------مجلة علوم الرافدين، المجلد 24، العدد 6، ص55-65، 2013------

التحري عن تكوين الاغشية الحيوية في بعض الجراثيم المرضية باستخدام طريقتي الانبوب و اكار احمر الكونغو

***عائشة وميض العمري أميرة محمود محمد الراوي وعد محمود رؤوف**

قسم علوم الحياة قسم علوم الحياة

كلية العلوم كلية العلوم

جامعة الموصل جامعة تكريت

*Email: aisha_alomari@yahoo.com

(تاريخ الاستلام 18 / 2 / 2013 ؛ تاريخ القبول 27 / 5 / 2013)

الملخص

تضمن البحث دراسة قابلية بعض انواع الجراثيم المعزولة من عينات رؤوس القثاطر البولية وعينات الادرار في دراسة سابقة، على تكوين الأغشية الحيوية بطريقتي الأنبوب واكار أحمر الكونغو. وأظهرت النتائج أن أعلى نسبة لتكون الأغشية الحيوية بطريقة الأنبوب كانت في جراثيم *Citrobacter freundii* و*Escherichia coli* و*klebsiella* spp. بنسبة 100% فيما لم تتمكن جرثومة *Pseudomonas fluorescens* من تكوين الغشاء الحيوي بهذه الطريقة و أظهرت جرثومة *Staphylococcus aureus* أعلى قدرة لتكون الغشاء الحيوي من بين الجراثيم الموجبة لصبغة كرام وبنسبة 87.5% بينما أظهرت جرثومة *Micrococcus* spp. أوطأ نسبة 33.3%.

وعند استخدام طريقة اكار أحمر الكونغو في الجراثيم الموجبة لصبغة كرام بطريقة احمر الكونغو أبدت جرثومة *S.aureus* قدرة لتكوين الغشاء الحيوي بنسبة 31.25%، أما جرثومتا *S.epidermidis* و*Micrococcus* spp. فلم تبديا القدرة على تكوينه بهذه الطريقة. أما بالنسبة تكون للجراثيم السالبة لصبغة كرام فقد أبدت جرثومة *E.coli* أعلى نسبة لتكون الغشاء الحيوي بلغت 50% من بين الجراثيم السالبة لصبغة كرام، أما جرثومتا *C.freundii* و *Ps.fluorescens* فقد أظهرت النتائج انهما غير قادرتين على تكوين الأغشية الحيوية بهذه الطريقة.

الكلمات الدالة: الأغشية الحيوية، طريقة الأنبوب، طريقة اكار أحمر الكونغو.

Detection of Biofilm Formation in some Pathogenic Bacteria Using Tube and Congo Red Agar Methods

Aisha W. Al-Omari *Department of Biology College of Science University of Mosul*

Amera M. Mohamad *Department of Biology College of Science University of Tikrit*

Waad M. Raoof

ABSTRACT

The research included studying the ability of some bacteria that were isolated from urinary catheter tips and urine samples in a previous study, to form biofilms by Congo red and tube method. The results showed that the highest biofilm formation using tube method was occurred by *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* and *klebsiella* spp.(100%), while *Pseudomonas fluorescens* did not form a biofilm. of gram positive bacteria, *Staphylococcus aureus* showed the highest biofilm formation (87.5%), while *Micrococcus* spp. showed the lowest level (33.3%).

Using the congo red method in the gram positive bacteria, *S.aureus* showed biofilm formation of 31.25%, while *S.epidermidis* and *Micrococcus* spp. did not form biofilms. Using the same method for gram negative bacteria, *E.coli* showed a highest ability of (50%), while *Ps.fluorescens* and *C.freundii* did not form biofilms.

Keywords: biofilm, tube method, congo red method.

المقدمة

عرفت الأغشية الحيوية على أنها مجتمع جرثومي يتميز بأن خلاياه مرتبطة بالسطح بشكل غـ ـير عكسي وتكون مطمورة في مادة بوليمرية خارج خلوية Extracellular polymeric substances تنتجـ ـها الخلايا، وتظهر هـذه الخـلايا بنمط مظهري مختلف فيما يتعلق بمعدل النمو والاسـتنساخ الجـ ـيني (Donlan and Costerton, 2002)، فيما وصف الباحث Donlan (2002) الأغشية الحيوية بأنها تجمع من الخلايا الجرثومية المرتبطة بالسطح بشكل غير عكسي (لا تزال بسهولة) وتكون مطمورة في مادة بوليمرية خارج خلوية. وتوجد ضمن مادة الغشاء الحيوي مواد غير خلوية معتمدة على البيئة التي يتكون فيها الغشاء الحيوي مثل بلورات المعادن والجزيئات الرملية أو الطينية أو مكونات الدم ونواتج التآكل، وان الأحياء المجهرية الموجودة ضمن الغشاء الحيوي تختلف عن نظيراتها من الخلايا العائمة (planktonic cells) بأنها ذات معدل نمو أقل و ذات مقاومة عالية كما ان تعبيرها الجيني مختلف حيث وجد بأن جينات الحركة تكبح بعد ان ترتبط الجراثيم بالسطح كما ان معدل التبادل في المادة الوراثية ضمن الغشاء الحيوي يفوق ذلك الموجود في الخلايا العائمة مما يسمح بانتشار جينات المقاومة للمضادات الحيوية، وإن الأغشية الحيوية

تتكون على مدى واسع من الأسطح مثل الأنسجة الحية، الأدوات الطبية المزروعة داخل الجسم، أنابيب مياه الشرب، أنابيب مياه الصناعة والأنظمة البيئية المائية الطبيعية.

وقد أشار الباحثان Dunne و Jr (2002) إلى أن هناك ثلاثة مكونات مهمة لتكوين الغشاء الحيوي وهي الجراثيم و المادة الخارج خلوية والسطح. وفي حال فقدت احدى هذه المكونات فلن يتكون الغشاء الحيوي.

إن القدرة على تكوين الغشاء الحيوي تعد إحدى أكثر العوامل انتشارا وضراوة في الجراثيم، وهذه القدرة من الممكن أن توجد في الجراثيم التي تعيش في البيئة الخارجية أو الممرضات (Hola *et al*., 2006)، إذ إن الإصابات المتعلقة بوجود الأغشية الحيوية تشكل مشكلة كبيرة لأنّها تقاوم الدفاعات المناعية للمضيف والمضادات الحيوية والمواد القاتلة للجراثيم Biocides (Hancock *et al*., 2010 ; Dasgupta and Larabie, 2001).

أشارت الدراسات إلى استخدام طريقتي الأنبوب وأكار احمر الكونغو بوصفهما من الطرق الكفوءة في التحري عن تكوين الأغشية الحيوية حيث تعتمدان على تحسين إنتاج السكريات الخارجية المتعددة باستخدام أوساط غذائية غنية لذا يستخدم وسط tryptic soy broth بطريقة الأنبوب ووسط brain heart infusion broth مع إضافة 5% سكروز بطريقة أحمر الكونغو، فيما ذكر الباحثون أن تكون حلقة بنفسجية في المنطقة التي تفصل بين السطح السائل و الهواء لا تعد نتيجة موجبة (Christensen *et al*.,1982 and Hassan *et al*., 2011) . كما ذكر الباحث Freeman و جماعته (1989) أن صبغة احمر الكونغو اختيرت بوصفها صبغة لإظهار وجود السكريات الخارجية المتعددة للعصيات السالبة لصبغة كرام .

ونظراً للزيادة الملحوظة في حدوث الأخماج المكتسبة من المستشفيات في بلدنا الناجمة عن أسباب عدة منها الأدوات الطبية و المشاكل المتعلقة في استخدامها و على وجه الخصوص تلك التي تحشر في جسم المريض كالقثاطر البولية و ما تسببه من اخماج للسبيل البولي المتعلق باستخدامها، والذي يعزى بشكل رئيس إلى تكون الأغشية الحيوية التي لها دور كبير في الامراضية فضلا عن قلة الدراسات حول هذا الجانب لذا ارتأينا في هذا البحث التركيز على قدرة بعض انواع الجراثيم المرضية على تكوين الاغشية الحيوية بطريقتي الانبوب و اكار احمر الكونغو.

المواد و طرائق العمل

أولا: المواد

العزلات

استخدمت لهذه الدراسة 28 عزلة تعود لجراثيم موجبة لصبغـة كرام شملت *S.aureus* (16 عزلة)، *S.epidermidis* (9 عزلات)، *Micrococcus* spp. (3 عزلات) و 62 عزلة من الأنواع الـسالبة لـصبغة كرام شملت *Ps.aeruginosa* (12 عزلة)، *S.fonticola* (14 عزلـة)، *E.entermedius* (11 عزلـة)،

Pseudomonas spp. (10 عزلات)، *Proteus* spp. (7 عـزلات)، وعـزلتين لكـل مـن *C.fruendii* و *Ps.fluorescens* و*Klebsiella* spp. و*E.coli*، تم الحصول عليها من عينات رؤوس القثـاطر البوليـة و عينات الإدرار في دراسة سابقة.

الأوساط الزرعية

وسط Tryptic soy broth (HiMEDIA) المضاف له 1% كلوكوز

حضر الوسط بإذابة 30 غم في لتر من الماء المقطر ثم ضبطت الدالة الحامضية عند 7. وتم بسترة الكلوكوز في حمام مائي بدرجة حرارة 63 °م لمدة نصف سـاعة ثم أضيف للوسط المحضر المعقـم والمبرد بنسـبـة 1%. (Christensen *et al.*,1982; Hassan *et al.*,2011).

وسط Congo red agar

تم تحضير الوسط بالاعتماد على (Freeman *et al.*,1989; Hassan *et al.*, 2011) من المكونات الاتية:

مرق نقيع المخ والقلب	37غم
اكار	10غم
سكروز	5غم
صبغة احمر الكونغو	8غم
ماء مقطر	1000سم^3

حضرت الصبغة اولا كمحلول مركز وعقمت بالموصدة ثم اضيفت الى وسط BHI الحاوي على الاكار المعقم والمبرد إلى 55°م وأضيف بعد ذلك السكر المبستر الى الوسط.

الصبغات و المحاليل

صبغة الكريستال البنفسجية

حضرت صبغة الكريستال البنفسجية بتركيز 1% (Hassan *et al.*, 2011).

صبغة احمر الكونغو

حضرت الصبغة بشكل مـحلول مـركز 8 غم/لتر كمـا ورد فـي (Hassan *et al.*, 2011).

المحلول الفوسفاتي الملحي المنظم

حضر المحلول الفوسفاتي الملحي المنظم بالاعتماد على Cruickshank و آخرون (1975).

ماء مقطر خالي من ايونات العسرة.

ثانيا : طرائق العمل

اعتمدت طريقتان للتحري عن تكوين الأغشية الحيوية في القثاطر البولية وكلا الطريقتين اعتمدت على زيادة إنتاج السكريات المتعددة الخارجية Exopolysaccharide باستخدام أوساط غذائية غنية. و كما يأتي:

استخدام وسط Congo red agar:

لقحت العزلات المراد اختبار قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية على وسط Congo red وحضنت هوائيا بدرجة 37°م لمدة 24 ساعة، بعد انتهاء فترة التحضين تم التحري عن العزلات المكونة للأغشية الحيوية بدلالة ظهور المستعمرات بمظهر اسود جاف او براق فيما تبدو العزلات غير المكونة للأغشية الحيوية بلون وردي او احمر او نبيذي. (Freeman *et al.*,1989 ; Oliveira and Cunha, 2010).

طريقة الأنبوب Tube method:

تم اعتماد طريقة الباحث Hassan وجماعته (2011) لاختبار قدرة الجراثيم على تكوين الأغشية الحيوية، اذ نقلت حملة لوب من المستعمرات النامية للجراثيم المدروسة إلى أنابيب اختبار زجاجية حاوية على وسط Tryptic soy broth المضاف له سكر الكلوكوز بتركيز 1% وحضنت بدرجة 37°م لمدة 24 ساعة.

بعد انتهاء فترة التحضين سكبت العينات وتم غسل الأنابيب بمحلول الفوسفات الملحي المنظم Phosphate buffer saline ثم جففت وبعدها صبغت بصبغة الكريستال البنفسجية Crystal violet بتركيز 1% لمدة ثلاث دقائق ثم سكبت الصبغة الزائدة وغسلت بالماء المقطر الخالي من ايونات العسرة Deionized water وبعدها تركت الأنابيب لتجف بشكل مقلوب لملاحظة تكون الأغشية الحيوية على الجدران الداخلية وقعر الأنابيب بشكل طبقة بنفسجية (Christensen *et al.*,1982 ; Hassan *et al.*, 2011).

النتائج و المناقشة

أظهرت نتائج التحري عن قابلية الجراثيم المعزولة على تكوين الأغشية الحيوية باستخدام طريقة الأنبوب ظهور النتيجة الموجبة بدلالة تكون الأغشية الحيوية على الجدران الداخلية وقعر الأنابيب بشكل طبقة بنفسجية كما في الصورة (1)، بينما عند استخدام طريقة اكار احمر الكونغو فقد بدت العزلات المكونة للأغشية الحيوية بمظهر اسود جاف أو براق فيما تبدو العزلات غير المكونة للأغشية الحيوية بلون وردي أو احمر أو نبيذي كما في الصورة (2)، و هذا مطابق لما ذكره العديد من الباحثين من أن عزلات الجراثيم المكونة للأغشية الحيوية تبدو بمظهر اسود جاف أو براق باعتماد طريقة احمر الكونغو فيما وصفت الجراثيم غير المكونة للأغشية الحيوية بلون وردي أو احمر أو نبيذي باستخدام الطريقة نفسها (Oliveira and Cunha, 2010; Hassan *et al.*, 2011).

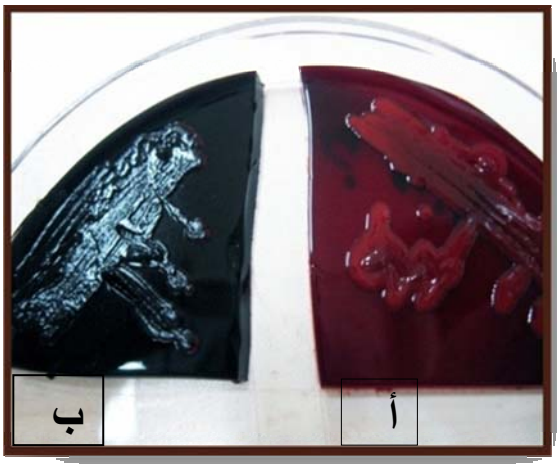
أشارت العديد من الدراسات إلى أن التغير باللون بطريقة اكار احمر الكونغو يحدث في المراحل الأخيرة من التحضين نتيجة وجود نواتج ايضية ثانوية، كما أظهرت نتائج دراساتهم أن استخدام السكروز أو الكلوكوز بنسبة 5% أعطى نتائج متشابهة بوصفه عامل أساسي لتحديد إنتاج السكريات الخارجية باستخدام طريقة احمر الكونغو(Freeman *et al.*,1989; Oliveira and Cunha, 2010)، بينما أوضح الباحث

Hassan وجماعته (2011) أن صبغة احمر الكونغو ترتبط مباشرة بمتعدد سكريات معين مكونة معقدات ملونة.

الصورة 1: تكون الأغشية الحيوية بطريقة الانبوب

أ- نتيجة موجبة.

ب- نتيجة سالبة.



الصورة 2: التحري عن الأغشية الحيوية بطريقة احمر الكونغو

أ- النتيجة السالبة بدلالة ظهور اللون الاحمر للمستعمرات.

ب- النتيجة الموجبة بدلالة ظهور اللون الاسود للمستعمرات.

تم إجراء فحص التحري عن تكوين الأغشية الحيوية بطريقة الأنبوب على28 عزلة للجراثيم الموجبة لصبغة كرام و 62 عزلة من الجراثيم السالبة لصبغة كرام. و أبدت جرثومة *S.aureus* قدرة لتكون الغشاء الحيوي في 87.5 % و 12.5 % غير قادرة على ذلك. أما جرثومة *S.epidermidis* فقد ظهرت 66.6 %

قدرة لتكوينه و 33.3 % غير قادرة لتكوين الغشاء الحيوي. فيما بينت نتائج جرثومة *Micrococcus spp.* قدرة لتكوين الغشاء الحيوي في 33.3 % من عزلاتها أما الغير قادرة على ذلك فقد شكلت 66.6 %. بينت نتائج طريقة الأنبوب للعزلات السالبة لصبغة كرام ان 66.6 % من عزلات *Ps.aeruginosa* مكونة للأغشية الحيوية و 33.3 % غير مكونة لها وبالنسبة لعزلات جرثومة *S.fonticola* فقد ظهرت 85.7 % من العزلات مكونة للأغشية الحيوية و 14.2 % غير مكونة لها فيما أبدت جرثومة *E.entermedius* قدرة لتكوين الأغشية الحيوية في 63.6 % من العزلات و 36.3 % غير قادرة على ذلك. أمـا جرثومـة *Psudomonas spp.* فقد بينت نتائج التحري عن تكوين الأغشية الحيوية بطريقة الأنبوب ان 80 % من العزلات قادرة على تكوينها و20 % غير قادرة على ذلك. وبالنسبة لجرثومة *Proteus spp.* فقد أبدت 28.5% من العزلات قدرة لتكون الغشاء الحيوي و 71.4 % غير قادرة على ذلك. بينما تمكنت جميع عزلات جرثومة *C.freundii* من ذلك بنسبة 100% وعلى نقيضها جرثومة *Ps.fluorescens* التي أظهرت أنها غير قادرة على تكوين الغشاء الحيوي. وبالنسبة لجرثومتي *E.coli* و *klebsiella spp.* فقد أظهرتا قدرة لتكوينه بنسبة 100% وهذه النتائج مبينة في الجدول (1).

وعند إجراء فحص التحري عن تكوين الأغشية الحيوية بطريقة اكار احمر الكونغو على 28 عزلة للجراثيم الموجبة الكرام و على 56 عزلة من الجراثيم السالبة لصبغة كرام تبين أن 31.2 % من عزلات جرثومة *S.aureus* قادرة على تكوين الغشاء الحيوي بهذه الطريقة و 68.7 % غير قادرة على ذلك. أما جرثومتي *S.epidermidis* و*Micrococcus spp* فلم تتمكنا من تكوين الأغشية الحيوية بهذه الطريقة. فيما بينت نتائج طريقة اكار احمر الكونغو على الجراثيم السالبة لصبغة كرام إن 9 % من عزلات جرثومة *Ps.aeruginosa* قادرة على تكوين الأغشية الحيوية بهذه الطريقة و 90.9 % غير قادرة على ذلك. وبالنسبة لجرثومة *S.fonticola* فقد أعطت 15.3% نتيجة موجبة و 84.6 % نتيجة سالبة. أما بالنسبة لجرثومـتي *E.entermedius* و *Psudomonas spp.* فقد بينت النتائج أن 10 % من عزلاتهما قادرة على تكوين الغشاء الحيوي بطريقة احمر الكونغو و 90 % غير قادرة على ذلك. فيما ابدت 14.2% من عزلات جرثومة *Proteus spp.* قدرة على تكوينه و 85.7 % بدت سالبة. و لم تتمكن كل من جرثومتي *C.freundii* و *Ps.fluorescens* على تكوين الأغشية بهذه الطريقة. فيما تمكنت 50% من عزلات *E.coli* من تكوين الغشاء الحيوي. ويبين الجدول (2) نتائج فحص احمر الكونغو للعزلات الموجبة و السالبة لصبغة كرام على التوالي.

من نتائج الدراسة الحالية يلاحظ أن هناك تفاوت في قدرة الجراثيم على تكوين الأغشية الحيوية بطريقتي الانبوب و اكار احمر الكونغو، و إن هذا التفاوت يعود الى الاختلاف في تخصصية و حساسية كلتا الطريقتين وهذا ما اكدته العديد من الدراسات فقد اشار الباحث Khan وجماعته (2011) إن طريقة اكار احمر الكونغو سهلة الاداء والتفسير بينما طريقة الانبوب لها حساسية وتخصصية عالية.

بينما ذكر الباحثان Oliveira و Cunha (2010) أن التخصصية لطريقة الالتصاق بالأنابيب حسبت على أساس وجود *ica* genes باستخدام تقنية PCR، حيـث أظهرت النتائـــج 100% حساسية و 100% تخصصية لطريقة الأنبوب عند إجراءها على العنقوديات سالبة التجلط CNS، بينما طريقة أحمر الكونغو أظهرت 89 % حساسية و100% تخصصية بالمقارنة مع PCR، وتم اعتبار المستعمرات ذات المظهر الأسود الجاف أو اللماع مستعمرات موجبة لتكون الغشاء الحيوي، بينما المستعمرات الحمراء والوردية أو النبيذية صنفت سالبة له.

تقاربت نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصل اليه الباحث Hassan و جماعته (2011) اللاذين أشاروا إلى إن جراثيم *S.aureus* المعزولة من رؤوس القثاطر البولية كونت الأغشية الحيوية بطريقة اكار احمر الكونغو بنسبة 35.2% و جرثومة *E.coli* بنسبة 46.6% و جرثومة *Enterobacter* بنسبة 16.6% فيما لم تتفق مع نسب جرثومتي *S.epidermidis* و *C.freundii* التي بلغت 52.9% و 6.6 % على التوالي. فيما لم تتفق نتائج دراستنا مع نتائج الباحثة AL-Ani (2008) على عزلات مأخوذة من عينات إدرار المرضى المستخدمين للقثاطر البولية حيث أظهرت نتائجها عند استخدام طريقة الأنبوب إن 64.7 % من عزلات جرثومة *E.coli* أظهرت تكونا للأغشية الحيوية و35.3 % غير مكونة لها و بالنسبة لجرثومة *Ps.aeruginosa* فقد كونت الأغشية الحيوية بنسبة 100% أما *Enterobacter spp*. فلم تتمكن عزلاتها من ذلك. بينت نتائج الباحث Hola و جماعته (2010) ان جرثومة *Ps.aeruginosa* أعطت 74.5 % لتكون الغشاء الحيوي بقوة و 14.1% بشكل متوسط و 9.4 % بشكل ضعيف و كانت 2 % غير مكونة له، فيما بينت نتائج جرثومة *P.vulgaris* إن 4 عزلات كونت الغشاء الحيوي بقوة و 2 بشكل متوسط أما جرثومة *P.mirabilis* فقد عدت 94 % من عزلاتها قدرة على تكوينه بقوة و 3 % بشكل متوسط و3% غير مكونة. و بالنسبة لجرثومة *E.coli* فقد أعطت 34.7 % تكونا للغشاء الحيوي بقوة و 42.3% مكونة بشكل متوسط و21.1 % بشكل ضعيف و 1.9% غير مكونة له. أما جرثومة *S.aureus* فقد كانت 100% من عزلاتها مكونة للغشاء الحيوي بقوة. فيما كانت نتائج الباحث Khan و جماعته (2011) على 262 عزلة اختيرت لاختبار قدرتها على تكوين الغشاء الحيوي بطريقة الأنبوب، ان35 عزلة (13.3%) موجبة قوية، والعدد الاكبر من العزلات موجبة متوسطة 132 (50.3%) و 95 (36.2 %) لم تظهر اي تكون للغشاء الحيوي. وعند اجراء طريقة احمر الكونغو وجد ان 182 عزلة اعطت مستعمرات سوداء و 125 عزلة منها (47.7%) أعطت مستعمرات سوداء مع مظهر بلوري جاف دلالة على تكون للغشاء الحيوي بينما 75 عزلة (21.7%) أعطت مستعمرات سوداء لكنها غير جافة ولا بلورية، وهذه عدت عزلات سالبة لتكون الغشاء الحيوي و 80 عزلة (30.5%) أعطت مستعمرات وردية وصفت بأنها سالبة لتكوين الغشاء الحيوي. فيما ذكر الباحثان Hola و Ruzicka (2011) ان النسـبة الأعلى للأنواع الموجـبة لتـكون الغشـاء الحيوي بـقوة هـي: *Enterococcus faecalis* بنـسبة 95% و *P.mirabilis* بنـسبة 94% و

S.aureus بنـ ـسبة 100% اما خمـ ـيرة *Candida tropicalis* فقد شكلت 91% بينما النسبة الضعيفة كانت لعزلات *E.coli* بلغت 35%. بين الباحثون ان الاصابات التي تتضمن تكوين الاغشية الحيوية تشكل مشاكل شائعة مثل اخماج المسالك البولية وإصابات القثاطر وإصابات الأذن الوسطى و تكوين البلاك plaque على الأسنان والتهاب اللثة وإصابات العدسات اللاصقة وبشكل اقل شيوعا لكنه أكثر خطورة الالتهاب الشغافي و التليف الكيسي وإصابات الوسائل الطبية الدائمة مثل المفاصل الصناعية وصمامات القلب (Lewis, 2001 ; Parsek and Singh, 2003).

و بشكل عام يلاحظ من نتائج الدراسة الحالية أن هناك تفاوت في قدرة الجراثيم المرضية على تكوين الأغشية الحيوية وان معظم العزلات المدروسة كانت مكونة لها وهذا قد يساعد في حماية الجراثيم الأخرى غير القادرة على تكوين الأغشية الحيوية من دفاعات المضيف و فعل المضادات الحيوية مما يعزز تكون مجتمعات الأغشية الحيوية المتعددة الأنواع الجرثومية التي تستفيد من وجودها مع بعضها كما هو الحال عند إنتاج أنزيمات β-lactamases و إفراز إنزيم اليوريز و عوامل الضراوة الأخرى.

الجدول 1: نسب تكوين الأغشية الحيوية في عزلات الجراثيم المرضية المدروسة بطريقة الأنبوب

أنواع الجراثيم	العدد الكلي	العزلات الموجبة لتكون الأغشية الحيوية بفحص الانبوب				العزلات السالبة لتكون الأغشية الحيوية بفحص الانبوب	
		العدد			%	العدد	%
		++	+	+w		-	
S.aureus	16	9	4	1	87.5	2	12.5
S.epidermidis	9	1	1	4	66.6	3	33.3
Micrococcus spp.	3	1	0	0	33.3	2	66.6
Ps.aeruginosa	12	3	3	2	66.6	4	33.3
S.fonticola	14	6	4	2	85.7	2	14.2
E.entermedius	11	2	4	1	63.6	4	36.3
Pseudomonas spp.	10	4	1	3	80	2	20
Proteus spp.	7	0	1	1	28.5	5	71.4
C.fruendii	2	0	1	1	100	0	0
P.fluorescens	2	0	0	0	0	2	100
Klebsiella spp.	2	0	0	2	100	0	0
E.coli	2	1	1	0	100	0	0

++ : تكوين قوي للأغشية الحيوية +: تكوين متوسط للأغشية الحية

w+: تكوين ضعيف للأغشية الحيوية -: نتيجة سالبة لتكوين الاغشية الحيوية

الجدول 2: نسبة تكوين الأغشية الحيوية في عزلات الجراثيم المدروسة بطريقة آكار احمر الكونغو

العزلات غير المكونة للأغشية الحيوية		العزلات المكونة للأغشية الحيوية		العدد الكلي	انواع الجراثيم
%	العدد	%	العدد		
68.7	11	31.2	5	16	*S.aureus*
100	9	0	0	9	*S.epidermidis*
100	3	0	0	3	*Micrococcus spp.*
90.9	10	9	1	11	*Ps.aeruginosa*
84.6	11	15.3	2	13	*S.fonticola*
90	9	10	1	10	*E.entermedius*
90	9	10	1	10	*Pseudomonas spp.*
85.7	6	14.2	1	7	*Proteus spp.*
100	1	0	0	1	*C.fruendii*
100	2	0	0	2	*Ps.fluorescens*
50	1	50	1	2	*E.coli*

المصادر

Al-Ani, N.F.I. (2008). Microbiological Aspects in Biofilm Produced by Some Uropathogens Isolated from Patients with Indwelling Bladder Catheters. M.Sc. Thesis, College of Medicine, Al-Anbar University, Iraq.

Christensen, G.D.; Simpson, W.A.; Bisno, A.L.; Beachey, E.H. (1982). Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect. Immun*., **37**(1), 318-326.

Cruickshank, R.; Dugnid, J.P.; Marmion, B.P.; Swain, R.H.A. (1975). "Medical Microbiology". Vol. 2, The Practice of Medical Microbiology. 12th ed., Churchill Living Stone, London.

Dasgupta, M.K.; Larabie, M. (2001). Biofilms in peritoneal dialysis. Peritoneal Dialysis International, **21**(3), S213-S217.

Donlan, R.M. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. Emerging infectious diseases, **8** (9), 881-890.

Donlan, R.M.; Costerton, J.W. (2002). Biofilms survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev*., **15**(2),167-193.

Dunne, W.M.; Jr. (2002). Bacterial adhesion: Seen any good biofilms lately? *Clin. Microbiol. Rev*., **15**(2),155-166.

Freeman, D.J.; Falkiner, F.R.; Keane, C.T. (1989). New method for detecting slime production by coagulase negative Staphylococci. *J. Clin. Pathol*.,**42**, 872-874.

Hancock, V.; Dahl, M.; Klemm, P. (2010). Abolition of biofilm formation in urinary tract *Escherichia coli* and *klebsiella* isolates by metal interference through competition for. Fur. *Appl. Environ. Microbial.*, **76**(12), 3836-3841.

Hassan, A.; Usman, J.; Kaleem, Fatima.; Omair, M.; Khalid, A.; Iqbal, M. (2011). Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Braz. J. Infect. Dis*., **15**(4), 305-311.

Hola, V.; Ruzicka, F.; Votava, M. (2006). The dynamics of *Staphylococcus epidermis* biofilm formation in relation to nutrition, temperature and time. *Scripta Medica (BRNO),* **79**(3),169-174.

Hola, V.; Ruzicka, F.; Horka, M. (2010). Microbial diversity in biofilm infections of the urinary tract with the use of sanitation techniques. *FEMS Immunol Med Microbiol*., **59**, 525-528.

Hola, V.; Ruzicka, F. (2011). The formation of poly-microbial biofilms on urinary catheters. In :Urinary Tract Infections. Tenke, P. InTech, Croatia.

Khan, F.; Shukla, I.; Rizvi, M.; Mansoor, T.; Sharma, S.C. (2011). Detection of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. does it have a role in treatment of MRSA infections?. *Trends. Med. Res*., **6**(2),116-123.

Lewis, K. (2001). Riddle of biofilm resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **45**, 999-1007.

Oliveira, A.; Cunha, M.L. (2010). Comparison of methods for the detection of biofilm production in coagulase-negative Staphylococci. *BMC. Res. Notes*., **3**, 260.

Parsek, M.; Singh, P. (2003). Bacterial biofilms: An emerging link to disease pathogenesis. *Annu. Rev. Microbiol*., **57**, 677-701.