التحري عن النشاط المضاد لبكتريا *Bacillus circulans* تجاه بعض الجراثيم المسببة لخمج القناة البولية

أ.م.د مهدى حسين محيل العمار م.م ضفاف حميد عبد الصاحب

جامعة الكوفة/كلية العلوم / قسم علوم الحياة

ملاحظة: البحث مستل من رسالة ماجستير

الخلاصة:

هدفت هذه الدراسة الكشف والتحري عن النشاط التضادي لراشح بكتريـــــا *Bacillus circulans* تجاه بعض البكتريا المسببة لألتهاب المجاري البوليـــــــة لدى النســـــاء التي شملت (*E.coli , Proteus mirabilis Staphylococcus saprophyticus Klebsiella pneumoniae,*) والتى شخصت باستخدام الفحوصات الكيموحيوية والتقلدية. من بين (200) حالة أصابة بالتهاب المجاري البولية سجلت البكتريا *E.coli* الأعلى تكراراً في أحداث الأصابة (74) حالة , *Staph saprophyticus* (30) حالة , *P. mirabilis* (24) حالة, *K. pneumoniae,* (52) حالة, وتباينت البكتريا في مقاومتها للمضادات الحياتية المستعملة.ومن النتائج التى تم الحصول عليها هى :

قدرة البكتريا (C2) *B. circulans* من مقاومة الحموضة العالية واملاح الصفراء عند التركيز(30%) خلال خلال مدة 24 ساعة .وأظهرت النتائج امتلاك الراشح البكتيـــــري المركز بكبريتـــــات الأمونيـــوم المشبعة والراشح المفصول بالكلوروفوم فعاليـة تثبيطيـة عالية في نمو البكتريـــا *Staph.saprophyticus ,P. mirabilis, K. pneumoniae) (E.coli,* حيث كانت معدلات التثبيط (20,18,14,8), (18,16,14,6) على التوالي.

.-المقدمة :

إزدادت أهمية اخماج القناة البولية ليس لما تسببه من اخماج مرضية خطرة فحسب وبل لامتلاكها صفات خاصة تمكنها من احداث الاصابة منها قدرتها على الالـتصاق والغزو ثـم الاستعمار في انسجة المضيف وقابليتها على الاقتران الوراثي وتبادل الجينات الوراثية المعبرة عن عوامل الفوعة اوالمقاومة للمضادات الجرثومية .(Murray, 2000)

تعد فكرة أستعمال الأحياء المجهرية ومنتجاتها في تعزيز صحة الأنسان و حمايته من الأمراض ليست بجديدة , أذ عرفت منذ أستخدام الأحياء المجهرية في أنتاج الأغذية المختلفة وتميز نشاط تلك الأحياء المجهرية في السنوات الأخيرة في الصحة وعلاج الأمراض , إذ استعملت العديد من الأحياء المجهرية التي تتصف ضمن مصطلح المعززات الحيوية في مجالات واسعة على المستوى السريري أبتداءً من أمراض الأسهال وصولاً الى الحماية من مرض السرطان , وتأتي أحياء التربة و البكتريا الطبيعية في جسم الأنسان في مقدمة الاحياء المجهرية المنتجة للمضادات الحياتية المستخدمةً في المجالات الغذائية والصيدلانية وأستخدامها الأمن في مجال العلاج(Chukeatirote,2003) . كما أستقطب أستخدام الأحياء المجهرية أهتماماً كبيراً في المجال الوقائي والعلاجي للعديد من الحالات المرضية ولاسيما ألتهابات القناة البولية الذي يعد من الأمراض الخطيرة والواسعة الأنتشار بين النساء وتعد البكتريا*Escherichia coli* أحد المسببات الرئيسة الشائعة لإخماج القناة البولية وتأتي بعدها *Klebsiella sp*,و*Proteus sp*, (Torres *et al*.,2001) . ويؤدي نمو وتكاثر الأحياء المجهرية المرضية الى الأخلال في التوازن والتأثيرعلى أستعمار الأغشية من قبل البكتريا بشكل طبيعي فيها , ويؤدي أستعمال المضادات الحيوية الى القضاء على البكتريا المرضية و بكتريا النبيت الطبيعي على حد سواء لتنتج عن ذلك الى أضطراب في توزان الأحياء المجهرية, ويعد ظهور سلالات مقاومة للمضادات الحيوية بسبب التفاعل المستمر وغير الرشيد لتلك المضادات من الأسباب المهمة التي دعت الى التفكير بأستعمال أساليب علاجية لمقاومة تلك السلالات ولاسيما أستعمال رواشح البكتريا التي تعمل على منع نمو البكتريا الضارة والحماية من حدوث الأصابات , اذ تمتلك البكتريا ورواشحها تأثيرات وقائية وعلاجية تجاه المسببات البكتيرية Dunne *et al*.,2001 :Karimi and Pena,2003) . في دراسات عديدة , ثبتت قدرة بكتريا *B. circulans* على انتاج مضادات حيوية مثل circulin المستعمل في مدى واسع ضد البكتريا السالبة لصبغة كرام (; El-Banna, 2005 He *et al* ., 2001). ومن الدراســـــات الدقيقة تلك التي اجراهــــا Priest *et al*.(1988) بان البكتريا تمتلك قدرة عالية في تثبيط نمو بكتريا *E.coli*, وتظهر الدراسة التي اجراها Masataka *et al*. (2006) بان البكتريا تقوم بانتاج عدد من المضادات الحيوية , اتجاه البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام .

أُثبت فيما بعد بأن لهذه البكتريا القدرة على إنتاج مضادات واسعة التأثير ضد البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام , حيث تثبط وبشكل متخصص *P . aeruginosa*, *P.maltophilia* و*P putida.*) Masataka *et al.*, 2006) . و تثبط هذه البكتريا أيضاً نمو الـ*Campylobacter jejuni*) Edward *et al.* 2005,) حيث تعمل البكتريا على تعزيز قدرة بكترياالـ *Bacillus subtilis* في التضاد المايكروبي تجاه الفطريات بواسطة أنزيم Chitinase (Chao – Ying chen *et al*.,2004) . ويعود النشاط التضادى الى قدرة البكتريا على انتاج احماض عضوية واقية مثل Propionic acid, Acetic acid والتي لها أثر في تثبيط نمو عدد كثير من الاحياء المجهرية (Reddy and Tilak ,2006) والتي تعطيها القابلية على خفض قيمة الـ PH فى الوسط .

و تنتج *B. circulans* مادة تعرف Siderophore وهي عبارة عن مركبات ذات وزن جزيئي منخفض 1.4 وتحوي على مجاميع فعالة قادرة على الارتباط مع الحديد وحجبه عن البكتريا الاخرى ممايؤدي الى موتها وهذا مشابه لما تقوم به بكتريا *Psudomonas fluorescens* في تثبيط تمو الفطريات بواسطة انتاج السيدروفور وذلك لعدم قدرة الفطريات على امتصاصه (Collado *et al.* ,2007).

.- طرائق العمل :

1- تشخيص العزلات البكتيرية :

جمعت (50) عينة من التربة وزرعت على الاوساط الزرعية الاختيارية كما اجريت الاختبارات الكيموحيوية والزرعية لتشخيص بكتيريا *B. circulans* والبكتيريا المسببة لاخماج القناة البولية وفقا لما ذكرة (MacFaddin, 2000).

استعمل اختبار الوسط المحور ثلاثي الاختبار لغرض التشخيص الاولي السريع للبكتريا ويتضمن تحلل الاسكولين، واختبار تحمل الملوحة ، واختبار الحركة. (حنا حنو2010).

2- دراسة الخواص التنموية لبكتريا *Bacillus Circulans*

درست قابلية البكتيريا على مقاومة الحموضة و املاح الصفراء حسب طريقة Brashears *et al.*, (2002).

كما اختبرت قابلية العزلات على النمو في درجات حرارية مختلفة (Collee *et al*., 1996).

3- حساسية مسببات القناة البولية البكتيرية للمضادات الحياتية بطريقة الاقراص

أختبرت حساسية العزلات البكتيرية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب القناة البولية تجاه مجموعة من المضادات الحياتية التجارية باتباع طريقة Bauer - Kirby (1996) الواردة في Atlas *et al*,.(1995) . تم قياس اقطار مناطق التثبيط (ملم) ومقارنها مع ما ورد فى (NCCLS ,2002) .

4-اختبار النشاط التضادي لبكتريا *B. circulans* في نمو بكتريا الدراسة :

ا- اختبار فعالية البكتيريا التضادية. تم انتقاء العزلات الامثل لقياس الفعالية التثبيطية لها ضد مسببات الاخماج المجارى البولية حسب ماذكرة (Toba *et al* ,. 1991) .

ب- تقدير الفعالية التثبيطية للراشح البكتيري ومركباته بطريقة الأقراص:

أستعملت طريقة الأنتشار في الاقراص Disc diffusion method التي وصفها (Gupta *et al*,. 1998) للكشف عن الفعالية التثبيطية للراشح البكتيري المشبع بكبريتات الامونيوم , فضلاً عن مستخلص الكلوروفورم والاسيتون (Martinez-Gonzalez, *et al.*, 2004).

ج - تقدير الفعالية التثبيطية لراشح البكتريا في وسط النمو المشترك.

قدرت الفعالية التثبيطية لراشح البكتريا في وسط النمو المشترك حسب الطريقة الواردة فى (Sreekumar and Hosono, 2000).من ثم تقدير العدد الحي لبكتريا (من دون اضافة راشح) بعد 24 ساعة من الحضن لمعاملة السيطرة , ثم حسبت نسبة التثبيط المئوية على وفق المعاملـــة الاتيــــــة الواردة في (Suskovic *et al.*, 1997) .

عدد الخلايا / مل في السيطرة - عدد الخلايا / مل في وسط النمو المشترك

نسبة التثبيط % = ———————————————————— x100

عدد الخلايا / مل في معاملة السيطرة

- التحليل الاحصائي

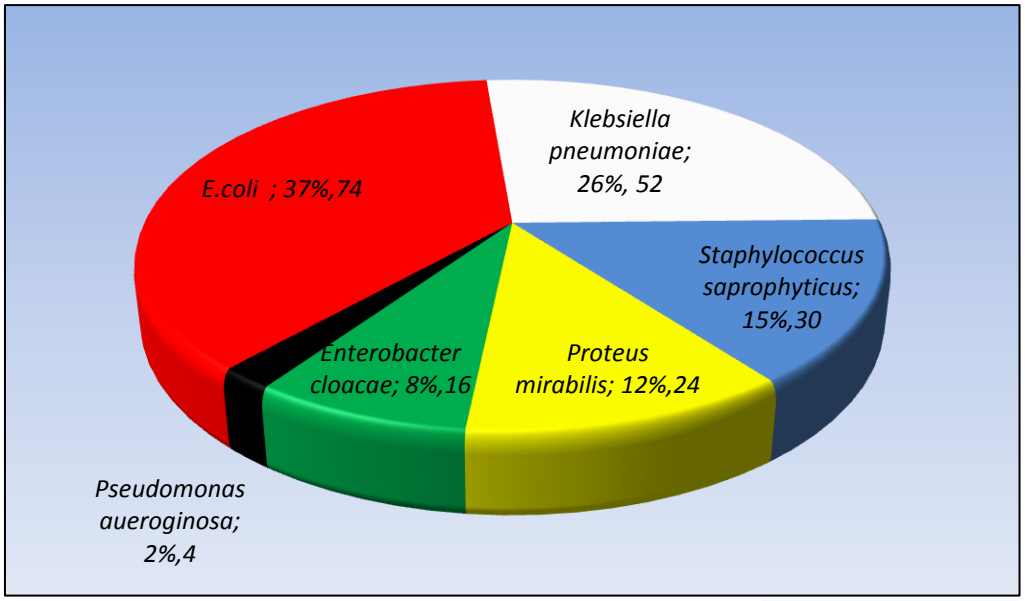
تم تحليل النتائج إحصائيا باستعمال برنامج (SPSS) وتم مقارنة النتائج باستعمال اقل فرق معنوي Least significant differences (L.S.D) وتحت مستوى احتمالية اقل من (P<0.05) لبيان معنوية النتائج (الراوي، 2000).

.- النتائج والمناقشة:

1- عزل وتشخيص بعض مسببات القناة البولية البكتيرية :

يبين الشكل (1.) أرتفاع نسبة الأصابة ببكتريا *E.coli* من بين النساء المصابات باخماج المجاري البولية حيث كانت نسبة الأصابة 37% تلتها بكتريا *K. pneumoniae* حيث كانت نسبتها 26% , وكانت نسب الأصابة متدرجة بالنسبة للأنواع الأخرى من البكتريا حيث كانت (15% , 12% , 8% , 2%) (*Staph saprophyticus* , *P. mirabilis* , *Enterobacter cloacae* , *Pseudomonas aueroginosa*) على التتالي , حيث بين(Nereus *et al.*,(2001); James *et al.*,(2002 في دراستهم ان اخماج المجاري البولية إن من بين المسببات المرضية التي تصيب الجهاز البولي كانت بكتريا *E.coli* الأكثر تكراراً في الأصابة, ويعود سبب ذلك الى إن بكتريا *E.coli* هي البكتريا المتواجدة بشكل طبيعي في الجهاز الهضمي , لذا تكون أعلى أصابة من بين أنواع البكتريا , وان أصابة الجهاز البولي بالمسببات المرضية الأكثر شيوعاً وذلك بسبب اتصال الجهاز البولي بالبيئة الخارجية (Eva *et al.*, 1990 ; Foxman , 1990) كذلك قصر الأحليل , وأجراء الفحوصات النسائية , والدورة الشهرية و المسحات المهبلية (Coker *et al.*,2000),ودلت نتائج الإحصائية على معنوية الفروقات الموجودة في النتائج.

L.S.D. $_{0.05}$ =0.621



شكل (1-) الأنواع البكتيرية المعزولة بحسب سيادتها

3- حساسية البكتريا المرضية للمضادات الحيوية

اجري فحص حساسية عزلات البكتريا المسببة لالتهاب القناة البولية في النساء تجاه 8 انواع من المضادات الحيوية واظهرت النتائج الموضحة في الجدول (1) ان هنالك تبايناً في مقاومة العزلات قيد الدراسة تجاه المضادات الحياتية المستعملة, فقد بينت النتائج ان عزلات *E.coli* كانت مقاومة بنسبة 100 % للمضادات الحيوية Ampicillin ,Streptomycin فيما كانت حساسة بنسبة 100 % للمضاد الحيوي Nalidixic acid ,,Polymyxin لكنها اختلفت تجاه المضادات المستعملة الاخرى .وفيما يخص العزلات التابعة للنوع *Klebsiella*

pneumoniae فقد كانت مقاومة بنسبة100% Gentamycin, Streptomycin , Ampicillinوحساسة بنسبة100% للمضاد الحيوي Ciproflaxicin, فيما تباينت في مقاومتها وحساسيتها للمضادات المتبقية .

ولوحظ ان العزلات التابعة لبكتريا *Proteus mirabilis* كانت حساسة بنسبة100%للمضاد الحيوي Ciproflaxcin,Nalidaxic acid ومقاومة بنسبة100% Ampicillin,Cephaloxin, فيما تباينت مقاومتها وحساسيتها للمضادات Gentamycin, Neomycin, Streptomycin, Polymyxin,أظهرت بكتريا *Staphylococcus saprophyticus*

مقاومتها بنسبة100% للمضادات الحيوية Nalidixic acid,Polymyxin وحساسة بنسبة 100% للمضادات Ciproflaxicin, Neomycin, تباينت حساسيتها ومقاومتها للمضادات الاخرى, ودلت نتائج التحليل الإحصائي على معنوية الفروقات الموجودة في النتائج . اشار Jawetz *et al.*(2007) الى مقاومة بكتريا *Klebsiella pneumoniae* لمركبات Ampicillin وحساسيتها للمضادات Tetracycline , Polymixin,Neomycin,وتوصف تلك المضادات علاجاً للأسهال المسبب بواسطة بكتريا *Klebsiella pneumoniae*.كمااكدت دراسة Belas *etal.*(2004) أن السلالات التي تعود الى جنس *Proteus mirabilis* تتصف بمقاومتها للمضادات Ampicillin, Trimethoprim وحساسيتها للمضاد Ciprofloxacin .واشارت الدراسة الى ان جميع عزلات *Proteus mirabilis* كانت مقاومة للمضاد Ampicillin لكنها تباينت في حساسيتها للمضاد Tetracycline في الوقت الذي كانت حساسة للمضاد الحيوي Polymyxin,, بينما تميزت بكتريا *Staphylococcus saprophyticus* بمقاومتها للمضادات Oxacillin, Penicillin,Novobiocin, Erythromycinوحساسيتها للمضادات Gentamycin, Clindamycin,Cephalothin, (N.C.L.S. ,2002).

واعتماداً على النتائج هذه فقد تم انتخاب العزلة الأكثر مقاومة للمضادات الحيوية من كل نوع لاستعمالها في التجارب اللاحقة الخاصة بالفعالية التثبيطية لبكتريا *B. circulans* .

جدول رقم (1) حساسية البكتريا المرضية اتجاه المضادات الحياتية

CIP	PB	CN	CL	NA	N	AM	S	المضاد الحيوي / البكتريا
R	S	R	S	S	S	R	R	E1
R	S	S	R	S	S	R	R	E2
S	S	R	S	S	R	R	R	E3
S	S	R	S	R	R	R	R	K1
S	S	R	R	S	S	R	R	K2
S	R	R	R	R	R	R	R	K3
S	S	S	R	S	S	R	S	P1
S	S	R	R	S	S	R	S	P2
S	R	S	R	S	S	R	S	P3
S	R	S	R	R	S	S	R	S1
S	R	S	R	R	S	S	R	S2
S	S	R	S	R	S	S	S	S3

E = *E.coli*	S= Streptomycin
K= *Klebsiella pneumonia*	AMP= Ampicillin
P= *Proteus mirabilis*	N= Neomycin
S= *Staphylococcus saprophyticus*	PB= Polymyxin
NA= Nalidaxic acid	CIP= Ciprofloxacin
	CL= Cephalexin

-الخواص التنموية والفسلجية لبكتريا *B. circulans*

بعد الحصول على عدة عزلات تعود للبكتريا المعزولة من التربة ,تم تشخيص العزلات ميدانياً اعتماداً على تكوين النمو الكثيف في الوسط الزرعي كانت مستعمرات *B. circulans* النامية على وسط الاكار الصلب ذات شكل عصوي , و خلايا كبيرة وطويلة وقابليها على النمو الحركي, وتكون الخلايا بيضاء شاحبة ذات نمو ضبابي. (Dworkin,2006) .

اظهر فحص الشريحة ان اغلب الخلايا التي اخذت من المستعمرات تعود الى عصيات *B. circulans* ,حيث كانت عصيات هوائية موجبة لصبغة كرام طويلة وكبيرة , غالباً على شكل ازواج او سلاسل ذات مظهر نقطي, وهذا يدل على وجود الابواغ الداخلية المركزية (Philips& Kumar,2006) . بينت النتائج إن للبكتريا القدرة على النمو بدرجة حرارة 30-35 م,ولها القابلية على النمو ضمن مدى حراري 45م, وان لها القدرة على النمو بوجود ملح كلوريد الصوديوم عند التركيز 7% ,تنمو البكتريا عند الاس الهيدروجيني الذي يتراوح بين 5.7 – 9 PH,و انها كانت موجبة لفحوصات انزيمات الكاتليز , والاوكسيديز و الجيلاتينيز فضلا عن كفائتها في تحليل النشأ والجيلاتين والكازئين والاسكولين (Srinivasa, 2006). وتمتلك البكتريا العديد من الصفات الفسيولوجية والتشريحية التي تمكنها من البقاء حية والعيش في انظمة متنوعة من البيئات المزرعية منها لاحتوائها على جدار خلوي متعدد الطبقات وتكوين الابواغ الداخلية المقاومة للظروف غير الطبيعية وافرازها للمضادات الحيوية والانزيمات والاستفادة من المغذيات , والقدرة على الحركة بواسطة الاسواط المحيطية فضلاً عن سرعة النمو والتكاثر (Komato *et al.*,2003;Dworkin, 2006) .

1. قابلية البكتريا على مقاومة الحموضة

تعد مقاومة الحموضة من الامور التي يجب مراعاتها عند انتخاب البكتريا ,وللتأكد من تأثيرها المفيد حيث يكون البكتريوسين المنتج من البكتريا القدرة على البقاء في اثناء المرور خلال القناة البولية- التناسلية , التي تتميز بانخفاض الاس الهيدروجيني , ويعد بقاء البكتريوسين عند اس هيدروجيني واطىء لمدة ساعتين قياسياً لمقاومة الحموضة ويمكن استعماله لاغراض علاجية لذا اختبرت قابلية البكتريا على النمو في الظروف الحامضية والتي تمثلت بقيم الاس الهيدروجيني (6,5,4,3,2) وبمدد تحضين (6,4,2,0) ساعة فضلاً عن 24 ساعة للتأكد من قابلية البكتريا على تحمل الاس الهيدروجيني الواطىء لمدة طويلة .بينت النتائج في الجدول (2) قدرة البكتريا على النمو في الظروف الحامضية وللمدد الزمنية المستعملة .اذ لوحظ زيادة كثافة النمو بزيادة مدة الحضن لمعظم قيم الاس الهيدروجيني .في الوقت نفسه انخفضت كثافة النمو بانخفاض قيم الاس الهيدروجيني للوسط وقد اعطت البكتريا اعلى كثافة نمو عند الاس الهيدروجيني (6) اذ بلغت الكثافة الضوئية للنمو لمدد الحضانة (6,4,2,0) ساعة على توالي(0.2456,0.1305,0.0276, 0.525)وايضاً تمكنت البكتريا من النمو في PH (4.5) مع حدوث انخفاض في كثافة النمو مقارنة بالاس الهيدروجيني (6). اذ بلغت الكثافة الضوئية لنمو البكتريا للفترات ذاتها على التوالى (0.4208,0.0995,0.0660,0.0241), (0.3545,0.0890,0.0636,0.0239) و (0.2691,0.0776,0.0621,0.0230), 0.0224 , 0.0458, 0.0652, 0.06676) لقيم الاس الهيدروجيني (2,3) على التوالي ودلت نتائج التحليل الإحصائي على معنوية الفروقات الموجودة في النتائج على مستوى معنوية $P<0.05$.

جدول (2) قابلية بكتريا الدراسة على النمو في قيم اس هيدروجيني مختلفة

	الكثافة الضوئية O. D عند PH					
الحضانة/ساعة	6	5	4	3	2	1
0	0.0276	0.0241	0.0239	0.0230	0.0224	0.0
2	0.1305	0.0660	0.0636	0.0621	0.0458	0.0
4	0.2456	0.0995	0.0890	0.0776	0.0652	0.0
6	0.5250	0.4208	0.3545	0.2691	0.0676	0.0
24	1.7037	1.5070	1.2656	0.9248	0.0862	0.0

$L.S.D._{0.05} = 0.098$

بدا ألانخفاض في كثافة نمو البكتريا أكثر وضوحاً عند الأس الهيدروجيني المنخفض (1,2) وكانت أن تنعدم عند الأس الهيدروجيني الأخير .للتأكد من قابليتها على تحمل الحموضة ولمدة زمنية طويلة تم مراقبة كثافة النمو البكتيري لمدة الحضن 24 ساعة ,اذ بلغت كثافة ضوئية لنمو البكتـــــــــريا عند قيـــــــــم الأس الهيدروجينـــــــــــي (2,3,4,5,6) (0.0862,09248,1.2656,1.5070,1.7037)ودلت نتائج التحليل الإحصائي معنوية الفروقات الموجودة في النتائج على مستوى معنوية P<0.05,و يتضح ان للبكتريا قدرة على تحمل القيم المنخفضة للأس الهيدروجيني ولمدة زمنية طويلة .ووفقاً لذلك يمكن اعتبار تلك البكتريا جيدة في مقاومة الحموضة ,لذا يمكن استعمال البكتريوسين المنتج لإغراض علاجية (الشبيب,2009). تعزى مقاومة البكتريا للحموضة إلى امتلاكها جدار خلوي متعدد الطبقات فضلاً عن وجود الابواغ الداخلية وخلال خفض الأس الهيدروجيني للخلايا تمكنت البكتريا من حفظ التغير في الأس الهيدروجيني الذي بأثره يمنع تراكم وتجمع الفائض من ATP والايونات السالبة الشحنة داخل الخلايا التي تعد من العوامل السامة للبكتريا (Ogawa *etal*.a,2001) .

2. قدرة البكتريا على تحمل أملاح الصفراء

تعد مقاومة أملاح الصفراء واحدة من الشروط الواجب توافرها في البكتريا عند استعمالها كمضاداً حيوياً (Dunne,2001).ولذا فقد تم اختبار قابلية بكتريا *B. circulans* ومنتجاتها على الثبات و النمو بوجود تراكيز مختلفة من أملاح الصفراء . يوضح الجدول رقم (3-) قدرة البكتريا على تحمل تراكيز أملاح الصفراء المستعملة ,فقد تمكنت البكتريا من النمو بوجود أملاح الصفراء بتراكيز 0.05 , 0.15 , 0.30 % ومع كون الزيادة في النمو كانت بطيئة عند النمو بمدة (4,2) ساعة إلا أنها أصبحت ملحوظة بعد (6) ساعات وكثيفة بعد 24 ساعة , فقد بلغت الكثافة الضوئية للنمو بوجود 0.05 % من أملاح الصفراء (0.0219 , 0.0275 , 0.0475, 0.1521 , 1.7730) لمدد الحضن (0, 2, 4 , 6 , 24) ساعة على التوالي بينما كانت الكثافة الضوئية لدى تنميتها بوجود 0.15 % املاح الصفراء (0.0248 , 0.0273 , 0.0460 , 0.1210 , 1.7592) لمدد الحضن نفسها . فيما بلغت الكثافة الضوئية لدى تنميتها بوجود 0.30 % املاح الصفراء (0.0260 , 0.286 , 0.0422 , 0.0226 , 1.573) لفترات الحضن المذكورة سابقاً .ولدى مقارنة نمو البكتريا في تلك التراكيز مع نموها في الوسط الخالي من املاح الصفراء لوحظ ان املاح الصفراء ادى الى حصول انخفاض في النمو وذلك عندما ارتفعت قيم الكثافة الضوئية لمعاملة السيطرة (0.0200 , 0.0442 , 0.0725 , 0.3760 , 2.0551) لمدد الحضن (0, 2, 4, 6 , 24) ساعة على التوالي.ويلاحظ من خلال النتائج ان للبكتريا القدرة على تحمل املاح الصفراء في الوسط وللمدد الزمنية (2, 4 , 6) فضلاً عن 24 ساعة وهذا يؤكد قدرة البكتريوسين المنتج على تحمل املاح الصفراء عند استعماله لاغراض العلاج وان الكثير من البكتريوسينات المنتجة هي عبارة عن ببتيدات او بروتينات سطحية تستطيع مقاومة املاح الصفراء

(Zheng and Slavik ,2000 ;الشبيب,2009), من خلال التحليل الاحصائي للبيانات بين ان هناك تبايناً معنوياً بين تراكيز املاح الصفراء ونمو البكتريا .

جدول رقم (3-) قابلية البكتريا على تحمل املاح الصفراء

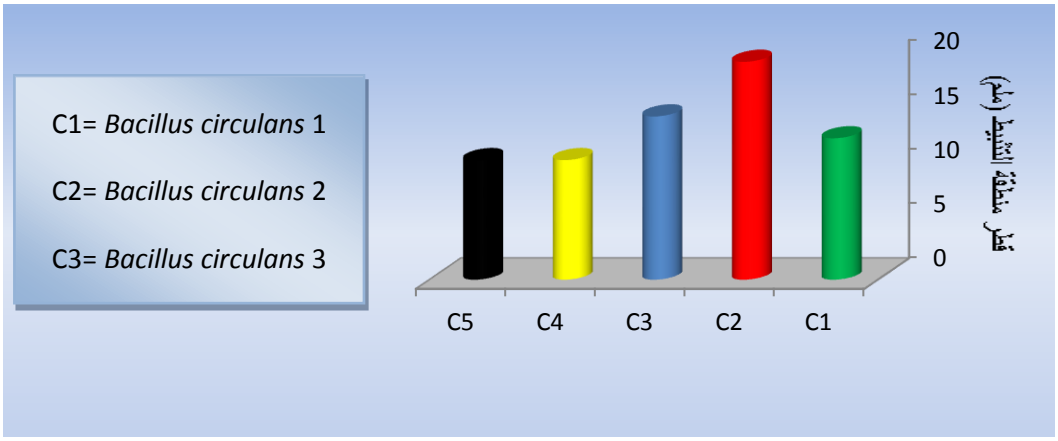
الحضانة/ساعة	الكثافة الضوئية / تركيز املاح الصفراء			
	control	%0.05	%0.15	%0.30
0	0.0200	0.0219	0.0248	0.0260
2	0.0442	0.0275	0.0273	0.0286
4	0.0725	0.0475	0.0460	0.0422
6	0.3760	0.1521	0.0122	0.0226
24	2.0551	1.7730	1.7592	1.5731

L.S.D. $_{0.05}$ = 0.012

-النشاط المضاد لبكتريا *B. Circulans* اتجاه بكتريا الاختبار

1-الفعالية التثبيطية للبكتريا في الوسط الصلب

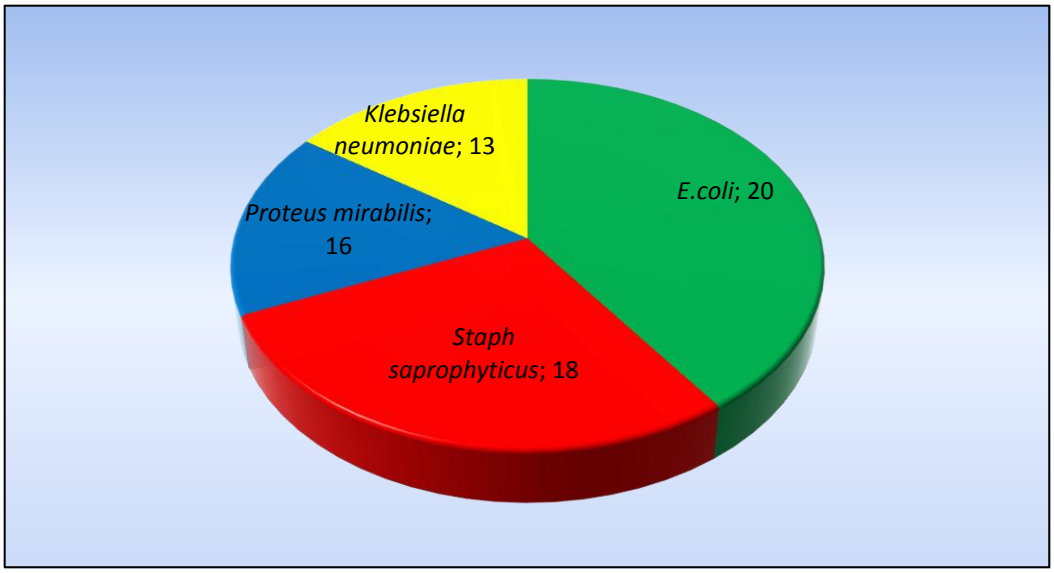
تم في هذه الدراسة اختبار عزلات بكتريـــــا *B. circullans* والمتمثلة بـ (C5, C4, C3 , C2 , C1) اتجاه البكتريا الدالة حيث لوحظ من خلال النتائج تفوق العزلة البكتيرية C2على باقي العزلات من خلال تسجيل اعلى فعالية ضد البكتريا ,حيث بلغ قطر منطقة التثبيط (19) ملم تليها C3(15) ملم C1(12) ملم C5(10) ملم اما C4فقد سجلت قدرة تثبيطية منخفضة حيث بلغ قطر منطقة التثبيط حوالي(8.5) ملم شكل(-2), ويعزى سبب ذلك الى قدرة العزلة C2على انتاج كميات كبيرة من المواد المثبطة , وتراكيز عالية مثل المضادات الحياتية والاحماض العضوية التي تسهم في الحدمن نمو البكتريا (Ahmedova and Muhtarova,2006).



شكل (-2) الفعالية التثبيطية لعزلات بكتريا *B. circulans* في نمو بكتريا الاختبار

L.S.D. $_{0.05}$ = 0.923

اختبرت الفعالية التثبيطية لبكتريا *B. Circulans* بطريقة اقراص الاكار باستعمال وســـــط الاكار المغذي الصلب تجاه البكتريـــــا المسببة لألتهـــــاب المجاري البولية والتي شملت. *E.coli,Proteus mirabilis,Staphylococcus saprophyticus Klebsiella pneumoniae* , تباين التأثير التثبيطي للبكتريا تجاه بكتريا الاختبار, حيث تراوحت بين التاثير التثبيطي الجيد بقطر تثبيط وصل لغاية (20) ملمتر والتاثير التثبيطي البسيط عندما بلغ قطر منطقة التثبيط (13) ملمتر فضلا عن عدم وجود تاثير تثبيطي للعزلات الاخرى ,من جهة اخرى اعطت عزلة البكتريا قطراتثبيطياً عاليا تجاه*E.coli* ,*Staphylococcus saprophyticus* بقطر تثبيطـــي بلـــغ (20) ملم و (18) ملم على التوالي, كذلك اعطت قطرا تثبيطيا (16)ملم (13)ملم اتجاه البكتريا الاخرى*Klebsiella pneumoniae,Proteus mirabilis* ,ودلت نتائج التحليل الإحصائي معنوية الفروقات الموجودة في النتائج, ويعزى السبب في ذلك الى قدرة البكتريا على انتاج المواد المثبطة , واتفقت النتائج هذه مع النتائج (Masataka *et al.* , 2006 Priest *et al* ,1988) .

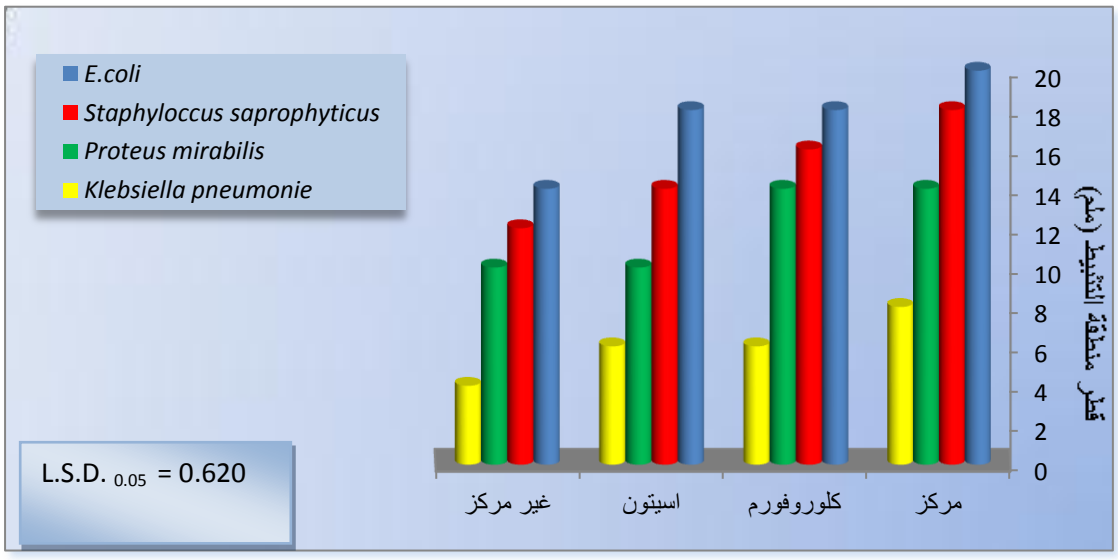


L.S.D. $_{0.05}$ = 0.439

شكل (3) الفعالية التثبيطية لاقراص بكتريا *B. circulans* في نمو بكتريا الاختبار

2- -الفعالية التثبيطية لراشح البكتريا فى الوسط السائل

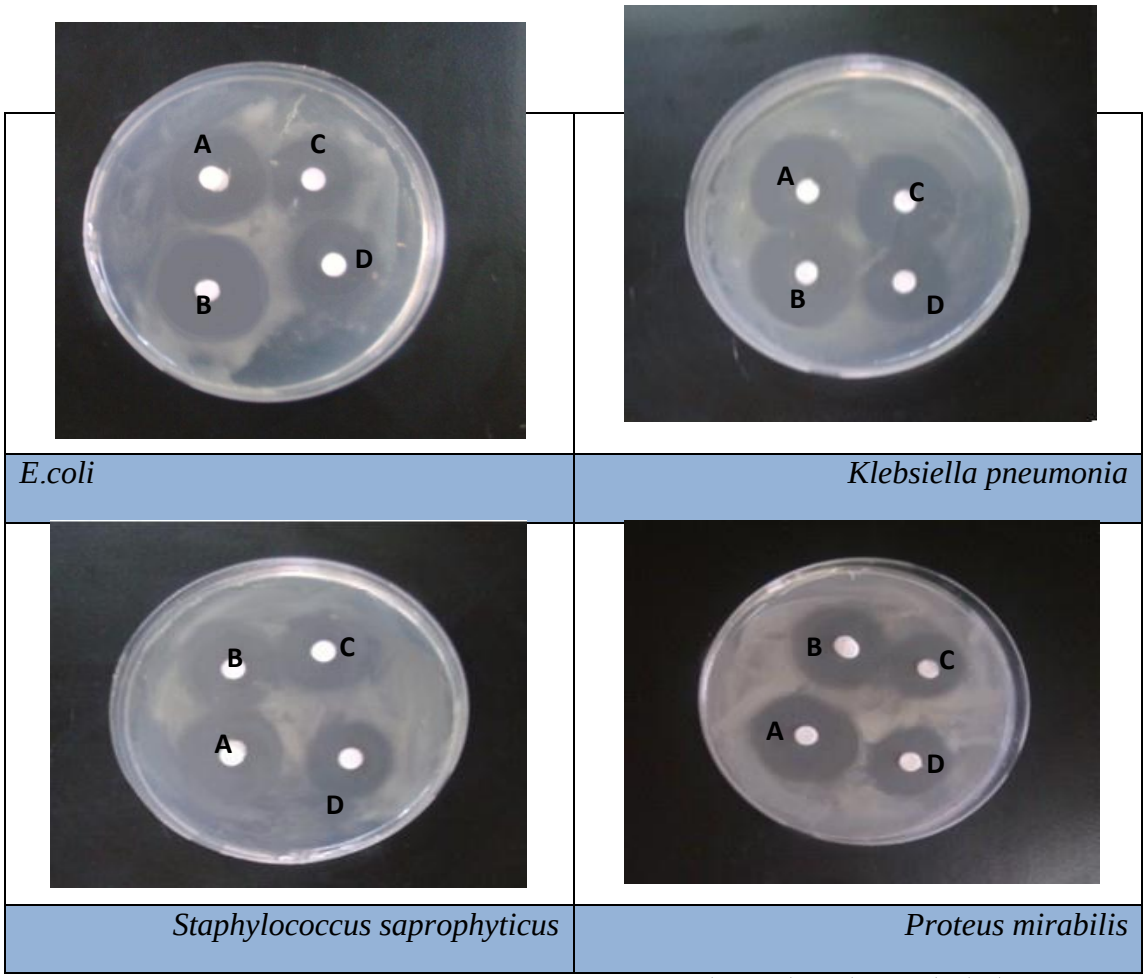
تم اختبار الفعالية التثبيطية لرواشح البكتريا(التركيز الافضل للعالق البكتيرى10^8x1.5 خلية/مل) النامية على الوسط السائل Nutrient broth بطريقة الاقراص باتباع طريقة (Gupta *et al.* , 1998) اتجاه البكتريا المرضية المقاومة للمضادات الحياتية , يوضح الشكل (4-) الفعالية التثبيطية لراشح البكتريا ومركباته الفعالة إذ ابدت المستخلصات(A , B)تاثيرا تثبيطياً عالياً اتجاه بكتريا الدراسة حيث بلغت اقطار منطقة التثبيط (18 , 16 , 14 , 6) ملم في نمو بكتريا (*Staphylococcus saprophyticus E.coli* ,*Proteus mirabilis, pneumoniae,Klebsiella*) المعاملة بمستخلص الكلوروفورم المركز . بينما اظهر مستخلص الاسيتون فعالية تثبيطية متوسطة اتجاه بكتريا *Staphylococcus saprophyticus E.coli ,Klebsiella pneumoniae,Proteus mirabilis* وباقطار تثبيطية بلغت (6,10,14,18) على التوالي , بينما ابدت البكتريا حساسية متباينة تجاه الراشح البكتيري المركز بكبريتات الأمونيوم , حيث بلغت أقطار التثبيط في النمو البكتيري (20 , 18 , 14 , 8) ملم أتجاه البكتريا وبالمنوال السابق نفسه ودلت نتائج التحليل الإحصائي معنوية الفروقات الموجودة في النتائج على مستوى معنوية $P<0.05$, لذلك لوحظ من خلال الدراسة ان الراشح البكتيري غير المركز و بأقطار تثبيطية تراوحت (14 , 12 , 10 , 4) ملم وأن أنخفاض الفعالية التثبيطية للراشح البكتيري ربما يعود لقلة المركبات الفعالة المفصولة فضلاً عن قلة تركيزها .



L.S.D. $_{0.05}$ = 0.620

شكل (4-) يوضح تأثير المركبات المفصولة للراشح اتجاه بكتريا الاختبار

ومن خلال النتائج تم استعمال الراشح المركز بالكبريتات والمفصول بالكلوروفورم وكبريتات الأمونيوم في التجارب على الحيوانات, نظراً لوجود تراكيز عالية من البكتريوسينات (الشبيب,2009). ولدى استعمال الرواشح المركزة باستعمال كبريتات الامونيوم المائية امكن الحصول على نتائج افضل من خلال الزيادة الملحوظة في الفعالية التثبيطية لتلك الرواشح وتوضح الصورة(-1) مدى تحسين فعالية رواشح البكتريا بعد تركيزها. ان للوسط السائل اثر في زيادة انتاج المضادات الحيوية ,حيث انه يحتوي على المغذيات وبعض العوامل التي تزيد من انتاج المضادات الحيوية ’لكونه يساعد على زيادة اعداد البكتريا المنتجة وتوفير ظروف نسبية ملائمة فضلاً عن عدم التصاق الخلايا فيما بينها مما يتيح لها فرصة كبيرة في إنتاج تراكيز كافية من المضادات الحياتية, ولدى مقارنة النتائج هذه مع تلك التي وجدها الباحثون الآخرون , فقد كان لرواشح البكتريا المنماة في الوسط السائل فعالية تثبيطية واسعة اتجاه البكتريا السالبة لصبغة كرام مثـــــل *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* (Gupta *etal.*, 1998) .فيما وجد(Dunne,*etal.*,(2001 أن لرواشح البكتريا تأثيراً تثبيطيا واسعا تجاه البكتريا السالبة لصبغة كرام مثل *Salmonella typhimurium*. (Sreekumar and Hosona, 2000) فقد لوحظ زيادة الفعالية التثبيطية لرواشح البكتريا لدى تركيزها.



E.coli | *Klebsiella pneumonia*

Staphylococcus saprophyticus | *Proteus mirabilis*

صورة (-1) القابليةالتثبيطية لمستخلصات البكتيريا في نمو بكتريا الاختبار

A = راشح مركز بكبريتات الامونيوم B = راشح مفصول بالكلوروفورم

C = راشح مفصول بالاسيتون D = راشح غير مركز

3. الفعالية التثبيطية لرواشح*B. circulans* في وسط النمو المشترك

أدى استعمال رواشح بكتريا *B. circulans*الى تثبيط نمو البكتريا المرضية بشكل واضح وذلك عندما انخفضت اعداد البكتريا الاختبارية بما يقارب من 6 دورات لوغارتيمية مقارنة باعدادها في وقت الصفر .والجدول رقم (4) يبين مدى حساسية البكتريا *E.coli* لرواشح البكتريا على حد سواء .إذ ادت الرواشح الى تثبيط نمو البكتريا المذكورة بشكل واضح حيث انخفضت اعداد *E.coli* من 4.5 ×10^8x خلية /مل في وقت الصفر الى 9 ×10^2 , 5.3 × 10^2, 4.5 × 10^2خلية / مل بعد 24 ساعة من النمو بوجود راشح البكتريا المركزة,بينما ازدادت اعداد

البكتريا *E.coli* عند تنميتها بوجود الوسط السائل من دون راشح (معاملة السيطرة) الى 3.6 $10 x^{9}$ خلية /مل بعد 24 ساعة من الحضن ,وعند حساب النسبة المئوية للتثبيط لوحظ ان رواشح البكتريا ادت الى تثبيط بكتريا *E.coli* بنسبة 90% ولدى تركيز الرواشح مرتين ثبط نمو البكتريا *E.coli* تماماً بعد 24 ساعة من التحضين مما يدل على حصول تثبيط نسبة 95% , توضح النتائج ايضاً ان الفعل التثبيطي لرواشح البكتريا المركزة تجاه البكتريا الاخرى التي لم تختلف حساسيتها لتلك الرواشح عن غيرها من البكتريا المرضية , فقد انخفضت اعداد بكتريا *Staphylococcus saprophyticus* 4 $x 10^{8}$ خلية /مل في وقت الصفر الى 10^{2}x5.3 خلية /مل للبكتريا المعاملة براشح الكبريتات المركز والى 3 x 10^{2} خلية/مل للبكتريا المعاملة براشح الكلوروفورم المركز و 2.5 x10^{2} للبكتريا المعاملة بالأسيتون بعد 24 ساعة من المعاملة على التوالي مقارنة بمجموعة السيطرة (8.5 x 10^{9}) خلية /مل . يبين الجدول ايضاً حساسية بكتريا *Proteus mirabilis* لرواشح بكتريا المركزة اذ ثبطت الرواشح البكتيرية نمو بكتريا *Proteus mirabilis* عندما انخفضت أعدادها من 4.5x10^{8} خلية /مل في وقت الصفر الى 5.5x 10^{2} و 6x 10^{2} و4.5 x10^{2} خلية /مل بعد 24 ساعة من معاملتها بالرواشح البكتيرية بينما بلغ عددها في معاملة السيطرة 6.5 x 10^{9} خلية /مل .يتضح مما تقدم من النتائج ان لرواشح البكتريا قد أظهرت فعلاً تثبيطياً عالياً تجاه بكتريا الدراسة, ودلت نتائج التحليل الإحصائي معنوية الفروقات الموجودة في النتائج على مستوى معنوية $P<0.05$. ويمكن ان يعزى التاثير التثبيطي لتلك الرواشح الى ما تحويه من مواد مثبطة ولاسيما البكتريوسينات, وابدت البكتريا *Klebsiella pneumoniae* تثبيطاً ملحوظاً مقارنة ببكتريا الاختبار, حيث تباينت الرواشح البكتيرية في تأثيرها على البكتريا إذ سجل راشح الكبريتات اعلى نسبة حيث انخفضت اعداد البكتريا من 5 x 10^{8} في وقت الصفر الى 5 x 10^{3} ,1.5x10^{3} , 5.5x 10^{3} خلية \مل عند معاملتها براشح كبريتات الامونيوم ,الكلوروفورم والأسيتون على التوالي بعد 24 ساعة من الحضن فضلاً عن مجموعة السيطرة 6.6 x 10^{9} خلية \مل لمدة الحضن ذاتها .

جدول (4) التاثير التثبيطي للمركبات المفصولة للراشح في وسط النمو المشترك

نوع المعاملة	البكتريا	اعداد البكتريا خلية /مل		نسبة التثبيط%
		وقت الصفر	بعد 24 ساعة	
كبريتات الامونيوم(A)	*E.coli*	^{8}x 104.5	10^{2} x 9	95
	Staphylococcus saprophyticus	^{8}x 104	10^{2} x5.3	95
	Proteus mirabilis	10^{8} x5	10^{2} x5.5	95
	Klebsiella pneumoniae	^{8}x 105	10^{3} x 5	90
الكلوروفورم (B)	*E.coli*	10^{8} x4.5	10^{2} x 5.3	95
	Staphylococcus saprophyticus	10^{8} x4	10^{2} x3	95
	Proteus mirabilis	10^{8} x4.5	10^{2} x6	95
	Klebsiella pneumoniae	10^{8} x5	10^{3} x1.5	90
الأسيتون (C)	*E.coli*	10^{8} x4.5	10^{2} x4.5	90
	Staphylococcus saprophyticus	10^{8} x4	10^{2} x2.5	90
	Proteus mirabilis	10^{8} x4.5	10^{2} x4.5	90
	Klebsiella pneumoniae	10^{8} x5	10^{3} x5.5	85
وسط السيطرة من دون رواشح	*E.coli*	^{8}x 104.5	10^{9} x 6.3	——
	Staphylococcus saprophyticus	^{8}x104.5	10^{9}X8.5	——
	Proteus mirabilis	^{8}x 104.5	10 10^{9}x6.5 ^{9}x6.6	——
	Klebsiella pneumoniae	^{8}x 104.5		——

$L.S.D._{0.05} = 122$

ويمتلك البكتريوسين الفعل الناقل والقدرة على الارتباط بمستقبلات الخلايا المحيطية, اذ يعد الغشاء البلازمي الهدف الرئيس للبكترويسين ,وتسبب معاملة الخلايا سرعة التدفق غير المتخصص للاحماض الامنية والايونات موجبة الشحنة وانفجار الغشاء الخلوي , مما يؤدي إلى موت الخلايا الحساسة له (Sengul ,2002).لوحظ من النتائج ان الرواشح المركزة قد اعطت نسبة تثبيط عالية بلغت 95% بعد 24 ساعة من المعاملة , ويعود ذلك الى زيادة تركيز المواد المثبطة التي ادت الى موت الخلايا الحساسة والمقاومة للمركبات الاخرى.ويزداد موت خلايا بكتريا الاختبار بزيادة تركيز المواد المثبطة التي تنتجها بكتريا *B. circulans* (Ogawa *et al.*b, 2001).

استنتج من خلال الدراسة ان *E coli* هو من اكثر الانواع شيوعا من بين الاخماج المرضية (37 %) مع ملاحظة مقاومة متفاوتة للعزلات البكتيرية للمضادات المستخدمة و ثبت من خلال النتائج أمتلاك البكتريا *Bacillus circulans* ورواشحها قدرة تثبيطية عالية تجاه بكتريا الدراسة كما ولوحظ أيضاً ان الراشح المركز بكبريتات الأمونيوم المشبعة وراشح الكلوروفورم لهما نشاط تضادي عال ضد البكتريا الممرضة .

المصادر:

- الراوي , خاشع محمود (2000). مدخل إلى الإحصاء ,الطبعة الثانية .كلية الزراعة والغابات .جامعة الموصل.

- الشبيب,اسفار(2009).علم الاحياء المجهرية الطبي والمضادات الحيوية والمعقمات,عمان .دار الثقافة .ISBN 9957-16-420-1 (2008\6\1833)

- الكرخي ,كفاح احمد جاسم (2005) دراسة كيموحيوية وبكتريولوجية لبعض عوامل الضراوة المنتجة من بكتريا *V.cholera* محلياً اطروحة دكتوراه – جامعة بغداد .

-References

-Ahmedova and Muhtarova.(2006). Investigation of thermophilie aerobic bacterium in the condition of *the Azabaijan repuplie ,zkubartin orman fakuttesi dergisi* .

-Atlas , R. M. ; Brown , A. E. and Packs , L. C. (1995). Laboratory Manual Experimental Microbiology , Ist Edition Mosby year book , Inc .(USA) .

-Bakker, R. (1986). Biological control : an overview. Canadian J. Plant Pathology.,8 : 218-221.

-Bauer , A. W.; Kirby, W. M. ; Sherris, J. C. and Turck, M.(1966). Antibiotic susceptibility testing by a standarized single disc method. Am.J. Clin. Pathol., 45: 493- 396.

-Belas , R.; Manos, J. and Suvansuthi, R. (2004). *Proteus mirabilis* zapA metalloprotease degradesa broad spectum of substrates, including antimicrobial peptides. Am. Soc. Microbiol., 63: 22-25.

-Brashears , M. M. ; Galyean M. L. ; Loneragan , G. H. ; Mann , J. E. and Monn , K. K. (2002). Prevalence of *Escherichia coli* D157: H7 and performance by beef feed lat cattle given Lactobacillus. J. food . prot. 66(5): 748 – 754 .

-Brooks , G. F. ; Butel I. S. and Moese , S. A. (1998). Jawetz , Melnik and Adelbrg's Medical . 21st ed . Middle Easted ; Appletion Larg .

-Chao – Ying Chen , Yi – Huei Wang and Chien – Jui Huang .(2004). Enhancement of the antifungal activity of *Bacillus subtilis* F29 – 3 by the chitinase encoded by *Bacillus circulans* Chi A gene , Can j. Microbiol 50 (6): 451 – 454 .

-Coker , C. ; Poore ; C. A. and Mobley , H. L. (2000). Microbes impacts .1997 ; 2(12): 535 .

-Collado, M. C.;Grzeskowiak, L.; Salminen, S.; (2007). Probiotic strains and their combination inhibit *in vitro* adhesion of pathogens to pig intestinal mucosa. Curr. Microbiol.,55(3):260-265.

-Collee , J.G. ; Fraser , A.G. ; Marminon , R, .P. and Simmon , A. (1996). Mackie and Mecarteny . Practical Medical Microbiology .14th – ed. Churchill Livingstone . New . York .

-Chukeatirote,E. (2003). Potential use of probiotics. J. Sei. Technol. 25(2):250 – 255.

-Dunne, C. (2001). Adaptation of bacteria to the intestinal niche:probiotics and gut . inflame, Bowel Dis,7(2):136 – 145.

-Dowrkin,Ao.(2006). Growth pattern and structural nature of amylases produced by same *Bacillus sp*. . Biotech, 5(4). 400 – 406.

-Edward A,Svetoch ; Norman J ;Stern Z ; Boris v ;Eruslano v ; yuri N .kovaler .(2005) . Isolation of *Bacillus circulans* and *Paeni bacillus polymyxa* strains enhibitory to campylobacter jejuni and characterization of association bacteriocins journal of food production ,volume 68 , No 1 ,pp. 11-17 (7) .

- El-Banna,N. (2005). Astudy on the antimicrobial activity of *Bacillus circulans* isolated from soil . J. Sci. Eng. Vol.18. No.4 .PP. 122 – 132.

-Eva , T. ; Bendt , M. and Jens , K. (1990). Studies on beta-lactamases from *Escherichia coli* Isolated from urinary tract infection . AMPIS. 98: 345 – 52 .

-Foxman , B. (1990). Urinary tract infection: Incidence and risk factors . Am J Pub Health. 80, 331 – 3 .

-James , A. K. ; Laurie , J. K. ; Laurie , J. K. ; Clyde , T. ; Mark , E. J. and

Daniel , F. S. (2002). Trends in Antimicrobial Resistance among Urinary Tract Infection Isolates of *Escherichia coli* from Female Outpatients in the United States. J. Antimicrob. Chemother ;46: 2540 – 2545 .

-Gupta , K. ; Hoooten , T. and Stamm , W. (2001). Increasing antimicrobial resistance and management of uncomplicated community-acquired urinary tract infections. Ann Intern Med. 135: 41 – 50 .

-He,H., Shen,B.,Korshalla , J. and Carter , G. T. (2001). Circulocins , new antibacterial lipopeptides from *Bacillus circulans* , J.2154 . *Tetrahedron* 57 , 1189 – 1195 .

-Jawetz , Melnick and Adelbergs. (2007) . Medical microbiology ,24th ed by vishal , pp. 47 – 60 .

-Karimi,O. and Pena,As. (2003). Tub different approaches in the use of probiotics as therapeutics . Drugs of today.39(8):260 – 270.

- Komoto .(2003) . Growth dynamic of *Bacillus circulans* colony ;Journal of theoretical biology 225.

-MacFaddin, J. E. (2000). Individual biochemical tests for identification of medical bacteria.3th ed. Lippincott Williams Wilkins, London. PP.57-424.

-Martinez – Gonzalez , B. ; Eriotou , E. ; Michopoules ,S. and Mentis , A. (2004). Invitro and invivo inhibition of *Helicobacter puglori* by Lactobacillus strain . Appl . Environ , Microbiol 70 (1): 518 – 526 .

-Masataka Konishi ; Koko Sugawara; Koji Tomita ; Kryoshi Matsumoto ; Takeo Miyaki ; Kei – ichi; Fujisawa ; Hiroshi ; Tsakivra and Hiroshi Kawaguchi .(2006). Production isolation and properties of Bu-2470 A,B,andB2 the journal of antibiotics vol. 36 , No. 6 , pp 625 – 633 .

-Murray, B.E. (2000).The life and time of Enterococci. Clin. Miocrobiol. Rev., 3(1):46-65.

-National Committee for Clinical Laboretory Standards N.C.L.S. (2002). The performance standard for antimicrobial susceptibility testing methods 7thed Vol. 22(1).(USA).

-Nereus , W. ; Gunther , I.V. ;Virginia , L; David, E. J. and Harry , L. T. (2001). In Vivo Dynamics of Type 1 Fimbria Regulation in Uropathogenic *Escherichia coli* during Experimental Urinary Tract Infection . Infect. Immun 2001;69: 2838 – 2846 .

-Ogawa(b) ,M. ; Shimizu , K. ; Nomoto , K. ; Takahashi , M. and Tanaka , T. (2001). Inhibition of Invitro growth of shiga toxin – producing E. coli by probiotics . Intern .J. food . Microbiol , 68: 135 – 140 .

-Phillips , I. (1978). Identification of *Pseudomonas aeroginosa* in the clinical laboratory , Journal of Medical . Microbiology .2: 9 – 16 .

-Priest, F.G.; Goodfellow M. andTODD C.(1988). Anumerical classification of the genus Bacillus J. Gen . Microbiol . 134 , 1847 – 1882 .

-Reddy, T. and Tilak, R. (2006). Influence of culturable condition on lipopeptide by *Bacillus sp.*Appl. Biochem. Biotechnol *Bacillus sp.*. 91 – 93 – 522 – 532.

-Sengul, A. ;K. ell.(2002). Antimicrobial activity and characteristic of Bacteriocin produced by vaginal Lactobacilli, Tutk. J. med sa , 33-P: 7 – 13.

-Sreekumar,O. and Hosona,A. (2000). Immediate effect of *Bacillus circulans* on bacterial growth and the invitro inhibition of *Escherichia coli* in culture. J.Dairy Sci., 53:921 – 939.

-Srinivasa reddy. (2006).*Bacillus cereus* and *Bacillus circulans* – novel inoculants for crops , current science ,vol 90 , No .5 .

-Suskovic,J. ;Brick, B.;Matosic,S. and Mavic,V. (1997). *Bacillus circulans* as potential antibiotics strain. J. Milchwissen Schaft,. 52(5): 35 – 360.

-Toba, T.; Samant, S. and Itoh, T.(1991). Assay system for detecting bacteriocin in microdilution wells. Lett. Appl. Microbiol.,13: 102-104

-Torres,M.E.;Pires,M.C.;Varela,G.;Falconi,E.;Ferrari,Am.And Engold ,E. (2001).Etiologyof childrens diarrhea in montevideo Uruguay:Associated pathogens .J.Chinic. Microb, 39(5):2150

The antagonism activity investigation of *Bacillus circulans* against some bacteria causing urinary tract infection

Dr. Mahdi Hussain M. Al- Ammar Thefaf hamed A,. Al-Sahib

Unversity of Kufa-Bio.D.p.t

Summary:

The study aimed to investigation and identification on antagonism activity of *Bacillus circulans* filtrates against causative bacteria ofUTI , which represented by *E.coli, Proteus mirabilis Staphylococcus saprophyticus* and *Klebsielle pneumonia* .

200 urine samples of female suffering fromUTI in were collected and suspected bacterial causative agent were isolated , there identification throughout cultural ,microscopical and biochemical characterization ,moreover ,the susceptibility to antibiotics were tested in order to select a resistance one from each bacterial species ..One isolated (C_2) possessing high inhibitory activity against that bacteria were chosen for the further study that the antagonism activity of bacterial filtrates were investigated in the soild and common growth media.

Resistance of the chosen (C_2) isolated to various level of pH and bile salt for different periods of times was studied.Results obtained may be summarized as follows :

Regarding bacteria causing UTI (200) isolates ,they are distributed as (74) cases *E.coli* ,(24)cases *P. mirabilis*,(30) cases *Staph. saprophyticus* ,(52)cases *K. neumoniae* were obtained ,they different in their resistance to antibiotics used .The result showed that the *B. circulans* (C_2) resist to high acidity and bile salt (30 %) during 24 hours .Also,the concentration filtrate with ammonium sulphate and filtrate separated by chlorophorm were high activity against test bacteria ,the inhibitory zone in(*E.coli, Staph. saprophyticus, P. mirabilis , K. pneumonia*e)were (20,18,14,8) , (19,16,14,6) respectively compound with other compounds.