تاثير التراكيز المثبطة تحت الدنيا في الالتصاق البكتيري على اسطح العدد الطبية المستعملة في جراحة العظام والكسور

اليس كريكور اكوب ملكونيان* مهند عدنان الفلاحي** ميسم سامي البلداوي*

تاريخ قبول النشر2006/12/17

الخلاصة:

تم اختبار تاثير التراكيز المثبطة تحت الدنيا من المواد المضادة للجراثيم في التصاق *Staphylococcus aureus*من العنقوديات الموجبة لانزيم مختثر بلازما الدم و *S. epidermidis* من العنقوديات السالبة لإنزيم مختثر بلازما الدم وبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* و*Enterobacter cloacae* و*Citrobacter freundi* من البكتريا السالبة لملون غرام، وأظهرت النتائج ان مضاد الريفامبسين كان افضل المضادات تثبيطا لالتصاق العنقوديات والفانكومايسين أقل المضادات تثبيطا لالتصاق العنقوديات في حين كان مضاد التتراسايكلين افضل المضادات بتثبيط التصاق البكتريا السالبة لملون غرام والاميكاسين اقل المضادات تأثيراً بتثبيط التصاق البكتريا السالبة لملون غرام.

المقدمة:

تمتاز الاخماج المصاحبة لاجهزة التثبيت الداخلي والخارجي بصعوبة علاجها لقلة وجود المناطق الوعائية بالمنطقة المحيطة بالمادة المغروسة ومن ثم قلة وصول المضاد (1).

ولكون البكتريا النامية بالغشاء الحيوي مقاومة للمضادات والجهاز المناعي؛ فقد وضعت عدة نظريات لتوضح آلية المقاومة ومنها:

- **صعوبة نفاذية المضاد الحيوي خلال الغشاء الحيوي**

لإظهار تأثير المضاد في البكتريا يجب أن ينفذ خلال الغشاء الحيوي

وعادة يعمل الغشاء الحيوي على تكوين معقدات مع المضادات أو يغطي جدار الخلية ويعمل حاجزا (2) فضلا عن ذلك فإنّ الطبقة اللزجة تعمل على تأخير انتشار المضادات ومن ثم توافر الوقت اللازم للبكتريا لإنتاج الانزيمات المثبطة لعمل المضادات، كما هو الحال بمضادات β_Lactam (3).

- **تغيير معدل نمو الأحياء المجهرية بالغشاء الحيوي**

إن المضادات عادة تستهدف الخلايا البكتيرية النشطة أيضيا فالأحياء المجهرية الموجودة بداخل الغشاء الحيوي تكون عادة بطيئة النمو، موازنة مع الأحياء الموجودة بصورة حرة ومن ثم فإن معدل تعرضها للمضاد يكون قليلا(4)

- **الظروف البيئية**

إن الظروف البيئية تشمل الرقم الهيدروجيني وتركيز كلٍّ من ثاني اوكسيد الكربون والأوكسجين، فالتغيير في هذه العوامل يخلق ظروفا غير ملائمة لعمل المضاد وبالأخص بالطبقات العميقة من الغشاء الحيوي التي تكون حامضية وتحوي ظروفا لا هوائية (5).

من العوامل الأخرى التي تزيد من نسبة مقاومة البكتريا للمضادات حصول نسبة عالية من الاقتران بين الأجناس البكتيرية المقاومة للمضادات الموجودة ضمن الغشاء الحيوي نتيجة للتقارب الحاصل ما بينهم وبالتالي انتقال صفة المقاومة من بكتريا لأخرى (6).

لذا سعت هذه الدراسة إلى تحديد التراكيز المثبطة الدنيا من المواد المضادة للعزلات ذات القدرة على إنتاج الطبقة اللزجة ودراسة تأثير التراكيز المثبطة تحت الدنيا في الالتصاق البكتيري وتحديد افضل المضادات المثبطة لالتصاق العزلات البكتيرية المنتجة للطبقة اللزجة.

طرائق العمل:

- **تحديد التراكيز المثبطة الدنيا للمضادات الحيوية**

أجري هذا الاختبار على وفق طريقة Baron وجماعته(7) وعلى النحو الآتي:

- **تحضير الوسط**

تم تحضير مرق مولر ـ هنتون ووضعت بأنابيب اختبار ذات غطاء محكم بحجم 2 مليلتر في كل انبوبة.

- **تحضير محاليل المضادات**

اختيرت المضادات الحيوية التي كان لها أعلى نسبة من الحساسية اعتماداً على طريقة Kirby – Bauer وحضرت التراكيز المطلوبة للمضادات الحيوية على وفق ما ورد في Miles and Amyes (8) وباستعمال القانون الاتي:

$$\text{الوزن (ملي غرام)} = \frac{\text{الحجم المطلوب (مليلتر)} \times \text{التركيز المطلوب (مايكروغرام/مليلتر)}}{\text{الفعالية (Potency) مايكروغرام/ملي غرام}}$$

بعد أن تم تقييس فعاليتها باستعمال العزلات القياسية.حضرت سلسلة من التخافيف النصفية من المضادات الحيوية وذلك بإضافة 2 مليلتر من المحلول الخزين للمضاد إلى الأنبوب الأول ومزج جيداً ثم نقل

*كلية العلوم/جامعة بغداد/قسم التقنية الاحيائية
**وزارة الصحة /مستشفى الكرخ العام

منه 2 مليلتر للأنبوب الثاني وهكذا حتى الوصول للأنبوب الأخير(العاشر) أخذ 2 مليلتر وأهمل.

➢ **تحضير العالق البكتيري**

حضر اللقاح البكتيري للعزلات المنتجة للطبقة اللزجة (9) المعزولة من الاخماج المصاحبة لمواد التثبيت الداخلي والخارجي والمفصل الصناعي المتمثلة بـ*S.aureus* و *S. epidermidis* و *P.aeruginosa* و *E. cloacae* و*C. freundi* بتركيز (1×10^6) خلية/مليلتر ، ثم إضيف 2 مليلتر من اللقاح إلى كل أنبوب من الأنابيب الحاوية للمضادات لكي يصبح تركيز اللقاح 5×10^5 خلية/مليلتر.

➢ **تحضير أنابيب السيطرة التي تشمل:**

- أنبوب حاوي وسط مولر - هنتون.
- أنبوب حاوي وسط مولر - هنتون مضافاً له المضاد.
- أنبوب حاوي عالق بكتيري.

حضنت الأنابيب جميعها بدرجة 37 م° لمدة 16-20 ساعة فيما عدا في حالة إجراء الاختبار على العنقوديات فإن الحضانة استغرقت 24 ساعة كاملة.تمت قراءة النتائج وتحديد التركيز المثبط الأدنى، الذي يمثل أقل تركيز من المضاد يثبط نمو الأحياء المجهرية.

❖ **تأثير التراكيز المثبطة تحت الدُنيا من المضادات الحيوية في التصاق البكتريا بأسطح العدد الطبية.**

أُتبعت طريقة Schadow and Simposon (10) مع بعض التحويرات المأخوذة من Onaolopo and Salami (11) وكالآتي:

- حضر اللقاح البكتيري بتنمية 3-5 مستعمرات بكتيرية بأنابيب حاوية 5 مليلتر من المحلول الفسيولوجي ومقارنته مع عكورة أنابيب ماكفرلاند 0.5
- حضرت أنابيب زجاجية حاوية 2 مليلتر من مرق مولر - هنتون وأضيف اليها حجم مساو، من محلول المضاد للحصول على التركيز المثبط الأدنى ثم أضيف له 2 مليلتر من المزروع البكتيري للحصول على نصف التركيز المثبط الأدنى، ثم أضيفت عدة التثبيت (How medica Cortical Screw Faimon)وتم عمل 3 مكررات لكل مضاد.
- تحضير أنابيب السيطرة وتشمل:
  - أنبوب حاوي على وسط مرق مولر - هنتون مضافا له عدة التثبيت.
  - أنبوب حاوي على وسط مرق مولر - هنتون مضافاً إليه كل من المزروع البكتيري وعدة التثبيت.
  - أنبوب حاوي على وسط مرق مولر - هنتون
  - أنبوب حاوي على محلول المضاد.
- حضنت الأنابيب جميعاً بدرجة 37 م° لمدة 6 ساعات وبدون أي تحريك.

وبعد انتهاء مدة الحضانة أخرجت عدة التثبيت باستعمال ملقط معقم وغسلت مرتين بأنابيب حاوية 5 مليلتر من المحلول الفسيولوجي المعقم للتخلص من البكتريا غير الملتصقة.

- وضعت عدة مواد التثبيت بالمحلول الفسيولوجي المعقم وأجرى لها تكسير باستعمال جهاز الموجات الصوتية الفائقة (Sonicator) على وفق طريقة Romano وجماعته (12) ولمدة دقيقة ونصف وبدرجة حرارة الغرفة، ثم خفف بأخذ 1 مليلتر من المزيج وأضيف إليه 9 مليلتر من المحلول الفسيولوجي المعقم وكررت العملية مرتين.
- أخذ 100 مايكروليتر من كل تخفيف ونشر على أطباق أكار عدّ المستعمرات (Plate Count Agar) ، وحضنت الأطباق بدرجة 37 م° لمدة 48 ساعة ومن ثم تم حساب العدد الحي للمستعمرات.
- قسم عدد البكتريا الذي تم الحصول عليه من الخطوة السابقة على المساحة السطحية لعدة التثبيت لاستخراج عدد البكتريا الملتصقة على السنتميتر المربع الواحد.
- تم حساب النسبة المئوية للالتصاق على وفق طريقة Geers and Baker (13)حسب القانون الاتي:

النتائج والمناقشة:

➢ **تاثير المواد المضادة للجراثيم في التصاق العزلات البكتيرية**

$$\text{النسبة المئوية للالتصاق} = \frac{\text{عدد الخلايا البكتيرية الملتصقة بوجود المضاد}}{\text{عدد الخلايا البكتيرية الملتصقة بغياب المضاد}} \times 100$$

سعت هذه الدراسة إلى تحديد دور المواد المضادة للجراثيم في التصاق البكتريا بالسطوح غير الحية، لذا تم اختيار المضادات الامبيكلوكس، والسيفوتاكسيم، والفانكومايسين، والكلنداميسين، والسبروفلوكساسين، والريفامبسين لاظهار تأثيرها في التصاق العنقوديات، كما تم اختيار المضادات الحيوية الامبيكلوكس، والجنتامايسين، والأميكاسين، والسبروفلوكساسين، والتتراسايكلين لدراسة تأثيرها في التصاق البكتريا السالبة لملون غرام وذلك بعد تحديد التراكيز المثبطة الدنيا للمضادات الحيوية (جدول1،2) للعزلات S1 وS2 لـ *S.aureus* المنتجة للطبقة اللزجة بكميات كبيرة وS3 وS4 لـ *S.aureus* و *S.epidermidis* وعلى التوالي المنتجة للطبقة اللزجة بكميات قليلة.لقد تم اختيارالعزلات H1 وH2 وH3 من البكتريا السالبة لملون غرام المنتجة للطبقة اللزجة بكميات كبيرة توضح الأشكال(1)، (2)، (3)، (4)، (5)، (6) معدل النسبة المئوية للالتصاق بوجود نصف التركيز المثبط الأدنى من المضادات الحيوية. أظهرت النتائج ان قيم التراكيز المثبطة الدنيا للمضادات الحيوية للعنقوديات المنتجة

للطبقة اللزجة بكميات كبيرة والعنقوديات المنتجة للطبقة اللزجة بكميات قليلة متقاربة، إلا ان هناك اختلاف عند دراسة تأثير هذه المضادات في هاتين المجموعتين من العزلات البكتيرية الملتصقة وهذا يتفق مع ما وجده Amorena (14)الذي وجد ان قيم التراكيز المثبطة الدنيا للمضادات الحيوية للعزلات المنتجة للطبقة اللزجة والعزلات البكتيرية غير المنتجة للطبقة اللزجة كان متقاربا لكن هذه المضادات لها تأثير مختلف في الالتصاق البكتيري لهذه العزلات، فقد اظهرت النتائج ان معدل النسبة المئوية لالتصاق العزلتين S1 وS2 لمضاد الريفامبسين كان 1.6%و صفرا وعلى التوالي وهذا يوضح ان مضاد الريفامبسين ثبط التصاق العنقوديات اكثر من أي مضاد أخر وهذه النتيجة تؤكد ما أشار إليه Amorena وجماعته (14)الذي لاحظ ان الريفامبسين كان اكثر المضادات فعالية ضد البكتريااالموجودة ضمن الغشاء الحيوي بعد مرور 6 و24 ساعة من الحضانة.

كما لاحظ Souli and Giamarellou ان مضاد الريفامبسين كان اقل المضادات تاثرا بوجود الطبقة اللزجة،اذ لاحظ ان معدل الانخفاض بفعالية الريفامبسين بوجود الطبقة اللزجة 0.99% (15).

كما بينت النتائج ان لمضاد السيفوتاكسيم دوراً بتخفيض الالتصاق البكتيري اذ كان معدل الالتصاق بوجود هذا المضاد للعزلتين S1 وS2 بنسبة 4.8% و5.7% على التوالي، وهذا يؤكد دوره عند استعماله على مستوى علاجي.

كما أظهرت النتائج ان معدل الالتصاق بوجود مضاد الكلندامايسين للعزلتين S1 وS2 كان بنسبة 2.5% و16% على التوالي وهذا يتفق مع دراسة Carsenti_Etesseالذي لاحظ ان مضاد الكلندامايسين والتيكوبلانين تعمل على تثبيط التصاق العنقوديات (16)، كما أشار Souli and Giamarellou ان معدل الانخفاض بفعالية الكلندامايسين بوجود الطبقة اللزجة كان 1.4% (15) وارتفع معدل النسبة المئوية للالتصاق بوجود مضاد الأمبيكلوكس إلى 14.7% و15.5% للعزلتين كلتيهما وبالتتابع وهذا يتوافق مع ما توصل إليه Amorena وجماعته إلى ان البنسلينات لها فعالية ضئيلة موازنة مع السيفالوسبورينات وذلك يعود لصعوبة انتشارها وارتباطها مع الغشاء الحيوي (14)، أما بالنسبة للسبروفلوكساسين فكان معدل الألتصاق بوجودها 23.2% وان هذه النسبة من البكتريا الملتصقة تعود إلى تباطئ نمو البكتريا (17).اذ لاحظ الباحث Souli and Giamarellou انخفاض فعاليته بالبكتريا النامية بوجود الغشاء الحيوي بنسبة 9.5% (15)، إلأ ان نسبة البكتريا الملتصقة بوجود مضاد السبروفلوكساسين للعزلات قيد الدراسة تتناقض مع ما توصل اليه Bisognano وجماعته الذي ذكر ان التركيز المثبط تحت ألأدنى لمضاد السبروفلوكساسين يؤدى إلى زيادة عدد البكتريا الملتصقة وذلك يعود لتحفيز الجينات المسؤولة عن التشفير للمستقبلات Fibronectin binding ProtienA,B التي ترتبط ببروتينات المضيف (18).

اظهرت النتائج كون مضاد الفانكومايسين اقل المضادات تأثيرا في الالتصاق وبقيم التصاق أعلى مما هو في بقية المضادات (43.2%و29%) وهذه النتائج تؤكد ما توصل إليه Schadow and Simposon من ان مضاد الفانكومايسين غير قادر على تثبيط التصاق البكتريا بعد مرور 6 ساعات بينما توصل Pfaller (19) ان لمضاد الفانكومايسين القدرة على تثبيط الالتصاق بمعدل 14% بعد مرور 48 ساعة من الحضانة.كما أشار Rupp and Hamer إلى ان مضاد الفانكومايسين ليس له تأثير في المراحل الأولى من الالتصاق (20).

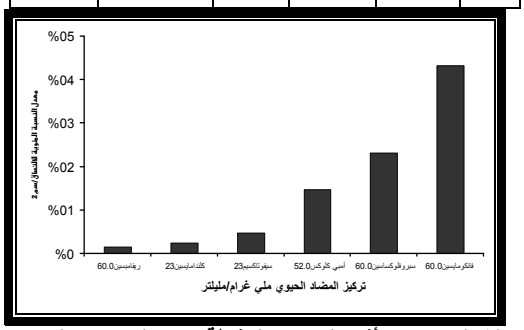
وهذا يقودنا إلى التوصل بان انخفاض الحساسية معتمد على الوقت فالعنقوديات الملتصقة بصورة اولية تكون حساسة للمضادات في حين عند استمرار حضنها للوصول إلى طور الثبات ستؤدي إلى مقاومتها.

جدول (1) قيم التراكيز المثبطة الدنيا MIC للمضادات الحيوية للعنقوديات *Staphylococci*

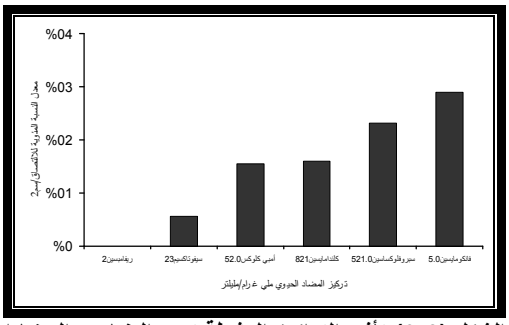
رقم العزلة	اميبكلوكس µg/ml	سيفوتاكسيم µg/ml	فانكومايسين µg/ml	كلندامايسين µg/ml	سبروفلوكساسين µg/ml	ريفامبسين µg/ml
S1	0.5	64	0.125	64	0.125	0.125
S2	0.5	64	0.5	256	0.25	4
S3	0.25	4	0.125	0.06	0.03	0.0078
S4	4	0.5	0.125	256	0.5	4

جدول (2) قيم التراكيز المثبطة الدنيا MIC للمضادات الحيوية للبكتريا السالبة لملون غرام *P. aeruginosa ,C. freundi ,E.cloacae,*

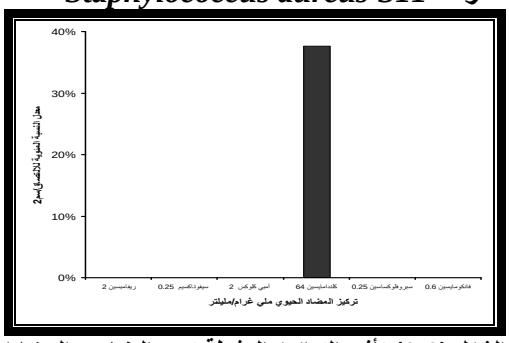
رقم العزلة	اميبكلوكس µg/ml	جنتامايسين µg/ml	اميكاسين µg/ml	سبروفلوكساسين µg/ml	تتراسايكلين µg/ml
H1	4096	2	4	0.5	256
H2	128	0.5	4	0.06	128
H3	2048	0.5	0.5	0.03	256



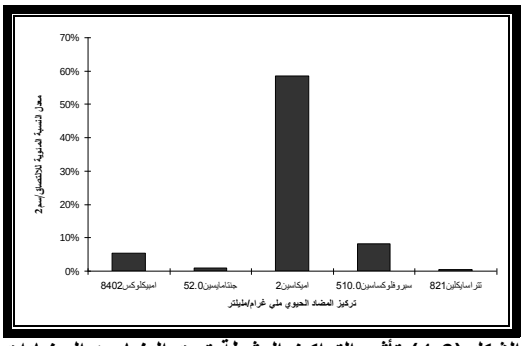
الشكل (3-1) تأثير التراكيز المثبطة تحت الدنيا من المضادات الحيوية
للعزلة *Staphylococcus aureus* S8



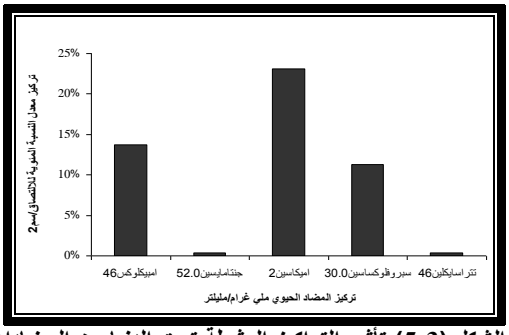
الشكل (3-2) تأثير التراكيز المثبطة تحت الدنيا من المضادات الحيوية
للعزلة *Staphylococcus aureus S11*



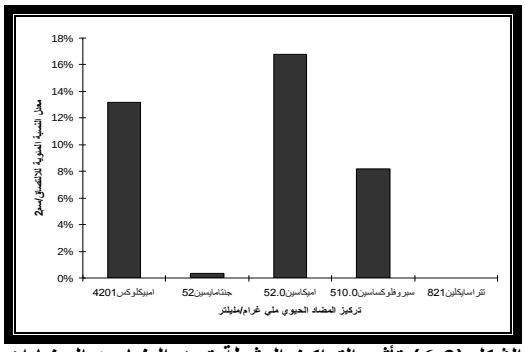
الشكل (3-3) تأثير التراكيز المثبطة تحت الدنيا من المضادات الحيوية
للعزلة *Staphylococcus epidermidis* S34



الشكل (3-4) تأثير التراكيز المثبطة تحت الدنيا من المضادات الحيوية
للعزلة *Enterobacter cloacae* H4



الشكل (3-5) تأثير التراكيز المثبطة تحت الدنيا من المضادات الحيوية
للعزلة *Pseudomonas aeruginosa* H5



الشكل (3-6) تأثير التراكيز المثبطة تحت الدنيا من المضادات الحيوية
للعزلة *Citrobacter freundi* H6

أما تأثير المضادات في البكتريا المنتجة للطبقة اللزجة بكميات قليلة(S3 وS4) فتتمثل بعدم ظهور أي بكتريا ملتصقة فيما عدا في حالة مضاد الكلندامايسين الذي أظهر تواجد 37.7% من البكتريا التابعة للعزلة S7 *S.epidermidis* التي لها القدرة على الالتصاق ويعود ذلك لكون العزلات المستعملة أصلا مقاومة لهذا المضاد.

استطاعت Gristina وجماعتها التوصل إلى كون إنتاج الطبقة اللزجة لا يعد مقياسا لمقاومتها للمضادات وانما مقياسا لقدرتها على الالتصاق كما أوضحت ان بعض المضادات لها القدرة على اختراق الغشاء الحيوي إلا أن مقاومة البكتريا لها تعتمد على نوع المضاد وآلية عمله ومعدل نمو البكتريا (12).

استطاع De Kievet وجماعته إثبات ان المقاومة المتعددة (Multi Drug Resistance Pump) ليست المسؤولة عن مقاومة *P.aeruginosa* للتراسايكلين والسبروفلوكساسين وكذلك النفاذية لم تظهر دورها بالمقاومة للمضادين السابقين وانما تعود لتغيير الحالة الفسيولوجية للبكتريا المتواجدة بالغشاء الحيوي (22). تمكن Stone من اثبات قدرة التتراسايكلين على اختراق الغشاء الحيوي لـ *E.coli* الملتصقة على اسطح القثاطر(23). إذ بلغ معدل التصاق البكتريا السالبة لملون غرام للعزلات قيد الدراسة المتمثلة بـH1 *E.cloacae* وH2 *P. aeruginosa* و H3 *C. Freundi* بتواجد مضاد التتراسايكلين بنسب 0.4% و 0.37% وصفر على التوالي.

اما مضاد السبروفلوكساسين فضلاعن كونه من المضادات التي تستطيع اختراق الغشاء الحيوي للـ *P.aeruginosa* ويعمل على تخفيض انتاج الكلايكوكالكس، إلا ان هذه الدراسة أظهرت وجود نسبة معينة من المقاومة اذ كان معدل الالتصاق بوجود مضاد السبروفلوكساسين 8,2% و11,3% و8,2% للعزلات قيد الدراسة المتمثلة بـH1 *E.cloacae* وH2 *P. aeruginosa* و H3 *C. Freundi* وهذا يتفق مع ما اشار اليه Yassien وجماعته إلى ان سبب المقاومة لمضاد السبروفلوكساسين تعود إلى بطء نمو البكتريا (24).

كان للجنتامايسين دور كبير للسيطرة على البكتريا السالبة لملون غرام المتواجدة ضمن الغشاء الحيوي اذ كان معدل الالتصاق بوجود هذا المضاد للعزلات قيد الدراسة المتمثلة بـ*E.cloacae* H1 و*P. aeruginosa* H2 و *C. Freundi* H3 وبنسب 0,9%، 0,3% و0,3% على التوالي في حين كان أعلى معدل للالتصاق هو بوجود مضاد الأميكاسين بنسب 58,5% و23,1% و16,8% للعزلات قيد الدراسة المتمثلة بـ*E.cloacae* H1 و*P. aeruginosa* H2 و *C. Freundi* H3 ، لم تشر الأدبيات إلى دور هذه المضادات في التصاق البكتريا السالبة لملون غرام، اذ استطاع Souli and Giamarellou من التوصل إلى أن معدل الانخفاض بفعالية الجنتامايسين والأميكاسين بوجود الغشاء الحيوي للعنقوديات كان 9,8% و12% وعلى التوالي(15) .

كما اظهرت النتائج ان معدل الالتصاق بوجود مضادالأمبيكلوكس كان 5,4% و13,7% و13,2% للعزلات قيد الدراسة المتمثلة بـ*E.cloacae* H1 و*P. aeruginosa* H2 و H3 *C. Freundi* ويعزى وجود هذه النسبة إلى صعوبة انتشار البكتريا وارتباطها مع الغشاء الحيوي فضلا عن قدرة كل من البكتريا المعوية و*P.aeruginosa* على إنتاج إنزيمات B-lactamase (14;25).

References:

1. Cordero ,J . and Garcia-Cimbrelo, E.G.(2000). Mechanism of Bacterial Resistance in Implant Infection . Hip International Review article . 10:139-144.

2. Stewart, P.(1996). Theoretical Aspect of Antibiotic Diffusion into Microbial Biofilm . Antimicribial Agent and chemother., 40:2517-2522.

3. Hoyle, B.D.; Jass, J. and Costerton, J.W.(1990). The biofilm Glycogalyx as A resistance Factor. J of Antimicrobial Chemotherapy., 26:1-5.

4. Robert, M.E and Stewart,P.S. (2004).Modeling Antibiotic Tolerance in Biofilm by Accounting For nutrient limitation. Antimicrobial Agent and Chemotherapy.,48:48-52.

5. Jorgensen, J.H.; Turnidge, J.D. and Washington, J.A. (1999). Antibacterial susceptibility :Dilution and Disc Method ,P:1526-1543.In Murray, P.R.; Barton, E.J.; PFaller, M.A.; Tenover, F.C. and Yolken, R.H. manual of Clinical Microbiology.7thedition .ASM.Press. Washington.D.C.

6. Roberts, A.P.; Pratten, J.; Wilson, M. and Mullany,M.(1999).Transfere of Conjugative transposon ,Tn 5397, ina model oral biofilm.FEMS Microbio.Lett.,177:63-66.

7. Baron, E.J.; Peterson, L.R. and Finegold, S.M. (1994a). Antimicrobial Agent and chemotherapy.In: Baily and Scott's Diagnostic Microbiology , 9th edition, Mosby Year Book Inc,USA.

8. Miles, R.R. and Amyes, S.G. (1996).Laboratory control of antimicrobial chemotherapy. In:Mackie and McCartney practical medical microbiology by Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. and Simmons, A.,4th editin .Chuchill livingstone.P:151-178.

9. 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.

10. Schadow, K.H. and Simposon, W.W.(1988).Characterisation of Adherence to Plastic Tissue Culture plate of coagulase negative staphylococci exposed to subinhibitory concentration of Antimicrobial Agent .The J of Infectious Disease .,157:71-77.

11. Onaolopo, J.A. and Salami, J.O.(1995). Effect of Subminimum inhibitory concentration of ceftriaxone on adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to *inert surfaces in an* experimental model. J Med Sci., 24:275-281.

12. Romano, G.; Berti, M.; Galdstein, B.P and Williams, R.(1997). The effect of Ramoplanin coating on Colonization by *Staphylococcus aureus* of catheter segement implanted subcutaneously inmice.J of Antimicrobial Chemotherapy., 39:659-661.

13. Geers, T.A. and Baker, N.R.(1987). The effect of sublethal concentration of aminoglycosides on Adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to Hamster

(Abstract) In:Abstract of the 86th Annual Meeting Washington,DC:American Society for Microbiology.

20. Rupp, M.E. and Hamer, K.E.(1998). Effect of Subinhibitory concentration of vancomycin ,Cefazolin ,Ofloxacin,L-Ofloxacin and D-Ofloxacin on adherence to intravascular catheter and Biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* .J of Antimicrobial Chemotherapy.,41:155-161.

21. Gristina, A.G.; Jenning, R.A.; Naylor, P.T.; Myrvik, Q.N. and Webb, L.X.(1989).Comparsion In Vito Antibiotic Resistance of Surface colonizing coagulase negative Staphylococci .J of Antimicrobial Agent and Chemotherapy.,33:813-816.

22. DeKievit, T.R.; Parkins, M.D.,; Gillis, R.J.; Srikmar, R.; Ceri, H.; Poole, K.; Iglewski, B.H. and. Storey, D.G. (2001). Multidrug Efflux Pump: Expression Patterns and Contribution to Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm .Antimicrbial Agents and Chemotherapy .45: 1761-1770.

23. Stone, G.; Wood, P.; Dixon, L.; Keyhan, M. and Matin, A.(2002).Tetracyclin Rapidly Reaches all the constituent cell of Uropathogeneic *Esheichia coli* Biofilm. Antimicrobial Agent and Chemotherapy.,46:2458_2461.

24. Yassien, M.; Khardori, N.; Ahmedy, A. and Toama, M.(1995). Modulation of Biofilm by Quinolone . Antimicrobial agent and chemotherapy.,39:2262-2268.

25. Decousser, J.W.; Pina, P.; Picot, F.; Delalande, C.; Pangon, B.; Courvalin, P.; CO1BVH.study group.(2003). Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens isolated from patient with blood stream infections:afrench prospective national survey .J of Antimicrobial Chemotherapy.51; 1213-1222.

tracheal epithelium .J.Antimicrob.Chemother.,19: 561-568.

14. Amorena, B.; Gracia, E.; Monzon, M.; Leiva,J.; Oteiza, C.; Perez, M.; Alabart , J.L. and Hernandez, J. (1999). Antibiotic susceptibility assay for *Staphylococcus aureus* in biofilm developed in vitro. J of Antimicroial Chemotherapy.,44: 43-55.

15. Souli, M. and Giamarellou, H.(1998). Effect of slime produced by clinical isolate of coagulase negative Staphylococci on Activities of various Antimicrobial agent . Antimicrobial Agent and Chemotherapy.,42:939-941.

16. Carsenti-Etesse, H.; Durant, J.; Entenza, J.; Mondain, V.; Prdier, C.; Bernardi, E. and Dellamonica, P.(1993).Effect of subinhibitory concentration of Vancomycin and teicoplanin on adherence of Staphylococci to tissue culture plates. Antimicrobial Agent and Chemotherapy, 37:921-923.

17. Marshall, C.; Waller, I.; Roe, F.; Bugnicourt, A.; Franklin, M.J. and Stewart , P.(2003). Contribution of Antibiotic Penetration ,Oxygen Limitation and Low Metabolic Activity to Tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm to Ciprofloxacin and Tobamycin . Antimicrobial Agent and chemother.,47:317-323.

18. Bisognano, C.; Vaudaux, P.E.; Lew, D.P.; Eva, Y. and Hooper, D.C. (1997). Increased Expression of fibronectin – binding proteins by fluroquinolone resistant *Staphylococcus aureus* Exposed to Subinhibitory level of ciprofloxacin. Antimicrobial Agent and Chemotherapy, 41:906-913.

19. Pfaller, M.; Davenport, D.; Bale, M.; Barrett, M.; Koontz, F. and Massanari, M. (1986).Development of asemi-quantitative test for slime production :application to the study of subinhibitory effect of antistaphylococcal agent

Effect of Subinhibitory concentration of Antibiotic on Bacterial Adherence to Orthopedic Prosthetic Device

***Alice,k.Melconian *Maysem S.Al Baldawi **Mohand A. Al Falahi**

*College of science/Baghdad university/Department of Biotechnology.
**Al Karjh hospital/Ministry of health.

Abstract:

The effect of subinhibitory concentration of Antibiotics on the Adherence of *S.aureus* (Coagulase Positive Staphylococci), and *S.epidermidis* (Coagulase negative Staphylococci) and *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Citobacter freundi* (Gram negative bacteria) was done and the results revealed that Rifampicin was the best antibiotic inhibiting Staphylococci adherence and Vancomycin has less effect on the adherence of Staphylococci, whereas Tetracyclin was the best antibiotic inhbiting Gram negative bacteria adherence and Amikacin has the lest less effect on inhibiting bacterial adherence.