مجله دنیای میکروب‌ها
سال چهارم، شماره سوم و چهارم (پیاپی ۱۱)، زمستان ۱۳۹۰
صفحات ۸۳-۷۷

Original Article

مهار مرگ بچه موش ناشی از تاثیر باکتری *اشریشیا کلی* K99 توسط باکتری‌های کلی‌سینوژنیک

فاطمه گلستان[۱]، یحیی تهمتن[۲*]، معصومه حیاتی[۳]، الهام معظمیان[۴]

[۱]کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی، [۲]استادیار، گروه باکتری شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، شیراز، [۳]کارشناس ارشد، گروه باکتری شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، شیراز، [۴]استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات فارس، گروه میکروبیولوژی

چکیده

سابقه و هدف: باکتری *اشریشیا کلی* سویه K99 مهم‌ترین عامل ایجاد کننده اسهال در گوساله‌ها می‌باشد. کلی‌سین یکی از انواع باکتریوسین‌ها می‌باشد که به‌وسیله سویه‌های مختلف *اشریشیا* تولید شده و خاصیت کشندگی بر روی باکتری‌های همان نوع یا باکتری‌های مشابه دارد. این مطالعه با هدف بررسی باکتری‌های کلی‌سینوژنیک به عنوان روشی در درمان عفونت *اشریشیا کلی* سویه K99 انجام گرفت

مواد و روش‌ها: این مطالعه به صورت تجربی بر روی ۱۹۲ بچه موش BALB/c، در ۲ گروه تست وکنترل انجام شد. موش‌های گروه ۱ کنترل تنها سوسپانسیون باکتری کلی‌سینوژنیک و به موش‌های گروه ۲ کنترل تنها سوسپانسیون باکتری *اشریشیا کلی* K99 خورانده شد. به موش‌های گروه تست نیز پس از خوراندن سوسپانسیون باکتری کلی‌سینوژنیک، در فواصل زمانی مختلف سوسپانسیون باکتری *اشریشیا کلی* K99 داده شد. در نهایت میزان مرگ و میر بچه موش‌ها در گروه‌های کنترل و تست مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج این بررسی نشان داد که تمامی بچه موش‌ها در گروه ۱ کنترل زنده ماندند. اما در ۸۳٪ (۴۰ مورد) از بچه موش‌های گروه ۲ کنترل، به دلیل حضور سم ناشی از باکتری *اشریشیا کلی* K99، مرگ و میر مشاهده گردید. از طرفی میزان مرگ و میر در بچه موش‌های موجود در گروه‌های تست نیز به طور چشمگیری کاهش یافته بود. همچنین مشخص گردید که خاصیت مهار کنندگی باکتری‌های کلی‌سینوژنیک به غلظت باکتری و زمان تلقیح بستگی دارد.

نتیجه گیری: با توجه به نقش مهم باکتری‌های کلی‌سینوژنیک در مهار باکتری *اشریشیا کلی* K99، کلی‌سین‌ها می‌توانند به عنوان گزینه‌ای مناسب در درمان بیماری‌های عفونی ناشی از این سویه باکتریایی مورد توجه قرار گیرند. از طرفی کلی‌سین‌ها می‌توانند در آینده نزدیک به عنوان یک پروبیوتیک، جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های متداول باشند.

واژگان کلیدی: *اشریشیا کلی* K99، کلی‌سین، باکتری کلی‌سینوژنیک

دریافت مقاله: تیر ۱۳۹۰ *پذیرش برای چاپ:* شهریور ۱۳۹۰

*) آدرس برای مکاتبه: شیراز، میدان صنایع، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، گروه باکتری شناسی

تلفن: ۰۷۱۱-۶۲۴۰۳۳۱، نمابر: ۰۷۱۱-۶۲۴۰۲۰۱

پست الکترونیک: yahyatahamtan@yahoo.com

مقدمه

بروز بیماری اسهال در حیوانات از جمله گوساله‌ها به طور مستقیم (به علت مرگ گوساله‌ها و هزینه درمان) و غیرمستقیم (کاهش رشد دام پس از بیماری) موجب خسارات اقتصادی فراوانی در صنعت دامپروری می‌گردد (۱). باکتری *اشریشیا کلی* سویه K99 مهم‌ترین عامل ایجاد کننده اسهال گوساله‌ها در روزهای اول زندگی می‌باشد. این باکتری توسط فاکتور چسبنده K99 به سلول‌های اپیتلیال روده متصل و از طریق تولید توکسین STa باعث ایجاد اسهال شدید در گوساله‌ها می‌گردد (۲).

بیش از ۵۰ سال است که از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان راه حلی مناسب در کنترل عفونت‌های باکتریایی در حیوانات استفاده می‌گردد (۳). اما امروزه مشاهده مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بسیاری از باکتری‌های شایع در حیوانات، نگران کننده می‌باشد. از طرفی به منظور جلوگیری از مقاومت‌های دارویی، کاهش استفاده از آنتی‌بیوتیک در حیوانات تنها در صورتی امکان پذیر است که یک راه حل جایگزین ضدمیکروبی در دسترس باشد. یکی از این مکانیسم‌ها استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد که با تولید باکتریوسین می‌توانند از رشد باکتری‌های پاتوژن جلوگیری نمایند (٤ و ٥).

با توجه به فعالیت ضدمیکروبی کلی‌سین و نیز عدم جذب آن توسط بافت‌های بدن حیوان، شاید بتوان از این نوع باکتریوسین در درمان عفونت‌های باکتریایی در حیوانات استفاده نمود (٥ و ٦). هدف از این پژوهش، بررسی باکتری‌های کلی‌سینوژنیک به عنوان روشی در درمان عفونت باکتریایی *اشریشیا کلی* سویه K99 در مدل موش آزمایشگاهی بود.

مواد و روش‌ها

الف) جمعیت مورد بررسی: این مطالعه به صورت تجربی بر روی ۱۹۲ بچه موش BALB/c، با سنین ۲ تا ۳ روز انجام گرفت. بچه موش‌ها به ٤ گروه (۲ گروه کنترل و ۲ گروه تست) تقسیم‌بندی شدند به طوری که در هر گروه ٤٨ موش مورد بررسی قرار گرفت. هر یک از گروه‌های تست (گروه A و گروه B) خود به ٦ زیر گروه (SA_1- SA_6) و (SB_1- SB_6) تقسیم بندی شدند، به طوری که در هر زیر گروه ۸ بچه موش بررسی گردید. در گروه A غلظت کمی از باکتری کلی‌سینوژنیک مورد بررسی قرار گرفت، در حالی که در گروه B غلظت بالایی از این باکتری بررسی شد.

ب) کشت باکتری: باکتری‌های کلی‌سینوژنیک در محیط TSB (Tryptic Soy Broth) کشت داده شدند و پس از ٢٤ ساعت غلظت آن‌ها بر اساس استاندارد مک‌فارلند در دو غلظت کم (۵×۱۰^{۷}) و غلظت زیاد (۵×۱۰^{۸}) تنظیم گردید. به منظور بیان بیشتر فیمبریه، باکتری‌های *اشریشیا کلی* سویه K99 در محیط مایع مینکا کشت داده شدند. پس از ٢٤ ساعت غلظت باکتری کشت داده شده بر اساس استاندارد مک‌فارلند بر روی پایین‌ترین غلظت کشنده این باکتری در بچه موش ($۱۰^{۷}$CFU/ml) تنظیم گردید.

ج) تلقیح دهانی باکتری‌های به بچه موش‌ها: به هر یک از ٤٨ موش موجود در گروه ۱ کنترل، تنها ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری کلی‌سینوژنیک (غلظت زیاد) خورانده شد. همچنین به هر یک از ٤٨ موش موجود در گروه ۲ کنترل، تنها ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری K99 خورانده شد. در گروه‌های تست نیز ابتدا به همه بچه موش‌های گروه‌های A و B (گروه A غلظت پایین و گروه B غلظت بالای باکتری کلی‌سینوژنیک) به طور جداگانه ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری کلی‌سینوژنیک خورانده شد. در ادامه به موش‌های زیر گروه ۱ از گروه A (SA_1) و به موش‌های زیر گروه ۱ از گروه B (SB_1) بلافاصله پس از خوراندن باکتری کلی‌سینوژنیک، ۰/۵ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری *اشریشیا کلی* سویه K99

(10^{7} CFU/ml) داده شد. سپس به مابقی زیر گروه‌های گروه A (SA_2- SA_6) و B (SB_2- SB_6) در فاصله‌های زمانی متفاوت شامل ۲، ٤، ٦، ۸ و ٢٤ ساعت پس از خوراندن باکتری کلی‌سینوژنیک، ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری *اشریشیا کلی* K99 خورانده شد. در نهایت میزان مرگ و میر بچه موش‌ها در گروه‌های کنترل و تست مورد بررسی قرار گرفت.

د) بازیافت باکتری اشریشیا کلی K99 از بچه موش‌ها: بچه موش‌هایی که پس از خوردن سوسپانسیون باکتری *اشریشیا کلی* سویه K99 مرده بودند کالبدگشایی شدند و از قسمت‌های مختلف دستگاه گوارشی آن‌ها (به ویژه روده کوچک) نمونه‌گیری به عمل آمد. سپس تمامی نمونه‌ها بر روی محیط‌های آگار خون‌دار و EMB (Eosin-Methylene Blue) کشت و به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه گذاری شدند. به منظور تشخیص نهایی باکتری *اشریشیا کلی* سویه K99، پس از ٢٤ ساعت تست آنتی‌سرم بر روی باکتری‌های رشد کرده بر روی محیط آگار خون‌دار انجام گرفت.

ه) مطالعات بافت شناسی: تعدادی از بچه موش‌ها از هر دو گروه کنترل و از گروه‌های تست جهت انجام مطالعات بافت شناسی به طور جداگانه کالبد گشایی شدند. قسمت‌های مختلف دستگاه گوارشی آن‌ها از جمله معده، روده کوچک و روده بزرگ به کمک فرمالدئید ۱۰٪ و بافر فسفات سالین (٧/٤ pH) تثبیت شدند. پس از برش بافت‌های یاد شده در پارافین نگهداری شدند. سپس قسمت‌های ۵ میکرومتری بر روی اسلاید قرار داده شد و به وسیله رنگ‌های هماتوکسیلین- ائوزین رنگ آمیزی گردید. بافت‌های رنگ آمیزی شده برای مشاهده ضایعات احتمالی ایجاد شده توسط باکتری *اشریشیا کلی* سویه K99 به وسیله پاتولوژیست مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

نتایج این بررسی نشان داد که پس از تلقیح دهانی سوسپانسیون باکتری‌های کلی‌سینوژنیک (غلظت زیاد) به گروه ۱ کنترل، مرگ و میری در هیچ یک از موش‌های این گروه مشاهده نگردید. نتایج بازیافت باکتری از دستگاه گوارشی (به ویژه روده کوچک) بچه موش‌های این گروه و نیز مطالعات بافت شناسی حاکی از آن بود که باکتری‌های کلی‌سینوژنیک بدون هیچ گونه اثر کشنده و مضری برای میزبان، در دستگاه گوارش بچه موش‌ها ساکن شده‌اند. همچنین در ۸۳٪ (٤٠ مورد) از بچه موش‌های موجود در گروه ۲ کنترل، که به آن‌ها فقط سوسپانسیون باکتری *اشریشیا کلی* K99 خورانده شده بود، مرگ و میر مشاهده گردید. در این مطالعه پایین‌ترین دوز کشندگی باکتری *اشریشیا کلی* K99 ، 10^{7} CFU/ml گزارش شد ($P<0/05$).

نتایج کشت و بازیافت باکتری از روده کوچک موش‌ها با استفاده از تست آنتی‌سرم نشان داد که باکتری *اشریشیا کلی* K99 در دستگاه گوارشی آن‌ها ساکن و موجب مرگ بچه موش‌ها شده است. همچنین مطالعات بافت شناسی ضایعاتی را نیز در دستگاه گوارشی آن‌ها نشان داد.

همچنین در گروه تست نیز که به طور هم‌زمان سوسپانسیون باکتری کلی‌سینوژنیک و سوسپانسیون باکتری K99 به بچه موش‌ها خورانده شده بود، میزان مرگ و میر به طور قابل توجهی کاهش یافته بود ($P<0/05$).

نتایج این بررسی نشان داد که هر چه غلظت باکتری کلی‌سینوژنیک بیشتر باشد اثر مهاری آن بر روی باکتری *اشریشیا کلی* K99 بیشتر است. به طوری که باکتری کلی‌سینوژنیک با غلظت 5×10^{8} CFU/ml اثر مهاری بسیار قوی‌تری نسبت به سوسپانسیون باکتری کلی‌سینوژنیک با غلظت 5×10^{7}CFU/ml بر روی باکتری *اشریشیا کلی* K99 داشت ($P<0/05$) (جدول ۱). زمانی که سوسپانسیون باکتری *اشریشیا کلی* K99، به طور هم‌زمان، ۲ و ٤ ساعت پس از مصرف باکتری کلی‌سینوژنیک

جدول ۱: مقایسه میزان مرگ و میر موش‌ها در دو گروه تست (A و B).

زمان پس از تلقیح باکتری‌ها	غلظت بالای باکتری		غلظت پایین باکتری	
	تعداد موش‌های زنده از کل موش‌ها	درصد موش‌های زنده	تعداد موش‌های زنده از کل موش‌ها	درصد موش‌های زنده
بلافاصله	۸/۸	٪۱۰۰	٤/۸	٪۵۰
۲ ساعت	۸/۸	٪۱۰۰	٤/۸	٪۵۰
٤ ساعت	۸/۸	٪۱۰۰	۲/۸	٪۲۵
٦ ساعت	٦/۸	٪۷۵	۲/۸	٪۲۵
۸ ساعت	٦/۸	٪۷۵	۰/۸	۰
۲٤ ساعت	۳/۸	٪۳۷/۵	۰/۸	۰

(با غلظت ۵×۱۰^{۷} CFU/ml) به بچه موش‌ها خورانده شد، تنها ۵۰٪ از آن‌ها زنده ماندند.

این در حالی است که باکتری کلی‌سینوژنیک (با غلظت ۵×۱۰^{۸}CFU/ml) به صورت هم‌زمان در زمان‌های ، ۲ و ٤ ساعت پس از مصرف توانست مرگ موش‌ها را تا ۱۰۰٪ مهار نماید.

همچنین در این مطالعه مشخص گردید که خاصیت مهار کنندگی باکتری‌های کلی‌سینوژنیک به زمان نیز وابستگی دارد. همان طور که در جدول ۱ نیز نشان داده شده است زمانی که بلافاصله، ۲ و ٤ ساعت پس از خوراندن باکتری کلی‌سینوژنیک (با غلظت ۵×۱۰^{۸} CFU/ml)، باکتری *اشریشیا کلی* K99 داده شد، ۱۰۰٪ موش‌ها زنده ماندند ($P<۰/۰۵$).

با مقایسه این نتایج با غلظت ۵×۱۰^{۷}CFU/ml باکتری‌های کلی‌سینوژنیک، زمانی که بلافاصله و ۲ ساعت پس از خوراندن باکتری‌های کلی‌سینوژنیک، باکتری K99 خورانده شد، تنها ۵۰٪ از موش‌ها زنده ماندند ($P<۰/۰۵$).

اما در زمان ٤ ساعت پس از باکتری‌های کلی‌سینوژنیک تنها ۲۵٪ از موش‌ها زنده ماندند. همچنین مطالعات بافت شناسی هیچ گونه ضایعه‌ایی را در موش‌های گروه تست (دریافت کننده سوسپانسیون باکتری کلی‌سینوژنیک و *اشریشیاکلی* K99) نشان نداد. مقایسه این نتایج گویای این مطلب است که خاصیت ضدباکتریایی باکتری‌های کلی‌سینوژنیک وابسته به غلظت و زمان می‌باشد.

بحث

در مطالعه حاضر برای اولین بار اثر مهاری کلی‌سین بر روی *اشریشیا کلی* انتروتوکسیژنیک سویه K99 در محیط *in vivo* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که کلی‌سین می‌تواند با مهار رشد باکتری *اشریشیا کلی* K99 در بدن موجود زنده، از مرگ بچه موش جلوگیری نماید.

همچنین مشخص گردید که اثر مهاری باکتری‌های کلی‌سینوژنیک وابسته به غلظت و زمان می‌باشد. از آن‌جایی که سوسپانسیون باکتری کلی‌سینوژنیک با غلظت زیاد (۵×۱۰^{۸} CFU/ml) در مقایسه با سوسپانسیون باکتری کلی‌سینوژنیک با غلظت پایین (۵×۱۰^{۷} CFU/ml) دارای میزان بیشتری باکتری بود، بنابراین می‌تواند اثر مهاری قوی‌تری بر روی باکتری پاتوژن اعمال نماید (۷). نتایج بررسی جاری نیز نشان داد که غلظت بالای باکتری

کلی‌سینوژنیک (۵×۱۰^{۸} CFU/ml) می‌تواند از مرگ بچه موش‌ها به میزان بیشتری جلوگیری به عمل آورد.

همچنین زمانی که در ساعات اولیه پس از خوراندن باکتری‌های کلی‌سینوژنیک، باکتری *اشریشیا کلی* K99 به بچه موش‌ها خورانده شد به طور چشمگیری از مرگ بچه موش‌ها جلوگیری به عمل آمد. از آن‌جایی که با گذشت زمان باکتری های کلی‌سینوژنیک از معده به سمت روده، رکتوم و در نهایت مخرج حرکت می‌نمایند، لذا در ساعات اولیه حضور باکتری ها در معده و روده، اثر مهاری خود را در برابر باکتری پاتوژن حفظ می‌کنند. اما پس از آن با دفع باکتری‌های کلی‌سینوژنیک از روده، اثر مهاری آن نیز کمتر شده و پاتوژن‌ها فرصت اتصال به روده را پیدا می‌کنند.

تا کنون مطالعه‌ای مبنی بر اثر مهاری کلی‌سین بر روی *اشریشیا کلی* انتروتوکسیژنیک سویه K99 در محیط *in vivo* انجام نشده است. شیرازی (Shirazi) و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر مهاری کلی‌سین را بر روی *اشریشیا کلی* انتروتوکسیژنیک سویه K99 در محیط *in vitro* مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که از مجموع ۱۱۵ نمونه *اشریشیا کلی* کلی‌سینوژنیک، ۴۰ سویه دارای فعالیت مهاری بر روی *اشریشیا کلی* K99 بودند. به طوری که با توجه به تعداد ژن‌های کلی‌سین، اثر مهاری متفاوتی در سویه‌های مختلف گزارش گردید (۸).

در مطالعه دیگری براود (Braude) و همکاران در سال ۱۹۶۸، *اشریشیا کلی* CF1 کلی‌سینوژنیک و *اشریشیا کلی* 9224 حساس به کلی‌سین را به کلیه موش تزریق کردند. پس از کشت ادرار موش، کاهش چشمگیری در تعداد باکتری *اشریشیا کلی* 9224 حساس به کلی‌سین مشاهده گردید (۹). اسمیت (Smith) و همکاران در سال ۱۹۷۷، از کلی‌سین V به منظور درمان عفونت در موش استفاده نمودند. نتایج آن‌ها نشان داد که کلی‌سین V خاصیت ضدمیکروبی خود را در بافت موش آلوده به *اشریشیا کلی* P3 حفظ کرده و می‌تواند موجب کاهش رشد باکتری گردد (۱۰).

شامبرگر (Schamberger) و همکاران در سال ۲۰۰۴ اثبات کردند که افزودن روزانه میزان مشخصی از باکتری *اشریشیا کلی* تولید کننده کلی‌سین E7 به هر گرم از خوراک گاوها، می‌تواند به طور چشمگیری میزان باکتری *اشریشیا کلی* سویه O157:H7 را در نمونه مدفوع کاهش دهد (۱۱).

گیلر (Gillor) و همکاران در سال ۲۰۰۹، مقاومت باکتری‌های *اشریشیا کلی* کلی‌سینوژنیک را در دستگاه گوارش موش مورد بررسی قرار دادند. در این بررسی باکتری‌های *اشریشیا کلی* کلی‌سینوژنیک و حساس به کلی‌سین به دستگاه گوارش موش تلقیح گردید. نتایج آن‌ها نشان داد که سویه‌های کلی‌سینوژنیک موجود در دستگاه گوارش بر روی سویه‌های حساس به کلی‌سین تأثیر گذاشته و می‌تواند جایگزین سویه‌های حساس گردد (۱۲). نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر هماهنگ با سایر بررسی‌های یاد شده نشان داد که کلی‌سین‌ها می‌توانند فعالیت ضدمیکروبی خود را در بدن موجود زنده حفظ نمایند. در این مطالعه باکتری *اشریشیا کلی* سویه K99 موجب مرگ بچه موش‌ها گردید. اما کلی‌سین توانست این تأثیر باکتری *اشریشیا کلی* سویه K99 را مهار نماید.

نتیجه گیری

با توجه به توانایی مهاری کلی‌سین‌ها بر روی باکتری‌های مختلف، کلی‌سین‌ها می‌توانند به عنوان گزینه‌ای مناسب در درمان بیماری‌های عفونی ناشی از *اشریشیا کلی* سویه K99 مورد توجه قرار گیرند. از طرفی کلی‌سین‌ها می‌توانند در آینده نزدیک به عنوان یک پروبیوتیک، جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های متداول باشند و به عنوان یک روش بیوتراپی مورد بررسی بیشتری قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از موسسه تحقیقات واکسن و سـرم سازی رازی شعبه جنوب - شیراز به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

References

1. Orden JA, Ruiz JA, Cid D, Fuente R, Presence and enterotoxigenicity of F5 and F41 *Escherichia coli* isolated from diarrhoeic small ruminant in Spain. Small Ruminant Research. 2002; 44(2): 159-161.

2. Steinsland H, Valentiner Branth P, Gjessing HK, Aaby P, Molbak K, Sommerfelt H, Protection from natural infections with enterotoxigenic *Escherichia coli*, longitudinal study. Lancet. 2003; 362(9380): 286–291.

3. McDermott PF, Zhao S, Wagner DD, Simjee S, Walker RD, White DG. The food safety perspective of antibiotic resistance. Anim Biotechnol. 2002; 13(1): 71–84.

4. Cutler AS, Lonergan SM, Cornick N, Johnson AK, Stahl CH. Dietary Inclusion of Colicin E1 Is Effective in Preventing Postweaning Diarrhea Caused by F18-Positive *Escherichia coli* in Pigs. Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51(11): 3830-3835.

5. Diez-Gonzalez F. Applications of bacteriocins in livestock. Curr Issues Intest Microbiol. 2007; 8(1): 15-23.

6. Cascales F, Buchanan S, Duche D, Kleanthous C, Lloubes R, Postle k, Riley M, Slatin S, Cavaral D. Colicin Biology. Microbiol Mol Biol Rev. 2007; 71(1): 158-229.

7. Minelli EB, Benini A. Relationship between number of bacteria and their probiotic effects. Microb Ecol Health D. 2008; 20: 180-183.

8. Shirazi Z. Bacteriocin inhibitory effect against enterotoxigenic *Escherichia coli* K99 strain [dissertation]. Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran; 2011. [In Persion]

9. Braude AI, Siemienski JS. The influence of bacteriocins on resistance to infection by Gram-negative bacteria. J Clin Invest. 1968; 47(8): 1763-1773.

10. Smith HW, Huggins MB. Treatemt Of experimental *Eshericha coli* infection in mice with colicin V. J Med Microbiol. 1977; 10(4): 479-482.

11. Schamberger GP, Diez-Gonzalez F. Characterization of colicinogenic *Escherichia coli* strains inhibitory to enterohemorrhagic *E.coli*. J Food Prot. 2004; 67(3): 486–492.

12. Gillor O, Giladi I, Riley MA. Persistence of colicinogenic *Escherichia coli* in the mouse gastrointestinal tract. BMC Microbiol. 2009; 9: 165-172.

Journal Of Microbial World
Vol 4, No 3 & 4, January 2012

Original Article

Prevent of death caused by *E. coli* k99 in infant mice by colicinogenic *E. coli*

Fatemeh Golestan[1], Yahya Tahamtan[2], Masoume Hayati[3], Elham Moazamian[4]

[1]M.Sc., Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran.
[2]Assistant Professor, Department of Bacteriology, Razi Vaccine and Serum Reserch Institute, Shiraz, Iran.
[3]M.Sc., Department of Bacteriology, Razi Vaccine and Serum Reserch Institute, Shiraz, Iran.
[4]Assistant Professor, Department of Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran.

Abstract

Background and Objective: *E. coli* k99 is one of the major causes of diarrhea in neonatal calves. Colicin is an antimicrobial peptide produced by one strain of *E. coli* to suppress the growth of other strains of *E. coli*. The aim of this study was to control *E. coli* k99 infection in mice by oral administration of colicinogenic *E. coli* (CEC).

Material and Methods: This experimental study was conducted on two groups of control and treatment infant mice, strain BALB/c. The control group was subdivided into two groups: one group was fed with CEC and the second control group was *E. coli* k99. The treatment group was administrated with CEC and also with *E. coli* k99 in intervals. Finally, the mortality rate of the mice was assayed in both treatment and control groups.

Results: Results of this study delineated that all mice in the control group who were fed with colicinogenic *E. coli* was survived while 83% of the second control group (40 cases) died due to production of heat-stable enterotoxin. Our study showed that the mortality rate in the treatment group was significantly reduced, and the reduction rate was increased in higher doses of CEC.

Conclusion: Based on the antibacterial activity of CEC against *E. coli* k99, colicin is an appropriate choice for control of the infection. Furthermore, it is possible to replace colicins instead of conventional antibiotics for control of the intestinal disorder.

Keyword: *E. coli* K99, Colicin, Colicinogenic *E. coli*

Correspondence to: Yahya Tahamtan
E-mail: yahyatahamtan@yahoo.com
Tel: +987116240331
Journal of Microbial World, 2012, 4(3&4): 77-83.