

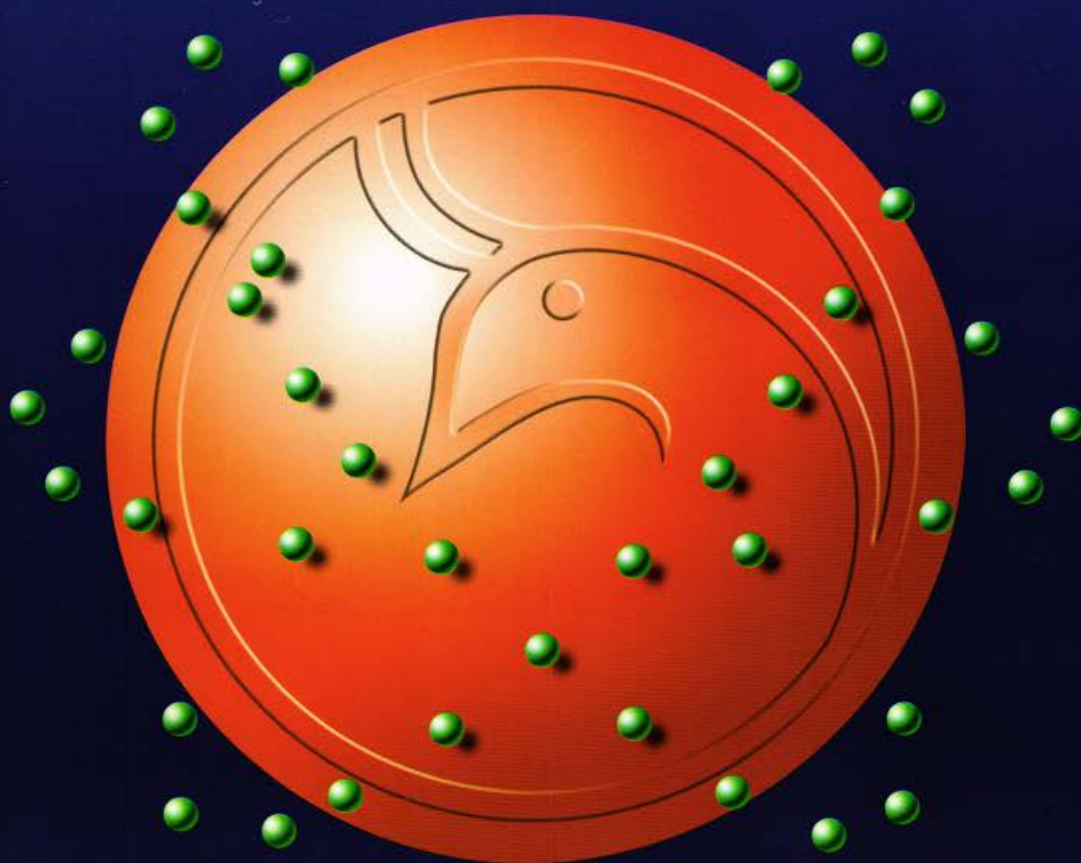


Al-Mustansiriyah

ISSN 1814 - 635X

Journal of Science

Vol. 18, No. 2, 2007



Issued by College of Science - Mustansiriyah University

AL- MUSTANSIRYA JOURNAL OF SCIENCE

Head Editor
Prof. Dr. Redha I. AL-Bayati

General Editor
Dr. Ikbal khider Al- joofy

Editorial Board

Dr. Najat Jawed AL - Obaidi

Member

Dr. Kais Jamel Latif

Member

Dr. Iman Tarik Al -Alawy

Member

Dr. Majid M. Mahmood

Member

Dr. Inaam A- Malloki

Member

Dr. Dr. ZEKI S. TOWFIK

Member

INSTRUCTION FOR AUTHORS

1. The journal accepts manuscripts in Arabic and English languages. Which had not been published before.
2. Author (s) has to introduce an application requesting publication of his manuscript in the journal. Four copies (one original) of the manuscript should be submitted. Should be printed by on the computer by lasser printer and re produced on A4 white paper in three coppice with flopy disc should be also submitted.
3. The title of the manuscript together with the name and address of the author (s) should typed on a separate sheet in both Arabic and English. Only manuscript,s title to be typed again with the manuscript.
4. For manuscripts written in English, full name (S) of author (s) and only first letters of the words (except prepositions and auxiliaries) forming title of the manuscript should be written in capital letters. Author (s) address (es) to be written in small letters.
5. Both Arabic and English abstracts are required for each manuscript. They should be typed on two separate sheets (not more then 250 words each).
6. Figures and illustrations should be drawn using black China ink on tracing papers. Two photocopies (Plus original) of each diagram should be submitted. Captions to figures should be written on separate papers. The same information should not be repeated in tables unless it is necessary and required in the discussion.
7. References should be denoted by a number between two bracket on the same level of the line and directly at the end of the sentence. A list of references should be given on a separate sheet of paper, following the intemational style for names and abbreviations of journals.
8. Whenever possible, research papers should follow this patten: INTRODUCTION, EXPERIMENTAL (MATERIALS AND METHODS), RESULTS, DISCUSSION and REFERENCES. All written in capital

letters at the middle of the page. Without numbers or underneath lines.

9. The following pattern should be followed upon writing the references on the reference sheet: Sumame (s), initials of author (s), title of the paper, name or abbreviation of the journal, volume, number, pages and (Year). For books give the author(s) name(s), the title, edition, pages, publisher, place of publication and (Year).
10. A publication fees in the amount of ID. 20 thousand is charged upon a Reciepet of the paper and 20 thousand upon the acceptance for publication for their ID. 40 thousand should be paid for the editorial board.

CONTENTS

ITEM	Page No.
The Inhibitory Effect of Some Probiotic on Some Diarrhea Causing Pathogens Kawther H.Ibrahim AL- Bajelan	1-12
Effect of Esculetin Treatment on Cytotoxic T- Lymphocytes in Vitro Khednir Hassan Ali Al-Jorany	13-20
Interleukin-6 Estimation in the Sera of Iraqi Diabetic Patients 1-Samira N. Al-Naem 2-Rajwa H. E'sa -3-Batool A. Al-Haidary	21-31
Synthesis of New Derivatives for 5-Triazolo-[3,4-b]- Thiazolidine-4-one Suad J. Lafta	32-37
<i>Synthesis of New 3,4-Dihydropyrimidine-2-(1H)-one Derivatives</i> Redha I. H. AL-Bayati - Suad J. Lafta - Sahar A. AL-Rikabi	38-50
Study The Parameters of The Semiconductor Laser and Its Application In The Design of Laser Levelling System 1-Ziad T. Al-Dahan 2-Ibrahim R. Agool 3-Hanan A. Naif	51-67
Excited State Absorption and Saturation Behaviour of Saturable Absorber BDN-I in Chloroform and Benzene 1- Abdul-Munim, K Al-Kamil, 2-Muhammed, A.N. Al-Nesearawi	68-74
Singularities of Cubic Vector Fields on the Plane Abbas F. A. AL-shimmar	75-84

The Inhibitory Effect of Some Probiotic on Some Diarrhea Causing Pathogens

Kawther H.Ibrahim AL- Bajelan Dept.of Microbiology.College of Science AL- Mustansiriya University

تاريخ تقديم البحث: 2006/8/30 تاريخ قبول البحث: 2007/4/3

الخلاصة

شملت الدراسة التحري عن الفعالية التثبيطية لبعض المعززات الحيوية *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidiobacterium bifidium*, *Saccharomyces boulardii* ضد بعض البكتيريا المعوية وخاصة البكتيريا السالبة لصبغة كرام *Saccharomyces cerevisiae*, *E.coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhimurium* أظهرت نتائج فحص الحساسية للعزلات البكتيرية مقاومتها لمضاد الاميسلين بنسبة (100%) ، اموكسيلين بنسبة (83%)، ولمضاد التتراسايكلين والميثوبريم (75%)، واما الكلورامفينيكول فكانت نسبة مقاومة العزلات له (50%) فيما كانت العزلات البكتيرية حساسة لمضاد الناليدكسك اسد ونوميسين بنسبة (83%) والسيفوتاكسيم بنسبة (66%). تم تنمية عزلات المعززات الحيوية في اوساطها الزرعية السائلة (GlucoseYeastExtractPepton and ManRogosaSharpe broth media) خلال فترات زمنية مختلفة (24،48،72) ساعة بغية الحصول على افضل تأثير تثبيطي، تم الحصول على رواشحها التي ركزت لمرة واحدة ولمرتين، كما تمت دراسة تأثير هذه الرواشح في نمو عزلات البكتيريا قيد الدراسة. أظهرت النتائج ان للرواشح الغير المركزة لعزلات المعززات الحيوية تأثير تثبيطي قليل او معدوم ضد عزلات البكتيريا خلال فترات الحضان المختلفة، في حين ادى تركيز هذه الرواشح لمرة واحدة ولمرتين الى اظهار فعاليتها التثبيطية اتجاه عزلات البكتيريا ، كما عدت فترة الحضان (48) ساعة كافضل فترة زمنية تحتاجها المعززات الحيوية لتحفيز إنتاج المواد المثبطة.

ABSTRACT

The study included detecting the antimicrobial activity of some probiotics (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidiobacterium bifidium*, *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*) against some enteric bacteria especially G-ve bacteria (*E. coli*, *Shigella flexneri* and *Salmonella typhimurium*).

Susceptibility test of bacterial isolates to some antibiotics showed a considerable resistance to Ampicillin (100%), Amoxillin (83%), Tetracycline, Trimethoprim (75%) and Chloramphenicol (50%). as well as they were sensitive to Nalidixic acid and Neomycin (83%) and Cefotaxime (66%). To detect the best incubation time which gives the highest inhibitory effect, probiotic isolates were grown in (GlucoseYeast Extract Pepton and Man Rogosa Sharpe broth

media) for various incubation periods(24,48 and 72hrs.) to obtain the highest inhibitory effect to the probiotic filtrates and their concentrates on bacterial growth.

The result showed incubation period of (48hrs.) was the best incubation period for probiotic to produce inhibitory materials against bacterial isolates under this study while their concentrated filterates (1,2 folds) exhibited the best inhibitory effects than unconcentrated filterates.

INTRODUCTION

In developing countries, incidence of infectious diarrhea is very high due to poor sanitation and nutrition. Diarrhea is a common gastrointestinal problem, but an inexpensive and effective probiotic also has a value. Probiotics have been shown to reduce the incidence of diarrheal episodes and facilitate the recovery when used as an adjunct to oral rehydration therapy for acute diarrhea (1)

Elie metchnikoff was first introduced the probiotic concept in 1908, which observed the long life of Bulgarian who consumed fermented milk food(2).

The term "probiotic" was originally used by Lilley and still in 1965 for substance that stimulates other microorganism growth (3), while Fuller defined probiotics as alive microbial feed supplement that beneficially effects the host beyond correcting for traditional nutrient deficiencies by improving the intestinal balance(4).

The term probiotic was derived from the Greek meaning "for life" or "friendly bacteria"(5). Functional foods and nutraceuticals can prevent and treat diseases, yogurt and other fermented milks containing probiotics may be considered the first functional food. The most frequently probiotic used (bacteria and yeasts) include the *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Saccharomyces*(6)

These organisms are non pathogenic and toxigenic, retain viability during storage and survive passage through the stomach and small bowel(7). The beneficial effects of probiotic consumption are including promotion recovery from diarrhea positive influence on intestinal flora, inhibition of pathogen growth, prevention of intestinal tract infections and stimulation of gastrointestinal immunity(8). But et al.(9) have shown that oral ingestion of *Saccharomyces cerevisiae* by human volunteers resulted in marked increases in the specific and total activities of brush border membrane disaccharidases.

One well-known mode of action of probiotics is their antagonistic activity against intestinal pathogens, also called bacterial

interference, this activity may be due to the production of specific antimicrobial substance such as bacteriocins or microcins(10).

Probiotics have been studied in the prevention and treatment of traveler's diarrhea, as well as the treatment of Crohn's disease-associated diarrhea, AIDS-associated diarrhea and acute diarrhea(11). *Saccharomyces boulardii* or *Saccharomyces cerevisiae*, a commercial bakers yeast was used as a potential biotherapeutic agents in combination with standard antibiotics for the treatment of *Clostridium difficile*- associated diarrhea and colitis(12).

The aim of this study was to detect antibacterial activity of some selectable probiotics (lactic acid bacteria and yeasts) and the best incubation period for probiotics under this study to obtain the highest inhibitory effect against some of diarrhea causing pathogens.

MATERIALS AND METHODS

Samples collection:

A total of (25) samples of stool and rectal swab were collected from diarrhea patients in teaching laboratory of Baghdad, then bacterial isolates were cultured on blood and MacConkey agar media at 37°C for 24 hrs. aerobically.

Identification:

Depending on their cultural, morphological as well as biochemical characterization of bacterial isolates, twelve isolates were identified as (5) *Escherichia coli*, (5) *Shigella flexneri* and (2) *Salmonella typhimurium*. Moreover, the identification was verified by using API20E system according to (13).

Probiotic isolates:

A commercial brand of ready powdered probiotics were used :- *Saccharomyces boulardii*, *Saccharomyces cerevisiae* (baker's yeast), *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* obtained from college of science-AL Mustansiriyah University.

Antimicrobial agents susceptibility test

Antimicrobial susceptibility test using disk diffusion was performed by the procedure recommended by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)(14). Interpretative chart for disk diffusion tests were these described in the current National Committee for Clinical Laboratory Standards documents(15). The following disks and their concentrations in (µg) were used:

Amoxicillin(30µg/disc), Neomycin(10µg/disc), Cefotaxim(30µg/disc), Tetracycline(30µg/disc), Ampicillin(10µg/disc), Trimethoprim(1.29µg/disc), Chloramphenicol(30µg/disc) and Nalidixic acid(30µg/disc). (disks were obtained from Oxoid/England).

Determination of the inhibitory effect of probiotics

Man Rogosa Sharpe broth and Glucose Yeast Extract Pepton broth Were inoculated by 1%(10⁸ cell/ml) of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidiobacterium bifidium*, *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae* (baker yeast) cultures then inocubated anaerobically and aerobically at 37°C for various periods of times (24, 48 and 72) hrs. (16)

After incubation the culture was centrifuged at 4500 r.p.m. the supernatant was filtered through millipore filter unit (0.22mm), then the Well diffusion method mentioned by (17), was used on nutrient agar. The plate was inoculated with 0.1ml of pathogenic bacterial broth using spreader. wells were made in nutrient agar by cork borer (5mm) and filled by the filtrate (100µl) of probiotic isolates before incubated at 37°C for 24hrs. The inhibition area around the well was measured by (mm). The filtrate was concentrated by the freeze-dryer (one and two folds) and the well diffusion method was repeated to detect the effect of concentrated filtrate against the pathogenic bacteria.

RESULTS and DISCUSSION

Out of twenty five of Gram -ve bacteria obtained (12) isolates were identified including (5) *Escherichia coli*, (5) *Shigella flexneri* and (2) *Salmonella typhimurium*

The antimicrobial agents susceptibility test of the isolates were performed against (8) different agents including: Amoxicillin (AX), Neomycin (N), Cefotaxim (CTX), Tetracycline (TE), Ampicillin (AM), Trimethoprim (TMP), Chloramphenicol (C) and Nalidixic acid (NA).

Our results have been shown (table 1) that some of bacterial isolates under this study were susceptible to cefotaxim, nalidixic acid, neomycin and chloramphenicol, while they were resistant to Ampicillin (100%), Amoxillin (83%), Tetracycline, Trimethoprim (75%) and Chloramphenicol (50%).

Table(1): Antimicrobial agents Susceptibility Test of bacterial isolates.

Antibiotic bacteria	NA	N	CTX	C	TE	AM	TMP	AX
Sh.flexneri1	S	S	S	R	R	R	R	R
Sh.flexneri2	S	S	S	S	R	R	S	S
Sh.flexneri3	S	R	S	R	R	R	R	R
Sh.flexneri4	S	S	S	R	R	R	R	R
Sh.flexneri5	S	S	R	R	R	R	R	R
S.typhimurium1	S	S	R	S	R	R	S	S
S.typhimurium2	R	R	S	R	S	R	S	R
E.coli1	S	S	S	S	R	R	R	R
E.coli2	S	S	S	S	S	R	R	R
E.coli3	R	S	S	S	R	R	R	R
E.coli4	S	S	R	S	R	R	R	R
E.coli5	S	S	R	S	S	R	R	R

NA=nalidixicacid,N=neomycin,CTX=cefotaxim,C=choramphenicol, TE=tetracycline,AM= ampicillin, TMP=trimethoprim, AX=amoxillin, S=sensitive, R=resistence

Agreat variation in the response of isolates towards the probiotic filterates (un concentrated and concentrated (1 and 2 folds) was observed (table 2,3,4,5,6,7,8,9,10).

The antimicrobial activity of probiotic isolates against testing bacteria on (MRS,GYEP broth) media under (24,48 and 72) hrs.Incubation was estimated by using well diffusion method.

Our in vitro experiments showed (table 3,4) that concentrated filterates of probiotic (*Lactobacillus acidophilus*,*Bifidiobacterium bifidium*and,*Saccharomyces boulardii*a) showed strong inhibitory effect against *Salmonella typhimurium*(1), *Shigella flexneri*(2,4),*E.coli*(2,4) isolates compared with other isolates , while *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae* had a little or no effect on the growth of *Shigella flexneri*(5),*E.coli*(1,3,4) isolates.

This result came compatible with Al-Dulaimy(30) when noticed that concentrated filterates of LAB showed a good inhibitory effect against *Salmonella typhimurium* when given to mice before and after infection,in the same time Al –Khalidi(31) wrote in her thesis that *Lactobacillus acidophilus* possessed antimicrobial activity better than other LAB isolates against some of pathogenic bacteria.

Diarrhea is a common gastrointestinal problem especially in the developing world .it can result from multiple aetiologies.probiotics have been shown to prevent and assist the recovery from many types of diarrhea (1) .A number of probiotic like (*Lactobacillus*

acidophilus, *Bifidiobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces boulardii*) have been shown to prevent or treat diarrheal disease (18).

After (48) hrs. incubation, the probiotic isolates exhibited increased inhibitory effect against enteric bacteria under study as observed by formation of a large inhibition zone compared with (24 and 72) hrs., while concentrated filterates (1 fold) of *Saccharomyces cerevisiae* had a little or no effect on most of isolated bacteria especially *Salmonella typhimurium*(1), *Shigella flexneri*(1,3,4,5), *E.coli*(3,5) isolates.

Our results demonstrated that incubation period (48) hrs. was the best incubation period for probiotic isolates to produce inhibitory material against diarrhea pathogens and concentrated filterates of probiotics showed highest inhibition zone against bacterial isolates under this study compared with un concentrated one (table 3,4,6,7,9,10), while there was no effect by *Saccharomyces cerevisiae* observed against all isolates after (72) hrs. incubation.

Clinical studies have shown that certain probiotics may be useful in treating a variety of diarrheal disorders (19).

Microbial balance was an important factor in the maintenance of intestinal homeostasis and yogurt or fermented milk supplementation has been proposed to control diarrheal diseases (20).

Shahani et al. (21) reported that probiotics might also help maintain a low acidic pH in the intestines to help inhibit the growth of harmful bacteria. *Lactobacillus acidophilus* produce lactic acid, acetic acid, benzoic acid, hydrogen peroxide and natural antibiotics known as bacteriocins and microcins, so our conclusion about inhibitory effect of *Lactobacillus acidophilus* was related to H_2O_2 microcin production or acidity and that came compatible with this report above because the acid helped to reduce the pH of the intestinal surface area and killed diarrhea pathogens, while H_2O_2 helped to inhibit the growth of harmful bacteria (22).

Black et al. (23) treated (44) Danish tourists with mixture of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Bifidiobacterium bifidum* found frequency of traveler's diarrhea was reduced from (71 to 43%) .

Moreover, Blomberg et al. (24) reported that competitive inhibition of bacterial attachment sites on epithelial surfaces was another mechanism of *Lactobacillus acidophilus* has been shown to inhibit the attachment of *E.coli* to mucosal cells in pig ileum.

As well as, the use of yeasts in the treatment of acute diarrhoeal activity and safety. *Saccharomyces boulardii* has functional properties

similar to those of the normal intestinal flora with natural resistance to antibacterial agents(25).

Further more, the effect of the yeast *Saccharomyces boulardii* which has been used so far mainly in the treatment of acute diarrhea and in the prevention of antibiotic- associated diarrhea were attributed to its inhibitory effect on the growth of intestinal germs and to the neutralization of toxin and to increase the activity of brush border disaccharidases in human volunteers.(26). In the same as , Zbinden et al.(27) investigated in vitro experiments that *Saccharomyces boulardii* inhibited not only growth of *S.typhimurium* and *Yersinia enterocolitis* but also their invasion in to hela cells.

Viable yeast were recently used to improve the resistance of the intestinal ecosystem to bacterial infection,hypotheses inhibition of bacterial toxin production or neutralizes the enterotoxicity of *E.coli* toxins and *Vibrio cholera* toxin by produced a 120KDa protein able to neutralize the effect of cholera toxin(28).

Bifidiobacterium showed that a colonization resistance mechanism against *S.tyhimurium* in human by lowering the ph level and presence of short chain fatty acids and stimulated the immune system by enhance(IgA).Besides that,(Ibrahim and Bezkorovainy) reported that organic acids of *Bifidiobacteria* served as anti-infectious agents(29).

Table(2):Effect of Unconcentrated Filterates of Probiotics(24hr) on Diarrhea Pathogens

<div>Enteric pathogens</div> <div>Probiotics</div>	Diameter of inhibition zone (mm) of enteric pathogens											
	Salmonella tyhimurium		Shigella flexneri					E.coli				
	1	2	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
L.acidophilus	20	-	12	12	12	12	-	-	16	-	13	-
B.bifidium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S.boulardii	11	14	15	18	15	16	-	-	16	12	16	-
S.cerevisiae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-)=no inhibition zone.

Table(3):Effect of Concentrated Filterates(1 fold) of Probiotics(24hr) on Diarrhea Pathogens

Diarrhea Pathogens												
Enteric pathogens Probiotics	Diameter of inhibition zone(mm) of enteric pathogens											
	Salmonella tyhimurium		Shigella flexneri					E.coli				
	1	2	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
L.acidophilus	25	17	25	25	15	20	17	17	16	15	18	15
B.bifidium	20	21	20	25	17	20	13	15	18	15	16	14
S.boulardii	13	14	15	18	15	18	-	-	18	13	18	14
S.cerevisiae	15	15	13	15	15	20	-	-	15	-	-	15

(-)=no inhibition zone.

Table(4):Effect of Concentrated Filterates(2 fold) of Probiotics(24hr) on Diarrhea Pathogens

Diarrhea Pathogens												
Enteric pathogens Probiotics	Diameter of inhibition zone(mm) of enteric pathogens											
	Salmonella tyhimurium		Shigella flexneri					E.coli				
	1	2	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
L.acidophilus	25	20	25	25	15	25	17	17	18	16	18	16
B.bifidium	22	23	20	25	17	20	15	16	18	16	18	14
S.boulardii	16	15	20	18	15	18	15	-	18	15	18	14
S.cerevisiae	20	18	20	18	16	21	15	-	16	-	13	16

(-)=no inhibition zone.

Table(5):Effect of Unconcentrated Filteratesof Probiotics(48hrs) on Diarrhea Pathogens

Diameter of inhibition zone(mm) of enteric pathogens												
Enteric pathogens	Salmonella tyhimurium		Shigella flexneri					E.coli				
	1	2	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Probiotics												
L.acidophilus	18	15	16	18	16	20	16	17	18	16	18	16
B.bifidium	18	16	18	18	18	20	18	20	20	19	20	19
S.boulardii	13	13	-	15	17	15	13	15	14	16	15	16
S.cerevisiae	-	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table(6):Effect of Concentrated Filterates(1 fold) of Probiotics(48hr) on Diarrhea Pathogens

Diarrhea Pathogens												
Enteric pathogens Probiotics	Diameter of inhibition zone(mm) of enteric pathogens											
	Salmonella tyhimurium		Shigella flexneri					E.coli				
	1	2	1	2	3	4	5	i	2	3	4	5
L.acidophilus	21	20	25	20	16	20	25	22	18	20	18	20
B.bifidium	21	20	25	33	20	20	20	24	20	24	20	20
S.boulardii	17	20	13	15	17	16	14	20	16	17	20	16
S.cerevisiae	-	16	-	15	-	-	-	16	15	-	16	-

(-)=no inhibition zone.

Table(7):Effect of Concentrated Filterates(2 fold) of Probiotics(48hr) on Diarrhea Pathogens

Diarrhea Pathogens												
Enteric pathogens Probiotics	Diameter of inhibition zone(mm) of enteric pathogens											
	Salmonella tyhimurium		Shigella flexneri					E.coli				
	1	2	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
L.acidophilus	23	22	27	30	20	25	25	23	18	25	20	20
B.bifidium	21	21	25	35	20	20	21	27	20	26	23	24
S.boulardii	18	20	15	25	20	17	15	20	16	18	17	17
S.cerevisiae	16	16	16	25	15	16	12	17	15	14	16	14

Table(8):Effect of Unconcentrated Filterates of Probiotics(72hr) on Diarrhea Pathogens

Enteric pathogens		Diameter of inhibition zone(mm) of enteric pathogens										
Probiotics	Salmonella tyhimurium		Shigella flexneri					E.coli				
	1	2	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
L.acidophilus	15	17	17	18	15	-	20	-	-	-	-	-
B.bifidium	17	-	17	20	18	-	-	-	17	-	18	20
S.boulardii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S.cerevisiae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-)=no inhibition zone.

Table(9):Effect of Concentrated Filterates(1 fold) of Probiotics(72hr) on Diarrhea Pathogens

Diarrhea Pathogens												
Enteric pathogens Probiotics	Diameter of inhibition zone(mm) of enteric pathogens											
	Salmonella tyhimurium		Shigella flexneri					E.coli				
	1	2	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
L.acidophilus	20	20	-	20	24	16	20	18	17	15	16	15
B.bifidium	20	15	20	20	-	17	16	22	22	18	19	18
S.boulardii	15	-	20	16	16	-	18	18	18	15	16	15
S.cerevisiae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-)=no inhibition zone

Table(10):Effect of Concentrated Filterates(2 fold) of Probiotics(72hr) on Diarrhea Pathogens

Diarrhea Pathogens												
<div>Enteric pathogens</div> <div>Probiotics</div>	Diameter of inhibition zone(mm) of enteric pathogens											
	Salmonella tyhimurium		Shigella flexneri					E.coli				
	1	2	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
L.acidophilus	25	25	35	30	30	28	25	25	23	19	21	22
B.bifidium	20	17	20	20	27	20	20	20	22	20	19	18
S.boulardii	16	-	25	20	22	18	20	23	18	15	16	15
S.cerevisiae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-)=no inhibition zone

REFERENCES

- 1-Sharma,A .K,Mohan,P.and Nayak,P.B. Probiotics:making a come back.India J.Pharmacol.,37:358-365. .(2005)
- 2-Otles,S.,Cagindi,O.and Alkcicek,E.Probiotics and health.asian pacific J. Cancer Prev,4:369-372. (2003).
- 3-Lilley,D.M.and Stillwell,R. Probiotic:growth promoting factors produced by microorganisms.Science.147:747-748. (1965).
- 4-Fuller,R.Probiotic in human medicine.Gut,32:439-442.(1992).
- 5-Almer,I.Effect of fermentation on B-vitamin cotent of milk in sweden.J.Dairy Sci,65:353-9 .(1982).
- 6-Dugas,B.,Mercenier,A.,Wijnkoop,L.ImmunityandProbiotics .Trends Immunology Today.20:387-90 (2000).

- 7-Anon.Probiotics-Friendly bacteria with a host of benefits.Dairy council of California(2000)..
- 8-Elmer,G.W.,Surawicz, C.M. and McFarland, L.V.Biotherapeutic agents.JAMA,275:870-879 .(1996)
- 9-Buts,J.P.,Bernasconi,P.,Vancraynest,M.P.,Maldague,P.,and Demeyer,R.Response of human and rats small intestinal mucosa to oral administration of *Saccharomyces boulardii* .Pediatr.Res.,20(2): 192-196(1986).
- 10-Catanzaro,J.A.and Green,L.Microbial Ecology and probiotics in human medicine(part11).Alternative medicine Review.4:206-304.(2001).
- 11-Reid,G.,Jass,J.,Sebulsky,M.T.,and McCormick,J.K.Potential uses of probiotics in clinical practice.Clin.Microbiol.Re.,16:658-672(2003).
- 12-Comacho-Ruiz,L.,Perez-Guerra,N.,and Roses ,R .P .Factors effecting the growth of in batch culture and in solidsate fermentation.Electro.J.Environ.Agric.Food Chem.,8:157-437(2003).
- 13-Baron,E.J. and Finegold, S.M., "Diagnostic Microbiology", 9th Ed., Mosby Company ,U.S.A.(1994).
- 14-National Committee for Clinical Laboratory Standards. performance standard for antimicrobial susceptibility testing; Approved standard M2-A7, 7th , & ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Pennsylvania.(2000)
- 15-National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standard for antimicrobial susceptibility testing; twelfth informational supplement. M100-S12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Pennsylvania. (2002).
- 16-Lewus,C.B.,Kaiser,A.and Montvill,T.J. Inhibition of food born bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacterial isolated from meat.J.Appl.Environ.Microbial.,57:1683-1688(1991).
- 17-Vignolo.G.M.,Suriani,F,Halgado,A.P.Randoliver,G. Antibacterial activity of *Lactobacillus* strains isolated from dry fermented sausages.J.Appl.Bacteriol.,344-349. (1993).
- 18-Geoffey,P.,Davidson,and Butler ,R.Probiotics in pediatric gastrointestinal disorders.Gastroenterol.and Nutr.,12:477-481(2000).
- 19-Vanderhoof,J.A.Probiotics:Future directions.AM.J.Clin.Nutr.,73: 1152-455(2000).
- 20-Heyman,M.Effect of Lactic acid bacteria on diarrheal diseases.J.AM.College of Nutr.,19:137-146(2000).
- 21-Shahani,K.M.Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus*.Cult Dairy Prod.J.11:14-17(1976).
- 22-Barefoot,S.F.,Klaenmmer,T.R.Detection and activity of lactacin B, bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*.Appl.Environ. Microbiol.,45:1808-15(1983).

- 23-Black,FT, Andersen ,PL. ,Orskov,J .Prophylactic efficacy of Lactobacillus on travelers diarrhea.Travel Med.,7:333-5(1989).
- 24-Blomberg,L.,Henriiksoon,A.Conwan,P.L.Inhibition of adhesion of E.coli K88 to piglet ileal mucus by Lactobacilli spp.Appl.Environ.Microbiol.,59:34-9(1993).
- 25-Urganic,N.Evaluation of the efficacy of Saccharomyces boulardii in children with acute diarrhea .Gastroenterol.,20(2001).
- 26-Plein,K.,and Hotz,J.Therapeutic effects of Saccharomyces boulardii on mild residual symptoms in a stable phase of Crohn's disease with special respect to chronic diarrhea-pilot study.Gastroenterol.,31:129-134(1993).
- 27-Zbinden,R.,Goncz,E.,andAltwegg,M.Inhibition of Saccharomyces boulardii (nom.inval) on cell invasion of Salmonella typhimurium and Yersinia enterocolitica.Microb.Eco.Heath and Dis.,11:158-162(1999).
- 28 Brando ,R.L. , Castro,I.M.Bambirra,E.A.,Amaral,S.C.,Fietto,L.G., Tropia,M.M.,Neves,M.J.,Santos,R.G.,Gomes,N.C.M.and Nicoli,J.R. Intracellular signal triggered by cholera toxin in Saccharomyces boulardii and Saccharomyces cerevisiae.Appl.Environ.Microbiol.,64 :564-568(1998).
- 29-Lievin,V.,Peiffer,I.,Hudault,S.,Rochat,F.,Brassart,D.,Neeser,J.R. and Servin,A.L.Bifidobacterium strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity.Gut,47:646-652(2000).
- 30-Al-Dulaimy,S.A.J.Using Lactic acid bacteria isolated from human and food sources to inhibit the growth of some bacteria causing diarrhea.ph.D.thesis(2005).College of Science. Al-Mustansiriyah University.
- 31-Al-Khalidi,M.S.S.Study on the antimicrobial effect of the metabolic products of lactic acid bacteria in local dairy products against pathogenic bacteria.M.Sc.thesis.(2005). College of Science. Al-Mustansiriyah University.

Effect of Esculetin Treatment on Cytotoxic T-Lymphocytes in Vitro

Khedhir Hassan Ali Al-Jorany

Department of Biology Faculty of Science University of Al-Mustansiriyah

تاريخ قبول البحث: 2007/4/3

تاريخ تقديم البحث: 2006/11/7

الخلاصة

تأثير المعاملة بالأسكولتين على الخلايا التائية المسممة خارج الجسم الحي. تبين أن الاسكولتين المضاف في بداية زراعة اللمفاويات المحفزة بالكونكانافالين-آ- يستطيع أن يسمم الخلايا اعتماداً على تركيزه. استطاع تركيز 62.5 مايكرومول من الاسكولتين من إنتاج سمية تامة للخلايا المحفزة المزروعة، في حين كان التركيز اللازم لقتل 50 % من الخلايا يساوي 7.5 ملي مول. لم يُظهر خط اللمفاويات المسممة CTLL-16 أي تسمم بالأسكولتين بوجود الانترليوكين-2. استطاع المركب من تثبيط مزروع امتزاج اللمفاويات المتغاير الأولي بتركيز 32 مايكرومول في حين احتاج مزروع امتزاج اللمفاويات الثانوي 64 مايكرومول للتثبيط الكلي. وفي امتزاج اللمفاويات ذو الاتجاهين فإن سمية المركب كانت هي المؤثرة. نوقشت النتائج في ضوء تأثيرات الاسكولتين تجاه هدف في الخلايا المناعية المستجيبة.

ABSTRACT

Esculetin added at the beginning of culture of Concanavalin-A stimulated lymphocytes showed a dose-dependent cytotoxic effect. Complete cytotoxicity was seen at 62.5 μ M esculetin treatment, and the lethal concentration fifty (Lc50) was 7.5 μ M. As little as 0.25 μ M esculetin showed 6.6% cytotoxicity compared to the control. With CTLL-16, an IL-2 dependent cytotoxic cell line, growth didn't demonstrate any significant cytotoxicity in the presence of esculetin. Rather, this cell line showed 8% growth stimulation at 0.25 μ M esculetin treatment.

In the complete allogeneic primary lymphocyte culture (MLC) response, complete inhibition was achieved with 32 μ M esculetin, whereas in the secondary MLC, complete inhibition required 64 μ M esculetin. Fifty percent inhibition of primary and secondary MLCs were achieved with 12 and 20 μ M esculetin respectively.

In two-ways MLC, it was shown that esculetin inhibition at low doses was partly due to cytotoxicity and the inhibition was mainly due to cytotoxicity at high esculetin doses. The results are discussed based

on esculetin effects on the availability of target sites in immune effector cells.

INTRODUCTION

Esculetin (6,7-dihydroxycoumarin) is a polyphenolic compound (1). It is a well known inhibitor of the enzyme lipoxygenase (Lo) (2-5). Recently, studies of the effects of the compound demonstrated it's inhibition of human lymphocyte proliferation and human cytotoxic lymphocyte (CTL) generation in vitro (6). The lipoxygenase inhibitor esculetin, was shown to inhibit: lymphoid and myeloid stem cells in vitro (7), granulocyte-monocyte colony forming cells (clonal proliferation) in vivo (8), as well as tumor cell proliferation (9-11). The anti-proliferative effects of esculetin were attributed to leukotrienes biosynthesis inhibition as well as to a dose-dependent inhibition of tyrosine kinase and DNA synthesis (12-13). Recent study demonstrated a selective anti-tumor effect of the compound against lymphoid tumor cell lines (17). In this study, the effect of esculetin on proliferating mouse CTL and CTLL-16 cytotoxic cell line is further explored.

MATERIALS AND METHODS

Esculetin

6,7-dihydroxycoumarin was supplied from Fluka, AG, Switzerland. The compound was dissolved in deionized water and solubilized with trace amounts of 1N sodium hydroxide. Dilutions of the compound were made with double strength Clicks medium and used in the experiments.

Mice

Eight weeks old inbred strains of mice included: B10(H-2^b), B10.S(H-2^s) and B10.7R(H-2^u). They were purchased from Olac, Ltd, Blackthorn, England.

Culture medium

Click's medium (Biochrom, Berlin, FRG) supplemented with 10% heat inactivated fetal calf serum, 10 mM Heps buffer, 5×10^{-5} M 2-mercaptoethanol and antibiotics.

Cell suspension

Single cell suspensions were prepared from spleens. The erythrocytes were lysed by three minutes in 0.15 M NH₄Cl and washed with the medium. Cell viability was checked with the eosine-Y exclusion test.

Concanavalin A (Con-A) Stimulation

Lymphocytes of BALB/c were cultured at 2×10^4 cells/well in a flat bottom 96-well microtitration plate (Nance, Roskilde, Denmark), with 100 μ L of Click's medium containing 2 μ g/mL Con-A (pharmacia, Upssala, Sweden). Esculetin concentrations prepared in 100 μ L medium were replicated onto cells. Incubation was at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator for three days. Viability was enumerated by the MTT-assay (14). Results were expressed as mean \pm SD.

The CTLL-16 cytotoxic T-lymphocyte line was cultured at 2×10^4 cells/well in 100 μ L of Click's medium in the presence of 10 U/mL interleukin-2 (IL-2), (a gift from Dr. Claus Heeg, university of Ulm, FRG). Treatment with esculetin, incubation, and processing for MTT-assay were as shown above.

Primary Mixed Lymphocyte Culture (Primary-MLC)

The procedure of Kabelitz and Al-Jorany (6), with a slight modification was followed. Responder B10 (H-2^b) lymphocytes at 5×10^5 /mL were mixed with 5×10^5 /mL B-10. S (H-2^s) stimulator lymphocytes that were irradiated at 2000 Rads at a rate of 518 Rads/minute (Cs source Nuclear Data, Frankfurt, FRG). The cells were distributed at 100 μ L/well in a 96-well flat bottom plate. Esculetin concentrations in 100 μ L of Click's medium were replicated onto MLC cells and incubated at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator for three days. Six hours before the termination of culture, the cells were pulsed with 0.5 μ Ci H³-Thymidine (specific activity 6.7 Ci/ mmole), (New England Nuclear, Dreieich, FRG).

Cultures were harvested onto filter papers using Skatron cell harvester and were processed for counting using a Packard liquid scintillation counter. Control cultures included a responder and stimulator cell mixture only. Results of triplicate readings were used to calculate % inhibition using the formula $\frac{C - T}{C} \times 100$, where C is the control reading and T is the test reading.

Secondary-MLC

Primary bulk MLC was prepared as follows: responder and stimulator cells 50×10^6 cells B10(H-2^b) and 50×10^6 cells B.10.7R (H-2^k) respectively. Cells were cultured in 50 mL of Click's medium in T-75 flasks at an upright position, at 37°C, in a humidified 5% CO₂ incubator for 3 days. Cells were harvested and viable cells were separated using Ficoll-hypaque gradient.

Secondary MLC was prepared by culturing 2×10^4 cells/well recovered from primary bulk-MLC in 100 μ L of medium in a 96-well, round bottom plate in the presence of 5 U/mL IL-2. Esculetin concentrations prepared in 100 μ L of medium were replicated onto cells, and incubated for 2 days at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator. Cells were pulsed with 0.5 μ Ci of ³H-TdR and processed as for primary MLC. Results of triplicate readings were used to calculate % inhibition.

Two-way MLC

This was done by culturing 5×10^5 BALB/c (H-2^d) and 5×10^5 viable C57 BL/6 (H-2^b) lymphocytes in 100 μ L of medium in a 96-well, flat bottom plate. Esculetin treatments were as above. After 3 days of incubation, viable, small, blast cells as well as non viable cells were enumerated visually using Eosine-Y as the viability stain. Results were expressed as the mean of triplicate readings.

RESULTS

Esculetin added at the beginning of culture of Con-A stimulated lymphocyte dose-dependently was cytotoxic to mitogen stimulated cells (Table 1). Complete cytotoxicity as revealed by MTT-assay was accomplished at 62.5-250 μ M esculetin. The lethal concentration fifty (Lc50) was 7.5 μ M for this response, and 95% cytotoxicity was achieved at 32 μ M (data not shown). As little as 0.25 μ M esculetin was still cytotoxic (6.6% cytotoxicity) for responding lymphocytes.

CTLL-16, a cytotoxic cell line that depends on IL-2 for growth, didn't show any appreciable cytotoxicity. Lc50 for this cell line was more than 256 μ M (data not shown). In addition, this cell line showed stimulation of cell growth (8% stimulation), rather than cytotoxicity at 0.25 μ M esculetin concentration.

The inhibition of allogeneic MLC by esculetin is shown in Figure 1. primary MLC was completely inhibited by 32 μM esculetin, while secondary MLC required 64 μM esculetin for complete inhibition. Both responses showed a dose-dependent inhibition. However, the primary MLC was slightly less affected by esculetin than the secondary MLC. The calculated 50% inhibition for both primary and secondary responses gave 12 μM and 20 μM for them respectively.

The inhibition of allogenic two-way MLC is shown in Figure 2. esculetin, at 12.5 μM , caused a decrease of the total number of lymphocytes. However, at this dose, there was a decrease in small non viable and blast lymphocytes. The effect of esculetin at 25 μM on viability of responding lymphocytes was similar to the 12.5 μM dose but there was an increase number of dead blast lymphocytes at 50 μM esculetin concentration. The cytotoxic effect of esculetin was evident at 200 and 400 μM esculetin. The viable lymphocyte numbers at 200 and 400 μM were reduced to about half of the number in the control. Whereas, blast cells that were nonviable, were drastically increased, then killed at the above doses.

DISCUSSION

Esculetin, a polyphenolic compound that naturally occurs in plants (1) was shown to have a cytotoxic effect on Con A responding lymphocytes. This cytotoxic effect was dose-dependent (Table.1). CTLL-16 cell line included as a control didn't show any cytotoxicity to esculetin. Whether the cytotoxic effect of esculetin to Con A responding lymphocytes is based on a specific target site which is absent in CTLL-16 cell line is not clear at the present time. However, it may be possible that IL-2, present in CTLL-16 cell line culture medium, bypassed the cytotoxic effect of esculetin, however this possibility requires further studies. In this regard, however, esculetin was shown to inhibit Tcell activation without suppressing IL-2 production or IL-2 receptor expression (6). Nonetheless, in the study of Kabelitz and Al-Jorany (6), phytohemagglutinin was used as the nonspecific mitogen to derive lymphocyte proliferation, compared to Con-A stimulation used in this study.

The effect of esculetin on complete allogenic MLC which demonstrates the generation of cytotoxic T lymphocytes was clear (Figure 1). The cytotoxic effect of the compound was higher in the primary response than the secondary response. This may be related to the availability

of more target in the primary CTL precursors than in the secondary response (mostly CTL effectors). The inhibitory, rather than cytotoxic effect at low doses of esculetin is worth mentioning. As seen in Figure 2, relating to the response of two-way MLC, it seems that at low doses of esculetin there is an inhibitory effect, but at higher doses the inhibitory effect is mainly due to cytotoxicity. The biochemical basis of inhibitory and cytotoxic effects is not known. The report of drastic inhibition of alloreactive cytotoxic lymphocyte precursors (CLP) at 50 μ M esculetin reported in a previous study (6) might be partly due to cytotoxicity and mostly due to inhibition of CLP.

The clear cytotoxicity of generated blast in the two-way MLC is seen at 200 and 400 μ M esculetin (Figure 2). Interestingly, at these doses more blasts are generated (esculetin may stimulate blast generation compared to controls) then killed.

Blast cells are cytotoxic lymphocyte precursors (CLPs) that eventually develop into effector CTLs. Although esculetin is known to inhibit LO enzyme involved in leukotrien synthesis (3, 12), and affect cell proliferation (7, 15-16), it is unclear whether the inhibitory effect, seen at low doses of esculetin, on the generation of effector cytotoxic T cells is related to leukotrienes inhibition. However, as seen in this study, most of the effect may be related to a specific target-directed cytotoxicity (Table 1). Also, it is not clear, whether esculetin inhibition of cell leukotrienes biosynthesis is related to its cytotoxicity. However, 5-lipoxygenase (Lo) products participate in signal transduction mechanism in T lymphocytes via stimulation of protein kinase C and cell proliferation and esculetin inhibits Lo products(18).

Lastly, it is interesting to see the biochemical basis of the stimulatory effect of esculetin for CTLL-16 cytotoxic cell line seen at low doses. The high esculetin doses insensitivity of this cell line might be due to the presence of IL-2. It was demonstrated that IL-2 induced DNA synthesis was inhibited by esculetin and that sterols and 5-lipoxygenase products are required for the G1-S phase transition of IL-2 dependent lymphocyte proliferation (15).

The involvement of 5-lipoxygenase products and the effect of this product as prerequisite to initiate DNA synthesis, in addition to the effect of esculetin on IL-2 require indepth experimentation to reveal an important target in CTL clonal expansion.

Acknowledgments

Part of this work was supported by DAD, FRG. I appreciate the kind help of Professor Dr. Dieter Kabelitz and Dr. Claus Heeq. at the department of microbiology and immunology, University of Ulm, FRG.

REFERENCES

- (1) Adzet, C.J. Pharmacokinetics of polyphenolic compounds. In L.E. Craker and J.E. Simmon, eds. Herbs, spices, and medicinal plants : recent advances in botany, horticulture, and pharmacology. Vol. 3. oryxpress, phoenix pp 25-47.
- (2) Sekiya, K.; Okuda, H. and Arichi, S. Selective inhibition of platelets lipoxxygenase by esculetin. *Biochemica et Biophysica Acta*, 713:86-72. (1982).
- (3) Neichi, T.; Koshihara, Y. and Murota, S. Inhibition effect of esculetin on 5-lipoxxygenase and leukotriene biosynthesis. *Biochemica et Biophysica Acta*, 753:130-132. (1983).
- (4) Panossian, A.G. inhibition of arachilonic acid 5-lipoxxygenase of human polymorphinuclear leukocytes by esculetin. *Biochemica et Biophysica Acta*, 43:1351-1355. (1984).
- (5) Kimura, Y.; Okuda, H.; Arichi, S.; Baba, K.; and Kozawa, M. Inhibition of the formation of 5-hydroxy-6,8,11,14-eicosatetraenoic acid from arachidonic acid in polymorphonuclear leukocytes by various coumarins. *Biochemica et Biophysica Acta*, 834:224-229. (1985).
- (6) Kabelitz, D. and Al-Gorany, K.H. Esculetin inhibits T cell activation without suppressing IL-2 production of IL-2 receptor expression. *Immunol. Lett*, 20:241-245. (1989).
- (7) Vore, S.J.; Eling, T.E.; Danilowicz, M.; Tucker, A.N; and Luster, M.I. Regulation of murine hematopoiesis by arachodonic acid metabolites. *Int. J. Immunopharmacol*, 11:435-442. (1989).
- (8) Kozubik, A.; Hofmanova, J.; Pospisil, M.; Netikova, J.; Hola, J.; and lojek, A. Effects of drugs inhibiting prostaglandin or leukotriene biosynthesis on post irradiation haematopoiesis in mouse. *Int. J. Radiat. Biol.*, 65:369-377. (1994).
- (9) Wilson, D.E.; Digiantfilippo, A.; Ondrey, F.G.; Anderson, K.M.; and Harris J.E. Effect of

- nordihydroguaiaretic acid on cultured rat and human glioma cell proliferation. *J. Neurosurg*, 7:551-557. (1989).
- (10) Blomgren, H. and Kling-Anderson, G. Growth inhibition of human malignant glioma cells in vitro by agents which interferes with biosynthesis of eicosanoids. *Anticancer. Res.*, 12:981-986. (1992).
 - (11) Noguchi, M.; Kitagawa, H.; Miyazaki, I.; and Mizukami, Y. Influence of esculetin on incidence, proliferation, and cell kinetics of mammary carcinoma induced by 7,12-dimethylbenz[a] anthracene in rats in high-and-low fat diets. *Jpn. J. Cancer. Res.*, 84:1010-1014. (1993).
 - (12) Ondrey, F.; Harris, J.E. and Anderson, D.M. Inhibition of U937 eicosanoid and DNA synthesis by 5, 8, 11, 14-eicosatetraynoic acid, an inhibitor of arachidonic acid metabolism and its partial reversal by leukotriene C4. *Cancer. Res.*, 49:1138-1142. (1989).
 - (13) Huang, H.C.; Lai, M.W.; Wang, H.R.; Chang, Y.L.; Hsieh, L.M ; and Chen, C.. Antiproliferative effects of esculetin on vascular smooth muscle cell: possible role of signal transduction pathways. *Eur. J. Pharmacol*, 237:39-44. (1993).
 - (14) Cole, S.P.C. Rapid chemosensitivity testing of human tumor cells using MTT assay. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 17:259-263. (1986).
 - (15) Hata, S.; Sugama, K; You -Li, Z ; Hatanaka, M ; Namba, Y ; and Hanoaka, M. Synthesis of sterols and 5-lipoxygenase products are required for G1-S phase transition of interleukin-2 dependent lymphocyte proliferation. *Microbiol, Immunol.*, 31:1231-1244. (1987).
 - (16) Lee, P.P. and Ip, M.M. Regulation of proliferation of rat mammary tumor cell by inhibitor of cyclooxygenase and lipoxygenase. *Prostaglandins-Leukot Essent-Fat-Acids*, 45:21-31. (1992).
 - (17) Al-Jorany, K.H. Effect of coumarines on hemopoietic tumor cell lines in vitro and bone marrow cells in vivo. *Dirasat*, 25:138-149. (1998).
 - (18) Papadogiannakis, N. and Barbieri, B. Lipoxygenase inhibitors counteract protein kinase C mediated events in human T lymphocyte proliferation. *Int. J. Immunopharmacol.*, 19:263-275. (1997).

Interleukin-6 Estimation in the Sera of Iraqi Diabetic Patients

تاريخ القبول: 2007/4/3

تاريخ تقديم البحث: 2007/1/24

1-Samira N. Al-Naem -2-Rajwa H. E'sa -3-Batool A. Al-Haidary

1-Microbiology - Institute of Technology.

2-College of Science Al-Mustanseria University.

3-College of Medical & Health Technology.

الخلاصة:

داء السكري هو مرض واسع الانتشار ذو اضطراب ابيض ينمى بارتفاع غلوكوز الدم. يؤدي اضطراب ابيض الغلوكوز إلى سلسلة من الشذوذ احدها أمراض العين و التي تؤدي أحيانا إلى العمى. تم قياس مستوى انترلوكين -6 باستخدام مقايصة الأنظمة المرتبطة بالمناعة في 100 عينة مصلة لمرضى السكري منهم 60 ذوي أمراض عيون و 40 بلا أمراض عيون مقارنة بـ 30 عينة مريض سيطرة يعانون من أمراض العيون فقط ؛ و 30 عينة لسيطرة الأصحاء. أظهرت هذه الدراسة ارتفاع مستوى انترلوكين -6 في مصول مرضى السكري مع أو بدون أمراض العيون مقارنة بالأصحاء و بشكل واضح و بتراكيز 129 ، 101.12 ، 20.25 ، 9.4 بيكوغرام / مل على التوالي.

ABSTRACT

Diabetes Mellitus is worldwide distributed disease with metabolic disorder, the most marked feature of the disease is elevated blood glucose. Abnormality of glucose metabolism leads to the whole series of abnormalities, one of these complications is the eye disease and sometime lead to blindness.

One hundred diabetic patients were studied which include 60 patients with eye disease and 40 without eye disease in comparison with 30 patients control group of diagnosed eye disease , as well as 30 apparent healthy individuals. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) technique was used to measure, serum levels of Interlukine-6 (IL-6), in diabetic patients with & without eye disease in comparison with control groups

This study reveals that mean serum level of IL-6 was obviously higher in diabetic cases with and without eye disease, than in patients and healthy control groups (129, 101.12, 20.25, 9.4 pg/ml) respectively.

INTRODUCTION

Diabetes mellitus is clinical syndrome which is characterized by metabolic abnormalities, hyperglycemia, due to absolute or relative deficiency of insulin, and by long term complications involving eyes, kidneys, nerves and

blood vessels [1, 2] it is ubiquitous disease with an ancient history, it is most third common disease in the world [3], being present in approximately 3% of the adult population [4, 5]. There are two main types of diabetes, Type-I Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM), and Type-II Non-insulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM).

The different levels of diabetes pathogenesis including, genetic, autoimmune (Type-I), and metabolic (Type-I and Type-II) are responsible for immune abnormalities demonstrated several pathological features associated with two types of D.M. [6].

Autoimmunity plays a major role for the development of IDDM and some role in patients with NIDDM, where as Abs to DNA denote the autoimmune nature of the disease [7].

Diabetes mellitus is the most common endocrine disease with metabolic, vascular and neuropathic components that are interrelated. The metabolic changes which is characterized by alterations in carbohydrate, fat and protein metabolism secondary to absent or markedly diminished insulin secretion or ineffective insulin action [8, 9].

The term cytokine has been designated to include soluble mediators secreted by lymphocytes (lymphokines) and those secreted by Monocytes and macrophages known as (monokines), while cytokines synthesized and secreted by leukocytes are named (interleukins) [10]. All are secreted in extremely low concentration (Picomolar to nanomolar range), and most manifest their biological effect through specific receptors, with high binding affinities, expressed at the surface of their target cell [11].

Cytokines participate in all phase of immune response, they affect proliferation, differentiation and migration of various cells in immune system and regulate both humoral and cellular immune response [11]. They serve as chemical messengers that play pivotal roles in communication both within cells of the immune system to regulate the development and behavior of

immune effector cells, and between the immune system and other systems of the body forming an integrated network that is highly evolved in the regulation of immune responses [12].

Today at least 28 individual cytokines included in four main classes or families have been identified, these are; 18 interleukins (ILs), 3 interferons (IFNs), 2 tumor necrosis factors (TNFs) and 5 growth factors [13, 9]. Interleukin-6 is a pleiotropic inflammatory cytokine produced by T cells, monocytes, macrophages and synovial fibroblasts [14]. Originally it was identified as a factor that induces the final maturation of B cells into plasma cells. Also interleukin-6 is involved in diverse biologic processes, such as the activation of T cells, the induction of the acute-phase response, the stimulation of the growth and differentiation of hematopoietic precursor cells [15].

This research was planned to study the level of IL-6 and its possible role in Diabetes Mellitus in addition to its association with retinopathy.

MATERIALS & METHODS

During January 2003- July 2004, one hundred diabetic patients were studied. Those include 60 patients with eye disease and 40 without eye disease in comparison with 30 patients control group of diagnosed eye disease, as well as 30 apparent healthy individuals. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) technique was used to measure, serum levels of Interlukine-6 (IL-6), in diabetic patients with & without eye disease in comparison with control groups according to the instruction of Diaclone France Com. All patients have been diagnosed by the consultant committee of Gastro-intestinal tract (GIT) diseases in Specialist Surgeries Hospital.

All the results have been analyzed statistically using F-test for quantitative data, while for qualitative data, the difference in proportions was tested by using Chi-square (χ^2) test with P value of ≤ 0.05 as the level of significance [16].

RESULTS

The results present in this study were based on the analysis of data of one hundred patients with clinical evidence of DM type-II, sixty patients with eye disease as a complication of diabetes, the rest forty have diabetes without complication, control groups which include thirty patients having eye disease as patients control and

thirty without diabetes apparent healthy control individuals, as illustrate in Figure (1)

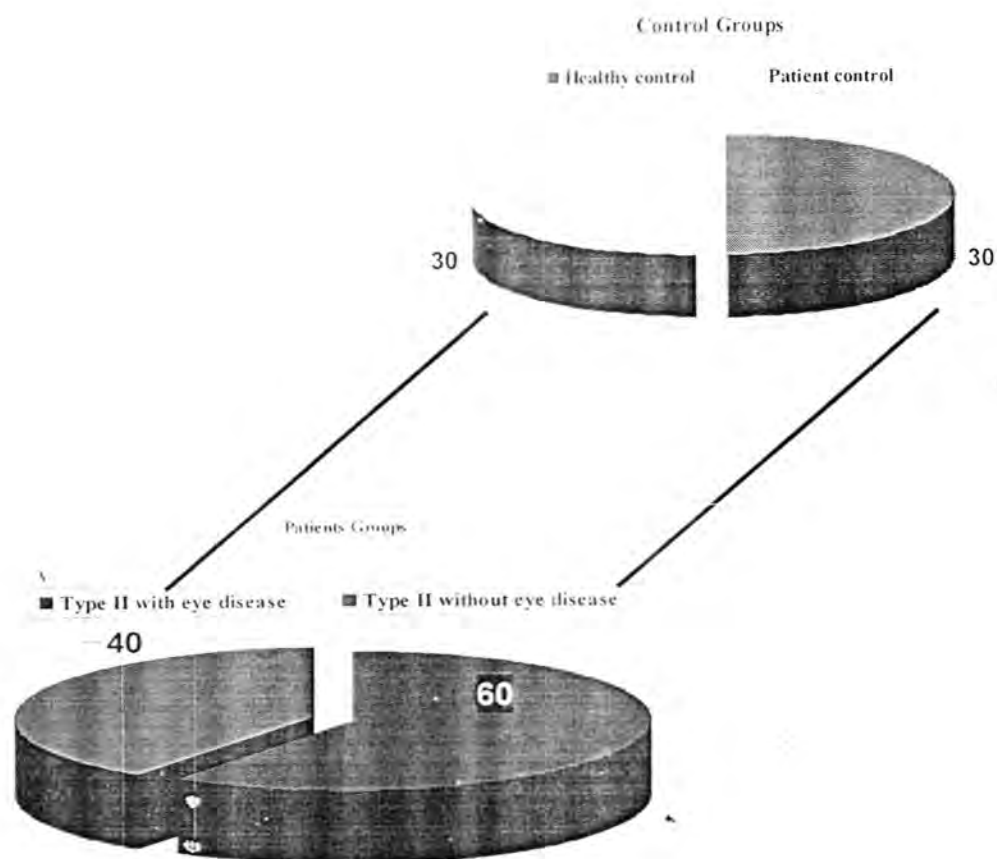


Figure (1): Pie chart showing the prevalence of type II with and without eye disease in the patients groups.

Age and Sex Distribution:

The distribution of patients according to the age groups was listed in the above table (1) which shows that NIDDM with eye disease, 18

patients (30%) are younger than 50 years, while 42 patients (70%) fall in old age group. On the other hand type II without eye disease

patients reveals that the majority of patients [2 individuals] (80%) are below 50 years and only 8 patients (20%) were ≥ 50 years. On the contrary, among the patient controls group the majority of patients (60%) that complain of eye disease are those above 50 years.

Table (1): Distribution of diabetic patients according to age & gender in comparison with control groups:

Comparison with control groups:								
Age groups (Years)	Study Groups							
	Patients groups				Control groups			
	Type II with Eye N = 60		Type II N = 40		Patients control N = 30		Healthy control N = 30	
	No	%	No	%	No	%	No	%
<40	6	10.0	12	30.0	3	10.0	6	20.0
40-49	12	20.0	20	50.0	9	30.0	18	60.0
50-59	18	30.0	4	10.0	12	40.0	6	20.0
60-	24	40.0	4	10.0	6	20.0	--	-
Total	60	100%	40	100%	30	100%	30	100%
Range	36-65		38-68		38-62		38-54	
Mean	53.1		50.3		46.3		40.9	
SD	±8.21		±9.66		±6.45		±6.26	
P (ANOVA)	*<0.0001							

* = P value for type II with eye disease in comparison with healthy control group.

Results in table (1) indicates that the mean age of type II patients with eye disease (53.10 ± 8.21) was higher than the mean age of type II patients without eye disease (50.3 ± 9.66), as shown in Figure (2). Moreover there is highly significant difference between the mean of age of patients with eye disease in comparison with that for patient controls (46.3 ± 6.45) [$P < 0.0001$].

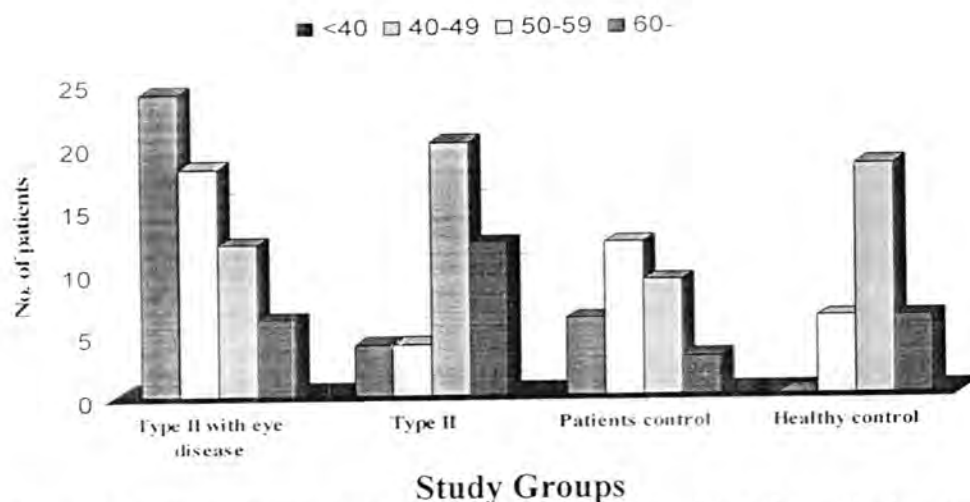


Figure (2): Bar chart showing the age distribution of studied groups.

According to gender, the frequency of patients reveals that there were 36 females (60%) and 24 males (40%) for type II with eye disease, with a female to male ratio 3:2. While type II without eye disease patients include 30 females (75%) and 10 males (25%) with ratio 3:1 as illustrate in Figure (3).

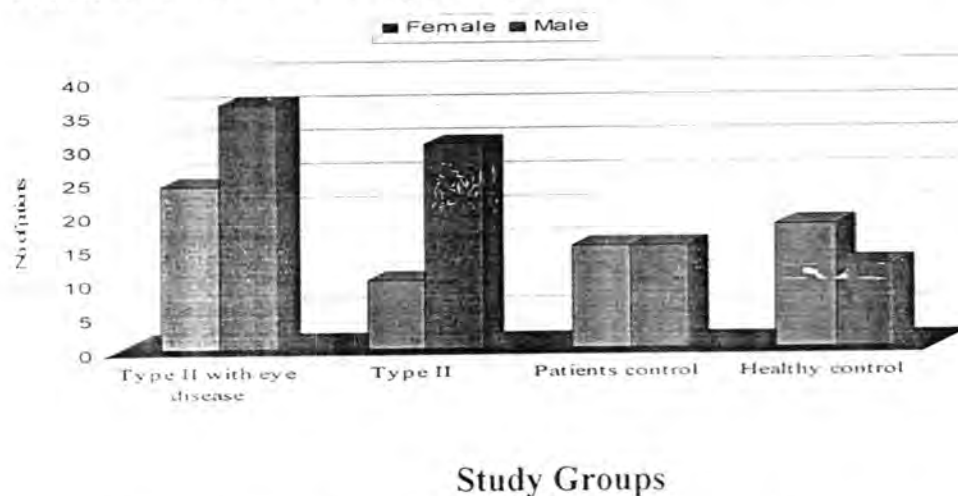


Figure (3): Bar chart showing the gender distribution of studied groups.

Estimation of Serum IL-6 Level:

Statistical analysis as shown in Table (2) reveals a significant elevation in serum IL-6 level of D.M. patients with and

without eye disease [(129 ± 83 pg/ml), (101 ± 91.2 pg/ml) respectively] in comparison with patients control (eye disease) (20.25 ± 16.4 pg/ml) and healthy control group (9.4 ± 4.12 pg/ml) with $P < 0.0001$. Figure (4) confirms these facts.

Table (2): The difference in mean serum IL-6 level (pg/ml) between the study groups.

Values	Patient Groups		Control Groups	
	Type II with Eye N = 40	Type II DM N = 20	Patients Control N = 15	Healthy control N = 15
Mean ± SD	129 ± 83	101.12 ± 91.2	20.25 ± 16.4	9.4 ± 4.12
P (ANOVA)	* < 0.0001			

• P value for diabetic patients (with and without eye disease) in comparison with healthy control .

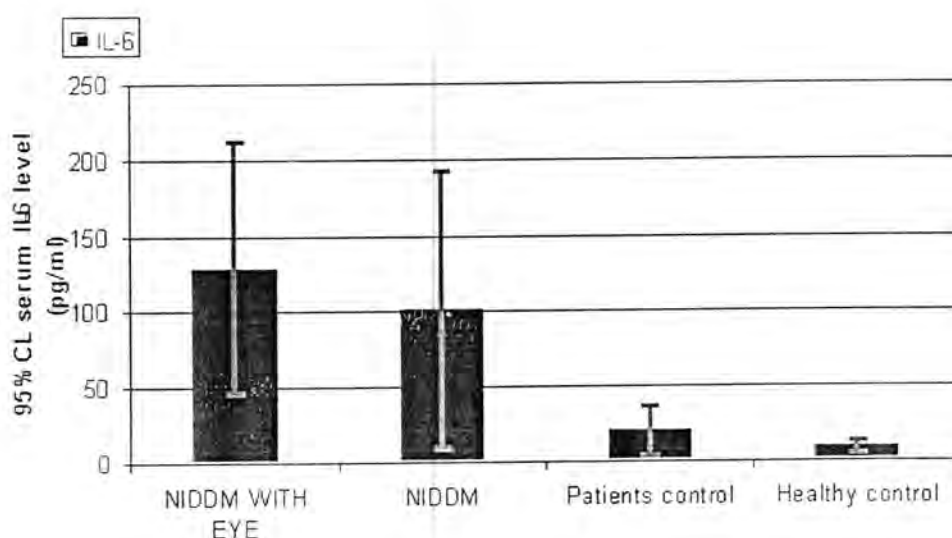


Figure (4): Error bar chart showing the mean with its 95% confidence interval of serum Interlukine-6 level (pg/ml) in the study groups.

Table (3) shows that the frequency of the IL-6 levels in sera of the studied groups, a level of 17.64 pg/ml was considered as a cutoff value of serum IL-6 (calculation was carried out by taking the mean serum IL-6 + 2 SD of healthy control), therefore, any serum IL-6 higher than this value was considered as elevated level.

Table (3): Frequency of IL-6 level in sera of the study groups.

Study Groups	<17.64		>17.64	
	No	%	No	%
Type II with eye disease (n=40)	27	67.5	13	32.5
Type II (n=20)	10	50.0	10	50.0
Patients control (n=15)	12	80.0	3	20.0
Healthy control (n=15)	15	100	0	0

*A cut-off value of serum IL-6 (mean + 2SD of healthy control level.

DISCUSSION

According to the *age* distribution of patients in comparison with control groups the current study's results agreed with that reported by [17, 18] that the age of diabetic mellitus patients type II is considered to be an independent risk factor for eye disease as a complication of diabetes mellitus.

Considering the frequency of *gender* the present findings that were reported by [19] shows that women with gestational diabetes mellitus (GDM) might develop type II diabetes mellitus later in their life.

These results agreed with that reported by Boon *et al.*, (1999) [20] that eye disease as a complication occurs at least twice as often in diabetic men and three in diabetic women as in the non diabetic population.

These results conflicted with that abroad [21] in which type II with and without complication are higher in men than women in Japan.

This study deals with the *IL-6 concentration* and its variation in the study groups. The results of this research show that there is an elevation in the level of IL-6 in the sera of diabetic patients particularly those with eye infections. This is related to the inflammatory nature of Diabetes Mellitus that is associated with this

cytokine, which recruits in the presence of eye diseases [22]. Interleukin-6 is multifunctional protein produced by variety of cells, such as monocytes, macrophage, Th₂ cell, endothelial cells granulocytes [23]. It is a pleiotrophic cytokine with central roles in the regulation of inflammatory and immune reaction that induce a variety of biological responses and influences the growth of several target cells [24-26].

So elevation of this cytokine may indicate the activities of certain immune cells in addition to it's action on other cells, for example may promote B cell differentiation into plasma cells and stimulate antibody secretion against Beta (β) cells of the pancreas as in D.M. These facts explain its elevation in diabetic patients particularly those with another inflammatory disease as eye infection which required its elevation [24]. This is really when we noticed the arising in its concentration in patient control group in comparison with apparent healthy one. Although the frequency of IL-6 level was observed to be higher among those without eye disease, [majority (50%) are above the cut-off level] which explained the exact and direct role of IL-6 in D.M. rather than eye disease.

REFERENCES

1. Foster DW. "Diabetes mellitus, part-13-: Endocrinology and metabolism. In: Fauci AS., Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL & Longo DL (eds.), *Harrison's principles of internal medicine*", 14th ed. McGraw-Hill Book Company, New York. : 2060, 1998.
2. Frier BM., Ruswell AST, Shepherd J, Delooy, A, Junge R. "Diabetes mellitus, nutritional and metabolic disorders. *Davidson's principle and practice of medicine*", 8th ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, London: 471, 1999.
3. Krentz AJ. "Churchill's pocket book of diabetes. " Churchill Livingstone. Lay WH. & Mendes NF. 1971. Binding of sheep red blood cells to a large population of human lymphocytes. " *Nature*, 230: 631-632, 2000.
4. Murtagh JE. "Diabetes mellitus: the general practitioner's perspective. " *Clin. Exp. Optom.* , 82:74-79, 1999.
5. Gutteridge IF. "Diabetes mellitus: a brief history, epidemiology, definition and classification." *Clin. Exp. Optom.* , 82: 102-106, 1999.
6. Moustschen MD, Scheen AJ & Lefebvre PJ. "Impaired immune response in diabetes mellitus analysis of the factors and mechanisms involved relevance to the increased susceptibility of

- diabetic patients to specific infection . " Diabetes and Metabolism, 18:187-201, 1992.
7. Guarnotta G & Trioli G. "Immunocomplex-mediated inhibition of lymphocyte Fc -Y receptors in the plasma of patients with type 1 diabetes: association with anti-ssDNA antibodies." Clin. Immunity Immunopatho. , 54: 228-236, 1999.
 8. Haslett C, Edwin RC, John AA H & Nicholas AB. "*Principles and practice of medicine.*" 18th. Ed. Edinburgh London, New York Philadelphia, Sydney Toronto. : 524-7, 1999
 9. Goldsby, R.A. & Kindt TJ (eds.) "*Kuby immunology.*" 4th ed. W.H. Freeman and company, New York, 2000
 10. Chapel H, Haeney M, Misbah S & Snowden N.. "*Essential of clinical immunology .*" 4th ed. Blackwell science, :10, 1998
 11. Oppenheim JJ & Ruscetti FW. "Cytokines In: *a Lange medical book Medical Immunology*" by Parslow GT, Stites DP, Terr AI & Imboden JB [Eds.] {10th Ed.} Lange Medical Books / McGraw-Hill Medical Publishing Division, NY. : 148-167, 2001
 12. Bartuzi Z, Zpiowska-Gotz M, Romaniski B & Sinkwies W. ". Evaluating the profile of selected cytokines in patients with DM." Med. Sci. Monit. , 6: 1128-1135, 2000
 13. Benjamini E, Coica R & Sunshine G. "*Immunology a short course.*" 4th ed Wiley -Liss Inc. , : 411. 2000
 14. Van Snick J. "Interleukin-6: An overview." Ann. Rev. Immunol., 8: 253-78, 1996
 15. Choy EHS & Panayi GS. "Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. N. Eng. J. Med., .22 : 13-22, 2001
 16. Sorlie DE "*Medical biostatistics and Epidemiology: Examination and Broad Review.*" 1st Ed; Norwalk Connecticut Appleton and Lange Com: 74-88 , 1995.
 17. Dortimer A, Shenoy PN Shiroff RA, Leaman D Babb JD, Lidtk J & Zelis R. "Diffuse coronary artery disease in diabetic patients." Circulation, 57 (1): 133-136, 1977.
 18. Ito HY, Harano M. Suzuk Y, Hattori M. Takeuchi H, Inada J, Inoune R, Kawamor T, Murase Y, Ouchi F, Umeda H, Nawata H, Orimo. " The multiclinical study for diabetes macro-angiopathy group. Risk factor analyses for macro vascular complication in non-obese NIDDM patients. " Diabetes, 45 (Supp1.3):S19-S23, 1996
 19. Swin, R.A., Wareham NJ, Geory RV, Curling PM., Dalton KJ, Edwards OM & O`Rahelly S. "Excessive secretion of insulin precursors characterizes and predicts gestational diabetes." Diabetes, 44:911-915. 1995

20. Boon NA, Fox KAA & Bloofield. P. "Cardiology. In: *Davidson's principles & practices of medicine*" by Halslet, C., Chilver ER Hunter JAA & Boon NA (eds.), [8th ed.] Churchill Livingstone, England, London. , :191-302, 1999
21. Fugimoto WY, Bergstrom RW, Boyko EJ, Leonetti DL, Newell Morris LL & Wahl. PW "Coronary heart disease and NIDDM in Japanese – Americans." *Diabetes* 45 (Suppl. 3): S17-S18, 1996.
22. Hirano T. "The biology of interleukin-6." *Chem. Immunol.* 51: 153-80 1992.
23. Wellby ML, Kennedy JA, Pile K, true BS & Barreau P. "Serum interleukin-6 and thyroid hormone in rheumatoid arthritis." *Metabolism*, 50(4): 463-7, 2001.
24. Mitsuyama K, Sasaki TE, Ishida O, Iked H., Tsuruta O, Harada K, Tateishi H, Nishiyama T. & Tanikawa K.. "Soluble interleukin-6 receptors in inflammatory bowel disease: relation to circulating interleukin-6." *Gut*, 36:45-49, 1995.
25. HiranoT "Interleukin-6 and its relation to inflammation and disease." *Clin Immunol Immunopathol* 62: S60-5, 1992.
26. Hirano T, Taga T, Mastsuda T, Hibi M, Suematsu S, Kishimoto T. "Interleukin-6 and its receptors in immune response and hematopoesis." *Int.J. cell Cloning* 8: 155-56, 1990.

Synthesis of New Derivatives for 5-Triazolo-[3,4-b]-Thiazolidine-4-one

Suad J. Lafta Department of Chemistry, College of Science, AL-Mustansiriya University, Baghdad, Iraq.

تاريخ قبول البحث: 2007/3/6

تاريخ تقديم البحث: 2006/6/25

الخلاصة: -

يتضمن هذا البحث تحضير عدد من مشتقات التريازول- [3,4-b]-ثيازوليدين-4-اون [4] من المركب 2-هايدرازينو ثيازولين-4-اون [2] الذي حضر من تفاعل الرودانين مع الهيدرازين المائي ثم تحويله إلى قواعد شف [3] بتكاثفه مع الديهايدات اروماتية مختلفة. تم إجراء الغلق الحلقى لقواعد شف المحضرة [3] بمعاملتها مع محلول (البروم في حامض الخليك) لتكوين المشتقات الجديدة [4] التي تحتوي على حلقة التريازول والتي قد تستخدم كمواد فعالة بايولوجياً. شخّصت المركبات المحضرة من قياس درجات انصهارها وتحليل أطياف الأشعة تحت الحمراء والأشعة فوق البنفسجية (UV, IR).

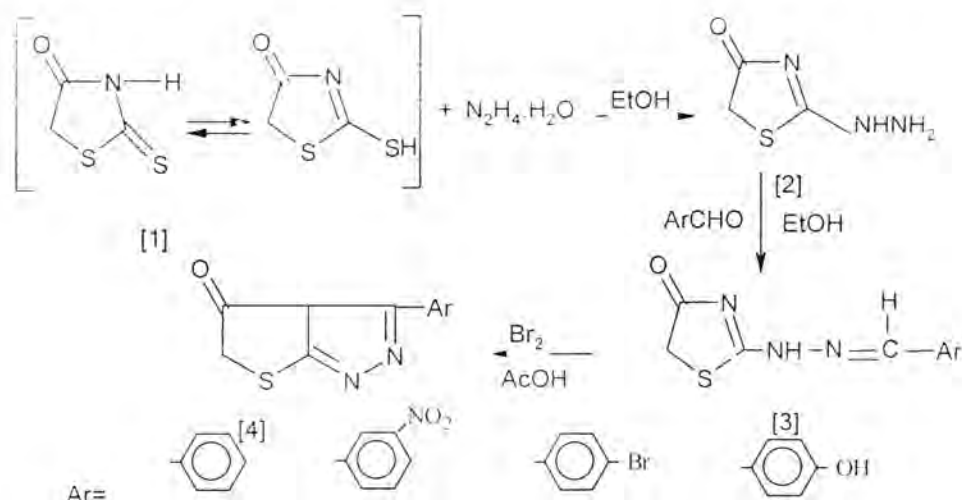
ABSTRACT: -

The present investigation describes the preparation of 5-triazolo-[3,4-b]-thiazolidine-4-one derivatives [4] from 2-hydrazino thiazoline-4-one [2], which was synthesized from the reaction of Rhodanine [1], with hydrazine hydrate and converted to Schiff's bases [3] by the condensation different aromatic aldehydes. The synthesized Schiff's bases were cyclized by bromine in acetic acid to form triazole ring in the new derivatives [4], which might result in biologically active agents.

The synthesized compounds were identified by their m.pts., IR and UV-Visible, spectral data.

INTRODUCTION

Rhodanine [1] is one of the heterocyclic compounds, which contains thiazolidine ring with thiol group substituted in position 2 and carbonyl group in position 4⁽¹⁾. The aim of the present work is to synthesize new compounds containing triazole and thiazolidine rings. The presence of the new triazole ring may enhance the antibacterial activity of the starting material Rhodanine⁽²⁾. The synthesizing of triazole derivatives was achieved through the synthesis of Schiff's bases, which are important compounds due to the presence of the azomethine group (N=C), which has significant effect on the enzymes in biological systems.



EXPERIMENTAL: -

1. Synthesis of Rhodanine [1]:

Rhodanine was synthesized by the reaction of sodium chloroacetate and ammonium dithiocarbamate. The yield was 83gm., m.pt. = $165 \pm 2^\circ$, $168 \pm 0.5^\circ$ ⁽³⁾.

2. Synthesis of Hydrazino thiazoline-4-one [2]:

In a two-necked round-bottomed flask connected to a reflux condenser and a thermometer, rhodanine (0.003 mole) was dissolved in (15 ml) ethanol. To this solution (0.003 mole) of hydrazine hydrate was added drop-wise with continuous stirring at 65°C for 3 hrs. The mixture was poured on crushed ice to give brown precipitate, which was recrystallized from ethanol to give a good yield⁽⁴⁾. The melting point, yield and spectral data are shown in table (1).

3. Synthesis of Schiff's bases [3]:

In a round-bottomed flask equipped with double surface condenser fitted with calcium chloride guard tube, a mixture of hydrazino compound (0.001 mole) and appropriate aromatic aldehyde (0.001 mole) in (30 ml) ethanol containing drops of glacial acetic acid, was refluxed for 12 hrs. The mixture was poured on ice water to give precipitate, which was recrystallized from acetic acid⁽⁵⁾.

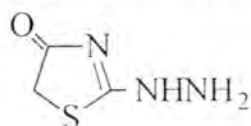
The melting points, yields, and molecular formulas are showed in table (2) and the spectral data are listed in table (3).

4. Synthesis of 5-Triazolo-[3,4-b]-thiazolidine-4-one [4]:

In a round-bottomed flask Schiff's base compound (0.005 mole) was suspended in glacial acetic acid (5 ml) and anhydrous sodium acetate (0.12 gm) was added. To this stirred mixture a solution of bromine (0.1 gm) in glacial acetic acid (2 ml) was added drop-wise. The hydrazone dissolved and after 1.5 hr. the solution was poured into water (50 ml). The separated crystals were collected, washed with

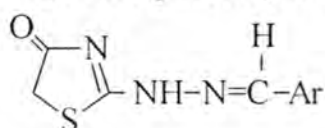
water, dried and recrystallized from ethylacetate. The melting points, yields and molecular formulas are showed in table [4] and the spectral data are listed in table [5].

Table (1): The melting point, percentage yield, the spectral data for and molecular formula for compound [2]



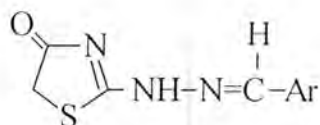
m.p. °C	Yield %	Molecular formula	$\nu(\text{NHNH}_2)$ cm^{-1}	$\nu(\text{C}=\text{N})$ cm^{-1}	$\nu(\text{C}=\text{O})$ cm^{-1}	$\nu(\text{Others})$ cm^{-1}	UV-Vis
228-230	80	$\text{C}_3\text{H}_5\text{N}_3\text{SO}$	3300-3280 (3100)	1600	1700	$\nu(\text{C}-\text{N})$ 1250	293 252

Table (2): The melting point, percentage yield and molecular formula for compound [3a -3d]



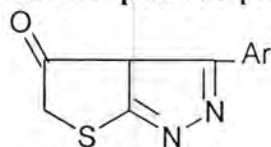
Comp. No.	-Ar	m.p. °C	Yield %	Molecular formula
3a		255-257	80	$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_3\text{SO}$
3b		260-263	95	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_4\text{SO}_3$
3c		102-104	75.5	$\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_3\text{SO}_2$
3d		280-282	65	$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_3\text{SOBr}$

Table (3): The IR and UV-Visible spectral data for compounds [3a-3d]



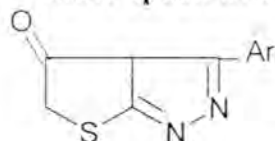
Comp. No.	-Ar	$\nu(\text{C-H})$ arom. cm^{-1}	$\nu(\text{C-H})$ aliph. cm^{-1}	$\nu(\text{C=N})$ cm^{-1}	$\nu(\text{N-H})$ cm^{-1}	$\nu(\text{C-S})$ cm^{-1}	ν others cm^{-1}	UV-Vis. nm
3a		3000	2960	1680 1600	3200	830	—	302, 230
3b		3040	2980	1660 1600	3250	840	$\nu(\text{NO}_2)$ 1550, 1360	378, 352, 260
3c		3000	2960	1660 1570	3280	820	$\nu(\text{OH})$ 3500	295, 255, 302
3d		3000	2880	1650 1620	3100	840	$\nu(\text{C-Br})$ 730	302, 255

Table (4): The melting points, yields and molecular formulas for compounds [4a – 4d]



Comp. No.	-Ar	m.p. $^{\circ}\text{C}$	Yield %	Molecular formula
4a		167-169	30	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_3\text{SO}$
4b		173-175	20	$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_4\text{SO}_3$
4c		150-152	30	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_3\text{SO}_2$
4d		210-212	25	$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{N}_3\text{SOBr}$

Table (5): The IR and UV-Visible spectral data for compounds [4a-4d]



Comp. No.	-Ar	$\nu(\text{C-H})$ arom. cm^{-1}	$\nu(\text{C-H})$ arom. cm^{-1}	$\nu(\text{C=N})$ cm^{-1}	ν others cm^{-1}	UV-Vis. nm
4a		3010	1450 1470	1660	-	250, 220
4b		3100	1450 1470	1650	$\nu(\text{NO}_2)$ 1530 1310	305, 241
4c		3080	1440 1480	1630	$\nu(\text{OH})$ 3400	310, 237
4d		3090	1420 1440	1660	$\nu(\text{C-Br})$ 650	323, 238

RESULTS and DISCUSSION

The synthesis of 2-hydrazino thiazolidine-4-one was the first step in the synthesis of the target compound. Rhodanine was treated with hydrazine hydrate in order to replace the thiol group by hydrazine group.

The spectral data of compound [2] in table (1) showed the appearance of multiple bands in IR spectra at (3200-3300 cm^{-1}) due to stretching vibrations of hydrazine (NHNH_2) group bands and disappearance of stretching band at (2500 cm^{-1}) for thiol group⁽⁶⁾.

UV spectrum showed an absorption peak at (293 nm), which belongs to ($n-\pi^*$) transition of the non-bonding electrons and at (252 nm) due to ($\pi-\pi^*$) transition of the π -bonds electrons.

The hydrazino compound was converted into Schiff's bases [3] through condensation with aromatic aldehydes. The spectral data are listed in table (3).

The cyclization of the synthesized Schiff's bases, to produce the triazole ring, was done by the treatment of those bases with a solution of bromine in glacial acetic acid. Table (4) showed the physical properties of the products and table (5) showed the spectral data.

The IR spectrum showed the disappearance of absorption band of (NH) group in Schiff's bases and appearance of a band at (1650-1660 cm^{-1}) due to (C=N) stretching vibration.

UV spectrum showed the absorption peaks, which were caused by ($n-\pi^*$) and ($\pi-\pi^*$) transitions in the products.

REFERENCES

1. Redemann, Icke, Alles, "Org. Syn. Coll.", Vol. III, 763-765,(1955).
2. D.C. Leysen and A. Haermers, *J. Heterocycl. Chem.*, 21, 401 (1984).
3. J. Sturgis, *J. Am. Chem. Soc.*, 57, 1126(1935); Redemann, Icke, Alles, *Org. Syn. Coll.*, Vol. III, 363 (1955).
4. O.S. Moustafa, M.Z.A. Bader and T.I. EL-Emary, *Bull. Korean Chem. Soc.Soc.*, Vol.40, No. 4 (2002).
5. E.H. EL-Tamany, E.M. Salem, R.N. Metwally and A.II. EL-Soghier, *Egypt J. Chem.*, Vol. 40, No. 5, 23 (1997).
6. P. Crews and J. Rodrigues, "Organic structure analysis", New York, Oxford (1998).

Synthesis of New 3,4-Dihydropyrimidine-2-(1H)-one Derivatives

Redha I. H. AL-Bayati - Suad J. Lafta - Sahar A. AL-Rikabi
Department of Chemistry, College of Science, AL-Mustansiriya University

تاريخ قبول النشر: 2007/3/6

تاريخ تقديم البحث: 2006/6/28

الخلاصة:

ان تكاتف 4-كلوروبنزالديهايد مع اثيل اسيتو اسيتيت، يوريا بوجود $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ يعطي ناتج كمي من اثيل 4-(كلورو فنيل)-6-مثيل-2-او-كسو-1,2,3,4-تتراهيدروبريميدين-5-كاربوكسيليت (1). تفاعل المركب (1) مع الهيدرازين ينتج مشتق كربوهيدرازيد (2). معاملة المشتق (2) مع اثيل اسيتواسيتيت، CS_2/KOH بدرجة حرارة الغرفة (16 ساعة)، CS_2/KOH (7 ساعات)، حامض الفوسفوريك/ POCl_3 ، حامض الفورميك وفنيل ايزوثايسانات يعطي مشتقات جديدة للمركب 3,4-ثنائي هيدروبريميدين-[H]-2-اون تحوي وحدات 1,2,4-تريازول (9) و 1,3,4-ثياديازول (10) في تركيبها. شخّصت النواتج بالاعتماد على بعض الخواص الطيفية (UV, IR).

ABSTRACT:

Condensation of 4-chloro benzaldehyde and urea with ethyl acetoacetate in the presence of $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ gave a quantitative yield of ethyl 4-(4-chloro phenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate (1). Reaction of compound (1) with hydrazine hydrate resulted carbonylhydrazide derivative (2). Interaction of (2) with ethyl acetoacetate, CS_2/KOH (r.t.) 16 hrs, CS_2/KOH , Δ , 7 hrs, $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}/\text{POCl}_3$, HCOOH and phenyl isothiocyanate afforded new 3,4-dihydropyrimidine-[1H]-2-one derivatives (3-8). The compound (8) was converted into 3,4-dihydropyrimidine-[1H]-2-one derivatives comprising 1,2,4-triazole (9) and 1,3,4-thiadiazole (10) moieties. The characterization of the products have been done on the basis of some spectral data (IR, UV).

INTRODUCTION:

Dihydropyrimidinone and their derivatives have been reported to possess significant activity as antihypertensive, antifungal, antibacterial, anticancer, antileukemic, antitumor, anthelmintic, herbicidal, plant growth regulators and corrosion inhibitors⁽¹⁻³⁾. Also, some heterocyclic moieties such as triazole, thiadiazole and oxadiazole nuclei are known to possess antibacterial, fungicidal properties, in addition they have shown biological activity against parasites and

bacteria⁽⁴⁻¹⁴⁾. We report here, the synthesis of some derivatives of the title structure type containing the above mentioned moieties.

EXPERIMENTAL:

Melting points determined in open capillaries on a Gallen Kamp MFB-600 melting point apparatus and are uncorrected. The IR spectra were recorded by KBr discs or films with a Pye-Unicam SP3-100 spectrophotometer. UV spectra were recorded with a Hitachi-2000 spectrophotometer.

Preparation of ethyl-4-(4-chlorophenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydro pyrimidine-5-carboxylate (1):

4-Chloro benzaldehyde (1.14 gm, 0.01 mole), urea (1.8 gm, 0.03 mole) and ethanol (15 ml) were added to a stirred ethyl acetoacetate (1.3 gm, 0.01 mole) and then catalytic amount (0.9 gm) of $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ was added. The mixture was refluxed for 7 hours. After cooling, the mixture poured onto ice water (30 gm) and the precipitate was filtered. The solid (1) was recrystallized from ethanol-water (50-50) to give compound (1) (Table 1).

Preparation of 4-(4-chlorophenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydro pyrimidine-5-carbohydrazide (2):

To a solution of compound (1) (0.9 gm, 0.003 mole) in absolute ethanol (20 ml), hydrazine hydrate 99% (2.7 gm, 0.08 mole) was added dropwise. The mixture was refluxed for 12 hours. The solvent was removed in vacuo and the solid product was collected and recrystallized to give compound (2) from ethanol (Table 1).

Preparation of 4-(4-chlorophenyl)-6-methyl-5-[(3-methyl-5-oxo-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl) carbonyl]-3,4-dihydro pyrimidine-2(1H)-one (3): A mixture of carbohydrazide (2) (0.28 gm, 0.001 mole) and ethyl acetoacetate (1.3 gm, 0.001 mole) in absolute ethanol (30 ml) was heated at reflux temperature for 7 hrs., the solvent was evaporated under vacuum and the formed precipitate was filtered off and recrystallized from ethanol-water (50-50) to give compound (3) (Table 1).

Preparation of potassium 4-(4-chlorophenyl-N-ethane thioyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydro pyrimidine-5-carbohydrazide (4):

A mixture of carbohydrazide (2) (2.8 gm, 0.01 mole) in ethanol (10 ml) was added to carbon disulphide (1.5 gm, 0.018 mole), potassium hydroxide (0.36 gm, 0.01 mole) and ethanol (20 ml). The reaction mixture was stirred at room temperature for 16 hrs., then it was concentrated and the resulting solid was collected and recrystallized from ethanol to give compound (4) (Table 1).

Preparation of 4-(4-chlorophenyl)-5-(5-mercapto-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-6-methyl-3,4-dihydro pyrimidine-2(1H)-one (5):

To a mixture of carbohydrazide (2) (2.8 gm, 0.01 mole) in ethanol (10 ml) was added KOH (0.36 gm, 0.01 mole) in ethanol (20 ml), followed by CS₂ (1.5 gm, 0.018 mole). The reaction mixture was refluxed for 7 hours. Then it was concentrated, dissolved in cold water, acidified with diluted cold hydrochloric acid (10%) and the resulting solid was collected, washed with distilled water and recrystallized from acetone to give compound (5) (Table 1).

Preparation of 4-(4-chlorophenyl)-6-methyl-5-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-3,4-dihydropyrimidine-2(1H)-one (6):

To a carbohydrazide (2) (0.72 gm, 2.5 mmole) in dry benzene (5 ml), phosphorous oxychloride (7 ml), benzoic acid (0.33 gm, 2.5 mmole) and benzene (10 ml) was added. The mixture was refluxed for 7 hours. The solvent was evaporated, poured onto cold water and the mixture was left overnight. After treatment of the resulting solid with sodium hydroxide (10%), the precipitate was filtered and recrystallized from chloroform (Table 1).

Preparation of 4-(4-chlorophenyl)-6-methyl-2-oxo-N-(phenyl carbonothioyl)-1,2,3,4-tetrahydro pyrimidine-4-carbohydrazide (7):

A mixture of carbohydrazide (2) (1.8 gm, 0.006 mole) and phenyl isothiocyanate (0.9 gm, 0.006 mole) in absolute ethanol (20 ml) was refluxed for 4 hours. The solvent was evaporated and the residue was purified on a column of silica gel using acetone-water (30-70) as eluent. The product is oily (Table 1).

Preparation of 4-(4-chlorophenyl)-5-(5-mercapto-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)-6-methyl-3,4-dihydro pyrimidine-2(1H)-one (8):

A mixture of compound (7) (0.62 gm, 0.001 mole) and sodium carbonate (4%, 10 ml) was gently refluxed for 4 hours. After cooling, the mixture was acidified with dilute HCl (10%), the precipitate was collected and recrystallized from ethanol (Table 1).

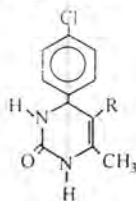
Preparation of 5-(5-anilino-1,3,4-thiadiazol-2-yl)-4-(4-chloro)-6-methyl-3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-one (9):

A mixture of compound (7) (0.62 gm, 0.001 mole) and conc. H₂SO₄ (10 ml) was stirred at room temperature for 24 hours, and then poured onto crushed ice. The resulting precipitate was collected and recrystallized from acetone-water (Table 1).

Preparation of 4-(4-chlorophenyl)-N-formyl-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydro pyrimidine-5-carbohydrazide (10):

A solution of carbohydrazide (2) (0.9 gm, 0.003 mole) in formic acid (20 ml) was refluxed for 2 hours. The solvent was evaporated and the residue was recrystallized from ethanol-water (50-50) (Table 1).

Table (1): Some physical properties of compounds (1-10)



Comp. No.	R	Purification solvent	m.p. (°C)	Yield %
1	$\text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C--OCH}_2\text{CH}_3$	Ethanol+H ₂ O	214-216	90
2	$\text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C--NHNH}_2$	Ethanol	280-282	60
3	$\text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C--N}\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{N} \\ \text{CH}_2 \end{matrix}$	Ethanol+H ₂ O	130-134	85
4	$\text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C--NHNH--}\overset{\text{S}}{\parallel}\text{C--SK}$	Ethanol	190-192	40
5	$\text{N}=\text{N}=\text{O}=\text{SH}$	Acetone	113-115	32
6	$\text{N}=\text{N}=\text{O}=\text{C}_6\text{H}_5$	Chloroform	86-89	50
7	$\text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C--NHNH--}\overset{\text{S}}{\parallel}\text{C--NHph}$	Acetone+H ₂ O	Oily	70
8	$\text{N}=\text{N}=\text{SH}$ ph	Ethanol	150-153	64
9	$\text{N}=\text{N}=\text{S}=\text{NHph}$	Acetone+H ₂ O	145-148	55
10	$\text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C--NHNH--}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C--H}$	Ethanol+H ₂ O	140-142	75

RESULTS & DISCUSSION:

The new pyrazole, oxadiazole, thiadiazole and triazole derivatives were prepared following the reaction sequences outlined in schemes (1-2). The starting material ethyl-4-(4-chloro phenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydro pyrimidine-5-carboxylate (1) which was prepared by the reaction of 4-chloro benzaldehyde and urea with ethyl acetoacetate in the presence of $\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

The reaction proceeds through the mechanism outlined in scheme (3).

The IR spectra showed the N-H stretching absorption near $3160\text{--}3220\text{ cm}^{-1}$ and the C=O stretching one at 1710 cm^{-1} , in addition to the band at 1650 cm^{-1} for the C=O stretch of amide (Table 2).

The reaction between compound (1) and hydrazine hydrate afforded the carbohydrazide (2) in a good yield. The IR spectrum of compound (2) exhibited a C=O stretching vibration at 1700 cm^{-1} (-CONHNH₂) and NH, NH₂ stretching vibration at $3150\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$.

A 3,4-dihydro pyrimidine-2(1H)-one incorporated into pyrazol moiety was synthesized by the reaction of (2) with ethyl acetoacetate in absolute ethanol which afforded 4-(4-chloro phenyl)-6-methyl-5-[(3-methyl -5-oxo-4,5-dihydro-1H-pyrazol-1-yl) carbonyl-3,4-dihydro pyrimidine-2 (1H)-one (3). The structure of (3) was proved on the basis of its melting point and spectral data. The IR spectrum showed the presence of the C=O stretching band at 1710 cm^{-1} for pyrazole ring, combined with disappearance of the NH₂ stretching band at $3180\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$.

Carbohydrazide (2) was allowed to react with carbon disulphide and potassium hydroxide at various conditions. Thus, when compound (2) was stirred with carbon disulphide and potassium hydroxide at room temperature, potassium 4-(4-chloro phenyl)-N-ethane thioyl-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydro pyrimidine-5-carbohydrazide (4) was obtained. On the other hand, when a mixture of carbohydrazide (2), KOH/CS₂ in ethanol was heated at reflux temperature 4-(4-chloro phenyl)-5-(5-mercapto-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-6-methyl-3,4-dihydro pyrimidine-2(1H)-one (5) was resulted.

These reactions were proceeded at different mechanisms as shown in schemes (4 and 5).

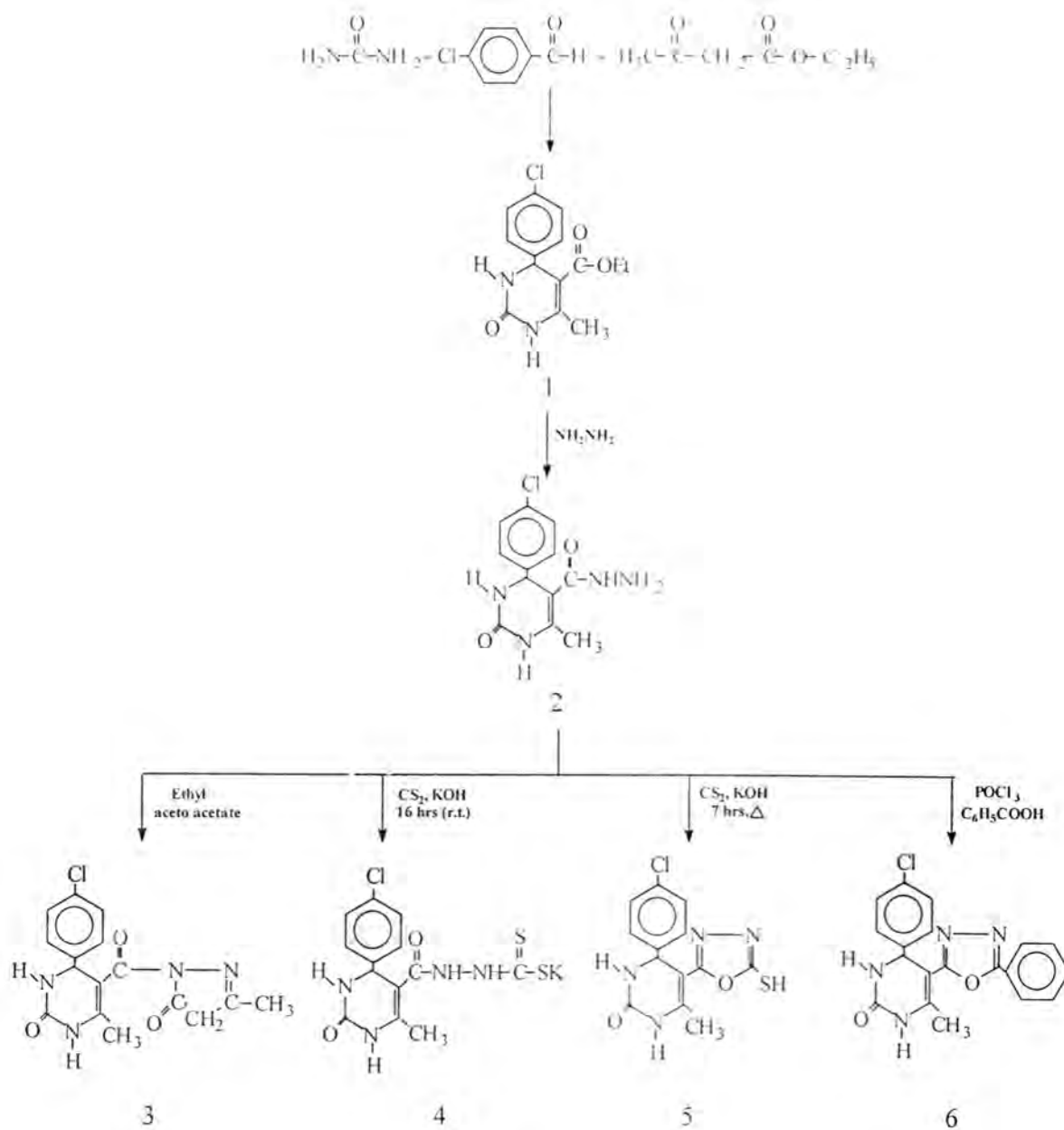
The structure of these derivatives (4 and 5) were proven on the basis of their melting points and spectral data. The IR spectrum of compound (4) exhibited a C=S stretching band 1240 cm^{-1} combined with the disappearance of the NH₂ stretching band at $3180\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$. On the other hand, the formation of (5) was indicated by the presence

of (C=N) stretching band at 1640 cm^{-1} , SH stretching at 2440 cm^{-1} and C-O band at 1240 cm^{-1} .

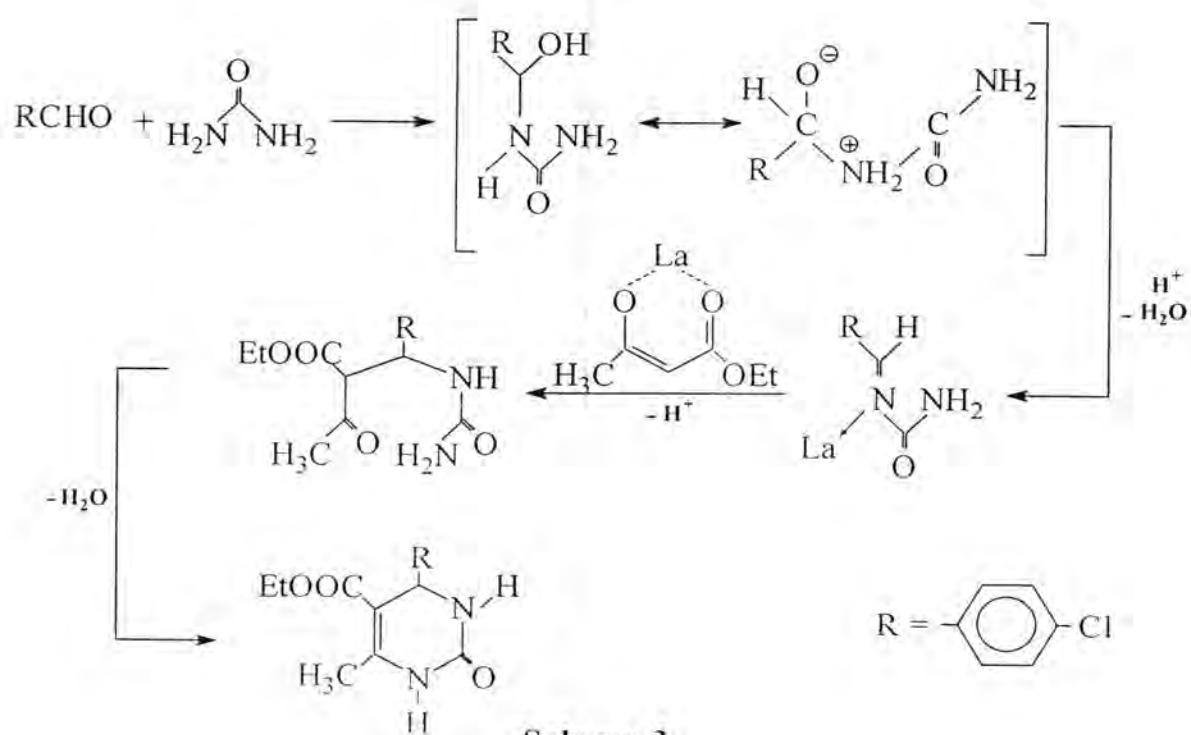
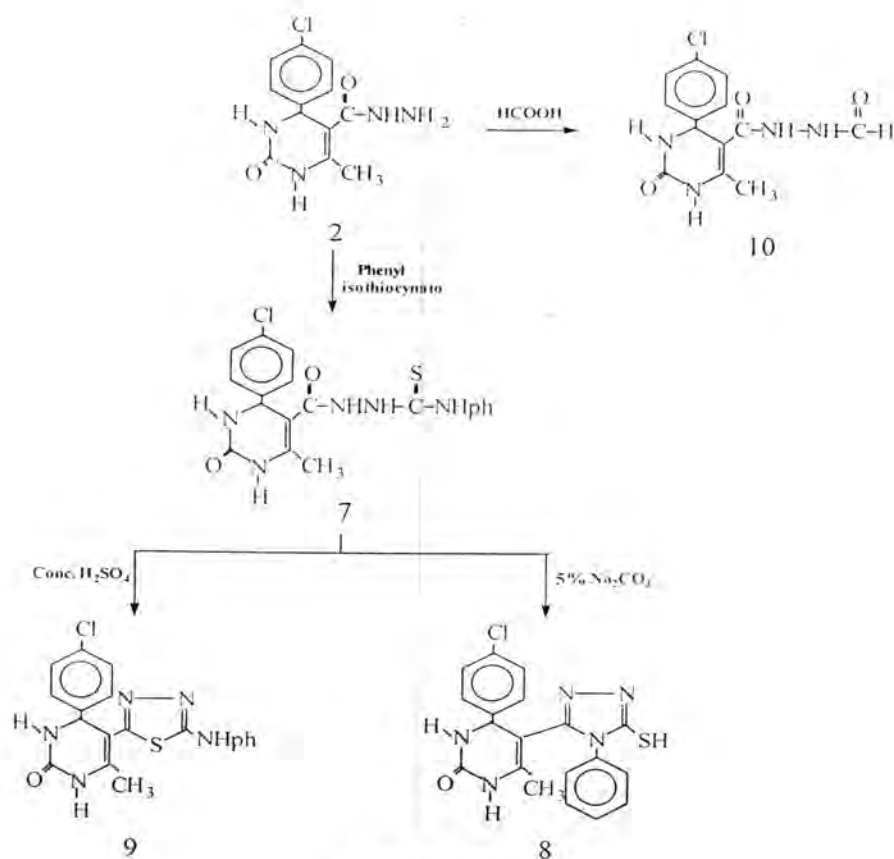
In another oxadiazole preparation, condensation of hydrazide (2) with benzoic acid in the presence of phosphorous oxychloride afforded 4-(4-chloro phenyl)-6-methyl-5-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-3,4-dihydro pyrimidine-2(1H)-one (6) which display two bands at 1640 cm^{-1} and $1230, 1080\text{ cm}^{-1}$ for the C=N stretching band and C-O-C asymmetric and symmetric stretching respectively.

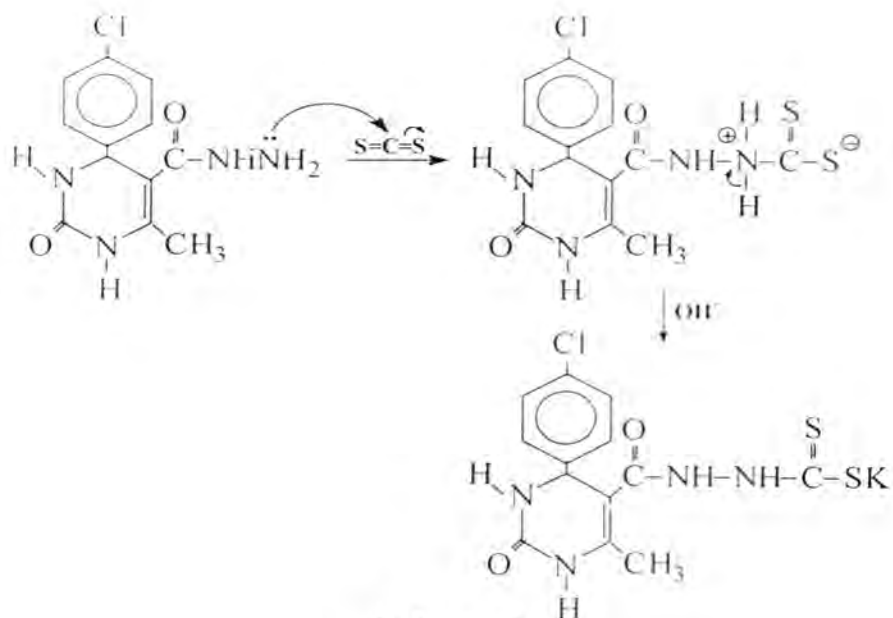
A 3,4-dihydro pyrimidine-2(1H)-one incorporated into triazol and thiadiazole moieties were also synthesized. Condensation of carbohydrazide (2) with phenyl isothiocyanate afforded the corresponding thiosemicarbazide (7) in an alkaline medium (5% Na_2CO_3) and an acidic medium (conc. H_2SO_4) are well known method for the synthesis of 1,2,4-triazole, thiadiazole derivatives and thus 4-(4-chloro phenyl)-5-(5-mercapto-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)-6-methyl-3,4-dihydro pyrimidine-2(1H)-one (8) and 5-[4-(4-chloro phenyl)-6-methyl-1,2,3,4-tetrahydro pyrimidine-5-yl]-N-phenyl-1,3,4-thiadiazol-2-amine (9) were obtained from the corresponding (7) by this method. The IR spectrum of (7) exhibited a C=O stretching band at 1670 cm^{-1} and C=S stretching band at 1240 cm^{-1} . The 1,2,4-triazole derivative (8) displayed in its IR spectrum carbonyl and a C=N absorptions near 1670 and 1640 cm^{-1} , respectively, in addition to SH at 2600 cm^{-1} . The formation of 1,3,4-thiadiazole derivative (9) was confirmed by the presence of C=N stretching band near 1650 cm^{-1} and NH stretching band near $3250\text{-}3350\text{ cm}^{-1}$.

Furthermore, 4-(4-chloro phenyl)-N-formyl-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydro pyrimidine-5-carbohydrazide (10) was obtained in 75% yield when the carbohydrazide (2) was allowed to react with formic acid. The structure of compound (10) was confirmed by the presence of two amidic carbonyl stretching bands at 1710 cm^{-1} and 1680 cm^{-1} (CONHNHCHO), in addition to aldehydic C-H at $2700\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$.

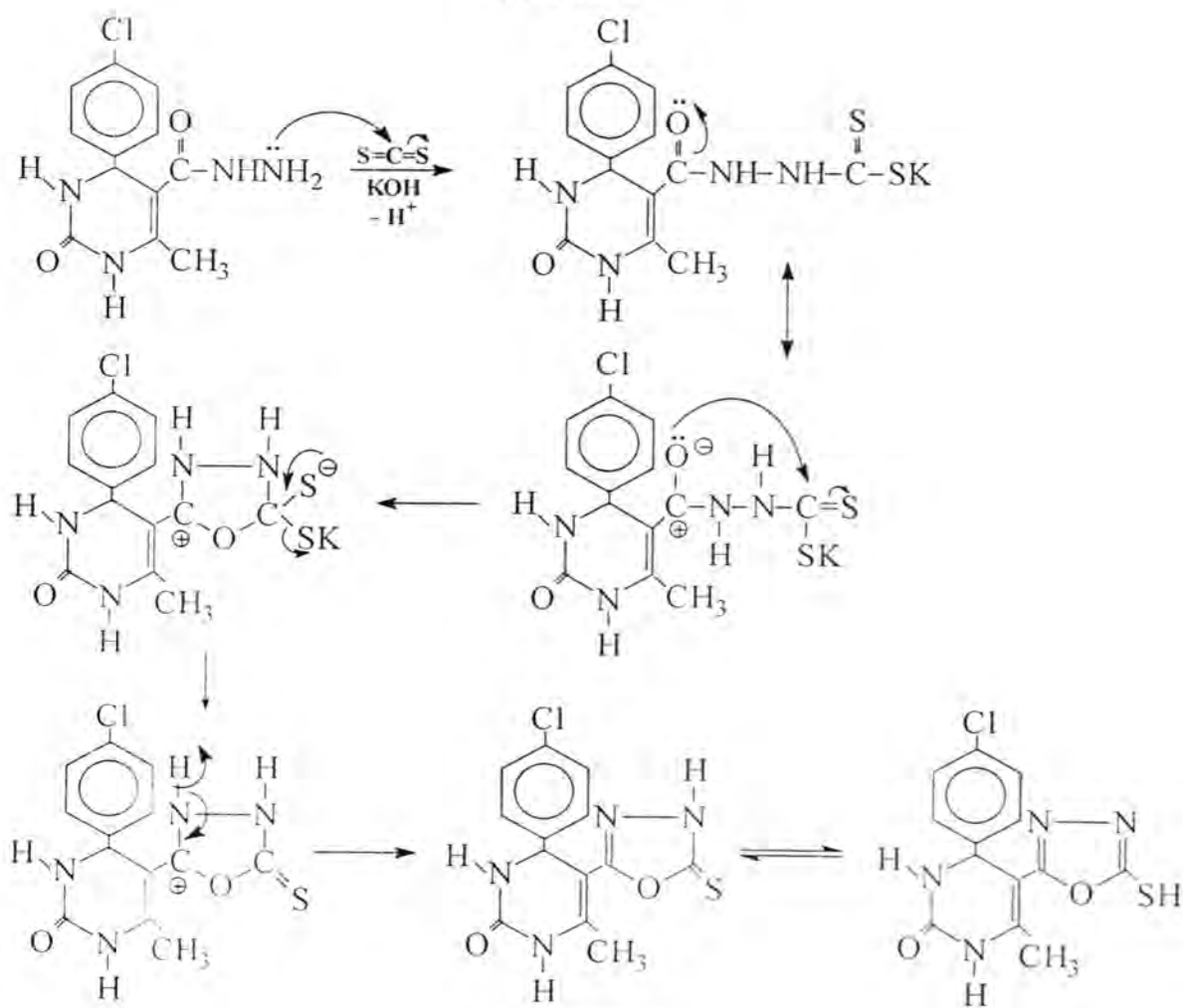


Scheme 1





Scheme 4



Scheme 5

Table (2): IR and UV spectral data of compounds (1-10)

Comp. No.	U.V.		Characteristic I.R. band (ν) cm^{-1}						
	$10^3 \epsilon$	λ (nm)	N-H	C-H _{aliph.}	C=C _{arom.}	C-H _{arom.}	C=O	Ring substitution	Others
1	2.118 1.738 2.175	301.0 276.5 248.5	3220-3160	2950-2880	1583-1480	3100	1640 1650	820	1710 (C=O, ester) 1250 (C-O-C, ester)
2	1.094 0.410 1.076	287.0 252.0 234.0	3550-3300	2950-2880	1600-1500	3100	1700 1640	820	1240 (C-N) 3280-3150 (NH ₂)
3	1.001 0.334 0.375	307.0 244.5 231.5	3500-3390	2920-2810	1550-1450	3050	1700 1650	860	1710 (C=O) pyrazole ring
4	2.081 1.732 2.134	299.5 276.5 250.0	3500-3300	2990-2900	1600-1500	3020	1680 1640	850	1240 (C=S)
5	1.878 1.620 1.874	297.0 278.0 260.0	3300-3190	2990-2950	1500-1410	3100	1700	850	1640 (C=N) 1240 (C-O-C) 2440 (SH)

Comp. No.	U.V.		Characteristic I.R. band (ν) cm^{-1}						
	$10^3 \epsilon$	λ (nm)	N-H	C-H _{aliph.}	C=C _{arom.}	C-H _{arom.}	C=O	Ring substitution	Others
6	1.962 1.483 1.901	303.0 275.5 248.5	3220-3160	2990-2900	1600-1500	3040	1650	890	1640 (C=N) 1230, 1080 (C-O)
7	1.888 1.753 2.200	291.5 278.5 249.5	3550-3300	2950-2800	1610-1500	3100	1670 1650	800	1240 (C=S) 670-710 (mono subst.)
8	2.269 1.540 1.587	304.0 274.0 262.0	3500-3390	2910-2840	1550-1450	3100	1670	800	1640 (C=N) 2600 (SH) 670-710 (ring subst.)
9	1.699 1.482 1.854	305.0 282.0 253.0	3500-3300	2980-2880	1610-1520	3100	- 1690	850	1650 (C=N) 690-750 (ring subst.)
10	2.114 0.496 0.531	291.0 232.5 226.0	3300-3190	2990-2900	1600-1500	3030	1710 1680 1650	850	2700-2800 (C=O)

References:

1. EL-Maghraby, M.A., Khalafalla, A.K. Hassan, M.E. and Soliman, H.A., "Synthesis and studies on heterocyclic nitrogen compounds", J. Ind. Chem. Soc., LXIII, 910-9 (1986).
2. Anastas, P., William, T., "Green chemistry frontiers in benign chemical synthesis and procedures", Oxford Science publications, 1998.
3. Bose, D.S., Fatima, L. and Mereyala, H.B., "Green chemistry approaches to the synthesis of 5-alkoxy carbonyl-4-aryl-3,4-dihydro pyrimidine-2(1H)-ones by a three component coupling of one-pot condensation reaction. Comparison of ethyl, water and solvent free condensations", J. Org., Chem., 68, 587-590 (2003) and references cited therein.
4. AL-Naimi, K.H., Basheer, H.A. and AL-Bayati R.I.H., "Synthesis and studies on heterocyclic nitrogen compounds", J. Educ. And Science, 36, 60-67 (1999).
5. AL-Bayati R.I.H., AL-Habib, M.J. and Abdulla, I.K., "Synthesis of heterocyclic nitrogen compounds", Iraqi J. Chem., 24(2), 188-191 (1998).
6. AL-Bayati, R.I.H., AL-Hassan, S.S. and AL-Janaby O.A., "Synthesis and spectroscopic study of some new pyrimidines", Iraqi J. Chem., 27, 799-807 (2001).
7. AL-Hassan, S.S., AL-Bayati, R.I.H. and AL-Janaby O.A., "Synthesis of new pyrimidines derivatives", Iraqi J. Chem., 28(1), 157-167 (2002).
8. Saleh, M.A., Abdel-Mageed, M.F., Abdo, M. and Shokr, A.M., "Synthesis of novel 3H-quinazoline-4-ones containing pyrazolinone, pyrazole and pyrimidine moieties", Molecules, 8, 363-373 (2003).
9. Sharba, A.K., AL-Bayati, R.I., Aouad, M. and Rezki, N., "Synthesis of oxadiazoles, thiadiazoles and triazoles derived from benzo-[b]-thiophene", Molecules, 10, 1161-1168 (2005) and references cited in.
10. AL-Rikabi, S.A.K., M. Sc. Thesis, "Preparation and characterization of some new derivatives of 3,4-dihydropyrimidine-2(1H)-one", College of Science, AL-Mustansiriya University, Baghdad (2004).
11. Zhang, L.X., Zhang, A., Chen, X., Lei, X., Nan, X., Chen D. and Zhang, Z., "Synthesis and biological activity of 3-(2-furanyl)-6-aryl-1,2,4-triazolo-[3,4-b]-1,3,4-thiadiazoles", Molecules, 7, 681-689 (2002).
12. Gupta, R., Sudan, S., Mengi V. and Kachroo, P.L., "Heterocyclic systems containing bridge nitrogen atom; synthesis

- and antihypertensive activity of some 1-[6-(4-alkoxy phenyl)-3-methyl-5,6-dihydro-5-triazolo-[3,4-b]-[1,3,4]-thiadiazol-5-yl]-3-(5-aryl-5-triazol-3-thio) propan-2-ols", *Ind. J. Chem., Sect. B*, 35, 621-623 (1996).
13. George, T., Mehta, D.V., Tahilramani, David J. and Talwalker, P.K., "Synthesis of some 5-triazoles with potential analgesic and antiinflammatory activities", *J. Med. Chem.*, 14(4), 335-338 (1971).
14. Sharma, R.S. and Bahel, S.C., "Synthesis of aryloxy/arylacetyl (thiosemicarbazides substituted-1,3,4-oxadiazoles, 1,3,4-thiadiazoles, 1,2,4-triazoles and related compounds as potential fungicides", *J. Ind. Chem. Soc.*, LIX, 877-880 (1982).

Study The Parameters of The Semiconductor Laser and Its Application In The Design of Laser Levelling System

1-Ziad T. Al-Dahan 2-Ibrahim R. Agool 3-Hanan A. Naif

1- Al-Nahrian University, College of Science, Department of Laser & Optoelectronics Engineering

2 - 3 Al-Mustansiriyah University, College of Science, Department of Physics

تاريخ قبول النشر: 2007/1/23

تاريخ تقديم البحث: 2006/4/30

الخلاصة

تمت دراسة معالمات ليزر اشباه الموصلات الذي تم استخدامه في دائرة الارسال في منظومة التسوية. اما الجزء الثاني من البحث فهو تنصيب منظومة قياس المستوى وكذلك البرهنة على عملها وذلك باختيار مساحة محددة مختبرياً وتطبيق عمل هذا النظام على تلك المنطقة. تتألف هذه المنظومة من ثلاث دوائر الكترونية وهي: 1. دائرة الارسال، 2. دائرة الاستقبال، 3. دائرة العرض. تحتوي دائرة الارسال على ليزر اشباه الموصلات وهو يمثل الجزء الاساس من هذه الدائرة، وكذلك تحتوي على دوائر التذبذب التي تحتوي على كل من المؤقت الكلاسيكي (555) و ترانزستور القدرة (2N3055) وكذلك تحتوي على بعض الاجزاء الاخرى. هذه الدائرة تستخدم للتاكيد على عمل دائرة الارسال بتردد عالي يصل إلى (10MHz). الدائرة الثانية هي دائرة الاستقبال وتحتوي على جزئين مهمين هما الكاشف الفوتوني وكذلك على دوائر التضخيم، هذا الكاشف والذي هو من نوع (BPW106) هو احد الكواشف الفوتونية، اما دوائر التضخيم فانها تحتوي على الاجزاء الرئيسية والتي هي مضخم التشغيل (741) وكذلك على ترانزستور نوع (BC107). يمكن الكشف عن الإشارة الواصلة بواسطة دائرة الاستلام، والتي تتمثل بالليزر الثنائي المشع (LED) ونظام الكمبيوتر، وكذلك بواسطة دائرة الصوت.

ABSTRACT

In the present work is studying the parameters of the semiconductor laser used in the transmitter circuit in the laser levelling system. The second stage of this research includes the setting up of the laser levelling system and proving that the work of this system is by choosing laboratory area and applying the work of the system on the chosen area. This system includes three circuits: The transmitter circuit, the receiver circuit and the display circuit. The transmitter circuit consists of the laser pointer which represents the main part of this

circuit, and includes also the oscillator circuits which consist classic timer chip (555), power transistor (2N3055), and other small parts, these circuits are used to ensure the operation of each circuit with high frequency which is about (10MHz). The second circuit, is the receiver circuit, consists of two important parts - the photodiode detector and amplifier circuits. This detector (BPW106) is one of the photon detector types, and the amplifier circuit contains the main parts which are the operational amplifier (741) and transistor (BC107). The receiver signal can be detected by the display circuit, which is represented by the sound circuit.

INTRODUCTION

When Javan and his colleagues discovered the first laser in 1960, it was considered as an academic curiosity. Today it is difficult to encompass the bandwidth of the applications of laser in a few words. The construction of structures with an accuracy in the realm of nanometer, demonstrates very distinctly the lasers multiple possibilities while working on materials.⁽¹⁾

The rate of development and the number of new applications of lasers in the past few decades have been phenomenal. Lasers have fostered a revolution in the field of electro-optics and communications, there is an indication that the rapid growth of laser technology will continue and that laser use will become more widespread.

Despite the benefits of technology, it is axiomatic to say that improper use or design of any apparatus can produce undesirable effects; on the other hand, although technical achievement often moves in advance of a full understanding of the hazards, it has been encouraging to witness.^(2,3)

This study aims at studying the parameters of the semiconductor laser which is used in the transmitter circuit in the system; these parameters include (output power, threshold current, operational voltage, wavelength, divergence beam, distribution of the intensity beam) and designing a system for laser levelling.

THEORETICAL PART

1-semiconductor laser

A laser diode, or semiconductor laser, is not very different in principle from the light emitting diode⁽⁴⁾, and they are very reliable devices that may have long lifetime if treated properly, and the power source for a laser diode is a simple constant-current supply⁽⁵⁾.

When a device is called a "laser diode", this generally refers to the combination of the semiconductor chip that makes the actual lasing along with a monitor photodiode chip (for use in feedback control of power output)⁽⁶⁾.

The development of high power diode laser arrays have an important role in the development of diode laser technology, such arrays offer high radiance diode sources suitable for applications like materials process and pumping of solid state lasers.⁽⁵⁾

-Description of Laser Diode

A semiconductor laser uses a small chip of semiconductor material as the active medium. In size and appearance, the semiconductor laser is similar to a transistor or to a semiconductor diode. Thus, its properties and its power-supply requirements are quite different from the devices. In contrast to those lasers, the voltages tend to be very low, a few volts instead of kilovolts. The semiconductor laser is a current-controlled device, rather than a voltage-controlled device; this will affect on the design of the power supply⁽⁵⁾. The semiconductor laser device commonly takes the form of a rectangular parallelepiped as illustrated in Fig.(1). The dimensions typically are a few hundred micrometers, up to perhaps one millimeter. The junction is a plane within the structure, two of the sides perpendicular to the junction are purposely roughened so as to reduce their reflectivity, the other two sides are made optically flat and parallel, by either cleaving or polishing. These two surfaces form the mirrors for the laser cavity, the reflectivity of the air-semiconductor interface is high enough that no other mirrors are needed. Although sometimes one of the reflecting surfaces may be coated to increase the reflectivity and to enhance laser operation.⁽⁵⁾

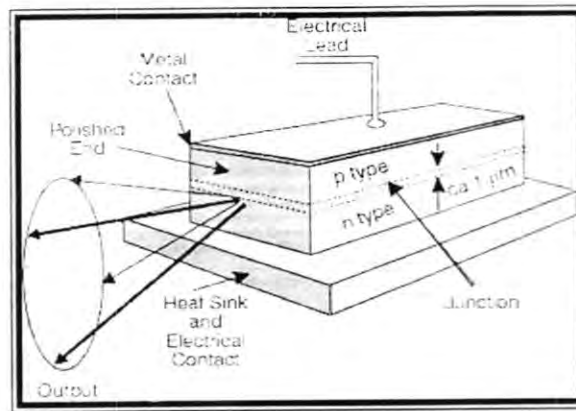


Figure (1): Sketch of semiconductor laser device⁽⁵⁾

The p-n junction provides the active medium, so to obtain laser action we need only to meet other necessary requirements of population inversion and optical feedback. In order to obtain stimulated emission there must be a region of the device where there are many excited electrons and vacant states (i.e. holes) present together. This is achieved by forward biasing a junction formed from very heavily doped (n) and (p) materials⁽⁷⁾.

2- Levelling system

The need for levelling instrument is as old as the mankind when it started to erect monuments which were planned to last for good.⁽⁸⁾

Leopold (1727) introduced levelling. "Levelling is the science of how to determine, with suitable instruments, that further two points are removed from the center of the earth". A common instrument used on construction sites using a plumb bob.⁽⁹⁾

These systems also permit the use of smaller machines and less skilled operators. However, the use of these semi-automated systems requires investments in the laser surveying equipment as well as modification to equipment to permit electronic feedback control units. Still, laser levelling appears to be an excellent technological choice in many instances.⁽¹⁰⁾

Levels are probably the most commonly used instruments in construction-related surveys today. These instruments can be divided into three categories: automatic levels, digital levels, and laser levels.⁽¹¹⁾

EXPERIMENTAL PART

In this work, studying the parameters of semiconductor laser and designing the laser levelling system will be discussed, which consists of three main electrical parts:

1 The Transmitter Circuit

This diagram shows the transmitter circuit

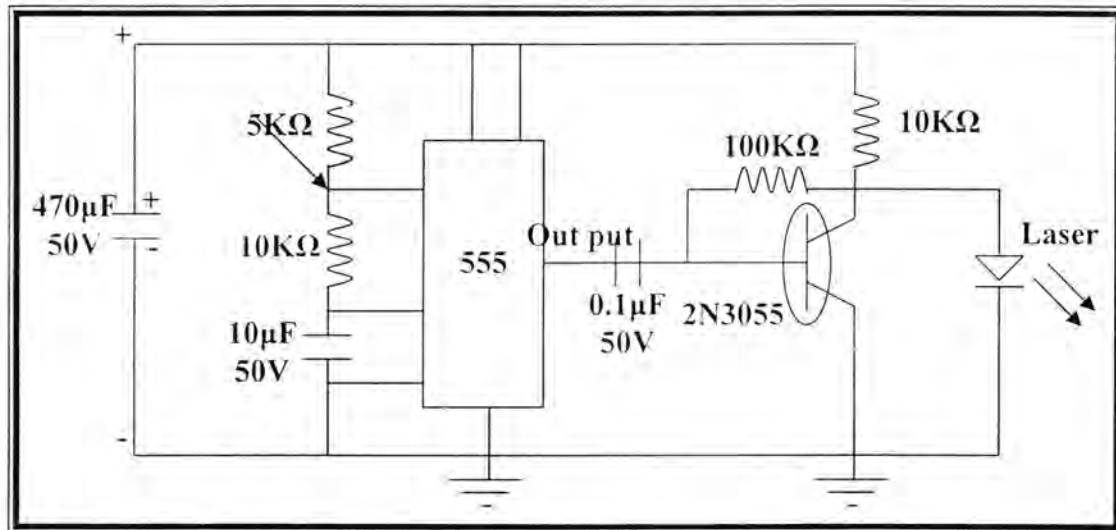


Figure (2): Diagram of the transmitter circuit

1.1 The Laser Pointer

The main part of the transmitter circuit is the laser pointer, it represents by the head of the transmitter circuit.

This laser diode has the following properties: The operating current is in the range of (2-74) mAmp., the maximum frequency equals (10MHz), wavelength is 635nm and the output power is (4.5)mW.

The most visible applications of laser diodes are the ever more popular laser pointers. The basic laser pointer is the standard red laser pointer. The red laser pointer emits a (670-635)nm beam.

1.1.1 Measurement of the Output Power & the Threshold Current of the Diode Laser

The procedures of the measurement of the diode laser are:

- Set the range of an ammeter at (100mA)
- Connect the circuit shown in Fig. (3).
- Adjust the D.C. power supply to get (15V)
- Plot a graph of V(D.C) against output power (I) and draw a plot of graph of I(D.C.) against the (output power).

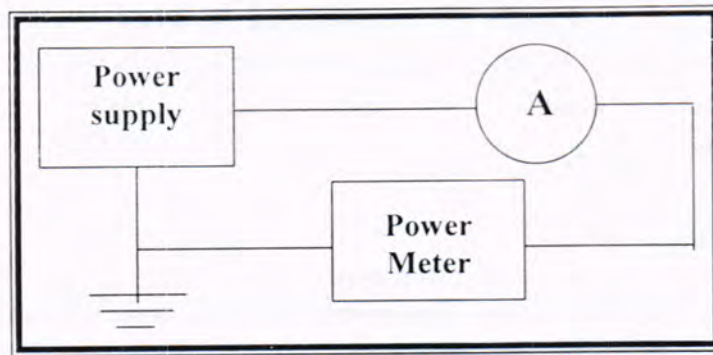


Figure (3): The diagram of the measurement output power

1.1.2 The Measurement of the Laser Beam Divergence Angle

One of the stringing features of most lasers is that the output is in the form of an almost parallel beam. Consider a monochromatic beam of light of "infinite" extent, which passes through an elliptical aperture of diameter D . The beam will now diverge by an amount dependent on the diameter D .

The procedure of the measurement is limited to the following steps:

- Place the diode laser at a distance of about (1m) from the screen.
- Increase the distance (z) from (1 to 14)m and determine (w) at each meter.
- Plot a curve for (w) as a function of z and find the slope.
- Find the experimental value of the solid angle.

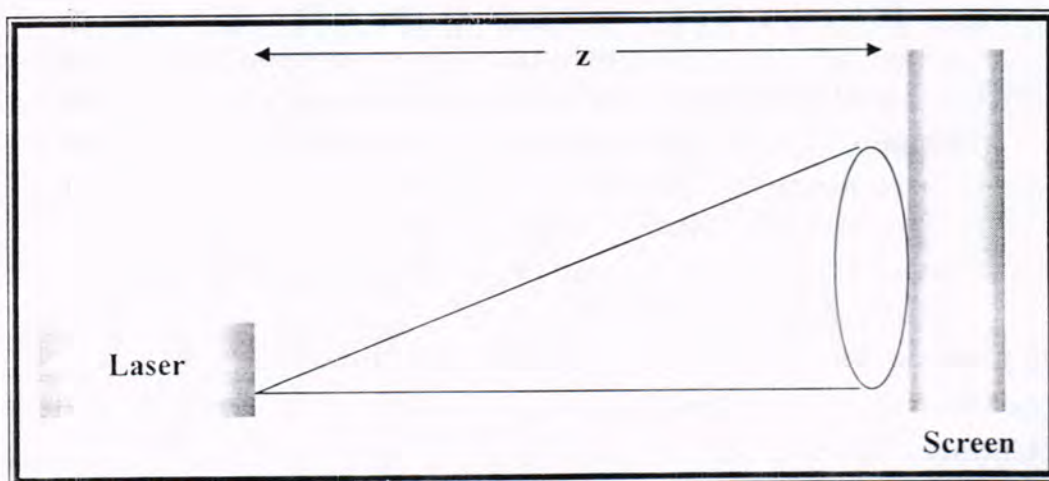


Figure (4): The diagram of the measurement of laser divergence

1.1.3 The Measurement of the Laser Wavelength

The set up of the experimental procedures to measure the wavelength of the diode laser is shown in Fig. (5).

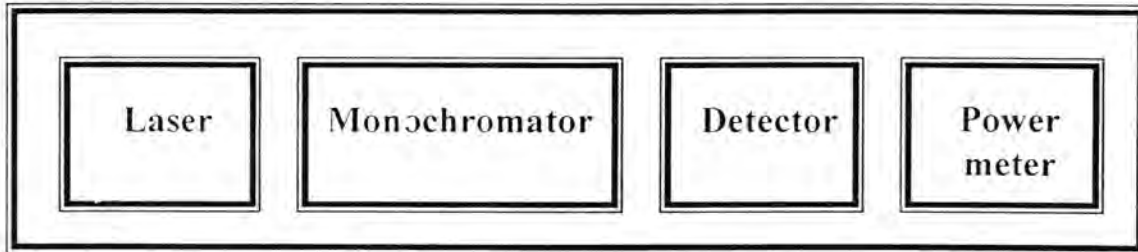


Figure (5): The diagram of the experimental procedures to measure the wavelength

The study of the effects of visible radiation on the stability of the monochromator was widened to increase the throughput, and the emergent radiation from the monochromator was a lens to a spot size on the photodiode. The exposure dose is calculated from the total radiant power incident per unit area at the focal plane during the course of irradiations.

1.1.4 Study of the Gaussian Distribution of the Diode Laser

The intensity distribution across a section of the TEM_{00} mode is Gaussian and is expressed by Fig. (6)

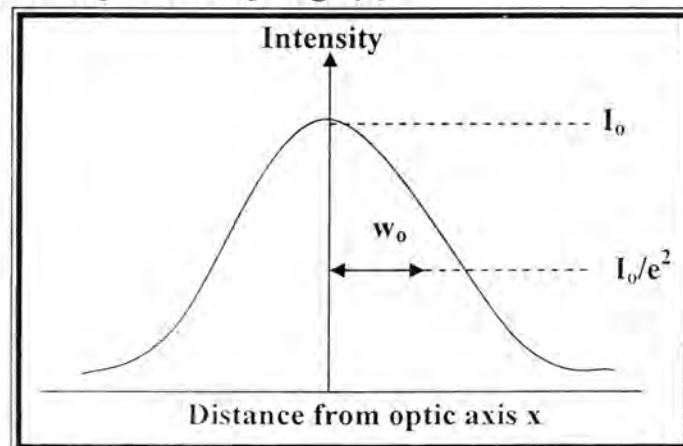
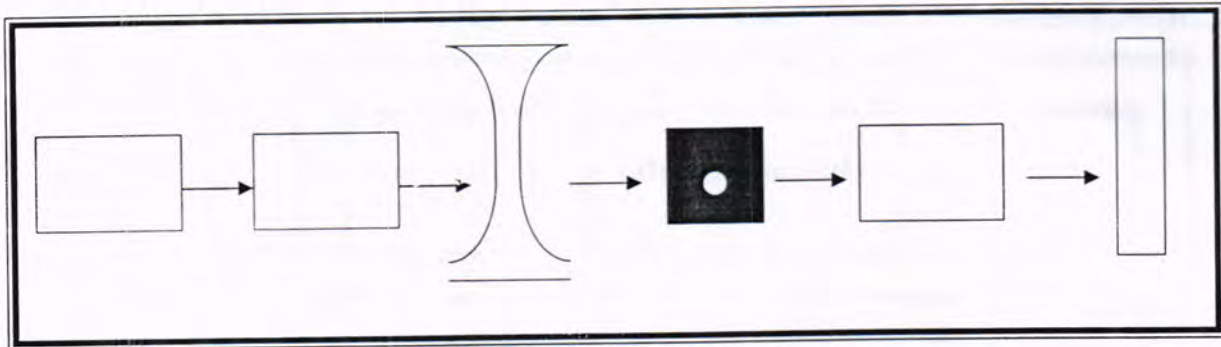


Figure.(6): Gaussian intensity distribution

The procedures which show the Gaussian distribution are:

- Set the experiment requirements as is shown in Fig. (7) below



Laser diode Fine gauze Concave lens Pinhole Detector Screen

Figure(7):The system layout of the experiment of the Gaussian distribution

- Show the energy pattern (distribution) through the fine Gauze without putting the pinhole and the detector.
- Put a graph paper on the screen and fix the position of the center of each spot.

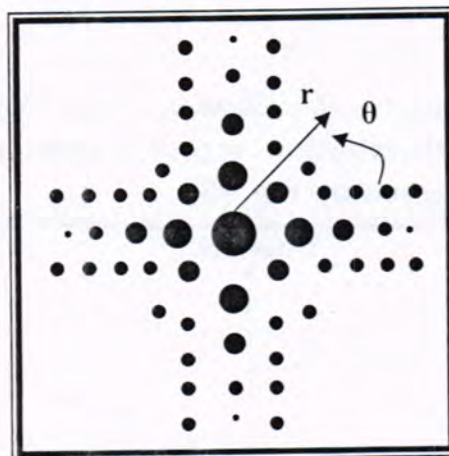


Figure (8): The Gaussian Pattern

- Put the pinhole and the detector and measure the laser intensity for each spot.
- Plot the two dimensional curve for x and y.

1.2 The laser diode oscillator circuits

The main parts of the oscillator circuit are:

1.2.1 The classic timer chip (555)

Integrated circuit (IC) timers are probably the most timing intervals ranging from microseconds to hours. They can also be used as easily controllable, the (555) IC timer is composed of 23 transistors, 2 diodes, and 15 resistors, and might appear to be quite complex.⁽¹²⁾

1.2.2 Power transistor and heat sinking (2N3055)

It is necessary in some circuit to use power transistors or any chip that used high current and gives high power. The transistor (2N3055) is power transistor, it is cheap price and wide useful.⁽¹³⁾

The properties of the power transistor (2N3055) is:

1. Si – N
2. NF/S-L
3. The operating voltage is (100V).
4. The operating current is (15A).
5. The maximum power received (15W).
6. The maximum frequency(>2.5MHz).⁽¹⁴⁾

2 The receiver circuit

The receiver circuit consists of the following parts: (Fig. 9)

1. Photodiode detector , 2. Amplifier circuits

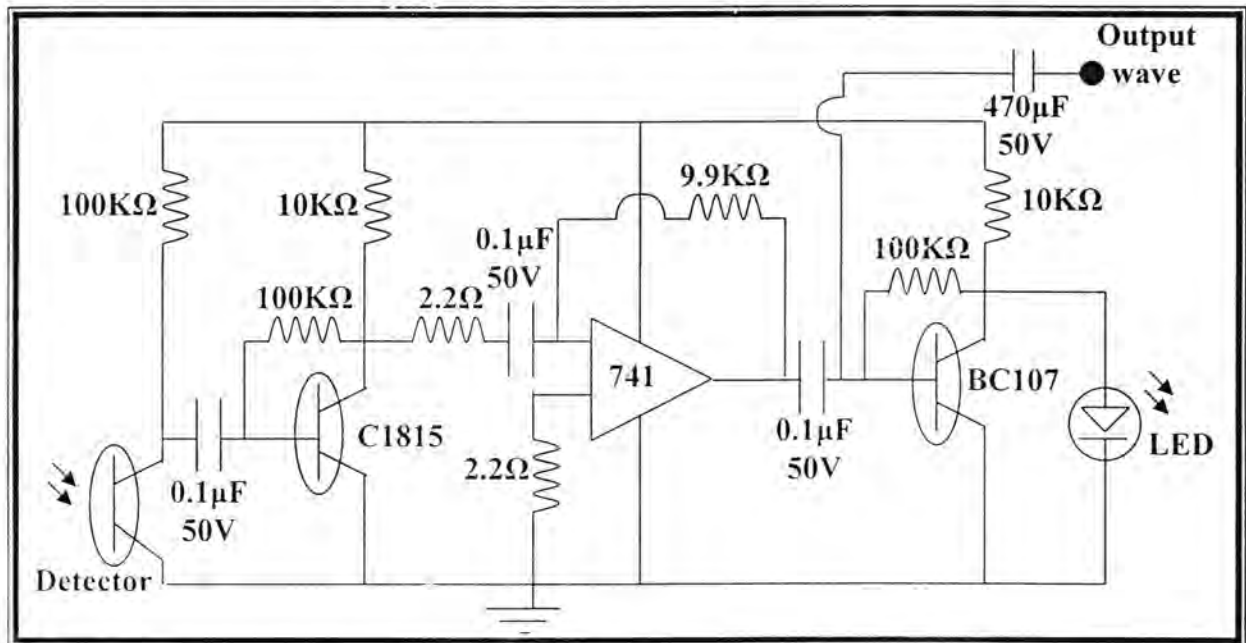


Figure (9): The diagram of the receiver circuit

2.1 Photodiode Detector

In photon detectors, the absorption process results directly in some specific quantum event (such as the photoelectric emission of electrons from a surface) which is then (counted) by the detection system. Thus, the output of photon detectors is governed by the rate of absorption of light quanta and not directly by their energy.

2.2 Amplifier circuits

The main parts of the amplifier circuit are:

2.2.1 Operational Amplifier (741)

This was originally designed to perform the mathematical operations. The operational amplifier has two input terminals, and uses direct coupling between input and output. Typically, the device gives a basic low frequency voltage gain of about 100000 between the inputs and output.⁽¹²⁾

2.2.2 The transistor (BC107)

The properties of the transistor (BC107) are:

1. Si-N
2. Unijunction
3. The operating voltage is (50V)
4. The operating current is (0.1A).
5. The maximum power is (0.3W).
6. The maximum frequency is (300MHz).⁽¹⁴⁾

The voltage at the base if (BC107) is close to the positive supply voltage and this transistor is switched off, since it is an npn type (BC107). When not signal, the voltage goes negative, switching this transistor on, and make it possible to determine the light level for which the operational amplifier switches.

3 The Display circuit

In this section, the received signal can be detect by the sound circuit it is represented the style of the display circuit, such that converting the light to the sound and can listen to the voice by using multimedia speaker system (Superwoofer) ALFA (RD-S205). Fig. (10)

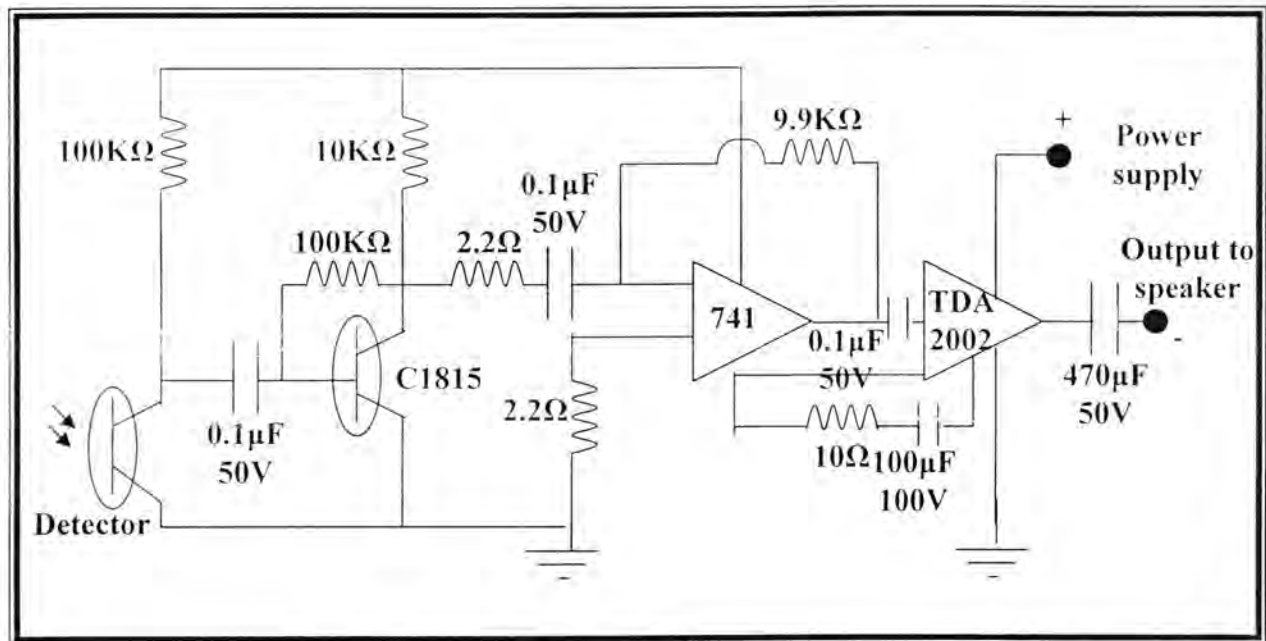


Figure (10): The diagram of the sound circuit

RESULTS & DISCUSSION

In this research, the results obtained from the laser levelling system are discussed. These results deal with the laser transmitter and receiver circuits and measurement of the parameter of the laser used in the transmitter circuit, and thus received to the final design of the laser levelling system is reached.

1 Measurement of the Laser Parameters

1.1 Measurement of the Maximum Output Power and the Threshold Current

Fig.(11) shows the output characteristics of a laser diode as a function of input current. At low values of the input, the device acts as a light-emitting diode (LED), producing a relatively small amount of incoherent light. At a threshold value, where the population inversion is large enough so that gain by stimulated emission can overcome the losses. As current increases above the threshold value, the light output increases much more rapidly than the LED region. The light is now coherent laser light. Ideally, the light output should increase linearly with the current, as is shown in this figure.

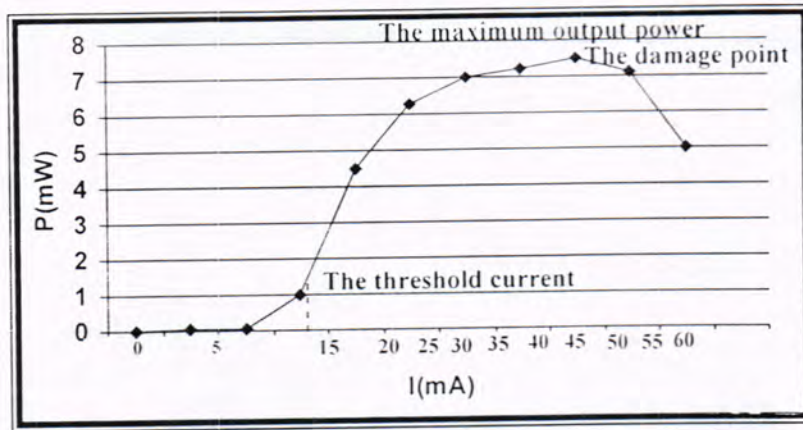


Figure (11): The output of the laser diode as a function of drive current

From this figure, the value of the threshold current equals (14.3mA). and maximum output power, is equal to (7.5mW).

1.2 Measurement of the Operational Voltage

The output characteristics of a laser diode as a function of power supply (voltage) as shown in Fig.(12). At the minimum value of the power supply which begins to increase representing thereby the operational voltage which is equal to (2.0V). As power supply increases, the light output increases linearly as is shown in this figure.

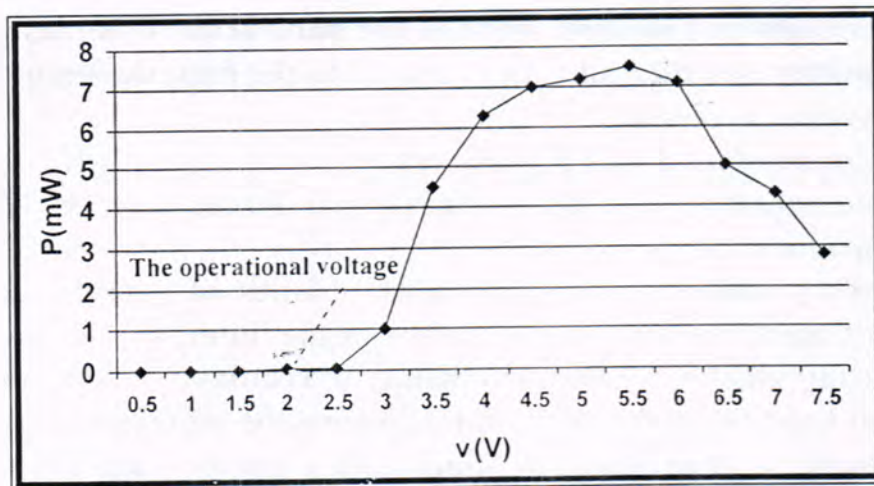


Figure (12): The output of a laser diode as a function of power supply

1.3 Measurement of the Laser Beam Divergence Angle

The divergence of beam laser as shown in Fig.(13), it is one of the most striking features of most lasers which forms an almost parallel beam.

When the light laser beam extent passes through an elliptical aperture of diameter, the beam will diverge by an amount depending on the size of spot. The resulting irradiation distribution on the screen consists of a bright area surrounded by concentric alternate darkness.

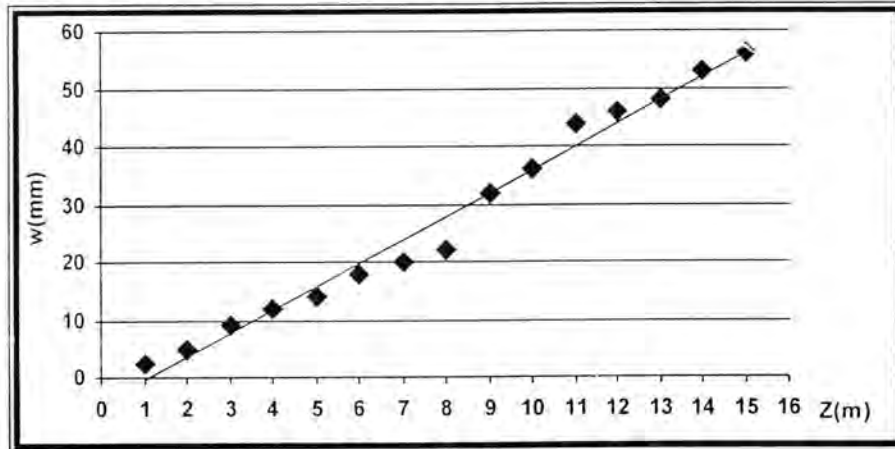


Figure (13): The relation between the distances with the width of spot

From this figure, calculation of the beam divergence (θ) by applying equation this:

$$\theta = \sin^{-1} (w/z)$$

When (w/z) equals the slope of the linear relationship and this beam divergence proved to be equal to 18.963°

1.4 Measurement of the Laser Wavelength

The spectral responsiveness of all the laser diodes was measured before and after irradiation and a significant constant decrease in the responsiveness is observed which is almost constant over the entire wavelength range-from 600nm to 668nm.

The results of the measurements of the wavelength of the semiconductor laser can be seen in Fig. (14), this figure shows the relationship between the wavelengths and the output power.

From this experiment, the measured wavelength equals (635nm).

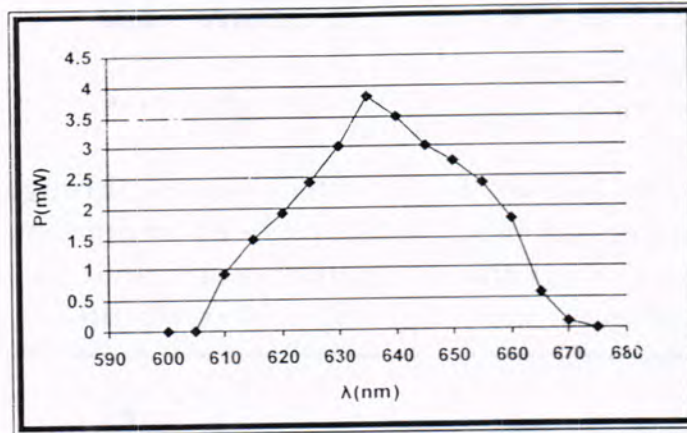


Figure (14): The relationship between the wavelengths and the output power

1.5 The Gaussian distribution

The Gaussian distribution of the semiconductor laser is shown in Fig. (15).

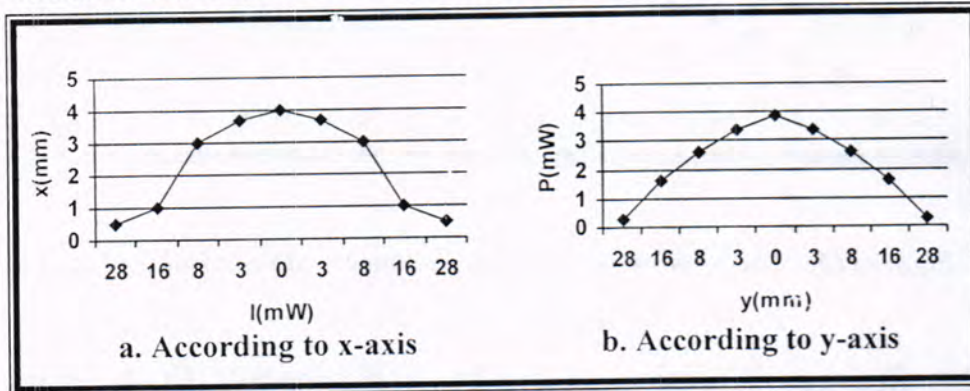


Figure (15): Gaussian distribution of the semiconductor laser

2 The Design of the Laser Levelling System

After having connected the transmitter and receiver circuit as is shown in Fig.(16), we come to the final design of the laser levelling system which is as shown in Fig.(17).

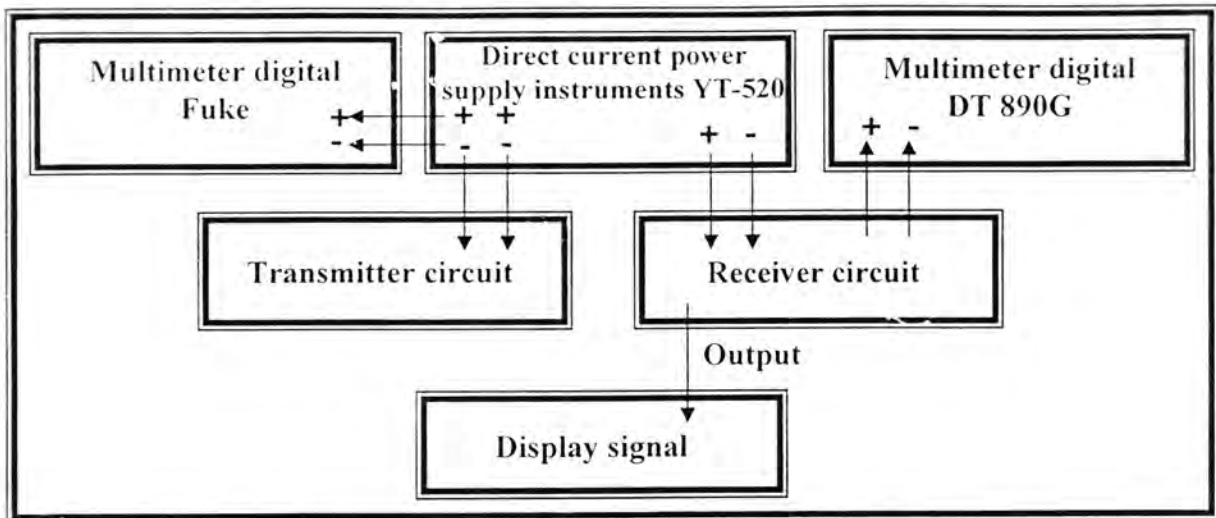


Figure (16): The connection of the levelling system devices

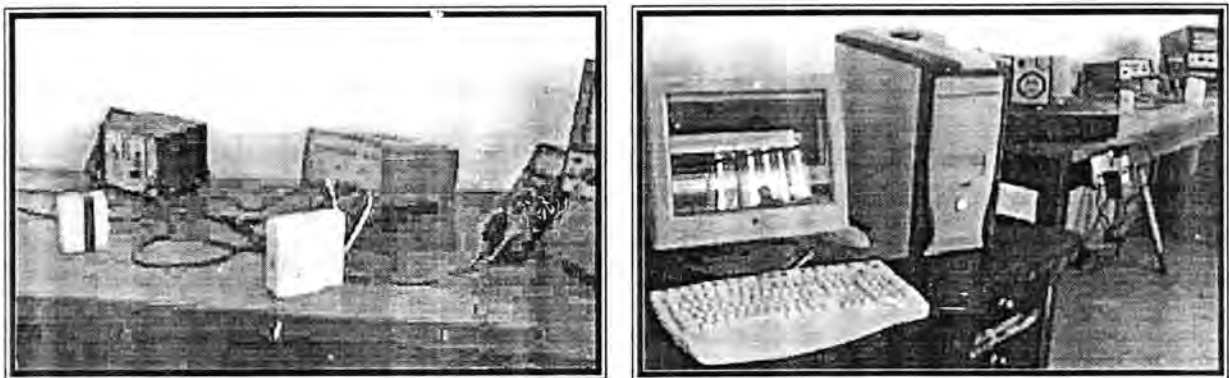


Figure (17): The final design of the laser levelling system

CONCLUSIONS

From this work we concluded the following points:-

1. Measuring the parameters of the laser diode which is used in the transmitter circuit, and the results reached at were: the wavelength (635nm), output power (4.5mW), divergence beam (18.963°), the threshold current (14.3mA), and operational voltage (2V).
2. The output power of a laser diode increases with increasing the input current.
3. The output power of a laser diode increases with increasing the power supply (voltage).
4. After the current reaches the value of the threshold current, permanent damage occurs, which means that the Catastrophic Optical Damage (COD) and the light output frequently drop rapidly with increasing in the current.

5. Designing a laser levelling system by using the semiconductor laser has been reached at successfully.

REFERENCES

1. Luhs, W.: Laser Levelling: Experiment 22. Mechanical Electronic and Optical Systems (MEOS) www.meos.com/PDF.END22.pdf. March 2000/July 2003.
2. International non-Ionizing Radiation Committee (IRPA) (1985): Guidelines on Limits of Human Exposure to Laser Radiation, in Health Physics, 49(5), PP.341-359.
3. International non-Ionizing Radiation Committee (IRPA) (1988): Recommendation for Minor Updates to the IRPA 1985 Guidelines on Limits of Human Exposure to Laser Radiation, in Health Physics, 54(5), P.573.
4. Wilson, J.; Hawkes, J.F.B (1983): Optoelectronics: An Introduction. School of Physics, New Castle Upon Tyne Polytechnic. Prentice/Hall International Inc. PP:208-222,278,286.
5. LEOT Laser Tutorial- Course 4: Laser Electronics-Module 6: Diode Laser Power Supplies. This version reflects the comments of the core participants as reviewed and incorporated in accordance with CORD's FIPSE- supported curriculum. Morphing Project. Copied from <http://cord.org/cm/leot/course04-mod06/mod04-06.htm> on April 23, (2001).
6. Wilson, J.; Hawkes, J.F.B (1987): Laser Principles and Applications. Printice Hall International Ltd. Adivision of Simon & Schuster International Group, 66 Wood Lane End, Hemel Hempstead, UK. Ch.(5), PP: 18-20,31. 52-62.
7. Donald, N.A. (1992): Semiconductor physics and devices, Richard D. Irwin, Inc. Boston.
8. Leonhard, E.B.: Journal of Construction Engineering and Management. Technical Paper. Vol.(28), No.(5), (2002).
9. Jensen, M. (1969): Civil Engineering round 1700, with Special Reference to Equipment and Methods. Danish Technical Press, Copenhagen, Denmark.
10. Paulson, B.C. Jr: Automation and robotics for construction. ASCE, Journal of Construction Engineering and Management, (111)3, PP:190-207, Sept. (1985).
11. Malisch, W.R.(1996): Buying a Laser Levelling System. Aberdeen's concrete construction, 41(5).
12. IC timer, (2000): 110 IC timer. hand book

13. Horowitz, P.; Hill, W. (1997): The Arts of Electronics (Analog Circuits) Published by the press Syndicate of the university of the Cambridge, 2nd Ed., USA, PP: 231,253.
14. Electronic Centre (1998-1999): Semiconductors Equivalents Book. International Transistors- Diodes- Thyristors- ICS- Equivalents Tables. Damascus-Syria.

Excited State Absorption and Saturation Behaviour of Saturable Absorber BDN-I in Chloroform and Benzene

1- Abdul-Munim, K Al-Kamil,

2-Muhammed, A.N. Al-Nesearawi

1-Department of physics, college of science university of Basrah

2- Department of physics, college of science university of Karbala.

تاريخ قبول البحث: 2007/3/6

تاريخ تقديم البحث: 2006/10/30

الخلاصة

استخدمت صبغة النيكل BDN- I مع ليزرات النيوديميوم العاملة بالنمط المفتاحي السلبي. تم قياس سلوك إشباع الصبغة التي تظهر امتصاص متبقي قوي عند طاقة ساقطة معينة كبيرة. حسب المقطع العرضي للامتصاص للمستوى المتهيج للصبغة BDN- I في مذبيبي الكلوروفورم و البنزين و كانا $8.002 \times 10^{-18} \text{ cm}^2$ و $7.604 \times 10^{-18} \text{ cm}^2$ على التوالي عند الطول الموجي $1.06 \mu\text{m}$. حسبت النسبة β (المقطع العرضي للامتصاص عند المستوى المتهيج الأول إلى ذلك عند المستوى الأرضي) للصبغة BDN- I في الكلوروفورم و البنزين لتكون 0.297 و 0.300 على التوالي.

ABSTRACT

The dye BDN-I is nickel complex used in the Q-switching of neodymium lasers. The saturation behavior of the dye has been measured, which exhibits strong residual absorption even at specific large incident energy. The excited state absorption cross section for BDN-I in chloroform and benzene for which residual absorption is deduced has been calculated to be 8.002×10^{-18} and $7.604 \times 10^{-18} \text{ cm}^2$ respectively at $1.06 \mu\text{m}$. Consequently the ratio β (absorption cross section at first excited state to that at ground state) of BDN-I in chloroform and benzene has been measured to be 0.297 and 0.300 respectively.

INTRODUCTION

For passive Q-switched Nd:YAG laser technique, the choice of particular dye depends on its high molar extinction coefficient at $1.06 \mu\text{m}$, photochemical stability, and recovery time to the ground state(1). The dye which has been used in our work as a saturable absorber for the Nd:YAG laser is BDN-I mixed with chloroform and benzene. Bis-(4-Dimethylaminodithobenzil)-

Nickel, is a chemical compound that prepared in Iraq(2).According to the results (3), one can image the saturable absorber as four level representation and that the ground with first excited state contributes the absorption dynamics. For establishing simulation of passively Q-switched Nd:YAG laser using BDN-I in chloroform and benzene as a saturable absorber, we have to find parameters of the following rate equations(4):

$$\frac{dn}{dt} = [K_g N_g - K_a N_a - \beta K_a N_{au} - \gamma_o] n \quad \text{..... [1]}$$

$$\frac{dN_g}{dt} = R_p - \gamma_g N_g - K_g N_g n \quad \text{..... [2]}$$

$$\frac{dN_a}{dt} = \gamma_a N_{au} - K_a N_a n \quad \text{..... [3]}$$

$$\frac{dN_{au}}{dt} = K_a N_a n - \gamma_a N_{au} \quad \text{..... [4]}$$

The parameters used in these coupled rate equations are defined as follows: n is the photon number in the laser cavity, N_g is the population inversion of the laser, N_a is the ground state population of the saturable absorber, K_g and K_a are coupling coefficients, β is the ratio of the excited state absorption cross section to the ground state absorption cross section of the saturable absorber, N_{au} is the first excited state population of the saturable absorber, γ_c is the cavity decay rate, R_p is the pumping rate, γ_g is the decay rate of the upper laser level, and γ_a is the relaxation rate of the saturable absorber. The calculation of the ratio β of the saturable absorber is the desirable aim of this work.

SATURATION BEHAVIOR

Passive Q-switching technique exploits the nonlinear properties of saturable absorbers. Their absorption coefficient decreases readily with increasing light intensity and thus it becomes more transparent as the light becomes intense (5). Accordingly saturation behavior of the saturable absorber depends on the absorption dynamics. Many researches(6-8) represented a theoretical description of the absorber behavior according to the number of the energy levels which contribute the absorption dynamics.

Fig.(1-a) shows an energy level scheme for a three level system. Initially, all molecules of the saturable absorber are in the ground level 1 .The laser

photons will excite molecules from the ground level 1 to the level 3. In a fast system $\tau_{32} \ll \tau_{21}, \tau_{31}$ the excitation to level 3 is followed immediately by a transition to level 2, which is long lived. The process of bleaching is thus occurred at transferring of molecules from level 1 to level 2 through level 3. Accordingly, the total absorption mechanism is determined by the ground level only.

The absorption dynamics may be described by a four level system as illustrated in Fig.(1-b). The excited molecules from the level 1 to level 3 relax vastly to level 2 of recovery time τ_a . During the stay of the molecules in level 2, they may be excited to higher lying level 4 by absorption of incident radiation (excited state absorption). Therefore, the residual absorption can be accounted for excited state absorption with a cross section ($\sigma_{e.s.a}$). The relaxation from level 4 to level 2 is generally very short ($\tau_{42} \rightarrow 0$). We must remember the fact that saturable absorbers are characterized by ($\sigma_{g.s.a} > \sigma_{e.s.a}$). Accordingly both the ground and first excited state are responsible for the absorption mechanism for this system. Thus a four level saturable absorber representation is more actual than the three level representation.

Experimental

The system shown in Fig.(2) has been used for measurement of the ground and excited state absorption cross section of BDN-I in chloroform and benzene using the excitation pulses generated by Nd:YAG laser. It consists of Nd:YAG rod 1 as an active medium and the BDN-I 2 as Q-switch dye which is implemented outside of the cavity by putting it in the setup directly facing the laser output pulse at the output coupler. Using a pulse forming network with an external triggering the flash lamp has been operated and thus the laser pulse energy is varied. An ED-500 genetic joule meter 3 has been used to measure the laser pulse energy. It has been connected to a fast storage oscilloscope 4 model PM 3350 (frequency 100 MHz) which was supplied by Philips Company.

Results and Discussion

Using this arrangement, the curves of Fig.(3) and Fig.(4) have been obtained. They show existence a strong residual absorption at the highest values of energy corresponding to a limiting transmission of 0.620 and 0.635 for BDN-I in chloroform and benzene respectively. By focusing the beam with energy starting with 1mJ, down to an area of 0.125cm^2 (the spot area of the Nd:YAG laser), the pulse intensity from 8mJ/cm^2 up to 100mJ/cm^2 at

constant time (the free running pulse duration of the Nd:YAG laser) can be achieved.

A (0.023 mole/l) molar concentration of BDN-I in chloroform and benzene was used to manufacture a dye Q-switch foil with thickness 100 μm (2). This foil has been used in our calculation. The initial transmission, measured on oscilloscope, was 20% and 22% for BDN-I in chloroform and benzene respectively. Those indicate values of molar extinction coefficients at 1.06 μm of $\xi = 6997.556$ and $6583.164 \text{ cm}^2/\text{mmole}$ respectively. That are equivalent to an absorption cross section of $\sigma_{g.s.a} = 26.941 \times 10^{-18}$ and $25.345 \times 10^{-18} \text{ cm}^2$ respectively. Conversely the best fit was obtained for $\sigma_{e.s.a} = 8.002 \times 10^{-18}$ and $7.604 \times 10^{-18} \text{ cm}^2$ for BDN-I in chloroform and benzene respectively, corresponding to a limiting transmission at high values of energy, of 0.620 and 0.635 respectively. Consequently one can calculate the ratio $\beta = 0.297$ and 0.300 for BDN-I in chloroform and benzene respectively as saturable absorber using the Nd:YAG laser excitation pulses.

One must keep in mind, value of the ratio (β) of BDN-I mixed with solvents different according to the solvent type. The reason is that the ability of dye for absorption differs from solvent to another and the ratio β thus being different. From observation of the absorption cross sections for both ground and excited state, it is clear that $\sigma_{g.s.a} > \sigma_{e.s.a}$ as it is expected theoretically.

The experimental curve can look the same for dyes having four level representation. The experimental curves of Fig.(3) and Fig.(4) depending on the obtained data, especially residual absorption, is strong evidence for representing the dye levels as four level system. This ensure the expected theoretical interpretation about four level and three level representation. At last, we have to note that the high values of the incident energy upon the dye which determine the value of $\sigma_{e.s.a}$ never exceed the threshold damages energy of the dye.

Conclusion

From the experimental curves one can depend on this method to investigate saturation behavior of any saturable absorber. As a result it can be recommended to calculate the ratio β .

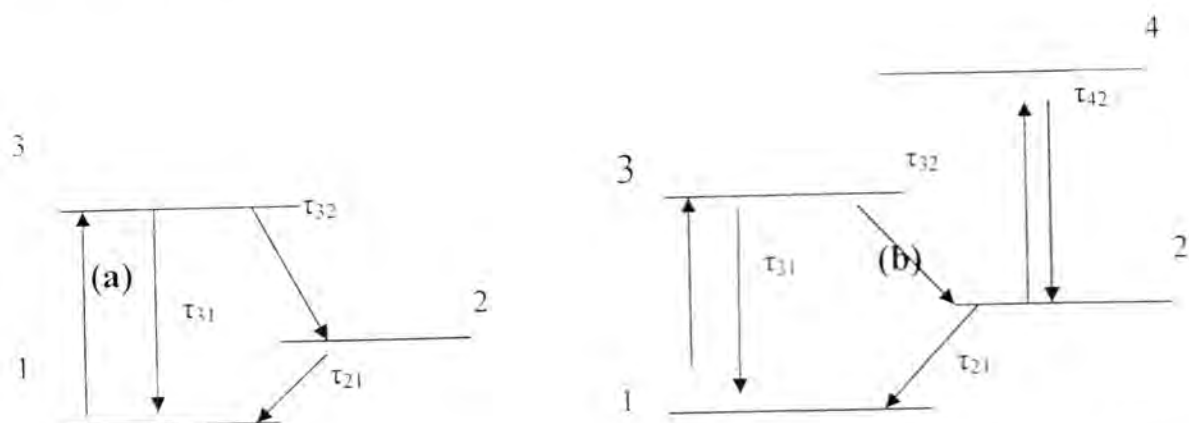


Fig.(1): (a) Three level scheme. Bleaching results from transference of molecules from $1 \rightarrow 2$. (b) Four level scheme. Residual absorption results from the transition $2 \rightarrow 4$.

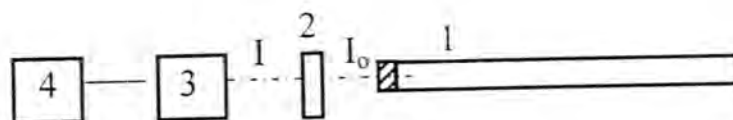


Fig.(2): The ratio β measurement system.

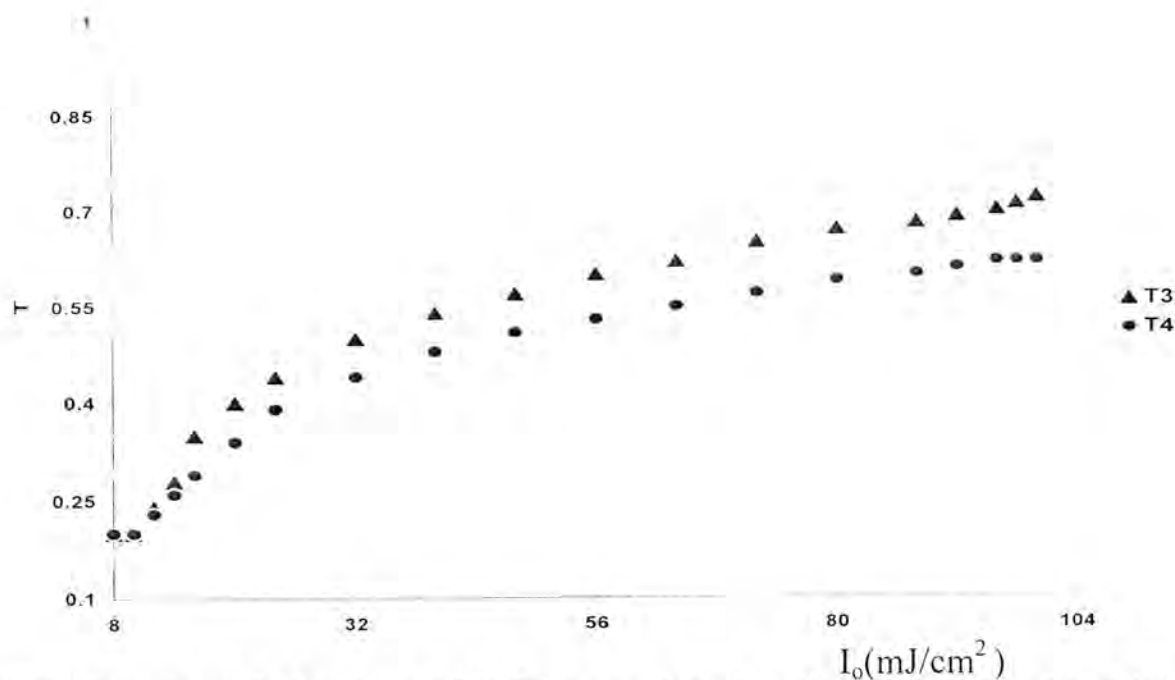


Fig.(3): Saturation behaviour with (T₄ curve) and without (T₃ curve) excited state absorption of BDN-I in chloroform .

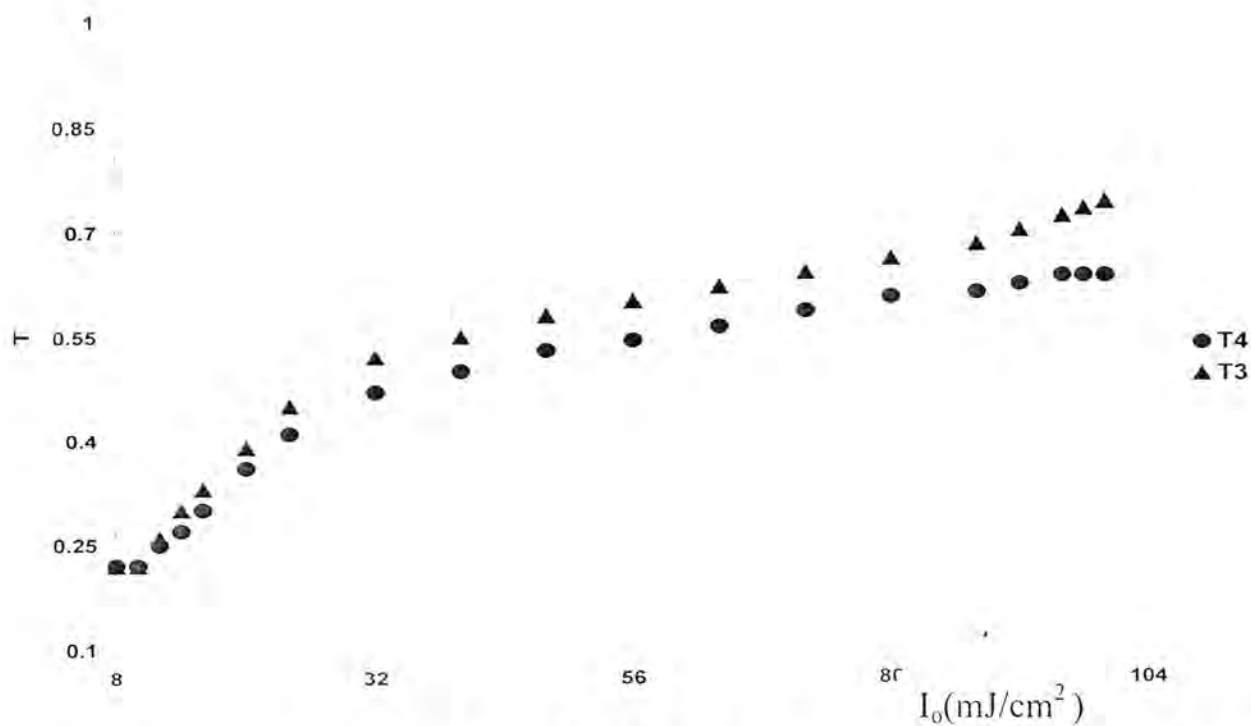


Fig.(4): Saturation behaviour with (T₄ curve) and without (T₃ curve) excited state absorption of BDN-I in benzene.

REFERENCES

- (1) Guo Y.L. and Pang S.M., "Broadband Intensity Dependent Absorption of BDN-I in Toluene", IEEE.J.Quan.Elect., vol.18, p.295-298, (1984).
- (2) Al-Kamil A.K. and Taleb A.M., "Preparation of BDN-I Saturable Absorber", Pateat, No.2668, IC, HPS\115, (1997).
- (3) Al-Nesearawi M.A., "Coupling Coefficients Measurement of Passively Q-Switched Solid State Laser Systems", M.Sc Thesis, Baghdad University, (2001).
- (4) kuo Y.Y and Chen H.M., "Theoretical Study of the Cr:BeAl₂O₄ Laser Passively Q-switched with Cr:YSO Solid State Saturable Absorber", Chinese Journal of Phys., vol.38, p.443-450, (2000).
- (5) Camargo M.B. and Kokta M., "Optical Absorption and Nonlinear transmission of Cr:YSO", Opt.Lett., vol.42, p.338-341, (2005),.
- (6) Eason R.W. and Greenhow R.C., "Ground State Repopulation Time of BDN-II in Tetrahydrothiophene-1", Opt. Comm., vol.32, p.113-116, (1980).
- (7) Band Y.B. and Harter D.J., "Effects of Saturable Absorber Lifetime on the Performance of Giant Pulse Lasers", Chem.Phys.Lett., vol.126, p.280-283, (1986).
- (8) Band Y.B. and Scharf C.B., "Theory of Laser Giant Pulsing by Saturable Absorber", Chem.Phys.Lett vol.127, p.381-385, (1986).

Singularities of Cubic Vector Fields on the Plane

Abbas F. A. AL-shimmar - Electrical Engineering Department, College of
Engineering -AL-Mustansiriya University

تاريخ قبول البحث: 2007/4/3

تاريخ تقديم البحث: 2006/9/25

الخلاصة

الهدف الرئيسي من هذا البحث هو البرهنة على أن عائلة بعض الحقول المتجهية التكعيبية المعرفة على منطو ثنائي البعد ، جميع النقاط الانفرادية ذات المسارات المميزة يمكن تحديدها "توبولوجيا" بمجموعة منتهية . بالإضافة إلى ذلك برهنا بأن نقطتين منفردتين $(R^2, \bar{0}, X)$ و $(R^2, \bar{0}, \bar{X})$ تكون متكافئتين من النمط C^0 بعد النفخ القطبي لهما ، بشرط وجود مسارات مميزة .

ABSTRACT

The main aim of this paper is to prove that a families of some cubic vector fields on 2 – dimensional manifolds ,all singularities with characteristic orbits are topologically determined by a finite set ,moreover we prove that two singularities $(R^2, \bar{0}, X)$ and $(R^2, \bar{0}, \bar{X})$ are C^0 - equivalent after polar blowing up ,provided there is characteristic orbits.

Key words. Normal forms, bifurcations, blowing up, singularity of vector Fields.

INTRODUCTION

The qualitative analysis of vector fields on the plane has been a subject of major interest in pure and applied mathematics. In (1), Poincaré laid the foundations of these fields. A major contribution was then the work of Andronov In (2), we propose an overview of 2D vector field topology taken from the qualitative theory of second order dynamic system, the singularities may occurs in linear vector fields, An affine linear vector field X is described in the following way

$$\dot{X} = A X \quad \text{Or} \quad \begin{pmatrix} \dot{x} \\ \dot{y} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} a & b \\ c & d \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix} \quad \text{where } A = \begin{pmatrix} a & b \\ c & d \end{pmatrix}, X = \begin{pmatrix} x \\ y \end{pmatrix}$$

And is uniquely determined by its Jacobian (or gradient matrix) at the location of its possible zero. That is depending on the eigenvalues of the matrix A , integral curves of X may have different aspects over the plane, the classification is given in ((3),(9),(10)). In this paper, First, we introduce the basic notations required for the qualitative analysis of vector fields, Second, We focus on nonlinear cubic vector fields determined by a finite set called the normal form, third, gives the polar blowing up of some cubic polynomial vector fields. In the following, we consider a steady vector fields defined on the plane.

1 Basic Concept:

1.1 Definition: A "singularity of a C^k -vector field" is a triple (R^n, p, X) such that X is a C^k -vector field on R^n with the property $X(p) = 0$ and p is a singular point of the vector fields X .

1.2 Definition of Germ: Two vector fields X and Y on R^n with $X(0) = Y(0) = 0$ are germ-equivalent in 0 , if they coincide on some neighborhood of 0 . The equivalence class for this equivalence relation are called germ of vector fields in 0 . Let G^n denoted the set of germs of C^∞ vector fields on R^n .

1.3 Definition of k-jet: Let $\tilde{X}, \tilde{Y} \in G^n$, then \tilde{X} and \tilde{Y} are k -jet equivalent (with $0 \leq k \leq \infty$) if for some (and hence for all) representatives of \tilde{X} all partial derivative up to and including the order k of the component functions in 0 coincide with those of \tilde{Y} . This equivalence classes are called k -jets, the k -jet of C^∞ vector field X on 0 being denoted by $J_k(X)(0)$.

1.4 Definition of C^∞ -equivalence: $\tilde{X}, \tilde{Y} \in G^n$ are topologically equivalent if for some (and hence for all) representatives X and Y of \tilde{X} and \tilde{Y} , there exist neighborhoods U and V of 0 in R^n , and a homeomorphism $h : U \rightarrow V$, mapping integral curves of X to integral curves of Y , preserving the "sense" but not necessarily the parameterization, if we denote the flow of a vector field X as usual by $\Phi_X : D \subset R^n \times R \rightarrow R^n$, then the condition in this definition means that if $p \in U$ and $\Phi_X(p, [0, t_1]) \subset U$, $t_1 > 0$, then there is some $t_2 > 0$ such that $h(\Phi_X(p, [0, t_1])) = \Phi_Y(h(p), [0, t_2])$.

1.5 Definition of C^∞ -conjugacy: Let X and Y be two (germs of) vector fields with $X(0)=Y(0)=0$. We say that X and Y are "(locally) C^∞ -conjugated" if there exists a homeomorphism h in a neighborhood V of 0 such that if $p \in V$ and $t \in \mathbb{R}$ have the property $\Phi_X(p, t) \in V$, then $h(\Phi_X(p, t)) = \Phi_Y(h(p), t)$.

1.6 Definition of characteristic orbit: We say that a vector field X on \mathbb{R}^n , $X(0)=0$, has a "characteristic orbit" in 0 , if for some V there exists an integral curve $t \rightarrow \Phi_X(y_0, t)$ remaining in V for $t \geq 0$ (or for $t \leq 0$) and such that

$$\begin{aligned} \Phi_X(y_0, t) &> 0, \forall t \geq 0 \text{ (resp. } \forall t \leq 0), \\ \Phi_X(y_0, t) &\rightarrow 0, \text{ For } t \rightarrow \infty \text{ (resp. } t \rightarrow -\infty), \end{aligned}$$

2 Normal forms of cubic vector fields:

Normal form theory (see (4), (5)), is a technique for transforming the ordinary differential equations describing nonlinear dynamical systems into standard form. Using a particular class of coordinate transformations, One can remove the inessential part of higher order nonlinearities, the standard development of normal form theory involves several technical assumptions (often restricted to homogenous polynomials), Normal forms allows the use of restricted class of coordinates transformations (typically homogeneous polynomials) to put the bifurcations found in nonlinear dynamical system into a few standard forms.

Now let X is a C^k -vector field on \mathbb{R}^n with $X(0)=0$. it is possible to bring the i -jet of X (with $i \leq k$) in a simple form by a C^∞ -change of coordinates. Let X_1 be the vector field, whose component functions are linear, and such that $J_1(X_1)(0) = J_1(X)(0)$. Let H^h denote the vector space on \mathbb{R}^n given by homogeneous polynomials of degree h . Let $[X_1, -]_h: H^h \rightarrow H^h$ be the linear map which assign to each $Y \in H^h$ the Lie product $[X_1, Y]$. We now consider the splitting $H^h = B^h \oplus G^h$, where $B^h = \text{Im}([X_1, -])$ and G^h is some complementary space.

Taken's normal form theorem (see (4)):

Let X, X_1, B^h and G^h be as above, then for $i < k < \infty$, there is a C^∞ -diffeomorphism $\phi: (\mathbb{R}^n, 0) \rightarrow (\mathbb{R}^n, 0)$ such that $X' = \phi_*(X)$ is of the form

$X' = X_1 + g_2 + g_3 + \dots + g_r + R_1$ where $g_i \in G^i$, $i=1,2,\dots,r$ and $J_1(X)(0)=0$, X' is called the normal form of the vector field X .

Now we say about all families of vector fields X on \mathbb{R}^n with $J_1(X) = J_2(X) = \bar{0}$ and $J_3(X) \neq 0$ are a cubic vector fields

Theorem (2.1): Let X be a C^k -cubic vector field (for $k \geq 4$) with $X(0) = \bar{0}$ and its

3-jet at $\bar{0}$ is $J_3(X)(0) = (0, a x^3)$, $a \in \mathbb{R} \setminus \{0\}$, then there is a diffeomorphism

$h: (\mathbb{R}^2, \bar{0}) \rightarrow (\mathbb{R}^2, \bar{0})$ such that

$h_* f = (0, a x^3) + \left(\sum_{i=6}^r \sum_{k=0}^2 \alpha_i^k x^k y^{i-k}, \sum_{i=6}^r \sum_{k=0}^2 \beta_i^k x^k y^{i-k} \right) + R_r$, where

$\alpha_i^k, \beta_i^k \in \mathbb{R}$ and R_r is a vector field with zero r -jet.

3 Polar Blowing Up:

3.1. Construction

The blowing – up method, (see (5),(6),(7),(8)), is the technique we use to decompose a singularity into a simple singularities. In its different appearances, has already been use quite often in studying singularities of vector fields. However, I would like to give here a rather extended description of this method.

Let $X: (\mathbb{R}^2, \bar{0}) \rightarrow (\mathbb{R}^2, \bar{0})$ be a vector field such that $X(\bar{0}) = \bar{0}$, and $\Phi: \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$ be

a diffeomorphism on \mathbb{R}^2 such that $\Phi_*(\tilde{X}) = X$ or $\tilde{X} = D\Phi X \Phi^{-1}$, Where

$$D\Phi = \begin{bmatrix} \frac{\partial \Phi_1}{\partial x} & \frac{\partial \Phi_1}{\partial y} \\ \frac{\partial \Phi_2}{\partial x} & \frac{\partial \Phi_2}{\partial y} \end{bmatrix}$$

If the vector field X has the property that $j_1(X) = J_2(X) = 0$ and $j_3(X) \neq 0$, then we divide \tilde{X} by r^2 , Which makes sense. In the sequel, by "blowing up" we will always mean the construction leading to $\bar{X} = \frac{1}{r^k} \tilde{X}$, where k is the largest integer such that $j_k(X)(0) = 0$. Write

$\bar{X} = \zeta_1(\alpha, r) \frac{\partial}{\partial \alpha} + r \zeta_2(\alpha, r) \frac{\partial}{\partial r}$, where $\frac{\partial}{\partial \alpha}$ and $\frac{\partial}{\partial r}$ are such that

$$\Phi_* \left(\frac{\partial}{\partial \alpha} \right) (\alpha, r) = \left(x \frac{\partial}{\partial y} - y \frac{\partial}{\partial x} \right) (\Phi(\alpha, r)),$$

$$\Phi_* \left(r \frac{\partial}{\partial \alpha} \right) (\alpha, r) = \left(x \frac{\partial}{\partial x} + y \frac{\partial}{\partial y} \right) (\Phi(\alpha, r)).$$

3.2. Calculations Concerning Blowing Up

In this section we derive some formulas which we need later on. Let X be a C^∞ -vector field on \mathbb{R}^2 have the property $j_1(X) = j_2(X) = 0$ and $j_3(X) \neq 0$, we blow up X in 0 . The vector field \bar{X} induces a vector field.

$S^1 \times \{0\} : \bar{X}_0 = \zeta_1(\alpha, 0) \left(\frac{\partial}{\partial \alpha} \right)$ Where $S^1 = \{(x, y) : x^2 + y^2 = 1\}$, Looking at the

Taylor expansion of X at 0 it is clear that

$$\zeta_1(\alpha, 0) = \sum_{i=0}^{k+1} (b_i^{k+1} \cos \alpha - a_i^{k+1} \sin \alpha) \cos^i \alpha \sin^{k+1-i} \alpha$$

And $\sum_{k=0}^{\infty} \left[\left(\sum_{i=0}^k a_i^k x^i y^{k-i} \right) \left(\frac{\partial}{\partial x} \right) + \left(\sum_{i=0}^k b_i^k x^i y^{k-i} \right) \left(\frac{\partial}{\partial y} \right) \right]$ represent the ∞ -jet of X

in 0 . The singularities on $S^1 \times \{0\}$ are exactly the points where $\zeta_1(\alpha, 0) = 0$.

Proposition. (See (6)) $\zeta_1(\alpha, 0)$ Satisfies one of the following conditions:

I $\zeta_1(\alpha, 0)$ is nowhere zero.

II $\zeta_1(\alpha, 0) = 0$ has a finite number of solutions (at most $2k+4$).

III for every $\alpha \in [0, 2\pi[$, $\zeta_1(\alpha, 0) \neq 0$.

When α_0 is a solution of $\zeta_1(\alpha, 0) = 0$, it is clear that $\alpha_0 + \pi$ is: $\zeta_1(\alpha_0 + \pi, 0)$

Furthermore, the orbits in the neighborhood of $(\alpha_0 + \pi, 0)$ are analogous to the orbits of \bar{X} in the neighborhood of $(\alpha_0, 0)$. The only possible difference is the sense. in order to have topology information about both. Two such singularities will be called equal up symmetry, and we will talk about a "symmetry pair of singularities."

If $\bar{X} = \zeta_1(\alpha, r) \frac{\partial}{\partial \alpha} + r \zeta_2(\alpha, r) \frac{\partial}{\partial r}$ is a C^∞ -vector field, we can consider its Taylor expansion in a singularity. We check in which

way the $j_k(\bar{X})(\alpha, 0)$ are related with the ∞ -jet of X in 0 .

We see that

$$j_\infty(\bar{X})(\alpha, 0) = \sum_{n=1}^{\infty} \left[\left(\sum_{i=0}^{\infty} \bar{a}_i^n(\alpha, 0) \alpha^i r^{n-1} \right) \left(\frac{\partial}{\partial \alpha} \right) + \left(\sum_{i=0}^n \bar{b}_i^n(\alpha, 0) \alpha^i r^{n-i} \right) \left(\frac{\partial}{\partial r} \right) \right]$$

With

$$\bar{a}_i^n(\alpha_0, 0) = \frac{1}{n!} \frac{\partial^n \xi_1}{\partial r^{n-i} \partial \alpha^i}(\alpha_0, 0),$$

$$\bar{b}_i^n(\alpha_0, 0) = \frac{(n-i)}{n!} \frac{\partial^{n-1} \xi_2}{\partial r^{n-i+1} \partial \alpha^i}(\alpha_0, 0).$$

Two remarks are pertinent:

(1) $b_0^n = 0 \quad \forall n$.

(2) The n -jet of \bar{X} in a point of $S^1 \times \{0\}$ depends entirely with $(k+n-1)$ -jet of X in 0.

The formulas for the 1-jet of \bar{X} in a point $(\alpha, 0)$ are

$$\left(\frac{\partial \xi_2}{\partial r}\right)(\alpha, 0) = \xi_2(\alpha, 0) = \sum_{i=0}^{k+1} (\cos \alpha \cdot a_i^{k+1} + \sin \alpha \cdot b_i^{k+1}) \cos^i \alpha \cdot \sin^{k+1-i} \alpha$$

This will be called the "radial eigenvalue" of \bar{X} in $(\alpha, 0)$.

$$\begin{aligned} \left(\frac{\partial \xi_1}{\partial r}\right)(\alpha, 0) = & \sum_{i=0}^{k+1} [i a_i^{k+1} \sin^3 \alpha - (i+1) b_i^{k+1} \sin^2 \alpha \cos \alpha - a_i^{k+1} (k+2-i) \sin \alpha \cos^2 \alpha \\ & + (k+1-i) b_i^{k+1} \cos^3 \alpha] \times \cos^{i-1} \alpha \cdot \sin^{k-i} \alpha \end{aligned}$$

This will be called the "tangential eigenvalue" of \bar{X} in $(\alpha, 0)$.

Furthermore $\left(\frac{\partial \xi_2}{\partial r}\right)(\alpha, 0) = 0$, and

$$\left(\frac{\partial \xi_1}{\partial r}\right)(\alpha, 0) = \sum_{i=0}^{k+1} [b_i^{k+2} \cos \alpha - a_i^{k+2} \sin \alpha] \cos^i \alpha \cdot \sin^{k+2-i} \alpha$$

Taken's theorem (see (4)): there is a C^∞ -vector field \bar{X} on $S^1 \times \mathbb{R}^2$

such that $\Phi_*(\bar{X}(q)) = X(\Phi(q))$ for all $q \in S^1 \times \mathbb{R}^2$, $\bar{X}(\alpha, r) = \alpha \frac{\partial}{\partial \alpha} + r \frac{\partial}{\partial r}$

Where $\alpha = \frac{1}{r^2} f$ and $f = \langle X, (-y, x) \rangle$

$$r = \frac{1}{r} g \quad \text{and} \quad g = \langle X, (x, y) \rangle$$

Because f, g are in general position, $\bar{X}|_{S^1 \times \{0\}}$ is a Morse-smale system

and in each point $(\alpha_0, 0) \in S^1 \times \{0\}$ where \bar{X} is zero, \bar{X} has a hyperbolic singularity, if Y has the same k -jet as X and is at least C^{k+1} , and if Y and \bar{Y} are defined analogous to X and \bar{X} , then all the above remarks concerning \bar{X} also hold for \bar{Y} . this means that we can make a

homeomorphism h of neighborhood U_1 of $S^1 \times \{0\}$ in $S^1 \times \{r \in \mathbb{R}, r \geq 0\}$

Onto another such neighborhood U_2 such that h maps integral curves of \bar{X} to integral curves of \bar{Y} , i.e. if

$p \in U_1$ and $D_{\bar{X}}(p, [0, t_1])$, $t_1 > 0$, is contained in U_1 , then there is a $t_2 > 0$ such that $h(D_{\bar{X}}(p, [0, t_1])) = D_{\bar{Y}}(h(p), [0, t_2])$.

Using h , we construct a C^0 -equivalence between the two germs by taking: $\varphi: \Phi(U_1) \rightarrow \Phi(U_2)$ defined by $\varphi(0) = 0$ and $\varphi(p) = \Phi h \Phi^{-1}(p)$ for $p \neq 0$, where $\Phi^{-1}(p)$ has to be chosen so that its r -coordinate is positive. The fact that φ is a homeomorphism which sends X integral curves to Y integral curves follows immediately.

Theorem (3.1):

Let X be a cubic vector field on \mathbb{R}^2 , with $J_1(X) = J_2(X) = \bar{0}$, such that it's $J_3(X) = (x^3 + xy^2, 3y^3 - x^2y)$, then for $k=2$, there is $\Phi: S^1 \times \mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^2$ such that the polar blowing up \bar{X} of the vector field X has the following form:

$$\bar{X} = 2 \cos \alpha \sin \alpha (\sin^2 \alpha - \cos^2 \alpha) \frac{\partial}{\partial \alpha} + r (\cos^4 \alpha + 3 \sin^4 \alpha) \frac{\partial}{\partial r}$$

4 Proof of the results:

Proof of theorem (2.1)

We define a suitable vector space H^{i-2} to determine a basis for the space G^i .

Let $Y_k = (0, x^{i-k-2} y^k)$, $k = 0, 1, 2, \dots, i-2$

$$Z_n = (x^{i-n-2} y^n, A_n x^{i-n-3} y^{n+1}), \quad n = 0, 1, 2, \dots, i-3, \quad A_n = \frac{m}{n+1}$$

$$Z_{i-1} = (y^{i-2}, 0)$$

The set $\{Y_k\}_{k=0}^{i-2} \cup \{Z_n\}_{n=0}^{i-2}$ form a standard basis for the vector space H^{i-2} , to determine the space B^i , we compute the following calculations:

$$[(0, a x^3), Y_k] = (0, a k x^{i-k+1} y^{k-1})$$

$$[(0, a x^3), Z_n] = (a n x^{i-n+1} y^{n-1}, 0)$$

$$[(0, a x^3), Z_{i-2}] = (a(i-2) x^3 y^{i-3}, -3a x^2 y^{i-2})$$

The space H^i generated by B^i and some complementary set, hence we choose G^i such that

$$G^i = \{X: X = (\sum_{k=0}^2 \alpha_i^k x^k y^{i-k}, \sum_{k=0}^2 \beta_i^k x^k y^{i-k})\}, \text{ where } \alpha_i^k, \beta_i^k \in \mathbb{R}, \text{ and by}$$

Taken's theorem [4], there is a C^∞ -homeomorphism function $h: (\mathbb{R}^2, \bar{0}) \rightarrow (\mathbb{R}^2, \bar{0})$ such that $h_* f = (0, a x^3) +$

$(\sum_{i=0}^r \sum_{k=0}^2 \alpha_i^k x^k y^{i-k}, \sum_{i=0}^r \sum_{k=0}^2 \beta_i^k x^k y^{i-k}) + R_r$, where $\alpha_i^k, \beta_i^k \in \mathbb{R}$ and R_r is a vector field with zero r -jet.

Proof of theorem (3.1)

Let X be a C^4 -vector field on \mathbb{R}^2 , with $X_1(0) = X_2(0) = 0$, and $J_3(X) = (x^3 + xy^2, 3y^3 - x^2y)$, consider the following calculation:

$\zeta_1(\alpha, r) = \frac{1}{r^{k+1}} \langle X_3, (-y, x) \rangle_{(\alpha, r)}$, (the symbol $\langle \cdot, \cdot \rangle$ represents the inner product)

$$\begin{aligned} &= \frac{1}{r^4} \langle (x^3 + xy^2, 3y^3 - x^2y), (-y, x) \rangle_{(\alpha, r)} \\ &= \frac{1}{r^4} \{-x^3y - xy^3 + 3xy^3 - x^3y\} \\ &= \frac{1}{r^4} \{2y^3 - 2x^3y\} \\ &= 2 \cos \alpha \sin \alpha (\sin^2 \alpha - \cos^2 \alpha) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \zeta_2(\alpha, r) &= \frac{1}{r^4} \langle (x^3 + xy^2, 3y^3 - x^2y), (x, y) \rangle \\ &= \frac{1}{r^4} \{x^4 + x^2y^2 + 3y^4 - x^2y^2\} \\ &= \cos^4 \alpha + 3 \sin^4 \alpha \end{aligned}$$

So the polar blowing up \bar{X} is

$$\begin{aligned} \bar{X} &= \zeta_1(\alpha, r) \frac{\partial}{\partial \alpha} + r \zeta_2(\alpha, r) \frac{\partial}{\partial r} \\ &= \frac{1}{r^4} \langle (x^3 + xy^2, 3y^3 - x^2y), (-y, x) \rangle \frac{\partial}{\partial \alpha} + \frac{1}{r^3} \langle (x^3 + xy^2, 3y^3 - x^2y), (x, y) \rangle \frac{\partial}{\partial r} \\ &= \frac{1}{r^4} (-x^3y - xy^3 + 3xy^3 - x^3y) \frac{\partial}{\partial \alpha} + \frac{1}{r^3} (x^4 + x^2y^2 + 3y^4 - x^2y^2) \frac{\partial}{\partial r} \\ &= (2 \cos \alpha \sin \alpha (\sin^2 \alpha - \cos^2 \alpha)) \frac{\partial}{\partial \alpha} + r (\cos^4 \alpha + 3 \sin^4 \alpha) \frac{\partial}{\partial r} \end{aligned}$$

The singularities on $S^1 \times \{0\}$ are exactly the points where $\zeta_1(\alpha, r) = 0$

So the points where $2 \cos \alpha \sin \alpha (\sin^2 \alpha - \cos^2 \alpha) = 0$ are $(0, 0), (\frac{\pi}{4}, 0), (\frac{\pi}{2}, 0)$.

$(\pi, 0), (\frac{5\pi}{4}, 0), (\frac{3\pi}{2}, 0)$, to define the linear part of the vector field $\bar{X} = (\bar{X}_1, \bar{X}_2)$ at the above singular points, we calculate the following matrix

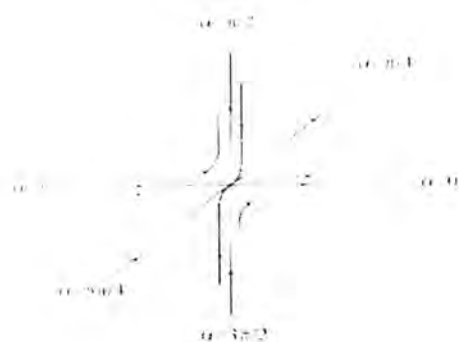
$$\begin{bmatrix} \frac{\partial \bar{X}_1}{\partial \alpha} & \frac{\partial \bar{X}_1}{\partial r} \\ \frac{\partial \bar{X}_2}{\partial \alpha} & \frac{\partial \bar{X}_2}{\partial r} \end{bmatrix}_{(0,0)} = \begin{bmatrix} -2 \cos 4\alpha & 0 \\ 0 & \cos^4 \alpha + 3 \sin^4 \alpha \end{bmatrix}_{(0,0)}$$

Singularities Of Cubic Vector Fields On the Plane

This is equal to the following matrices at the above singularities:

$$\begin{bmatrix} 2 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} -2 & 0 \\ 0 & 3 \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} 2 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} 2 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$$

And the vector field \bar{X} is hyperbolic at all non-singular points. A following figure:



Before blowing up

Figure(4.1)

REFERENCES

- 1- Poincare H., "sur les courbes definies par une equation differentielle oeuvres",
Voll. Paris, Gauthier-Villars, (1928).
- 2- Andronov A.A., Leontovich E.A., Gordon I.I., Maier A.G.,
"Qualitative theory of
Second-order Dynamic System", Israel Program for Scientific
Trandlation, Halsted
Press, (1973).
- 3- Scheuermann G., Kruger H., Menzel M., Rockwood
A.P., "Visualizing non-linear
Vector field Toplogy", IEEE Transections on visualization &
Computer
Graphics", Vol.4, No.3, July (1998).
- 4- Takens F., "Singularities of vector fields", Inst. Haute Sic. pub.
Math. 43, 47 – 100,
(1979).
- 5- Farhan A., " on the normal from of vector fields", M. Sc. Thesis
(1987), Univ.,
Baghdad, IRAQ.
- 6- Dumortier F., " Singularities of vector fields on the plane". J.
Differential
Equation, 23 (1977), 53 – 106.
- 7- Hussein M., "On the parameter vector fields", M. Sc. Thesis
(1989),
Univ., Baghdad, IRAQ.
- 8- Abbas F., "The polar blowing up of quadratic vector fields", Al-
Mustansiriya
j.sci.vol.16, No.4, (2005).
- 9- Arrow smith D. K., Place C.M., "Ordinary Differential equation,
Chapman
And Hall mathematics series, (1982).
- 10-Helman J.L, Hessclink L., "Representation and Display of vector
field Topology
In Fluid Flow Data Sets", Computer, Vol.22, No.8, Aug, 27-36,
(1989).

AL- MUSTANSIRYA JOURNAL OF SCIENCE

Head Editor
Prof. Dr. Redha I. AL-Bayati

General Editor
Dr. Ikbal khider Al- joofy

Editorial Board

Dr. Najat Jawed AL - Obaidi	Member
Dr. Kais Jamel Latif	Member
Dr. Iman Tarik Al -Alawy	Member
Dr. Majid M. Mahmood	Member
Dr. Inaam A- Malloki	Member
Dr. Dr. ZEKI S. TOWFIK	Member

بسم الله الرحمن الرحيم

تعليمات النشر لمجلة علوم المستنصرية

~~~~~

1. تقوم المجلة بنشر البحوث الرصينة التي لم يسبق نشرها في مكان آخر بعد إخضاعها للتقويم العلمي من قبل مختصين وبأي من اللغتين العربية أو الانكليزية .
2. يقدم الباحث طلبا تحريريا لنشر البحث في المجلة على أن يكون مرفقا بأربع نسخ من البحث مطبوعة على الحاسوب ومسحوب بطابعة ليزيرية وعلى ورق ابيض قياس (A4) مع قرص مرن (Disk) محمل بأصل البحث ويكون عدد صفحات البحث 10 صفحات وبضمنها الاشكال والجداول على ان لا يكون الحرف اصغر من قياس 12 .
3. 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 .
4. 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 .
5. تقدم خلاصتان وافيتان لكل بحث ، احدهما بالعربية والاخرى بالانكليزية وتطبع على ورقتين منفصلتين بما لا يزيد على (250) كلمة لكل خلاصة.
6. تقدم الرسوم التوضيحية منفصلة عن مسودة البحث ، وترسم على ورق شفاف (Tracing Paper) بالحبر الصيني الاسود ، وترفق ثلاث صور لكل رسم وتكتب المعلومات تحته على ورقة منفصلة.
7. 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 .
8. يفضل قدر الامكان تسلسل البحث ليتضمن العناوين الرئيسة 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 .  
9. 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 المجلة ، 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 .

10. بخصوص اجور النشر يتم دفع مبلغ (20000) عشرون الف دينار عند تقديم البحث للنشر وهي غير قابلة للرد ومن ثم يدفع الباحث (20000) عشرون الف دينار اخرى عند قبول البحث للنشر وبهذا يصبح المبلغ الكلي للنشر اربعون الف دينار .

~~~~~

المحتويات

الموضوع	رقم الصفحة
دراسة الحاصل ومكوناته وبعض الصفات النوعية لتراكيب وراثية من الشعير الصناعي ذي الصفيين (<i>Hordeum distichum</i>) مستنبطة بأشعة كاما فوزي زياد فوزي عزو - اسكندر فرنسيس إبراهيم - هيثم عبد الوهاب احمد - محمود إسماعيل عبد القادر	٨-١
اخماج الجهاز البولي: نسب انتشار العوامل الممرضة وحساسية بعض البكتيريا العائدة للعائلة المعوية لبعض المضادات الحيوية . ابنسام غضبان عودة	١٧-٩
دراسة تأثير بعض المطهرات على بعض أنواع البكتريا المعزولة من مرضى وصالات العمليات الجراحية خليل مصطفى خماس - سوزان سعدي حسين - تحرير هادي صالح	٣٦-١٨
تأثير المقومات الغذائية (Prebiotics) على النمو والفعالية التنبؤية لبكتريا حامض اللاكتيك تجاه بعض البكتريا المسببة للأسهال جيهان عيد الستار سلمان	٥٠-٣٧
بحث ودراسة حدود الحجيرات في المواد المغناطيسية بوجود مجال مغناطيسي متغير كاظم جواد كاظم علي	٥٨-٥١

دراسة الحاصل ومكوناته وبعض الصفات النوعية لتراكيب وراثية من الشعير الصناعي ذي الصفين (*Hordeum distichum*) مستنبطة بأشعة كاما

فوزي زياد فوزي عزو -اسكندر فرنسيس إبراهيم -هيثم عبد الوهاب احمد -محمود إسماعيل عبد القادر

وزارة العلوم والتكنولوجيا / دائرة البحوث الزراعية وتكنولوجيا الغذاء

تاريخ قبول البحث: ٢٠٠٧/١/٢٣

تاريخ تقديم البحث: ٢٠٠٦/٦/١٥

ABSTRACT

This research was conducted during (1996-1997, 1997-1998, 1998-1999) seasons in Tuwaitha Research Station / Agriculture Research Center and Food Technology / Ministry of Science and Technology. The research has induced valuation of three genotypes of two row barley for malting (39, 45, 52) induction by gamma ray and comparison with the original 1 / 5 and Clipper variety. Randomized Complete Block Design (RCBD) has been used with three replications and the accumulation analysis. The results showed that the induction genotypes (39, 45, 52) was superiority on his original and Clipper variety in yield and its component characters, whereas there is no significant effect for year and the interaction between years and genotypes for all studies characters, so the results showed that the quality testes was suitable for malting. We can conclude from this study that genotypes (39, 45, 52) was suitable for Iraqi environment and for malting.

الخلاصة

نفذ البحث خلال ثلاثة مواسم (١٩٩٦-١٩٩٧ و ١٩٩٧-١٩٩٨ و ١٩٩٨-١٩٩٩) في محطة أبحاث التويته / دائرة البحوث الزراعية وتكنولوجيا الغذاء / وزارة العلوم والتكنولوجيا . تضمن هذا البحث تقييم ثلاث تراكيب وراثية من الشعير الصناعي ذي الصفين (٣٩ ، ٤٥ ، ٥٢) مستنبطة بأشعة كاما ومقارنتها مع الأصل ١ / ٥ والصنف المعتمد Clipper . استخدم تصميم القطاعات العشوائية الكاملة RCBD وثلاث مكررات وتم إجراء التحليل التجميعي لها . أظهرت النتائج تفوق التراكيب الوراثية المستنبطة (٣٩ ، ٤٥ ، ٥٢) على أصلها والصنف Clipper في صفات الحاصل ومكوناته ، بينما لا يوجد تأثير معنوي للسنين

ولتداخلها مع التراكيب الوراثية ولجميع الصفات المدروسة ، كما أظهرت نتائج الفحوصات النوعية صلاحيتها لصناعة المولت . نستنتج من هذه الدراسة أن التراكيب الوراثية (٣٩ ، ٤٥ ، ٥٢) ملائمة للزراعة في البيئة العراقية وصالحة لصناعة المولت .

المقدمة

يعتبر الشعير من المحاصيل الاستراتيجية ، وتكمن أهميته في كونه يدخل في غذاء الإنسان والحيوان معاً . فقد عرفت صناعات غذائية مختلفة من الشعير كصناعة الخل والبيرة والمشروبات الكحولية وغذاء الأطفال والمعجنات كذلك استعمل كوسط زرع للفطريات المفيدة للإنسان كالفطريات الغذائية (المشروم) وخمائر الخبز (٧) . ويمتاز الشعير ذو الصفيين بحاصل أقل من ذي الستة صفوف لكنه أفضل من الناحية النوعية وخصوصاً للصناعات الغذائية حيث يفضل الشعير ذو الصفيين في صناعة المولت والذي تعتمد عليه صناعات غذائية أخرى مهمة كغذاء الإنسان ، كما يمتاز بارتفاع عدد السنابل / م^٢ مقارنة بذي الستة صفوف كذلك وزن ١٠٠٠ حبة وحجم الحبوب الكبيرة (٩) . لقد ذكر (٨) أن التراكيب الوراثية المختلفة تختلف فيما بينها في صفات الحاصل ومكوناته والصفات النوعية للشعير . تعتبر استخدام التقانات النووية في استنباط أصناف جديدة من المحاصيل الحقلية من الطرق الحديثة والتي بدأت منذ الخمسينات من القرن العشرين ولحد الآن وما زال عدد الأصناف المستنبطة بهذه التقانات يزداد يوماً بعد يوم (١) . أن التراكيب الوراثية المستنبطة من تشيع الهجن أو المشععة تتفوق على أصولها في صفات الحاصل ومكوناته والصفات النوعية (٥) . وجد (٢) تفوق التركيب الوراثي ١ / ٥ و ٤ / ٥ الهنغاريين المنشأ في صفات الحاصل ومكوناته مقارنة بتراكيب أخرى مدخلة من هنغارية وجمهورية الجيك . هناك برنامج واسع في العراق لتربية وتحسين الشعير الصناعي ذي الصفيين تتولاه منظمة الطاقة الذرية العراقية والتي أسفرت عن استنباط أصناف جديدة من الشعير الصناعي ذي الصفيين من تشيع تراكيب وراثية مدخلة إلى القطر من هنغارية ملائمة للبيئة العراقية وذات مواصفات نوعية تصلح لصناعة المولت (٣) . يهدف البحث إلى دراسة ملائمة ثلاثة تراكيب وراثية من الشعير الصناعي ذي الصفيين للبيئة العراقية ومقارنتها مع الصنف المنلي (Clipper) والأصل

طرائق العمل

نفذ هذا البحث على مدى ثلاثة مواسم زراعية (١٩٩٦ - ١٩٩٧ و ١٩٩٧ - ١٩٩٨ و ١٩٩٨ - ١٩٩٩) في حقول تجارب محطة أبحاث التويثه / دائرة البحوث الزراعية وتكنولوجيا الغذاء / وزارة العلوم والتكنولوجيا . زرعت بذور ثلاث تراكيب وراثية (٣٩ ، ٤٥ ، ٥٢) مستنبطة من تشيع التركيب الوراثي الهنغاري المنشأ (١ / ٥) بأشعة كاما (جرعة ٢٠ كيلو راد) إضافة إلى الأصل ١ / ٥ والصنف المعتمد زراعته في العراق Clipper بتاريخ ١ / ١١ للمواسم الثلاثة ، وبكمية بذار ١٢٠ كغم / هكتار . استخدم تصميم القطاعات العشوائية الكاملة RCBD وبواقع ثلاث مكررات وبمساحة ٥ م^٢ لكل وحدة تجريبية . سمد الحقل قبل الزراعة وبدفعة واحدة بالسماز المركب ٢٧ : ٢٧ وبكمية ٢٠٠ كغم/هكتار . تم اخذ القراءات المتعلقة بالحاصل ومكوناته (عدد الحبوب / سنبله ، عدد السنابل/م^٢ ، وزن ١٠٠٠ حبة (غم) ، الحاصل الكلي (كغم / هكتار)) تم الحصاد بعد النضج التام وللمواسم كافة . تم تحليل الصفات النوعية من ناتج حصاد ١٩٩٩ وفق ما ذكره (٦) . حللت البيانات إحصائياً عن طريق التحليل التجميعي واستخدم اختبار أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ (٤) .

النتائج والمناقشة

تشير النتائج في جدول (١) إلى وجود اختلافات معنوية بين التراكيب الوراثية في صفة عدد الحبوب / سنبله فقد أعطى التركيب الوراثي ٣٩ أعلى عدد للحبوب بلغ (٣٠,٨٨) حبة ولم يختلف معنوياً عن التركيب ٤٥ ، بينما أقل عدد كان للصنف المعتمد Clipper إذ بلغ (٢٤,٧٧) حبة ، كما تفوق التركيب الوراثي ٣٩ على أصله الذي أعطى (٢٧,٥٥) حبة . أن هذا التفوق قد يعزى إلى تأثير الإشعاع في أحداث تغير وراثي (طفرة) على الجين المسيطر على صفة عدد الحبوب / سنبله (٥) . لا يوجد تأثير معنوي للتداخل بين المواسم الزراعية الثلاثة والتراكيب الوراثية في هذه الصفة .

جدول ١ : معدلات صفة عدد الحبوب / سنبلية لتراكيب وراثية من الشعير الصناعي وعلى مدى ثلاث مواسم زراعية .

معدل التراكيب	المواسم الزراعية			التراكيب الوراثية
	١٩٩٨ - ١٩٩٩	١٩٩٧ - ١٩٩٨	١٩٩٦ - ١٩٩٧	
٢٤,٧٧	٢٥,٠٠	٢٥,٣٣	٢٤,٠٠	Clipper
٢٧,٥٥	٢٦,٣٣	٢٧,٦٦	٢٨,٦٦	١ / ٥
٣٠,٨٨	٣٠,٠٠	٣١,٠٠	٣١,٦٦	٣٩
٢٩,٤٤	٢٩,٦٦	٢٨,٦٦	٣٠,٠٠	٤٥
٢٨,٣٣	٢٦,٣٣	٢٩,٠٠	٢٩,٦٦	٥٢
	٢٧,٤٦	٢٨,٣٣	٢٨,٨٠	معدل المواسم
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ للتراكيب الوراثية = ١,٧٨				
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ للمواسم = غ . م				
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ للتراكيب الوراثية × المواسم = غ . م				

أظهرت نتائج جدول (٢) وجود تأثير معنوي للتراكيب الوراثية في صفة عدد السنابل / م^٢ ، فقد أعطى التركيب الوراثي ٣٩ أعلى عدد للسنابل / م^٢ إذ بلغ (٤٨٥,٤٤) سنبلية ولم يختلف معنوياً على باقي التراكيب الوراثية عدا الصنف المعتمد Clipper الذي اختلف عن باقي التراكيب الوراثية إذ أعطى أقل عدد للسنابل / م^٢ (٣٤٤,٦٦) سنبلية ، وقد يرجع ذلك تأقلم التركيب الوراثي ١ / ٥ (٢) وقد يعود أيضاً إلى تأثير الإشعاع في أحداث تغاير في الكروموسوم المسيطر على هذه الصفة (١ و ٥) . لم يلاحظ أي تأثير معنوي للمواسم أو لتداخلهم مع التراكيب الوراثية في هذه الصفة .

وجد تأثير معنوي للتراكيب الوراثية في صفة وزن ١٠٠٠ حبة (جدول ٣) ، فقد أعطى التركيب الوراثي ٤٥ أعلى وزن لـ ١٠٠٠ حبة بلغ (٤٥,٤٢) غم ولم يختلف معنوياً عن التركيبين ٣٩ و ٥٢ . بينما أقل وزن كان للصنف المعتمد Clipper إذ بلغ (٣٨,٥٠) غم ولم يختلف معنوياً عن التركيب الوراثي ١ / ٥ . قد يعود سبب ذلك إلى تأثير الإشعاع في أحداث تغير كروموسومي في الجينات المسيطرة على هذه الصفة ، وهذه النتيجة تطابق ما أشار إليه (٥) من تأثير الإشعاع على الجينات وبالأخص على صفة وزن ١٠٠٠ حبة . لا يوجد تأثير معنوي للمواسم ولتداخلهم على هذه الصفة .

جدول ٢ : معدلات صفة عدد السنابل / م^٢ لتراكيب وراثية من الشعير الصناعي وعلى مدى ثلاث مواسم زراعية .

معدل التراكيب	المواسم الزراعية			التراكيب الوراثية
	١٩٩٨ - ١٩٩٩	١٩٩٧ - ١٩٩٨	١٩٩٦ - ١٩٩٧	
٣٤٤,٦٦	٣٢٩,٠٠	٣٣٩,٦٦	٣٦٥,٣٣	Clipper
٤٢٧,٦٦	٤٦٤,٠٠	٤٣٧,٣٣	٣٨١,٣٣	١ / ٥
٤٨٥,٤٤	٥٦٣,٠٠	٤٤٦,٦٦	٤٤٦,٦٦	٣٩
٤٤٦,٣٣	٥١٦,٣٣	٥٠٨,٠٠	٣١٤,٦٦	٤٥
٤٣٨,١١	٤٣٣,٠٠	٤٥٧,٣٣	٤٢٤,٠٠	٥٢
	٤٦١,١٣	٤٣٧,٨٠	٣٨٦,٤٠	معدل المواسم
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ للتراكيب الوراثية = ٦٦,١٠				
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ للمواسم = غ . م				
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ للتراكيب الوراثية × المواسم = غ . م				

جدول ٣ : معدلات صفة وزن ١٠٠٠ حبة (غم) لتراكيب وراثية من الشعير الصناعي وعلى مدى ثلاث مواسم زراعية .

معدل التراكيب	المواسم الزراعية			التراكيب الوراثية
	١٩٩٨ - ١٩٩٩	١٩٩٧ - ١٩٩٨	١٩٩٦ - ١٩٩٧	
٣٨,٥٠	٣٨,٥٦	٣٨,٤٣	٣٨,٥٠	Clipper
٤١,٧٦	٤٢,٤٣	٣٩,٧٦	٤٣,١٠	١ / ٥
٤٤,٥٤	٤٥,٧٠	٤٢,١٦	٤٥,٧٦	٣٩
٤٥,٤٢	٥١,١٣	٤٠,٦٣	٤٤,٥٠	٤٥
٤٥,٠٠	٤٩,٩٠	٤٠,٩٣	٤٤,١٦	٥٢
	٤٥,٥٤	٤٠,٨٣	٤٣,٢٠	معدل المواسم
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ للتراكيب الوراثية = ٣,٨٢				
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ للمواسم = غ . م				
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ للتراكيب الوراثية × المواسم = غ . م				

تشير النتائج في جدول (٤) إلى وجود فروق معنوية بين التراكيب الوراثية في صفة حاصل الحبوب . تفوق التركيب الوراثي ٣٩ على باقي التراكيب الوراثية إذ بلغ حاصله (١٩١٣,٣٠) كغم / هكتار ولم يختلف معنوياً عن التركيبين ٤٥ و ٥٢ ، بينما أقل حاصل كان للصفة المعتمد Clipper إذ بلغ (١١٠٨,٧٥) كغم / هكتار . أن هذه النتيجة قد تعود إلى التأثير المعنوي لعدد الحبوب / سنبلة (جدول ١) وإلى تأثير عدد السنبال / م^٢ (جدول ٢) . تطابق هذه النتيجة ما توصل إليه (٤) من تفوق التراكيب الوراثية المستنبطة بالإشعاع على أصولها ، كذلك مع (٣) الذين استنبطوا أصناف جديدة من الشعير الصناعي ذي الصفين باستخدام أشعة كاما . لم يلاحظ أي تأثير معنوي للمواسم ولتداخلهم مع التراكيب الوراثية على هذه الصفة .

جدول ٤ : معدلات صفة حاصل الحبوب (كغم / هكتار) لتراكيب وراثية من الشعير الصناعي وعلى مدى ثلاث مواسم زراعية .

معدل التراكيب	المواسم الزراعية			التراكيب الوراثية
	١٩٩٨ - ١٩٩٩	١٩٩٧ - ١٩٩٨	١٩٩٦ - ١٩٩٧	
١١٠٨,٧٥	١١٧٢,١٠	١١٠٥,٥٦	١٠٤٨,٥٨	Clipper
١٥١٣,٥٩	١٥٦٢,٤٠	١٥٤٨,٥٠	١٤٢٩,٨٨	١ / ٥
١٩١٣,٣٠	١٩٣٢,٥٣	٢٠٠٥,٩٢	١٨٠١,٤٦	٣٩
١٧٨٩,٤١	١٨٨٨,٨٠	١٨١٣,٦٨	١٦٦٥,٧٧	٤٥
١٧٣٦,٧٩	١٨٤٣,٨٦	١٥٥٤,١٢	١٨١٢,٣٨	٥٢
	١٦٧٩,٩٤	١٦٠٥,٥٥	١٥٥١,٦١	معدل المواسم
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ للتراكيب الوراثية = ٢٨٠,١٤				
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ للمواسم = غ . م				
أقل فرق معنوي عند مستوى احتمال ٠,٠٥ للتراكيب الوراثية × المواسم = غ . م				

عند مقارنة نتائج فحص الصفات النوعية للتراكيب الوراثية مع الصفات النوعية القياسية للشعير الصناعي ذي الصفين (EPC) تلاحظ تطابق هذه التراكيب مع الصفات النوعية القياسية مما يدل على صلاحيتها في صناعة المولت (جدول ٥) .

جدول ٥ : مقارنة الصفات النوعية لتراكيب الوراثية الداخلة في الدراسة مع الصفات النوعية القياسية .

الصفات النوعية	الصفات النوعية				
	وزن ألف حبة جافة	نسبة البروتين	نسبة المستخلص المتوقع	نسبة حجم الحبوب الكبيرة	نسبة حجم الحبوب الصغيرة
٣٩	٤٠,٢٥	٩,٢٠	٨١,٥٢	٨٦,١٧	١,٥٣
٤٥	٤٢,٠٠	٩,٨٠	٨١,٢٥	٩١,١٤	١,٦٠
٥٢	٤٠,٣٠	٩,٢٠	٨١,٣٥	٨٥,٠٠	٣,٠٠
١ / ٥	٤٠,٥٠	٩,٤٠	٨١,٤٠	٨٨,٩٦	١,٦٣
Clipper	٣٧,٦٢	١٢,٨٠	٧٩,٢٠	٨٧,٨٨	٢,٠٠
EPC*	٣٦ - ٣٢	٩,٩ - ١٢,٦	٧٩,٩ - ٨٤,٢	٨٥	١ - ٣

* المواصفات القياسية للهيئة الأوروبية لصناعة التخمير .

أن هذه النتائج تنطبق ما وجدته (١٠) من أن ارتفاع الحاصل يعطي أعلى نسبة مستخلص وما أشار إليه (١١) من أنه كلما قلت نسبة البروتين زاد الحاصل بالنسبة للشعير ذي الصفيين .

الاستنتاجات

نستنتج من هذه الدراسة أن التراكيب الوراثية (٣٩ ، ٤٥ ، ٥٢) ملائمة للزراعة في البيئة العراقية وصالحة لصناعة المولت ويمكن إدخالها في تجارب مقارنة مع الأصناف التي تم استنباطها من قبل (٣) لغرض تسجيلها .

المصادر

- ١ - إبراهيم ، اسكندر فرنسيس ، إبراهيم شعبان السعداوي و خزعل خضير الجناي . (١٩٩٠) . تطبيقات التقنيات النووية في الدراسات النباتية . منشورات منظمة الطاقة الذرية العراقية . ٤٢٥ .
- ٢ - إبراهيم ، اسكندر فرنسيس ، فوزي زياد فوزي عزو . ٢٠٠١ . دراسة الحاصل ومكوناته وبعض الصفات النوعية لتراكيب وراثية من الشعير الصناعي ذي الصفيين . مجلة ديالى . المجلد الأول . العدد العاشر . ٤٨٠ - ٤٨٧ .

- ٣ - إبراهيم ، اسكندر فرنسيس ، فوزي زياد فوزي ، هيثم عبد الوهاب احمد ، محمود اسماعيل عبد القادر ، فيصل رشيد ناصر وثريا خليل إبراهيم . ٢٠٠١ . استنباط أصناف جديدة من الشعير الصناعي (المولت) بأشعة كاما . وقائع المؤتمر العلمي القطري الأول للإنتاج النباتي المنعقد بتاريخ ٢١ - ٢٣ / ١١ / ٢٠٠٠ . عدد خاص من مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية . المجلد (١) ، العدد (٤) . ١٠ - ١٠ .
- ٤ - الساهوكي ، مدحت و كريمة محمد وهيب . ١٩٩٠ . تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد .
- ٥ - باوزير ، عبد العزيز احمد عمر . (١٩٩٩) . تقييم طفرات وراثية مستحدثة بأشعة كاما في الشعير *Hordeum vulgare L.* أطروحة دكتوراه . كلية العلوم . الجامعة المستنصرية .
- ٦ - عزو ، فوزي زياد فوزي أنور . ٢٠٠٠ . استجابة بعض التراكيب الوراثية من الشعير الصناعي ذي الصفيين للتسميد النيتروجيني والفوسفاتي . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة بغداد .
- 7 - Cook, A. H. (1962). Barley and Malt. New York Academic Press. 740.
- 8 - Frey, K. J., L. S. Robertson, R. L. Cook, and E. E. Down. (1952). A study of the response of malting Barley varieties to different fertilizer analysis. *Agronomy Journal*. 44: 179 -182.
- 9 - Pomeranz, Y., N. N. Standridge, E. A. Hockeh, D. M. Wesenberg, and G. D. Booth. (1976). Effect of nitrogen fertilizer on malting quality of widely varying Barley cultivars. *Cereal Chemistry*. 53: 574 - 585.
- 10 - Tillman, B. A.; W. L. Pan and S. E. ULLRICH. (1991). Nitrogen use by northern adapted barley genotype under no-till. *Agronomy Journal*. 83: 194 - 201.
- 11 - Weston, D. T.; R. D. Horsley; P. B. Schwarz and R. J. Goos. (1993). Nitrogen and planting date effects on low-protein spring barley. *Agronomy Journal*. 85: 1170 - 1174.

اخماج الجهاز البولي: نسب انتشار العوامل الممرضة وحساسية بعض البكتيريا العائدة للعائلة المعوية لبعض المضادات الحيوية .

ابتسام غضبان عودة قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية

تاريخ قبول البحث: ٢٠٠٧/٣/٦

تاريخ تقديم البحث: ٢٠٠٦/٨/٢٠

ABSTRACT

A total of 321 midstream urine samples were collected from patients complaining of urinary tract infection symptoms of different ages, from hospitalized and non hospitalized patients of Al-Kadhymia Teaching Hospital-Baghdad from September to November 2002. One hundred and twenty four clinical isolates were identified according to morphological and biochemical tests Uropathogens identification shows that *E.coli* was the most predominant (48.4%). Other uropathogens shows the following percentages: *Enterobacter* spp. (12.1%), *Staphylococcus* spp. (10.5%), *Pseudomonas* spp. (9.7%), *Klebsiella* spp. (5.6%), *Proteus* spp. (4%), *Candida albicans* (3.2%), *Citrobacter* spp. (2.4%), *Enterococcus* spp. (2.4%) and *Serratia* spp. (1.6%) respectively.

Antibiotic susceptibility test was performed to some members of Enterobacteriaceae. *E.coli* isolates were relatively highly susceptible to nitrofurantoin, ciprofloxacin and norfloxacin (65%, 52.5%, and 52.5% respectively). They were less susceptible to others like cefotaxime, chloramphenicol, gentamicin and cephalexin (44.4%, 42.5%, 37.5% and 37.5% respectively). But *E.coli* isolates exhibited lowest percentages of susceptibility to ampicillin and co-trimazole (15% and 7.5% respectively).

Enterobacter spp. And *Klebsiella* spp. reveal relatively high susceptibility to ciprofloxacin (76.4% and 57% respectively). While *Proteus* spp. shows the highest susceptibility to both ciprofloxacin and norfloxacin (60%). Non of these uropathogens were susceptible to ampicillin and co-trimazole (0%).

الخلاصة

جمعت ٣٢١ عينة ادرار من المرضى الراقدين والمراجعين لمستشفى الكاظمية التعليمي - بغداد والذين يعانون من اعراض التهابات الجهاز البولي للفترة من ايلول ولغاية تشرين الثاني ٢٠٠٢.

عزلت ١٢٤ عينة مرضية شخّصت اعتمادا على الصفات المظهرية والاختبارات الكيموحيوية وكانت النسب المئوية كالآتي:

Escherichia coli (%٤٨,٤), *Enterobacter* spp. (%١٢,١), *Staphylococcus* spp (%١٠,٥), *Pseudomonas* spp (%٩,٧), *Klebsiella* spp (%٥,٦), *Proteus* spp (%٤), *Candida albicans* (%٣,٢), *Citrobacter* spp(%٢,٤), *Enterococcus* spp(%٢,٤) *Serratia* spp(%١,٦).

اظهر فحص الحساسية للمضادات الحيوية لانواع اجناس العائلة المعوية (*Enterobacteriaceae*) وهي *E.coli*, *Klebsiella* spp, *Proteus* spp,

Enterobacter spp., مقاومة متعددة للمضادات الحيوية المستخدمة (ciprofloxacin)(CIP), ampicillin (Am), Amoxicillin (Amx),) Cephalixin (KF)[
norfloxacin (NOR), gentamicin (GM), amikacin (AN), Cefotaxime CE, nitrofurantoin (NF) co-trimazole (Co), chloramphenicol (C)]
فقد أظهرت عزلات *E. coli*, حساسية عالية نسبيا لكل من NOR, CIP, NF (٦٥%, ٥٢,٥%, ٥٢,٥% على التوالي) تلتها كل من KF, GM, C, CE (٤٤,٤% و ٤٢,٥%, ٣٧,٥%, ٣٧,٥% على التوالي) بينما أظهرت هذه العزلات حساسية واطئة لكل من Co, Am (١٥% و ٧,٥% على التوالي). أما انواع *Enterobacter spp* و *Klebsiella spp* فقد أظهرت حساسية عالية نسبيا لـ CIP (٧٦,٤% و ٥٧% على التوالي) بينما أظهرت عزلات *Proteus spp* اعلى حساسية تجاه كل من CIP و NOR (٦٠% لكل منهما) ولم تظهر انواع الاجناس الثلاثة أي حساسية لكل من co و Am (٠%).

المقدمة

تعد اخماج الجهاز البولي من اكثر الاخماج شيوعا، فهناك حوالي ١٠% من البشر يصابون بالتهابات الجهاز البولي خلال فترة حياتهم (9) ان العوامل المسببة لهذه الاصابات اما ان تكون بكتيرية أو غير بكتيرية والتي تشمل الاصابات الفايروسية والفطرية والطفيلية، أما الاصابات البكتيرية فتشمل الاصابة بالبكتريا الموجبة والسالبة ملون غرام (٤) ولقد شكلت الاشيرشيا القولونية *E. coli* اعلى نسبة بين هذه البكتيريا في اغلب الدراسات التي تناولت بالدراسة هذا النوع من الاخماج اضافة إلى انواع اخرى مثل *Pseudomonas spp*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Proteus spp*, وكذلك الموجبة لملون غرام مثل *Enterococcus spp* و *Staphylococcus spp* (٩)
ان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد نسب انتشار البكتيريا الهوائية والهوائية الاختيارية في اخماج الجهاز البولي وتحديد أكثرها شيوعا ودراسة نسب البكتيريا التابعة لعائلة *Enterobacteriaceae* والحساسية لبعض المضادات الحيوية المستخدمة حاليا واي المضادات هي الأكثر في علاج هذه الاخماج بغية التوصل إلى طريقة لتقليل نسب المقاومة لهذه المضادات والاستخدام الأمثل لها.

المواد وطرائق العمل

العينات: تم جمع ٣٢١ عينة ادرار وسطية من مرضى (١٤٧ ذكور و ١٧٤ اناث) تراوحت اعمارهم بين (٣ اشهر - ٧٢ سنة) الذين يعانون من اعراض التهاب المجاري البولية في مستشفى الكاظمية التعليمي في بغداد للفترة من ايلول - تشرين الثاني ٢٠٠٢.

عزل وتشخيص البكتيريا: زرع ١ مايكروليتر من كل عينة ادرار على وسط الدم الصلب (Blood agar) وسط مكوني الصلب (McConkey agar) وحضنت بدرجة حرارة ٣٧°م لمدة (٢٠-٢٤) ساعة ثم شخّصت البكتريا مظهرها وبايوكيميائيا وفق المصادر (٣، ٤).

اختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية: اختبرت المضادات الحيوية الاتية وهي من انتاج شركة الرازي - بغداد لاجراء اختبار حساسية البكتيريا لها

Ampicillin (10µg/disc), amoxicillin (10µg/disc), norfloxacin (10µg/disc), ciprofloxacin (5µg/disc), co-trimazole (25µg/disc), nitrofurantoin (300µg/disc), cephalexin (30µg/disc), cefotaxime (30µg/disc), chloramphenicol (30µg/disc), amikacin (30µg/disc), gentamicin (10µg/disc)

واختبرت عزلات *E. coli* و *Proteus spp* و *Enterobacter spp* و *Klebsiella spp* لاجراء الفحص عليها وقد اجري الاختبار وفقا لطريقة Vandepitte et al (1991) اذ تم تحضير مزرعة لكل عينة بكتيرية بتركيز 10^8 خلية/سم³ باستخدام مرق (BHI) بمقارنة عكوره مع انبوب مكرفرلاند القياسي رقم ٥،٠ ثم تحضير وسط مولر - هنتن الصلب حسب تعليمات الشركة المنتجة وصب بعمق ٤ ملم ثم زرع ١٠٠ مايكوليتر من كل مزرعة بكتيرية على وسط مولر - هنتن الصلب ووضعت اقراص المضادات الحيوية على الوسط بترك مسافة ٢٠ ملم بين كل قرص وآخر بعدها حضنت بدرجة ٣٧°م لمدة ٢٠ ساعة ثم قرأ قياس قطر التثبيط وقورنة بالجدول القياسية في المصدر المذكور.

النتائج والمناقشة

ان كل عينة ادرار اظهرت نمو (١٠٠) مستعمرة أو أكثر (10^8 خلية/سم³) من الزرع النقي اعتبرت عينة مأخوذة من حالة خمج للجهاز البولي (٨).

وجد ان حوالي نصف (٤٦%) العزلات كانت قد عزلت من الاناث في مرحلة العمر الفعالة جنسيا وربما كانت الفعالية الجنسية في هذا العمر هي السبب في تلوث احيال الاناث بالبكتريا وحدوث المرض (٧). كما ان استيطان المهبل بالبكتريا في هذه المرحلة من

العمر نتيجة توفر PH المناسب لنموها كان ايضا السبب في جعل المهبل مصدرا للاصابة بالمرض في هذا العمر (٥).

اظهرت نتائج زرع عينات الادرار (جدول ١-١) ان الاشيرشيا القولونية (*E.coli*) هي الاكثر شيوعا في اخماج الجهاز البولي. وهذا مطابق لما نشر سابقا (١٠ و ١١) تلتها كل من *Enterococcus spp* و *Staphylococcus spp* ثم *Pseudomonas spp* وشكلت كل من *Klebsiella spp* و *Proteus spp* نسب اقل.

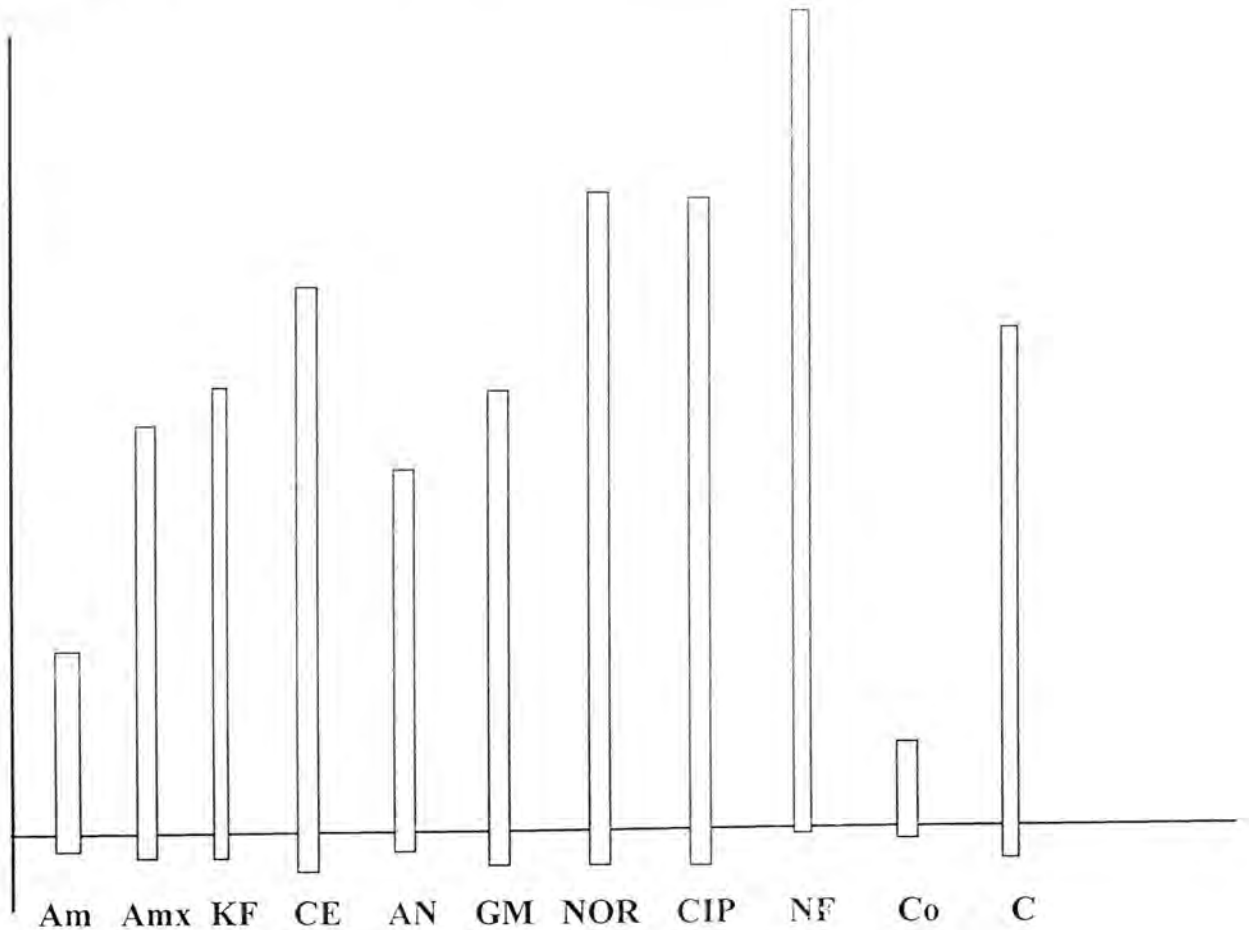
جدول ١-١ اعداد ونسب العزلات البكتيرية الممرضة للجهاز البولي في الاوساط الزرعية الاعتيادية

العوامل الممرضة	عدد العزلات	النسبة المئوية (%)
<i>Escherichia coli</i>	٦٠	٤٨,٤
<i>Enterobacter spp</i>	١٥	١٢,١
<i>Pseudomonas spp</i>	١٢	٩,٧
<i>Klebsiella spp</i>	٧	٥,٦
<i>Proteus spp</i>	٥	٤
<i>Citrobacter spp</i>	٣	٢,٤
<i>Serratia spp</i>	٢	١,٦
<i>Staphylococcus spp</i>	١٣	١٠,٥
<i>S. aureus</i>	(٨)	(٦,٥)
<i>S. epidermidis</i>	(٤)	(٣,٢)
<i>S. Saprophyticus</i>	(١)	(٠,٨)
<i>Enterococcus spp</i>	٣	٢,٤
<i>Candida albicans</i>	٤	٣,٢
العدد الكلي	١٢٤	١٠٠

لوحظ ان عزلات كل من *Klebsiella spp* و *Enterobacter spp* قد تم عزلها من حالات اخماج الجهاز البولي المترافقة مع الحصى الكلوية. ربما كان ذلك عاندا إلى هذين الجنسيتين ينتجان سكريات متعددة (Polysaccharides) تساهم في تكوين الحصوات الكلوية (٢). كما ان اغلب المرضى الذين تم عزل *Pseudomonas spp* من

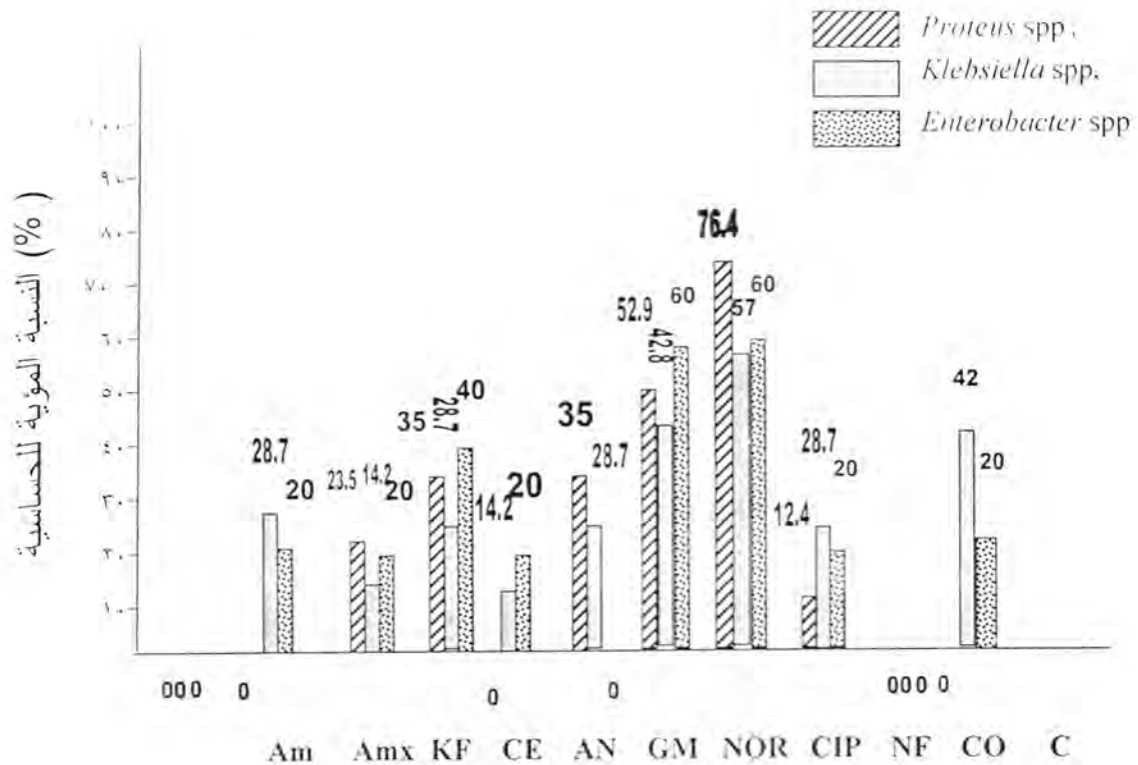
عيناتهم كانوا قد خضعوا لعمليات قنطرة في المستشفى. وان ٧٥% من عزلات *Candida albicans* عزلت من حالات مرضى السكري والمرضى الذين خضعوا للعلاج بالمضادات الحيوية واسعة الطيف (Broad spectrum antibiotics) لمدة طويلة نسبياً وكل عزلات *C. albicans* عزلت من اناث في منتصف العمر (٤٠ - ٤٥ سنة)، وربما كان هذا عائداً إلى التغييرات الهرمونية في مرحلة العمر الفعالة جنسياً (sexual activity age) التي هيئت الظروف المناسبة، وخاصة عامل الحموضة (PH) المناسبة لنمو *C. albicans* في المهبل، والذي أصبح بدوره مصدراً لاصابة الجهاز البولي في الاثبات بهذا السن بهذا النوع من الفطريات، وبوجود العوامل المهيئة كمرض السكري والعلاج بالمضادات الحيوية لفترة طويلة (٥).

اظهر اختبار فحص الحساسية مدى مقاومة عزلات (*E.coli*) للمضادات الحيوية المستخدمة منذ مدة طويلة في علاج اخماج الجهاز البولي وهي كلا من co-trimazole, ampicillin (شكل ١-)، وان بعض المضادات الحيوية التي ادخلت من فترة ليست بالبعيدة في علاج اخماج الجهاز البولي مثل ciprofloxacin, norfloxacin و cefotaxime قد ازدادت المقاومة لها إذ ما قورنت بالدراسات السابقة (١)، فاظهرت حساسية بمقدار (٥٢,٥% و ٥٢,٥% و ٤٤,٤% على التوالي). ان ازدياد المقاومة لهذه المضادات ربما كان عائداً للاستخدام الواسع والعشوائي لها وحدوث طفرات وراثية على مستوى الكروموسوم أو نتيجة لانتقال صفة المقاومة عن طريق البلازميدات، كما لوحظ بان (*E.coli*) اظهرت حساسية عالية نسبياً تجاه nitrofurantoin وربما كان ذلك نتيجة قلة استخدام هذا النوع من المضادات في علاجات الجهاز البولي ولعدة عقود (٦ و ١١).



- 1.Am= ampicillin 2.Amx= amoxicillin 3.KF = cephalixin
 4.CE= Cefotaxime 5. AN = amikacin 6.GM – gentamicin
 7.NOR=norfloxacin 8.CIP=Ciprofloxacin
 9.NF–nitrofurantoin 10.CO=Co-trimazole 11.C=chloramphenicol

شكل (١) حساسية عزلات الاشيريشيا القولونية المعزولة من اخماج الجهاز البولي لبعض المضادات الحيوية



المضادات الحيوية

Am= ampicillin Amx= amoxicillin KF = cephalixin
 CE= Cefotaxime AN = amikacin GM – gentamicin
 NOR= norfloxacin CIP = Ciprofloxacin
 NF – nitrofurantoin CO=Co-trimazole
 C= chloramphenicol

شكل (٢) حساسية بكتريا *Proteus* spp, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp المعزولة من اخماج الجهاز البولي لبعض المضادات الحيوية

وقد بينت النتائج (شكل-٢) ان ciprofloxacin هو الأكثر فعالية في علاج اخماج الجهاز البولي المتسببة كل من *Proteus* spp, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp (٧٦,٤% و ٥٧% و ٦٠% على التوالي) يليه norfloxacin (٥٢,٩% و ٤٢,٨% و ٦٠% على التوالي) بينما لم تظهر كل العزلات التابعة للجناس الثلاثة أي حساسية تجاه كل من ampicillin و co-trimazole، ربما كان ذلك عائداً إلى الاستخدام الواسع والعشوائي لهذه المضادات، كما ان قلة عدد العزلات التي تم اختبار حساسيتها للمضادات الحيوية والتابعة للجناس الثلاثة المذكورة قد يكون احد الاسباب.

الاستنتاجات والتوصيات

لوحظ في هذه الدراسة بان البكتيريا الهوائية التابعة للعائلة المنعوية هي المسبب الأكثر شيوعا بين البكتيريا الممرضة المسببة لالتهاب الجهاز البولي في الانسان وان الاشرشيا القولونية (*E.coli*) قد اظهرت اعلى نسبة بين هذه العزلات. كما لوحظ ان المقاومة للمضادات الحيوية من قبل هذه الممرضات قد ازدادت تجاه المضادات الحيوية الحديثة نسبيا مثل *norfloxacin, ciprofloxacin* إذا ما قورنت بالدراسات السابقة فضلا عن ازدياد المقاومة للأجيال القديمة من المضادات الحيوية. للسيطرة على الازدياد المتواصل للمقاومة من قبل البكتيريا يفضل استخدام المضادات بعد اجراء فحص الحساسية واكمال الوقت اللازم للعلاج بالمضادات حتى الشفاء التام، كما يفضل استخدام المضادات الحيوية التي ترك استخدامها لفترة طويلة نسبيا مثل *nitrofurantoin* و *nalidixic acid* والامتناع عن الاستخدام العشوائي والكيفي للمضادات الحيوية.

REFERENCES

- 1- Al-Grawi, J. G. A . Study on the Use of Bacterial Lipopolysaccharide as an Immunomodulator and Immunoprophylactic Agent in Urinary Tract Infections in Rats. Ph.D. Thesis. College of Science. Baghdad University (1999) .
- 2- Al-Zagg, A. Molecular analysis of urinary *E. coli* pathogen and cloning of its hemolytic determinants. Iraqi J. Sci. 35: 16-22 (1994).
- 3- Cruickshank, R., Duguid, J. P., Mermion, B . P., and Swain, R. H. Medical Microbiology. Vol. 2 . 12th ed. (1975). Churchill Livingstone. Edinburgh, London and New York.
- 4- Forbes, B.A., Sahm, D.F., and Weissfled, A. S. Bially and Scott's Diagnostic Microbiology. 10th ed (1998). Mosby. USA.
- 5- Levinson, W. , and Jawetz. E., Medical Microbiology and Immunology. 16th ed. (2000). McGraw Hill. USA.
- 6- Martinez, J. L and Baquero, F., Mutation frequencies and antibiotic resistance Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 44 (7): 1771-7. (2000).
- 7- Palac, D.M. Urinary tract infections in women: a physician's prespective. Lab. Med. 17: 25-30 (1986).

- 8- Rabb, S. S., Bissel, M.G. and Babs, D. J. Year Book of Pathology and Laboratory Medicine, pp. 423 (2001). Mosby. USA.
- 9- Stamm, W. E., and Turck, M. Harrison's Principles of Internal Medicine . 19th ed. pp. 1327-1331 (1980). McGraw Hill. Tokyo.
- 10- Twaij, A. Enterobacterial Infection of Urinary Tract. M.Sc. Thesis. College of Science . Baghdad University. (1998).
- 11- Valvano, M. A., and Crossa, J. A. Aerobactin-iron transport genes commonly encoded by certain Col V plasmids occur in the chromosome of human invasive strain fo *E.coli* K1. Infect. Immun. 46 (1): 159-167. (1984)
- 12- Vandepitte, J. Engback, K. Piot, P., and Heuk, G.C Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology, pp. 84. (1991) WHO. Geneva .

دراسة تأثير بعض المطهرات على بعض أنواع البكتيريا انعزولة من مرضى وصالات العمليات الجراحية

خليل مصطفى خماس - سوزان سعدي حسين - تحرير هادي صالح

قسم علوم الحياة، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.

تاريخ تقديم البحث: ٢٠٠٦/٨/٢٠ تاريخ قبول البحث: ٢٠٠٧/٣/٦

ABSTRACT:

Minimal Inhibitory Concentration, MIC, for six of the Common chemical disinfectants in Iraqi hospitals were determined (Hibitane, Bleach, Minudes, Sekucid-N, Savlon, Skinsept). The MIC, for bacterial isolates were range between 4-256 mg/ml for Hibitane, 4-512 mg / ml for skinsept, 4-1024 mg/ml for Savlon, 64-2000 mg/ml for Bleach, 256-2500 mg/ml for Minudes and 256-4000 mg/ml for Sekucid-N. Minimal Bactericidal Concentration, MBC, for six of the common chemical disinfectants were determined for bacterial isolates. Ten isolates of different sensitivity and resistance to antibiotics have acquired different resistance patterns to antibiotics after exposure to sub-MIC, of (Bleach, Minudes, Sekucid-N, Skinsept, Savlon, and Hibitane).

الخلاصة:

حددت التراكيز المثبطة الدنيا MIC_s Minimal Inhibitory Concentrations، و التراكيز القاتلة الدنيا MBC_s Minimal Bactericidal Concentrations لسنة من المطهرات الكيميائية شائعة الاستخدام في المستشفيات العراقية، وشملت (الهبتين، السكسنسيت، السافلون، القاصر، المينوديس، سيكوسيد-ن) لـ 25 عزلة بكتيرية منتخبة. تراوحت قيم التراكيز المثبطة الدنيا للعزلات البكتيرية قيد الدراسة لمطهر (الهبتين) ما بين 2-256 مايكرو غرام/ مليلتر، والسكسنسيت ما بين 4-512 مايكروغرام/مليلتر والسافلون ما بين ٤-١٠٢٤ مايكروغرام/مليلتر والقاصر ما بين 64-2000 مايكروغرام/مليلتر، والمينوديس ما بين 256-2500 مايكروغرام/مليلتر وللسيكوسيد-ن) ما بين 256-4000 مايكروغرام/مليلتر. حدد الزمن اللازم لقتل خمسة من العزلات المنتخبة عند تعرضها للمطهرات الستة بتركيزها القاتلة الدنيا. ظهر أن 10 عزلات بكتيرية مختلفة من حيث حساسيتها ومقاومتها للمضادات الحيوية قد اكتسبت مقاومة ومقاومة متوسطة للمضادات الحيوية بعد تمريرها بالتراكيز المثبطة تحت الدنيا (Sub-MIC_s) للمطهرات الكيميائية (القاصر، المينوديس، سيكوسيد-ن، سكسنسيت، سافلون، هبتين) على التوالي.

المقدمة:

يُعد التلوث الجرثومي واحداً من أكبر المشاكل الصحية في المستشفيات لما يسببه من الاخماج للمرضى الراقدين في المستشفى لأغراض أخرى، وتسمى هذه الاخماج بأخماج المستشفيات Nosocomial Infection والتي تعرف بأنها واحدة من أهم Morbidity والوفيات Mortality لمرضى المستشفيات سيما مرضى وحدات العناية المركزة Intensive Care Units, ICUs في جميع أنحاء العالم سيما في البلدان النامية (2-1). تشير التقارير بأن حوالي (5-10 %) من الراقدين في وحدات العناية المركزة في مستشفيات الولايات المتحدة يكتسب الإصابة بهذا النوع من الاخماج (3) كما أشارت إحدى البحوث إلى أن من بين (٦٠-١٠٠) ألف مريض مصاب بخمج المستشفيات، يموت نحو (5-10) ألف سنوياً في فرنسا (4).

يعتمد حصول الخمج وتطوره على عدة عوامل مهمة تشمل: مصدر وعدد و فوعة الجراثيم Virulence المسببة للخمج، مدى حساسية المضيف (Host) وطبيعة أو طريقة تعرضه للعدوى والوسيلة التي تنتقل بواسطتها الجراثيم. أن ميكانيكية وتداخل هذه العوامل يطلق عليها عادة سلسلة الخمج Chain of infection إذ يحدث الخمج في ظروف مناسبة وعند توفر العوامل أعلاه (5).

ذكرت العديد من الدراسات بأن المكورات العنقودية Staphylococci والعقديات Streptococci كانتا من المسببات المرضية السائدة في بداية هذا القرن، وقد أدى استعمال المضادات الحيوية إلى تقليلها بعد ذلك أصبحت العصيات السالبة لملون غرام الأكثر بروزاً، ولكن بالرغم من ذلك فإن المكورات الموجبة لملون غرام تتبع العصيات السالبة باستمرار في إحداث مثل هذه الاخماج. يتلقى العديد من الراقدين الإصابة بالعصيات السالبة متعددة المقاومة مثل *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *E. coli*, *Acinetobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Pseudomonas spp.* لإنتاجها وسائل مقاومة متنوعة لمختلف المضادات وبشكل واسع (6-7).

تستخدم المطهرات الكيميائية في العديد من المستشفيات والمختبرات بشكل عشوائي ودون الرجوع إلى تعليمات الشركة المصنعة والمثبتة على العبوة الخاصة بالمطهر الكيميائي، مما يجعل المطهرات تفقد فعاليتها بسبب الاستعمال غير المناسب وفي المكان غير المناسب أو لكونها مستخدمة بتركيز غير ملائمة. فالتلوث يحدث بسبب التراكيز غير الملائمة المستعملة للمطهرات الكيميائية، إذ ساهم الاستعمال العشوائي للمطهرات الكيميائية في المستشفيات في ظهور العديد من السلالات البكتيرية المقاومة للعديد من المطهرات والمضادات الحيوية على حد سواء، مما ينجم عنه مشكلة خطيرة تكمن في صعوبة

السيطرة على الأمراض المعدية، وقد أظهرت الدراسات أن للمطهرات دوراً كبيراً في حدوث الإصابات المكتسبة من المستشفيات (NIS) وذلك عند استعمالها بشكل عشوائي وغير مدروس، وأن الأحياء المجهرية المعزولة من محاليل تلك المطهرات تعد دليلاً واضحاً على مقاومة تلك الأحياء لها مما يجعلها مصدراً لحدوث تلك الإصابات (8-10).

تهدف هذه الدراسة إلى إمكانية عزل الممرضات الجرثومية من الراقدين في المستشفيات ومن صالات العمليات الجراحية وتحديد أنواعها السائدة ومعرفة المطهر الكيميائي الأكثر فعالية في القضاء على البكتيريا الشائعة في المستشفيات العراقية. وتهدف أيضاً إلى تحديد التراكيز المثبطة الدنيا (MIC_s) والتراكيز القاتلة الدنيا (MBC_s) وزمن القتل Killing time لبعض المطهرات الكيميائية الشائعة الاستعمال في المستشفيات.

المواد وطرائق العمل:

١. طرائق العمل:

جمع العينات: جمعت (400) عينة من (4) أربع مستشفيات في مدينة بغداد هي مستشفى ابن البلدي، مستشفى بغداد التعليمي، مستشفى الجراحات التخصصية، ومستشفى حماية الأطفال التعليمي خلال الأربع أشهر الممتدة من 2004/9/1 ولغاية 2004/12/30. كان بينها 320 عينة بيئية أخذت بشكل مسحات من مواقع مختلفة من صالة العمليات الجراحية وقد استخدمت طريقة الموصوفة في بحث ثوماس (10). تتضمن هذه الطريقة غمر مسحات قطنية مجهزة من شركة (CORAN) في المحلول الملحي الوظيفي المعقم، ثم دورت المسحات في مكان العزل المطلوب ونقلت إلى المختبر مباشرة لغرض تنشيطها. أما بالنسبة لعينات الهواء فاستخدمت الطريقة الموصوفة في الأدبيات (11) وذلك بفتح أطباق أكار الدم في هواء الصالة لمدة خمس دقائق ونقلت إلى المختبر لغرض حضنها مباشرة. أما العينات السريرية فقد جمعت 80 عينة من مكان الجرح لمرضى العمليات الجراحية وذلك بغمر مسحات قطنية معقمة في المحلول الملحي الوظيفي المعقم، وتدويرها في مكان الجرح ثم نقلت إلى المختبر لغرض زرعها مباشرة.

عزل البكتيريا: نشطت المسحات في أنابيب تحتوي على 5.0 مل نقيع القلب والدماغ المعقم وبعد الحضن بدرجة حرارة 37 °م، ولمدة 18 ساعة، تم نقل جزء من النمو الناتج في كل أنبوبة بواسطة الناقل الزرعي (Loop)، وزرعت على كلاً من وسط أكار الدم، أكار الماكونكي، و أكار المانيتول الملحي بطريقة التخطيط Streaking. حضنت الأطباق هوائياً بدرجة حرارة 37 °م ولمدة 24-48 ساعة. أما عينات الهواء فقد حضنت أطباق أكار الدم هوائياً بدرجة حرارة 37 °م ولمدة 24-48 ساعة، ثم زرعت المسحات القطنية للجروح على

خليل - سوزان - تحرير

أوساط أكار الدم، الماكونكي و المانيتول الملحي، وحضنت هوائياً بدرجة حرارة 37 °م ولمدة 24-48 ساعة.

٢. تشخيص البكتريا المعزولة:

تشخيص البكتيريا باستخدام عدة التشخيص API Staph و Api 20 E: شخّصت العزلات مبدئياً "بملاحظة صفات المستعمرات على الأوساط المذكورة أعلاه فضلاً" على إجراء بعض الفحوصات المورفولوجية وبضمنها تصبغ شريحة مثبتة بصيغة غرام ثم استعمل نظام API Staph System لتشخيص المكورات العنقودية *S. aureus* و *S. epidermidis* و API 20E لغرض التشخيص النهائي للعزلات البكتيرية (*Ps. aeruginosa*, *P. mirabilis*, and *E. coli*)⁽¹²⁾.

حفظ وإدامة العزلات البكتيرية: حفظت العزلات البكتيرية بعد تشخيصها على أوساط زرعية مائلة من وسط الاكار المغذي بدرجة حرارة 4 °م واستمرت عملية إدامة العزلات بشكل دوري شهرياً وذلك بتنشيطها على وسط نقيع القلب والدماغ (BHib) ومن ثم إعادة زراعتها على وسط زرعي مائل جديد لضمان بقاء العزلات بشكل نشط طيلة فترة الدراسة، أما فيما يخص الحفظ طويل الأمد فقد استخدم وسط نقيع القلب والدماغ المضاف له الكليسيروول بنسبة 15 % وتم حفظها بدرجة حرارة 20 °م لحين الاستخدام⁽¹³⁾. أجري فحص حساسية البكتيريا لأنتي عشر مضاد بكتيري هي: (Amikacin, ampicillin, amoxicillin+clavulanilic, cefixime, cefotaxime, cephalothin, ciprofloxacin, gentamicin, norfoxacin, ofloxacin, pefloxacin, and trimethprime) بأعتماد الطريقة الموصوفة في الأدبيات⁽¹⁴⁾.

٣. تحديد قيم التراكيز المثبطة الدنيا للمطهرات الكيميائية:

تم تحديد قيم التراكيز المثبطة الدنيا (Minimal Inhibitory Concentration,)

(MICs) للمطهرات الستة في جدول رقم (١) باتباع طريقتي:

١-٣ طريقة الصفيحة العيارية Microtiteration tray plate Method: استخدمت

هذه الطريقة كما جاء في^(١٥-١٨): حضرت التراكيز المدرجة أدناه من المحلول الخزين

Stock

جدول رقم (١): انمظهرات الكيمياءية المستخدمة في هذه الدراسة.

ت	الاسم التجاري	الاسم العلمي	التركيز التجاري (غم/١٠٠ مل)	الشركة المصنعة ومنشأها
١	سافلون (Savlon)	Certimide+ chlorhexidine	3	شركة الرحمة (أردنية)
٢	هيببتين (Hibitane)	Chlorhexidine	4	شركة الرحمة (أردنية)
٣	مينوديس (Minudes)	Diazapropyl, alcoholic alkoxilate	100	Hankel-Ecolab (ألماني-أمريكي)
٤	سيكوسيد-N (Sekucid-N)	Glutaraldehyde	2	Hankel-Ecolab (ألماني-أمريكي)
٥	سكنسيبت (Skinsept)	Chlorhexidine digluconate, Benzalkonium chloride	2	Hankel-Ecolab (ألماني-أمريكي)
٦	قاصر (Bleach)	Sodium Hypochlorite	5.25	شركة كلوركس (سعودي)

Solution للمظهرات المبنية في الجدول رقم (٢) وحسب التراكيز التالية: (4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000 مايكروغرام/مليتر). نقل جزء من المزروع البكتيري النامي على وسط الاكار المغذي وبعمر 24 ساعة بواسطة الناقل الميكروبي إلى أنابيب حاوية على 5.0 مل من وسط نقي القلب والدماغ. حضنت الأنابيب بدرجة حرارة 37°م إلى حين الحصول على عكورة مائلة لعكورة أنبوبة مأكفرلاند للحصول على تركيز 1.5×10^8 CFU/مل، واستخدم هذا العالق في المراحل اللاحقة للاختبار. استخدمت في هذا الاختبار صفائح معايرة دقيقة Microtiter plates ذات 96 حفرة ونقل 100 مايكروليتر من التراكيز المختلفة من كل مطهر بواسطة ماصة دقيقة إلى كل حفرة. نقل 100 مايكروليتر من العالق البكتيري بواسطة ماصة دقيقة إلى جميع الحفر وبواقع مكررين لكل عذلة. حضرت معاملة سيطرة موجبة (عالق بكتيري بدون مطهر) ومعاملة سيطرة سالبة (وسط زرع سائل خالي من النمو البكتيري). أغلقت الصفائح العيارية باستخدام شريط البارافيلم لمنع تبخر محتويات الحفر وحضنت بدرجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة ثم قرأت النتائج بفحص العكورة المتكونة في قعر كل حفرة. نقل 100 مايكروليتر من محتوى أول حفرة خالية من العكورة بواسطة ماصة دقيقة إلى وسط الاكار المغذي Nutrient agar. زرعت الأطباق بطريقة

خليل - سوزان - تحرير

النشر Spreading وباستعمال الناشر Spreader ثم حضنت الأطباق بحرارة 37°م ولمدة 24 ساعة. حدد التركيز المثبط الأدنى، MIC، Minimal Inhibitor Concentration، على انه اقل تركيز من المطهر يؤدي إلى انعدام النمو المرئي أو ظهور اقل من 6 مستعمرات على الوسط الصلب^(١٩).

٣-٢ طريقة التخفيف بالأكار Agar Dilution Method: استخدمت طريقة التخفيف في الوسط ألزعي الصلب لحساب التركيز المثبط الأدنى للمطهرات المستخدمة^(٢٠) وكما يلي: حضرت تراكيز متسلسلة تراوحت قيمها ما بين 4-5000 مايكرو غرام/مل للمطهرات من محاليلها الخزنية المبنية في الجدول رقم (٢) وذلك بإضافة نسب مختلفة من هذه المطهرات إلى وسط أكار مولر-هنتون المعقم والمبرد إلى 45°م. رجت الأوساط جيداً بعد إضافة المطهر، وبعد أن ضبط الأس الهيدروجيني pH إلى 7.0، ثم صب في أطباق معقمة وحفظت بدرجة حرارة الثلاجة (4°م) لحين استعمالها خلال 24-48 ساعة. حضر العالق البكتيري المذكور أعلاه وبوساطة ماصة دقيقة سحب 5.0 مايكروليتر من العالق البكتيري ولقحت كقطرة واحدة على الأوساط الحاوية على المطهرات. كررت العملية لكافة المزارع بالتسلسل وبواقع مكررين لكل تركيز، تركت الأطباق لفترة في درجة حرارة الغرفة لحين جفاف القطرات قبل قلب الأطباق وحضنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة. حسب الـ MIC على انه اقل تركيز يمنع ظهور النمو المرئي وغير المرئي للبكتيريا بعد حضانه 18 ساعة بدرجة حرارة 37°م^(٢١).

٤. تحديد قيم التراكيز القاتلة الدنيا للمطهرات الكيميائية:

تم تحديد قيم التراكيز القاتلة الدنيا Minimal Bactericidal Concentration للمطهرات الكيميائية المستخدمة في الدراسة كآلاتي: نقل 100 مايكروليتر من محتوى الحفرتين التي لبي الحفرة الـ MIC والخالية من العكورة بوساطة ماصة دقيقة إلى أطباق حاوية على وسط الاكار المغذي ثم زرعت الإطباق بطريقة النشر. حضنت الأطباق بحرارة 37°م ولمدة 24 ساعة. حدد التركيز القاتل الأدنى Minimal Bactericidal Concentration/MBC على انه اقل تركيز من المطهر يؤدي إلى قتل (99.9%) من المزروع البكتيري أو يؤدي إلى انعدام النمو على الوسط الصلب^(٢٢).

٥. تحديد زمن القتل للمطهرات الكيميائية:

تم تحديد الزمن اللازم Killing Time لتعريض بكتريا (*S. epidermidis*, *S. aureus*, *P. mirabilis*, *E. coli*, and *Ps. Aeruginosa*) للمطهرات المختلفة من اجل القضاء عليها باتباع طريقة Narenamanathe وعلى النحو الآتي^(٢٣): نقل 100 مايكروليتر من العالق البكتيري المحضر إلى الأنبوبة الحاوية على التركيز المطلوب اختبار

من المطهر الكيميائي. نقل 100 مايكروليتر من العالق البكتيري إلى أنبوبة حاوية على 10 مل من نقيع القلب والدماغ B.H.I وعدت هذه الأنبوبة معاملة سيطرة سالبة. تم حساب أعداد البكتيريا في كلا الأنبوبتين بطريقة الأطباق في زمن الصفر. حضنت الأنبوبتين بدرجة حرارة 37 °م، لفترات زمنية مختلفة (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60) دقيقة. حسب أعداد الخلايا في الأنابيب باستخدام طريقة التخفيفات، إذ نقل ١٠٠ مايكروليتر من كل تخفيف إلى أطباق حاوية على وسط الاكار المغذي وزرعت بطريقة النشر ثم حضنت بحرارة 37 °م لمدة 24 ساعة. تم تحديد زمن التعرض اللازم لقتل البكتيريا لكل مطهر من المطهرات الستة المستخدمة في الدراسة بأنه ذلك الزمن اللازم لتعرض البكتيريا للمطهر إذ أدى إلى عدم ظهور أي نمو على الأوساط الزرعية الصلبة.

٦. اختبار تأثير التراكيز المختلفة من المطهر الكيميائي Sekucide-N على البكتيريا المدروسة بطريقة الانتشار بالأكار:

حضرت التراكيز المدرجة أدناه من المحلول الخزين Stock solution من المطهر الكيميائي سيكوسيد-ن المبين في الجدول رقم (٢) وحسب التراكيز الآتية: (٤، ٨، ٣٢، ٦٤، ١٢٨، ٢٦٥، ٥١٢، ١٠٢٤، ٢٠٠٠، ٢٥٠٠، ٣٠٠٠، ٣٥٠٠، ٤٠٠٠، ٤٥٠٠، ٥٠٠٠) مايكروغرام/مليتر. حضر وسط أكار مولر-هنتون، صب بعد تبريده إلى 45 °م في أطباق بلاستيكية بمقدار 25 مل وبسمك ٤ ملم وتركت بعدها الأطباق لتتصلب. باستخدام مسحة قطنية معقمة Sterile swab نشر جزء من العالق البكتيري المحضر على سطح الأطباق الحاوية على وسط أكار مولر-هنتون، تركت الأطباق في جو المختبر لمدة 15 دقيقة قبل استخدامها. استخدم ثاقب فليني معقم Cork borer قياس 5 ملم لعمل حفر على سطح الاكار وبواقع 6 حفر لكل طبق. بوساطة ماصة دقيقة تم نقل 100 مايكروليتر من كل تراكيز المطهر إلى كل حفرة من الحفر. تركت الأطباق في جو المختبر لمدة 15 دقيقة. حضنت الأطباق بحرارة 37 °م ولمدة 24 ساعة. بعد انتهاء فترة الحضانة قرأت النتائج وذلك بقياس مناطق تثبيط النمو Inhibition Zone حول كل حفرة بالملم.

٧. التحليل الاحصائي:

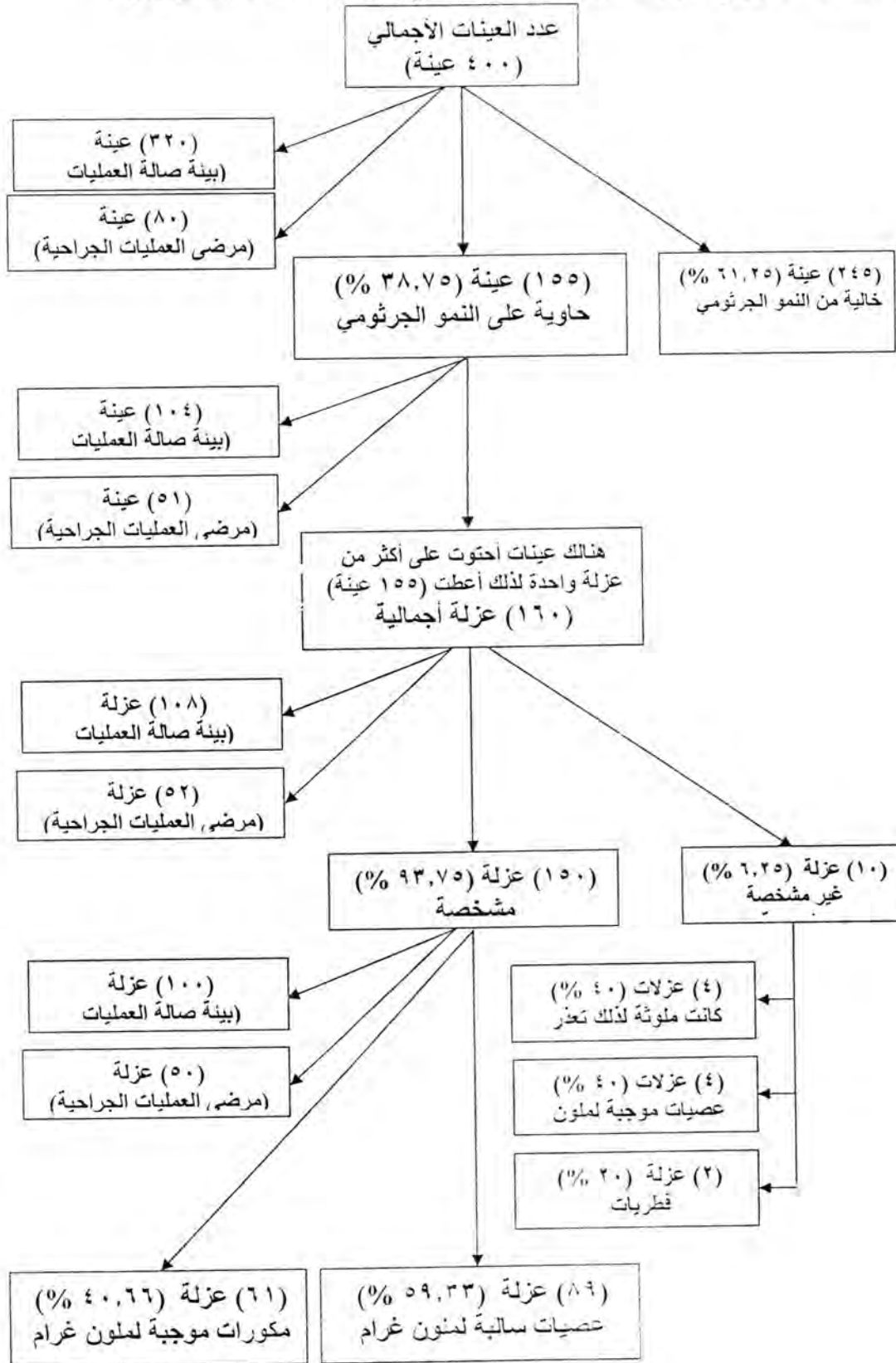
تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام طريقة الفرق المعنوي الأصغر Least Significant difference, LSD للكشف عن مصادر الفروقات المعنوية بين قيم MIC لمطهر السافلون، وتم التعبير عن نتائج الدراسة على شكل المعدل الحسابي ± الخطأ المعياري^(٢٣).

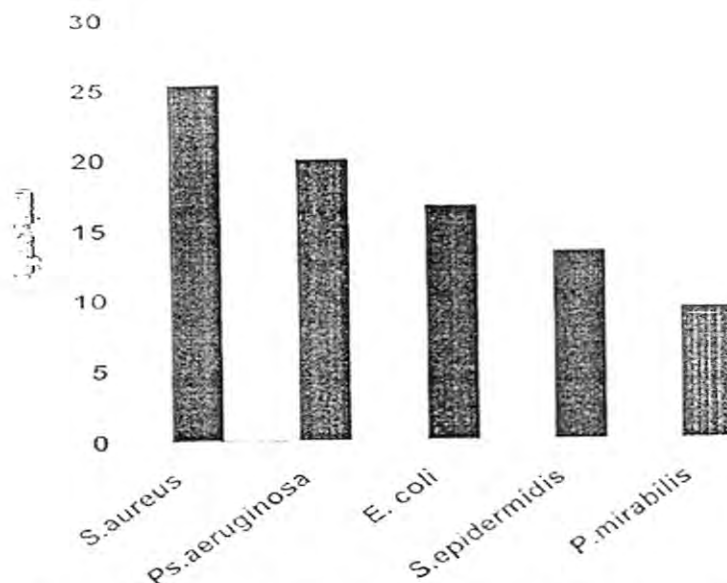
النتائج والمناقشة:

تضمنت هذه الدراسة جمع 400 عينة من اربعة مستشفيات في مدينة بغداد، و يوضح المخطط رقم (١) أن من مجموع ٤٠٠ عينة كانت 320 عينة منها أخذت من 16 موقعاً لبيئة صالة العمليات و 80 عينة تم اخذها من جروح مرضى العمليات الجراحية. بينت النتائج انه من مجموع ٤٠٠ عينة كانت ٢٤٥ عينة (٦١,٢٥ %) خالية من النمو الجرثومي بعد زراعتها على أوساط أكار الدم والماكونكي وحضنها بدرجة ٣٧°م ولمدة ٢٤ ساعة و ١٥٥ عينة (٣٨,٧٥ %) حاوية على النمو الجرثومي منها ١٠٤ عينة (٦٧,٠٩ %) لبيئة صالة العمليات و ٥١ عينة (٣٢,٩٠ %) لمرضى العمليات الجراحية . وبعض العينات قد أحتوت على أكثر من عزلة واحدة، لذلك أعطت 155 عينة (١٦٠ عزلة أجمالية) منها ١٠ عزلات (٦,٢٥ %) غير مشخصة شملت عزلتين (٢٠ %) فطريات، ٤ عزلات (٤٠ %) عصيات موجبة لملون غرام و ٤ عزلات (٤٠ %) ظهرت بشكل نمو مزدوج لذلك تعذر تشخيصها، ١٥٠ عزلة (٩٣,٧٥ %) مشخصة بالاختبارات المورفولوجية والكيموحياتية تمثلت لـ ٨٩ عزلة (٥٩,٣٣ %) عصيات سالبة لملون غرام و ٦١ عزلة (٤٠,٦٦ %) مكورات موجبة لملون غرام. استعمل نظام ابي API 20 E system 20 للعائلة المعوية في تشخيص عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*, *P. mirabilis* و *E. coli* ونظام API staph لتشخيص عزلات بكتريا المكورات العنقودية *S. aureus* و *S. epidermidis*. ويوضح الشكل رقم (١) النسبة المئوية للجراثيم الأكثر أنتشاراً وهي ٣٨ عزلة (٢٥,٣٣ %) للنوع *S. aureus* تليها ٣٠ عزلة (٢٠ %) للنوع *Ps. aeruginosa* تأتي بعدها ٢٥ عزلة (١٦,٦٦ %) للنوع *E. coli* . تليها ٢٠ عزلة (١٣,٣٣ %) للنوع *S. epidermidis* وتأتي بعدها ١٤ عزلة (٩,٣٣ %) للنوع *P. mirabilis*.

تم اختيار 25 عزلة بكتيرية 5 عزلات لكل نوع بكتيري تمثلت بالعزلات الأكثر مقاومة لأنتي عشر مضاداً حياتياً جرى استخدامها في هذا الاختبار واختبارات لاحقة في هذه الدراسة. وحددت التراكيز المثبطة الدنيا للمطهرات الستة المستخدمة في الدراسة وهي: المينوديس، سيكوسيد-ن، القاصر، السافلون، الهبتين والسكنسيبت، كونها شائعة الاستعمال في هذه المستشفيات وذلك لبيان مدى تأثيرها على العزلات.

مخطط ١- توزيع العزلات الجرثومية على مرضى وبيئة صالة العمليات الجراحية.





شكل رقم (١): النسبة المئوية لأنواع البكتيريا المعزولة من مرضى وبينه صالة العمليات الجراحية.

استخدم في هذه الاختبار طريقة الصفيحة العيارية الدقيقة وطريقة التخفيف بالأكار. ويبين الجدول رقم (٢) ان المطهر الكيميائي الكلوروكسدين (الهيبتين) كان بتركيزه الواطنة الأكثر فعالية، فقد تراوحت قيم التراكيز المثبطة الدنيا MIC_s : ٢٤-٢٥٦, 32-128 و 16-32 مايكروغرام/مليتر لعزلات البكتيريا *Ps. aeruginosa*, *P. mirabilis* و *E. coli* على التوالي وهذا يتفق مع ما وجدته بعض الباحثين العراقيين^(٢٤-٢٥). في حين لم تتفق هذه النتائج مع ما وجدته الباحثين خارج العراق حيث ذكر رقم أوطأ من هذا بكثير وهو بين ١-٦٠ مايكروغرام/مليتر^(٢٦). وربما يعود هذا التباين في المقاومة الى طبيعة تعرض العزلات للمطهرات في المكان الذي عزلت منه، اذ أن تعرض البكتيريا المتكرر للمطهرات الكيميائية يؤدي الى زيادة مقاومتها^(٢٢). وذكر الباحث Stickler معدل لتثبيط العصيات السالبة لملون غرام بالكلوروكسدين يتراوح ما بين 10-50 مايكروغرام/مليتر، الا انه امكن الحصول على عزلات لـ *P. mirabilis*، بلغت قيم التراكيز المثبطة الدنيا لها ما بين 125-500 مايكروغرام/مليتر⁽²⁶⁻²⁷⁾. فسر ظهور عزلات منتخبة من *P. mirabilis* مقاومة للكلوروكسدين بتركيز 5 % يعود الى الاستخدام الشائع لهذا المطهر في غسل الايدي^(٢٩). وتعود الفعالية القاتلة للكلوروكسدين لتسببه تحلل الـ Protoplast و الـ Spheroplast والتراكيز العالية منه تسبب ترسب البروتينات والأحماض النووية في الخلية البكتيرية. عموماً فإن نتائج هذه الدراسة قد أكدت الملاحظات العامة التالية:

١. تراوحت قيم التراكيز المثبطة الدنيا MIC_s للعزلات البكتيرية قيد الدراسة لمطهر الكلورهكسدين (الهبتين): 2-256، والسكنسيبت: 4-512 والسافلون: 4-1024 والقاصر: 64-2000، والمينوديس: 256-2500، وللسيكوسيد-ن: 256-4000 مايكروغرام/ مليلتر وكما مبين في الجدول رقم (٢).

٢. حددت التراكيز القاتلة الدنيا MBC_s Minimal Bactericidal Concentrations، للمطهرات الستة للعزلات البكتيرية وكما مبين في الجدول رقم (٣).

جدول رقم (٢): قيم MIC_s لستة من المطهرات على عزلات البكتيريا المنتخبة.

Isolates	Minimal Inhibitory Concentration, MICs (mg /ml)					
	Savlon	Hibitan e	Bleac h	Sekucid-N	Skinsep t	Minude s
<i>J</i>	256	128	512	1024	64	2000
<i>P. mirabilis-2</i>	64	64	1500	2000	64	2500
<i>P. mirabilis-8</i>	64	64	512	1024	256	1024
<i>P. mirabilis-12</i>	64	32	1024	3000	256	1024
<i>P. mirabilis-14</i>	128	128	2000	1500	128	2000
<i>P. aeruginosa-1*</i>	1024	64	2000	3000	128	2500
<i>P. aeruginosa-13</i>	512	256	2000	4000	128	1024
<i>P.aeruginosa-12</i>	128	128	1024	1024	256	1500
<i>P.aeruginosa-26</i>	256	256	1500	1024	512	1024
<i>P. aeruginosa-29*</i>	1024	256	1024	2500	256	2000
<i>E.coli-1</i>	64	32	512	512	16	1500
<i>E.coli-5*</i>	64	32	512	2000	32	512
<i>E.coli-8</i>	32	16	1024	1024	64	1024
<i>E. coli-13</i>	64	16	256	150	32	512
<i>E. coli-25</i>	32	32	256	512	16	1024
<i>S. aureus-2</i>	4	4	128	1500	4	256
<i>S. aureus-8*</i>	8	4	64	1024	8	1024
<i>S. aureus-19</i>	16	2	128	256	4	512
<i>S. aureus-23</i>	8	2	64	512	4	256
<i>S. aureus-24*</i>	16	4	256	256	8	512
<i>S. epidermidis-1</i>	4	2	128	256	4	512
<i>S. epidermidis-4*</i>	8	4	256	1024	8	256
<i>S. epidermidis-7</i>	8	4	64	512	4	1024
<i>S. epidermidis-15*</i>	16	8	128	1024	4	256
<i>S. epidermidis-20</i>	8	4	64	256	8	256

- العزلات ذات المقاومة العالية مصدرها بيئة صالة العمليات من مستشفيات في مدينة بغداد هي مستشفى بغداد التعليمي، مستشفى الجراحات التخصصية، ومستشفى حماية الأطفال التعليمي والتي تستعمل القاصر Bleach، الهبتين Hibitane، والسافلون Savlon.

خليل - سوزان - تحرير

٣. حدد الزمن اللازم لقتل خمسة من العزلات المنتخبة عند تعرضها للمطهرات الستة بتركيزها القاتلة الدنيا MBC_5 وكما مبين في الجدول رقم (٤).

واعتماداً على هذه النتائج، كان المطهر الكيميائي الكلورهكسدين هو الأفضل بين المطهرات الكيميائية المستعملة بتأثيره على العزلات الجرثومية المنتخبة فتأثيراته تنحصر ما بين MIC_5 للمدى 2-256 مايكروغرام/مليتر.

أما المطهرات الكيميائية الأكثر تأثيراً على عزلات الجراثيم بعد الكلورهكسدين فهي حسب التسلسل التالي تنازلياً: السكنسيت، السافلون، القاصر، المينوديس، سيكوسيد-ن، إذ قاومت التراكيز العالية منها، بصورة عامة أظهرت النتائج ان العصيات السالبة لملون غرام كانت أكثر مقاومة للمطهرات من المكورات الموجبة لملون غرام. ويعود ذلك الى امتلاكها للطبقة الخارجية المانعة لنفاذية المركبات المضادة الى السايكوبلازم مقارنة بالمكورات الموجبة الفاقدة لهذه الطبقة، او قد يعود السبب الى مكونات الغشاء الخارجي والغشاء السايكوبلازمي الداخلي^(٢٠)، كما وظهرت العصيات السالبة اختلافات في طبيعة مقاومتها، إذ جاءت البكتريا المقاومة بـ *P. aeruginosa* بالدرجة الاولى تليها كل من *P. mirabilis* و *E. coli*. ان تباين المقاومة للعصيات السالبة تجاه المطهرات، ربما يعود الى كيفية نمو الاحياء الكهربية فقد ذكر Lambert ان الخلايا ذات النمو البطيء تكون أكثر مقاومة من الخلايا ذات النمو السريع، كذلك طبيعة تعرض العزلات للمطهرات من المكان الذي عزلت منه وان تعرض البكتريا المتكرر للمطهرات الكيميائية يؤدي الى زيادة المقاومة لها^(٢١-٢٢).

يبين الجدول رقم (٣) قيم التراكيز القاتلة الدنيا MBC_5 للمطهرات الستة على عزلات البكتريا المنتخبة والتي تراوحت للهبتين ما بين 64 - 256 مايكرو غرام/مليتر لعزلات النوع *P. mirabilis*، 128-512 مايكروغرام/مليتر بالنسبة لعزلات النوع *P. aeruginosa* و 32-64 مايكروغرام /مليتر للنوع *E. coli*. اما للسكنسييت فكانت 64-256 ، 128-512 و 32-64 مايكروغرام/مليتر لعزلات بكتريا *P. aeruginosa*، *P. mirabilis* و *E. coli* على التوالي. ويوضح الجدول نفسه قيم السافلون والتي كانت 64-512 مايكروغرام/مليتر للنوع *P. mirabilis*، 1024-256 مايكروغرام/مليتر للنوع *P. aeruginosa* و 64-128 مايكروغرام/مليتر للنوع *E. coli*. اما قيم لمطهر المينوديس فقد تراوحت ما بين 1500-2500، 1500-2500 و 512-1500 مايكروغرام/مليتر لبكتريا *P. mirabilis*، *P. aeruginosa* و *E. coli* على التوالي.

جدول رقم (٣): قيم التراكيز القاتلة الدنيا (MBC_s) لستة من المطهرات على العزلات البكتيرية المنتخبة.

Isolates	Minimal Bactericidal Concentration, MBC_s (mg /ml)					
	Savlon	Hibitane	Bleach	Sekucid-N	Skinsept	Minudes
<i>P. mirabilis-1</i>	512	128	1024	1500	128	2000
<i>P. mirabilis-2</i>	128	128	2000	2000	64	2500
<i>P. mirabilis-8</i>	128	64	1024	1500	256	1500
<i>P. mirabilis-12</i>	64	64	1024	3000	256	1024
<i>P. mirabilis-14</i>	256	256	2000	2000	256	2000
<i>P.aeruginosa-1</i>	1024	128	2000	3000	256	2500
<i>P.aeruginosa-13</i>	512	256	2500	4500	256	1500
<i>P.aeruginosa-12</i>	256	256	1024	1024	512	1500
<i>P.aeruginosa-26</i>	256	256	2000	1500	512	1024
<i>P.aeruginosa-29</i>	1024	512	1500	2500	256	2500
<i>E.coli-1</i>	64	64	512	1024	32	1500
<i>E.coli-5</i>	128	64	512	2000	32	512
<i>E.coli-8</i>	64	32	1024	1024	64	1024
<i>E.coli-13</i>	128	32	512	1500	64	1024
<i>E.coli-25</i>	64	64	256	1024	32	1024
<i>S. aureus-2</i>	8	4	256	1500	8	256
<i>S. aureus-8</i>	8	4	128	1500	16	1024
<i>S. aureus-19</i>	16	4	128	512	8	512
<i>S. aureus-23</i>	16	4	128	1024	4	256
<i>S. aureus-24</i>	16	8	512	512	8	512
<i>S. epidermidis-1</i>	8	4	128	512	4	512
<i>S. epidermidis-4</i>	16	8	256	1024	8	256
<i>S. epidermidis-7</i>	8	4	128	1024	8	1024
<i>S. epidermidis-15</i>	16	8	256	1500	4	256
<i>S. epidermidis-20</i>	16	8	128	512	8	256

جدول رقم (٤): الزمن اللازم لقتل العزلات البكتيرية المنتخبة بعد تعريضها للمطهرات الستة المستخدمة في الدراسة.

Isolates	Killing time / min					
	Savlon	Hibitane	Bleach	Sekucid-N	Skinsept	Minudes
<i>P. aeruginosa-24</i>	25	10	30	45	15	35
<i>P. mirabilis-1</i>	20	10	30	40	10	35
<i>E. coli-13</i>	20	5	25	35	5	30
<i>S. aureus-24</i>	10	5	20	30	5	25
<i>S. epidermidis-20</i>	10	5	20	30	5	25

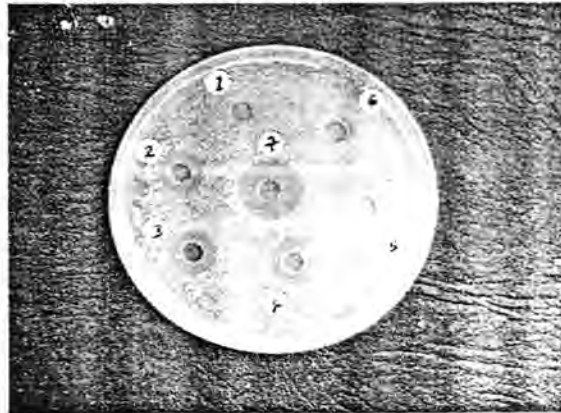
وتراوحت قيم التراكيز القاتلة الدنيا للقاصر ما بين 1024-2000 مايكروغرام/مليتر للنوع *P. mirabilis*، 1024-2500 مايكرو غرام/مليتر للنوع *P. aeruginosa* و 1024-256 مايكروغرام/مليتر للنوع *E. coil*، بينما تراوحت قيم مطهر السيكونسيد-ن ما بين 1500-3000، 1024-4500 و 1024-2000 مايكروغرام/مليتر للنوع *P. mirabilis*، *aeruginosa* و *E. coil* على التوالي.

اما بالنسبة للمكورات الموجبة فقد تراوحت قيم التراكيز القاتلة الدنيا لمطهر الهبتين عزلات النوع *S. aureus* و *S. epidermidis* ما بين 4-8 مايكروغرام/مليتر، في حين تراوحت للسكنسيات ما بين 4-16 و 4-8 مايكروغرام/مليتر للنوع *S. aureus* و *S. epidermidis* على التوالي، اما للسافلون فقد تراوحت ما بين 8-16 مايكروغرام/مليتر لكل من عزلات النوع *S. aureus* و *S. epidermidis*، اما بالنسبة للقاصر فقد تراوحت ما بين 128-512 مايكروغرام/مليتر و 128-256 مايكروغرام /مليتر على التوالي، بينما تراوحت لمطهر المينوديس ما بين 512-1024 مايكروغرام/مليتر للنوع *S. aureus* و 1024-256 مايكروغرام /مليتر للنوع *S. epidermidis* وتراوحت قيم التراكيز القاتلة الدنيا لمطهر السيكونسيد-ن ما بين 512-1500 مايكروغرام/مليتر لكل من عزلات النوع *S. aureus* و *S. epidermidis*.

ولتقدير زمن القتل Killing time للمطهرات الكيميائية المختارة فقد تم اختيار عزلة واحدة فقط لكل من الانواع البكتيرية الآتية: *P. aeruginosa*، *E. coil*، *P. mirabilis*، *S. aureus* و *S. epidermidis*، وتم تحديد زمن التعرض اللازم لقتل هذه العزلات اعتماداً على قيم التراكيز القاتلة للمطهرات الستة التي تم تحديدها في الجدول رقم (٣). يبين الجدول رقم (٤) قيم زمن القتل Killing time (التعرض) للمطهرات الستة التي شملتها الدراسة. ويلاحظ من خلال الجدول ان عزلات العصيات السالبة لملون غرام قد اظهرت تبايناً واضحاً في قيم زمن القتل للمطهرات الستة السالفة الذكر. اذ تراوحت قيم زمن القتل لمطهر الهبتين ما بين 5-10 دقيقة، اما لمطهر السكنسيات فقد تراوحت ما بين 5-15 دقيقة، وكان زمن القتل لمطهر السافلون قد تراوح ما بين 20-25 دقيقة، اما مطهر هايوكلورايت الصوديوم فقد تراوح ما بين 25-30 دقيقة في حين تراوح زمن القتل لمطهر المينوديس ما بين 30-35 دقيقة. وكان زمن القتل لمطهر السيكونسيد-ن يتراوح بحدود 35-45 دقيقة، ويلاحظ من خلال الجدول رقم (٤) ان العزلتين *S. aureus* و *S. epidermidis* قد اظهرت نفس الاستجابة عند تعرضها للمطهرات. ان زمن القتل لمطهر الهبتين، السكنسيات، السافلون، انقاصر، المينوديس، والسيكونسيد-ن هو 5، 5، 10، 20، 25، 30 دقيقة على

التوالي. يلاحظ من خلال هذه النتائج ان المطهر الكيميائي الكلورهكسدين (الهيبتين) هو الاسرع في قتل العزلات البكتيرية التي شملتها الدراسة، يليه السكسبيبت، السافلون، القاصر ثم المينوديس فالسيكوسيد-ن.

لقد جرت دراسة تأثير التراكيز المختلفة من مطهر السيكوسيد-ن على البكتريا بطريقة الانتشار بالأكار حيث أبدى هذا المطهر أقل تأثيراً على عزلات الجراثيم المنتخبة ولذلك وقع عليه الاختيار لملاحظة تأثير العزلات بالتراكيز المختلفة منه. اظهرت النتائج ان العزلات البكتيرية المنتخبة *E. coli*-5، *P. mirabilis*-12، و *Ps. Aeruginosa*-13 قاومت التراكيز 4، 8، 16، 32، 64، 128 مايكرو غرام/مليلتر. كما اوضحت النتائج ان العزلة *E. coli*-5 كما مبين في الصورة رقم (١). قد بدأ تأثيرها بالتركيز 256 مايكروغرام/مليلتر ثم اخذ تأثيرها يتزايد تدريجياً بالتراكيز المتزايدة من المطهر. اما العزلة *P. mirabilis*-12 فقد تأثيرها بالتركيز 512 مايكروغرام/مليلتر ثم اخذ تأثيرها يتزايد تدريجياً بالتراكيز المتزايدة من مطهر السيكوسيد-ن كما مبين في الصورة رقم (٢). وكانت العزلة *Ps. Aeruginosa*-13 مقاومة لأكثر التراكيز المستعملة وقد بدأ تأثيرها بالتركيز 1024 مايكروغرام/مليلتر واستمر تأثيرها يتزايد تدريجياً بزيادة تراكيز المطهر. اما بالنسبة للعزلتين *S. aureus*-2 و *S. epidermidis*-4 فقد كانتا اكثر تأثراً بتراكيز مطهر السيكوسيد-ن، فقد بدأ تأثيرهما من تركيز 64 مايكروغرام/مليلتر واستمر يتزايد تدريجياً بزيادة التراكيز المستعملة من المطهر.

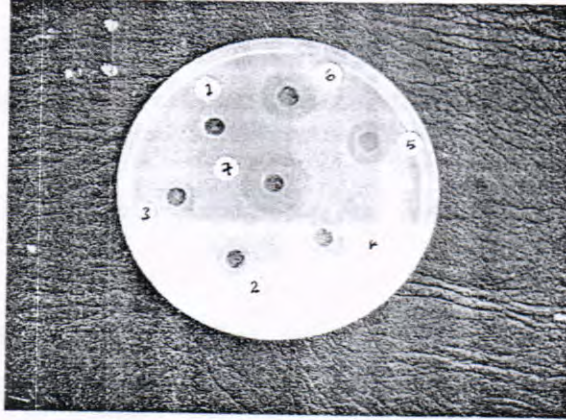


صورة رقم (1): تأثير المطهر سيكوسيد-ن على العزلة *E. Coli*-5 بطريقة الانتشار بالأكار و التراكيز موزعة على النحو الآتي: ١ (Control)، ٢ (٢٥٦)، ٣ (٥١٢)، ٤ (١٠٢٤)، ٥ (١٥٠٠)، ٦ (٢٠٠٠)، و ٧ (٢٥٠٠) مايكروغرام/مليلتر.

ومن هذه النتائج تعتبر *Ps. Aeruginosa*-13 اكثر العزلات مقاومة للسيكوسيد-ن تليها *P. mirabilis*-12 ، *E. coli*-5 ، *S. aureus* ، و *S. epidermidis*-4 . أن

خليل - سوزان - تحرير

هذه النتائج تتفق مع النتائج السابقة في هذه الدراسة لتحديد قيم الـ MIC_s لمطهر السيكلوسيد-ن لهذه العزلات الخمسة، إذ تأثرت *Ps. Aeruginosa*-13 بالسيكلوسيد-ن بتركيز عالية وتليها *P. mirabilis*-12، *E. coli*-5، *S. aureus*-2 و *S. epidermidis*-4 بالقيم 4000 مايكروغرام/مليلتر، 3000 مايكروغرام/مليلتر، 2000 مايكروغرام/مليلتر و 1500 مايكروغرام/مليلتر على التوالي ويتفق هذا مع ما ذكرته المصادر^(٣٢-٣٤) بأن العصيات السالبة لملون غرام سيما بكتيريا *Ps. aeruginosa* أكثر مقاومة للمطهرات الكيميائية من المكورات الملون غرام مثل *S. aureus*.



صورة رقم (٢): تأثير المطهر سيكلوسيد-ن على العزلة *P. mirabilis*-12 بطريقة الانتشار بالأكار و التراكيز موزعة على النحو الآتي : ١ (Control)، ٢ (٥١٢)، ٣ (١٠٢٤)، ٤ (١٥٠٠)، ٥ (٢٠٠٠)، ٦ (٢٥٠٠)، و ٧ (٣٠٠٠) مايكروغرام/مليلتر. ومن خلال المناقشة السابقة لنتائج فعالية المطهرات المذكورة على هذه الأنواع من البكتيريا الشائعة في المستشفيات العراقية يمكن أن نثبت الاستنتاجات التالية:

١. أظهرت جميع أنواع البكتيريا المعزولة سيما *Ps. aeruginosa* مقاومة للتراكيز المختلفة من المطهر سيكلوسيد-ن.

٢. كان المطهر الكلوروكسيدين (الهيتين) هو الأسرع في زمن القتل لعزلات البكتيريا يليه السكنسيبت، السافلون، القاصر، المينوديس، وأخيراً يأتي المطهر سيكلوسيد-ن.
٣. كانت العصيات السالبة لملون غرام أكثر مقاومة للمطهرات مقارنة بالمكورات العنقودية الموجبة لملون غرام، كما اختلفت نسبة المقاومة حسب طبيعة العزلات، مكان العزل وأكثر المطهرات فعالية كان الكلوروكسيدين من حيث تأثيره بالتراكيز الواطنة.

وبناء على نتائج هذا البحث يمكن تقديم التوصيات التالية المتعلقة باستخدام المطهرات الكيميائية في المستشفيات وغيرها من المؤسسات الصحية:

١. استخدام المطهرات الكيميائية لتطهير صالات العمليات مع الانتباه الى استخدام الطريقة الصحيحة لتحضيرها للحصول على التركيز الفعال.
٢. اجراء دراسة مسحية مايكروبية لتحديد المصدر الرئيسي والمهم في تلوث جروح العمليات وتحديد نسبة حاملي الجراثيم المختلفة منه الكوادر الطبية والمرضى في المستشفيات وأيجاد طرائق وقائية للسيطرة على انتشارها.
٣. ضرورة اتباع طرائق التعقيم الصحيحة لتعقيم جروح مرضى العمليات.
٤. ضرورة أخضاع الكادر الطبي العامل في المستشفى للفحوصات الدورية سيما بما يتعلق بحاملي الجراثيم من نوع *S. aureus*.
٥. ضرورة تنبيه الجراحين للاعتناء بالعمليات الجراحية من حيث التعقيم والأجراءات الجراحية الأخرى.
٦. اجراء فحص الحساسية للمضادات الحياتية للجراثيم المعزولة قبل اعطاء العلاج للمريض.
٧. اجراء دراسة علمية جزيئية ووراثية لمعرفة العلاقة بين مقاومة البكتيريا للمضادات الحياتية ومقاومتها للمطهرات الكيميائية.

المصادر

1. Koseoglu, O., Kocagoz, S. Gur, D., and Akova, M. (2001). "Nosocomial blood stream infection in a Turkish University Hospital: Study of Gram-negative bacilli and their sensitivity patterns.", *Inter. J. of Antimicrobial Agents.*, 17: 477-481.
2. Deep, A.; Ghildiyal, R.; Kandian, S. and Shinker, N. (2004). "Clinical and Microbiological Profile of Nosocomial Infections in the Pediatric Intensive unit (PICU).", *Indian Pediatrics*, 41: 1238.
3. Porbes, B. A.; Saham, D. F. and Weissfeld, A.S. (2002). "Baily and Scott's Diagnostic Microbiology.", 10th ed., Mosby Company. Missouri.
4. Dorchis, F. (2005). "Nosocomial infection and air filtration in operating Suites-Application of French Standard NFS 90-351: 2003."
5. Baron, E. J., and Finegold, S. M. (1990). "Baily and Scotts diagnostic microbiology.", 8th ed., Mosby company. Missouri.
6. Gransden, W. R. (1997). "Nosocomial gram negative infection In Antibiotic resistance (Amyes, S. G., and Gemmell, C. G).", *J. Med. Microbiol.*, 46: 436- 438.
7. Lambert, P. A. and Hammond, S. M. (1977). "Resistance to non antibiotic antimicrobial agents. In: pharmaceutical microbiology (Hugo, W.B. and Russell, A.D., eds).", 4th ed., Black Well

- Scientific Publications, Oxford, London, Edinburgh, and Melbourne, 208-216.
8. Wilson, G. (1983). "Bacterial resistance disinfections and Sterilization. P: 70-96. In: Topley and Wilson's principles of Bacteriology, Virology and Immunity.", Vol. 1, 7th ed., Edward Arnold.
 9. Percival, A. (1997). "Increasing resistance to antibiotics a public health crisis?", *Hosp. Pharm.*, 4:193-196.
 10. Thommas, M. E., Piper, E., and Maurer, I. M. (1972). "Contamination of an Operating theatre by gram-negative bacteria. Examination of water supplies, cleaning methods and wound infections.", *J. Hyg. Camb.*, 70: 63-73.
 11. Ayliffe, G. A., Collins, B. J. and Tylor, L. J. (1982). "Hospital-acquired infection: Principles and Preventions.", Bristol, London, Boston.
 12. Kloos, W. E, and Wolfshohol, J. F. (1982). "Identification of Staphylococcus species with API STAPH-IDENT system.", *J. clin. Microbiol.*, 16: 509-516.
 13. Cruickshank, R.; Duguid, J. P.; Marmion, B. P. and Swain, R. H. (1975). "Medical Microbiology.", Vol. 2, 12th ed., Churchill Livingstone, and Edinburgh.
 14. Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., and Turch, M. (1966). "Antibiotic susceptibility testing by standardized disc method.", *Aln. Clin. Patho.*, 45: 493-496.
 15. Prescott, L. M., Harleg, J. P., and Klein, D. A. (1990). "Microbiology.", W. M. C. Brown Publishers.
 16. Atlas, R. M. (1995). "Principles of Microbiology by Mosby.", 1st ed. Inc. Missouri, Yearbook.
 17. Collee, J. C., Marmion, B. P., Fraser, A., Gandsimmonas, A. (1996). "Practical medical Microbiology.", 14th ed., Longman. Singapore publishers (pet) ltd., Singapore.
 18. NCCLS. (2000). "Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard M7-A5.", 5th ed., *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, Pennsylvania.
 19. Levinson, W. and Jawetz, E. (1998). "Medical Microbiology and Immunology. Examination and board Review.", 5th ed., Lange Medical Books / McGraw-Hill, New York.
 20. Mitchell, B. A.; Brown, M. H. and Skurray, R. A. (1998). "QAC Multidrug efflux pump from Staphylococcus aureus: comparative analysis of resistance to diamidines, Biguanidines, and Guanyl hydrazones Antimicrob Agents.", *Chemother.*, 42 (2): 475- 477.
 21. Schaippa, D. A., Hayden, M. K., Matushek, M. G, Hashmie, F. N., Sullivan, J., Smith, K. Y., Miyashiro, D., Quinn, J. P.,

- Weinstein, R. A., and Trenholme, G. M. (1996). "Ceftazidime resistant *Klebsiella pneumoniae* and *E. coli* blood stream infection: a case control and molecular epidemiologic investigation.", *J. infect. Dis.*, 137: 259-536.
22. Narenanath, N. V., Hynes, S. H., Thomas, K. C., and Inland, W. M. (1997). "Effect of lactobacilli and Yeast catalyzed ethanol fermentation.", *J. Appl. Environ. Microbiol.*, 63 (11): 4158- 4163.
23. Zar, J. H. (1984). "Biostatistical Analysis.", 2nd ed., Prentice Hall inc., Englewood Cliffs, N.J.
٢٤. الدواف/ هند محسن. (1993). "تأثير المطهرات الكيميائية على الجراثيم الملوثة في صالات العمليات الجراحية"، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.
٢٥. حنا، صفا توما، (1999)، "دراسة على الجراثيم الهوائية الملوثة لرددهات احدى المستشفيات ومقاومتها للمضادات الحيوية والمطهرات"، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.
26. McDonnell, G., and Russell, A. D., (1999). "Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action and Resistance.", *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (1): 147-149.
27. Stickler, D.J., Thomas, J.B.; Clyton, J.C., and Chawla, J. A., (1983). "Studies on the genetic basis of chlorhexidine resistance.", *British J. Clin. Pract. Symp., Suppl.*, 25:23-28.
28. Stickler, D. J., (1997). "Chlorhexidine resistance in *Proteus mirabilis*.", *J. Clin. Path.*, 29: 815-823.
29. Dance, D. A. B., Parson, A. D; Seal, D. V., and Lowes, J. A., (1987). "A Hospital outbreak caused by a Chlorhexidine and antibiotic- resistant *Proteus mirabilis*.", *J. Hosp. Infect.*, 70:10-16.
30. Gillbert, P. and Brown, M. R. W. (1995). "Some perspectives on preservation and disinfections in the present day.", *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 36:219-226.
31. Lambert, P.A., and Hammond, S. M. (1977). "Resistance to non antibiotic antimicrobial agents. In: pharmaceutical microbiology (Hugo, W.B. and Russell, A.D., eds).", 4th ed., Black Well Scientific publications, Oxford, London, Edinbrugh, and Melbourne, 208- 216.
32. Russell, A. D., and Furr, J. R. (1986). "Susceptibility of porine and lip polysaccharide deficient strains of *Escherichia coli* to some antiseptics and disinfectants.", *J. Hospi. Infect.*, 8: 47- 65.
33. Maurer, I. M. (1985). "Hospital hygiene.", 3rd ed., Edward Arnold, London.
34. McDonnell, G., and Russell, A. D. (1999). "Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action and Resistance.", *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (1): 147-149.

تأثير المقومات الغذائية (Prebiotics) على النمو والفعالية التثبيطية لبكتريا حامض اللاكتيك تجاه بعض البكتريا المسببة للإسهال

جيهان عبد الستار سلمان قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية
تاريخ تقديم البحث: ٢٠٠٦/٨/٢٧ تاريخ قبول البحث: ٢٠٠٧/٣/٦

ABSTRACT

The effect of Prebiotics (Honey, Inulin and Raffinose) on the growth and inhibition activity of three local lactic acid bacteria isolates (*Lactobacillus gasseri*, *Lb. acidophilus* and *Lb. plantarum*) were tested against some diarrheal causing bacteria (*Escherichia coli* O157:H7, *Enteropathogenic E. coli*, *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri*).

The results of this study showed that Prebiotics (Honey and Raffinose) enhanced the growth of three lactic acid bacterial isolates. While the Inulin enhanced the growth of *Lb. plantarum*.

Prebiotics increase the inhibition activity of lactic acid bacterial isolates in some case according to Prebiotics type and diarrheal causative bacteria. The results showed that the honey increase the inhibition activity of *Lb. gasseri* and *Lb. acidophilus*. Were as in the case of inulin ,inhibition activity of *Lb. plantarum* increased against diarrheal bacteria.

الخلاصة

درس تأثير بعض المقومات الغذائية (Prebiotics) والتي شملت: العسل والأنيولين والرافينوز على النمو والفعالية التثبيطية لثلاث عزلات محلية تعود لبكتريا حامض اللاكتيك (*Lactobacillus gasseri*, *Lb. acidophilus*, *Lb. plantarum*) تجاه بعض البكتريا المسببة للإسهال (*Enteropathogenic E. coli* O157:H7، *Salmonella typhimurium*، *Shigella flexneri*).

بينت النتائج التي تم الحصول عليها ان هناك تأثيرا واضحا للمقومات الغذائية على نمو انواع عزلات بكتريا حامض اللاكتيك المحلية مقارنة بمعاملة السيطرة ولا سيما عند استخدام العسل والرافينوز ، فيما أدى إضافة الأنيولين الى دعم نمو العزلة *Lb. plantarum* وكان تأثيره على نمو العزلتين *Lb. gasseri*، *Lb. acidophilus* مشابها لما هو عليه عند تنميتها في وسط السيطرة ، وكان هناك تأثيرا للمقومات الغذائية في زيادة الفعالية التثبيطية لعزلات بكتريا حامض اللاكتيك في بعض الحالات تبعا لنوع المقوم الغذائي من جهة ونوع بكتريا الإسهال من جهة اخرى . وكان تأثير العسل واضحا في زيادة الفعالية التثبيطية للعزلتين *Lb. gasseri* و *Lb. plantarum* فيما كان تأثير

الأنبولين أكثر وضوحاً في زيادة الفعالية التثبيطية للعزلة *Lb. plantarum* تجاه البكتريا المسببة للأسهال.

المقدمة

عرفت المقومات الغذائية (Prebiotics) بأنها مواد غير قابلة للهضم تؤثر بصورة إيجابية على المضيف من خلال تحفيزها نمو وفعالية واحد أو أكثر من الأجناس البكتيرية في القولون أو بكتريا المعزلات الحيوية (Probiotics) والتي تمتلك تأثيرات مفيدة على صحة المضيف (1) و (2). وتشمل المقومات الغذائية الكربوهيدرات غير القابلة للهضم والتي تضم السكريات الكحولية (Sorbitol, Xylitol, Manitol) و (Oligosaccharide) (Raffinose, Fructooligosaccharide, Galactooligosaccharide) وفول الصويا) و Polysaccharide (الأنبولين والنشأ القاسي) (3). ويعد الأنبولين ومتعدد سكر الفركتوز من أكثر الكربوهيدرات شيوعاً واستخداماً كمقومات غذائية (4). لقد أشار (5) و (6) إلى أن الكربوهيدرات المستخدمة كمقومات غذائية تتواجد بصورة طبيعية في العديد من الفواكه والخضراوات، إذ يتواجد الأنبولين ومتعدد سكر الفركتوز في النباتات الشوكية والبصل والثوم والكرث، فيما يتواجد الرافينوز بشكل رئيسي في البقوليات (اللوبيا والفاصوليا والبرسيم).

فيما عرفت المعزلات الحيوية (Probiotics) بأنها مستحضرات الخلايا البكتيرية الحية أو مكوناتها التي تمتلك تأثيرات مفيدة على صحة المضيف (7). وتأتي بكتيريا حامض اللاكتيك في مقدمة المعزلات الحيوية وأكثرها شيوعاً في المجالات الغذائية والصيدلانية، ويعود ذلك إلى استخدامها الآمن ومنذ زمن طويل في مجال التغذية فضلاً عن تواجدها كنبية طبيعية (Normal flora) في الطبقة الطلانية للأمعاء وبعض أجزاء القناة الهضمية للإنسان (8).

تتميز بكتيريا حامض اللاكتيك وموادها المثبطة الفعالة بالعديد من التأثيرات المفيدة في القناة الهضمية للإنسان، إذ تلعب دوراً مهماً في علاج الاضطرابات المعوية المختلفة من خلال قدرتها على منع نمو والتصاق الأحياء المجهرية المرضية بالأغشية المخاطية للأمعاء، فضلاً عن إنتاجها العديد من الأنزيمات التي تبدي تأثيرات علاجية ووقائية لأعراض سوء الهضم ولا سيما سوء هضم اللاكتوز والحساسية للأغذية وعلاج حالات الاسهال البكتيري والفايروسى إضافة إلى دورها في تحفيز الاستجابة المناعية للجسم وتأثيرها المضاد للأورام (Antitumor effect) (9 و 10).

تعمل المقومات الغذائية على تعزيز ميكروبات القولون من خلال تحفيز البكتريا المفيدة مثل *Bifidobacterium* و *Lactobacillus* و *Eubacterium* وتثبيط البكتريا غير المرغوب فيها *Clostridium* و *Bacteroides* (4) ، كما تقوم بتحفيز فعل المعززات الحيوية في القناة الهضمية عندما تتمكن بكتريا المعززات الحيوية مثل *Bifidobacterium* من تأييض الكربوهيدرات غير القابلة للهضم و انتاج احماض دهنية قصيرة السلسلة مثل (الخليك والبروبيونيك والبيوتيريك) والتي تحفز على امتصاص الماء والمعادن وتمنع نمو الخمائر والاعفان والبكتريا المرضية فضلا عن التأثير التثبيطي المباشر للمعززات الحيوية تجاه الممرضات من خلال انتاجها المواد المثبطة والمركبات المضادة للبكتريا (11). وللمقومات الغذائية تاثيرات مفيدة على المضيف منها الحماية من الاصابات المعوية، تعزيز الاستجابة المناعية، الحماية من سرطان المستقيم وخفض كولسترول الدم فضلا عن امتلاكها الفعل المضاد للمسرطنات والفعل المضاد للميكروبات والفعل المنظم لايض السكر والدهن وتحسين امتصاص وتوازن المعادن (4) و (12). وقد وجد ان اعطاء متطوعين 15 غم /يوم من متعدد سكر الفركتوز ادى الى زيادة اعداد بكتريا *Bifidobacterium* عشر مرات في الوقت الذي انخفضت فيه اعداد بكتريا *Clostridium difficile* والبكتريا المعوية المرضية الاخرى (6) و (13).

لاحظ (14) ان استخدام المقومات الغذائية ساعد المعززات الحيوية على تجاوز الحواجز الفيزيائية والكيميائية مثل املاح الصفراء والحوامض العضوية خلال عملية الهضم، كما اشار (2) ان استخدام المقومات (الايولين ومتعدد سكر الفركتوز) له دور في اختزال حجم التقرحات التي تسبق حدوث السرطان ، فضلا عن كونها تزيد من امتصاص المعادن كالكالسيوم والمغنيسيوم في الامعاء الغليظة.

نظرا لأهمية بكتريا حامض اللاكتيك العلاجية وتأثيرها التثبيطي تجاه العديد من الممرضات وسعيا لتحفيز وتشجيع نمو العزلات المحلية من هذه البكتريا وزيادة فعاليتها التثبيطية تجاه البكتريا المرضية ليتسنى استخدامها كمعززات حيوية وبشكل افضل فقد جاءت هذه الدراسة بهدف معرفة تأثير بعض المقومات الغذائية على نمو عزلات بكتريا حامض اللاكتيك المحلية ودورها في تحسين فعاليتها التثبيطية تجاه البكتريا المسببة للاسهال لأستخدامها كمعززات حيوية لحالات الاسهال الشائعة محليا .

المواد وطرائق العمل:

• تنمية العزلات البكتيرية

أ- تنمية عزلات بكتريا حامض اللاكتيك: -

نميت ثلاث عزلات من بكتريا حامض اللاكتيك (المعزولة والمشخصة في دراسة سابقة للباحثه) شملت *Lb.plantarum* المعزولة من الألبان و *Lb.acidophilus* المعزولة من المهبل و *Lb.gasseri* المعزولة من البراز في وسط De Man Regosa Sharpe (MRS) السائل بدرجة (37)م لمدة 24 ساعة تحت ظروف لا هوائية (15) .

ب- تنمية عزلات البكتريا المسببة للاسهال :-

نميت اربع عزلات من البكتريا المسببة للاسهال (تم الحصول عليها من مختبرات الدراسات العليا / قسم علوم الحياة / كلية العلوم / الجامعة المستنصرية) شملت بكتريا: *Enteropathogenic E coli, Escherichia coli O157:H7* , *Salmonella typhimurium, Shigella flexneri* في الوسط المغذي السائل (Nutrient broth) بحرارة (37) م لمدة (24)ساعة.

• اختبار تأثير المقومات الغذائية على نمو بكتريا حامض اللاكتيك:-

أختبر تأثير ثلاثة مواد من المقومات الغذائية شملت: العسل و الانيولين والرافينوز على نمو عزلات بكتريا حامض اللاكتيك اذ اضيفت كلا على أنفراد الى وسط MRS السائل وبنسبة 1%. لقت الاوساط آنفة الذكر فضلا عن وسط MRS السائل (كمعاملة سيطرة) بعزلات بكتريا حامض اللاكتيك بنسبة لقاح 1%(10^7 خلية /مل) وحضنت بدرجة (37)م لمدة (24) ساعة تحت ظروف لاهوائية، قدر العدد الحي لبكتريا حامض اللاكتيك في معاملات المقومات الغذائية الثلاث فضلا عن معاملة السيطرة بطريقة عد الاطباق على وسط MRS الصلب.

• تقدير الفعالية التثبيطية لبكتريا حامض اللاكتيك :-

قدرت الفعالية التثبيطية لعزلات بكتريا حامض اللاكتيك المنمأة بوجود المقومات الغذائية ، قورنت مع معاملة السيطرة (المنمأة في وسط MRS السائل فقط) اذ

حضر راشح المزرعة السائلة بتنمية عزلات بكتريا حامض اللاكتيك لكل معاملة على انفراد في انابيب اختبار حاوية على وسط MRS السائل ذو أس هيدروجيني 6 وبنسبة لقاح 2% (10^7 خلية/مل) . ثم حضنت الانابيب بحرارة (37)م لمدة (24) ساعة ، وتحت ظروف لا هوائية (16)، عرضت بعدها الى الطرد المركزي (6000دورة /دقيقة) لمدة (10) دقائق للحصول على سائل الخلايا الحرة للمزروع ، ثم رشح السائل هذا من خلال مرشحات دقيقة بقطر (0.22) مايكروميتر (17).

استخدمت طريقة الانتشار في الحفر (Well diffusion) (18) للكشف عن الفعالية التثبيطية لراشح بكتريا حامض اللاكتيك ، اذ زرعت الأطباق الحاوية على وسط الآغار المغذي بنشر (0.1) مل من لقاح مزارع عزلات البكتريا المسببة للاسهال (10^5 خلية/مل) ، واستعمل ثاقب الفلين لعمل ثقوب قطرها (5) ملم على سطح الوسط ، ثم ملئت كل حفرة ب(50) مايكروليتر من راشح المزرعة السائلة لعزلات بكتريا حامض اللاكتيك ، حضنت الاطباق بدرجة (37) م لمدة (18-24) ساعة ، بعدها تم قياس مناطق التثبيط حول الحفر (17) .

النتائج والمناقشة

• تأثير المقومات الغذائية على نمو عزلات بكتريا حامض اللاكتيك :

درس تأثير بعض المقومات الغذائية على نمو وفعالية عزلات بكتريا حامض اللاكتيك المحلية ، وقد شملت تلك المقومات العسل كمثال للمواد الطبيعية التي يمكن استخدامها كمقوم غذائي والانيولين كمثال لمجموعة Polysaccharide والرافينوز لمجموعة Oligosaccharide ضمن مباحث المقومات الغذائية التجارية المصنفة (3) و(20). وقد بينت النتائج التي تم الحصول عليها من هذه الدراسة بأن تدعيم وسط MRS السائل بمواد المقومات الغذائية التي شملتها الدراسة (العسل والانيولين والرافينوز) كان له تأثيرا واضحا على نمو عزلات بكتريا حامض اللاكتيك المحلية مقارنة بمعاملة السيطرة (وسط MRS فقط) ، اذ لوحظ زيادة واضحة في نمو العزلات *Lb.gasseri* و *Lb.acidophilus* ، و *Lb.plantarum* لدى تنميتها بوجود المقومات الغذائية مقارنة مع اعداد البدء لكل منها والتي بلغت في وقت الصفر وعلى التوالي (3×10^7 و 1.1×10^7 و 3.4×10^7)

خلية/مل . إذ زادت اعداد خلايا العزلات الثلاثة اعلاه بما يعادل دورتين لوغاريتمية لدى تنميتها بوجود العسل عندما بلغت اعدادها ($10^9 \times 4.8$ و $10^9 \times 1.3$ و $10^9 \times 6$) (خلية/مل على التوالي بعد 24 ساعة من الحضانة). تباينت الزيادة في نمو العزلات تبعا لنوع العزلة لدى استخدام الاتيولين ، فقد لوحظ زيادتها دورة لوغاريتمية واحدة لدى معاملة العزلتين *Lb.gasseri*, *Lb.acidophilus* عندما بلغت اعدادهما بعد 24 ساعة من الحضانة ($10^8 \times 8$ و $10^8 \times 4.2$) خلية / مل على التوالي في حين بلغ عدد بكتريا *Lb.plantarum* ($10^9 \times 6.8$) خلية / مل بما يعادل دورتين لوغاريتمية . اما لدى استخدام الرافينوز فقد كان تأثيره واضحا ايضا في زيادة نمو العزلات الثلاثة قيد الدراسة ، إذ لوحظ زيادة في اعدادها بعد 24 ساعة من تنميتها بوجود الرافينوز ، فقد بلغت اعدادها ($10^9 \times 1.1$ و $10^9 \times 2.6$ و $10^9 \times 1.3$) خلية / مل للعزلات *Lb.gasseri*, *Lb.acidophilus* و *Lb.plantarum* على التوالي . ولدى مقارنة النتائج اعلاه مع معاملة السيطرة ظهر تأثير المقومات الغذائية على نمو العزلات أكثر وضوحا ولا سيما لدى استخدام العسل والرافينوز، فيما أدى إضافة الاتيولين الى وسط MRS السائل الى دعم نمو العزلة *Lb.plantarum* أكثر مما هو عليه للعزلتين *Lb.gasseri*, *Lb.acidophilus* بدورة لوغاريتمية واحدة ، و لوحظ زيادة اعداد العزلتين الأخيرة بشكل مشابه لما هو عليه عند تنميتها في وسط MRS فقط (السيطرة) (جدول 1) .

جدول (1) تأثير المقومات الغذائية على أعداد خلايا عزلات بكتريا حامض اللاكتيك .

نوع العزلة	المقوم الغذائي	أعداد الخلايا البكتيرية (خلية/ مل)	
		وقت الصفر	بعد 24 ساعة
Lb.gasseri	السيطرة	$10^7 \times 3$	$10^8 \times 8.3$
	العسل	$10^7 \times 3$	$10^9 \times 4.8$
	الأنثولين	$10^7 \times 3$	$10^8 \times 4.2$
	الرافينوز	$10^7 \times 3$	$10^9 \times 2.6$
Lb. acidophilus	السيطرة	$10^7 \times 1.1$	$10^8 \times 9$
	العسل	$10^7 \times 1.1$	$10^9 \times 1.3$
	الأنثولين	$10^7 \times 1.1$	$10^8 \times 8$
	الرافينوز	$10^7 \times 1.1$	$10^9 \times 1.1$
Lb. plantarum	السيطرة	$10^7 \times 3.4$	$10^8 \times 6.9$
	العسل	$10^7 \times 3.4$	$10^9 \times 6$
	الأنثولين	$10^7 \times 3.4$	$10^9 \times 6.8$
	الرافينوز	$10^7 \times 3.4$	$10^9 \times 1.3$

يتضح مما تقدم ان للمقومات الغذائية دورا في زيادة نمو بكتريا حامض اللاكتيك وهذا يتفق مع ما ذكره (19) حول زيادة اعداد بكتريا حامض اللاكتيك و *Bifidobacterium* بشكل واضح لدى معاملتها بالمقومات الغذائية مقارنة مع السيطرة ، كما اشار الباحث نفسه الى زيادة نمو بكتريا حامض اللاكتيك ولا سيما بكتريا *Lb.acidophilus* في القولون لدى استخدام المقومات الغذائية .

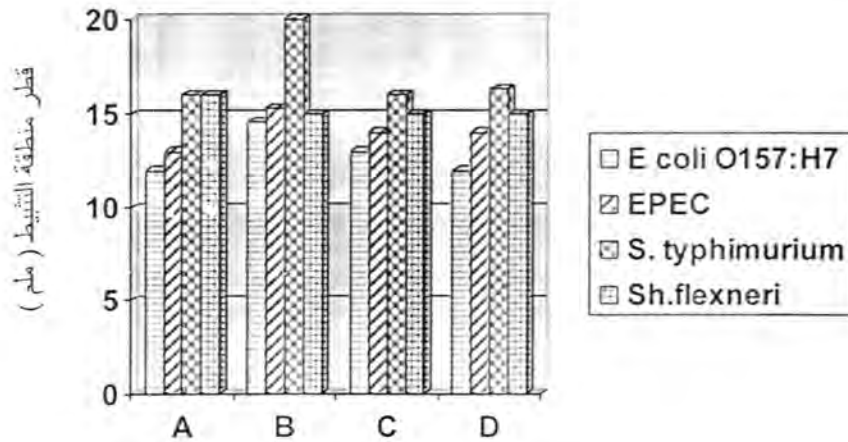
تعمل المقومات الغذائية على زيادة أعداد بكتريا المعززات الحيوية في الوقت الذي تقلل من أعداد بكتريا *Clostridium Spp* وبكتريا العائلة المعوية ، ولا تؤدي المقومات الغذائية الى زيادة أعداد بكتريا المعززات الحيوية فقط وإنما تؤثر على فعاليتها الأيضية من خلال تجهيزها بالمواد المتخمرة المختلفة (3) . يتضح من نتائج الدراسة الحالية ان تأثير العسل والرافينوز على نمو عزلات بكتريا حامض اللاكتيك كان افضل من الأنبولين للعزلتين *Lb.gasseri*, *Lb.acidophilus* (جدول ١) ، ولا سيما أن العسل الطبيعي يمتاز بأحتوانه على العديد من مواد متعددة السكريات (*Oligosaccharide*) ، وقد وجد (20) ان العسل يعمل على تحفيز نمو وفعالية وحيوية بكتريا المعززات الحيوية في الحليب ومنتجات الألبان المتخمرة ، وان للعسل تأثيرا مشابها لتأثير متعدد السكريات التجاري (الرافينوز) فيما يكون تأثيره على بعض انواع المعززات الحيوية افضل من تأثير الأنبولين عليها ، وفيما يخص تأثير الرافينوز تتفق نتائجنا مع ما ذكره (12) من ان نمو بكتريا المعززات الحيوية *B.breve* كان افضل بوجود الرافينوز من نموها بوجود انواع اخرى من السكريات .

• تأثير المقومات الغذائية على الفعالية التثبيطية لعزلات بكتريا حامض اللاكتيك

اما فيما يخص تأثير المقومات الغذائية على الفعالية التثبيطية لعزلات بكتريا حامض اللاكتيك تجاه البكتريا المسببة للإسهال، فقد بينت النتائج امتلاك العزلات الثلاث تأثيرا تثبيطيا واضحا تجاه بكتريا الاسهال *E.coli* O157:H7 و *EPEC* و *S.typhimurium* و *Sh.flexneri* سواء عند تنميتها بوجود المقومات الغذائية او بدونها ويمكن ان يعزى الفعل التثبيطي هذا الى ما تحتويه روائح تلك العزلات من مواد مثبطة ولا سيما الحوامض والبكتريوسينات ، اذ يعد حامضي اللاكتيك والخليك الحامضين الرئيسيين المنتجين من قبل بكتريا حامض اللاكتيك ، ويعود التأثير التثبيطي الى شكليهما غير المتفكك (*Undissociation*) من خلال قدرتهما على اختراق الأغشية الخلوية وأعاققة نقل المواد الغذائية لما تمتلكه الحوامض العضوية من خاصية الذوبان في الدهن لتصبح سريعة الانتشار بصورة حرة خلال الغشاء البلازمي البكتيري الى السايكوبلازم (14). كما ويمتلك البكتريوسين الفعل القاتل والقدرة على الارتباط بمستلمات الخلايا المتخصصة اذ يعد الغشاء السايكوبلازمي الهدف الرئيسي للبكتريوسين، وتسبب معاملة الخلايا به سرعة التدفق

غير المتخصص للاحماض الأمينية والأيونات موجبة الشحنة وأنفجار الغشاء الخلوي وبالتالي موت الخلايا الحساسة لها (21). ذكر (22) وجود عوامل عديدة اضافة الى خفض الأس الهيدروجيني الناتج عن الحوامض العضوية التي تنتجها بكتريا حامض اللاكتيك تساهم في تثبيط بكتريا *E coli* ، وتشمل تلك العوامل انتاج البكتريوسينات ، بيروكسيد الهيدروجين ومركبات أيضية ذات وزن جزيئي واطى مثل Diacetyl وثنائي اوكسيد الكربون فضلا عن الأتريومات.

بينت النتائج لدى مقارنة الفعالية التثبيطية للعزلات المنماة مسبقا بوجود المقومات الغذائية مع معاملة السيطرة زيادة الفعالية التثبيطية للعزلة *Lb gasseri* عند تنميتها بوجود العسل تجاه كل من بكتريا *Ecoli O157:H7* و *EPEC* و *S.typhimurium* وبفروق معنوية عند المستوى $P>0.05$ عندما أعطت مناطق تثبيط بلغت وعلى التوالي (14.6 و 15.3 و 20) ملم مقارنة مع معاملة السيطرة التي بلغت اقطار تثبيطها (12 و 13 و 16) ملم على التوالي في الوقت الذي احتفظت فيه العزلة بفعاليتها دون زيادة تجاه بكتريا *Sh . flexneri* ولم تحدث زيادة معنوية في الفعالية التثبيطية للعزلة المذكورة اعلاه تجاه بكتريا الأسهال الأربعة لدى استخدام الأتيولين والرافينوز مقارنة مع معاملة السيطرة (شكل 1) .

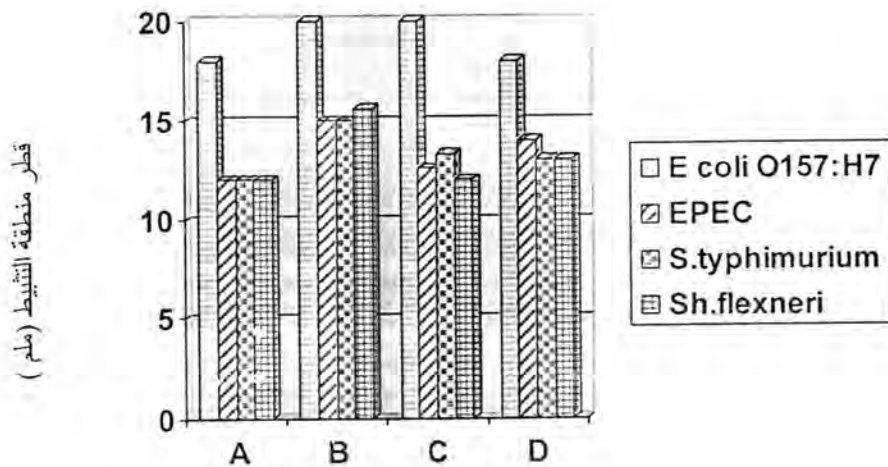


المقوم الغذائي

شكل (1) تأثير المقومات الغذائية على الفعالية التثبيطية للعزلة *Lb.gasseri* تجاه البكتريا المسببة للاسهال .

(A) السيطرة ، (B) العسل ، (C) الأتيولين ، (D) الرافينوز

تبين النتائج في الشكل (2) الزيادة في الفعالية التثبيطية للعزلة *Lb.acidophilus* وبفروق معنوية عند المستوى $P>0.05$ لدى استخدام العسل في تنميتها إذ أعطت مناطق تثبيط بلغت (20 و 15 و 15 و 15.6) ملم تجاه بكتريا *E.coli* O157:H7 و *EPEC* و *S.typhimurium* و *Sh . flexneri* على التوالي مقارنة مع معاملة السيطرة والتي أعطت أقطار تثبيط بلغت على التوالي (18 و 12 و 12 و 12) ملم .وأدى استخدام الأنولين في تنمية العزلة *Lb.acidophilus* الى حدوث زيادة في فعاليتها التثبيطية تجاه بكتريا *E.coli* O157:H7 فقط عندما بلغ قطر منطقة التثبيط 20 ملم ، واحتفظت بفعاليتها التثبيطية دون زيادة ملحوظة تجاه بقية انواع بكتريا الأسهال . ولم يكن الفرق معنويا للفعالية التثبيطية للعزلة لدى تنميتها بوجود الرافينوز تجاه بكتريا *E.coli* O157:H7 و *S.typhimurium* و *Sh . flexneri* فيما ظهرت فروق معنوية في تلك الفعالية تجاه بكتريا *EPEC* وبقطر تثبيط 14 ملم .

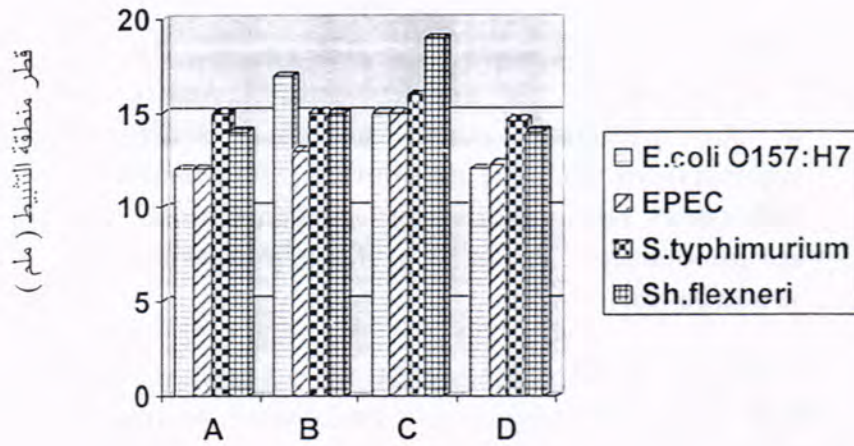


المقوم الغذائي

شكل(2) تأثير المقومات الغذائية على الفعالية التثبيطية للعزلة *Lb.acidophilus* تجاه البكتريا المسببة للأسهال.

A- السيطرة ، B -العسل ، C - الأنولين ، D-الرافينوز

اما العزلة *Lb. plantarum* فقد ظهرت زيادة في فعاليتها التثبيطية بتأثير العسل فقط تجاه بكتريا *E.coli* O157:H7 عندما بلغ قطر منطقة التثبيط 17 ملم وبفرق معنوي مقارنة مع معاملة السيطرة التي بلغ قطر التثبيط 12 ملم ولم تتغير الفعالية التثبيطية لها بفرق معنوي تجاه بقية الأنواع البكتيرية ، وظهر تأثير الأنولين واضحا عندما احدث زيادة في الفعالية التثبيطية تجاه بكتريا *E.coli* O157:H7 و *EPEC* و *Sh. flexneri* وبفروق معنوية عندما بلغت اقطار مناطق التثبيط لها (15 و 15 و 19) ملم على التوالي ، فيما لم يكن الفرق معنويا تجاه بكتريا *S.typhimurium* . كما لم تظهر فروق معنوية في الفعالية التثبيطية لهذه العزلة تجاه بكتريا الأسهال لدى تنميتها بوجود الرافينوز (شكل 3) .



المقوم الغذائي

شكل (3) تأثير المقومات الغذائية على الفعالية التثبيطية للعزلة *Lb plantarum* تجاه البكتريا المسببة للأسهال .

A- السيطرة ، B- العسل ، C - الأنولين ، D- الرافينوز

يتضح مما تقدم احتفاظ عزلات بكتريا حامض اللاكتيك قيد الدراسة بفعاليتها التثبيطية تجاه البكتريا المسببة للأسهال لدى استخدام المقومات الغذائية في تنميتها ، مع ملاحظة تباين في تلك المقومات على أحداث زيادة في الفعالية التثبيطية للعزلات تبعا لنوع المقوم من جهة ونوع بكتريا الأسهال من جهة أخرى وبهذا الخصوص فقد وجد (6) ان بكتريا المعزلات الحيوية المنماة بوجود إحدى المقومات الغذائية أنتجت

مواد مثبطة ذات تأثير تثبيطي تجاه البكتيريا المرضية

Salmonella, Listeria, Campylobacter, Shigella, Vibrio

ان تأثير المقومات الغذائية على بكتريا المعززات الحيوية ليس في تحفيز نموها فقط وانما تحفيزها على انتاج مركبات ذات تاثيرات مفيدة على المضيف اذ تنتج عن التخمير القولوني احماض دهنية قصيرة السلسلة (acetate 60%, propionate, butyrate 18%, 20% و حامض اللاكتيك والتي تعد من العوامل المحددة للأس الهيدروجيني للقولون، كما تعمل المقومات الغذائية على زيادة تراكيز اللاكتات والخلات الناتجة عن التخمير لبكتريا حامض اللاكتيك و Bifidobacteria (3).

المصادر

- 1- Femia , A.P.; Luceri , C.; Dolaro , P.; Biggeri , A.; Collins, K.J.; Paglierani , M. and Caderni, G. Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics Lactobacillus rhamnosus and Bifidobacterium lactis on azoxymethane – induced colon carcinogenesis in rats , Carcinogenesis , 23(11): 1953-1960,(2002).
- 2- Tuohy, K. M. ; Probrt ,H. M. ; Smejkal , C.W. and Gibson, G.R. Using Probiotics and Prebiotics to improve gut health , DDT .,8(15) :692-700 , (2003).
- 3-Suskovic ,J. ; Kos , B. ; Goreta , J. and Matosic , S. Role of lactic acid bacteria and Bifidiobacteria in Synbiotic effect , Food . Technol . Biotechnol ., 39 (3) :227—235 ,(2001).
- 4-Holzapfel, W.H. and Schillinger , U. Introduction to pre – and probiotics , Food Research Intern ., 35 : 109 – 116, (2002).
- 5- Famularo , G. ; Desimone , C. ; Matteuzzi , D. and Pirovano , F. Traditional and high potency probiotic preparations for oral bacteriotherapy , Bio Drugs ., 12(6) : 455 – 470 , (1999).
- 6-Macfarlane , G.T. and Cummings , J.H. Probiotics and Prebiotics : can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health ? , BMJ ., 318 :999 – 1003 ,(1999).

- 7-Lee,Y.K. ; Lim ; C.Y.; Teng,W.L.; Ouwehand, A..C.; Tuomola, F.m. and Salminen, S. Quantitative approach in the study of adhesion of lactic acid bacteria to intestinal cells and their competition with Enterobacteria.. Appl , Environ. Microb.,66(9): 3692 -3697,(2000).
- 8-Chukeatirote , E. Potential use of probiotics , J. Sci . Technol ., 25(2) : 275 – 282 ,(2003).
- 9-Branca , F. and Rossi , L. The role of fermented milk in complementary feeding of young children : lessons from transition countries , Eur . J. Clin . Nutr ., 56(4) :S16 – 20 ,(2002).
- 10-Wright , A. ; Vilpponen – Salmela , T. ; Liopis , M.P. ; Collins , K.; Kiely , B. and Dunne , C. The survival and colonic adhesion of Bifidobacterium infantis in patients with ulcerative colitis , Intern . Dairy . J., 12 : 197 – 200 , (2002).
- 11- Kailasapathy , A.and Chin , D. Bacteriocins of lacthe acid bacteria , Immunol . Cell. Biol ., 78(1): 80-8 , (2000) .
- 12-Dionoto,A.;Suksomcheep,A.; Ishizuka,S.;Hanada,S.; Kamagata,Y. ;Tomita,F. and Yokota,A. Modulation of Rat cecal microbiota by administration of Raffinose and encapsulated Bifidobacterium breve, Appl.. Environ. Microbiol .J. , 72(1) :784-792,(2006).
- 13- Elmer, G.W . Probiotic: " Living drugs", Am . J. Health Sys. Pharm., 58(12): 1101-1109 , (2001).
- 14- Kaur ,I.P.; Chopra , K. and Saini ,A. .Probiotics ; Potential pharmaceutical applications, Eur. J. Pharmaceutical .Sci., 15:1-9 , (2002).
- 15-Ogawa , M. ; Shimizu , K. ; Nomoto , K. ; Takahashi , M. ; Tanaka , R . ; Tanaka , T. ; Yamasaki , S. and Takeda , Y. Protective effect of Lactobacillus_casei strain shirota on shiga toxin – producing E. coli O157 : H7 infection in infant Rabbits , Infect and Immun ., 69(2) : 1101 – 1108 , (2001).
- 16-Lewus , C.B. ; Kaiser , A. and Montville , T.J. Inhibition of food – borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic

acid bacteria isolated from meat , J.Appl Environ . Microbiol ., 57:1683-1688 , (1991).

17-Martinez – Gonzalez , B. ; Eriotou , E.; Michopoulos , S.; Kolantzopoulos , G. ; Tsakalidou , E. and Mentis , A. In Vitro and In Vivo inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* strain shirota , Appl . Environ . Microbiol ., 70(1) :518 – 526, (2004).

18-Gupta, U.; Radramma; Rati, E.R. and Joseph, R. Nutritional quality of lactic acid fermented bitter gourd and fenugreek leaves, Intern. J.of Food Sci. and Nutr. , 49(2): 101-108, (1998).

19-Naidu , A.S. ; Bidlack , W.R. and Clemens , R,A.. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB) In : Critial Reviews in food science and nutrition ., 39(1) ,(1999).

20-Yanoski, J.Honey,s effect on the growth of Bifidobacteria , (2000). [http: //www.nhb.org/](http://www.nhb.org/).

21-Mishra , C. and Lambert , J. Production of anti- microbial substances by Probiotics , Asia Pacific . J.Clin. Nutr . , 5: 20 – 24 , (1996).

22- Brashears , M.M. ; Jaroni , D. and Trimble , J. Isolation, Selection , and characterization of lactic acid bacteria for a competitive exclusion product to reduce shedding of *E.coli* O157:H7 in cattle , J. Food . Protection ., 66(3) : 355 – 363 , (2003).

بحث ودراسة حدود الحجيرات في المواد المغناطيسية بوجود مجال مغناطيسي متغير

كاظم جواد كاظم علي- الجامعة المستنصرية- كلية العلوم قسم الفيزياء

تاريخ قبول البحث: ٢٠٠٧/٣/٦

تاريخ تقديم البحث: ٢٠٠٦/٩/٢٥

ABSTRACT

The first genesis of motile domain wall under affection of alterable magnetic field, is engagement with coincidence spontaneity vacillation of electron spin in moving border in its saturate sector velocity. The effect of the forced forces on a spontaneity vacillation accomplished by nonlinear system, execute well known phenomenon as compound of internal vibration, forced coincidence, randomness, etc.

We articulate that the moving domain wall in ferromagnetic material exhibit analogous nonlinear characteristic. The dynamic of domain wall in a constant magnetic field H , posses critical magnetic field H_k , which make its motion characterized by subjective formation, then it is Varies with spontaneity vacillation in the rang of Bloch domain wall. Matlab used to solve the partial differential equation and plot the relations of velocity to vouch the accuracy and identify the results.

الخلاصة

إن بداية تكون حدود الحجيرات المتحركة بتأثير مجال مغناطيسي متغير، مرتبط بتزامن التذبذب التلقائي للبرم (Spin) الالكتروني في الحدود المتحركة في سرعة قطاعها المشبع. إن تأثير القوى القسرية على التذبذب التلقائي المنجز من قبل النظام غير الخطي يؤدي كما هو معروف إلى ظواهر معينة كمزيج من التذبذب التداخلي، التزامن الاضطرابي، التكون العشوائي وغيرها.

سوف نبين أن حدود الحجيرات المتحركة في المواد الفيرومغناطيسية تظهر خواص غير خطية متشابهة. إن ديناميكية الحجيرات المغناطيسية في مجال مغناطيسي ثابت H ، تمتلك مجال مغناطيسي حرج H_k ، الذي يجعل حركتها تتصف بالتشكل الذاتي ويحصل فيها تغير في إطار حدود حجيرات بلوج بواسطة التذبذب التلقائي. وسوف نستخدم برنامج ماتلاب لحل المعادلات التفاضلية الجزئية ولرسم علاقات السرعة للتأكد من صحة ومطابقة النتائج.

المقدمة

حدود الحجيرات المغناطيسية (Magnetic Domain Wall) هي طبقة انتقالية من إحدى الحجيرات ذات شدة تمغنت متجانسة M_1 إلى حجيرة أخرى ذات شدة تمغنت متجانسة M_2 [١]. إن سمك جدار الحجيرة δ يحدد بوساطة ثابتين محددين الأول ثابت لطاقة التأثير المتبادل (Exchange Energy) المغناطيسية هذا الثابت (A) الذي يحاول الذي يحاول زيادة سمك جدار الحجيرة δ ، والثاني ثابت طاقة الأنيزوتروپيا (K) الذي يحاول تقليل سمك الحجيرة δ حيث $\sim \delta \cdot (A/K)^{1/2}$.

في المواد الفيرومغناطيسية (Ferromagnetic Materials) الاعتيادية حيث تفوق طاقة التبادل بشكل ملحوظ طاقة الأنيزوتروپيا و δ تبلغ عشرات وأحيانا مئات المرات أكبر من المسافة بين الذرات، لذلك فإن لجدران الحجيرة طاقة سطحية σ تتناسب مع سمك الجدار أي: $\sim \sigma \cdot (A/K)^{1/2}$. إن عدد الحجيرات في نموذج فيرومغناطيسي يعتمد على بناء الحجيرات (أي طريقة تكونها والمسافة بينها) في البلورة بالدرجة الأساس، وبالتالي يعتمد على عدد محاور التمعنت السهلة المكافئة.

الاساس النظري

يمكن التنبؤ بظاهرة بداية تكون حدود الحجيرات المتحركة بتأثير مجال مغناطيسي متغير، مرتبط بتزامن التذبذب التلقائي للبرم (Spin) الالكتروني في الحدود المتحركة في سرعة قطاعها المشبع. إن تأثير القوى القسرية على التذبذب التلقائي المنجز من قبل نظام غير خطي يؤدي كما هو معروف إلى ظواهر معينة؛ كمزيج التذبذب التداخلي، التزامن الاضطرابي، العشوائية وغيرها.

هنالك طرق بحثية كثيرة في مجال الحجيرات المغناطيسية والتوصيلية الكهربائية، استخدم منها طرق بحث التوصيل الفائق ذات الارتباط الضعيف لدراسة الظواهر المشار إليها وفي الآونة الأخيرة بحث في الموصلات المتجانسة التي تتواجد فيها موجات كثافة الشحنة [١-٣].

في أدناه سوف نبين أن حدود الحجيرات المتحركة في المواد الفيرومغناطيسية تظهر خواص غير خطية متشابهة ومن وجهة النظر هذه فإنها تعتبر مواد مغناطيسية مشابهة لـ [١-٣]. إن ديناميكية الحجيرات المغناطيسية في مجال مغناطيسي ثابت H ، تتصف بوجود المجال الحرج H_K ، الذي يجعل حركتها تتصف بالتشكل الذاتي حيث تتغير بالتذبذب التلقائي، في حدود حجيرات

بلوج لذلك فإن المجال المغناطيسي الحرج مرتبط بميكانيكية أوكر لتحديد السرعة وفي التواء الحدود داخل الغشاء الرقيق الفيرومغناطيسي يحصل تذبذب جدار بلوج (Bloch Wall) [٤] .
عند وجود مجالات مغناطيسية مسبقة في مستوى الغشاء أو طاقة أنزوتروبي أساسية كافية (كما في نماذج المواد المغناطيسية المعينية الشكل) فإن الالتواء ممكن أن يختفي والسرعة القصوى النهائية تزداد . في جميع الحالات فإن حركة حدود الحجيرات عند تسليط مجال أعلى من المجالات الحرجة تهبط بشدة بسبب نشوء التذبذب التلقائي للبرم الالكتروني في الحدود المتحركة [٥] .

إن التزامن الاضطرابي لترددات التذبذب التلقائي بتأثير مجال مغناطيسي متغير سوف يؤدي إلى نشوء حدود الحجيرات المتحركة التخالفية في الحجم الابتدائي ، ولهذا يمكن أن لهذه الحدود المتحركة مواصفات الحركة التذبذبية التلقائية . وهذه الظاهرة مشابهة لتأثير نشوء طور التيار التناوب على موصفات الفولتية والتيار في اتصال جوزيف النقطة ، عند تعرضه لإشعاع الموجات الدقيقة - تأثير شابيرا (Shabera Effect) [٦] .

الحسابات والمناقشة

ندرس مواصفات الحركة التذبذبية التلقائية على نموذج فيرومغناطيسي أحادي الأس معيني الشكل عامل نوعيته (Quality Factor) كبير حيث يكون فيه $K_{\perp} \gg K_{\parallel} \gg 2\pi M^2$ علماً أن K_{\perp} و K_{\parallel} هما طاقتي الأنزوتروبي أحادية الأس وطاقة الأنزوتروبي الأساسية على التوالي و M هو متجه التمثيط (Magnetization Vector) . وبالتالي فإن هذه الفرضية حول اعلومات (Parameters) الأنزوتروبي تسمح باستخدامها لوصف حركة حدود الحجيرات باستخدام معادلة لاندאו - ليفشيتس بالصيغة المستخدمة من قبل سلاجيفسكي (Slonczewski) [٧،٤] .

$$\dot{q} M / \gamma \delta_O = K_{\perp} \sin 2\psi + \psi \alpha M / \gamma , \dots\dots\dots (1)$$

$$\dot{q} = (\delta_O \gamma / \alpha) (H - \psi / \gamma) + (\delta_O \gamma / \alpha) H_{\perp} \cos \omega t \dots\dots\dots (2)$$

حيث أن q هي إحداثيات منتصف حدود الحجيرات ، و ψ هي زاوية ميلان متجه التمتع عند خروجه من مستوي الحجرة عن المحور السهل ، و γ هي النسبة الجايرومغناطيسية و α ثابت اضمحلال لاندوا - ليفشيتس ، H_- سعة إزاحة المجال المغناطيسي المتغير و ω تردد المجال .
من المعادلة ١ و ٢ نحصل على :

$$2\omega_k^{-1}\dot{\psi} + \sin 2\psi = H/H_k + (H_-/H_k) \cos \omega t \dots\dots\dots (3)$$

حيث :

$$\omega_k = \frac{2K_{\perp}\alpha\gamma}{1+\alpha^2}, \quad \text{and} \quad H_k = \frac{K_{\perp}\alpha}{M}$$

المعادلة (٣) مناظرة للمعادلة لمعادلة إيجاد تغير الطور في منطقة الاتصال النقطي للمواد فائقة الإيصال [١] . وهي مدروسة بشكل جيد ومحلولة عددياً وتحليلياً [٢] . وعند تطبيق المعادلات ١ و ٢ على حركة حدود الحجيرات قام سلاتجيفسكي بحل هذه المعادلات في الحالة التي فيها $H_- = 0$ [٧] . حيث يمكن الاستنتاج في هذه الحالة من المعادلة ٣ ما يأتي :

$$\text{When } H < H_k \quad \text{Then } \psi = \arcsin (H/H_k)$$

لذلك من ١ نجد أن السرعة هي :

$$V = \mu_o H \quad \text{Where} \quad \mu_o = \delta_o \gamma / \alpha$$

وإن μ_o هي عند بداية الحركة. إما المنطقة التي يكون فيها $H > H_k$ عند $H_- = 0$ ، فإن حل المعادلة ٣ يمتلك مواصفات تذبذبية ، ترددها للتذبذب التلقائي يعتمد على المجال المغناطيسي بالشكل التالي :

$$\omega_A = \omega_k \sqrt{H^2/H_k^2 - 1}$$

لذلك فإن السرعة تكون ذات طابع حركي انتقالي يمكن تحديدها من خلال إيجاد المتوسط للمعادلة ٢ بالنسبة لدورة التذبذب والتي تساوي :

$$V = \langle \dot{q} \rangle = \mu_o \left(H - \langle \dot{\psi} \rangle / \gamma \right) = \mu_o \left[H - \sqrt{H^2 - H_k^2} / (1 + \alpha^2) \right]$$

ولذلك عند $H > H_k$ يحدث هبوط شديد للسرعة ومن تفاضل السرعة بالنسبة للمجال المغناطيسي نحصل :

كاظم جواد

When $H > H_k$ we get ,

$$\mu = \frac{dV}{dH} = \mu_0 \times \left[1 - H / \sqrt{H^2 - H_k^2} (1 + \alpha^2) \right]$$

Since $\alpha \ll 1$.

عند وجود مجال مغناطيسي متغير له سعة ليست كبيرة $H \ll H_-$ وتردده بعيد عن التردد التلقائي ω_A فإن اعتماد السرعة V على المجال H يكون بشكل غير ملحوظ , ولكنه بالقرب من :

$$H_\omega = H_k \sqrt{1 + \omega^2 / \omega_k^2}$$

$$V_m = V_k \left[\sqrt{1 + \omega^2 / \omega_k^2} - \omega / \omega_k (1 + \alpha^2) \right]$$

Where $V_k = \mu_0 H_k$,

وهذه السرعة لحدود الحجيرات تحصل على شكل التفاف غير خطي تردد ذبذبه $\omega_A = \omega$. إن تأثير التزامن الاضطرابي سوف يؤدي إلى تغير محسوس لـ $V(H)$. فإذا أدخلنا مقدار الاختلاف بالطور وهو :

$$\theta = 2\psi - \omega t - \pi/2$$

علما أن للملاحظات التجريبية والخبرة في حل مسائل ديناميكية حدود الحجيرات الدور الأساس في اختيار هذا المقدار الذي نفترض أنه يتغير ببطء بالمقارنة مع تغير الزاوية $\psi(t)$. وبمساعدة نظرية الاضطراب (وهي نظرية حول الحركة التوافقية الاهتزازية غير الحركة التوافقية البسيطة) , وحالة الاضطراب ضعيف السعة عندما $H \ll H_-$, فمن المعادلة ٣ ممكن أن نحصل على معادلة لإيجاد $\theta(t)$, تمتلك تركيب يشبه تركيب المعادلة ٣ عندما $H_- = 0$ وهي :

$$\omega_\theta^{-1} \ddot{\theta} + \sin \theta = (H - H_\omega) / H_\theta \dots\dots\dots (4)$$

Where

$$\omega_\theta = \omega_k H_- / 2 \sqrt{H^2 - H_k^2} , \text{ and } H_\theta = H_k H_- / 2H$$

من هذه المعادلات نستنتج أن فترة المجالات $|H - H_\omega| < H_\theta$ ذات الطور θ ثابتة , لذلك فإن $\dot{\psi} = \omega / 2 = \text{const.}$ لذلك من المعادلة ٢ نجد في فترة المجالات المشار إليها أن :

$$\mu = d \langle \dot{q} \rangle / dH = \mu_0$$

هذا يعني أن الحركية تستمر وتعود لغاية المقدار الابتدائي الأول . وخارج هذه الفترة تحدث أطوار اهتزازية $\theta(t)$ بالترددات التالية :

$$\Omega = \omega_0 \sqrt{(H - H_{\omega})^2 / H_{\theta}^2 - 1}$$

وهذا بدوره يؤدي إلى هبوط الحركة، والحسابات تظهر في هذه الحالة أن:

$$V = V_{\omega} + \mu_0 (H - H_{\omega}), \text{ where } |H - H_{\omega}| \leq H_{\theta} \dots\dots\dots (5)$$

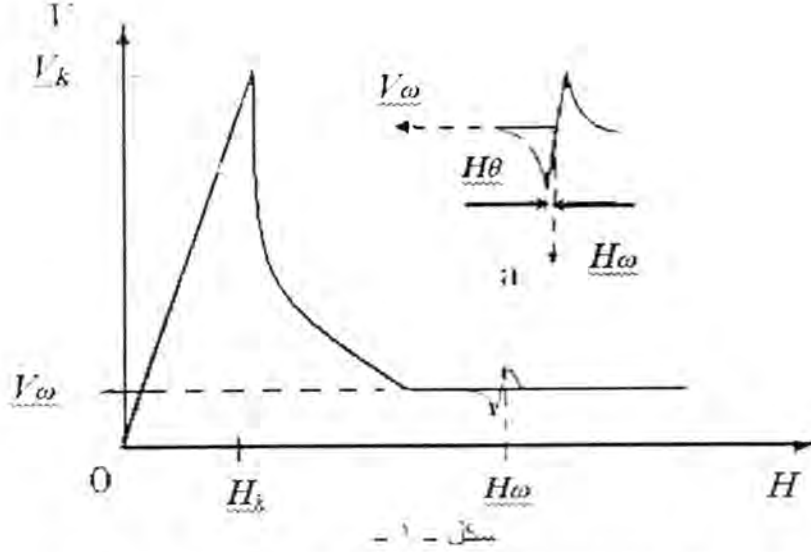
$$V = V_{\omega} + \mu_0 \left[H - H_{\omega} - \frac{H \sqrt{(H - H_{\omega})^2 - H_{\theta}^2}}{(1 + \alpha^2) \sqrt{H^2 - H_k^2}} \right] \text{ where } |H - H_{\omega}| > H_{\theta} \dots\dots\dots (6)$$

الملاحظ أنه بعيداً عن نقطة المجال التي فيها $H = H_{\omega}$ عندما $|H - H_{\omega}| \gg H_{\theta}$ أن الحركة التي تحدد من المعادلة ٦ تؤول إلى المقدار السابق أي $\mu \rightarrow \mu_A$ كما في الحالة عندما $H_{\omega} = 0$. أما بالقرب من الحالة الحرجة التي يكون فيها $|H - H_{\omega}| = H_{\theta}$ ستكون الحركة سالبة أي أن $dV/dH < 0$ عندها ممكن أن تتحول حدود الحجيرات إلى حدود منحنية غير مستقرة. بين الشكل ١- اعتماد سرعة حدود الحجيرات على المجال المغناطيسي الخارجي عندما $H_{\omega} \neq 0$. إن أكبر تغير يحصل بالسرعة $V(H)$ حول مدى المجال $H = H_{\omega}$ حيث تكون $V = V_{\omega}$. ويظهر في الشكل أيضاً مقطع يوضح زيادة اعتماد V على H في محيط هذه النقطة $H = H_{\omega}$. ويحدث تغير مشابه بالقرب من النقطة التي فيها:

$$H_{\omega}^{(m)} = H_k \sqrt{1 + \left(\frac{m \omega}{\omega_k} \right)^2}, \text{ and } V_{\omega}^{(m)} = V_k \left[\sqrt{1 + \left(\frac{m \omega}{\omega_k} \right)^2} - \frac{m \omega}{\omega_k (1 + \alpha^2)} \right]$$

حيث $m = 2, 3, 4, \dots$. في هذه الحالة فإن شذوذ السعة يهبط بسرعة مع زيادة قيمة m ، وفي منطقة الترددات العالية حيث $\omega \gg \omega_k$ فإن فترة تزامن التذبذب لـ $H_{\theta}^{(m)}$ يمكن وصفها بوساطة دالة بزل حيث:

$$H_{\theta}^{(m)} = H_k J_m \left(H_{\omega} / H_k \right)$$



اعتماد السرعة الانتقالية لحركة حدود الحجيرات على المجال الثابت $V(H)$ في حالة وجود مركبات إزاحة المجال المتغيرة $H / 0$. أما a - فتشير إلى المقطع المعكبر الذي تزداد فيه السرعة مع المجال في محيط النقطة $H = H_0$ & $V = V_0$.

نذكر لغرض التجربة بعض القيم العددية المؤثرة ، أي بعض قيم البارامترات مأخوذة من القياسات العالمية لمثل هذه التجارب .

- قيم البارامترات المغناطيسية للأتربة النادرة والفرايت الحبيبي .
 $K_L / M = 100 \text{ Gauss} , \gamma = 2 \times 10^7 / \text{sec. orsted} \quad \alpha = 0$
- عند القيم للثوابت أعلاه واستخدام $H = 20 \text{ orsted}$, فيكون تردد ج التذبذب التلقائي $\omega_A / 2\pi = 100 \text{ MHz}$
- إن مجال فترة التزامن الاضطرابي H_0 تشكل ٢٥ % من سعة المجال المتغير وبالتالي :
- فإنه عندما يكون $H_- = 5 \text{ orsted}$, فإن $H_0 = 1$ وهذا يعتبر مقدار محسوس .

الاستنتاجات

- ١- المنطقة التي يكون فيها $H > H_k$ فإن حل المعادلة ٣ عند $H_- = 0$ يمتلك مواصفات تذبذبية , تردد تذبذبها التلقائي يعتمد على المجال المغناطيسي الخارجي.
- ٢- إن سرعة حدود الحجيرات تكون ذات طابع حركي انتقالي يمكن تحديدها من خلال إيجاد المتوسط للمعادلة ٢ بالنسبة لدورة التذبذب.
- ٣- عند $H > H_k$ يحدث هبوط شديد للسرعة.

- ٤- عند وجود مجال مغناطيسي متغير له سعة ليست كبيرة $H \ll H_c$ وتردده بعيد عن تردد التذبذب التلقائي ω_A فإن اعتماد السرعة V على المجال H يتغير بشكل غير ملحوظ .
- ٥- السرعة لحدود الحجيرات تحصل على شكل التقاف غير خطي تردد ذبذبه $\omega_A = \omega$. إن تأثير التزامن الاضطرابي سوف يؤدي إلى تغير محسوس لـ $V(H)$.

المصادر

- 1- Slonczewski J.C., Malozemoff A.P., Voegeli O. Static's and dynamics of bubble containing Bloch Line // Phys. Rev. Letts.- 1972.- 29.N 14.- P. 949-952.
- 2- Renne ,M.J ., Polder.D. Magnetic Domain Structures in thin Uniaxial Plates with Perpendicular Easy Axis // J. Appl.-1971.-42, N 5.-P. 1971-1981.
- 3- MacDonald A.H., Plishke M.P. Experimental and Theoretical Study of the domain configuration in thin layers of $\text{BaF}_{12}\text{O}_{19}$ // Phil. Res. Rep.- 1999.- 15, N 1.- P. 7-29.
- 4- Malozemoff A.P., Slonczewski J.C. Domain Wall in Material with Cylindrical Magnetic Domain , M.: Mer, 1982.
- 5- De Leeuw F.H. IEEE Trans, Magen, 1973. MAG - 9 , 614; Stacy W.T., Voermans A.B., Logmans H. Appl. Phys. Lett . 1976 , 29 817.
- 6- Sapro S., Janus S., Holly A.R., Rov S. Dynamic of Domain Wall // Mod Phys., 1988, 36, 223.
- 7- Slonczewski J.C. Intern.J. Magnetizm., // Academic Press, Inc., 1972.,2, 85.