

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

2 authors:



[Dilay Turu](#)

Dokuz Eylül University

31 PUBLICATIONS 49 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

READS

7



[Kerem Canlı](#)

Dokuz Eylül University

127 PUBLICATIONS 765 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

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 PUBLISHER, EXCEPT IN THE CASE OF BRIEF QUOTATIONS EMBODIED IN CRITICAL REVIEWS AND CERTAIN OTHER NONCOMMERCIAL USES PERMITTED 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}

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

²Professor, Dokuz Eylül University, Faculty of Science, Department of Biology, Izmir, Türkiye, ORCID: 0000-0001-6061-6948

³Professor, Dokuz Eylül University, Fauna and Flora Research and Application Center, Izmir, Türkiye,

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 izolatlar 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: $3,979 \pm 0,019$) en yüksek biyofilm üretim seviyesine ulaştığı görülmüştür. 24 ve 72 saatlik inkübasyonlarda ise biyofilm üretimi sırasıyla $2,560 \pm 0,063$ ve $1,319 \pm 0,094$ olarak ölçüldü. Benzer şekilde, *Streptococcus mutans* %2 glikoz konsantrasyonunda 24 saatlik inkübasyon sonucunda en yüksek biyofilm üretim değerini (OD: $3,925 \pm 0,005$) göstermiştir. 48 ve 72 saatlik inkübasyonlarda sırasıyla $3,310 \pm 0,096$ ve $3,832 \pm 0,032$ OD ile güçlü biyofilm üretimi gözlemlendi. *Staphylococcus haemolyticus* için, %1 glikoz konsantrasyonunda 24 saatlik inkübasyon sonucunda (OD: $3,984 \pm 0,019$) en yüksek biyofilm üretimi elde edilirken, 48 saatlik inkübasyon (OD: $3,196 \pm 0,020$) ile biyofilm üretimi hala güçlü seviyede kalmıştır. Ayrıca, *Acinetobacter baumannii* gibi çoklu ilaç dirençli suşlar da benzer şekilde yüksek biyofilm üretimi sergileyerek (OD: $3,393 \pm 0,090$) 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