



IQ (19)

جمهورية العراق

وزارة التخطيط والتعاون الانمائي

الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية  
قسم الملكية الصناعية

براءة اختراع

(12)

(51) التصنيف الدولي

(11) رقم البراءة : 3252

A61K35/68

(21) رقم الطلب : 2003/66

(52) التصنيف العراقي

(22) تاريخ تقديم الطلب 2003/3/8

(30) تاريخ طلب الاسبقية - بلد الاسبقية - رقم طلب الاسبقية

(45) تاريخ منح البراءة : 2008/11/6

(72) اسم المخترع وعنوانه :- ا.م.د. احسان عيدان عبد الكريم السيمري / جامعة البصرة / كلية الطب/فرع الاحياء الجهرية

م.م. فلاح معروف مطلق /  
د.نوري محمد لعبيبي /  
د.عادل عيدان عبد الكريم السيمري /  
د.سيندس صديق بكر /  
د.مجاهد عيود حسين /  
جامعة البصرة / مركز علوم البحار /  
الجامعة المستنصرية / كلية العلوم / قسم علوم الحياة /  
البصرة / مستشفى الشفاء العام /  
جامعة البصرة / كلية الطب / فرع الاحياء الجهرية /  
جامعة البصرة / مركز علوم البحار /

(73) اسم صاحب البراءة : الذوات اعلاه

(74) اسم الوكيل :

(54) تسمية الاختراع :

اكتشاف واستخلاص مواد جديدة ذاتا فعالية احيائية  
من بعض اللافقاريات البحرية

منحت هذه البراءة استنادا لاحكام المادة 21 من قانون

براءات الاختراع والنماذج الصناعية رقم 65 لسنة

1970 وعلى مسؤولية المخترع .

سعد عبد القادر

مدير التسجيل

بوزارة التخطيط

عنوان الاختراع

**اكتشاف و استخراج مواد جديدة ذات فعالية  
أحيائية من بعض اللافقاريات البحرية**

**RECOVERY AND EXTRACTION OF A NEW AGENTS HAVE  
BIOLOGICAL ACTIVITY FROM SOME MARINE INVERTEBRATES**

المشاركون في الاختراع

- (1) **أ.م.د. احسان عيدان عبد الكريم السيوري**
- (2) **فلاح معروف مطلق**
- (3) **د. نوري محمد السوداني**
- (4) **د. عادل عيدان السيوري**
- (2) **د. نجاة عبود حسين**

- (1) فرع الأحياء المجهرية - كلية الطب - جامعة البصرة - البصرة - جمهورية العراق.
- (2) مركز علوم البحار - جامعة البصرة.
- (3) قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية
- (4) مستشفى الشفاء العام - البصرة.

# اكتشاف و استخراج مواد جديدة ذات فعالية احيائية من

## بعض اللافقاريات البحرية

### RECOVERY AND EXTRACTION OF A NEW AGENTS HAVE BIOLOGICAL ACTIVITY FROM SOME MARINE INVERTEBRATES

#### اولا: ملخص الاختراع

تم استخراج مواد ذات فعالية بايولوجية وهي (المستخلصات المائية، المستخلصات الكحولية، مستخلصات البروتين الكلي، مستخلصات القلويدات الكلية) من عدد من اللافقاريات البحرية وهي : نجم البحر *Astropecten polyacanthus polyacanthus* و قنفذ البحر *Ecinometra mathaei* و السرطان *Portunus plagicus* و الروبيان *Metapenaeus affinis* و قد أمكن الحصول على النتائج التالية :

1- إن بعض المستخلصات المذكورة أعلاه تكون ذات فعالية ضد جرثومية ضد الجراثيم ايجابية الغرام أكثر من سلبية الغرام و بعضها يكون فعالاً ضد الجراثيم سلبية الغرام أكبر من فعاليته ضد ايجابية الغرام المعزولة من أخماج الحروق.

2- باعتماد طريقتي قياس أقطار مناطق تثبيط النمو الجرثومي ( Growth inhibition Zones ) و قياس التراكيز المثبطة الدنيا (Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) ) . وجد أن للتراكيز العالية من المستخلصات المختلفة لللافقاريات المذكورة أعلاه ( 10 ، 100 ، 500 ، 1000 مايكرو غرام / مل ) فعالية ضد جرثومية متميزة تزداد كفاءة مع زيادة التركيز وتقل معه طردياً  
3- ان أكبر قطر تثبيطي سجل لمستخلصات اللافقاريات بلغ ( 32 ملم ) بالمقارنة مع أكبر قطر تثبيطي سجل للمضادات الحيوية القياسية الذي بلغ ( 22 ملم ) .

4- بلغت حدود الـ ( MICs ) للمستخلصات اللافقرية ( 250-1100 مايكروغرام / مل ) بالمقارنة مع حدود الـ ( MICs ) للمضادات الحيوية القياسية البالغة ( 30-350 مايكروغرام / مل ) .

5- اظهرت النتائج وجود فعالية مضادة للرووس الاولية لطفيلى الاكياس المائية حيث تمكنت المستخلصات اللافقرية من خفض حيوية الرووس الاولية الى الصفر بعد فترات زمنية قياسية من المعاملة بها.

6- تم اجراء الدراسات داخل الجسم وكما يلي :

أ- الدراسة الدوائية : حيث تم تحديد تأثير المستخلصات اللافقرية المختلفة على قيم المكونات الدموية للفئران البيضاء وتبين حدوث تغيرات بسيطة على هذه القيم اغلبها ذو تأثيرات غير معنوية (  $P > 0.01$  ) حيث استعادت كافة القيم الدموية نسبتها الطبيعية بعد 3-10 ايام من المعاملة سواء عن طريق الحقن بالعضلة او الاعطاء بالفم .

ب- حسبت نسبة الوفيات الحاصلة في مجاميع الفئران البيضاء المعاملة بالمستخلصات المختلفة ولمدة 30

يوما" بعد المعاملة بالتركيز 1000 مايكروغرام/مل  
ج- باجراء الدراسة العلاجية التطبيقية تبين ان فترة شفاء الحروق الخارجية للمرضى الذين طهرت جروحهم باستخدام مستخلص اللافقاريات بلغت (7- 13) يوما لللافقاريات البحرية المختلفة بالمقارنة مع فترة (8- 15) يوما باستخدام المطهرات الكيماوية المختلفة.  
8- بناء على النتائج المذكورة في أعلاه نقترح استخدام مستخلصات اللافقاريات المدروسة في الدراسة الحالية كمواد ضد جرثومية لتطهير وتعقيم الأخماج عموما وأخماج الحروق خصوصا نظراً لكفائتها التأثيرية الفعالة ضد مجاميع الجراثيم سلبية وإيجابية الغرام وتخصص تأثيرها الفعال على هذه الجراثيم مما يساعد في شفاء الحروق .

## ثانياً: مقدمة وأهداف الاختراع

استخدمت المواد المأخوذة من الحيوانات البحرية (كالقشور ، العظام ، الزيوت ، الجلد، العصارات وغيرها) منذ اقدم العصور في معالجة العديد من امراض الانسان او التخفيف منها سواء بالاستخدام الخارجي او الداخلي نظراً لما تحتويه هذه المواد من مركبات هامة فعالة بايولوجياً .

ان اللافقريات وهي حيوانات تختلف عن بعضها اختلافاً كبيراً من حيث المظهر الخارجي Morphology والتركيب الداخلي Internal structure وتشارك جميعاً في ميزة واحدة هي انعدام العمود الفقري وتؤلف ما يقارب 97% من مجموع انواع الحيوانات المعروفة في المملكة (الحيوانية) منها ما هو بري Terrestrial Invertebrates ومنها ما يعيش في المياه والبحار (aquatic or marine invertebrates) .

ولقد تناولت العديد من الدراسات الحديثة منها والقديمة المواد المستخلصة من اللافقريات البحرية لاستخدامها في عمليات التصنيف الحديث وتداخلها مع العمليات المناعية المختلفة او دراسة فعاليتها ضد الجرثومية وضد الفطرية وضد الفايروسية او استخدامها العام في العلاج الشعبي والطب البديل (Public treatment & alternative medicine) ومن هذه المواد (Tachycitin ، Chitin ، defens ، clotting factors ، quinoids ، Cytokin ، Peptides ، Tachystatine ، clavansins ، sceyllins ، molecules) وغيرها العديد من المواد المشخصة كيميائياً وذات الفعالية البايولوجية المعروفة (المصادر 2-12).

تعتبر اخماج الحروق من المشاكل الصحية التي تواجه الاطباء والعلماء كافة وتشكل تحدياً حقيقياً لهم بسبب التداخلات التي تسببها الجراثيم المختلفة في اخماج الحروق السطحية منها والعميقة وتأثر الانسجة المتضررة والمحيطة بالحروف ولئن كانت المضادات الحيوية الصناعية هي العلاج المتوفر الوحيد لعلاج هذه الحالات ، فان الجراثيم المختلفة قد امتلكت او طورت انظمة جديدة لمقاومة هذه المضادات وذلك بسبب التعرض طويل الامد للجرعة تحت القاتلة او فشل العديد من المضادات من الوصول بتركيز عالية إلى موقع الخمج وبالتالي معالجته، بالاضافة إلى تطوير الانواع الجرثومية لانظمة انزيمية مختلفة قادرة على تحطيم هذه المضادات الحيوية .

وبغية ايجاد الحل الناجح لحل هذه المشكلة والتغلب على وسائل مقاومة الجراثيم للعوامل المضادة لها فقد سعينا في دراستنا هذه إلى تطوير طرق مختلفة لاستخلاص مواد ذات فعالية احيائية ضد جرثومية وضد طفيلية من بعض اللافقاريات البحرية المتواجدة في مياها الاقليمية .

(( ومن يتق الله يجعل له مخرجا \* ويرزقه من حيث لا يحتسب ومن يتوكل على الله فهو حسبه ان الله بالغ امره قد جعل الله لكل شىء قدرا \* )) سورة الطلاق اية 2 و3

## ثالثا: طرق عمل ومستلزمات الاختراع

### 1- جمع وتصنيف اللافقاريات البحرية

جمعت اربعة انواع من اللافقاريات البحرية من المياه البحرية في خور العمية (ميناء العميق - شمال غرب الخليج العربي وبعق عشرة امتار في المياه بواسطة الزورق الخاص بمركز علوم البحار - جامعة البصرة وقد صنفت اللافقاريات البحرية المجموعة من قبل اختصاصي التصنيف في المركز المذكور وهي كما يلي: الشكل (1)  
1- الاسم العربي الشائع: نجم البحر

phylum: Echinodermata

class: Stelleroidea

subclass: Astrooidea

species: *Astropecten polyacanthus polyacanthas* (Muller & Troschel)

2- الاسم العربي الشائع: قنفذ البحر

phylum: Echinodermata

class: Echinoidae

subclass: Echinoida

species: *Echinometra mathaei* (de Blainville)

3- الاسم العربي الشائع: سرطان البور تينص (ككبب)

phylum: Arthropoda

class: Crustaceae

order: Decapoda

family: Portuniae

species: *Portunus pelagicus* (Linnaeus)

4- الاسم العربي الشائع: روبان الشحامي

phylum: Arthropoda

class: Crustaceae

order: Decapoda

family: Penaeidea

species: *Metapenaeus affinis* (Milne Edwards)

### 2 - عزل الجراثيم المرضية:

جمعت 92 عينة لحالات حروق مختلفة (لمختلف الأعمار ومن كلا الجنسين) من المستشفيات الرئيسية في مدينة البصرة بواسطة قطينات معقمة Swabe وزرعت العينات على الأوساط الابتدائية Blood agar base و MacConkey agar و Nutrient agar. شخصت وصنفت كافة انواع الجراثيم المرضية بإجراء الطرق التشخيصية الروتينية وبالاعتماد على (Baron et

### 3- طرائق الاستخلاص EXTRACTION METHODS

#### **أ- تحضير المستخلصات المائية والكحولية AQUEOUS AND ALCOHOLIC EXTRACTS**

استخدم الماء المقطر لتحضير المستخلصات المائية وأعيدت هذه العملية للحصول على المستخلصات الكحولية باستخدام الكحول الايثيلي (95%) (Ethanol 95%) كمنظف. ويمكن استخدام طريقة الـ Soxhlet لمدة 24 ساعة في استخلاص المواد من الحيوانات اللافقرية.

#### **ب- تحضير مستخلصات البروتين الكلي TOTAL PROTEIN EXTRACTS**

تم تجفيف المحلول الناتج عن عملية الاستخلاص للحصول على مستخلص البروتين الكلي للحيوان اللافقرى المدروس ، بعدها يتم وزن المستخلص وتحضر منه التخافيف المطلوبة.

#### **ج- تحضير مستخلصات القلويدات الكلية TOTAL ALKALOID EXTRACTS**

يتم وزن المستخلص الذي يمثل القلويدات الكلية للحيوان اللافقر بالمعبر وتحضر منه التخافيف المطلوبة.

#### **4- تقييم الفعالية ضد الجرثومية لمستخلصات اللافقاريات**

استخدمت طريقتي الاطباق والانابيب لدراسة الفعالية ضد الجرثومية للمستخلصات المختلفة وكما يلي:

أ- طريقة الاطباق (Agar diffusion) method Plate ويتم فيها قياس أقطار مناطق تثبيط النمو الجرثومي Growth inhibition zones . وحضرت أربعة تراكيز من المستخلصات هي (10، 100، 500، 1000) مايكروغرام / مل

ب- طريقة الانابيب (dilution) method Tube وفيها يتم تحديد التركيز المثبط الأدنى Minimal Inhibitory concentration (MIC) للمستخلص المعين ويقدر بالميكروغرام / مل.

#### **5- تقييم الفعالية ضد الطفيلية للمواد المستخلصة من اللافقاريات البحرية**

درست الفعالية ضد الطفيلية للمستخلصات ضد الطور اليرقي لطفيلي الأكياس المانية Echinococcus granulosus

### 6- دراسات داخل الجسم IN VIVO STUDIES

#### **أ- الدراسة الدوائية PHARMACOLOGICAL STUDY**

استخدمت الفئران المختبرية من نوع BALB / C بعمر 4 - 6 أسابيع وبوزن ( 25 - 30 ) غم في الدراسة الحالية بعد تنقيتها الى الجيل الرابع وتمت رعايتها وتغذيتها حسب الشروط العلمية القياسية العامة. قسمت الفئران الى اربعة مجاميع ثنائية تضم كل منها ( 30 ) فأرا تعامل بالمستخلص البروتيني لللافقاريات وكما يلي:

- 1- المجموعة الثانوية الأولى : نجم البحر
- 2- المجموعة الثانوية الثانية : قنفذ البحر.
- 3- المجموعة الثانوية الثالثة : السرطان .
- 4- المجموعة الثانوية الرابعة : الروبيان.

وتقسم كل مجموعة ثنائية من هذه المجاميع الأربعة الى قسمين أ ، ب يضم كل منها ( 15 ) فأرا ، يعامل القسم الأول بتركيز ( 1000 ) مايكروغرام / مل من المستخلص المعين عن طريق الحقن بالعضلة Intramuscular injection ويعطى هذا التركيز الى قسم ب عن طريق الفم Orally باستخدام الأنبوب المعدي Stomach tube .

قورنت النتائج مع مجموعة السيطرة ( التي تضم (30) فأرا بدون معاملة ).

#### **ب- قياس قيم المكونات الدموية وحساب نسبة الوفيات**

يتم سحب الدم من الفئران وهي حية بعد تخديرها ( تعتبر كل خمسة فئران كمكررات لمعاملة

واحدة في الأوقات ( 1 ، 5 ، 10 ) أيام بعد المعاملة بالمستخلص اللافقري وذلك لقياس قيم المكونات الدموية التالية:

البروتين المصلي الكلي Total serum protein ، الهيموغلوبين Hb ، حجم كريات الدم المرصوصة ( P. C. V. ) Packed cell volume عدد كريات الدم الكلي Total R. B. Cs Count ، والتفريقي الذي يشمل النسب المنوية للخلايا العذلة Neutrophils والحمضية Eosinophiles واللمفاوية Lymphocytes.

كما يتم حساب عدد الوفيات الحاصلة في المجاميع الثانوية الستة بقسميها أ ، ب والمعاملة بالمستخلصات خلال فترة شهر بعد المعاملة . وتتم مقارنة كافة النتائج مع نتائج مجموعة السيطرة الخامسة.

### ج- الدراسة التطبيقية العلاجية

اجريت الدراسة لغرض معرفة قدرة وكفاءة مستخلصات اللافقريات المدروسة في معالجة الحروق للمرضى في مناطق مختلفة من الجسم . وذلك بتعقيم وتطهير هذه الحروق بالمستخلص اللافقري (تركيز 1000 مايكروغرام/مل) ومقارنته مع المواد المطهرة الكيماوية المستخدمة في أغلب مستشفياتنا وهي السبتول والهيبتين والأيودين ، وبواقع مرتين للتطهير يوميا".

## رابعاً: نتائج وادعاءات الاختراع

صممت هذه الدراسة لاستخلاص مواد ذات فعالية بايولوجية من عدد من اللافقريات البحرية كمقترح أولي لاستخدامها كمواد ضد جرثومية وضد طفيلية بديلة.

### 1- نتائج عزل الجراثيم المرضية من اخماج الحروق المختلفة

يبين الجدولين 1 و 2 انماط العزل وانواع الجراثيم المرضية والمعزولة من اخماج الحروق حيث بلغ عدد العينات موجبة الزرع الجرثومي 78 عينة بنسبة 84.78% من عدد العينات الكلية البالغة 92 عينة وتم عزل 158 عذلة جرثومية تعود إلى اجناس وانواع جرثومية مختلفة

### 2- نتائج تقييم الفعالية ضد الجرثومية للمواد المستخلصة من اللافقريات البحرية المختلفة

قورنت نتائج تأثير المستخلصات اللافقرية على الأنواع الجرثومية بالمقارنة مع تأثيرات المضادات الحيوية القياسية. النتائج موضحة في الجداول (3-6).

أظهرت النتائج إن الجراثيم المختلفة كانت لها استجابات مختلفة نحو التراكيز المختلفة من مستخلصات الحيوان اللافقري المدروس وبفروق معنوية عالية ( $P < 0.01$ ).

بصورة عامة يمكن القول بان التركيزين 10 - 100 مايكروغرام / مل كانا ذوي فعالية ضد جرثومية منخفضة نسبياً أو معدومة في أغلب الاحيان ، بينما تكون تأثيرات بقية التراكيز عالية. ويمكن ملاحظة أقصاها في التركيز 1000 مايكروغرام / مل.

بلغ اكبر قطر تثبيطي في الدراسة (32) ملم للتركيز 1000 مايكروغرام / مل لمستخلص البروتين الكلي للروبيان ضد جرثومة الـ *Proteus* .

وتراوحت حدود التراكيز المثبطة الدنيا لجميع المستخلصات لللافقريات المدروسة من (250 – 1100) مايكروغرام / مل.

وبالمقارنة مع المضادات الحيوية القياسية (الجدول 7) فان اكبر قطر لتثبيط النمو الجرثومي بلغ (22) ملم وكانت حدود التراكيز المثبطة الدنيا MICs لجميع المضادات الحيوية المدروسة بين (30-350) مايكروغرام / مل.

### **3- نتائج تقييم الفعالية ضد الطفيلية لمستخلصات اللافقاريات البحرية**

أثبتت الدراسة بأن مستخلصات اللافقاريات البحرية المدروسة تمتلك فعالية ضد طفيلية وبالأخص فعالية مضادة للروؤوس الأولية Protoscolicidal activity لطفيلي الأكياس المائية، حيث تمكنت مختلف التراكيز من خفض حيوية الروؤوس الأولية وقتلها في فترات زمنية قياسية.

### **4- نتائج الدراسات داخل الجسم**

#### **نتائج الدراسة الدوائية لتحديد الآثار الجانبية للمستخلصات المختلفة**

بغية معرفة التأثيرات الجانبية السلبية لمستخلصات اللافقاريات المختلفة التي نقترح استخدامها كمضادات حيوية بديلة، فقد أجريت هذه الدراسة لتحديد التأثيرات الحاصلة في قيم المكونات الدموية الرئيسية للفئران البيضاء BALB/C ، ولمعرفة فترة الشفاء اللازمة لاستعادة الوضع الطبيعي للجسم ، وتحديد نسبة الوفيات الحاصلة في مجاميع الفئران العشرة خلال فترة ( 30 ) يوما بعد المعاملة بالمستخلصات اللافقارية.

#### **أ- تأثير مستخلصات اللافقاريات على قيم المكونات الدموية للفئران البيضاء**

من ملاحظة الجدول (8) تبين أن المستخلصات البروتينية لللافقاريات المختلفة بتركيز ( 1000 ) مايكروغرام / مل قد أظهرت تأثيرات متباينة على قيم المكونات الدموية كان بعضها كبيرا، والبعض الآخر طفيفا وغير هاما . ووجد أن حقن المستخلصات بالعضلة يظهر تأثيرات دموية كبيرة أكبر بكثير من التأثيرات الحاصلة عند إعطاء هذه المستخلصات عن طريق الفم. كما لوحظ رجوع قيم كافة المكونات الدموية الى معدلاتها الطبيعية في

اليوم الخامس - العاشر بعد المعاملة مما يشير إلى حدوث الشفاء الذاتي للجسم والى قدرة الجهاز الدموي الى إصلاح ذاته، وهذه يدل على إن التأثيرات السلبية لكافة المستخلصات البروتينية هي تأثيرات بسيطة وغير مدمرة ويمكن إصلاحها ذاتيا من قبل الجسم بفترة زمنية قياسية، وهذا يؤكد أيضا على عدم سمية هذه المواد ذات الفعالية المضادة للجراثيم.

#### **ب- حساب وفيات الفئران المعاملة بالمستخلصات المختلفة**

تراوحت وفيات الفئران المخبرية المعاملة بالمستخلصات البروتينية المختلفة خلال مدة (30) يوما من المعاملة من 1-3 فئران بطريقة الاعطاء بالفم ومن 1-4 فئران بطريقة الحقن بالعضلة للمستخلصات البروتينية على التوالي. بالمقارنة مع معدل وفيات فئران مجموعة السيطرة البالغ 2 فأرة.

#### **ج- نتائج الدراسة التطبيقية العلاجية**

بما أن المستخلص البروتيني لجميع اللافقاريات البحرية المدروسة - بصورة عامة - اظهر اكبر التأثيرات ضد الجراثيم المرضية المعزولة بالمقارنة مع بقية المستخلصات - اعتمادا" على نتائج دراسة الفعالية ضد الجرثومية السالفة الذكر - ، لذا فقد استخدم التركيز 1000 مايكروغرام/مل منها في دراسة فعله في تطهير وتعقيم الحروق . ويبين الجدول - 9 - نتائج هذه الدراسة في شفاء هذه الحروق .

حيث تبين ان فترة شفاء الحروق كانت سبعة أيام بعد المعاملة بالمستخلص البروتيني للروبيان وتسعة ايام لكل من السرطان و قنفذ البحر وثلاثة عشر يوما لنجم البحر بالمقارنة مع المطهرات الكيماوية التي بلغت فيها فترات الشفاء ثمانية ايام للمطهر هيبيتين (5%) واحد عشر يوما للأيودين (10%) وخمسة عشر يوما للسبتول (5%) ، مما يشير الى ان فترات شفاء الحروق المعاملة بالمستخلصات اللافقارية كانت مماثلة وأفضل من الكثير من المطهرات الكيماوية ، وهذا ما يؤكد امكانية استخدامها مستقبلا" بديلا" ناجحا" عن المطهرات الكيماوية .



## خامسا: الادعاءات الجديدة في الاختراع المراد حمايتها

- 1- طورت وحورت العديد من الطرق الخاصة بهذا الاختراع لاستخلاص مواد هي المستخلصات المائية ، المستخلصات الكحولية ، مستخلصات البروتين الكلي ، مستخلصات القلويدات (الكلية) من عدد من اللافقرات البحرية لدراسة فعاليتها البيولوجية ضد الجراثيم المسببة لآخماج الحروق وضد الرؤوس الاولى لطفيلي الاكياس المائية .
- 2- اجريت الدراسة الحالية على عدد من اللافقرات البحرية المتواجدة في المياه البحرية العراقية وهي : نجم البحر ، قنعد البحر ، سرطان البورتينص ، روبيان الشحامي .
- 3- بلغ اكبر قطر تثبيطي للنمو الجرثومي للمستخلصات اللافقرية 32 ملم للمستخلص البروتيني لروبيان الشحامي ، وتراوح حدود التراكيز المثبطة الدنيا MICS لها بين 250-1100 مايكروغرام/مل وبالمقارنة مع المضادات الحيوية التي بلغ اكبر قطر تثبيطي لها 22ملم وحدود ال MICS بين 30-350 مايكروغرام/مل.
- 4- اثبتت نتائج الدراسة الدوائية داخل الجسم وجود تاثيرات طفيفة غير معنوية ( $P>0.01$ ) على قيم المكونات الدموية للفئران

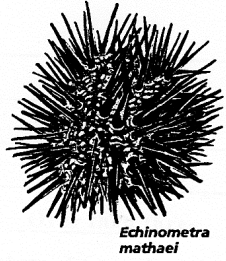
البيضاء وعادت كافة القيم إلى معدلاتها الطبيعية بعد 3-10 ايام من المعاملة بالحقن بالعضلة او الاعطاء بالفم مما يشير إلى عدم سمية هذه المستخلصات .

5- اجريت دراسة تطبيقية علاجية لمعالجة الحروق الخارجية باستخدام مستخلصات اللافقرات حيث تبين ان فترة شفاء الحروق تتراوح بين 7-13 يوماً بعد المعاملة بالمستخلص البروتيني لللافقرات بالمقارنة مع فترة 8-15 يوماً من المعالجة بالمطهرات الكيميائية .

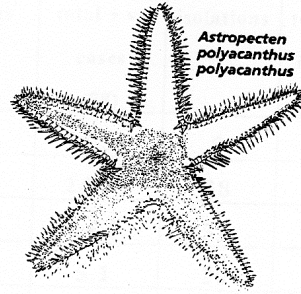
6- بناء على ما جاء في نتائج الدراسة الحالية نقترح استخدام المستخلصات المختلفة لللافقرات البحرية كمواد ضد جرثومية و ضد طفيلية.

## سادسا: مصادر الاختصاص

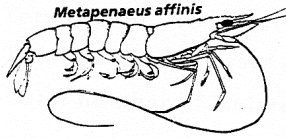
- 1- Baron, c., et al., (1994). Baily & scotts diagnostic micrbiology. 9<sup>th</sup> ed. Arnold inter. Stiudent ed. St. louis.
- 2- Nouanger, n., et al (2001). Immune response of *Drosophila melanogaster* to infection with the flagellate parasite *Crithidia spp.* Insect. Biochem. Mol. Bio 31(2): 129-137.
- 3- Burgess, j.g., et al. (1999). Microbial antagonism: a neglected avenue of natural products research. J. biotechnol. 70 (1-3): 27-32
- 4- Cole, a.m. and ganz, t. (2000). Human antimicrobiat peptides: analysis and application. Biotechniques., 24(4): 822-826.
- 5- Gorman, m.j. and paskewitz, s.m. (20001). Serine protea as mediators of mosquito immune responses. Insect biochem. Mol. Biol., 31(3): 527-262 .
- 6- Iwanaga, s., and kawabata, s. (1998). Evolution and phylogeny of defense molecules associated with innatimmunity in horseshoe crab. front biosci, 3: 973-984.
- 7- Iwanaga, s., et al. (1994). Role of hemocyte – derio granular componets in invertebrate defense. Ann n.y acad. Sci. 71(2): 102 – 116 .
- 8- Lee, I.h., et al. (1997). Clavanins, alpha – helical antimicrobial peptides from tunicate hemocytes. Febs. Lett.
- 9- Maiumder, m., et al. (1997). Inhibition of bacterial respiration by a low – molecular weight lectin, scyllin, from *Scylla serrata* crab hemolymph. Indian j. biochem. Biphys., 34 (1-2): 87 – 89 .
- 10- Nappi , a.j. and ottaviani, e. (2000). Cytotoxicity and cytotoxic molecules in invertebrates. Bioessays. 22(s): 469 – 480 .
- 11- Newbold. R.w. et al . (1999). Antimicrobial activity of caribbean sponge extracts. Ame., 19(3): 6.
- 12- Suetake, t. et al. (2000). Chitin – binding proteins in invertebrate, and plants comprise a common chitin – binding structural motif. J. bol chem 275 (24): 17929 – 17932 .
- 13- Jones,D.A., (1986).A field guide to the sea shores of Kuwait and the arabian gulf. Univ.Kuwait.



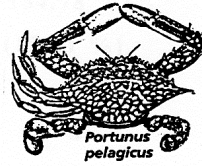
قفذ البحر



نجم البحر



روبيان الشامي



سرطان البور تينص (ككب)

شكل (1): اشكال اللاقريات البحرية المدروسة في الاختراع

Mode of isolated bacterial types	No. of cases	% from total + ve cases (78)	No. of isolations	% from total no. of isolations (158)
Single	9	11.53	9	5.69
Double	19	24.53	38	24.05
Third	11	14.1	33	20.88
Over than three	4	5.1	20	12.65
Numbers of + ve cultured cases	43	46.73		
Numbers of - ve cultured cases	9	9.78		
Numbers of isolates			100	63.29

Total No. of + ve cultured cases 78 (84.78 %).

Total No. of - ve cultured cases 14 (15.21 %).

Total number of cases (92).

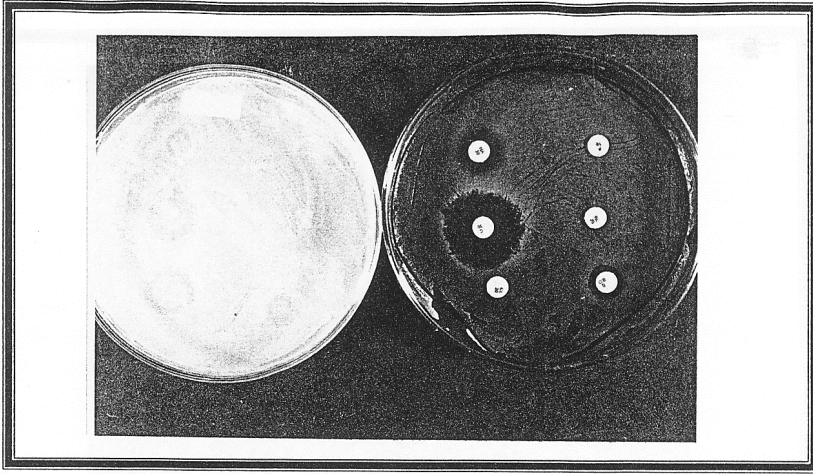
Total number of isolates (158).

**Table -1- Numbers and percentage of infectious bacterial**

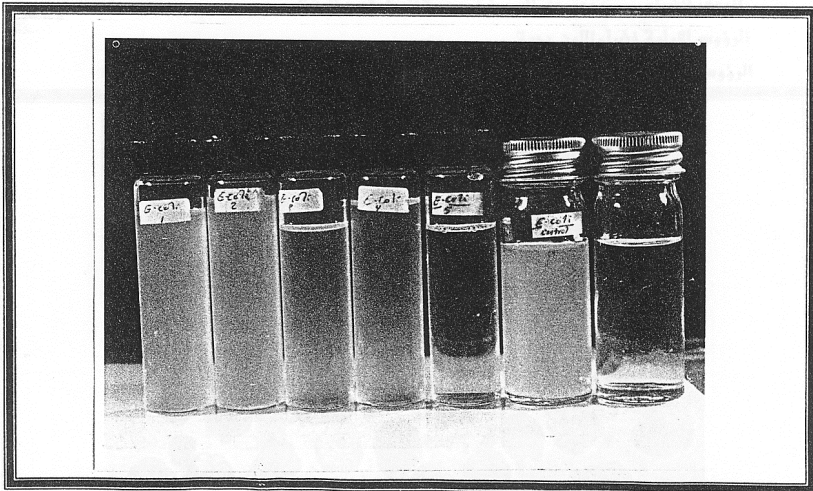
**pathogen isolates from (92) burn cases.**

Bacterial types	No. of cases	% from + ve cases (78)	% from total no. of isolates (158)
<i>Ps. aeruginosa</i>	28	35.89	17.72
<i>E. coli</i>	10	12.82	6.32
<i>Klebsiella</i>	7	8.97	4.43
<i>Proteus</i>	5	6.41	3.16
<i>B. subtilis</i>	6	7.69	3.79
<i>Staph. aureus</i>	19	24.35	12.02
<i>Staph. epidermidis</i>	9	11.53	5.69
$\alpha$ - hemolytic <i>Streptococcus</i>	9	11.53	5.69
$\beta$ - hemolytic <i>Streptococcus</i>	7	8.97	4.43

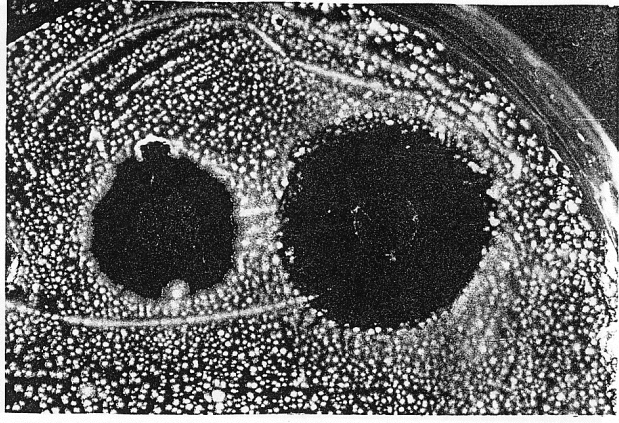
**Table -2-** Numbers and percentage of various bacterial types isolated from each burn cases.



صورة (٣) مقارنة تأثيرات التراكيز المختلفة  
على *Neisseria gonorrhoea* يسار الصورة (الوسط MHA) مع تأثيرات اقراص المضادات الحيوية  
القياسية على نفس الجرثومة يمين الصورة (الوسط BAB).

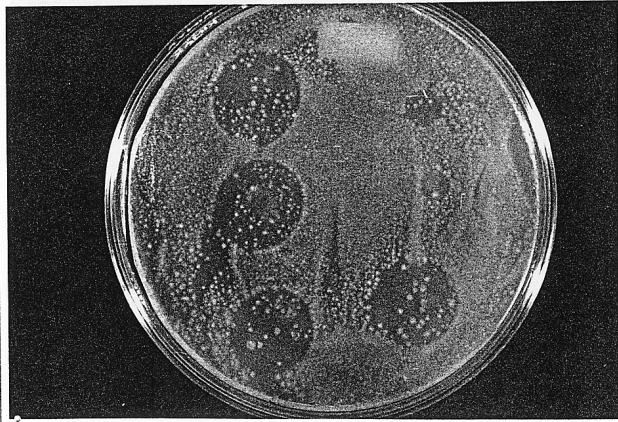


صورة (٤) قياس التراكيز المثبطة الدنيا (Minimal Inhibitory concentration (MICs) بطريقة التخفيف  
والانابيب Tubes / or Dilution method تقدر بالميكرو غرام / مل mcg/ml تقدير التركيز  
المثبط الأدنى MIC لمستخلصات القلوبمات الكلية .  
الجرثومة *Escherichia coli* .



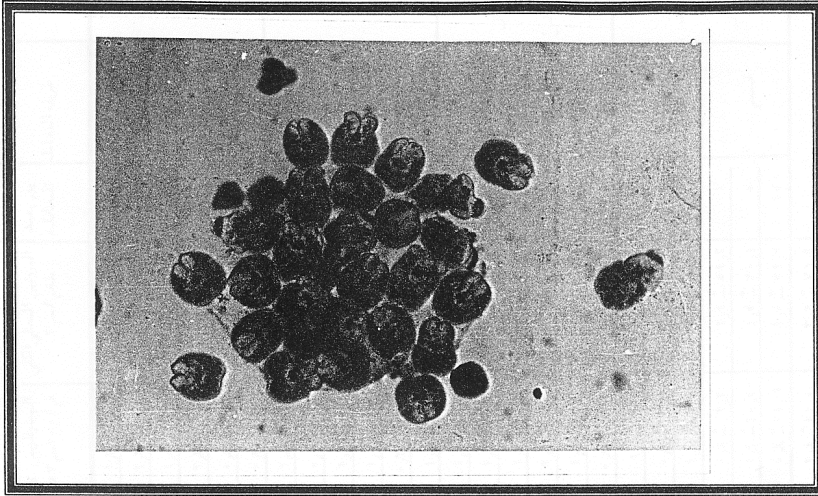
صورة (1) مناطق تثبيط النمو الجرثومي Growth Inhibition Zone بطريقة الانتشار في الهلام او الاطباق Plate / or Agar diffusion method وتقدر بالمليمتر (مم)

الوسط ( Blood Agar base ) . *Staphylococcus aureus*



صورة (2) مناطق تثبيط النمو الجرثومي الناتجة عن تأثير التراكيز المختلفة من مستخلصات البروتين على نمو جرثومة *Bacillus subtilis* . الوسط Mueller-Hinton Agar



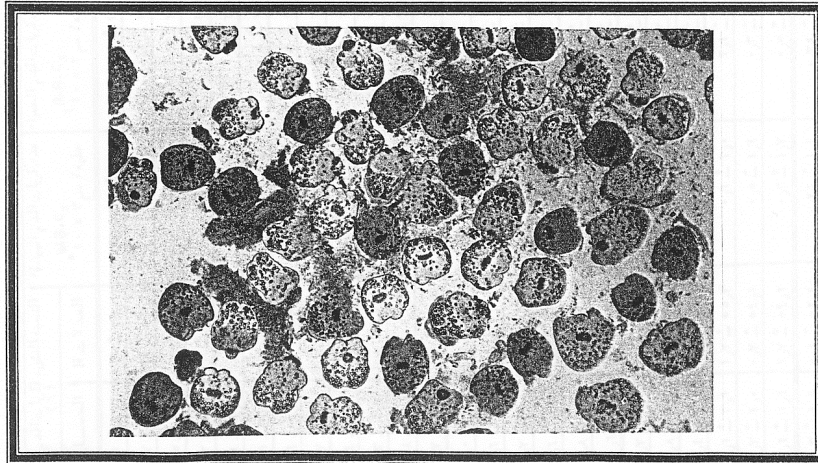


صورة (5): قياس النسبة المؤية لحيوية الرؤوس الأولية Protoscolices viability (الطور البرقي لطغليي الاكياس المائبة *Echinococcus granulosus*) بطريقة نفاذ صبغة الايوسين المائبة 0.5٪ وتخص باستخدام المجهر الضوئي . مجموعة السيطرة بعد 73 ساعة من الحفظ .

الرؤوس الاولية خضراء اللون : حية

الرؤوس الاولية حمراء اللون: ميتة

قوة التكبير 100x



صورة (6): قياس النسبة لحيوية الرؤوس الاولية المعاملة . بعد 48 ساعة من المعاملة

جدول (3): تأثير المستخلصات المختلفة من الروبيان الشحامي *Metapenaeus affinis* على الجراثيم المرضية المعزولة من أحماج الحروق مقياسة بطريقتي الأطباق (قياس أقطار مناطق تثبيط النمو الجرثومي (ملم) وطريقة الأنابيب (قياس التركيز المثبط الأدنى MIC (مايكروغرام / مل)).

قطر منطقة التثبيط (ملم) في تركيز المستخلص المعين (مايكروغرام/مل)، التركيز المثبط الأدنى MIC (مايكروغرام / مل).

مستخلص القلويدات الكلية					مستخلص البروتين الكلي					المستخلص الكحولي					المستخلص المائي					النوع الجرثومي
MIC	1000	500	100	10	MIC	1000	500	100	10	MIC	1000	500	100	10	MIC	1000	500	100	10	
300	14	9	-	-	500	26	19	8	-	600	12	6	-	-	1000	8	-	-	-	<i>E. coli</i>
400	12	7	-	-	450	25	15	7	-	750	11	5	-	-	900	9	4	-	-	<i>Klebsiella</i>
350	17	8	-	-	250	32	25	15	8	850	9	4	-	-	1100	10	-	-	-	<i>Proteus</i>
500	11	4	-	-	250	20	9	-	-	900	5	-	-	-	1100	8	4	-	-	<i>Ps.aeruginosa</i>
250	22	15	7	-	300	18	12	5	-	500	22	13	4	-	900	9	6	-	-	<i>Staph. aureus</i>
300	24	18	12	6	400	22	20	12	-	300	30	19	5	-	800	15	7	-	-	<i>Staph. epidermidis</i>
350	25	10	-	-	500	16	12	9	-	350	30	22	6	-	750	15	9	-	-	$\alpha$ - hemolytic Streptococci
400	21	18	7	4	350	23	12	-	-	450	18	10	4	-	750	13	6	-	-	B- hemolytic Streptococci
500	20	16	10	4	500	17	9	4	-	600	14	5	-	-	900	6	-	-	-	<i>B.subtilis</i>

جدول (4): تأثير المستخلصات المختلفة من سرطان البورتينص *Portunus pelagicus* على الجراثيم المرضية المعزولة من أخماج الحروق مفاصة بطريقتي الأطباق (قياس أقطار مناطق تثبيط النمو الجرثومي (ملم) وطريقة الأنابيب (قياس التركيز المثبط الأدنى MIC (مايكروغرام / مل)).

قتر منطقة التثبيط (ملم) في تركيز المستخلص المعين (مايكروغرام/مل)، التركيز المثبط الأدنى MIC (مايكروغرام / مل).

مستخلص القلويدات الكلية					مستخلص البروتين الكلي					المستخلص الكحولي					المستخلص المائي					النوع الجرثومي
MIC	1000	500	100	10	MIC	1000	500	100	10	MIC	1000	500	100	10	MIC	1000	500	100	10	
500	9	-	-	-	350	8	4	-	-	300	22	13	8	-	900	12	9	-	-	<i>E. coli</i>
600	17	9	-	-	400	11	5	-	-	350	21	17	9	-	850	9	7	-	-	<i>Klebsiella</i>
500	10	-	-	-	250	20	12	9	4	400	22	15	8	-	900	10	-	-	-	<i>Proteus</i>
900	6	-	-	-	400	9	-	-	-	500	11	-	-	-	1100	-	-	-	-	<i>Ps.aeruginosa</i>
500	17	10	4	-	350	30	23	8	-	500	14	9	-	-	1000	8	-	-	-	<i>Staph. aureus</i>
250	26	15	9	-	250	23	18	9	-	450	18	12	8	-	1000	8	-	-	-	<i>Staph. epidermidis</i>
450	13	7	-	-	400	20	16	10	-	300	22	143	6	-	1000	9	-	-	-	$\alpha$ - hemolytic Streptococci
350	20	10	-	-	250	29	17	8	-	300	21	12	4	-	1100	6	-	-	-	B- hemolytic Streptococci
600	9	-	-	-	400	16	9	-	-	600	12	6	-	-	1100	-	-	-	-	<i>B.subtilis</i>

جدول (5): تأثير المستخلصات المختلفة من نجم البحر *Astropecten polyacanthus polyacanthus* على الجراثيم المرضية المعزولة من أحماج الحروق مقياسة بطريقتي الأطباق (قياس أقطار مناطق تثبيط النمو الجرثومي (ملم) وطريقة الأنابيب (قياس التركيز المثبط الأدنى MIC (مايكروغرام / مل)).

قطر منطقة التثبيط (ملم) في تركيز المستخلص المعين (مايكروغرام/مل)، التركيز المثبط الأدنى MIC (مايكروغرام / مل).

مستخلص القلويدات الكلية					مستخلص البروتين الكلي					المستخلص الكحولي					المستخلص المائي					النوع الجرثومي
MIC	1000	500	100	10	MIC	1000	500	100	10	MIC	1000	500	100	10	MIC	1000	500	100	10	
900	9	4	-	-	500	22	16	7	-	900	12	8	-	-	1100	-	-	-	-	<i>E. coli</i>
1000	12	7	-	-	500	25	13	5	-	800	9	-	-	-	1100	6	-	-	-	<i>Klebsiella</i>
900	15	6	-	-	500	25	16	8	-	800	12	-	-	-	1000	9	4	-	-	<i>Proteus</i>
1100	11	8	-	-	700	22	19	8	-	1100	13	11	5	-	1100	-	-	-	-	<i>Ps.aeruginosa</i>
750	20	11	5	-	800	8	4	-	-	900	18	10	6	-	900	7	-	-	-	<i>Staph. aureus</i>
600	28	13	6	-	800	8	-	-	-	900	10	-	-	-	1000	9	-	-	-	<i>Staph. epidermidis</i>
750	20	12	5	-	900	13	9	4	-	1000	9	-	-	-	900	-	-	-	-	$\alpha$ - hemolytic Streptococci
750	15	7	4	-	800	9	5	-	-	900	17	16	-	-	1100	8	-	-	-	B- hemolytic Streptococci
800	17	9	4	-	900	-	-	-	-	1000	10	-	-	-	1100	-	-	-	-	<i>B.subtilis</i>

جدول (6): تأثير المستخلصات المختلفة من قنفذ البحر *Echinometra mathaei* على الجراثيم المرضية المعزولة من أخماج الحروق مقاسة بطريقتي الأطباق (قياس أقطار مناطق تثبيط النمو الجرثومي (ملم) وطريقة الأنابيب (قياس التركيز المثبط الأدنى MIC (مايكروغرام / مل)).

قطر منطقة التثبيط (ملم) في تركيز المستخلص المعين (مايكروغرام/مل)، التركيز المثبط الأدنى MIC (مايكروغرام / مل).

مستخلص القلويدات الكلية					مستخلص البروتين الكلي					المستخلص الكحولي					المستخلص المائي					النوع الجرثومي
MIC	1000	500	100	10	MIC	1000	500	100	10	MIC	1000	500	100	10	MIC	1000	500	100	10	
800	13	10	4	-	600	21	11	-	-	850	29	23	9	4	1000	-	-	-	-	<i>E. coli</i>
1000	14	7	4	-	600	22	15	8	-	750	25	15	6	-	1000	6	-	-	-	<i>Klebsiella</i>
900	22	17	9	-	750	17	11	6	-	800	22	11	-	-	900	9	-	-	-	<i>Proteus</i>
1000	13	9	6	-	900	18	10	-	-	900	23	17	12	-	900	-	-	-	-	<i>Ps.aeruginosa</i>
1000	18	12	7	-	700	14	9	-	-	800	18	10	-	-	1100	-	-	-	-	<i>Staph. aureus</i>
900	18	10	6	-	600	25	18	10	-	750	28	22	9	-	800	7	-	-	-	<i>Staph. epidermidis</i>
1000	14	8	-	-	600	22	11	-	-	800	15	8	-	-	950	8	-	-	-	$\alpha$ - hemolytic Streptococci
1000	8	-	-	-	800	20	11	-	-	900	28	21	9	-	850	7	-	-	-	B- hemolytic Streptococci
1100	-	-	-	-	800	21	10	4	-	100	14	7	-	-	1100	-	-	-	-	<i>B.subtilis</i>

معدلات تقسيم الكريات الدموية - الانحزاز المبروز

نوع المستخلص	خزفة المسألة	يوم بيط	البروتين المثلج الكلي غرام/سم <sup>3</sup>	البيبتوفين #6 مجم/100 سم <sup>3</sup> دم	حجم كريات الدم المرصومة (%)	معدن كريات الدم الحمراء g/100 x 10 <sup>6</sup> حلية	السبب النوعي لكريات الدم البيضاء (البيضاء)		
							المدلات N	المدلات B	المدلات L
نجم البحر	الحقن بالمحلول الاعطاء بالكم	10	23 ± 5	7 ± 2	13 ± 1	23 ± 1	11 ± 4	4 ± 1	3 ± 0
							17 ± 1	10 ± 1	8 ± 0
							7 ± 0	11 ± 1	10 ± 1
							8 ± 3	7 ± 1	1 ± 0
							17 ± 2	11 ± 1	1 ± 0
							11 ± 8	1 ± 1	1 ± 0
							14 ± 1	8 ± 0	1 ± 0
							11 ± 8	1 ± 1	1 ± 0
							14 ± 1	1 ± 1	1 ± 0
							11 ± 8	1 ± 1	1 ± 0
قنفذ البحر	عسله	5	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	4 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
سرطان	عسله	5	7 ± 0	1 ± 1	3 ± 0	4 ± 1	4 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
ثليز نقعش	فس	5	2 ± 1	1 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	4 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							2 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
روبيان	عسله	5	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0	4 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
الشعاعي	فس	5	7 ± 0	1 ± 1	2 ± 1	2 ± 1	4 ± 1	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
							7 ± 0	1 ± 0	1 ± 0

جدول (9): تأثير المستخلص الروبيني لللاقن بيات البحرية المدروسة على معدل قيمته المكونات الدموية للفئران البيضاء (BALB/C)

Antibiotics Activity, Diameters of Inhibition Zone I.Z (mm), MIC (mcg/ml)

Bacterial types	Penicillin (P)		Ampicillin (Amp)		Carbencillin (CR)		Chloramphenicol (C)		Nirofuranol (F)		Nalidixic acid (NA)		Cephalexin (CF)		Tetracyclin (TE)		Kanamycin (K)		Erythromycin (E)		Gentamicin (GN)		Neomycin (N)	
	LZ	MIC	LZ	MIC	LZ	MIC	LZ	MIC	LZ	MIC	LZ	MIC	LZ	MIC	LZ	MIC	LZ	MIC	LZ	MIC	LZ	MIC	LZ	MIC
<i>E. coli</i>	8**	200	6	250	10	80	12	30	11	30	13	30	9	40	9	250	10	150	11	300	18	100	15	75
<i>Enterobacter</i>	7	200	9	175	12	75	13	40	22	30	10	30	10	50	13	300	11	150	7	300	10	75	11	75
<i>Klebsiella</i>	9	175	7	175	10	75	11	50	13	50	12	50	14	50	6	300	9	100	8	350	12	125	20	75
<i>Proteus</i>	13	200	11	250	12	90	10	75	12	40	18	75	15	30	11	300	17	125	11	250	17	150	16	100
<i>Pseudomonas</i>	6	300	12	175	14	100	16	75	17	75	13	100	12	75	6	350	8	200	10	200	12	150	11	75
<i>B. subtilis</i>	8	350	11	300	8	125	10	90	13	75	11	75	12	75	13	350	9	250	9	300	10	100	8	75
<i>N.gonorrhoea</i>	6	300	9	350	8	90	8	90	10	70	8	50	14	75	18	350	11	300	10	300	13	125	15	75
<i>Staph. aureus</i>	9	175	9	300	6	100	9	75	10	75	9	100	21	50	8	350	11	200	8	300	14	75	16	100
<i>Staph. Epidermidis</i>	7	250	8	300	10	75	8	75	16	90	13	80	16	50	14	300	10	150	7	250	15	75	13	75
<i>Staph. faecalis</i>	7	200	10	275	6	150	9	75	12	75	8	100	14	125	10	300	9	350	15	225	12	100	14	60

Table - 7 - : Effects of various standard antibiotics on growth of different pathogenic bacteria by :  
 Diameters of Inhibition Zone (IZ) and minimal Inhibitory concentrations (MIC)  
 \*\* Highly significant differences (P < 0.01)

المستخلص / المطهر	فترة الشفاء (يوم)
1- المستخلص البروتيني (1000 مايكروغرام/مل)	
نجم البحر	13
قنفذ البحر	9
سرطان البورتينص	9
روبيان الشحامي	7
2- المطهرات الكيماوية	
الهيئين (5%)	8
الأيودين (10%)	11
السبتول (5%)	15

الجدول (10): فترات شفاء الحروق المعاملة بالمستخلصات البروتينية لللافقاريات البحرية المختلفة ومقارنتها مع المطهرات الكيماوية.



جدول (8) النسب المئوية لحيوية الرؤوس الأولية بعد فترات زمنية من المعاملة بالمستخلصات البروتينية لمختلف اللافقاريات البحرية

المستخلص اللاقضي (ترتيب الفعالية)	التركيز mcg/ml	النسبة المئوية لحيوية الرؤوس الأولية (%) الوقت بعد المعاملة (ساعة)																	
		0	0.30	1	2	3	6	12	24	48	72	96	120	6 (144)	7 (168)	10 (240)	15(360)	20(420)	25(600)
		قنفذ البحر (1)	1000	96	88	74	66	52	48	40	26	14	0						
750	96		92	82	72	60	46	42	30	18	12	0							
500	98		90	86	74	58	52	46	32	20	8	6	0						
250	96		90	78	70	64	58	46	30	22	18	10	4	0					
100	96		90	84	72	62	50	42	36	28	20	16	10	4	0				
50	98		88	80	70	64	54	48	38	30	26	20	16	12	6	0			
الروبيان (4)	1000	98	88	78	68	62	58	44	36	28	18	10	2	0					
	750	98	84	78	70	68	56	48	38	28	20	12	4	0					
	500	98	90	82	78	70	66	58	50	44	36	30	16	10	0				
	250	98	88	84	80	78	68	60	50	44	36	30	22	14	8	0			
	100	98	88	80	76	70	64	58	50	42	38	30	26	20	14	10	0		
	50	98	90	86	84	80	74	68	58	46	38	34	28	22	12	4	0		
السرطان (3)	1000	96	86	78	68	62	56	58	48	38	20	12	0						
	750	96	88	70	64	56	50	44	36	24	16	10	4	0					
	500	96	88	80	72	64	50	42	30	26	20	12	6	0					
	250	96	90	86	76	70	58	52	46	38	30	22	12	4	0				
	100	98	90	82	78	70	68	60	52	48	34	28	18	12	8	0			
	50	98	88	86	80	78	72	66	58	52	44	38	28	20	12	2	0		
نجم البحر (2)	1000	96	84	78	66	56	48	40	28	20	16	8	0						
	750	96	84	76	68	60	52	42	40	26	18	6	0						
	500	98	88	80	72	66	58	48	36	30	24	12	4	0					
	250	98	90	82	78	66	62	52	46	38	28	16	6	0					
	100	98	90	84	76	70	66	60	54	50	34	26	20	12	2	0			
	50	98	92	80	70	60	56	50	44	38	30	22	14	8	4	0			
مجموعة السيطرة	98	96	96	90	88	82	76	70	62	58	50	44	38	32	26	18	10	6	