doi.org/10.52866/esj.2021.03.17.06

تأثير الكوليسين الناتج من بكتريا *E. coli* تجاه بعض أنواع البكتريا السالبة لصبغة كرام والمعزولة من أخماج المسالك البولية

عذراء علي عبد السلام ، محمود خلف صالح
جامعة تكريت / كلية التربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة

الخلاصة

يهدف البحث الى الكشف عن عزلات (بكتريا القولون *Escherichia coli*) المنتجة للكوليسين واختبار تأثيره على ثلاثة أنواع من البكتريا السالبة لصبغة كرام والمعزولة من عينات الادرار للمراجعين الى مستشفى صلاح الدين العام، استخدمت طريقة أقراص الاكار للكشف عن عزلات بكتريا E.coli المنتجة للكوليسين. أظهرت النتائج ان عزلة واحد فقط أعطت نتيجة موجبة، وبعد الكشف عن العزلة المنتجة تم استخلاص الكوليسين والكشف عن فعاليته ومن ثم تقدير تركيز البروتين بالاستعانة بالمنحنى القياسي لألبومين المصل البقري، اظهرت النتائج ان الكوليسين غير المخفف كان ذو تركيز بروتيني مقداره 550 ml /ug وقد اعطى فعالية تثبيطية بنسبة ٪100 على عزلات بكتريا *E.coli*، بينما كانت نسبة الفعالية التثبيطية له على كل من عزلات بكتريا *P. aeruginosa*، *K. pneumoniae* هي ٪85.7 و ٪66.6على التوالي، اما بالنسبة للتخافيف المحضرة فكان تخفيف الكوليسين 1/ 2 ذو تركيز بروتيني قدره 240 ml /ug وأعطى فعالية تثبيطية لكل من عزلات بكتريا *K. pneumoniae*، *P. aeruginosa* ، *E.coli* بنسبة ٪81.25 و ٪71.4 و ٪50 على التوالي ، اما الكوليسين المخفف بنسبة 1/ 4 فكان ذو تركيز بروتيني مقداره 125 ml /ug و كانت الفعالية التثبيطية لكل من بكتريا *K. pneumoniae* ، *P. aeruginosa* ، *E.coli* بنسبة ٪75 و ٪71.4 و ٪33.3 على التوالي ، اما الكوليسين المخفف بنسبة 1/ 8 فأعطى تركيز بروتيني قدره 50 ml /ug وفعالية تثبيطية على كل من *E.coli*، *P. aeruginosa*، *K. pneumoniae* بنسبة ٪50 و ٪42.8 و ٪16.6 على التوالي.

كلمات مفتاحية: *P. aeruginosa* ، *K. pneumoniae* ، Colicin ، *E.coli*.

Effect of colicin from *E. coli* product on some species of gram-negative bacteria isolated from Urinary Tract infections

Athraa Ali Abdulsalam , Mahmood Khalaf Saleh
University of Tikrit/ College of Education for Pure science - Biology Department

Abstract

The paper aims to detect the isolates of *Escherichia coli* producing colicin and test the effect of this colicin after its extraction on three species of Gram-negative bacteria isolated from urine samples for the reviewers to Salah El-Din General Hospital, A cup assay was used to detect isolates of colicin-producing *E.coli* as only one isolate gave a positive result, After the isolation produced was detected, colicin was extracted, its effectiveness detected, and then the protein concentration was estimated using the standard curve of bovine serum albumin. The results showed that undiluted colicin had a protein concentration of 550 ml / ug and gave inhibitory efficacy of 100% on *E. coli* isolates, while the inhibitory effect with *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae* isolates was 85.7% and 66.6% respectively. While the dilution of colicin 1/2 with a protein concentration of 240 ml / ug gave inhibitory effect to E.coli, P. aeruginosa, and K. pneumoniae isolates was (81.25%, 71.4% and 50%) respectively, As for colicin diluted in a ratio of 1/4, it had a protein concentration of 125 ml / ug, while the inhibitory activity for E.coli, P.aeruginosa, and K. pneumoniae was 75%, 71.4% and 33.3% respectively. At 1/8 it gave a protein concentration of 50 ml / ug and an inhibitory effect on *E.coli*, *P. aeruginosa*, and *K. pneumoniae* was 50%, 42.8% and 16.6% respectively.

Key words: *E.coli*, colicin, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* .

المقدمة

تعد بكتريا *E.coli* من اهم افراد العائلة المعوية وتوجد كفلورا طبيعية في الجهاز الهضمي كما انها تعد من البكتريا الانتهازية المرضية حيث تسبب العديد من الامراض والتي تشكل حوالي ٪90 من إصابات المسالك البولية، و تمتلك بكتريا *E.coli* العديد من عوامل الضراوة وتعتبر هذه العوامل سبب في امراضيتها ومن هذه العوامل امتلاكها لحاملات الحديد siderophores، عامل التنخر السمي cytotoxic necrotizing factor، إضافة الى التراكيب السطحية كالأسواط flagella والمحفظة capsule والسكريات الدهنية المتعددة lipopolysaccharides، الاهداب Pilli، الشعيرات Fimbrae [1]، كما تمتلك هذه البكتريا البكتريوسين الذي يدعى Colicin والذي يعمل على قتل الاجناس البكتيرية الأخرى مما يؤدي الى حماية البكتريا [2]، والكوليسينات هي عبارة عن بروتينات ذات وزن جزيئي عال تمتلك خواص مضادة للجراثيم، تنتج بواسطة بكتريا العائلة المعوية وتكون محمولة على بلازميدات خاصة تسمى بالعوامل المكونة للكوليسين [3]، ويمكن ان تعتبر الكوليسينات بدائل فعالة للمضادات الحيوية [4]، وذلك لعدة أسباب منها اختلاف أنشطة قتل الخلايا للكوليسين التي تعطل المكونات الخلوية [5]، كما قد يكون للكوليسين القدرة على قتل الخلايا غير النامية المسمى persisters والتي تستطيع النجاة تحت تأثير المضادات الحيوية عن طريق الدخول في حالة سبات ايضية [6]، والسبب الثاني في كون الكوليسينات بدائل فعالة للمضادات الحيوية هو انها قد لا تكون مواد سامة للإنسان [7]، والسبب الثالث فهو ان حركة قتل الكوليسين للخلايا تكون سريعة وهذا قد يقضي على البكتريا الضارة خلال مراحل النمو المبكرة [8، 9].

ان هدف الدراسة هو استخلاص الكوليسين من عزلة *E.coli* واختبار فعاليتها التثبيطية تجاه بعض الأنواع السالبة لصبغة كرام المعزولة من إصابات المسالك البولية.

المواد وطرق العمل

تشخيص العزلات البكتيرية: تم تشخيص العزلات البكتيرية قيد الدراسة باستخدام الطرق التالية:

1. **التشخيص البكتريولوجي الاولي:** تم بالاعتماد على صفات البكتريا من حيث الشكل، الحجم، اللون، القوام، الرائحة، تخمير سكر اللاكتوز على اكار المكونكي، إضافة الى الفحص المجهري وذلك بعد صبغها بصبغة كرام Gram Stain ثم فحصها تحت المجهر الضوئي باستخدام العدسة الزيتية ذات القوة التكبيرية 100X وملاحظة حجم وشكل الخلايا البكتيرية وطريقة تجمعها وتفاعلها مع صبغة كرام.

2. **الاختبارات الكيموحيوية**

3. **تأكيد التشخيص بنظام الفايتك:** لغرض التأكد من تشخيص العزلات البكتيرية استخدم نظام vitek-2 compact system وحسب تعليمات الشركة المجهزة له وفقا لما جاء في [10].

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

تم اتباع طريقة كل من [11، 12]. والموصوفة من قبل[13] في دراسة حساسية العزلات الجرثومية للمضادات الحيوية وذلك باستخدام 10 أنواع من أقراص المضادات الحيوية وهي:

Ampicillin , Cefotaxime Gentamicin, Imipenem, Levofloxacin, Ciprofloxacin, Tobramycin Amikacin, Clavulanic acid/ Amoxicillin, Tetracycline, .

التحري عن العزلات المنتجة للكوليسين

للتحري عن العزلات البكتيرية المنتجة للكوليسين تم استخدام طريقة أقراص الاكار المذكورة في [14].

استخلاص الكوليسين من بكتريا *E.coli*

استخلصت الكوليسينات اعتماداً على طريقة [15] وحسب الخطوات التالية:-

1. تم زرع عدة انابيب اختبار تحوي كل منها على 2.5 مل من وسط BHI السائل المعقم، حيث لقحت بالعزلة المنتجة للكوليسين وحضنت بدرجة حرارة 37مْ لمدة 18 ساعة.
2. حضر وسط BHI السائل مضافاً اليه ٪5 كليسيرول ووزع بعدد من الدوارق المناسبة الحجم بمعدل 100 مل لكل دورق ثم عُقمت بالمؤصدة لمدة 15 دقيقة وترك ليبرد.
3. في اليوم التالي تم تلقيح كل وسط في الخطوة السابقة بأنبوبة اللقاح المحضرة في الخطوة الاولى وعلى التوالي، ثم حضنت الدوارق الملقحة في حاضنة هزازة Shaking incubator بدرجة حرارة 37 مْ حتى وصل عدد الخلايا حوالي 3×108 خلية/ مل بعد 14 ساعة حضن وبسرعة 150-200 دورة/ دقيقة.
4. بعد انتهاء فترة الحضن، أضيفت مادة المايتومايسين C- المحفزة على إنتاج الكوليسين بتركيز نهائي مقداره (2) ملغم/ مل إلى الدوارق جميعاً، ثم أعيدت إلى الحاضنة الهزازة لمدة (3) ساعات اخرى.
5. نبذ المزروع مركزياً بجهاز الطرد المركزي المبرد بدرجة حرارة 4مْ وبسرعة 7000 دورة/ دقيقة ولمدة 30 دقيقة، ثم جمع الراشح وحفظ بدرجة حرارة 4مْ لحين الاستعمال.
6. لتعقيم الكوليسين تم إضافة ٪10 من الكلوروفورم اليه وخلط بلطف ثم ترك ليترسب لمدة 10 دقائق عند درجة حرارة 4مْ بعدها تم فصل الكوليسين عن الكلوروفورم بواسطة ماصات معقمة، ومن اجل تبخير بقية الكلوروفورم ترك لعدة دقائق في ظروف عالية التعقيم ثم زرع 0.1 مل من الكوليسين على الاكار المغذي وحضن عند درجة حرارة 37مْ لمدة 18-24 ساعة.
7. أخذت عينات من الراشح المعقم وقيست فعالية الكوليسين فيها إضافة الى تركيز البروتين لكل منها.
8. ثم بعد ذلك تم قياس فعالية الكوليسينات المحضرة باتباع الطريقة الموصوفة في [16] وقياس تركيز البروتين فيها باستخدام المنحنى القياسي لألبومين المصل البقري.

تأثير كوليسين بكتريا *E.coli* على الأنواع المعزولة

لدراسة تأثير الكوليسين على الأنواع البكتيرية السالبة المشخصة استخدمت التخافيف النصفية المتسلسلة باستعمال المحلول الملحي الوظيفي، وتتمثل الفعالية بأعلى تخفيف اعطى منطقة تثبيط وتقاس بـ (وحدة/ مل)، وبالإضافة الى التركيز الأصلي للكوليسين تم استخدام ثلاثة أنواع من التخافيف بإضافة 1 مل من الكوليسين الى 9 مل من المحلول الملحي الوظيفي لإعطاء التركيز الأول 1/ 2 ومن ثم اخذ 1 مل من التركيز الأول واضيف الى 9 مل من المحلول الملحي الوظيفي لإعطاء التركيز الثاني 1/ 4 وهكذا، اما بالنسبة لقياس الفعالية فقد تم باستخدام طريقة الحفر بعد ان تم تقدير تركيز البروتين لكل تخفيف.

النتائج والمناقشة

العزل والتشخيص

اظهرت النتائج عزل وتشخيص 30عزلة سالبة لصبغة كرام، تضمنت الأنواع *Escherichia coli* *Klebsiella pneumoniae*، *Pseudomonas aeruginosa*، كما مبين في الجدول (1).

جدول (1) اعداد ونسب الأنواع البكتيرية المعزولة قيد الدراسة

No.	Bacterial isolates	No.	Percentage ٪
1	*E.coli*	17	٪ 56.6
2	*Klebsiella pneumoniae*	6	٪ 20
3	*Pseudomonas aeruginosa*	7	٪ 23.3
	Total	30	٪100

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

اظهرت الأنواع البكتيرية قيد الدراسة تباينا واضحا في مقاومتها للأنواع المختلفة من المضادات الحيوية حيث كانت بكتريا *E.coli* مقاومة بنسبة ٪100 للمضادين Amoxicillin /Clavulanic acid و Ampicillin كما اظهرت حساسية بنسبة 88.2 ٪ و 82.3 ٪ لكل من المضادين Imipenem و Gentamicin على التوالي، كما كانت هذه البكتريا حساسة وبنسب متفاوتة لكل من Levofloxacin وTobramycin وTetracycline وبالنسب 58.8 ٪، 52.9 ٪، 47.0 ٪على التوالي.

اما بالنسبة للنوع *Klebsiella pneumoniae* فقد اظهر هو الاخر تبايناً في مقاومته وحساسيته للمضادات المستخدمة حيث كانت هذه البكتريا مقاومة لكل من المضاد Ampicillin و Amoxicillin بنسبة 100 ٪ ، وأظهر حساسية لمضاد Imipenem بنسبة83.3 ٪ وبنسبة 66.6 ٪ لكل من المضادين Gentamicin و Tetracycline.

وأظهرت عزلات بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* مقاومة بنسبة ٪100 لكل من المضادات Amoxicillin /Clavulanic acid Ampicillin ، Cefotaxime، بينما كانت حساسة بنسبة 100 ٪ لكل من المضادين ، Gentamicin Imipenem و85.7 ٪ للمضاد Tobramycin بينما كانت نسبة الحساسية 71.4 ٪ لكل من المضادين Ciprofloxacin ، Levofloxacin ، وكما موضح في الجدول (2).

جدول (2) النسبة المئوية لحساسية الأنواع البكتيرية للمضادات الحيوية قيد الدراسة

Bacterial isolates	Antibiotics									
	CIP	AM	GN	IMP	AK	TE	CTX	TOB	AMC	LEV
E.coli	30	0	82.3	88.2	17.4	47.0	5.8	52.9	0	58.8
K.pneumoniae	100	0	66.6	83.3	100	66.6	16.6	100	0	50
P.aeruginosa	71.4	0	100	100	14.2	14.2	85.7 0		0	71.4

نتائج الكشف عن عزلات بكتريا *E.coli* المنتجة للكوليسين

من الملاحظ في هذه الدراسة ان عزلة واحدة فقط من عزلات *E.coli* البالغ عددها 17 عزلة اظهرت قابلية او قدرة على انتاج الكوليسين الامر الذي لم يتفق مع أي من الدراسات السابقة فقد توصل [17] الى ان نسبة عزلات بكتريا *E.coli* المنتجة للكوليسين بلغت 75.4 ٪، و أشار كل من [18] و [19] الى ان نسبة انتاج الكوليسين من قبل عزلات بكتريا *E.coli* قد وصلت الى 60 ٪ ، 33.3 ٪ على التوالي . وتوصل [20] في دراسته الى ان عزلات بكتريا *E.coli* أعطت اعلى نسبة لإنتاج الكوليسين من بين الأنواع الأخرى المعزولة وصلت الى 39.29 ٪.

تأثير الكوليسين على بكتريا *E.coli*

أظهرت النتائج تباينا في اقطار التثبيط بالنسبة للتخافيف المحضرة ضد عزلات بكتريا *E.coli* والبالغ عددها 16 عزلة وبالنظر الى جدول النتائج تبين ان التركيز الأصلي للكوليسين وبتركيز بروتين قدره 550 ml /ug كان ذا تأثير تثبيطي بنسبة 100٪ على العزلات المدروسة، وتراوحت اقطار التثبيط بين 17–21 سم، اما بالنسبة للكوليسين ذو التخفيف 1/2 وبروتين قدره 240 ml /ug كان التأثير التثبيطي له بنسبة 81.25٪، يوضح الجدول (3) ان 3 عزلات من *E.coli* لم يظهر الكوليسين أي فعالية تثبيطيه تجاهها وتراوحت اقطار التثبيط بين 14–20 ملم، وكان التأثير التثبيطي للكوليسين المخفف الى 1/4 وبروتين قدره 125 ml /ug بنسبة 75٪ واظهر هذا التخفيف للكوليسين عدم فعالية تثبيطيه تجاه 4 عزلات وتراوحت اقطار التثبيط له بين 10–17 ملم، كما واظهر الكوليسين ذو التخفيف 1/8 وبروتين مقداره 50 ml /ug فعالية تثبيطية بنسبة 50 ٪ ضد العزلات المدروسة بينما لم يستطع اظهار أي فعالية تثبيطيه تجاه 8 عزلات منها، وتراوحت اقطار التثبيط بين 10 – 14 ملم.

جدول (3) التأثير التثبيطي للكوليسين المستخلص على عزلات بكتريا E.coli

Colicin					
Solution		Colicin	1/2	1/4	1/8
Protein ug /ml		550	240	125	50
Inhibition Zones (mm)	E1	21	18	14	10
	E2	19	18	16	13
	E3	20	17	14	11
	E4	17	16	13	0
	E5	20	18	17	12
	E6	19	16	14	0
	E7	17	0	0	0
	E8	17	15	10	0
	E9	16	14	10	0
	E10	20	19	16	13
	E11	20	20	15	10
	E12	19	17	16	12
	E13	21	18	15	11
	E14	18	15	0	0
	E15	18	0	0	0
	E16	20	0	0	0

تأثير الكوليسين على عزلات *Klebsiella pneumoniae*

اظهر الكوليسين المستخلص من بكتريا *E.coli* تفاوتاً في التأثير التثبيطي تجاه بكتريا *K. pne moniae* المعزولة والبالغ عددها 6 عزلات حيث أظهرت النتائج المبينة في الجدول (4) ان التأثير التثبيطي للكوليسين غير المخفف وبتركيز بروتيني قدره 550 ml /ug كان بنسبة 66.6 ٪. ومن الملاحظ أيضا انه لم يظهر اي تأثير للكوليسين على اثنين من عزلات هذه البكتريا وتراوحت اقطار التثبيط بين 14-20ملم، اما فيما يخص الكوليسين المخفف الى 1/2 وبتركيز بروتيني قدره 240 ml /ug فكان التأثير التثبيطي له 50٪ كما لم تظهر أي فعالية تثبيطية تجاه 3 عزلات منها وتراوحت اقطار التثبيط بالنسبة لهذا التخفيف بين 13-19 ملم، استطاع الكوليسين المخفف الى 1/4 وبتركيز بروتيني قدره 125 ml /ug اظهار تأثير تثبيطي بنسبة 33.3٪ ولم ينجح في اظهار أي فعالية تجاه 4 من العزلات المدروسة و تراوحت اقطار التثبيط له بين 10-17ملم، اما بالنسبة للكوليسين المخفف الى 1/8 وبروتين قدره 50 ml /ug فقد اظهر تأثيره على عزلة واحدة فقط من أصل 6 عزلات أي بنسبة 16.6 ٪.

جدول (4) التأثير التثبيطي للكوليسين المستخلص من بكتريا *E.coli* على عزلات بكتريا Klebsiella pneumoniae

Colicin		Inhibition Zones (mm)					
Solution	Protein ug /ml	K1	K2	K3	K4	K5	K6
Colicin	550	0	16	20	17	0	14
1/2	240	0	13	19	0	0	13
1/4	125	0	10	17	0	0	0
1/8	50	0	0	13	0	0	0

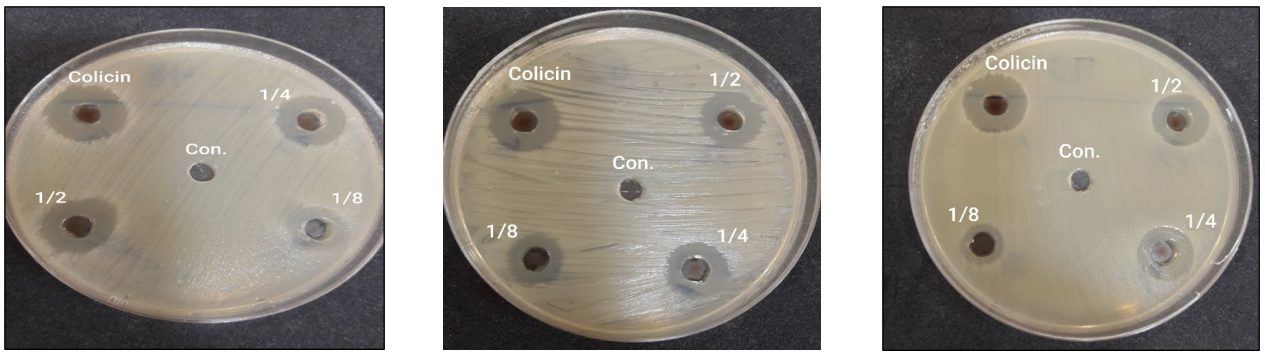
تأثير الكوليسين على عزلات *Pseudomonas aeruginosa*

اظهر الكوليسين تفاوتاً تثبيطياً تجاه عزلات النوع *P. aeruginosa* والبالغ عددها 7 عزلات فقد أوضح الجدول (5) ان الكوليسين غير المخفف وبتركيز بروتيني قدره 550 ml /ug كانت نسبة التأثير التثبيطي له 85.7 ٪ ولم يظهر أي تأثير للكوليسين على عزلة واحدة فقط من العزلات المدروسة وتراوحت اقطار التثبيط بين 14-21ملم، بينما كانت النسبة المئوية للتأثير التثبيطي للكوليسين المخفف الى 1/2 وبتركيز بروتيني قدره 240 ml /ug 71.4 ٪ وكانت اثنان من العزلات مقاومة وتراوحت اقطار التثبيط بين 13-19 ملم، اما فيما يخص الكوليسين المخفف الى 1/4 وبتركيز بروتيني قدره 125 ml /ug فكان التأثير التثبيطي له 71.4 ٪ أيضا وكانت عزلتان من أصل 7 عزلات مقاومة للكوليسين وتراوحت اقطار التثبيط بين 9-18ملم، واستطاع الكوليسين المخفف الى 1/8 وبتركيز بروتيني قدره 50 ml /ug اظهار تأثيراً تثبيطياً بنسبة 42.8 ٪ وتراوحت اقطار الأقطار التثبيطية له بين 10-13ملم.

جدول (5) التأثير التثبيطي للكوليسين المستخلص من بكتريا ***E.coli*** على عزلات بكتريا ***Pseudomonas aeruginosa***

Colicin		Inhibition Zones (mm)						
Solution	Protein ug /ml	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
Colicin	550	21	0	15	19	14	18	20
1/2	240	19	0	13	17	0	15	17
1/4	125	18	0	9	12	0	12	13
1/8	50	13	0	0	8	0	10	0

تبين ان نتائج الدراسة الحالية قد اتفقت مع ما جاء به [19] حيث وجد ان عزلات كل من بكتريا- *K. pne moniae* و *P. aeruginosa* كانت اكثر مقاومة للكوليسين من عزلات بكتريا *E.coli*، وقد يكون السبب في ذلك عائد الى ان كوليسين بكتريا E.coli يكون نشطا ضد السلالات ذات الصلة القريبة منها اكثر من السلالات الأخرى [21]. وتوصل الباحث [22] ان الكوليسين المستخلص من بكتريا *E.coli* المعزولة من الادرار أظهرت فعالية تثبيطية واسعة ضد العديد من الأنواع البكتيرية حيث كانت النسب التثبيطية لكل من عزلات بكتريا *E.coli* و *K.pneumoniae* و *P. aeruginosa* هي (52.01 ٪، 70.1 ٪، 47.8 ٪) على التوالي، إضافة الى ذلك اتفقت النتائج الحالية مع الدراسة التي قام بها كل من [23، 24، 25، 26] حيث وجدوا ان الكوليسين المستخلص من بكتريا *E.coli* قد اظهر فعالية تثبيطية تجاه العديد من أنواع البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام.



(c) *P. aeruginosa* (a) *E.coli* (b) *K. pneumoniae*

شكل (1) التأثير التثبيطي للكوليسين على الأنواع البكتيرية قيد الدراسة

المقارنة بين تأثير الكوليسين والمضادات الحيوية على الأنواع البكتيرية قيد الدراسة

يوضح الجدول (6) ان تركيز الكوليسين الأصلي اعطى اعلى نسبة تثبيطية لعزلات النوع *E.coli* بلغت 100 ٪ مقارنة مع التخافيف المحضرة، وبالمقارنة أيضا مع المضادات الحيوية المستخدمة حيث كانت اعلى نسبة تثبيطية هي 88.2 ٪ بالنسبة للمضاد الحيوي Imipenem، اما فيما يخص التخفيف المحضرة 1/ 2، 1/ 4، 1/ 8 فكانت النسبة المئوية التثبيطية لها 81.25٪، 75٪، 50٪ على التوالي وقد اعطى نوعان من المضادات نسبة تثبيطية اعلى منها وهما المضادين Imipenem و Gentamicin بنسبة (88.2 ٪، 82.3 ٪) على التوالي.

اما بالنسبة لعزلات بكتريا *K. pneumoniae* وفيما يخص التركيز الأصلي للكوليسين وبنسبة تثبيطية مقدارها 66.6 ٪ إضافة الى التخافيف المحظرة 1/ 2، 1/ 4، 1/ 8 والتي كانت النسب المئوية التثبيطية لها 50٪، 33.3 ٪، 16.6 ٪ على التوالي، يتبين من الجدول (6) ان هناك ثلاثة أنواع من المضادات الحيوية أعطت نسبة تثبيطية اعلى وهي Ciprofloxacin و Tobramycin و Amikacin وكانت النسبة التثبيطية لها 100 ٪ كما لم يظهر نوعان من المضادات أي نسبة تثبيطية تذكر وهما المضادين Ampicillin و Amoxicillin Clavulanic acid وكانت 0 ٪

كما تظهر النتائج لعزلات بكتريا – *P. aer ginosa* والمبينة في الجدول (6) ان هناك نوعان من المضادات الحيوية اظهرت فعالية تثبيطية بنسبة 100 ٪ وهما Gentamicin و Imipenem وهذه النسبة كانت اعلى من النسب التثبيطية لكل من التركيز الأصلي للكوليسين إضافة الى التخافيف المحضرة والتي كانت نسبتها التثبيطية 85.7٪، 71.4٪، 71.4٪، 42.8٪، بينما لم يظهر كل من المضاد الحيوي Cefotaxime و Ampicillin و Amoxicillin Clavulanic acid أي فعالية تثبيطية تذكر اذ كانت نسبة التثبيط 0 ٪. كما اظهر المضادان Ciprofloxacin و Levofloxacin نسبة تثبيطية مماثلة للتخفيف 1/ 2.

وفي دراسات سابقة توصل [27] الى ان حساسية المضادات الحيوية كانت كبيرة حيث تراوحت بين 34 ٪ – 90 ٪ بينما كانت حساسية الكوليسين محدودة للغاية حيث تراوحت بين 0 ٪ – 11 ٪، كما وجدا ان معظم حساسية الكوليسين المكتشفة ناتجة عن كوليسين واحد (UTI45) مثبط لعزلات جنسي Klebsiella و Citrobacter، وكلاهما مرتبطان ارتباطًا وثيقًا بالنوع *E.coli*.

جدول (6) النسبة المئوية للفعالية التثبيطية لكل من كوليسين بكتريا **E.coli** والمضادات الحيوية المستخدمة

	Colicin			Antibiotics									
	Colicin	1/2	1/4	1/8	TE	CIP	CTX	AM	TOB	GN	AMC	IMP	LEV	AK
E.coli	100%	81.25%	75%	50%	47.0%	17.6%	5.8%	0%	52.9%	82.3%	0%	88.2%	58.8%	17.4%
K.pneumoniae	66.6%	50%	33.3%	16.6%	66.6%	100%	16.6%	0%	100%	66.6%	0%	83.3%	50%	100%
P. aeruginosa	85.7%	71.4%	71.4%	42.8%	14.2%	71.4%	0%	0%	100%	100%	0%	100%	71.4%	14.2%

المصادر

1. Terlizzi, M. E.; Gribaudo, G. and Maffei, M. E. (2017). Uropathogenic Escherichia coli (UPEC) Infections: Virulence Factors, Bladder Responses, Antibiotic, and Non-Antibiotic Antimicrobial Strategies. Front Microbiol. 8(1566): 1- 23.
2. Soltani, S.; Emamie, A. D.; Dastranj, M; Farahani, A.; Davoodabadi, A. and Mohajeri, P. (2018). Role of Toxins of Uropathogenic Escherichia coli in Development of Urinary Tract Infection. JPRI. 21(1): 1- 11 .
3. Morlon, J.; Loubes R.L.; Varenne S.; Chartier M., and Lazunski C. (1983). Complete nucleotide sequence of the structural gene for colicin A, a gene translated of non-uniform rate.J.Mol. Biol.170- 172,285 .
4. Cotter,P.D.; Ross,R.P. and Hill,C. (2013) Bacteriocins - a viable alternative to antibiotics? Nat. Rev. Microbiol., 11, 95–105.
5. Walsh,C. (2000) Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. Nature, 406, 775–781.
6. Fisher,R.A.; Gollan,B. and Helaine,S. (2017) Persistent bacterial infections and persister cells. Nat. Rev. Microbiol., 15, 453–464.
7. Cascales, E.; Buchanan, S.K.; Duche, D.; Kleanthous, C.; Lloubes, R.; Postle, K., Riley, M.; Slatin, S. and Cavard, D. (2007). Colicin biology. Microbiology and molecular biology reviews: MMBR, 71, (1): 158229-, ISSN 1092- 2172.

8. Jakes, K. S. (2017). The colicin E1 TolC box: Identification of a domain required for colicin E1 cytotoxicity and TolC binding. Journal of bacteriology, 199(1), e00412- 16.

9. Braun,V.; Frenz,J.; Hantke,K. and Schaller,K. (1980) Penetration of colicin M into cells of Escherichia coli. J. Bacteriol., 142,162–168.

10. Fritsche, T. R.; Swoboda, S. E.; Olson, B. J.; Moore, F. M.; Meece, J. K. and Novicki, T. J. (2011). Evaluation of The Sensititre ARIS2x and Vitek 2 Automated Systems for Identification of Bacterial Pathogens Recovered from Veterinary Specimens. Marshfield labs. Lacrosse Univ. Wisconsin. USA.

11. Bauer, A. W.; Kirby, W. M. ; Sherris, J. C. and Turch, M. (1966). Susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. Pthol.,45: 493- 496.

12. Rahim ,B.; Zahra, B.; and Hadi S. .(2013). Impact of Medical Plants as Feed additives Australian .J. Basic& App. Sci., 7 (6): 420- 426 .

13. Vandepitte, J. ; Engback, K. ; Piot , P. and Heuk ,C.(1991) Basic Laboratory Produres in Clinical Bacteriology World Health Organization ,Geneva. p.60- 65.

14. القصاب، عبد الجبار عمر والخفاجي، زهرة محمود، (1992)، تأثير الظروف المختلفة على الفعالية التثبيطية للعصيات اللبنية المعوية تجاه البكتريا المعوية المسببة للإسهال، مجلة العلوم الزراعية العراقية، المجلد 3، العدد (1) ص 18-26.

15. Herschman, H. R. and Helinski, D. R. (1967). Purification and Characterization of Colicin E2 and Colicin E3. J. of Biological Chemistry, 242: 5360- 8.

16. Smajs, D.; Pilsl, H. and Braun, V. (1997) Colicin U, Anovel Colicin Produced by Shigella boydii. J. of Bacteriol., 179: 4919- 4928.

17. العتيبي، دعاء عدنان كاظم. (2013). دراسة بكتريولوجية لبعض أنواع العائلة المعوية المعزولة من صالات مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة. رسالة ماجستير. كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ديالى.

18. صباح، زمن عطية (2018). دراسة جزيئية لبكتريا *Escherichia coli* المعزولة من اخماج مختلفة والتحري عن عاثياتها البكتيرية. رسالة ماجستير. كلية العلوم/ قسم علوم الحياة. جامعة ديالى.

19. AL-Mawlawi, Z. Sh. S. (2017). Biological and antibacterial activity of synergistic effect of colicin and gold nanoparticles. College of Science. University of Baghdad.

20. عبيد، هند حسين (2016). التحري عن انتاج البكتروسين وتحفيز انتاجه بواسطة مستخلص نبات Brassica rapa. مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية. 3-28.

21. Luirink, J. O.; Clark, D. M., Ras, J.; Verschoor, E. J.; Stegehuis, F.; De Graaf, F. K.; and Oudega, B. (1989). pCloDF13-encoded bacteriocin release proteins with shortened carboxyl-terminal segments are lipid modified and processed and function in release of colicin DF13 and apparent host cell lysis. Journal of bacteriology, 171(5), 2673-2679.

22. AL-Dhumaina, T. F. H. (2009). Extraction and purification of colicin produced by Escherichia coli isolated from urinary tract infection. al-taqani, 22(4), 73- 81.

23. Ridley, H. and Lakey, J. H. (2015). Antibacterial toxin colicin N and phage protein G3p compete with TolB for a binding

site on TolA. Microbiology,161:503-515.

24. Tishvarian ,J . A. M. (1996). Optimazation ,partial purification and characterization of colicin produced by local E.coli isolated from urinary tract infection .M.Sc. Thesis . College of Medicine. Al-Mustansiriyah University.
25. Visca, P.E.; Filtici, M. R.;Anastoasio, C.;Vetriani, M. ; Fantasia, M. andori,N. (1991).:Sidrophore production by Salmonella spp isolated from different sources. FEMS. Microbiol Lett. 63:2- 3.
26. Pugsely ,A.P. and Reevs,P. (1977).:Comparsion of colicin B-K260 and DCA23: Purification and characterization of colicin and examination of colicin,Immunity in the producing strain. Antimicrob. Agents. Chemother. 11:345- 358.
27. Roy, S. M., & Riley, M. A. (2019). Evaluation of the potential of colicins to prevent extraluminal contamination of urinary catheters by Escherichia coli. International journal of antimicrobial agents, 54(5), 619- 625.