ResearchGate

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: https://www.researchgate.net/publication/389891324

Characterization of Biofilm Formation in Clinical Isolated Strains Using Congo Red Agar and Microplate Assays

Conference Paper · March 2025

CITATIONS
0

READS
23

2 authors:



Dilay Turu
Dokuz Eylül University
32 PUBLICATIONS **54** CITATIONS
SEE PROFILE



Kerem Canlı
Dokuz Eylül University
128 PUBLICATIONS **784** CITATIONS
SEE PROFILE

All content following this page was uploaded by Dilay Turu on 16 March 2025.

The user has requested enhancement of the downloaded file.

ASES IV. INTERNATIONAL HEALTH SCIENCES CONGRESS



CONFERENCE BOOK

EDITOR
ASSOC. PROF. OMER OZER

ASES IV. INTERNATIONAL HEALTH SCIENCES CONGRESS
MARCH 01-02, 2025
ANTALYA, TURKIYE

EDITOR ASSOC. PROF. OMER OZER

COPYRIGHT © 2025
BY ASES CONGRESS ORGANIZATION
PUBLISHING COMPANY LIMITED
ALL RIGHTS RESERVED. NO PART OF THIS PUBLICATION MAY BE REPRODUCED, DISTRIBUTED OR TRANSMITTED IN ANY FORM OR BY ANY MEANS, INCLUDING PHOTOCOPYING, RECORDING OR OTHER ELECTRONIC OR MECHANICAL METHODS, WITHOUT THE PRIOR WRITTEN PERMISSION OF THE PUB LISHER, EXCEPT IN THE CASE OF BRIEF QUOTATI ONS EMBODIED IN CRITICAL REVIEWS AND CERTAIN OTHER NONCOMMERCIAL USES PERM ITTED BY COPYRIGHT LAW. ASES CONGRESS ORGANIZATION PUBLISHING®
IT IS RESPONSIBILITY OF THE AUTHOR TO ABIDE BY THE PUBLISHING ETHICS RULES.
ASES PUBLICATIONS – 2025©

14.03.2025
ISBN: 978-625-95806-7-8

CHARACTERIZATION OF BIOFILM FORMATION IN CLINICAL ISOLATED STRAINS USING CONGO RED AGAR AND MICROPLATE ASSAYS

KLİNİK İZOLE SUŞLARIN BİYOFİLM FORMASYONUNUN KONGO KIRMIZISI AGAR VE MİKROPLAKA YÖNTEMLERİYLE KARAKTERİZASYONU

Dilay TURU [1], Kerem CANLI [2,3]

[1]Master's Student, Dokuz Eylül University, The Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Biology, Izmir, Turkiye, *ORCID: 0000-0002-8485-0488*

[2]Professor, Dokuz Eylül University, Faculty of Science, Department of Biology, Izmir, Turkiye, *ORCID: 0000-0001-6061-6948*

[3]Professor, Dokuz Eylül University, Fauna and Flora Research and Application Center, Izmir, Turkiye,

Abstract

Biofilm is a complex structure formed by microorganisms adhering to surfaces. It provides protection, contributes to the chronicity of infections, and enhances microbial resistance to treatment. Biofilms enhance microbial resistance to antibiotics and immune responses, complicating infection treatment. In this study, the biofilm formation capacities of clinical isolates were evaluated using Congo Red Agar (CRA) and Microplate (MP) assays. In the CRA assay, biofilm-positive isolates exhibiting black crystalline growth were further analyzed using the MP assay. In the MP method, biofilm production was assessed through optical density (OD) measurements, and interactions between different glucose concentrations and incubation times were investigated. *Staphylococcus aureus* exhibited the highest biofilm production (OD: 3.979 ± 0.019) at 2.5% glucose concentration after 48 hours of incubation. At 24 and 72 hours of incubation, biofilm production was measured as 2.560 ± 0.063 and 1.319 ± 0.094 respectively. Similarly, *Streptococcus mutans* exhibited the highest biofilm production value (OD: 3.925 ± 0.005) after 24 hours of incubation at a 2% glucose concentration. Strong biofilm production was observed at 48 and 72 hours of incubation, with OD values of 3.310 ± 0.096 and 3.832 ± 0.032, respectively. For *Staphylococcus haemolyticus*, the highest biofilm production (OD: 3.984 ± 0.019) was observed after 24 hours of incubation at a 1% glucose concentration, while biofilm production remained strong (OD: 3.196 ± 0.020) after 48 hours of incubation. Additionally, multi-drug-resistant strains, such as *Acinetobacter baumannii*, also exhibited high biofilm production (OD: 3.393 ± 0.090), indicating challenges in treatment. These results show that incubation time has a significant effect on biofilm production. The interaction between incubation time and glucose concentration resulted in statistically significant differences in OD values ($p < 0.001$). The findings of this study reveal that microorganisms, especially *S. aureus*, *S. mutans*, and *A. baumannii*, exhibit high biofilm production capacities and tend to be resistant to treatment. These findings provide critical insights into the role of biofilm formation in infectious diseases and highlight the need for effective treatment strategies against biofilm-associated infections.

Acknowledgements: This work was supported by the Master's Project FYL-2023-3263, funded by the Scientific Research Projects Coordination Unit (BAP) of Dokuz Eylül University.

Keywords: Biofilm, Congo Red, Microplate, Clinical Isolates

Özet

Biyofilm, mikroorganizmaların yüzeylere tutunarak oluşturdukları ve kendilerini koruyan kompleks yapılar olup, enfeksiyonların kronikleşmesine ve tedaviye dirençli hale gelmelerine neden olmaktadır. Biyofilm yapıları, mikroorganizmaların antibiyotiklere ve bağışıklık sistemine karşı dirençlerini artırarak, enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmaktadır. Bu çalışmada klinik izole mikroorganizmaların biyofilm oluşturma kapasitelerini belirlemek için Kongo Kırmızısı Agar (KKA) ve Mikroplaka (MP) yöntemleri ile sonuçlar değerlendirilmiştir. KKA yönteminde siyah kristalize üreme gözlemlenen biyofilm pozitif izolatlara MP yöntemi uygulanmıştır. MP yönteminde biyofilm üretimi, optik yoğunluk (OD) ölçümleri ile değerlendirilmiş ve farklı glikoz konsantrasyonları ile farklı inkübasyon süreleri arasındaki etkileşimler incelenmiştir. *Staphylococcus aureus*'un %2,5 glikoz konsantrasyonunda 48 saatlik inkübasyon sonucunda (OD: 3,979 ± 0,019) en yüksek biyofilm üretim seviyesine ulaştığı görülmüştür. 24 ve 72 saatlik inkübasyonlarda ise biyofilm üretimi sırasıyla 2,560 ± 0,063 ve 1,319 ± 0,094 olarak ölçüldü. Benzer şekilde, *Streptococcus mutans* %2 glikoz konsantrasyonunda 24 saatlik inkübasyon sonucunda en yüksek biyofilm üretim değerini (OD: 3,925 ± 0,005) göstermiştir. 48 ve 72 saatlik inkübasyonlarda sırasıyla 3,310 ± 0,096 ve 3,832 ± 0,032 OD ile güçlü biyofilm üretimi gözlemlendi. *Staphylococcus haemolyticus* için, %1 glikoz konsantrasyonunda 24 saatlik inkübasyon sonucunda (OD: 3,984 ± 0,019) en yüksek biyofilm üretimi elde edilirken, 48 saatlik inkübasyon (OD: 3,196 ± 0,020) ile biyofilm üretimi hala güçlü seviyede kalmıştır. Ayrıca, *Acinetobacter baumannii* gibi çoklu ilaç dirençli suşlar da benzer şekilde yüksek biyofilm üretimi sergileyerek (OD: 3,393 ± 0,090) tedavi zorluklarına işaret etmektedir. Bu sonuçlar, inkübasyon süresinin biyofilm üretimi üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermektedir. Süre, konsantrasyon ve bu iki faktörün etkileşiminin OD üzerinde anlamlı farklılıklara yol açtığı görülmüştür (p-değeri <0,001). Çalışmanın sonuçları, özellikle *S. aureus, S. mutans* ve *A. baumannii* gibi mikroorganizmaların biyofilm üretim kapasitesinin yüksek olduğunu ve tedaviye dirençli olma eğiliminde olduklarını ortaya koymaktadır. Bu bulgular, biyofilm oluşumunun enfeksiyon hastalıkları üzerindeki etkilerini anlamak ve biyofilmle ilişkili enfeksiyonların tedavi stratejilerini geliştirmek açısından önemlidir.

Teşekkür: Bu çalışma, Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) FYL-2023-3263 kodlu Yüksek Lisans projesi ile desteklenmiştir.

Anahtar kelimeler: Biyofilm, Kongo Kırmızısı, Mikroplaka, Klinik İzolat

View publication stats