الكشف عن تكوين الغشاء الحيوي Biofilm في بكتريا العنقوديات .Staphylococci spp متعددة المقاومة لمضادات الحياة والمعزولة من أخماج سريرية مختلفة

م.د. ازدهار محمد جاسم

جامعة ديالى / كلية العلوم /قسم علوم الحياة

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى التحري عن تكوين الغشاء الحيوي Biofilm في عزلات من بكتريا المكورات العنقودية Staphylococci المتعددة المقاومة لمضادات الحياة ولاسيما البيتا لاكتام والمعزولة من مصادر سريرية مختلفة شملت (مسحات الحروق، مسحات الجروح مسحات الأُذن، عينات إدرار ومسحات البلعوم)، تمَّ الحصول على 12 عزلة 6 منها كانت عائدة لبكتريا *S.aureus* والـــ6 الاخرى عائدة لبكتريا *S.epidermidis* مشخصة مختبريا" وتم تأكيد التشخيص بأستخدام جهاز Vitek 2 compact system في مختبر البكتريولوجي في مستشفى بعقوبة التعليمي .

أُجري إختبار الحساسية لستة من مضادات الحياة بإستعمال طريقة Kerby- Bauer , أظهرت العزلات مقاومتها لمضادات الحياة بشكل متفاوت , وبلغت نسبة مقاومة عزلات *S.aureus* للمضادات Erythromycin و Clindamycin و Vancomycinو Gentamicin و Chloramphenicol و Ciprofloxacin(66.7%و50%و 33.3%و 66.7%و 50%و 33.3%)على التوالي . بينما بلغت نسبة مقاومة عزلات *S.epidermidis* لنفس المضادات (66.7%و50%و 33.3%و 33.3%و 50%و 50%) على التوالي.

كما أُجري التحري عن تكوين العزلات البكتيرية للغشاء الحيوي بأعتباره عامل ضراوة مهما" في أحداث المرض ,تم الكشف بطريقتين وهي طريقة صفيحة المعايرة الدقيقة Micro Titer plate وطريقة وسط أحمر الكونغو Congo red agar , اظهرت النتائج ان 4 عزلات وبنسبة 66.7% من بكتريا *S.aureus* أعطت نتيجة موجبة اذ كان نمو المستعمرات باللون الاسود وذا كثافة بلورية وعزلتين كانتا سالبتين اذ بقي نموهما باللون الوردي وبنسبة 33.3% اما عزلات بكتريا *S.epidermidis* فكانت 5 عزلات منتجة للغشاء الحيوي وعزلة واحدة كانت سالبة لهذا الاختبار، أما بطريقة صفيحة المعايرة الدقيقة فاعطت 4 عزلات من بكتريا *S.aureus* انتاجية عالية وعزلتان انتاجيتهما متوسطة اما عزلات بكتريا *S.epidermidis* فكانت 3 عزلات انتاجيتها عالية و3 عزلات انتاجيتها متوسطة .

الكلمات المفتاحية : تكوين الغشاء الحيوي ,بكتريا العنقوديات ,مضادات الحياة

المقدمة :

تعد المكورات العنقودية من اكثر البكتيريا انتشارا" في الطبيعة ,اذ توجد في الهواء والتربة وعلى جلد الانسان والاغشية المخاطية والقناة التنفسية وتوجد بشكل نبيت طبيعي في انف وبلعوم الانسان (1) وتعد المكورات العنقودية المسبب الشائع للاخماج طويلة الامد والمرتبطة بتكوين الغشاء الحيوي Biofilm mediated life –threatening infections مثل القساطر داخل الوريد interavenous catheters وصمامات القلب الصناعية Artificial heart valves والمفاصل الصناعية Prosthetic joints (2) ,ان قابلية ممرضات المستشفيات Nosocomial pathogens لتكوين الغشاء الحيوي لها اهمية سريرية بالغة ,اذ يجعلها اكثر مقاومة لمضادات الحياة ودفاعات الجسم ولهذا السبب يكون تاثيرها اكبر في الاصابة , فضلا" على ذلك ان استعمار هذه الممرضات للادوات Devices يمكن جعلها بؤرة للاصابة وان تسبب اخماجا" عامة وموضعية (3).

تمتاز انواع جنس المكورات العنقودية بانها موجبة لصبغة غرام ,كروية الشكل ,غير متحركة وغير مكونة للسبورات ,لاهوائية اختيارية ويبلغ قطر الخلية (0.5–1.5) مايكروميتر ,توجد على هيئة خلايا مفردة او مزدوجة او على هيئة سلاسل قصيرة او على هيئة عناقيد غير منتظمة تشبه عناقيد العنب Grape –like shape وهي تصنف الى مجموعتين رئيسيتين هما موجبة لانزيم التخثر Coagulase-positive staphylococci (COPS) وتمثل المكورات العنقودية الذهبية *S.aureus* او سالبة لانزيم التخثر Coagulase –Negative staphylococci (CONS) اذ تمثل *S.epidermidis* (4,5).

تعد المكورات العنقودية من الممرضات المهمة والخطيرة وذلك لقدرتها على احداث المرض في عدة مواقع من الجسم , وان امراضيتها لها علاقة بقدرتها على انتاج العديد من عوامل الضراوة والمتمثلة في انتاج الذيفانات Toxins والانزيمات خارج خلوية Extracellular Enzymes التي تمنح البكتريا القدرة على التضاعف والانتشار داخل انسجة المضيف ,فضلا" عن مقاومتها العالية والمتعددة لمضادات البيتالاكتام والامينوكلايكوساید وهذا بدوره يجعلها من الممرضات الرئيسية المسببة للاصابات بعدوى المستشفيات اذ انها تنتج انواع من الذيفانات Toxins مثل الهيمولايسين الذي يقوم بتحليل كريات الدم الحمراء Erythrocytes والصفيحات الدموية (6).كما أنها تنتج انزيم البروتييز Protease الذي له القدرة على تحطيم وهدم الببتيدات ضد المايكروبية Antimicrobial peptides المنتجة من قبل خلايا المضيف ,ويعمل على تحلل العناصر البروتينية الداخلة في تركيب الخلايا ,فضلا" عن دوره في فلق ومنع نشوء الجسم المضاد من نوع من خلال تحطيم السلاسل الثقيلة (7).ويعمل

انزيم اللايبيز lipase على تحليل الدهون الثلاثية Triacylglycerolعن طريق كسر وتحطيم اصرة الاستر التي تربط جزيئات الشحم والماء الموجود في الدهون الثلاثية مكونا" احماض شحمية حرة free fatty acids وكليسرول glycerol (8). تستطيع بكتريا المكورات العنقودية انتاج اللايبيز وهو عامل امراضي اذ يعمل على التداخل مع الخلايا البلعمية ومنع عملية الابتلاع phagocytosis مانعا" بذلك الاستجابة المناعية التي تظهرها هذه الخلايا ضد المكورات العنقودية وغيرها من البكتريا المرضية المنتجة لهذا الانزيم (9). تمتلك بكتريا Staphylococci انزيم Staphylokinase الذي له القابلية على تحليل خثرة الليفين Fibrin clot وهذا بدوره يسمح للبكتريا بالانتشار خلال انسجة العائل من الجروح والحروق والخدوش مما يؤدي الى حدوث التهابات جلدية (10).

يعرف الغشاء الحيوي Biofilm بانه المادة المخاطية المتكونة من عديد السكريات الخارجية التي تكونها الكائنات المجهرية والتصقت بسطوح داخلية بينية وتتكون غالبا" من نوع واحد او عدة انواع بكتيرية تتداخل مع بعضها ومع البيئة التي تعيش فيها , تتضمن عملية تكوين الغشاء الحيوي للمكورات العنقودية عوامل مشتركة ومترابطة تجمع بين المضيف والبكتريا (11) .يوفر الغشاء الحيوي حماية لبقاء الخلايا البكتيرية حية في الظروف القاسية ,ويعد مسؤولا" عن 65% من الاصابات المرضية ,ومنها التهاب الاذن الوسطى والاصابات المتعلقة بالادوات الطبية والتهاب المجاري البولية والتهاب اللثة وتسوس الاسنان (12).وأن أهم مايميز البكتريا داخل الغشاء الحيوي هو امتلاكها لدرجة عالية من المقاومة لمضادات الحياة (13).

ان الاستعمال الواسع والعشوائي لمضادات الحياة في علاج الاصابة بالبكتريا ادى الى النشوء والظهور السريع للعزلات المقاومة لمضادات الحياة وخصوصا" بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S.aureus* المقاومة لمجموعة البيتالاكتام Beta-Lactam (14).

اذ يشكل ظهور سلالات بكتيرية مقاومة لمضادات الحياة مصدر قلق في كافة انحاء العالم ,وان ما يزيد المشكلة سوءا" هو ان هذه المقاومة لاتقتصر على مضاد حياتي معين بل تتعداه لتشمل كل المركبات التي تعود للصنف نفسه وهذا ما يسمى بالمقاومة المتعددة Multidrug Resistance (MDR)(15).

نظراً لأهمية الدراسات الخاصة بتحديد أنواع المكورات العنقودية Staphylococciالمقاومة لمضادات البيتالاكتام والمسببة لأخماج سريرية مختلفة , فقد هدفت الدراسة الى الكشف عن حساسية العزلات البكتيرية اتجاه مضادات الحياة فضلا" عن الكشف عن تكوين الغشاء الحيوي Biofilm للبكتريا .

طرائق العمل

جمع العزلات البكتيرية:

تمَّ الحصول على 12 عزلة بكتيرية 6 منها كانت عائدة لبكتريا *S.aureus* وال6 الاخرى عائدة لبكتريا *S.epidermidis* مشخصة مختبريا" وتم تأكيد التشخيص بواسطة جهاز Vitek 2 compact systemمن مختبر البكتريولوجي في مستشفى بعقوبة التعليمي وكانت هذه العزلات من مصادر سريرية مختلفة تضمنت (مسحات الحروق ، ومسحات الجروح ، ومسحات الأُذن، عينات الإدرار , مسحات البلعوم) , تم تنشيط العزلات البكتيرية على وسط نقيع القلب والدماغ الصلب.

فحص الحساسية لمضادات الحياة Antibiotic suscepitibility test

أُجري إختبار حساسية البكتريا بأستعمال مضادات الحياة الآتية (5 Clindamycin مايكروغرام) و (30 Erythromycin مايكروغرام) و(30 Choramphenicol مايكروغرام) و(10 Gentamicin مايكروغرام)و30 Vancomycin مايكروغرام) و (5مايكروغرام Ciprofloxacin) بالإعتماد على طريقة Kerby- Bauer method على وسط مولر–هنتون الصلب بحسب ماورد في (16) وكالاتي :

1. حُضر عالق البكتريا من العزلات البكتيرية قيد الدراسة بنقل مستعمرة مفردة بعمر 24 ساعة منماة على وسط نقيع القلب والدماغ الصلب الى 5 مليلتر من المحلول الملحي الفسلجي ثم قورنت عكورة العالق مع عكورة محلول ثابت العكرة القياسي الذي يُعطي عدداً تقريبياً للخلايا مقداره $10^8 \times 1.5$ خلية / مليلتر .
2. بوساطة مسحة قطنية معقمة نشر مقدار 0.1 مليلتر من العالق الجرثومي الى سطح أطباق حاوية على وسط مولر–هنتون الصلب , ثمّ تُركت لتجف بدرجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق.
3. نُقلت أقراص مضادات الحياة Antibiotic disks بملقط معقم الى الأطباق بواقع 5-6 أقراص للطبق الواحد ، حُضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 18– 24 ساعة .
4. قُرئت النتائج بملاحظة مناطق التثبيط المتكونة حول أقراص مضادات الحياة وأُعتبرت الجراثيم حساسة , او متوسطة , او مقاومة حسب المواصفات القياسية الواردة في (16).

الكشف عن تكوين الأغشية الحيوية Detection of biofilm formation by Staphylococcus Spp.

أُستخدمتْ طريقة صفيحة المعايرة الدقيقة Micro Titer Plate (MTP) بحسب ما جاء في (17) للكشف على قابلية البكتريا على تكوين الغشاء الحيوي وكذلك طريقة وسط أحمر

الكونغو, اذ أختبرت قابلية العزلات البكتيرية على تكوين الغشاء الحيوي وذلك بنقل مستعمرة مفردة نقية الى انبوبة اختبار حاوية 5 مليلتر من محلول الفسيولوجي وبعد مقارنة عكورة النمو مع عكورة انبوبة ماكفرلاند زرع وسط احمر الكونغو المحضر وذلك بأذابة 37 غم من مرق نقيع القلب والدماغ وأضيف اليه 50 غم سكروز و10 غم من الاكار– الاكار الى 900 مل من الماء المقطر ثم عقم بالمؤصدة بدرجة حرارة 121م لمدة 15 دقيقة واكمل الحجم الى لتر ,وتم تعقيم محلول صبغة احمر الكونغو (0.8 غم /لتر) لوحده بالفلترة ويتم اضافة محلول الصبغة والسكر معا" بعد تبريده الى درجة 55م ومزج جيدا" ثم صب في اطباق معقمة) الصلب بطريقة التخطيط على الوسط الصلب ثم حضنت الاطباق في 37 م لمدة 24 ساعة ,لوحظت بعدها النتيجة الموجبة بظهور مستعمرات سوداء اللون مع كثافة بلورية (18).

النتائج والمناقشة

جمع العينات

تم الحصول على 12 عزلة من بكتريا *Staphylococci* ست عزلات عائدة لبكتريا *S. aureus* وست عزلات عائدة لبكتريا *S.epidermidis*مشخصة مختبريا" وتم تأكيد التشخيص بواسطة جهاز Vitek 2compact system في مختبر البكتريولوجي في مستشفى بعقوبة التعليمي وكانت هذه العزلات من مصادر سريرية مختلفة تضمنت (مسحات الحروق ، ومسحات الجروح ، ومسحات الأُذن، عينات الإدرار ومسحات البلعوم) , تم تنشيط العزلات البكتيرية على وسط نقيع القلب والدماغ الصلب.

أختبار حساسية بكتريا المكورات العنقودية لمضادات الحياة :

أظهرت نتائج أختبار حساسية عزلات المكورات العنقودية تجاه 6 مضادا" حياتيا" أن جميع العزلات قيد الدراسة تمتلك مقاومة متفاوتة اتجاه 6 من مضادات الحياة وبلغت نسبة مقاومة عزلات *S.aureus* للمضادات Erythromycin و Clindamycin و Vancomycinو Gentamicin و Chloramphenicol و Ciprofloxacin (66.7%و50%و 33.3%و 66.7%و 50%و 33.3%)وعلى التوالي . بينما بلغت نسبة مقاومة عزلات *S.epidermidis* لنفس المضادات (66.7%و50%و 33.3%و 33.3%و 50%و 50%) وعلى التوالي و كما موضح في جدول رقم 1.

وقد أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن نسبة مقاومة المكورات العنقودية لهذه المضادات متوافقة مع ما توصل اليه Terkiواخرون ,(2013) (19).

أن سبب مقاومة بكتريا Staphylococci لمضاد Erythromycin فأنها قد تعود لامتلاكها جينات مقاومة محمولة على بلازميدات تشفر لتحوير الموقع الهدف 50S (موقع

أرتباط المضاد) مما يؤدي الى عدم قدرته على الارتباط به مسببا" مقاومة البكتريا له . والسبب في مقاومة المكورات العنقودية للمضاد Clindamycin هو نتيجة حدوث طفرة في الوحدة 50Sوالتي تمنع عملية التصنيع الحيوي للبروتين أو عن طريق تحوير الموقع الهدف . وقد يعود سبب المقاومة لهذا المضاد Gentamicin وجود جين يشفر لاحداث تحوير في الموقع الهدف 30Sالذي يرتبط به المضاد ويسبب نشوء المقاومة، أما سبب مقاومة عزلات Staphylococcusلهذا المضاد Vancomycin يعود الى احاطة البكتريا نفسها بالطبقة اللزجة Slime Layer التي تنتجها بكميات كبيرة او عن طريق انتقال جينات مشفرة لصفة المقاومة لهذا المضاد والمحمولة على بلازميدات اقترانية او جينات قافزة من سلالات وانواع بكتيرية اخرى الى بكتريا *S.aureus* مكسبة اياها صفة المقاومة لهذا المضاد (20).

جدول 1 مقاومة عزلات Staphylococci لمضادات الحياة

مضادات الحياة	عدد ونسبة عزلات S.aureus %		عدد ونسبة عزلات S.epidermidis	
	R	S	R	S
Erythromycin	4(66.7)	2(33.3)	4(66.7)	2(33.3)
Clindamycin	3(50)	3(50)	3(50)	3(50)
Vancomycin	2(33.3)	4(66.7)	2(33.3)	4(66.7)
Gentamycin	4(66.7)	2(33.3)	2(33.3)	4(66.7)
Chloramphenicol	3(50)	3(50)	3(50)	3(50)
Ciprofloxacin	2(33.3)	4(66.7)	3(50)	3(50)

انتاج الغشاء الحيوي Biofilm Production

تم الكشف عن قابلية تكوين الغشاء الحيوي من بكتريا المكورات العنقودية بطريقتين :

اولا: تكوين الغشاء الحيوي بطريقة وسط احمر الكونغو Congo Red Agar

اظهرت النتائج ان 4 عزلات وبنسبة 66.7% من بكتريا *S.aureus* أعطت نتيجة موجبة اذ كان نمو المستعمرات باللون الاسود وذا كثافة بلورية أما عزلتان فكانتا سالبتين اذ بقي نموهما باللون الوردي وبنسبة 33.3% ى عزلات بكتريا *S.epidermidis* فكانت 5 عزلات منتجة للغشاء الحيوي وعزلة واحدة كانت سالبة لهذا الاختبار , شكل رقم(1). تقاربت النتائج مع ما توصل اليه Mathur وجماعته (2006)(21) الذي وجد ان 77.8% من عزلات Staphylococciمنتجة للغشاء الحيوي .

وقد يعود السبب في اختلاف النتائج الى طبيعة ونوع وحجم العينة المأخوذة والموقع الجغرافي الذي جمعت فيه العينات .

شكل رقم 1 توضح النتيجة الموجبة للكشف عن الغشاء الحيوي بطريقة احمر الكونغو

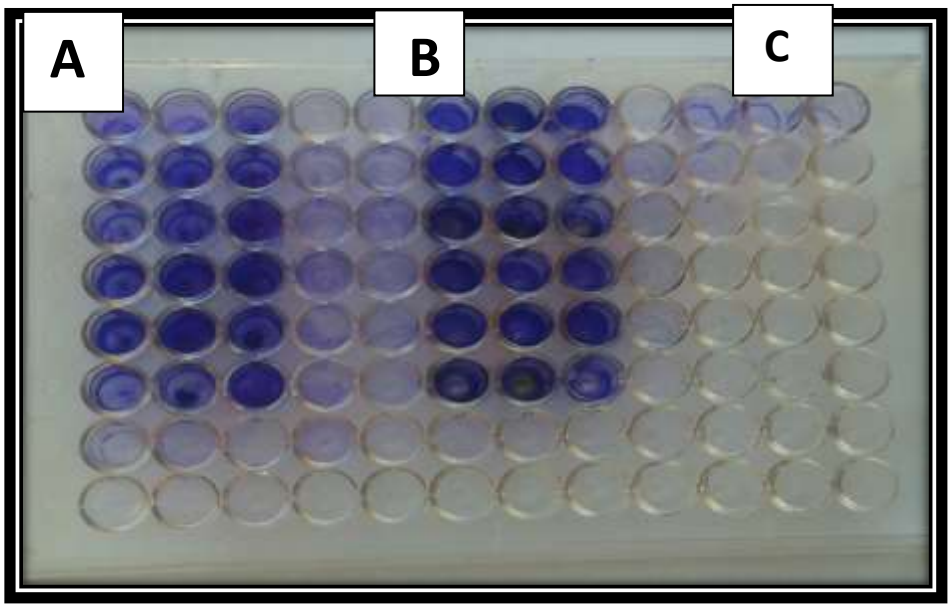
ثانيا : أنتاج الغشاء الحيوي بطريقة صفيحة المعايرة الدقيقة Micro Titer Plate

أُستخدمت طريقة صفيحة المعايرة الدقيقة Micro Titer Plate method (MTP) في الكشف عن تكوين عزلات المكورات العنقودية *Staphylococci* للأغشية الحيوية , إذ أظهرت النتائج المبينة في الجدول رقم 1 وبالإعتماد على دراسة (Tang *et al.*,2011)(17) في الكشف عن تكوين الأغشية الحيوية , إنّ جميع العزلات الداخلة في الدراسة تمتلك خاصية تكوين الغشاء الحيوي, جدول 1. شكل رقم 2 .

توافقت النتائج مع الباحث Nasr وجماعته (2012)(22) , اذ لاحظوا ان من بين 50 عزلة من Staphylococci23 عزلة كانت منتجة للغشاء الحيوي وبقوة .ولم تتفق النتائج مع نتائج الباحث Terki وجماعته (2013) (19) إذ لاحظوا ان من بين 44 عزلة 8 عزلات من بكتريا Staphylococciكانت منتجة وبقوة للغشاء الحيوي

جدول 1 يوضح قابلية تكوين المكورات العنقودية .Staphylococci Spp للأغشية الحيوية

مستويات انتاج الغشاء الحيوي	عدد عزلات S.aureusالمكونة للغشاء الحيوي	عدد عزلات S.epidermidis المكونة للغشاء الحيوي
أنتاجية عالية	4 (%66.7)	(%50)3
انتاجية متوسطة	(%33.3)2	(%50)3
ضعيف/غير منتج	0(%0)	(%0)0
المجموع الكلي	(%100)6	(%100)6



شكل رقم 2 توضح تكوين الغشاء الحيوي بطريقة صفيحة المعايرة الدقيقة

A_ تكوين الغشاء الحيوي في بكتريا *S.aureus*

B_تكوين الغشاء الحيوي في بكتريا *S.epidermidis*

C_ السيطرة للمقارنة Control

References

1. Matthew, J.T.(2012). Synthesis of the accessory gene regulatory auto inducing peptide in *Staphylococcus aureus* .***Int. J. Antimicrob Agent*** .44:123-130.
2. Davey,M.E. and O Tool,G.A. (2000).Microbial biofilms :from ecology to molecular genetics .***Microbiol Mol Biol Rev*** ,64:847-67.
3. Jain,A.(2009). Biofilm production,amarker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci .***J Microbiol Methods*** ,76:88-92.
4. Namvar,A.E. ;Bastarahang,S. ;Abasi ,n;Ghehi,G.;Farhabakhtiarin ,S.Arezi,P.;Hosseeini ,M. and Baravati ,Sh.(2014). Clinical Characteristics of *Staphylococcus epidermidis* :asystematic review.***GMS Hygiene and Infection Control*** .9(3).
5. Ifeanyichukwu,I;Chika ,E.;Emmanual ,N.;Anthonia ,O.;Ngozi ,A. and Eather, U.I.(2015) Community acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (Ca-MRSA)carriage among tertiay School Students .***American Journal of Science and Technology*** ,2(1):18-21.
6. Pinheiro ,L.;Brito,C.I.; Oliveira ,A.;Martins,P.Pereira ,V.C. and Rebeiro, M.(2015). *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus* :Molcular Detection of cytotoxin and Enterotoxin Genes.***Toxins***,7:3688-3699.
7. Bizye ,A.;Sago,A.;Admasu,G.;Getachew, H. ;Kassa, P. ;and Amsays,M.(2014).Isolation,Optimization and Characterization of protease producing bacteria from soil and water in Gondar town, North west Ethiopia .Int.J.Bacterio,Virolo and Immunolo.(3):20-24.

8. Kalyani ,N.and Saraswathy N.(2014).production of extracellular lipase by a new strain *Staphylococcus aureus* NK-LB337 isolated from oil contaminated soil .***African Journal of Biotechnology*** ,13 (28)2858-2866.
9. Winny,X. ;Khosasih ,V.;Suwanto,A.;and Kim ,H.K.(2012).Characterization Lipases from *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from Human facial Sebaceous skin .***J.Micro.Bio.Biotech***.22(1)84-91.
10. Menestrina,G.;Dalla ,S.and prevost ,A.(2011). Mode of action of β.barrel pore – forming toxin of Staphylococcal α heamolysin family .***J.Toxicon*** .39,11:1661-1672.
11. Ali,O.A.(2012).Preventation of proteus mirabilis Biofilm by surfactant solution .***Egyp.Acad.J.Biology .Sci***.4(1):1-8.
12. Ansari,S.A. Baqai ,R.,Memon,M.R. ;Aziz, Mand Khan ,M.k. (2011). Biofilm formation and isolation of *Staphylococcus aureus* from blood culture of patient under going oral surgical procedures.***J.Pak.Dent.Assoc***,20(3):181-184.
13. Reiter, K.C. ;Villa ,B. ;Silva –paim ,T; Oliveira ,C. and Azevedo ,P. (2013). Inhibition of Biofilm maturation by linezolid in mrthicillin –Resistant *Staphylococcus epidermidis* cilincal isolates : comparison with other drug .***J.Medical Microbiology*** , 62:394-399.
14. Sibanda ,T.and Okoh ,A.I.(2008). In vitro evalution of the interaction between acetone extract of *Garcinia Kola* and some antibiotics .***Afri J.Biotech***.,7(11) :1672-1678.
15. Girou , E .;Legrand ,P.;Soing- Altrach,S.;Iemire, A.;Tkoub,L.;Chai ,sh.; Dupeyron ,C.; and Loche ,C.M. (2006).Association between hand hygiene compliance and methicillin –resistant *Staphylococcus aureus* prevalence in a Franch rehabilitation hospital .***Infec control Hospepidemiol***,27(10)1128-1130.
16. Clinical Laboratory Standards Institute (C.L.S.I.).(2011). Performance Standards for Antimicrobiol Susceptibility Testing: Twenty –First Informational Suppllement Clinical and Laboratory Standards Institutes antimicrobial susceptibility testing , Clinical and laboratory Standarda Institute.
17. Tang ,J.;Kang,M.;Chen ,H.;Shi.X.;Zhou,R.;Chen,J. and Du,Y.(2011).The Staphylococcal nuclease prevents biofilm formation in *Staphylococcus aureus* and other biofilm –forming bacteria .***Sci.Chinaq.Life*** .,54(9):863-9.
18. Freeman ,D.J.; Falkiner ,F.R. and Keane ,C.T.(1989).New method for detecting slime production by coagulase negative Staphylococci .***J.Clin.Pathol***.,42:872-874.
19. Terki,K.I.; Hassane,H.; Salwa,O. and Samia B.(2013).Detection of icaA and icaD genes and biofilm formation in Staphylococcous spp. isolated from urinary catheter at the university hospital of tlemcen(Algeria).African Journal of Microbiology Research,7(47):5350-5357.
20. Jawetz ,M.;Adelberg ,E.A.;Brooks,G.F.;Butel,J.S. and Morse .S.A.(2007) .Medical. Microbiology .(24ed).MC Graw-Hill company ,New york.
21. Mathur TSnghal S:Khan S:Apadhyay:Fattma T.(2006).Detection of Biofilm Formation among The clinical isolates of Staphylococci :An evolution of three different screening methods.***Indian J. of Med. Microbiol***,24(1)25-9.
22. Nasr A.R.:Aboshady H.M.and Hussien S.H.(2012) .Biofilm formation and presence of ica AD gene in clinical isolates of staphylococci.***The Egyptian J. Med Human Genetics***,13:269-214.

Detection of Biofilm in Staphylococci isolated from different clinical infections

Dr. Izdehar M. Jasim
University of Diayla/ College of Science/Biology Department

Abstract

This study aimed to detection of biofilm in multi drug resistant especially to beta –lactam of Staphylococci spp. isolated from different clinical infections ,which includes (burn swab, wound swab, ear swab, urine samples and pharynx swab) , We obtained 12 isolates of staphylococci spp . six were to be *S. aureus* , while other six isolates were to be *S .epidermidis* characterised by laboratory of bacteriology in teaching baquba hospital and the characterised is certain by using vitek 2 compact system .

Sensitivity of isolates against 6 antibiotics were performed by using Kerby-Bauer ,The isolates were appeared different resistant to antibiotics , the percentage of resistance of *S. aureus* isolates to Erythromycin ,clindamycin , Vancomycin , Gentamicin, Chloramphenicol and Ciprofloxacin were to be(66.7% , 50%, 33.3%, 66.7%, 50%, 33.3%)While the resistance to *S.epidermidis* to same antibiotics were to be (66.7%, 50%, 33.3%,33.3% 50%, 50%)

Detection to Biofilm tests of Staphylococci spp. also performed , detect was performed by two methods micro titer plate and congo red agar , the results appeared that 4 isolates of *S.aureus* (66.7%) were positive results gave black growth and crystal density while 2 isolates (33.3%) were negative , while *S.epidermidis* isolates 5 isolates were positive and only one isolates was negative .while the microtiter plates 4 isolates of *S.aureus* were strong producer and 2 isolates were to be medium ,and *S.epidermidis* 3 isolates were to be strong producer and 3 other were to be medium.

***Key words*: Biofilm formation ,Staphylococcus spp. ,Antibiotics,**