكتريا *Proteus mirabili* الموقع الثاني (11.9%) ، تلتها بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بالموقع الثالث (10.4%) ، وكذلك حال بكتريا *Staphylococcus epidermidis* بينما احتلت بكتريا *Staphylococcus aureus* و *klebsiella pneumoniae* المرتبة الرابعة (0.9%) وجاءت بكتريا *Enterobacter agglomerans* في الموقع الأخير (6.0%) . كذلك فإن نسبة الإصابة عند الإناث (68.7%) كانت أعلى مما عليه عند الذكور (31.3%) .

إن احتلال بكتريا ايشركيا القولون موقع الصدارة في التهابات المجاري البولية أكدتها دراسات عدة ، فقد تم عزلها من الإدرار بنسبة 56.8% (9) ، وقد ارتفعت نسب عزلها إلى 82% في دراسات أخرى (11) . كذلك فإنها احتلت الموقع الأول في قائمة الأنواع التي تم عزلها من الإدرار وتلاها كل من *Pseudomonas* ، *Klebsiella* ، و *Proteus* وبنسب عزل متباينة 12 .

إن ارتفاع نسب الإصابة ببكتريا ايشركيا القولون، تقسر على أساس مغادرة هذه البكتريا مكانها الطبيعي في الأمعاء (نبيت طبيعي) وعند وصولها إلى المجرى البولي تسبب حصول الالتهاب في هذه المنطقة وذلك لامتلاكها العديد من عوامل الضراوة والتي من أهمها احتواءها على الأهداب التي تساعد على الالتصاق بالخلايا الطلائية المبطنة للجهاز البولي (13).

ومن الجدير ذكره إن الإصابة ببكتريا *Staphylococcus aureus* قد تركزت عند الإناث (20) . أكثر مما هي عند الذكور (3) . إذ تعد هذه البكتريا من العوامل المهمة لحدوث الالتهابات والتي أظهرت ارتباطا مباشرا بالنشاط الجنسي عند النساء تحت عمر 25 سنة ، فقد أشارت أحد الدراسات إلى انه تم عزلها بنسبة 30% من مجموع حالات الالتهابات (4).

الجدول رقم 3- :الأنواع البكتيرية المعزولة من إدرار المرضى المصابين بالتهابات
المجاري البولية من المصابين وغير المصابين بداء السكري .

إدرار مرضى التهابات المجاري البولية من غير الصابين بداء السكري									الأنواع البكتيرية
المجموع		الفئات العمرية (سنة)						العدد (%)	
		اكثر من 40		40-18		اقل من 18			
أ	ذ	أ	ذ	أ	ذ	أ	ذ		
18	15	7	10	10	4	1	1	33 (45.2)	<i>Escherichia coli</i>
11	1	2	1	7	-	2	-	12 (16.4)	<i>Staphylococcus aureus</i>
3	5	1	2	2	3	-	-	8 (11)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
2	5	2	4	-	1	-	-	7 (9.6)	<i>proteus mirabilis</i>
1	4	-	3	1	1	-	-	5 (6.8)	<i>pseudomonas aeruginosa</i>
3	1	1	1	2	-	-	-	4(5.5)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
3	1	1	-	1	1	1	-	4(5.5)	<i>Enterobacter agglomerans</i>
41(56.2)	32(43.8)	14	21	23	10	4	1	73 (100)	المجموع (%)
إدرار المصابين بداء السكري المعتمد على الأنسولين									
5	1	2	-	1	1	2	-	6(25)	<i>Escherichia coli</i>
4	1	-	-	3	1	1	-	5(20.8)	<i>Staphylococcus aureus</i>
2	3	2	2	1	-	-	-	5(20.8)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
3	2	2	1	-	2	-	-	5(20.8)	<i>Proteus mirabilis</i>
2	-	1	-	1	-	-	-	2(8.4)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
1	-	-	-	1	-	-	-	1(4.2)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
17(70.8)	7(29.2)	7	3	7	4	3	-	24(100)	المجموع (%)

تأثير الإصابة بداء السكري على أنواع البكتيريا المسببة لالتهابات المجاري البولية

فاطمة عبد الحمزة الفتلاوي، رعد خليل الحسيني، علي تقي البلداوي

إدرار المصابين بداء السكري غير المعتمد على الأنسولين									
19	10	17	9	2	1	-	-	29(43.3)	<i>Escherichia coli</i>
7	1	7	1	-	-	-	-	8(11.9)	<i>Proteus mirabilis</i>
2	5	2	5	-	-	-	-	7(10.4)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
6	1	5	-	1	1	-	-	7(10.4)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
5	1	5	1	-	-	-	-	6(9.0)	<i>Staphylococcus aureus</i>
6	-	6	-	-	-	-	-	6(9.0)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
1	3	1	3	-	-	-	-	4(6.0)	<i>Enterobacter agglomerans</i>
46(68.7)	21(31.3)	43	19	3	2	-	-	67(100)	المجموع (%)

ذ = ذكور أ = إناث

نتائج فحوصات الإدرار :

يبين الجدول رقم 4- أنواع البكتيريا المعزولة من عينات الإدرار المزروعة وما يرافق هذه الأنواع البكتيرية من حصول تغيرات في عينة الإدرار والتي تم الكشف عنها بأجراء التحليل العام للإدرار إذ تم التركيز على وجود خلايا الخراج وتقدير أعدادها في الحقل المجهرى الواحد للتعبير عن شدة الإصابة ، كذلك الحال بالنسبة لكريات الدم الحمراء مع التعرف على وجود الزلال وألا جسم الكيتونية في عينة الإدرار . قدرت خلايا الخراج من (+) إلى (++++) وقسم منها كانت تحوي أعدادا أكبر دلالة على شدة الإصابة وهذا يعزى إلى إن غالبية أنواع البكتيريا المسببة للالتهاب هي من النوع القيحي (Pyogenic) ومن الجدير ذكره إن غالبية الإصابات كان يرافقها وجود كريات دم حمراء ، وهذه الحالة شائعة عند حصول الالتهابات وخصوصا التهابات أعلى المجرى البولي وكذلك لوحظ ظهور الألبومين عند قسم من المصابين وهذه الحالة لوحظت عند الإصابة ببكتيريا ايشركيا القولون والمكورات العنقودية وبروتيويس . ومن الجدير ملاحظته من الجدول إن هناك عدد كبير من عينات الإدرار المزروعة لم تظهر نموا بكتيريا بالرغم من وجود أعداد كبيرة من خلايا الخراج ، فقد أشارت أحد الدراسات(14). إلى إن 26 % من نماذج الإدرار يرافقها وجود خلايا قيحية ولكن لا تعطي نمو بكتيري على الأوساط الزرعية . هذه الحالة يمكن تفسيرها باتجاهات عدة منها احتمال وجود إصابة فايروسية في المجرى البولي ، يتعذر معها مشاهدة النمو في الأطباق الزرعية أو

قد تكون الإصابة ناشئة عن وجود بكتريا لا تعزل بالطرق الزراعية الروتينية الاعتيادية كالبكتريا المسببة للترن الكلوي (*renal tuberculosis*) وبكتريا *Leptospira* ، أو قد تكون هناك إصابة ببكتريا السيلان *Neisseria gonorrhoeae* والتي لا يمكن عزلها من نماذج الإدرار بحيث تعطي نتيجة زرع وهمية أو قد تكون هناك إصابات بالكلاميديا (*chlamydia*) أو بكتريا *Ureaplasma urealyticum* .

لم يتضح من الجدول وجود فروقات تذكر من حيث وجود خلايا الخراج وكريات الدم الحمراء والزلال ما بين المصابين وغير المصابين بداء السكري ، إلا أن الألبومين كان موجود بصورة أكبر عند المصابين بداء السكري حيث رافق إصابات بكتيرية أخرى منها الإصابة ببكتريا *Pseudomonas* و *Klebsiella* . أما الأجسام الكيتونية فقد وجدت في قسم من عينات الإدرار والتي تركزت في العينات المعزول منها بكتريا *E. coli* و *Klebsiella* . ان ظهور مثل هذه الأجسام له علاقة وطيدة بحالة الإصابة بداء السكري ، حيث أكدت أحد الدراسات (15) وجود الأجسام الكيتونية عند المصابين بداء السكري المعتمد على الأنسولين وذلك لفقدان الأنسولين كلياً من الجسم ، أما عند المصابين بداء السكري غير المعتمد على الأنسولين ، فإن نقص الأنسولين يكون جزئي في الجسم وليس شديداً ، لذلك تندر وجود الأحماض الكيتونية لديهم . تعتبر الأجسام الكيتونية من العناصر السامة التي يحاول الجسم التخلص منها عن طريق الكلى وهو نتيجة لحصول اضطرابات في أبيض الموائد الدهنية حيث لا يتم احتراقها بشكل كامل بل تبقى في حدود متوسطة مما ينتج عنه تكوين الأحماض الدهنية التي من شأنها زيادة حامضية الدم (18)

جدول رقم 4: تأثير الإصابة بالأنواع البكتيرية المختلفة على نتائج الفحوصات العامة لإدرار المصابين وغير المصابين بداء السكري.

إدرار المصابين بالتهابات المجاري البولية من غير المصابين بداء السكري									
الأنواع البكتيرية	خلايا الخراج			كريات الدم الحمراء			زلال		الأجسام الكيتونية
	أ	ب	ج	أ	ب	ج	ز	ز ⁻	
<i>Escherichia coli</i>	4	29	1	25	4	2	5	4	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	10	2	7	3	-	2	2	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	6	-	6	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	4	1	1	4	-	-	-	-
<i>Protes mirabilis</i>	2	4	1	4	2	-	1	1	-
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	1	2	2	1	-	-	-	-
عدم وجود نمو بكتيري	5	10	2	8	3	1	-	-	-
المجموع	17	64	9	53	17	3	8	7	-

تأثير الإصابة بداء السكري على أنواع البكتريا المسببة لالتهابات المجاري البولية
فاطمة عبد الحمزة الفتلاوي، رعد خليل الحسيني، علي تقي البلداوي

درار المصابين بالتهابات المجاري البولية وداء السكري									
3	3	3	2	-	23	2	23	9	<i>Escherichia coli</i>
-	-	2	-	-	12	-	10	11	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
1	1	2	-	-	10	1	8	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
-	1	-	1	-	5	2	6	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
-	-	-	-	2	9	-	7	5	<i>Protes mirabilis</i>
-	-	-	-	-	1	-	1	-	<i>Enterobacter agglomerans</i>
-	-	-	-	-	10	-	8	7	عدم وجود نمو بكتيري
4	5	7	3	4	70	5	63	35	المجموع

أ=الأعداد القليلة من 1-7 خلية/الحقل المجهري

ب= من + (8-15) خلية/الحقل المجهري ولغاية 4+(36-100) خلية/الحقل المجهري

ج= FHP تغطية الحقل المجهري بأكمله

ز= عكرة خفيفة بعد اضافة حامض الخليك الجليدي (3%)

ز⁻= تضبيب واضح الى حالة التضبيب الشديد والمتجين

الخلاصة :

أجريت الدراسة في المستشفى الجامعي لكلية صدام الطبية في مدينة بغداد للفترة من آب سنة 2000 ولغاية نيسان 2001 ، إذ تضمنت جمع 300 عينة إدرار من مرضى مصنفين إلى مجموعتين ، ضمت المجموعة الأولى 150 مريض يعانون من التهابات المجاري البولية وغير مصابين بداء السكري ، والمجموعة الثانية ضمت 150 مريض يعانون من التهابات المجاري البولية ومصابين بداء السكري المعتمد وغير المعتمد على الأنسولين من كلا الجنسين وبأعمار مختلفة (10-70 سنة) . بلغ عدد إناث المجموعة الأولى 87 وعدد الذكور 63 ، أما عدد إناث المجموعة الثانية فكان 102 وعدد الذكور 48 . أخضعت جميع عينات الإدرار للفحوصات الآتية :

1- الفحص العام للإدرار :

احتوت 90 عينة إدرار من المجموعة الأولى على خلايا خراج تراوحت أعدادها من القليل إلى تغطية كامل الحقل المجهري ، أما المجموعة الثانية فقد احتوت 103 عينة منها على خلايا خراج تراوحت أعدادها من القليل إلى تغطية كامل الحقل المجهري .

2- زرع الإدرار :

زرعت عينات الإدرار على وسطي أكار الدم ومكونكي وظهر احتواء 73 عينة من المجموعة الأولى و 24 عينة من مجموعة المصابين بداء السكري المعتمد على الأنسولين و 67 عينة من مجموعة غير المعتمد على الأنسولين نموا بكتريا معنويا .

3- تشخيص العزلات :

استخدمت عدتي التشخيص . api Staph و api E20 لتشخيص البكتريا المعزولة . إذ كانت أنواع ونسب البكتريا المعزولة من إدرار غير المصابين بداء السكري كآآتي.

Klebsiella ; *Staphylococcus aureus* (16.4%) ; *Escherichia coli* (45.2%)
Pseudomonasaeruginosa(6.8%) ; *Proteus mirabilis*(9.6%) ; *pneumoniae* (11%)
و *Staphylococcus epidermidis*(5.5%) و *Enterobacteragglonerans*(5.5%) .

أما البكتريا المعزولة من أدار المصابين بداء السكري المعتمد على الأنسولين كانت : (25%)
Klebsiella pneumoniae ; *Staphylococcus aureus* (20.8%) ; *Escherichia coli*
(20.8%) ; *Proteus mirabilis* (20.8%) ; *Staphylococcus epidermidis*(8.4%) و
Pseudomonas aeruginosa (4.2%) . في حين كانت البكتريا المعزولة من إدرار المصابين

بداء السكري غير المعتمد على الأنسولين كآآتي : (43.3%) *Proteus Escherichia coli* ;
(11.9%) *mirabilis* ; *Staphylococcus Pseudomonas aeruginosa*(10.4%) ;
(10.4%) *epidermidis* ; *Staphylococcus aureus* (9%) *Klebsiella pneumoniae* ;
(9%) و *Enterobacter agglomerans* (6%)

Abstract :

This study was carried out in the university hospital of Saddam college in Baghdad city from August 2000 since April 2001, which included the collection of 300 urine samples from patients suffering from urinary tract infections (UTIS) , which were divided into two groups :

I-Patients with no Diabetes Mellitus (150)

II-Patients with Diabetes Mellitus (150)

(IDDM-Insulin Dependent Diabetes Mellitus and NIDDM-Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus).The patient's age ranged from 10-70 years and the no. of females / males in the first group were 87/63 , while it was 102/48 in the second group .

All urine samples were analyzed as follows:

1-General urine examination :

Pus cells were present in 95 urine samples of the first group and in 103 urine samples of the second group , which were ranged from trace to FHP.

2- Urine culture :

Urine samples were cultured on blood agar and MacConkeys medium. The bacterial growth were significant in 73 urine samples of the first group, and in 24,67 urine samples of IDDM and NIDDM respectively.

3-Identification of the isolates :

Api Staph. And api E20 were used for the final identification of the isolates. The isolated bacteria from the first group were:

Escherichia coli(45.2%) ; *Staphylococcus aureus* (16.4%) ; *Klebsiella pneumoniae* (11%) ; *Proteus mirabilis* (9.6%) ; *Pseudomonas aeruginosa* (6.8%) ; *Staphylococcus epidermidis* (5.5%) and *Enterobacter agglomerans* (5.5%).

The bacteria isolated from IDDM were:

Escherichia coli(25%) ; *Staphylococcus aureus* (20.8%) ; *Klebsiella pneumoniae* (20.8%) ; *Proteus mirabilis* (20.8%) ; *Staphylococcus epidermidis* (8.4%) ; *Pseudomonas aeruginosa* (4.2%) and from NIDDM were:*Escherichia coli* (43.3%) ; *Proteus mirabilis* (11.9%) ; *Pseudomonas aeruginosa* (10.4%) ; *Staphylococcus epidermidis* (10.4%) ; *Staphylococcus aureus* (9%) ; *Klebsiella pneumoniae* (9%) and *Enterobacter agglomerans* (6%).

References:

- 1-GRIST, N.R.;YEA, D. O.;WALKER,E .and WILLIAMS, G.R.Urinary tract infection. In Diseases of infection .(1987).
- 2- HOLT,J.G;KRIEG,N.R.; SNEATH, P.H.A.;STALEY,T.T. and WILLIAM,S.T.Bergy's manual of determinative bacteriology. (9th) Ed.WILLIAM and WILKINS publication. London , New York.(1994).
- 3- COLLEE,J.G.; FRASER,A.G.; MARMIO,B.P.and SIMMONS,A. Practical medical microbiology. (14th) Ed. Mosby, London.(1996).
- 4- SLEIGH, J.D.and TIMBURY, M.C. Notes on medical bacteriology. Churchill Living stone Inc. NewYork.(1983).
- 5- NICOLLE, L. E.; UJACK, E.; BRUNKA. J. And BRYAN, L. E. Immunoblot analysis of serologic response to outer membrane proteins of *Escherichia coli* in elderly individuals with urinary tract infections. J.Clin. Microbiol. 26 (10) ; 20,87-91. (1988).
- 6- SHABAD, A. L.; MINAKOVA , N. K. And ZABIRO, K. I. The pathogenesis and prevention of urinary tract infetion in women. J.Urol. Nefrol. Mosk. 4 : 8-12. (Abstract).(1995).
- 7- KASS, E. H. Bacteriuria and diagnosis of infection of urinary tract. Arch. Intern . Med. (100) , 709-714.(1957).

- 8- FORRESTER, G. C.; DALTON, M. N.; HUFFMAN, J. W. And HOLTZMAN , G. Retrospective evaluation of urinary tract infection in 42 days with hyperadrenocorticism or Diabetes Mellitus or both. J. OF Veterinary Internal medicine. Vol. 13, Iss6, b-557-560.(1999).
- 9- BONADIO, M.; MEINI, M.; GIGLI, C.; LONGO, B.; VIGNA, A. Urinary tract infection in diabetic patients. Urol-Int 63 (4):215-9.(1999).
- 10-LARGER, D.; DUBOISLAFORGUE , J. TIMIST. Type I Diabetes Mellitus. Presse medicale , VOL. 28, Iss 34, P. 1895-1903.(1999).
- 11-ABU-SHAQRA, Q. Occurrence and antibiotic Sensitivity of *Enterobacteriaceae* isolated from group of Jordanian patients with community acquired urinary tract infections. Cytobios.101 (396): 15-21.(2000).
- 12- JEHAD , M. ABU DAIA.; MOHAMMED , A. AL-AALY; ROBERTO DE CASTRO. Urinary tract infection in childhood. Saudi Medical Journal. Vol. 21 (8): 711-714.(2000).
- 13-ROBERTS, T. A. Management of Pyelonephritis and upper urinary tract infection. J. Urol.Clin North. Am. 2(4) : 76-120.(2000).
- 14- SAEED,R.S. Proteus and other microorganisms causing urinary tract infection in children. M.Sc. Thesis, college of medicine, university of Baghdad.(1993).
- 15- YOUSIF, A.AL-TURKI .The prevalence of over weight and obesity amongst hypertensive and diabetic adult patients in primary health care. Saudi Medical Journal : Vol. 21 (4) : 340-343.(2000).
- 16- ARTHUR,C.G. AND john,e.hTextbook of medical physiology. (19th)Ed. W.B.Saunders company-Tokyo(1996).

تحديد حساسية القوقع (*Bulinus truncatus*) لبعض المركبات الكيماوية

شهاب احمد سلمان و تمارة عدنان و خولة إبراهيم
وحدة بحوث أمراض المناطق الحارة - جامعة بغداد

SUMMARY

Determination the susceptibility of the snail of *Bulinus truncatus* (the intermediate host of urinary shistosomiasis in Iraq) to two chemicals compounds. The proposed Molluscicide formed from low quantity of copper sulfate and sulfur. The mixed of these two chemicals showed a good result in laboratory studies to control the snail.

خلاصة

تحديد حساسية القوقع (*Bulinus truncatus*) المضيف الوسيطى لبلهارزيا المجاري البولية في العراق لمواد كيماوية مقترحة. تعتمد على خلط كبريتات النحاس بكميات قليلة مع مادة الكبريت المتوفرة في العراق. وقد أظهرت الدراسة أن تأثير الخليط أعطى نتائج جيدة في الدراسة المختبرية.

المقدمة

ينتشر مرض البلهارزيا (البول الدموي) في المناطق المزروعة بالرز و غيره في إرجاء مختلفة من العراق وعلى وجه الخصوص في المنطقتين الجنوبية والوسطى (1). تكثر الطفيليات المسببة للمرض (*Schistosoma hematobium*) حيثما توجد الظروف المواتية للقوقع المضيف لها و بين أنشطة الإنسان المختلفة والماء في المناطق الريفية (2).

لا زال موضوع استئصال مرض البلهارزيا من الأمور التي تشغل بال الباحثين في مناطق مختلفة من العالم إذ يعتبر من بين أهم المشاكل الصحية التي تواجه سكان الأرياف في مناطق مختلفة من العالم و لاسيما في مصر والكثير من بلدان العالم الثالث و التي تنتشر بها بلهارزيا المجاري البولية بلهارزيا المستقيم على نطاق واسع (3).

أن مصدر بيوض البلهارزيا في الماء هو من تبول الأشخاص المصابين . و تفقس البيوض في الماء عن ميراسيديوم بعد فترة قصيرة جدا قد لا تتعدى الربع ساعة في أحوال كثيرة من تبول الشخص المصاب في الماء (4). يبقى الميراسيديوم حيا في الماء لمدة (20) ساعة يهلك بعدها إذ لم يجد المضيف الوسيطى له وهو في العراق قوقع (*Bulinus truncatus*) . وفي حالة دخول الميراسيديوم للمضيف الوسيطى فإنه يستقر في نهاية المطاف في الغدة الهاضمة للقوقع (5). وقد قدرت الدراسات أن ما يلقيه قوقع واحد قد أصيب بميراسيديوم واحد فقط هو (3500 سر كاريما /يوم) (6).

تحديد حساسية القوقع (*Bulinus truncatus*) لبعض المركبات الكيماوية

شهاب احمد سلمان و تمارة عدنان و خولة ابراهيم

أن السيطرة على القوقع تعد من الأمور الهامة جدا في الحد من المرض وقطع دورة حياة الطفيلي ، وقد استخدمت لهذا الغرض مواد كيماوية مختلفة منها كبريتات النحاس و كاربونات النحاس و المشتقات الفينولية وغيرها علاوة على استخدام المكافحة البيولوجية ومنها العلق الطبي (7) . و قد وجد أن مادة كبريتات النحاس تصبح ضعيفة التأثير بسبب المواد القلوية و المواد العضوية الذائبة في الماء (8). كما إن أي مشروع يهدف للسيطرة على القواقع لا بد وان يأخذ بعين الاعتبار دورة حياة القوقع وبيئته و الوسائل الممكنة و المفيدة للحد منه وفقا للإمكانات المتاحة محليا و ضمن خطة واضحة المعالم و لفترة زمنية محددة (9).

أن الهدف من هذا البحث هو محاولة إيجاد مواد كيماوية بديلة متوفرة محليا يمكن أن تستخدم في الحد من انتشار وتكاثر القواقع في إحدى المناطق الموبوءة بالمرض في العراق (بلد روز/ محافظة ديالى) التي ظهرت بها حالات كثيرة لبلهارزيا البول الدموي منذ عام 1993. وذلك من خلال تجربتها مختبريا في البداية و من ثم استخدامها حقليا وبما لا يؤدي إلى تدمير النظام البيئي المائي.

طريقة العمل والمواد المستعملة

١- جمع القواقع :

تم جمع القواقع أسبوعيا للمدة من كانون الثاني وحتى أيار من عام 2002 و باستخدام شبكة جمع العينات المائية من القناة الرئيسية في مدينة بلدروز والتي تبعد نحو 70 كم شمال شرق بغداد. نقلت العينات للمختبر بثلاثة حاويات بلاستيكية ذات أغشية مع قليل من الماء المأخوذ من القناة ذاتها. وقد روعي في تعريض القواقع أن تكون نماذج القواقع عشوائية و متقاربة بالحجم و مشابه لما هو موجود في الطبيعة و الابتعاد عن التعريض الانتقائي للنماذج الصغير.

٢- تشخيص النماذج :

أن تشخيص القواقع سهل نسبيا من خلال شكل القوقعة الملفوفة نحو اليسار من الناحية العلوية وبعكس قواقع (*Lymnea auricularia*) المضيف الوسطي للدودة الكبدية والتي تستوطن نفس البيئة عادة والتي تميز بسهولة عنها. وقد وضعت النماذج لفترة 48 ساعة على الأقل لغرض تأقلمها مع ظروف المختبر التجريبية قبل معاملتها بالمواد الكيماوية.

٣- تركيز مادة الكبريت و كبريتات النحاس:

أخذت ثلاثة مكررات من كل تركيز و بأقل تركيز . في كل مكرر تم وضع 6 قواقع بصورة عشوائية من النماذج التي تم جمعها على إن لا تكون صغيرة جدا. وقد تم استخدام ماء القناة الأصلي وذلك لاستبعاد أي تأثير لأي عامل ثانوي يمكن أن يؤثر على النتيجة. علاوة على استخدام ثلاثة مكررات لغرض المقارنة و بدون أية مادة كيماوية (السيطرة control) للمقارنة .

٤- قراءة النتائج :

قرأت النتائج كل :24ساعة و 48 ساعة و 72 ساعة و 96 ساعة (للقواقع الميتة فقط الغير ملتصقة بالجدران والموجودة في قعر البيكر والتي لا تتحرك) وفي نفس الساعة من اليوم ولمدة أربعة أيام. وتسجيل الهلاكات الموجودة في المحلول السيطرة (control) في نفس الوقت. ويرفع القواقع الميت من الإناء ويوضع في أناء زجاجي يحتوي على ماء الحنفية فقط لمدة أربعة ساعات للتأكد من عدم استعادة لحيويته (recovery). ويعتبر مقياس عدم الالتصاق بالجدران و القعر وعدم استعادة الحيوية في ماء الحنفية لمدة ساعة هي مقياس موت القواقع (10).

٥- تحليل النتائج :

استخدمت طريقة تحليل إحصائية في إيجاد النتائج والمسماء وحدات الاستقامة (Probit) لكل 24 ساعة من فترات تعريض القواقع للمواد الكيماوية لمدة أربعة أيام . وذلك لإيجاد علاقة إحصائية من خلال تحويل النسبة المئوية للهلاكات في كل مكرر على حده في جداول البر وبت الإحصائية. ثم رسمها مع لوغاريتم التراكيز وبعد ذلك إيجاد معكوس اللوغاريتم لهذه القيم للتركيز الذي يقضي على نصف عدد القواقع (LC50) . واخذ عدد الهلاكات في (السيطرة أو control) بنفس الطريقة . كما وتم اخذ موضوع شفاء الأفراد المعرضة للمواد الكيماوية بعين الاعتبار من خلال وضعها في الماء العادي لمدة ساعة بعد تعريضها للمواد الكيماوية للتحقق من سمية المواد عليها كونها ذات تأثير دائم (chronic) وليس وقتي وعند عدم استرجاع نشاطها تعتبر ميتة (10).

النتائج والمناقشة

يوضح الشكل (1) إن التراكيز المحصورة بين (0.005 - 0.04 غم / لتر) لم تكن ذات تأثير معنوي في قيم جداول وحدات الاستقامة (البر وبت) كما هو واضح للأيام الأربعة وهذا قد يكون عائدا للمكررات المستخدمة والحاوية على كميات قليلة جداً من المواد الكيماوية والتي يبدو أن للقواقع القابلية على عدم التأثر بها .

وعند دراسة الشكل (2) يبدو أن لمادة الكبريت عندما تكون بتركيز عالية (6 غم / لتر) ذات تأثير سمي كبير على قواقع *Bulinus truncatus* إذ أظهرت قيم وحدات الاستقامة أن تأثير مفعول مادتي كبريتات النحاس والكبريت للمكررات المحصورة بين (0.02 - 0.16 غم / لتر) هو تأثير مميت كانت فيه (LC50) مرتفعة في الأشكال (أ ، ب ، ج ، د) على التوالي. كما أن استخدام هذه المواد وبهذه التراكيز قد أعطى نتائج إيجابية واضحة كما في الشكل (2-ب) .

شهاب احمد سلمان و تمارة عدنان و خولة ابراهيم

يظهر الشكل (3) المفعول الواضح جداً في الأشكال (أ ، ب ، ج ، د) لقيم وحدات الاستقامة باستخدام تركيز (1.5غم / لتر) من كبريتات النحاس والذي اظهر سمية حادة لهذه المادة وباستخدام جرعة عالية من الكبريت (12 غم / لتر) .

في الشكل (4) يبدو واضحاً أن هناك علاقة طردية بين زيادة سمية كبريتات النحاس من خلال زيادة تركيز الكبريت (8 غم / لتر) ، إذ أن تراكيز المواد المستخدمة قد أظهرت في أشكال وحدات الاستقامة نسبة هلاكات مرتفعة LC50 بدءاً من تركيز المكرر (0.02 غم / لتر) وزاد هذا التأثير كلما تعرضت قواقع *Bulinus truncatus* للمادة الكيماوية لفترة أطول وكان ذلك واضح من Probit 96 h ، Probit 72h .

أن استخدام كبريتات النحاس بكميات تصل إلى (2غم / لتر) مع كميات عالية نسبياً من الكبريت له تأثير سمي حاد و يتبين من الشكل (5) أن أوطأ تركيز وهو (0.005 غم / لتر) كان كافياً لتسجيل نسبة هلاكات (50 %) في خلال 24 ساعة .

يظهر هذا البحث التجريبي أن خلط الكبريت مع كبريتات النحاس وبكميات قليلة جداً يؤدي إلى نتائج ممتازة في القضاء على القواقع المضيضة لمرض البلهارزيا و دون الحاجة لاستخدام تراكيز عالية من كبريتات النحاس والتي تؤثر على جميع الأحياء المائية.

إلا أن المشكلة في دراسة حساسية الكائنات الحية مختبرياً تبقى تحت ظروف مسيطر عليها تختلف عما هو موجود في الطبيعة خصوصاً إذا ما تم استخدام هذه المواد في أوقات مختلفة من السنة و في مناخ متطرف في التفاوت الحراري كمناخ العراق حيث ترتفع درجات الحرارة في الظل في أيام الصيف القانط إلى أكثر من 50 درجة مئوية .

وفي كل الأحوال فإن هذا البحث أظهر نقطتين هامتين أساسيتين في هذا المجال هما :

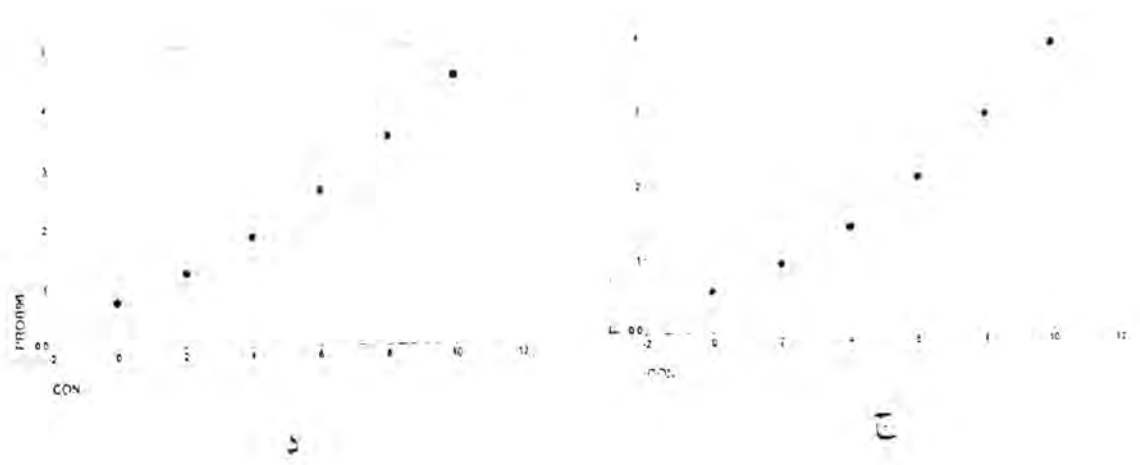
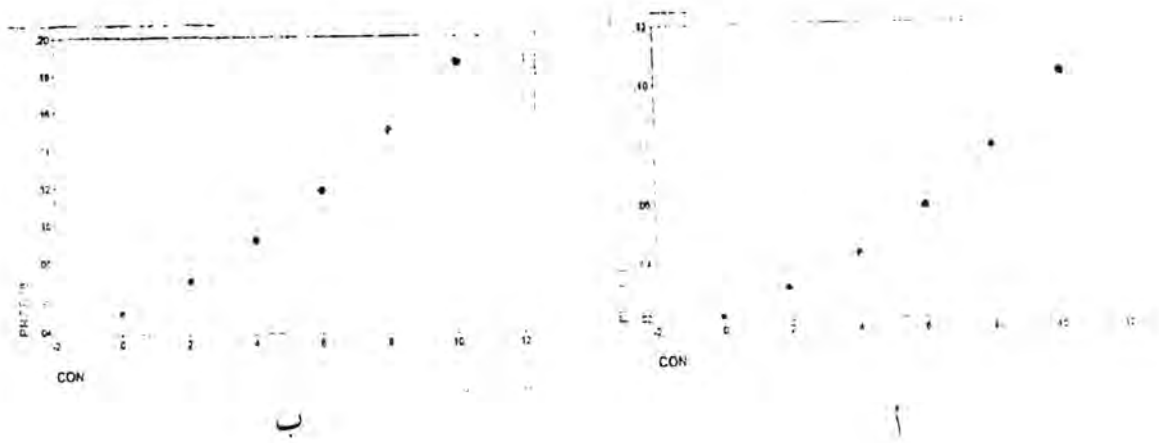
1. أن كبريتات النحاس ليست هي المادة الوحيدة التي يمكن أن تستخدم على نطاق واسع في القضاء على القواقع المضيضة لطفيلي بلهارزيا البول الدموي.
2. يمكن إيجاد بدائل للسيطرة على القواقع من المواد الكيماوية المتوفرة محلياً وهذا يساعد كثيراً في أي برنامج لمكافحة مرض البلهارزيا إذ أن الكبريت متوفر بكميات كبيرة في القطر .

REFERENCES

- 1-Cox, F.E.G. (1994): Human schistosomiasis in modern parasitology 2nd Ed. *Blackwell scientific publication* .PP 52-39
- 2-Bissau, B. (1984): Epidemiology and control of Schistomiasis. *Postgraduate cocotte*, 7(1); 6-18.
- 3-Wilkins, A. (1988): schistosomiasis hematobium infection: urinary schistosomiasis. *Med. Interna*.55; 2288-90.
- 4-Brooks, G.F.; Butel J.S &Mores S.A. (1998): Medical microbiology .21Ed Appleton of Lange .PP, 640-643.
- 5-Tiemersma, E.W.; Hafid, S. & Boelee E. (1997) Detection of urinary schistosomiasis in a low prevalence region. *Trans .Roy. Soc. trop. Med. Hyg.* 91:285-86.
- 6-Kuntz, R.E. 1957: Relationship of temperature to molluscicidal activity. *Am.J.Trop.Med.Hug.* 6:940-945.
- 7- Kuntz, R.E.and Wells, W.H. 1951: Laboratory and field evaluation of 2 nitrophenol as molluscicides for control *Shistosoma* vectors in Egypt with the emphasis on the importance of temperature. *Am.J.Trop.Med.Hug* .31: 784-824.
- 8-Wright, W.H.; Dobrovolny, C.G., and Berry, E.G. 1958:Field trails of molluscicides (chiefly sodium pentachlorophnate) for the control of aquatic intermediate hosts of human bilharziasis. *Bull. World Health Organisation*.18: 936-974.
- 9-TDR Strategy 2000-2005 (2000). WHO.TDR/GEN/SP/OO/Rev.1.pp 27
- 10.Goldstein, A.; L.Aronow and S.M.Kolman (1974) Principle of Drug Action .2nd Ed. *Johnwiely and Sons, Terento Canada*.

تحديد حساسية القواقع (*Bulinus truncatus*) لبعض المركبات الكيميائية

شهاب احمد سلمان و تمارة عدنان و خولة إبراهيم

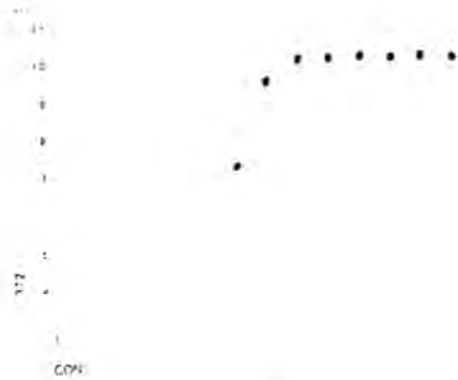
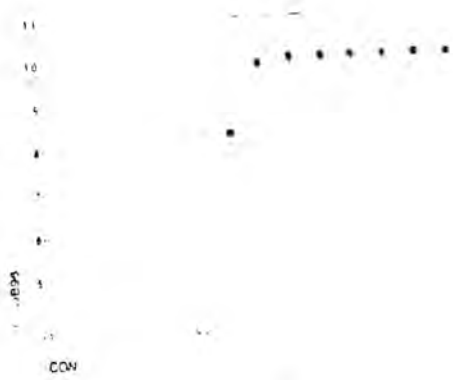
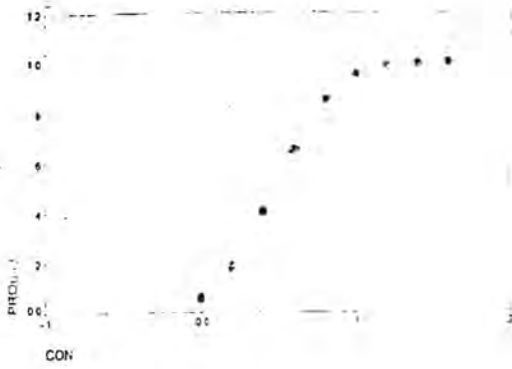


شكل (1) :- العلاقة بين التركيز و وحدات الاستقامة (probit).

أ- ٢٤ ساعة ب- ٤٨ ساعة ج- ٧٢ ساعة د- ٩٦ ساعة .

كبريتات اليخاس (٢ غم / لتر) و الكبريت (٢ غم / لتر)

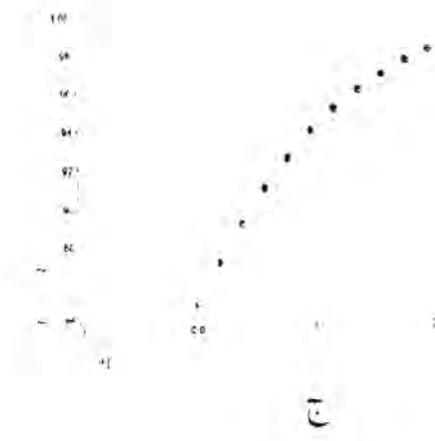
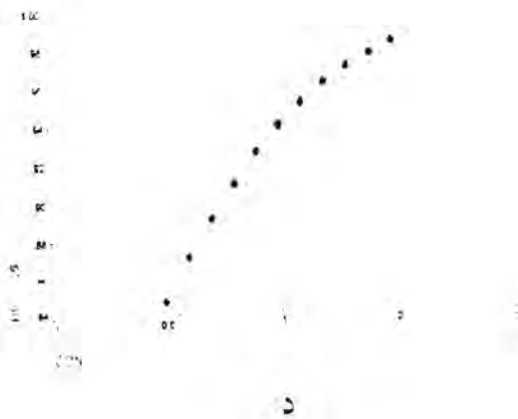
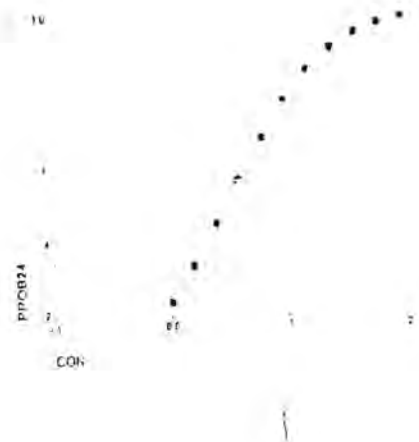
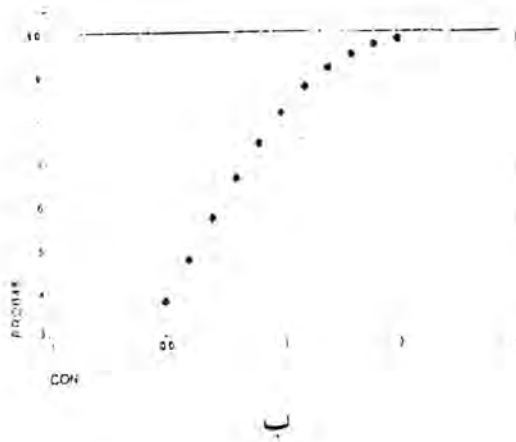
للمكرات (٠,٠٠٥ _ ٠,٠٠٤ غم / لتر)



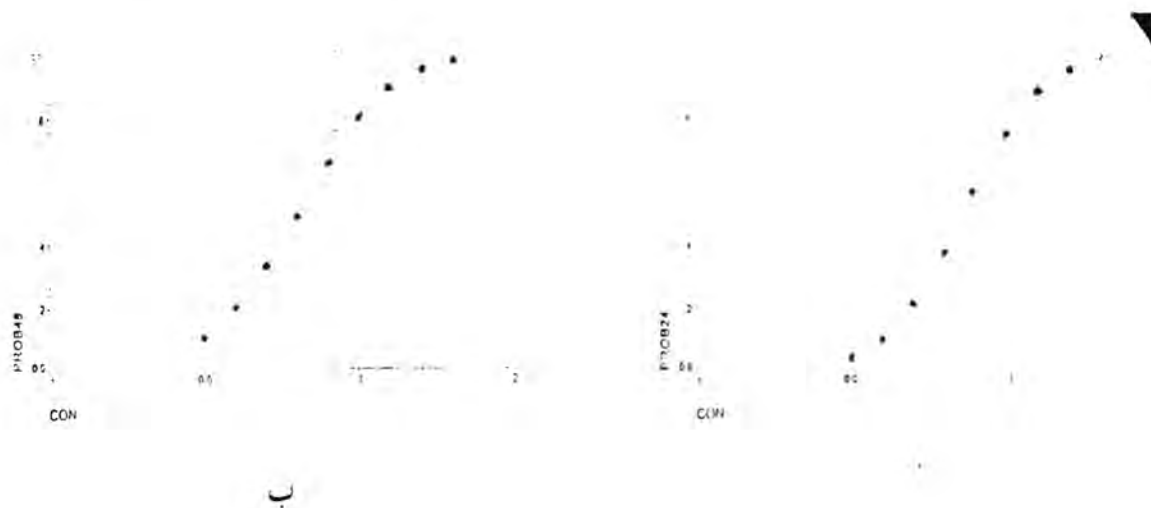
شكل (٣) - العلاقة بين التركيز و وحدات الاستفامة (probit).
 أ- ٢٤ ساعة ب- ٤٨ ساعة ج- ٧٢ ساعة د- ٩٦ ساعة.
 كبريتات النحاس (٥٥ غم / لتر) و الكبريت (٦ غم / لتر)
 للمكثرات (٠,٠٢ - ٠,١٦ غم / لتر)

تحديد حساسية القواقع (*Bulinus truncatus*) لبعض المركبات الكيميائية

شهاب احمد سلمان و تمارة عدنان و خولة ابراهيم



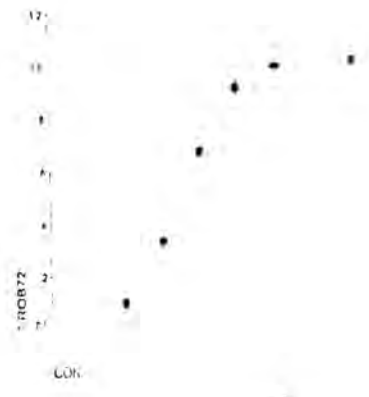
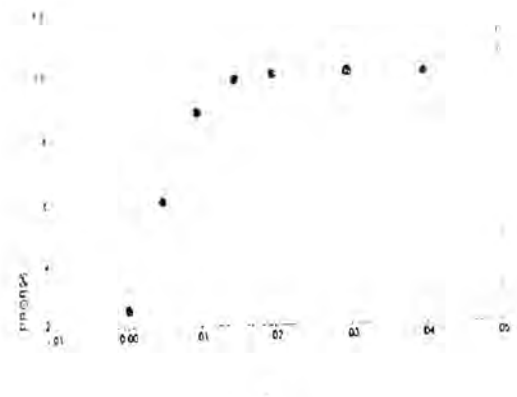
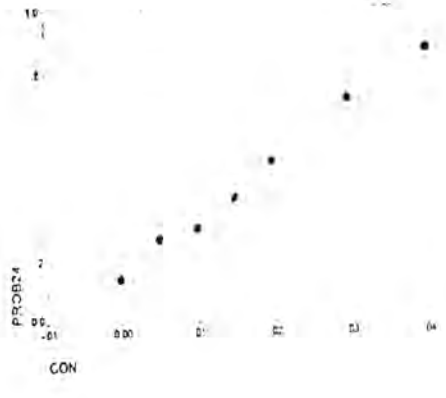
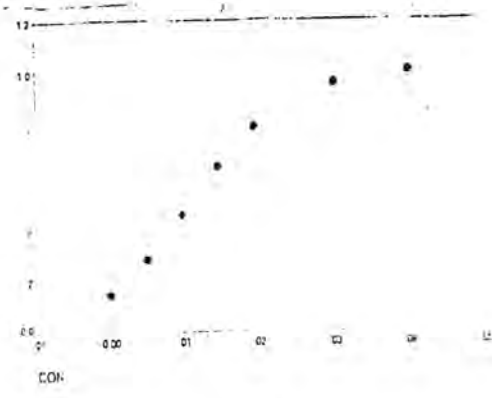
شكل (م) - العلاقة بين التركيز ووحدة الاستقامة (probit).
 أ- ٢٤ ساعة ب- ٤٨ ساعة ج- ٧٢ ساعة د- ٩٦ ساعة.
 كبريتات النحاس (٥٠غم / لتر) و الكبريت (١٢غم / لتر).
 للمكورات (٠,٠٢ - ٠,٢٠غم / لتر)



شكل (٤) :- العلاقة بين التركيز ووحدة الاستقامة (probit).
 أ- ٢٤ ساعة ب- ٤٨ ساعة ج- ٧٢ ساعة د- ٩٦ ساعة
 كبريتات النحاس (٥٠ غم / لتر) والكبريت (٨ غم / لتر) .
 للمكورات (٠,٠٢ - ٠,١٦ غم / لتر)

تحديد حساسية القواقع (*Bulinus truncatus*) لبعض المركبات الكيماوية

شهاب احمد سلمان و تمارة عدنان و خولة ابراهيم



٥

شكل (٥) :- العلاقة بين التركيز و وحدات الاستقامة (probit).

أ- ٢٤ ساعة ب- ٤٨ ساعة ج- ٧٢ ساعة د- ٩٦ ساعة

كبريتات النحاس (٣ غم / لتر) و الكبريت (٨ غم / لتر) .

للمكررات (٠,٠٠٥ - ٠,٠٠٤ غم / لتر)

عزل واستخلاص المستضدين السوطي وديد السكريد من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

إخلاص نوري علي، د . رجوة حسن عيسى

قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستصيرية - بغداد - العراق

(ABSTRACT)

This study included investigating the occurrence of *Pseudomonas aeruginosa* in (140) samples of urine , sputum , eye , ear , wounds and burns collected from some hospitals in Baghdad . Fifty nine isolates of . *P. aeruginosa* were identified according to their morphological , cultural and biochemical characteristics . Isolate (PS₁) was chosen for further study due to its antigenic stability and typical standard characteristics of *P. aeruginosa* strains . It was belonged to the 0 : 4 serotype . polysaccharide antigen (PSAg) and flagellar antigen (H – Ag) were prepared from (PS₁) . Their sugar and protein concentrations were determined and found to be (800 , 340) Mg/ ml in (PSAg) , and (90 , 2240) in (HAg) respectively .

الخلاصة

استهدف هذا البحث التحري عن وجود بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في (140) عينة من (الإدرار، القشع، مسحات العين والأذن ومسحات من خمج الحروق والجروح) والتي جمعت من المرضى الراقدين في مستشفيات بغداد (المختبرات التعليمية ومستشفى الكندي) . ومن خلال الصفات الزرعية (للمستعمرات) المجهرية (للبكتريا) والاختبارات الكيموحيوية أمكن تشخيص (59) عزلة كونها تابعة لهذه البكتريا. اختيرت بعد ذلك العزلة (PS₁) لثبوت صفاتها المستضدية (Antigenicity) وإعطائها نتائج مطابقة للنتائج القياسية المعروفة في التفاعلات الكيموحيوية، وأظهرت نتائج الاختبارات المصلية أن العزلة المختارة للدراسة تعود للصنف المصلي (0 : 4). تم استخلاص مستضد عديد السكريد Polysaccharide antigen وقد بلغ تركيز كل من السكر والبروتين في هذا المستضد (800، 340) مكغم/مل على التوالي، كذلك تم استخلاص المستضد السوطي وقد بلغ تركيز كل من السكر والبروتين فيه (90، 2240) مكغم/مل على التوالي.

المقدمة

تعد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* من الممرضات الثانوية (secondary pathogens) المهمة والتي تتصف بكونها انتهازية (Opportunistic) إذ أنها تسبب التهابات خطره جداً ولا سيما لدى مرضى السرطان والذين يعانون من تثبيط في جهازهم المناعي

عزل واستخلاص المستضدين السوطي وعديد السكريد من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

إخلاص نوري علي، د . رجوة حسن عيسى

(*patients Immunocompromised*) وكذلك المرضى الذين يتعاطون المضادات الحيوية كعلاج باستمرار (*Jawetz et al ., 1987*) .

تعزى قدرة هذه البكتريا في إحداث الخمج إلى قابليتها إلى إنتاج العديد من عوامل الضراوة مثل الـذيفانات الخارجية السم A والأنزيم الخارجي (*Exoenzyme-s*) وحال السم (*Hemolysin*) محلل الايلاستيز وحال اليوريا وغيرها (*Mims et al.,1993*) فضلاً عن الـذيفان الداخلي (*Endotoxin*) المتمثل بعديد السكريد الشحمي (*Lipopolysaccharide*) والذي يعد من المستضدات الجسمية .

تمتلك *P. aeruginosa* إضافة إلى المستضدات الجسمية الأخرى (*Surface antigens*) التي تعمل على زيادة ضراوتها مستضدات الاسواط (*flagella*) والتي تساعد في عملية التصاق البكتريا بسطوح الخلايا الطلانية لأنسجة المضيف والتي تعد العامل الممهد الأول للاستعمار والغزو البكتيري (*Colonization and bacterial invasion*) لذلك جاء هذا البحث ليهدف إلى ما يأتي :

- عزل وتشخيص بكتريا *P. aeruginosa* من عينات سريرية مختلفة .

- اختيار عزلة محلية لبكتريا *P.aeruginosa* مطابقة للصفات التصنيفية العالمية وذات صفة مستضدية ثابتة تم استخلاص عديد السكريد والمستضد السوطي ومن ثم قياس تركيز البروتين والسكر في كل منهما.

المواد وطرائق العمل

حضرت المواد حسب ما جاء (*Cruickshank et al ., 1975*) (*pitt& Bradley,1975*) .

استعملت المواد الكيماوية والبيولوجية الآتية: تريتون اكس-100 ، هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) ، حامض الهيدروكلوريك Hcl ، حامض الكبريتيك (H₂SO₄) ، فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين (KH₂PO₄) ، فوسفات الصوديوم أحادية الهيدروجين (Na₂HPO₄) ، نترات الصوديوم والبوتاسيوم Sodium-Potassium tartarate كبريتات النحاس (CuSO₄) ، كلوريد الحديدك (FeCl₃) ، كلوريد الصوديوم Nacl ، كحول أثيلي (Ethanol) ، كليسرول (Glycerol) ، محلول فولن- فولين Folin Cio- Cateu Phenol reagent كلوكوز (*Glucose*) .

الايوساط الزرعية

حضرت بالاعتماد على تعليمات الشركة المصنعة والمثبتة على العبوة الخاصة بها ثم ضبط الأسس الهيدروجيني إلى (7) .

وسط أكار نقيع المخ والقلب Brain-Heart Infusion agar (B.H.I) agar

وسط مرق المخ-القلب Brain-Heart Infusion broth (B.H.I) broth

- وسط الاكار المغذي (N.A) Nutrient agar ،
 الوسط المغذي السائل (N.broth) Nutrient broth ،
 وسط مرق التربتك سويا Tryptic Soya agar ،
 وسط اكار المانيتول شبه الصلب Semi-Solid Manitol agar ،
 وسط الجيلاتين Gelatine Medium ، وسط أكار الماكونكي MacConkey agar
 وسط السكريات الثلاثية والحديد (TSI) Tripple Suger iron agar
 وسط أساس أكار الدم Blood Base agar ، وسط اليوريا السائل . Urea Broth (UB)

طرائق العمل

جمع العينات :- جمعت (140) عينة سريرية مختلفة شملت اصابات من (الإدرار ، القشع ، مسحات من الحروق ، الجروح ، الأذن ، العين) من مرض زقديين في مستشفيات بغداد المختلفة (المختبرات التعليمية التابعة لمدينة صدام ، مستشفى الكندي) للمدة الواقعة ما بين ١٩٩٨/٨/١ - ١٩٩٨/١٠/١ زرعت العزلات على وسطي اكار الدم و اكار الماكونكي وشخصت باستعمال الفحوصات الكيموحيوية الآتية حسب ما جاء في (Holt et al ., 1994).

*التصبيغ بملون كرام ، اختبار النمو في حرارة (٤٢) م ، اختبار تخمر سكر اللاكتوز ، اختبار الأكسدة والتخمر ، اختبار إنتاج البايوسيانين ، فحص إنتاج انزيم السايٹوکروم اوکسيديز ، اختبار إنتاج انزيم الكاتاليز ، اختبار إنتاج انزيم اليوريز ، اختبار استهلاك السكريات الثلاثية وإنتاج H₂S ، فحص إنتاج انزيم اليمولابسين ، اختبار تميغ الجيلاتين ، اختبار الحركة .

الاختبارات المصلية (التتميط المصلي)

بعد اختيار أحد العزلات الكفوءة لاستخلاص مستضد عديد السكريد والمستضد السوطي، جرى التتميط المصلي بطريقة تلازن الشريحة (Slide agglutination) وباستعمال المصول الخاص بنظام (Habs, 1957) .

تحضير المستضدات البكتيرية

تحضير مستضد عديد السكريد

أتبعت طريقة (الطائي ١٩٩٣) لتحضير مستضد عديد السكريد من العزلة المختارة مع

أجراء بعض التحويلات وهي كما يأتي :-

عزل واستخلاص المستضدين السوطي وعديد السكريد من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

إخلاص نوري علي، د. رجوة حسن عيسى

* زرعت بكتريا *P aeruginosa* على وسط أكار السيد وموناس للتأكد من نقاوة البكتريا ، زرعت البكتريا على وسط الاكار المغذي وحضنت الأطباق بدرجة حرارة (37) م لمدة (24) ساعة علق المزروع النامي بالمحلول المحلي الوظيفي ، جمع العالق وغسل (3) مرات بعملية النبذ المركزي بسرعة (4000 دورة / دقيقة لمدة (30)) دقيقة جمع راسب الخلايا البكتيرية وأضيف إليه (20) ملى من محلول الاستخلاص ثم وضع في حاضنة هزازة بسرعة (30) دورة / دقيقة لمدة ساعة واحدة ، رسبت الخلايا البكتيرية بطريقة النبذ المركزي بمعدل (4000) دورة / دقيقة لمدة (30) دقيقة رسبت مادة عديد السكريد بإضافة (9) حجوم من كحول الايثانول بتركيز (95%) لكل حجم من الرائق ووضعت بدرجة (4) م لمدة (24) ساعة جمع الراسب بالنبذ المركزي وأهمل الكحول الطافي، أجريت عملية ديلزة Dialysis لعالق عديد السكريد لمدة (48) ساعة ضد ماء مزدوج التقطير Dionized distal water ، جفد العالق بواسطة المجفد (Lyophilizer) والذي كان وزنه (0.1) غم ثم حفظ في (-20) م لحين الاستعمال .

* التحري عن وجود الكربوهيدرات: أجريت الكشوفات الكيموحيوية الآتية للتحري عن وجود الكربوهيدرات في مستخلص عديد السكريد على وفق ما جاء في (Plummer ,1978)

* كشف مولش

* التحلل المائي للسكريات المتعددة

تقدير كمية السكر في عديد السكريد

قدرت كمية السكر في المستخلص بطريقة الفينول - حامض الكبريتيك المركز المذكور من

قبل (Dubois et al ..1956) .

تقدير كمية البروتين في عديد السكريد

اعتمدت طريقة (Lowery et al .. (1951) لتقدير كمية البروتين في مستخلص عديد السكريد

المحضر

تحضير المستضد السوطي

تم تحضير المستضد حسب ما ورد (pitt & Bradley (1975)

الفحوصات الكيموحيوية للكشف عن وجود البروتين كشف بايوريت (Biurat Test)

أستخدم كشف البايوريت للكشف عن وجود البروتين في مستخلص المستضد السوطي الخام

(Plummer,1978)

تقدير كمية البروتين في مستخلص المستنجد السوطي

قدرت كمية البروتين في المستنجد السوطي حسب ما ورد في طريقة (Lowery et al .,) (1951).

تقدير كمية السكر في مستخلص المستنجد السوطي

قدرت كمية السكر في مستخلص المستنجد السوطي حسب ما جاء في (Dubois et al .,) (1956).

النتائج والمناقشة

عزلت بكتريا *P. aeruginosa* من (140) عينة وقد تم تشخيصها اعتماداً على الصفات المجهرية والزرعية والكيموحيوية للبكتريا ، وأمكن الحصول على (59) عزلة من بكتريا الـ *P. aeruginosa*، إذ اظهر الفحص المجهرى الأولى أنها عصيات سالبة لصبغة كرام متحركة . مستعمراتها على وسطي الاكار المغذي و اكار السيد وموناس دائرية منتظمة ومعتممة ، ذات رائحة تشبه رائحة التفاح التالف خضراء مزرقة ، منتجة لصبغة البايوسيانين .

إما نتائج الاختبارات الكيموحيوية للعزلات وكما هي موضحة في جدول (1) إذ جاءت نتائج الفحص المجهرى والتشخيص الزرعى والكيموحيوية مطابقة للصفات التشخيصية المعتمدة لبكتريا *P. aeruginosa* ، وحسب توصيف (Holt et al ., 1994) بعد أن تم تشخيص هذه العزلات تم تصنيفها حسب مصادر عزلها .

إما النتائج الواردة في جدول (2) فقد أوضحت أن أعلى نسبة مئوية للعزل كانت من الإدرار حيث بلغت (28.81%) مقارنة بنسب الحالات الأخرى التي كانت (23.72 ، 22.03 ، 18.64 ، 5.08 ، 1.69) % لمسحات الجروح والحروق ومسحات الأذن والقشع ومسحات العيون على التوالي

وهذه النتائج مطابقة لما حصل عليه (الدليمي ، ١٩٩٩) . وباحثون آخرون في هذا المجال (Doring & Dorner , 1997) . بينما سجلت أعلى نسبة مئوية في إصابات الجهاز التنفسي لإحدى الدراسات مثل التي تحدث في المناطق الباردة والتي شملت أوروبا وأمريكا (Horan et al ., 1986) .

ولعل من أهم أسباب خمج المسالك البولية ببكتريا *P. aeruginosa* هو إخضاع المرضى لعملية القسطرة (catheterization) بعد إجراء العمليات الجراحية ، والتي تعد مشجعة لنمو وتكاثر هذه البكتريا (Bannet, 1974) بينما يأتي معدل الخمج في الجروح (23.72%) ولا سيما بعد العمليات الجراحية بالدرجة الثانية بعد خمج المسالك البولية وقد يعود السبب إلى إن هذه البكتريا من الممرضات الانتهازية الملوثة إذا أنها تنتهز فرصة حدوث اختلال عام أو موضعي في أحد دفاعات الجسم المتخصصة أو غير المتخصصة أو كليهما معاً كي تخترقها وتغزو هذه المناطق (Jawetz et al ., 1987) .

عزل واستخلاص المستضدين السوطي وعديد السكريد من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

إخلاص نوري علي، د. رجوة حسن عيسى

بلغ معدل الخمج في حالات الحروق (22.03%) ، وقد يعود السبب إلى تلوث هذه الحروق من أجواء المستشفيات والأدوات والأسرة وأيدي العاملين في المستشفى الملوثة بهذه البكتريا (Nichols,1991) ، فضلاً عن كونها مقاومة للعديد من المعقمات والمطهرات ومقاومتها الفائقة لأغلب المضادات الحيوية (Morrer *et al* , 1986) .

إما عن معدلات الخمج في مسحات الأذن والعيون فقد بلغ (18.64%) ، (1.69%) على التوالي وخرم المسالك التنفسية من عينات القشع (5.08%) مما يؤكد قدرة البكتريا على اختراق دفاعات الجسم في أي موضع كان وكذلك قابليتها على الالتصاق بالخلايا الطلانية المبطنه للنجاري التنفسية (Chang *et al* .., 1994) .

جدول ١-١ نتائج التشخيص الزراعي والكيموحيوي لبكتريا *P. aeruginosa* المعزولة من حالات مرضية مختلفة في الاسنان

المرزات	انتاج انزيم الاروكسينيز	التحليل التالي	التحليل بورير	الهيموليسين	TSI والتحليل H ₂ S	O/F	تغير سكر اللاكتوز	التغير النمو في ١١(١)°م	التغير تسبب الجيلاتين	التغير الحرية	التحليل الباروسيتون
PS ₁ *	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	+	+	+
PS ₂	+	+	-	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	-
PS ₃	+	+	-	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₁ **	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	-
PU ₂	+	+	-	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₃	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₄	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₅	+	+	-	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₆	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₇	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₈	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₉	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₁₀	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₁₁	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₁₂	+	+	-	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₁₃	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₁₄	+	+	-	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₁₅	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+
PU ₁₆	+	+	+	β	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	+	-	+	-	+	+

التفاعل البهرسيمي	التغير الحركي	التغير في الجلاتين	التغير في القوة في م ^٢ (١٧)	تغير سكر اللاكتوز	O/F	TSI والتفاعل H ₂ S	الهيدرولايسين	التغير بوربر	التغير اللاكتوز	التغير البروكسيد	النتائج
+	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PW ₂₄
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PD ₂₇
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	-	+	+	+	PB ₂₈
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PB ₂₉
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	-	+	+	+	PB ₃₀
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PB ₃₁
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PB ₃₂
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PB ₃₃
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PB ₃₄
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PB ₃₅
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PB ₃₆
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PB ₃₇
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PB ₃₈
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PB ₃₉
-	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	PB ₄₀

عزل واستخلاص المستضدين السوطي وعديد السكريد من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

إخلاء نوري علي، د . رجوة حسن عيسى

النتائج	انتشار التموية	الانتشار سمين	الانتشار النموثي	تغير سكر	O/F	TSI وانتاج اله	الهيمو لايسين	التطعيم بورين	التطعيم الكاتيز	انتاج التطعيم	الانزيمات	التمولات
+	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	+	Pea ₁₁
+	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	+	Pea ₁₂
+	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	+	Pea ₁₃
+	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	+	Pea ₁₄
+	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	+	Pea ₁₅
+	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	+	Pea ₁₆
+	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	+	Pea ₁₇
+	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	+	Pea ₁₈
+	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	+	Pea ₁₉
+	+	+	+	-	+	ALK/ no change no H ₂ S/ no gas	β	+	+	+	+	Pea ₂₀

- PS₁* Sputum عزلت من التفتع
- PU** Urine عزلت من الإدرار
- PW⁰ Wound عزلت من الجروح
- PB* Burn المزلات التي عزلت من الحروق
- Pea ear المزلات التي عزلت من الأذن
- Pe_y* eye المزلات التي عزلت من العين
- Alk Alkaline

جدول ٢- أعداد عزلات بكتريا *P. aeruginosa* موزعة حسب المصادر السريرية المعزولة منها

النسبة المئوية للعزلات الموجبة	عدد العزلات الموجبة	عدد العينات الكلي	مصادر العزلات
28.81	17	40	الإدرار
23.72	14	30	الجروح
22.03	13	25	الحروق
18.64	11	20	الأذن
5.08	3	15	المسالك التنفسية (القشع)
1.69	1	10	مسحات العيون
	59	140	المجموع

اختيار العزلة الكفوة

تم اختيار العزلة PS₁ وذلك لمطابقتها للصفات العالمية المعتمدة لبكتريا *P.aeruginosa* في تصنيف هذه البكتريا (Holt et al .. 1994) وكذلك ثبوتية مستضداتها ، فقد أثبتت نتائج التشخيص المصلّي المتواصل انتماءها إلى Polyvalent (PMA) والـ Monovalent (4) حسب تصنيف (Habs,1957) كما أكدت النتائج تجانس مستعمراتها المعزولة على الوسط الصلب و عدم تكثف نموها في الوسط الزرعّي السائل واحتفاظها بكل هذه الصفات طيلة مدة البحث .

استخلاص مستضد عديد السكريد

أشارت النتائج إن تراكيز الكربوهيدرات والبروتينات في المستضد المحضّر كانت (٣٤٠،٨٠٠) مكغم / ملّ عنى التوالي ، وأكدت الفحوص الآتية على وجود الكربوهيدرات في المستضد .

فحص مولش

ظهرت حلقة بنفسجية أرجوانية عند السطح الفاصل بين المحلول السكري (مستخلص عديد السكريد المنقى جزئياً) إلى الأعلى وحامض الكبريتيك المركز إلى الأسفل مشيرة إلى وجود مادة سكرية في المستضد المحضّر إذ تتحول الكربوهيدرات بفعل حامض الكبريتيك المركز (H₂SO₄) إلى فورفورال أو مشتقاته (Plummer , 1978)

عزل واستخلاص المستضدين السوطي وعديد السكريد من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

إخلاص نوري علي، د . رجوة حسن عيسى

التحلل المائي لعديد السكريد

أعطى عديد السكريد كشفاً موجباً لهذا الاختيار وذلك بظهور اللون الأخضر المزرق دلالة على وجود سكريات أحادية (خماسية الكربون) ، إذ أن السكريات الخماسية عند تفاعلها مع (HCL) الساخن تحرر الفرفورال الذي يتحد بدوره مع الأورسينول بوجود أيون الحديدك (Fe^{3+}) مكوناً مركب لونه أخضر مزرق (Plummer , 1978)

تقدير كمية السكر والبروتين في مستضد عديد السكريد

تم قياس كمية السكر في نموذج عديد السكريد بطريقة الفينول - حامض الكبريتيك الموصوفة من قبل (Dubois et al., 1956) ، وبالرجوع إلى المنحني القياسي الذي يبين العلاقة الخطية بين الامتصاصية وتركيز السكر القياسي (الكلوكوز) مقدره بالمايكروغرام / مليلتر جدول (٢) ، حيث بينت نتائج هذه الطريقة أن تركيز السكر في مستخلص عديد السكريد بلغ (800) مكغم / مل ، وهذه النتيجة مقاربة إلى ما توصلت إليه الطائي (1993) .

جدول - ٢ - تقدير تركيز السكر والبروتين في المستضد عديد السكريد والمستضد

السوطي

نوع المستضد	تركيز السكر (مايكروغرام/ مل)	تركيز البروتين (مايكروغرام/ مل)
عديد السكريد	٨٠٠	٣٤٠
المستضد السوطي	٩٠	٢٢٤٠

أما تركيز البروتين في مستخلص عديد السكريد الذي قُدر بطريقة (Lowery et al . , 1951) وبالرجوع إلى المنحني القياسي الذي يبين العلاقة الخطية بين الامتصاصية وتركيز البروتين القياسي (البومين المصل البقري) مقدره بـ (مكغم/مل) جدول (3) ، فقد بينت نتائج هذه الطريقة أن تركيز البروتين في المستخلص هو (340 مكغم / مل) وإن كمية البروتين الموجودة في مستخلص عديد السكريد يعود إلى أنه غير منقى تماماً أي أنه منقى جزئياً . وأن هذه البروتينات هي جزء من الغشاء البروتيني الخارجي (OMP) Outer membrane proteins (Pier et al .. 1981) ، وهذه النتيجة مقاربة لما توصل إليه (Pier and Bennett, 1981) . إذا تراوحت النسبة المئوية للبروتين (0.3 %) وإن الاختلافات في نسب كمية البروتين قد تعود إلى اختلاف السلالات المستخدمة وما تحويه من عديد السكريد الشحمي واختلاف الطرائق المستخدمة في تقديره .

استخلاص المستنضد السوطي

استخلص المستنضد السوطي بطريقة كيميائية تحافظ على المستنضد المراد عزله. للتخلص من الأهداب، تم زرع البكتريا في مرق مغذي (Nutrient broth) وحُضنت في حاضنة هزازة لمدة (4) ساعات لتوفير التهوية اللازمة من أجل النمو الجيد للسوط الذي يُعد وسيلة الحركة الوحيدة في هذه الحالة (Drake and Montie, 1988). وقد تم التحري عن وجود البروتين في مستخلص المستنضد السوطي باستخدام فحص بايوريت ، وكانت نتيجة الفحص موجبة وذلك بظهور اللون البنفسجي الدال على وجود مادة بروتينية في المستنضد لأن فحص بايوريت يُعد من الفحوصات المستعملة للكشف عن الأواصر الببتيدية التي تربط بين الأحماض الأمينية (Plummer, 1978).

تقدير كمية السكر والبروتين في المستنضد السوطي

تم قياس كمية السكر في المستنضد السوطي حسب طريقة (Dubois *et al.*, 1956) وبالإستعانة بالمنحني القياسي الذي يبين العلاقة الخطية بين الامتصاصية وتركيز السكر القياسي (الكلوكوز) وبالرجوع إلى جدول (2) نلاحظ أن تركيز السكر في المستنضد السوطي كان (90) مكغم/ مل.

في حين إن تركيز البروتين في المستنضد السوطي المقدر بطريقة (Lowery *et al.*, 1951) وبالإستعانة بالمنحني القياسي بلغ (2240) مكغم/ مل وإن تركيز البروتين في المستنضد السوطي أكثر من تركيزه في عديد السكريد وهذا يعود إلى الطبيعة البروتينية للأسواط (Rotering and Dorner, 1989) كما لوحظ إن تركيز السكر في المستنضد السوطي هو أقل من تركيزها في عديد السكريد ،، يعود السبب إلى إن الكربوهيدرات (السكر) في عديد السكريد هي من مكوناته الأساسية إذ يتركب من وحدات متكررة من السكريات إما في حالة المستنضد السوطي فأن الكربوهيدرات (السكر) هي جزء من مكونات العشاء الخلوي (Jawetz *et al.*, 1987).

References

- * الطائي ، مكارم عادل خليل (١٩٩٢) دور سلالات الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* في أحداث مايشبة متلازمة شوجرن في الفئران السويسرية ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم / الجامعة المستنصرية .
- * الدليمي ، عباس عبود فرحان (١٩٩٩) . دراسة مناعية وكيميائية حيائية على الالجنيت المنقى من بكتريا *pseudomonas aeruginosa* المعزولة من المرضى، رسالة دكتوراه ، كلية العلوم / الجامعة المستنصرية .
- Bannet, J. V. (1974). Nosocomial infections due to *Pseudomonas*. J. Infect. Dis. 130: 4-7.
 - Chang, L. L.; Sun, H. H.; Chang, C. Y.; Chang, J. C; Kuo, C. S.; Lo, W. J.; Wang, H. L. and Chang, S. F. (1994). Drug resistance and Plasmid analysis in *Pseudomonas aeruginosa*, Kao Hsiung 1 Hsueh KO Hsueh Tsachih 10 (9): 508- 517 (on line).
 - Cruickshank, R.; Dugunid, J. D.; Marmoir, B. R and Swain, R. H. A. (1975). Medical Microbiology 12th ed Vol. 11. Churchill Livingstone. London.
 - Döring, G. and Dorner, F. (1997). A multicenter vaccine trial using the *Pseudomonas aeruginosa* flagella vaccine the immuno in patients with cystic fibrosis. Behring Inst. Mitt. 98:338-344.
 - Drake, D. and Montie, T. C. (1988). Flagella, motility and invasive virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Gen. Microbiol. 134: 43- 52.
 - Dubois, N.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A. and Smith. F. (1956). Colorimetric method for detection of sugars and related substances. Anal. Chem. 28 (3): 350- 56.
 - Habs, I.S. (1957). utersuchungen uber die o-antigen on *Pseudomonas aeruginosa* z-Hyg-infect.k.; R. 144: 218-228.
 - Holt, J. G; Krieg , N.R.; Sneath. P.H. ; Staley , J. T . and Williams. S . T. (1994) . Bergys Manual of Determinative Bacteriology. 9tb ed . William and wilkins CO. Baitimori . london.
 - Horan, T. C., White, J. W.; Jarvis, W. R. Emori, T. G.; Culver, D. H.; Munn, V. P.; Thornberry, C.; Olson, D. R. and Hugbes, D. F. (1986) Nosocomial infections surveillance. Morbid Mortal Wkly. Rep. (suppl 35): 17- 29 (Online)
 - Jawetz, E; Melnick, J. L ; Adelerg, E . A.; Brooks; G.E. Butel, J . S . and ornsion , L.M. (1987). Review of Medical Microbiology. 17th ed .Middle East Edition. Appleton & lange Norwalk, Connection/Los ALtos.

- Lowery, O.H.; Rose brough, N.J.; Farr, A. L . and Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol.chem. 193:265-275.
- Mims, C. A.; Plyfair, J.; Roitt, I.; wakelin, D. and williams, R. (1993). Medical Microbiology .Mosby Europe limited . london, England .
- Morrer, R.A.;Bates, N.C.and Hancock, R.E.W.(1986).Interaction of polycationic antibodies with *pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide lipid A studied by using Dansy polymyxin. AntiMicrob . Agent Chemother. 29 (3): 496-500 .
- Nichols, R.L. (1991). Surgical Wound infections . Amer. J. Med .(Suppl 313) (191) : 54-64.
- Pier, G. B.; Sidberry, H. F. and Sadoff, J. C. (1981b). High molecular weight polysaccharide antigen from *Pseudomonas aeruginosa* immunotype2. Infect. Immun. 34 (2): 461- 468.
- Pitt, T. L. and Bradley, D. E. (1975). The antibody response to the flagella of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Med. Microbiol. 8: 97- 106.
- Plummer, D. t. (1978). An Introduction to Practical Biochemistry. 2nd ed. Mcgraw-Hill. Book company. U. K. England.
- Rotering, H. and Dorner.F.(1989). Studies on a *Pseudomonas aeruginosa* Flagella vaccine Antibiot. Chemother Basel, kar- ger. 42: 218- 228.p

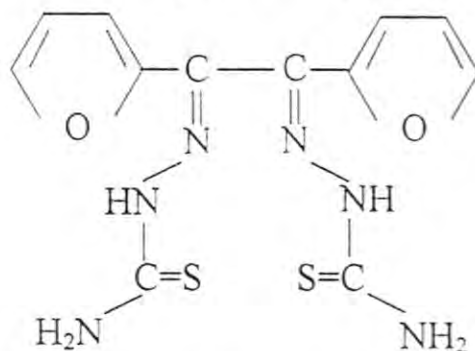
تحضير ودراسة معقدات بعض العناصر الانتقالية لليكاند فيوريل ثايوسميكاربازون

احمد حسين اسماعيل

الجامعة المستنصرية - كلية العلوم - قسم الكيمياء - بغداد - العراق

ملخص البحث:

يتضمن هذا البحث تحضير نوع واحد من قواعد شَف كليكاند مخلبي وذلك بتكاتف الثايوسميكاربازيد مع الفيوريل وبنسبة مولية ١:٢ ليعطي الليكاند ذو الصيغة التركيبية التالية:



FuTSC

فيوريل ثايوسميكاربازون

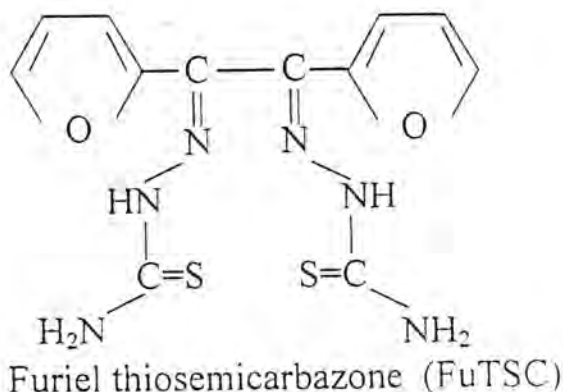
كما ويتضمن البحث تحضير ستة معقدات لهذا الليكاند مع عدد من أيونات العناصر الانتقالية والتي تشمل $Cr(III)$, $Co(II)$, $Ni(II)$, $Cu(II)$, $Zn(II)$, $Cd(II)$ والتي أعطت معقدات جديدة ذات صيغ تركيبية مختلفة وموضحة في أدناه:

No.	General formula	L	M	X
1	MLX_2	FuTSC	Cu, Ni, Co	Cl
2	$(MLX_2)X$	FuTSC	Cr	Cl
3	$(ML)X_2$	FuTSC	Cd, Zn	Cl

وقد تم تشخيص المعقدات المحضرة من خلال التحليل الدقيق للعناصر وقياس نسبة الفلز في المعقد باستخدام تقنية الامتصاص الذري ودراستها طيفياً بواسطة أطيف الأشعة تحت الحمراء والأطياف الإلكترونية فضلاً عن قياس التوصيلية الكهربائية المولارية والحساسية المغناطيسية لهذه المعقدات كما تم تحديد نسبة الفلز : ليكاند باستخدام طريقة المتغيرات المستمرة ومن ثم حساب ثابت التكوين (K_f) لبعض من هذه المعقدات .

Summary

The present work includes the synthesis of new Schiff bases (nitrogen ligand) by condensation of thiosemicarbazide with (Furiel) to give the following condensation product:



Six complexes of the prepared derivative with the transition metal ions Cd (II), Zn(II), Cu(II), Ni(II), Co(II), Cr(III), have been prepared and isolated. The complexes of (FuTSC) have different general formula as follows:

No.	General formula	L	M	X
1	MLX ₂	FuTSC	Cu, Ni, Co	Cl
2	(MLX ₂)X	FuTSC	Cr	Cl
3	(ML)X ₂	FuTSC	Cd, Zn	Cl

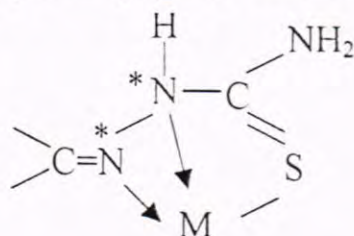
The structure elucidation by using (C.H.N) analysis. The percentage of the metal by atomic absorption technique, also the IR, UV as well as the molar conductance and the magnetic susceptibility were measured for complexes. The molar ratio metal: ligand was determined by continuous variation method, finally The formation constant (K_f) was also studied for these complexes.

المقدمة:

يعد مركب الثايوسميكاربازون من الأمينات الأولية والذي بإضافته إلى مجموعة الكاربونيل في الألددهايد والكتون يعطي نواتج إضافة متبلورة تحتوي على مجموعة الأيزومثين (C=N) بعد لفظ جزئية ماء من نواتج الإضافة الأولية. وكمثال على مثل هذا النوع من التفاعلات تلك المتمثلة بتكاثف التيرفتالدهايد مع السميكاربازون أو 4-فنيل ثايوسميكاربازون والذي اعطى التيرفتالدهايد بس سميكاربازون والتيرفتالدهايد بس 4- فنيل ثايوسميكاربازون⁽¹⁾.

كما قام كل من الباحثين (Misra, Singh)^(١) بتحضير ودراسة معقدات الثايوفين-٢-أدهايد ثايوسميكاربازون (TATSC) مع خلاص الخارصين والنيكل والكادميوم والكوبالت بنسبة مولية ١:٢ ليكاند إلى فلز لتعطي معقدات من نوع $M(TATSC)_2$. ومرة أخرى بمفاعلة نفس أملاح العناصر اعلاه مع الثايوفين ٢-أدهايد-٤ فنيل ثايوسميكاربازون^(٢) (TAPTSC) وبنسبة مولية ١:٢ أيضاً وأعطت معقدات من نوع $M(TAPTSC)_2$.

شخصت هذه المعقدات بواسطة الطرق الطيفية والمغناطيسية وقد تبين من هذه الدراسة أن معقدات الكوبلت الثنائي تكون ذات صفات بارامغناطيسية تحتوي على ثلاثة إلكترونات منفردة متخذة شكل رباعي السطوح والنيكل ذو صفات دايامغناطيسية وذو شكل المربع المستوي أما الخارصين والكادميوم فأغلقتها تكون ممثلة ودايامغناطيسية وذات شكل رباعي السطوح وان ارتباط الليكاند مع هذه الأيونات الفلزية يكون بشكل ثنائي السن، عن طريق نتروجين مجموعة الأيزومثين (C=N) وكبريت مجموعة الثايون (C=S) وهي نفس النتيجة التي توصل إليها Haines^(٤) ومن خلال دراسات الأشعة السينية (X-ray) والأشعة تحت الحمراء (I.R)^(٥) لتعيين الشكل الهندسي والتناسق لمشتقات Thiosemicarbazone لبعض الفلزات ذات التناسق العالي مثل داي أوكسو يورانسيوم (VI) لوحظ أن مثل هذه الليكاندات تسلك سلوك ثلاثي السن حيث يتم التناسق من خلال ذرتي النتروجين N^*-N^* وكذلك كبريت مجموعة الثايون C=S كما موضح في الشكل (١)



شكل (١)

كما تم تحضير المعقدات من نوع $[SnR_2L]$ ^(١) (R=Me, Et, Bu, Ph) و (L=Pyridoyal thiosemicarbazone) وتشخيصها طيفياً بواسطة طيف الرنين النووي المغناطيسي، طيف الكتلة وطيف الأشعة تحت الحمراء وظهر أن التناسق يتم عن طريق ذرة الأوكسجين الفينولية وذرتي النتروجين والكبريت متخذاً شكل ثنائي السطوح.

كذلك نوعين من المعقدات الفلزية الجديدة الناتجة من تناسق (phenyl acetaldehyde thiosemicarbazone) مع كلوريدات البلاتينوم والبلاتين قد حضرت من قبل Quiroga ومساعدوه وأعطت معقدات ذات الصيغة $Pd(C_9H_{11}N_3S)Cl_2$ و $Pt((C_9H_{11}N_3S)Cl_2)$ وثبتت هذه المعقدات فعالية دوائية ضد الأورام^(٧) وأخيراً حضرت نوعين من المعقدات بصيغة دايمر المتضمنة أوامر كلور جسرية ذات الصيغة

احمد حسين اسماعيل

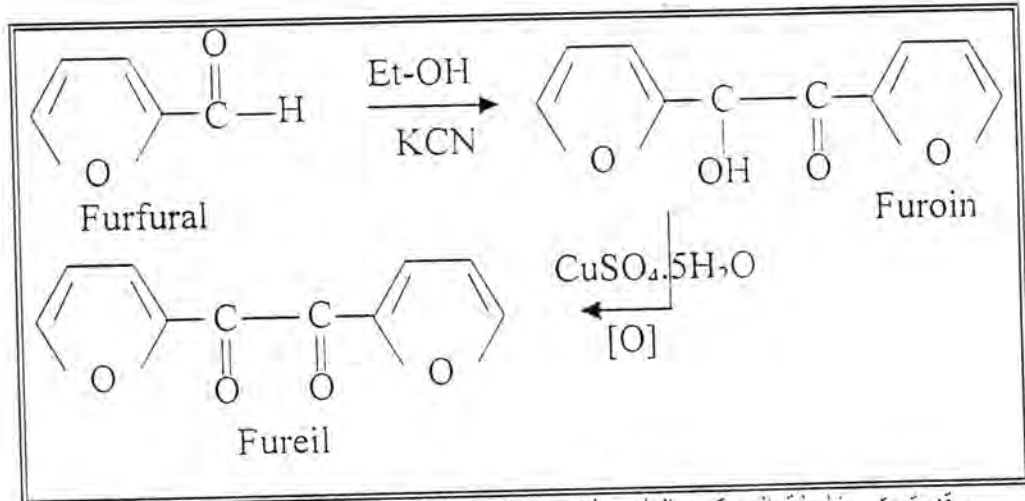
نوعين من المعقدات بصيغة دايمر المتضمنة أوأصر كلور جسرية ذات الصغية $[Pd(Piso-TSCN)(\mu-Cl)]_2$ وكذلك $[Pt(P-iso-TSCN)(\mu-Cl)]_2$ حيث أن p-isoTSCN عبارة عن ثايوسيميكاربازون وبنزالديهايد ثايوسيميكاربازون وشخصت بواسطة الطرق الطيفية HNMR IR وأثبتت هذه المعقدات فعالية ضد الأورام^(٨).

طرائق العمل:

تم في هذا البحث استخدام المواد الكيميائية التالية:

فورفورال. الايثانول المطلق. سيانيد البوتاسيوم. حامض الخليك الثلجي. كبريتات النحاس (II) خماسي الماء. ثايوسيميكاربازايد. كلوريد الكاديوم (II) ثنائي الماء. كلوريد الخارصين (II) ثنائي الماء. كلوريد النحاس (II) ثنائي الماء. كلوريد النيكل (II) سداسي الماء. كلوريد الكوبلت (II) سداسي الماء. كلوريد الكروميوم (III) سداسي الماء. والمجهزة من شركة BDH أو Fluka وعلى درجة عالية من النقاوة.

تم في هذا البحث تحضير مركب الفيوريل وفق الطريقة المنشورة في الأدبيات^(٩) وحسب المخطط التالي:



وقد تمت مفاعلة المركب الناتج (فيوريل) مع الثايوسيميكاربازايد وبنسبة مولية ٢:١

وحصلنا على مركب الفيوريل ثايوسيميكاربازون وكما يلي:

أذيب (٠,٠٦) مول (٥,٤٦ غرام) من الثايوسيميكاربازايد في (٥٠) مل من الايثانول المطلق بعدها أضيف إلى محلول يحتوي على (٠,٠٣) مول (٥,٧ غرام) من الفيوريل المذابة في (٥٠) مل من المذيب نفسه ثم أجري للمزيج عملية التصعيد لمدة سبع ساعات وتكونت بلورات بنية مائلة للاصفرار بعدها ترك مزيج التفاعل إلى اليوم التالي، ومن ثم تمت إعادة البلورة من الايثانول وحصلنا على منتج ٦٠% ويوضح الجدول (١) الخصائص الفيزيائية لليكاند المحضر ومعقداته.

أما بالنسبة لتحضير المعقدات الفلزية فقد تم إذابة (٠,٥) ملي مول من كلوريدات الكادميوم والخاصين والنحاس والنيكل والكوبلت والكروم في أقل كمية من الايثانول وإضافتها بصورة تدريجية مع التحريك المستمر إلى محلول يحتوي (٠,٥) ملي مول من الليكاند المذاب في (٢٥) مل من الايثانول الساخن أجريت عملية التصعيد لمدة ساعتين على معقدات النيكل والكوبلت والكروم أما معقدات الكادميوم والنحاس فقد تكونت بواسطتها مباشرة وأجريت عملية التصعيد لمدة نصف ساعة لاتمام التفاعل ثم عزلت نواتج المعقدات بالترشيح وغسلت عدة مرات بالايثانول ومن ثم الايثر يوضح الجدول (١) الخواص الفيزيائية لليكاند المحضر ومعقداته:

جدول (١) الخواص الفيزيائية لليكاند المحضر ومعقداته

المنتج	زمن التفاعل	مذيب التنقية	m.p	اللون	المركب
60%	٧ ساعات	ايثانول	150-152	بني مصفر	$C_{12}H_{12}N_6O_2S_2$
65%	ساعتين	=	212-215d*	أخضر	$Cr(C_{12}H_{12}N_6O_2S_2)Cl_2]Cl$
65%	=	=	195-198d*	بني	$Co(C_{12}H_{12}N_6O_2S_2)Cl_2]$
50%	=	=	180-184d*	بني	$Ni(C_{12}H_{12}N_6O_2S_2)Cl_2]$
70%	نصف ساعة	=	190-192d*	أخضر	$Cu(C_{12}H_{12}N_6O_2S_2)Cl_2]$
30%	ساعتين	=	160-163d*	أبيض	$Zn(C_{12}H_{12}N_6O_2S_2)]Cl_2$
45%	نصف ساعة	=	180-183d*	=	$Cd(C_{12}H_{12}N_6O_2S_8)]Cl_2$

جدول (2) نتائج التحليل الدقيق للعناصر C.H.N ونتائج الامتصاص الذري

المركب	C%		H%		N%		M%	
	نظري	عملي	نظري	عملي	نظري	عملي	نظري	عملي
$C_{12}H_{12}N_6O_2S_2$	(42.85)	42.22	(3.57)	3.45	(25)	24.2		
$Cr(C_{12}H_{12}N_6O_2S_2)Cl_2]Cl$	(29.12)	28.83	(2.42)	2.28	(16.98)	16.65	(10.51)	9.87
$Co(C_{12}H_{12}N_6O_2S_2)Cl_2]$	(30.9)	29.98	(2.57)	2.44	(18.02)	17.87	(12.65)	12.1
$Ni(C_{12}H_{12}N_6O_2S_2)Cl_2]$	(30.92)	30.15	(2.57)	2.48	(18.03)	17.7	(12.6)	11.92
$Cu(C_{12}H_{12}N_6O_2S_2)Cl_2]$	30.6)	29.92	(2.55)	2.28	(17.85)	17.35	(13.5)	12.8
$Zn(C_{12}H_{12}N_6O_2S_2)]Cl_2$	(30.48)	29.98	(2.54)	2.35	(17.7)	17.11	(13.8)	13.1
$Cd(C_{12}H_{12}N_6O_2S_8)]Cl_2$	(27.77)	27.72	(2.31)	2.08	(16.18)	15.82	12.5	11.91

أطياف الأشعة تحت الحمراء:

أظهر طيف الليكاند ثلاثة حزم عند المنطقة (3200-3450) سم⁻¹ والتي تعود إلى اهتزاز المجاميع NH₂ و NH على التوالي. وقد نسبت الحزمة الظاهرة عند الموقع (1610) سم⁻¹ بأنها تعود إلى الاهتزاز الاتساعي لمجموعة الأيزوميثين ν(C=N) الناتجة من تفاعل قواعد شف والتي تكون متداخلة مع الاهتزاز الانحنائي لمجموعة (N-H) والتي من المتوقع أن تظهر عند تلك المنطقة، تزاوج هذه الحزمة ν(C=N) عند تكوين المعقدات إلى ترددات أوطأ مما يدل على دخول نيتروجين هذه المجموعة في عملية التناسق^(12,11,10)، كما نسبت الحزمة الظاهرة عند الموقع (850) سم⁻¹ بأنها تعود إلى الاهتزاز الاتساعي لمجموعة ν(C=S) ويحصل انحراف باتجاه التردد الأوطأ لهذه الحزمة أو انخفاض في الشدة مما يدل على دخول هذه المجموعة في عملية التناسق وأن ظهور هذه الحزمة في طيف الليكاند بالإضافة إلى الحزمة المؤشرة عند الموقع (1530) سم⁻¹ والذي يعود إلى اهتزاز المجموعة ν(N-C-N) وعدم وجود أي حزمة لمجموعة ν(S-H) حول المنطقة (2570) سم⁻¹ يدل على وجود الليكاند بصيغة الثايون Thion form في الحالة الصلبة، وعند دراسة أطياف معقدات الأيونات الفلزية ومقارنتها بطيف الليكاند فقد تم تسجيل الانحرافات الحاصلة في حزم الامتصاص الرئيسية لليكاند وهي ν(C=N) و ν(C=S) حيث أزيحت الأولى بمقدار (20-5) سم⁻¹ باتجاه الترددات الواضئة عند تكوين المعقدات مما يدل على مشاركة نيتروجين هذه المجموعة في عملية التناسق مع الأيون الفلزي وتم التأكد من ذلك بتأشير الحزم التابعة لارتباط (M-N) والتي ظهرت بحدود (490-450) سم⁻¹ وجاء هذا متناسباً مع الدراسات الطيفية^(14,13,11) أما بالنسبة لحزمة الاهتزاز الاتساعي لمجموعة ν(C=S) فقد أزيحت (10-20) سم⁻¹ باتجاه الترددات الواضئة دلالة على مشاركة ذرة الكبريت في عملية التناسق وتم تعزيز ذلك بتأشير الحزم التابعة لارتباط (M-S) جدول (3) والتي ظهرت بحدود (340-310) سم⁻¹ الذي جاء متناسباً مع الأدبيات المنشورة⁽¹⁷⁻¹⁵⁾.

كما تم تأشير الحزم التابعة لارتباط (M-Cl) للمعقدات المحضرة والتي ظهرت بحدود (290-250) سم⁻¹⁽²¹⁻¹⁸⁾. من خلال ذلك يتبين بأن ارتباط الليكاند مع الأيون الفلزي يكون بشكل مخلبي عن طريق نيتروجين مجموعة الأيزوميثين (C=N) وكذلك كبريت مجموعة الثايون (C=S).

جدول (3) أطيايف الأشعة تحت الحمراء لليكاند المحضر ومعقداته

المركب	$\nu(\text{C}=\text{N})$ $\nu(\text{N}-\text{C}-\text{N})$	$\nu(\text{C}=\text{S})$	$\nu(\text{M}-\text{S})$	$\nu(\text{M}-\text{N})$	$\nu(\text{M}-\text{Cl})$
$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2$	1610(1530)	850	—	—	—
$\text{Cr}(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2)_2\text{Cl}_2$	1600(1530)	840	330	480	290
$\text{Co}(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2)_2\text{Cl}_2$	1605(1530)	840	340	470	250
$\text{Ni}(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2)_2\text{Cl}_2$	1595(1530)	835	340	470	265
$\text{Cu}(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2)_2\text{Cl}_2$	1590(1530)	830	310	450	270
$\text{Zn}(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2)_2\text{Cl}_2$	1590(1530)	840	330	465	—
$\text{Cd}(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_8)_2\text{Cl}_2$	1595(1530)	835	330	490	—

الأطيايف الإلكترونية والخصائص المغناطيسية والتوصيلية المولارية الكهربائية

أظهر الطيف الإلكتروني لليكاند المحضر حزمتي امتصاص تقع الأولى عند الموقع (240nm) والثانية عند الموقع (370nm) وتكون شدة الحزمة الثانية أعلى من الحزمة الأولى وجاء هذا متناسباً مع ما أشار إليه كل من (Gillam, Stern)^(٢٢)، حيث بينا أن الحزمة الأولى تنسب إلى جزء الثاوسيميكاربازايد أما الحزمة الثانية فتعزى إلى المجموعة (C=C-C=N).

ويمكن الاستعانة بنتائج الأطيايف الإلكترونية سوية مع قياسات الحساسية المغناطيسية وكذلك التوصيلية الكهربائية المولارية للتنبؤ بالشكل الهندسي للمعقدات المحضرة وبيّن الجدول (٣) مواقع حزم الامتصاص والانتقالات الإلكترونية العائدة للمعقدات المحضرة.

وقد ظهر في طيف^٢ معقد الكروم ذو الصيغة $[\text{CrLCl}_2]\text{Cl}$ الأخضر اللون حزمتي امتصاص عند المواقع (16583cm^{-1}) و (21141cm^{-1}) واللذان تعودان إلى الانتقاليين الإلكترونيين ${}^4\text{A}_2\text{g}^{\text{F}} \rightarrow {}^4\text{T}_1\text{g}^{\text{F}}$ و ${}^4\text{A}_2\text{g}^{\text{F}} \rightarrow {}^4\text{T}_2\text{g}^{\text{F}}$ وتمثل ν_2 , ν_1 على التوالي. أما بالنسبة للحزمة الثالثة (ν_3) فلم تظهر في الطيف ولكن يمكن استخراجها بتطبيق المعادلة $(15\text{B} = \nu_3 + \nu_2 - 3\nu_1)$ وكانت مساوية إلى (38556cm^{-1}) والتي تعود للانتقال الإلكتروني ${}^4\text{A}_2\text{g}^{\text{F}} \rightarrow {}^4\text{T}_1\text{g}^{\text{F}}$ حيث أن هذا الانتقال يحتاج إلى طاقة أعلى من بقية الانتقالات^(٢٤،٢٣). ومن خلال دراسات الحساسية المغناطيسية لمعقد الكروم الذي أظهر قيمة لعزم المغناطيسي العملي مقدارها (3.77 B.M) والتي تكون قريبة جداً من القيمة النظرية لعزم البرم للكروم ($\mu\text{s}.0=3.87\text{B.M}$) وهذه القيمة تدل على أن المعقد يكون بترتيب ثماني السطوح حول الفلز المركزي لأنه في حالة الترتيب رباعي السطوح (Tetrahedral) تكون قيمة العزم المغناطيسي العملي أكبر + من عزم البرم فقط نتيجة لوجود المساهمة الأوربيتالية للإلكترون المنفرد في^(٢٥). وبالاعتماد على هذه النتائج فضلاً عن قياس التوصيلية المولارية جدول (٤) والتي بينت بأن المعقد يسلك سلوك إلكتروني بنسبة ١:١ بالإضافة إلى نتائج تحديد نسبة الفلز باستخدام تقنية الامتصاص الذري والقياسات الأخرى تم التوصل إلى الصيغة

احمد حسين اسماعيل

التركيبية $[CrLCl_2]Cl$ ، وفيما يخص طيف معقد الكوبلت ذو اللون البني فقد أظهر ثلاثة حزم امتصاص عند المواقع cm^{-1} (20382, 16636, 12252) والتي تعود إلى الانتقالات الإلكترونية ${}^4T_1g^F \rightarrow {}^4T_2g^F$ و ${}^4T_1g^F \rightarrow {}^4A_2g^F$ و ${}^4T_1g^F \rightarrow {}^4T_1g^P$ وتمثل v_3, v_2, v_1 على التوالي. وهذه الانتقالات دليل على أن معقد الكوبلت الثنائي له شكل ثماني السطوح حيث تتميز معقدات الكوبلت الثمانية السطوح عن رباعية السطوح بتحرك الحزم الثلاثة باتجاه المنطقة تحت الحمراء عند نقصان $10Dq$ أو باتجاه المنطقة فوق البنفسجية عند ازدياد قيمة $10Dq$ فضلاً عن كون أطيايف معقدات الكوبلت الرباعية السطوح تمتاز بشدتها العالية وألوانها الكثيفة مقارنة مع معقدات الكوبلت ذات الترتيب ثماني السطوح حول الأيون الفلزي وتعطي الخواص المغناطيسية أيضاً أساليب مكملة للتمييز بين الأشكال الهندسية إذ يتوقع أن يعطي رمز الحالة الأرضية (T) لأيون ثماني السطوح مساهمة أوريبتالية لقيمة العزم المغناطيسي^(٢٦). وعلى هذا الأساس فقد أظهرت القياسات المغناطيسية عزماً مغناطيسياً مقداره (4.95B.M) والتي تشير إلى تناسق أيون الكوبلت بشكل ثماني السطوح وبحالة البرم العالي^(٢٧). والاستناد إلى هذه النتائج فضلاً عن قياس التوصيلية المولارية الكهربائية والتي بينت بأن المعقد غير إلكتروليتي بالإضافة إلى نتائج الامتصاص الذري جدول (٢)، فقد تبين بأن المعقد يمتلك الصيغة التركيبية $[CoLCl_2]$. أما بالنسبة للطيف الإلكتروني للنيل فقد أظهر معقده حزم امتصاص عند المواقع cm^{-1} (13122) و cm^{-1} (22324) والتي تعود إلى الانتقالات الإلكترونية ${}^3A_2g^F \rightarrow {}^3T_1g^F$ و ${}^3A_2g^F \rightarrow {}^3T_1g^P$ وتمثل v_3, v_2 على التوالي. أما بالنسبة للحزمة الأولى v_1 فلم تظهر في الطيف حيث تكون طاقتها واطئة ولكن حسب قيمتها من القانون $(15B = v_3 + v_2 - 3v_1)$ وكانت مساوية إلى $(9750cm^{-1})$ وتعود للانتقال الإلكتروني ${}^3A_2g^F \rightarrow {}^3T_2g^F$ ومن خلال قيمة العزم المغناطيسي المساوية إلى (2.95B.M) والتي تؤكد صفة البارامغناطيسية المعادلة لوجود إلكترونين بصورة منفردة. وتتفق هذه القيمة مع العديد من النتائج التي تم الحصول عليها من معقدات النيكل الثنائي ذات الترتيب الثماني السطوح^(٢٣،١١)، إذا ما قورنت مع معقدات النيكل ذات الترتيب المربع المستوي والتي تعطي قيمة للعزم المغناطيسي مقدارها صفراً^(٢٠،١٧). وبالاستناد إلى هذه النتائج بالإضافة إلى نتيجة التحليل الكمي للفلز باستخدام تقنية الامتصاص الذري اللهيبي جدول (٢) فضلاً عن نتائج قياسات التوصيلية المولارية جدول (٤) والتي بينت أن المعقد غير إلكتروليتي فقد تبين أن المعقد يمتلك الصيغة التركيبية $[NiLCl_2]$ ، هذا وقد لوحظ في طيف معقد النحاس ذو اللون الأخضر حزمة امتصاص عريضة تقع عند التردد $(14372cm^{-1})$ والتي تعود إلى الانتقال

الإلكتروني ${}^2E_g \rightarrow {}^2T_{2g}$ كما أظهرت القياسات المغناطيسية عزماً مغناطيسياً مقداره $(1.67B.M)$ وهي قريبة جداً من قيمة عزم البرم فقط $(M_S=1.73B.M)$ مما يدل على عدم وجود مساهمة أوربيثالية وبالتالي عدم وجود معقد رباعي السطوح الذي يحدث فيه مساهمة أوربيثالية. ومن خلال هذه القياسات فضلاً عن قياس التوصيلية الكهربائية المولارية جدول (٤) وقياس نسبة الفلز باستخدام تقنية الامتصاص الذري جدول (٢) تبين بأن المعقد يمتلك الصيغة $[CuLCl_2]$ ولكون معقدات الزنك والكاديوم تتميز بامتلاء أوربيثالات (d) للأيون الفلزي لذلك لا تظهر الانتقالات الإلكترونية من نوع (d-d) واستعويض بنتائج التحليل الدقيق للعناصر (C.H.N) وكذلك التحليل الكمي للفلز باستخدام تقنية الامتصاص الذري جدول (٢) فضلاً عن نتائج التوصيلية الكهربائية المولارية جدول (٤) التي بينت بأن المعقدات تسلك سلوك إلكتروني ساعد في التوصل إلى الصيغة التركيبية $[ZnL]Cl_2$ و $[CdL]Cl_2$

جدول (٤) نتائج الأطياف الإلكترونية والقياسات المغناطيسية والتوصيلية المولارية في مذيب ثنائي مثيل فورم أمايد والشكل المقترح

المركب	حزم cm^{-1} الامتصاص	تشخيص الانتقال	العزم المغناطيسي الفعال $\mu_{\text{s.o}}(\text{B.M})$	التوصيلية المولارية $\text{ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{mole}^{-1}$	الشكل المقترح
$\text{Cr}(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2)\text{Cl}_2\text{Cl}$	16583	${}^4\text{A}_2\text{g}^{\text{F}} \xrightarrow{\nu_1} {}^4\text{T}_2\text{g}^{\text{F}}$	3.77	61.38	o.h
	٢١١٤١	${}^4\text{A}_2\text{g}^{\text{F}} \xrightarrow{\nu_2} {}^4\text{T}_1\text{g}^{\text{F}}$			
	٣٨٥٥٦	${}^4\text{A}_2\text{g}^{\text{F}} \xrightarrow{\nu_3} {}^4\text{T}_1\text{g}^{\text{P}}$			
$\text{Co}(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2)\text{Cl}_2$	12252	${}^4\text{T}_1\text{g}^{\text{F}} \xrightarrow{\nu_1} {}^4\text{T}_2\text{g}^{\text{F}}$	4.95	4.15	o.h
	16636	${}^4\text{T}_1\text{g}^{\text{F}} \xrightarrow{\nu_2} {}^4\text{A}_2\text{g}^{\text{F}}$			
	20382	${}^4\text{T}_1\text{g}^{\text{F}} \xrightarrow{\nu_3} {}^4\text{T}_1\text{g}^{\text{P}}$			
$\text{Ni}(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2)\text{Cl}_2$	9750	${}^3\text{A}_2\text{g}^{\text{F}} \xrightarrow{\nu_1} {}^3\text{T}_2\text{g}^{\text{F}}$	2.95	2.5	o.h
	13122	${}^3\text{A}_2\text{g}^{\text{F}} \xrightarrow{\nu_2} {}^3\text{A}_2\text{g}^{\text{F}}$			
	22324	${}^3\text{A}_2\text{g}^{\text{F}} \xrightarrow{\nu_3} {}^4\text{T}_1\text{g}^{\text{P}}$			
$[\text{Cu}(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2)\text{Cl}_2]$	14372	${}^2\text{Eg} \longrightarrow {}^2\text{T}_2\text{g}$	1.73	0.35	o.h
$[\text{Zn}(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2)]\text{Cl}_2$	—	—	دايا مغناطيسية	141.5	t.h
$[\text{Cd}(\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_8)]\text{Cl}_2$	—	—	=	130.37	t.h

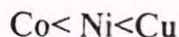
إيجاد الصيغة التركيبية للمعقدات

عرفت طرق عديدة لحساب نسبة فلز: ليكاند والتي تقود إلى معرفة الصيغة التركيبية للمعقدات الناتج اعتمدت أغلبها على دراسات الأشعة فوق البنفسجية المرئية لمحاليل المعقدات الكلتيية ومن هذه الطرق طريقة النسب المولية (Molar- Ratio method) والمقدمة من الباحثين يو وجون (Yao, June)^(٢٨) وكذلك طريقة المتغيرات المستمرة (Continuous Variation method) والتي قدمها جوب وهورت من قبل (Vosbury & Cooper)^(٢٩) والمعتمدة في هذا البحث . حيث استخدمت هذه الطريقة لإيجاد الصيغة التركيبية للمعقدات المحضرة وكذلك لحساب ثابت تكوين قسم من هذه المعقدات^(٣٠) جدول (٥) وتتضمن هذه الطريقة تحضير محلولين لهما نفس التركيز من الليكاند والفلز، ثم يتم مزج هذين المحلولين بنسب حجمية مختلفة على أن يكون الحجم النهائي متساوي في كل مرة، ويرسم منحنى بين الامتصاصية وبين النسب الحجمية في طول موجي مناسب. ويمثل الخ المستقيم النازل في منطقة تقاطع المستقيمين المرسومين النسبة الحجمية (VL/VM) حيث (VL = حجم محلول الليكاند، VM = حجم محلول الفلز) وهي مساوية للنسبة المولية التي يكون عندها المعقد. وعند مقارنة النتائج المستحصل عليها بهذه الطريقة، مع النتائج المستحصلة من تحليل المعقدات المعرذولة بالحالة الصلبة- كانت نتائج المقارنة مطابقة تقريباً.

جدول (٥) قيم K_f لبعض المعقدات المحضرة

Compound	K_f
[Cu(FuTSC) Cl ₂]	$٢,٤ \times 10^3$
[Ni(FuTSC) Cl ₂]	$١,٧ \times 10^3$
	٦
[Co(FuTSC) Cl ₂]	$١,٢ \times 10^3$

ومن خلال النتائج التي حصلنا عليها والموضحة في الجدول (٥) نرى أن قيم K_f تزداد من الكوبلت إلى النحاس وهذه النتيجة متفقة مع النتائج العملية لسلسلة أرفنج وليامز^(٣١) Irving-Williams series of stability حيث تدرج ثوابت تكوين المعقدات للأيونات الفلزية ثنائية الشحنة الموجبة حسب للترتيب الآتي:



References:

- 1- P. L. Maurya, B. V. Agarwal and Arun, K. Dey, J. Indian Chem. Soc., 55, 418, (1978) .
- 2- B. Singh and H. Misra, J. Indian Chem. Soc., LXIII, 692m (1986) .
- 3- B. Singh and H. Misra, J. Indian Chem. Soc. LXIII, 1069, (1986) .
- 4- R. A. Haines ,and K. K. W. Sun. Canadian. Journal of Chemistry, 46, 3241, (1968) .
- 5- R. K. Agarwal, H. Agarwal and I. Chakraborti, Qatar Univ. Sci. J., 14, (C), 92,(1994) .
- 6- J. Casas. M. A. Rodriguez, U. Russo, A. Sanchez., J. Sordó, A. L. Vazquez., S. Rinelli, P. Lunghi, A. Bonati and R. Albertini, J. Inorg. Biochem., 69, 283, (1998.)
- 7- A. Quirogia, J. Pereze, E. Montero, J. Masaguer, C. Alonso and C. R. Nararro, J. Inorg. Biochem., 70, 117, (1998) .
- 8- A. Quirogia, J. Perez, I. S. Lopez, I. S. Lopez, E. Montero, J. Masagner, C. Alonso, and C. R. Navarro, J. Inorg Biochem., 69, 275, (1998.)
- 9- A.I.Vogel " Practical Organic Chemistry 3rd Ed . (1972)
- 10- C. B. Mahto, J. Indian Chem. Soc., 58, 935, (1981) .
- 11- V. J. Babar, D. V. Khasnis and V. M. Shinde, J. Indian Chem. Soc., 58, 970, (1978) .
- 12- P. L. Maurya, B. V. Agarwal and A. K. Bey, Polym, Bull., 1, 631, (1979) .
- 13- B. Dash and S. K. Mahapatra, J. Inorg. Nucl. Chem., 37, 271, (1975) .
- 14- N. C. Mishra, J. Indian Chem. Soc., 55, 839, (1978) .
- 15- J. R. Ferraro and W. R. Walker, Inorg Chem., 4, 1382, (1967.)
- 16- M. M., Mostava, A. M. Shallaby and A. A. el-Asmy, J. Inorg. Nucl. Chem., 43, 2992, (1981.)
- 17- C. B. Mahto, J. Indian Chem. Soc., 57, 481, (1980) .
- 18- J. R. ferar, L. J. Basile and D; L. Kouailk, Inorg Chem.. 5 , 391 , (1966) .

- 19- M. goldstien, E. F. Mooney, A. Anderson and H. A. Gebbie, Spectrochem, Acta., 21, 105, (1965).
- 20- T. Whyman and W. E. Hatfield, Inory. Chem., 6, 1859, (1967)
- 21- G. E. Coates and D. Ridley, J. Chem. Soc., 166, (1964).
- 22- A. E. Gillam and E. S. Stern, "An Introduction to the electronic Absorption spectroscopy" 2nd Ed. Edward Arnold Ltd., London, 150, 115, (1957.)
- 23- M. S. Patial and J. T. Shah, J. J. Indian Chem. Soc., 58, 944, (1981) .
- 24- A.B. P. Lever, "Inorganic Electronic Spectroscopy", Amsterdam, London, (1968.)
- 25- N. David In "Complexes and First Row Transition Elements" Translated by W. I., Azeez (1984).
- 26- N. N. Greenwood and A. Eamshaw, "Chemistry of the Elements" Pergamon Press, (1986).
- 27- D. Nicholas, Pergamon Texts in Inorganic Chemistry Pergamon Press, Oxford. 1st Ed., 24, 1087-1090, 1152-1154m (1973.)
- 28- J.H. Yoe and A.L. Jone, Ind Eng- Chem, Anal Ed, 161, 11, (1944)
- 29- V.G. Vosburgh and G.R. Cooper, J. Am Chem . Soc., 63, 437, (1941)
- 30- D. A. Skoog " Fundamentals of Analytical Chemistry" 5th Ed. New York, 87, 24411, (1988)
- 31- J. E. Huheey " Inorgaic Chemistry, Principles of Stucture and Reactivity" Ed. Harpar and Row New York . P . 119, 421 – 425, (1983) .

حساب سمك السحابة في المادة ما بين النجوم

ليث محمود كريم د. هزار عبد الغني يوسف الملاح

جامعة بغداد - كلية العلوم - قسم الفلك - بغداد - العراق

الجامعة المستنصرية - كلية العلوم - قسم علوم الجو - بغداد - العراق

المقدمة

تحتوي مجرة درب التبانة إضافة إلى مكوناتها الرئيسية على الغازات و العوالق الترابية الهائلة، و تشكل هذه الغازات و العوالق الترابية حوالي ١٠% إلى ١٢% من كتلة المجرة (١) و ان أغلبها متجمع في تشكيلات كونية ضخمة مشابهة لسحب ضخمة جداً تدعى بالسدم و التي توجد على الأغلب في الأذرع الحلزونية للمجرة.

ان المنطقة الكثيفة من السحب تدعى بسمك السحابة (٢)، ان هذا السمك أت من عدد كثافة أي من العناصر المتعادلة التي هي خاضعة لعوامل الاستنزاف، لذا فلحسابه يجب معرفة كثافة عمود أحد العناصر المتعادلة.

من ضمن العناصر التي وجدت في المادة ما بين النجوم و بصيغتها المتعادلة عنصر البوتاسيوم (٣) لذا سنستخدم هذا العنصر لحساب سمك السحابة.

شافي و وايت (٢) وجد ان سمك السحابة يتناسب عكسياً مع مربع كثافة الهيدروجين الكلي (n)، أو مع مربع الكثافة الإلكترونية (n_e) ثم حسب سمك السحابة (L) فوجدناها تساوي:-

لمنطقتي (Sco-Oph):-

$$\log L = -1.79P_c \Rightarrow L = 4.997 \times 10^{16} \text{cm}$$

و للنجوم الأخرى:-

$$\log L = 0.20P_c \Rightarrow L = 4.883 \times 10^{18} \text{cm}$$

الملاح (٤) وجدت ان سمك السحابة يتناسب عكسياً مع كثافة الهيدروجين الكلي (n)، أو مع الكثافة الإلكترونية (n_e) و ليس مع مربعهما ثم حسب سمك السحابة (L) فوجدتها تساوي (L = 5.2x10²⁰ cm) لمنطقتي (Sco-Oph) و تساوي (L = 2.45x10²¹) للمناطق الأخرى.

النظرية

ان علاقة كثافة عمود البوتاسيوم المتعادل مع كثافة الهيدروجين الكلي هي (٤، ٥، ٦):-

$$N(KI) = N A_k \delta_k r A_c \delta_c \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o} \right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k \text{-----} (1)$$

حيث:-

$N(KI)$ كثافة عمود البوتاسيوم المتعاد.

$N(HI+HII)$ كثافة الهيدروجين الكلي

A_K نسبة التواجد الشمسي لعنصر البوتاسيوم.

δ_K عامل استنزاف البوتاسيوم.

Γ نسبة الكثافة الالكترونية إلى تلك التي للكربون.

A_C نسبة التواجد الشمسي لعنصر الكربون.

δ_C عامل استنزاف الكربون.

α_K معدل إعادة الترابط الضوئي لعنصر البوتاسيوم.

Γ_K معدل التأين الضوئي الموضعي لعنصر البوتاسيوم.

$(\Gamma_o/\Gamma)_K$ التوهين فوق البنفسجي لعنصر البوتاسيوم.

و ان علاقة كثافة عمود الهيدروجين الكلي مع كثافة الهيدروجين الكلي هي (٢):-

(2)-----

$$N = nL$$

حيث:-

n كثافة الهيدروجين الكلي.

L سمك السحابة.

و بتعويض معادلة (٢) بمعادلة (١) ينتج:-

$$N(KI) = nL A_k \delta_k r A_c \delta_c \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o} \right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k \quad (3)-----$$

و باستخدام المعادلة الآتية (٢):-

$$n = \frac{n_c}{r A_c \delta_c} \quad (4)-----$$

و بتعويض معادلة (٤) بمعادلة (٣) ينتج:-

$$N(KI) = n_c L A_k \delta_k \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o} \right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k \quad (5)-----$$

$$\therefore L = \frac{N(KI)}{n_c A_k \delta_k \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o} \right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k} \quad (6)-----$$

و بتعويض معادلة (٤) بالمعادلة (٣) ينتج و ترتيبها ينتج:-

$$L = \frac{N(KI)}{r A_c \delta_c^n A_k \delta_k \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o}\right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma}\right)_k} \quad (7)$$

و من معادلة (٢) يمكن كتابة:-

$$L = \frac{N}{n} \quad (8)$$

ان المعادلات (٦) و (٧) و (٨) هي ثلاث معادلات يمكن من خلالها حساب سمك السحابة في المادة ما بين النجوم.

الحسابات و النتائج

للحصول على قيمة (L) اتبعنا الطرائق الآتية:-

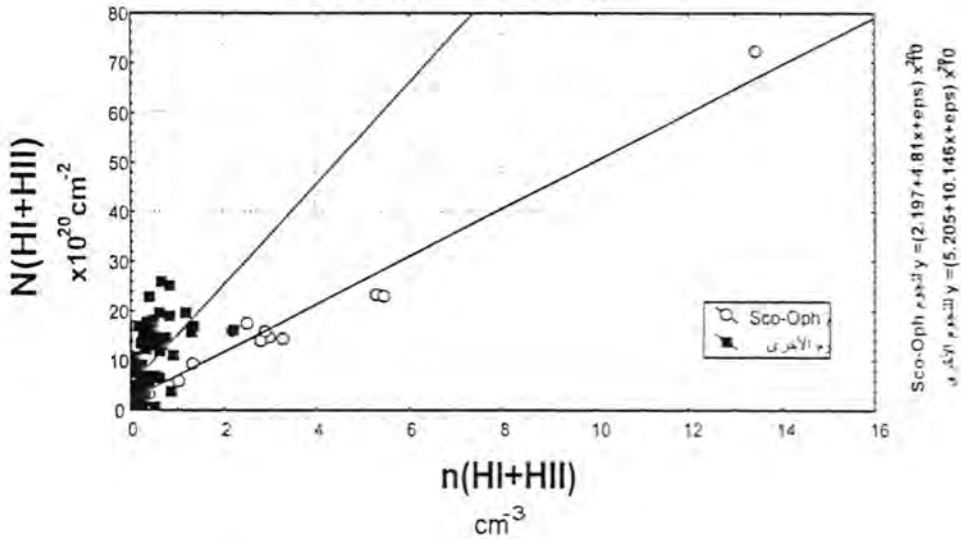
١. الحصول على قيمة (L) من العلاقة (٨):-

١. تم رسم علاقة بين قيم (N) و قيم (n) المأخوذتين من بولين و آخرين (٧) حيث تم

الحصول على ملائمة المربع الأقل و كما مبين بالشكل (١).

٢. أخذ الميل للمنحني لحساب قيمة (L) و كان يساوي:-

علاقة عمود كثافة الهيدروجين مع كثافة الهيدروجين الكلي



شكل (١): يبين علاقة عمود كثافة الهيدروجين مع كثافة الهيدروجين الكلي

ليث محمود كريم و هزار عبد الغني

٣. ان نجوم مجموعتي (Sco-Oph) أبدت شذوذاً بقيمة (L) حيث كانت تساوي:-

$$L = 4.81 \times 10^{20} \text{ cm} \text{-----(10)}$$

ب. الحصول على قيمة (L) من معادلة (٧):-

١. تم رسم العلاقة بين قيم [N(KI)] المأخوذة من كل من هوبس (٨، ٩، ١٠، ١١) و قيمة ρ

(Oph) من كروتشر (١٢) و شافي و وايت (٢) و حسب توفر البيانات ثم حسب المعدل لها، و قيم (n)

المأخوذة من بولين و آخرين (٧) و كما مبين بالشكل (٢).

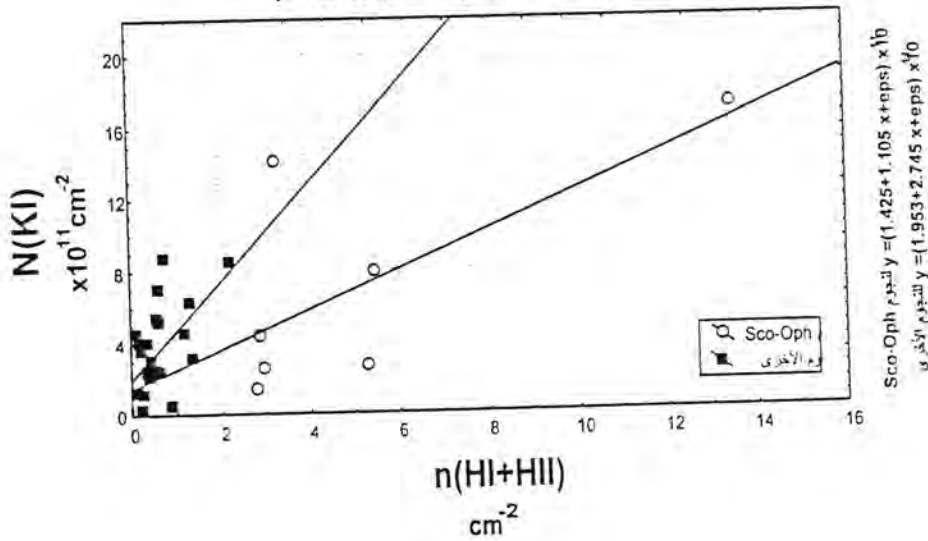
٢. أخذ الميل للمنحني بعد الحصول على ملائمة المربع الأقل و كان يساوي:-

$$\frac{N(KI)}{n} = 2.745 \times 10^{11} \text{ cm} \text{-----(13)}$$

ان حساب نسب كثافة عمود عنصر إلى كثافة عمود عنصر آخر من قبل شافي و وايت (٢). و بالتعويض بمعادلة (٧) ينتج:-

$$\therefore L A_k \delta_k r A_c \delta_c \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o} \right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k = 2.745 \times 10^{11} \text{ cm} \text{-----(14)}$$

علاقة عمود كثافة البوتاسيوم المتعادل مع كثافة الهيدروجين الكلي



شكل (٢): يبين علاقة عمود كثافة البوتاسيوم المتعادل مع كثافة الهيدروجين الكلي

$$\therefore L \delta_k r \delta_c = \frac{2.745 \times 10^{11}}{A_k A_c \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o} \right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k} \text{-----(15)}$$

٣. تم حساب قيم (A_K) و (A_C) اعتماداً على معطيات التواجد الشمسي للبتاسيوم و الكربون من هيج و إنكفولد (١٣) و كما يأتي:-

$$A_k = 10^{K-H}$$

حيث:-

(K) التواجد الشمسي للبتاسيوم.

(H) التواجد الشمسي للهيدروجين.

$$\therefore A_k = 10^{5.2-12} = 10^{-6.8} = 1.5848 \times 10^{-7} \text{-----(16)}$$

$$A_c = 10^{C-H}$$

حيث:-

(C) التواجد الشمسي للكربون.

$$\therefore A_c = 10^{8.4-12} = 10^{-3.6} = 2.5118 \times 10^{-4} \text{-----(17)}$$

٤. قيمتي (α) و (Γ_o) للبتاسيوم (٢) هما $(6.6 \times 10^{-12} \text{ s}^{-1})$ عند (77°K) و $(54 \times 10^{-12} \text{ s}^{-1})$ على التوالي.

٥. بالتعويض عن قيمة (A_K) من معادلة (١٦) و عن قيمة (A_C) من معادلة (١٧) و عن

قيمتي (α) و (Γ_o) للبتاسيوم من فقرة (٤) في المعادلة (١٤) ينتج:-

$$L \delta_k \delta_c r \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k = \frac{2.745 \times 10^{11}}{1.5848 \times 10^{-7} \times 2.5118 \times 10^{-4} \times \frac{6.6 \times 10^{-12}}{54 \times 10^{-12}}} = 5.642 \times 10^{22} \text{-----(18)}$$

و باستخدام المعادلتين (٦):-

$$\delta_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k = 520.483 \times 10^{-3} \text{-----(19)}$$

$$\therefore r \delta_c = 103.858 \text{-----(20)}$$

و تعويضهما بمعادلة (١٨) ينتج:-

$$L = \frac{5.642 \times 10^{22}}{\delta_k \delta_c r \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k} = \frac{5.642 \times 10^{22}}{520.483 \times 10^{-3} \times 103.858} = 1.044 \times 10^{21} \text{-----(21)}$$

ليث محمود كريم و هزار عبد الغني

٦. لقد أبدت نجوم المجموعتين (Sco-Oph) شذوذاً بالعلاقة و كان ميل المنحني لها

يساوي:-

$$\frac{N(KI)}{n} = 1.105 \times 10^{11} \text{ cm} \text{-----}(22)$$

و بالتعويض بمعادلة (٣) ينتج:-

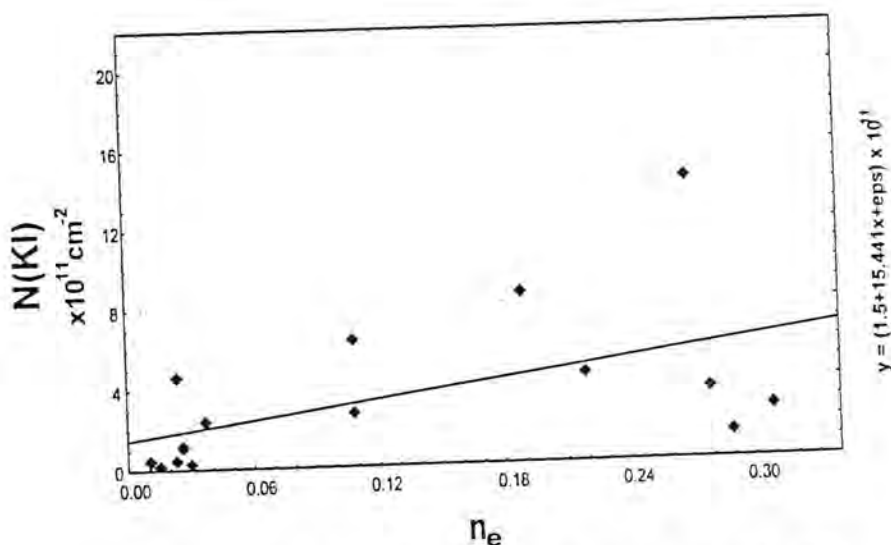
$$L A_k \delta_k r A_c \delta_c \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o} \right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k = 1.105 \times 10^{11} \text{-----}(23)$$

و بالتعويض عن قيمة (A_k) من معادلة (١٦) و عن قيمة (A_c) من معادلة (١٧) و عن قيمتي (α) و (Γ_o) للبيوتاسيوم من فقرة (٤) و عن قيمة $[\delta_k(\Gamma_o/\Gamma)_k]$ من معادلة (١٩) و عن قيمة $(\delta_c r)$ من معادلة (٢٠) ينتج:-

$$L = \frac{1.105 \times 10^{11}}{1.5848 \times 10^{-7} \times 2.5118 \times 10^{-4} \times 103.858 \times 520.483 \times 10^{-3} \times \frac{6.6 \times 10^{-12}}{54 \times 10^{-12}}} = 4.202 \times 10^{20} \text{ cm} \text{---}(24)$$

ج. الحصول على قيمة (L) من معادلة (٥):-

١. تم رسم العلاقة (٥) حيث أخذت قيم $[N(KI)]$ كما في الفقرة (ب) و قيم (n_e) من شافي و وايت (٢) و كما مبين بالشكل (٣).



شكل (٣): يبين علاقة عمود كثافة البيوتاسيوم المتعادل مع الكثافة الإلكترونية

٢. تم أخذ الميل للمنحني بعد الحصول على ملائمة المربع الأقل و كان يساوي:-

$$\frac{N(KI)}{n_e} = 15.441 \times 10^{11} \text{ cm} \text{-----}(25)$$

$$\therefore L A_k \delta_k \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o} \right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k = 1.5441 \times 10^{12} \text{ cm}$$

$$\therefore L = \frac{1.5441 \times 10^{12}}{A_k \delta_k \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o} \right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k} \text{-----}(26)$$

و بالتعويض عن قيمة (A_k) من معادلة (١٦) و عن قيمتي (α) و (Γ_o) للبتواسيوم من فقرة (٤) و عن قيمة $[\delta_k(\Gamma_o/\Gamma)_k]$ من معادلة (١٩) ينتج:-

$$L = \frac{1.5441 \times 10^{12}}{1.5848 \times 10^{-7} \times \frac{6.6 \times 10^{-12}}{54 \times 10^{-12}} \times 520.483 \times 10^{-3}} = 1.532 \times 10^{20} \text{ cm} \text{-----}(27)$$

مناقشة و تقييم نتائج قيم (L)

نلاحظ ان القيمتين المحصلتين لـ (L) بالطريقتين (أ) و (ب) للنجوم متوافقتان مع بعضهما مع وجود فرق سببه وجود الأخطاء التجريبية بالقيم و يبلغ معدل قيمة (L) لهاتين الطريقتين (L) $= 1.030 \times 10^{21} \text{ cm}$ و هي تبلغ نصف قيمة النتيجة المحصلة من قبل الملاح(٤) و البالغة (L) $= 2.45 \times 10^{21} \text{ cm}$ ان النتيجة المحصلة بهذا البحث أكثر دقة نتيجة استخدام ملائمة المربع الأقل للمنحنيات، أما بالنسبة لقيم منطقتي (Sco-Oph) بالطريقتين أعلاه فنراها تختلف عن نتيجة باقي النجوم لكنهما متوافقتان مع بعضهما وتبلغ محصلتهما (L) $= 4.506 \times 10^{20} \text{ cm}$. ان القيمة المحصلة بالطريقة (ج) نجدها متوافقة مع قيمتي منطقتي (Sco-Oph) حيث تبلغ (L) $= 1.532 \times 10^{20} \text{ cm}$ بالرغم من انحرافها عنهما قليلاً، أسباب انحراف الطريقة (ج) لتصبح متوافقة مع منطقتي (Sco-Oph) هي:-

١. وجود أخطاء تجريبية كبيرة في قيم (n_e) و التي تحتاج لبيانات كثيرة لإلغاء تأثير الواحد للأخرى.

٢. ان خمسة من هذه النجوم من أصل خمسة عشر نجماً هي ضمن منطقة (Sco-Oph) و التي تظهر شذوذاً بالقيم كما لاحظنا بالطريقتين (أ) و (ب).

٣. ان نجمين من هذه النجوم الخمسة عشر قد أختيرا من قبل شافي و وايت(٤) لامتلاكهما أشكال امتصاص مهيمنة.

ليث محمود كريم و هزار عبد الغني

٢. تم أخذ الميل للمتحنى بعد الحصول على ملائمة المربع الأقل و كان يساوي:-

$$\frac{N(KI)}{n_c} = 15.441 \times 10^{11} \text{ cm} \text{-----(25)}$$

$$\therefore L A_k \delta_k \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o} \right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k = 15.441 \times 10^{12} \text{ cm}$$

$$\therefore L = \frac{1.5441 \times 10^{12}}{A_k \delta_k \left(\frac{\alpha}{\Gamma_o} \right)_k \left(\frac{\Gamma_o}{\Gamma} \right)_k} \text{-----(26)}$$

و بالتعويض عن قيمة (A_k) من معادلة (١٦) و عن قيمتي (α) و (Γ_o) للبولتاسيوم من فقرة (٤) و عن قيمة $[\delta_k(\Gamma_o/\Gamma)_k]$ من معادلة (١٩) ينتج:-

$$L = \frac{1.5441 \times 10^{12}}{1.5848 \times 10^{-7} \times \frac{6.6 \times 10^{-12}}{54 \times 10^{-12}} \times 520.483 \times 10^{-3}} = 1.532 \times 10^{20} \text{ cm} \text{-----(27)}$$

مناقشة و تقييم نتائج قيم (L)

تلاحظ ان القيمتين المحصلتين لـ (L) بالطريقتين (أ) و (ب) للنجوم متوافقتان مع بعضهما مع وجود فرق سببه وجود الأخطاء التجريبية بالقيم و يبلغ معدل قيمة (L) لهاتين الطريقتين $(L = 1.030 \times 10^{21} \text{ cm})$ و هي تبلغ نصف قيمة النتيجة المحصلة من قبل الملاح (٤) و البالغة $(L = 2.45 \times 10^{21} \text{ cm})$ ان النتيجة المحصلة بهذا البحث أكثر دقة نتيجة استخدام ملائمة المربع الأقل للمنحنيات، أما بالنسبة لقيم منطقتي (Sco-Oph) بالطريقتين أعلاه فتراها تختلف عن نتيجة باقي النجوم لكنهما متوافقتان مع بعضهما و تبلغ محصلتهما $(L = 4.506 \times 10^{20} \text{ cm})$. ان القيمة المحصلة بالطريقة (ج) نجدتها متوافقة مع قيمتي منطقتي (Sco-Oph) حيث تبلغ $(L = 1.532 \times 10^{20} \text{ cm})$ بالرغم من انحرافها عنهما قليلاً، أسباب انحراف الطريقة (ج) لتصبح متوافقة مع منطقتي (Sco-Oph) هي:-

١. وجود أخطاء تجريبية كبيرة في قيم (n_c) و التي تحتاج لبيانات كثيرة لإلغاء تأثير الواحدة الأخرى.

٢. ان خمسة من هذه النجوم من أصل خمسة عشر نجماً هي ضمن منطقة (Sco-Oph) و التي تظهر شذوذاً بالقيم كما لاحظنا بالطريقتين (أ) و (ب).

٣. ان نجمين من هذه النجوم الخمسة عشر قد أختيرا من قبل شافي و وايت (٤) لامتلاكهما أشكال امتصاص مهيمنة.

الاستنتاجات

١. يتناسب سمك السحابة (L) عكسياً مع كثافة الهيدروجين الكلي (n).
٢. كذلك يتناسب سمك السحابة عكسياً مع الكثافة الالكترونية.
٣. تعاني نجوم منطقتي (Sco-Oph) شذوذاً بحساب سمك السحابة حيث تتحرف القيمة لهما عن قيمة النجوم الأخرى.

المصادر

١. النجم، ف. و النعيمي، ح.م.،: ١٩٨١، فيزياء الجو و الفضاء، الجزء الثاني (علم الفلك)، العراق.
2. Chaffee, F.H. and White, R.E.,: 1982, Ap. J. Suppl. Series, **50**, 169.
3. Hoyle, F. and Wichramasinghe, N.C.,: 1984, Ap. Sp. Sc., **103**, 65.
٤. الملاح، ه.ع.ي.،: ١٩٩٦، حساب عمود كثافة البوتاسيوم المتعادل في المادة ما بين النجوم باتجاه النجوم نوع (O,B). رسالة تم تقديمها إلى كلية العلوم الجامعة المستنصرية كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير علوم في الفيزياء.
٥. كريم، ل.م. و الملاح، ه. ع. ي.،: ٢٠٠١، المجلة العراقية للعلوم، **٤٤٢**، ١.
٦. كريم، ل.م. و الملاح، ه. ع. ي.،: ٢٠٠٢، المجلة العراقية للعلوم، قدمت.
7. Bohlin, R. C., Savage, B. D., and Drake, J. F.: 1978, Ap. J., **224**, 132.
8. Hobbs,: 1974a, Ap. J. (Letters), **188**, L67.
9. Hobbs,: 1974b, Ap. J., **191**, 381.
10. Hobbs,: 1975, Ap. J., **200**, 621.
11. Hobbs,: 1976, Ap. J., **203**, 143.
12. Crutcher,: 1978, Ap. J., **219**, 72.
13. Hauge, Φ. And Engvold O.,: 1977 "Compilation of Solor Abundance Data", Institute of Theoretical Astrophysics, Report No. **49**, Blindern, Oslo, Norway.