# تأثير الراشح الخام لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* على بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المكونة للغشاء الحيوي

**أ. م. نبراس نزار محمود          احسان علي رحيم**

قسم علوم الحياة /كلية العلوم / الجامعة المستنصرية

**الخلاصة**

جمعت ٢٠٧عينة سريرية من بعض مستشفيات بغداد ولمختلف الاعمار ومن كلا الجنسين وتم عزل وتشخيص ٦٨ عزلة من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* ومن مصادر مختلفة. تم اجراء الفحوصات الخاصة بانتاج الغشاء الحيوي مثل طريقة Congo Red Agar Method(CRA) لوحظ ان (١٦ )عزلة كانت مكونة للغشاء الحيوي و(52 )عزلة غير مكونة للغشاء الحيوي , اما الطريقة الثانية للتحري عن انتاج الغشاء الحيوي هي طريقة اطباق المعايرة الدقيقة (Microtitration plates (MTP method. فقد اوضحت النتائج ان (٢٨)عزلة من اصل (٦٨) عزلة كانت مكونة للغشاء الحيوي , في حين كانت (٤٠) عزلة غير مكونة للغشاء الحيوي بهذه الطريقة.

اخضعت العزلات المكونة للغشاء الحيوي لفحص الحساسية تجاه (١٧) مضادا حيويا بطريقة الاقراص ,وقد تبين ان عزلات الدراسة تحمل صفة المقاومة المتعددة للمضادات (Multi drug resistance) اذ اظهرت جميع العزلات السريرية لبكتريا *P.aeruginosa* مقاومة بنسبة ١٠٠% لمعظم المضادات الحيوية, ثم تدرجت مقاومة البكتريا لبقية المضادات ,في حين كانت حساسة ١٠٠% لمضاد Imipenem . استعملت خمائر الخبز الجافة المستوردة من مناشئ مختلفة والمتوافرة في الاسواق المحلية من اجل الحصول على عزلات لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* التي شملت كل من العزلة AY من خميرة Angelالصينية المنشأ والعزلة MY من خميرة Magestic الصينية المنشأ والعزلة PY من خميرة Packmaya التركية المنشأ والعزلة LY من

خميرة Altunsa التركية المنشأ،.اجريت غربلة لرواشح عزلات الخميرة من اجل انتخاب العزلة الأكفأ في انتاج المواد البروتينية المثبطة باستعمال طريقة الحفر لمعرفة تأثير هذه المواد تجاه بكتريا *P. aeruginosa* المكونة للغشاء الحيوي قيد الدراسة , لم تظهر الرواشح الخام (غير المركزة) لعزلات خميرة *S. cerevisiae* أي تاثير تثبيطي ضد العزلات .

## المقدمة

تعد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* من الاجناس البكتيرية المهمة لكونها واسعة الانتشار في الطبيعة وامراضيتها العالية للانسان والحيوان والنبات ، فهي احد اهم الانواع البكتيرية المسببة لما يعرف بالاصابات المكتسبة في المستشفيات (Nosocomial Infection) , وتسبب امراضا عديدة في جسم الانسان ومنها اخماج الجروح والحروق واخماج العين واخماج الجلد والمجاري البولية والاذن الوسطى وتجرثم الدم واخماج العظام والمفاصل (1). ويرجع سبب قدرة هذه البكتريا على احداث الاصابات الشديدة وانتشارها لقدرتها على استعمار مواقع عديدة بسبب امتلاكها آليات التصاق فعالة وعدم أحتياجها لمتطلبات تغذوية معقدة ومقاومتها للمضادات المايكروبية وقدرتها على تكوين الغشاء الحيوي ( 2). اذ تبدي هذه البكتريا في الاغشية الحيوية درجة عالية من المقاومة للعوامل المضادة للجراثيم وجهاز مناعة المضيف ,يساعد الغشاء الحيوي البكتريا في البقاء حية في الظروف القاسية داخل المضيف ويعد مسؤولا عن الاصابات المزمنة والمستعصية ومنها امراض التهاب شغاف القلب , التليف الكيسي , التهاب الاذن الوسطى, الاصابات المتعلقة بالادوات الطبية , التهاب اللثة وتسوس الاسنان وغيرها (3).

ان من اكثر الظواهر انتشارا وتواجدا من بين العديد من الاحياء المجهرية في بيئتها الطبيعية هي التضاد المكروبي (Microbial antagonism) , تأتي الفطريات بعد البكتريا في قدرتها على انتاج المواد المثبطة أو السامة للأحياء المجهرية الاخرى , فيمكن للعديد من سلالات الخمائر ان تنتج او تفرز سموم خارج الخلايا (Extracellular toxins) والتي قد تكون مميتة (Lethal) لباقي سلالات الخمائر الحساسة لها (٤), وتأتي خميرة *Saccharomyces cerevisiae* في مقدمة هذه الاحياء المجهرية والتي استغلت

بشكل كامل لاجل الاستفادة منها , اذ تعد هذه الخميرة منجما للمواد الحيوية التي تنتج في جميع انحاء العالم (٥). تمتلك السموم القاتلة التي تفرزها الخميرة فعالية تضادية ضد الاصابات البكتيرية الممرضة حيث لها تاثير كبير في علاج الالتهابات المعدية والمعوية بالاضافة الى استخدامها في المجال البيطري (٦).وتعد خميرة *S. cerevisiae* من المعززات الحيوية التي تعمل على توازن النبيت الطبيعي من خلال زيادة البكتريا المفيدة وتقليل الكائنات الحية المسببة للمرض (٧).

## المواد وطرائق العمل

**العزلات البكترية** : جمعت (٢٠٧) عينة من حالات مرضية مختلفة توزعت ما بين (٩٤) مسحة من الحروق, و (٤٥) من الجروح, (٣٣)مسحة من الادرار و (٢٠) مسحة من التهاب الاذن الوسطى, و(١١) مسحة من التهاب البلعوم و(٤) عينات من القشع . وتم الحصول على (٦٨) عزلة لبكتريا *P.aeruginosa* توزعت ما بين (٢٨) عزلة من الحروق ,(٢١)عزلة من الجروح,(٦) عزلات من الادرار ومن التهاب الاذن الوسطى,(٤) عزلات من التهاب البلعوم و (٣) من القشع ، اذ تم الحصول على العينات من مختبرات بعض المستشفيات في بغداد شملت مستشفى الشهيد الصدر العام ومستشفى الكندي التعليمي ومستشفى ابن البلدي للنسائية والاطفال للفترة من (2013/10/13) ولغاية (2014/1/13). وتم تأكيد تشخيصها استنادا الى الطــرق المجهرية والزرعية والاختبارات الكيموحيوية والتشخيص النهائي باستخدام نظام الفايتكVitek 2Compact (Bio Merieux France).اخضعت جميع العزلات للتحري عن قابليتها على تكوين الغشاء الحيوي Biofilm باستعمال طريقتين هي وسط اكار الكونغو الاحمر Congo Red agar Medium و طريقة اطباق المعايرة الدقيقة (MTP) Microtitration plates method اتبعت طريقة (٨،٩).

أجري فحص الحساسية للعزلات المكونة للغشاء الحيوي تجاه (17) مضادا حيويا مختلفا شملت اهم الاقراص المستخدمة (Bio analyse/Turke).

Ciprofloxacin (CIP 10µg), Norfloxacin (NOR10µg), Levofloxacin (Lev5µg), Amikacin (AK 30µg), Topromycin(TOB5µg), Piperacillin(PRL 30µg), Amoxicillin / Clavulanic acid(AMC

20/10µg), Imipenem(IPM 30µg), Ceftriaxone (CRO30µg), Azithromycin (AZM30µg), Ticarcilin / Clavulanic acid(TIM75/10µg), Ceftazidime(CAZ30µg),Cephalexin(CL 30µg), Trimethoprim/Sulphamethoxazole (SXT 25µg), Nitrofurantoin (F 300 µg) Rifampicin(RA5µg),Cefoxitin(FOX30µg).

تم اجراء الاختبار باستعمال وسط مولر هنتون الصلب ( Mueller-Hinton agar ) وتم اعتماد الاقطار القياسية حسب ما جاء في CLSI (10).

**عزلات الخميرة *S. cerevisiae*** : جمعت نماذج مختلفة من الخميرة الجافة المستوردة من مناشيء مختلفة من الاسواق المحلية شملت كلاً من العزلة My من خميرة Magestic الصينية المنشأ والعزلةAy من خميرة Angel الصينية المنشأ والعزلة Py من خميرة Packmaya التركية المنشأ والعزلـــة Ly من خميرة Altunsa التركية المنشأ. شخصت عزلات خميرة *S. cerevisiae* النامية بالاعتماد على صفاتها المجهرية والزرعية على الاوساط الزرعية الخاصة والاختبارات الكيموحيوية (١1) وتم تنشيط الخمائر على وسط Yeast extract glucose peptone broth( YEGP) السائل(12).

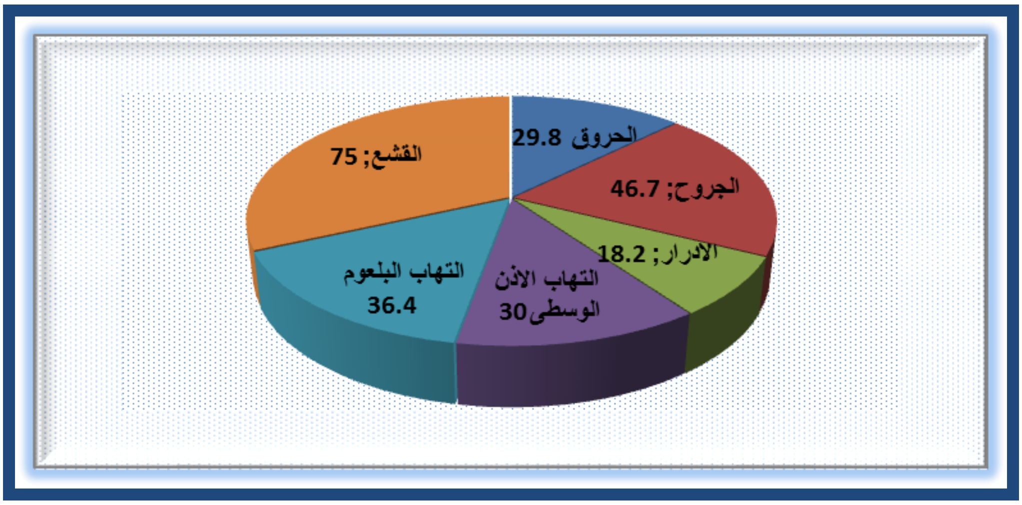
١: **تحضير راشح خلايا الخميرة:** نميت الخميرة المشمولة بهذه الدراسة في ظروف نمو مثالية وحسب ما ورده في (١٣).

٢: **تحضير لقاح مزارع البكتريا:** زرعت العزلات البكتيرية في الانابيب الحاوية على وسط المرق المغذي، ثم حضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة، بعدها عمل تخطيط على سطح الاكار المغذي بوساطة الناقل وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة، وبعد انتهاء فترة الحضن نقلت بضعة مستعمرات بكتيرية نقية بعمر 24 ساعة بوساطة الناقل الى انابيب حاوية على وسط المرق المغذي المعقم بمقدار 5 مللتر، ثم قورنت عكورة العالق البكتيري مع عكورة انبوبة ماكفرلاند رقم 0.5 القياسية والذي يعادل نمو بكتريا مساويا الى $1.5\times10^{8}$ خلية/ مللتر.

٣:اتبعت الطريقة الوارده في (١٤) للتحري عن الفعالية التثبيطية لراشح خميرة *S. cerevisiae* ضد بكتريا*P.aeruginosa* باستعمال طريقة الانتشار بالحفر Well diffusion method.

# النتائج والمناقشة

استخدمت في هذه الدراسة ٦٨ عزلة من بكتريا *P. aeruginosa* من عينات مرضية مختلفة شملت القشع (٧٥%), اخماج الجروح( ٤٦,٧%), البلعوم(٣٦,٤%) , التهاب الاذن الوسطى (٣٠%) اخماج الحروق(٢٩,٨%) والتهاب المجاري البولية (١٨,٢%), وكما موضح في الشكل (١).

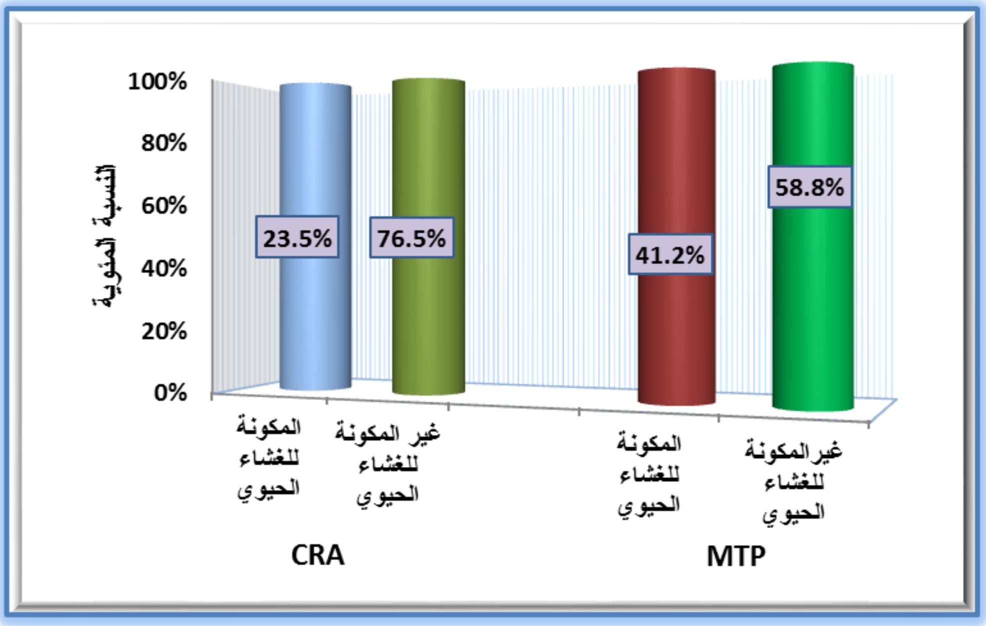



**الشكل (١) النسبة المئوية لتوزيع عزلات بكتريا *P. aeruginosa* حسب مصدر العينة**

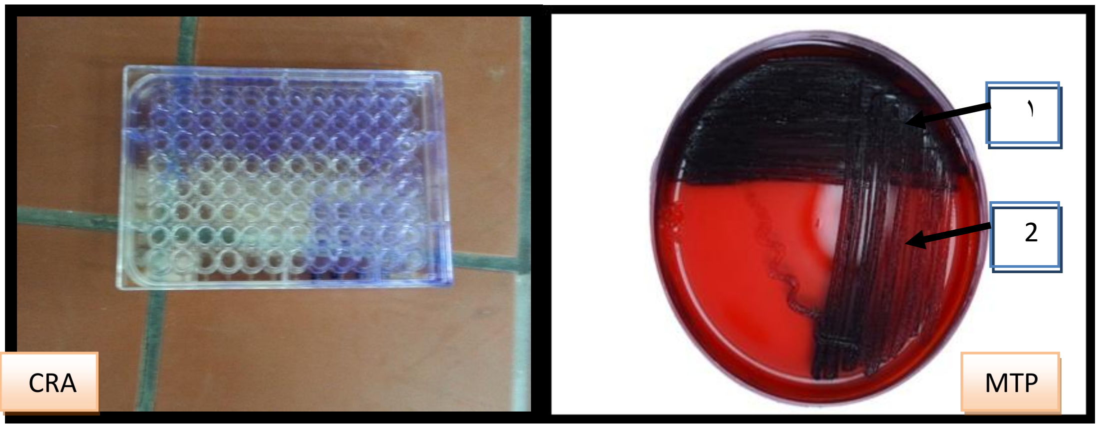
شخصت العزلات جميعها اعتمادا على الخصائص المجهرية والزرعية والكيموحيوية حسب ما ورد في (١٥), وتم التشخيص النهائي باستعمال نظام Vitek2 compact.

تم اختبار تكوين الغشاء الحيوي حسب طريقة احمر اكار الكونغو وطريقة اطباق المعايرة الدقيقة. اظهرت نتائج الدراسة لعزلات *P. aeruginosa* ان طريقة (MTP) كانت الاكثر حساسية في التحري عن تكوين الغشاء الحيوي, اذ لوحظ ان (٢٨)عزلة من اصل (٦٨) عزلة كانت مكونة للغشاء الحيوي , في حين كانت (٤٠) عزلة غير مكونة للغشاء الحيوي مقارنة بطريقة (CRA) التي كانت عدد العزلات المكونة للغشاء الحيوي فيها (١٦) عزلة و(52 ) عزلة غير مكونة للغشاء الحيوي , شكل (٢). تختلف الطرائق المستخدمة للكشف عن انتاج الغشاء الحيوي وتشمل بصورة رئيسية طريقة CRA و MTP ونتائجنا منسجمة تقريبا مع دراسة (١٦) حيث وجد ان نسبة بكتريا

*P.aeruginosa* المكونة للغشاء الحيوي كانت ٤٥,٥% والغير مكونة بلغت نسبتها ٥٤,٥% وان طريقة MTP هي الاكثر حساسية.,واظهرت دراسة (٩) عدم وجود علاقة بين الطريقتين.




**شكل (2) مقارنة بين العزلات المكونة وغير المكونة للغشاء الحيوي باستخدام طريقتي CRA وMTP**

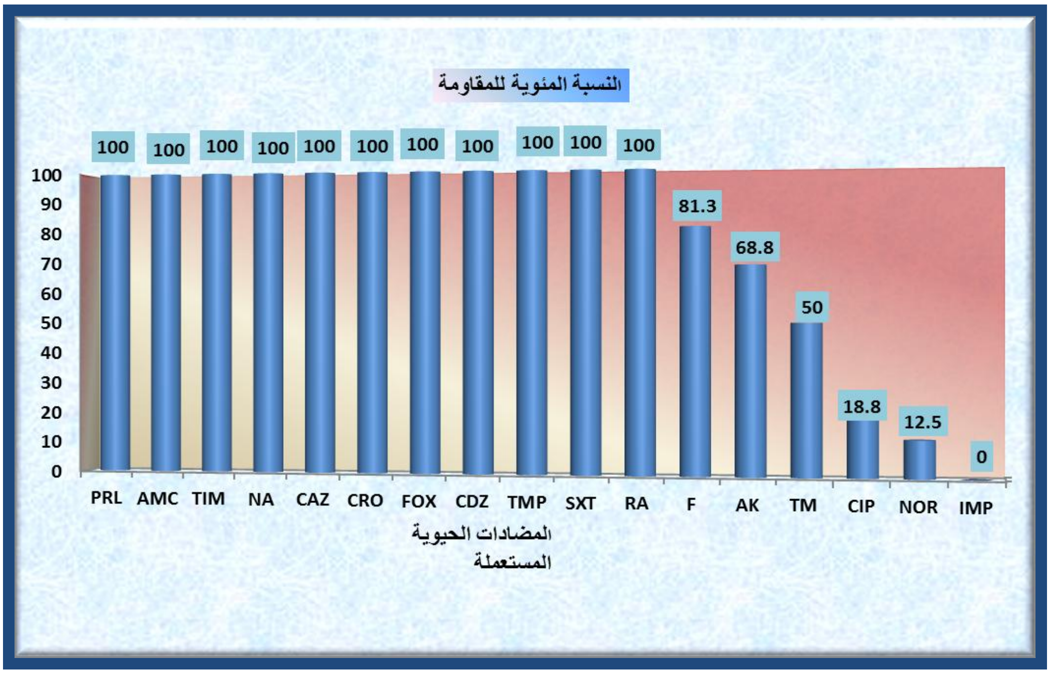



**A- الحفر بعد التصبيغ المسار وسط اكار الكونغو الاحمر** **B – المستعمرات المكونة للغشاء**

١. الحفر المكونة للغشاء الحيوي : المسار ٢.حفر السبطرة

**شكل(3): قدرة بكتريا *P. aeruginosa* على تكوين الغشاء الحيوي بطريقة MTP و CRA**

اخضعت (16) عزلة التي لها القدرة على تكوين الغشاء الحيوي لفحص الحساسية اتجاه (١٧) نوع من المضادات الحيوية وتم تحديد حساسية او مقاومة العزلات للمضادات الحيوية بالاعتماد على قياس قطر منطقة تثبيط النمو بالمليمتر(ملم) حول اقراص المضادات المستخدمة وقورنت النتائج مع ما ورد في (١٧) , يوضح الشكل (4) نتائج هذا الاختبار.




**شكل (4): النسب المئوية لعزلات بكتريا *P. aeruginosa* المقاومة للمضادات الحيوية**

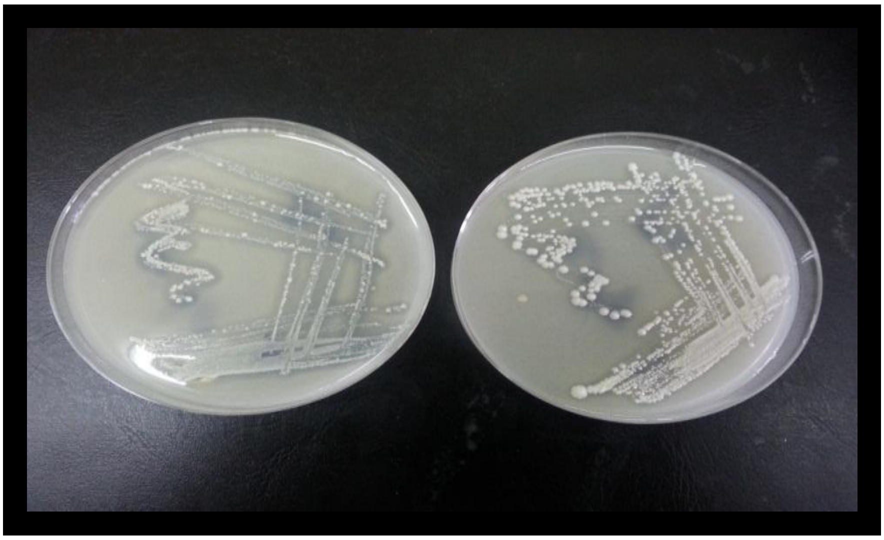
اظهرت جميع عزلات بكتريا *P.aeruginosa* تشابها في مقاومتها لعدة مضادات اذ كانت مقاومة بنسبة (١٠٠%) لمضادات Piperacillin(PRL) , Ticarcillin/Clavulanic (TIM) , Amoxicillin/Clavulanic acid(AMC) , Cefoxitin (FOX) , Ceftriaxone (CRO) ,Ceftazidime (CAZ) ,acid (NA) , Trimethoprim/Sulphamethoxazole ( SXT), Çefodizime (CDZ) Rifampicin (RA) , Nalidixic Acid ومقاومة بنسبة (١٢,٥،١٨,٨%) اتجاه مضادي Norfloxacin (NOR) و Ciprofloxacin(CIP) على التوالي, في حين تزايدت نسبة المقاومة لمضادي Tobramycin (TM)و Amikacin (AK) وبنسبة

(٥٠،٨,٦٨%) على التوالي, وكانت أعلى نسبة حساسية أظهرتها العزلات هي لمضاد Imipenem(IMP) بنسبة ١٠٠% .

يتضح من النتائج اعلاه امتلاك عزلات بكتريا *P.aeruginosa* مستويات مقاومة عالية لمضادات البيتالاكتام .وقد اشار كل من (18) و(19) الى أن سبب مقاومة البكتريا السالبة لصبغة كرام تعود بالدرجة الاساس الى الافراط في انتاج انزيمات البيتالاكتاميز المشفر لها كروموسوميا او عن طريق انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESLBs), بين بعض الباحثين وجود تفاعل وتداخل بين انزيم البيتالاكتاميز الكروموسومي The chromosomal Ampc beta lactamase وبين نظام الدفق Mex AB.oprM ودورها في المقاومة الذاتية لبكتريا *P.aeruginosa* تجاه مضادات البيتالاكتام (20) . جاءت نتائجنا متفقة جزئيا مع نتائج (٢١) اذ ان بكتريا *P.aeruginosa* البالغ عددها ٣١ عزلة كانت مقاومة لـــ(١٣) مضادا وبنسبة ١٠٠% وكانت حساسة بنسبة ١٠٠% لمضاد Imipenem , وجاءت هذه الزيادة من المقاومة كنتيجة للممارسة الطبية الخاطئة في وصف المضادات الحيوية ولا توجد ضوابط او سياقات عمل عملية تحد من هذه الظاهرة اذ يمكن للمريض ان يحصل على اي مضاد حيوي من الصيدلية من دون وصفة طبية .

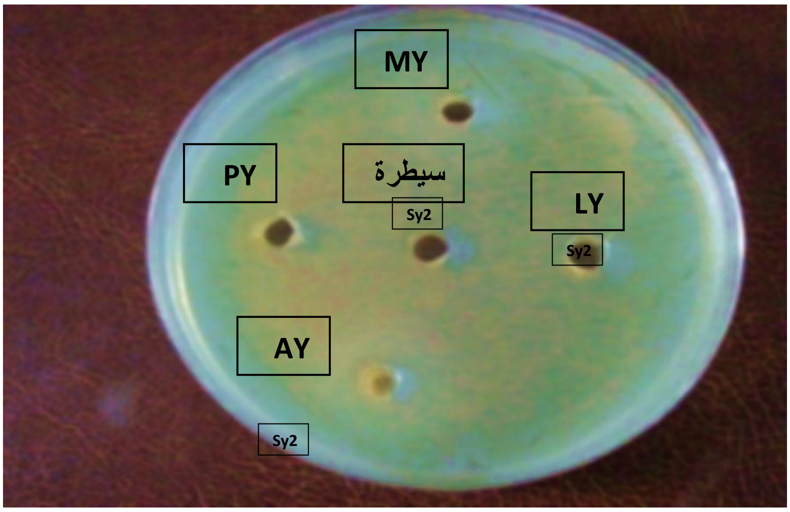
امكن الحصول على اربع عزلات تعود لخميرة *S. cerevisiae* والتي تم عزلها من خمائر الخبز الجافة المستوردة من مناشئ مختلفة , اخضعت العزلات لمجموعة من الاختبارات المظهرية والزرعية فضلا عن الاختبارات الكيموحيوية اعتمادا على ما ورد في (٢٢ و٢٣) شكل رقم (5).

اخضعت العزلات لعملية الغربلة بالاعتماد على قطر منطقة التثبيط التي تحدثها رواشح الخميرة ضد (١٥) عزلة من بكتريا *P.aeruginosa* المكونة للغشاء الحيوي باستعمال طريقة الانتشار بالاكار (طريقة الحفر) شكل رقم (6),اتضح من خلال النتائج الى عدم وجود أي تأثير تثبيطي للرواشح الخام لعزلات خميرة *S.cerevisiae* ضد عزلات بكتريا *P.aeruginosa*.



**شكل (5) نمو خميرة *S. cerevisiae* على وسط السابرويد الصلب**

هنالك دراسات عديدة حول التأثير التثبيطي لنمو المايكرو بات للبروتينات المثبطة المكونة من الخمائر لكن الدراسات حول تأثير البروتين المثبط المنتج من خميرة *S.cerevisiae* تجاه بكتريا *P.aeruginosa* المكونة للغشاء الحيوي تعد قليلة.




**شكل (٦):** عدم وجود أي تاثير تثبيطي لرواشح خميرة *S. cerevisiae* الخام في نمو بكتريا*P.aeruginosa* بطريقة الحفر.

اذ اشارت الدراسات الى ان خميرة *S.cerevisiae* لها القدرة على تثبيط البكتريا المرضية , كما وجد (٢٤) ان ارتباط خميرة *S.cerevisiae* بالممرضات البكترية مثل *Salmonella typhimurium* و*E.coli* وتكوين معقد يعرف *S. cerevisiae* /Pathogen الذى يتم طرحه خارج القناة الهضمية احد اهم طرق تثبيط عوامل الضراوة في البكتريا.

# المصادر


1) **Gale, T.** (2012). Pseudomonas infection. Book rage. Inc.
2) **Askoura**, M., Motttawea, W., Abujamel, T. and Taher, I. (2011). Efflux pump inhibtors (EPls) as new antimierobial agents against *Pseudomonas aeruginosa*. Libyan J. Med., 6: e5870Oie
3) 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 MRSAinfections ?. *Trends in Med. Res. Academic J.*, 6(2), 116-123.
4) **Maqueda**,M.;Zamora,E.;Alvarez,M.L.andRamirez,M.(2012).Characterizatio n ,Ecological Distribution ,and Population Dynmamics of *Saccharomyces* Sensu Stricto Killer Yeasts in the Spontaneous Grape must Fermentations of Southwestern Spain. Appl .and Environ.Microbiol.,78(3):735-743.
5) **Mohamudha** ,P.R and Ayesha,B.J.(2010).Pr oduction and effect of killer toxin by *Saccharomyces cerevisiae* on sensitive yeast and fungal pathogens.International,J.of Pharmaceut.Scien.Rev.and Res.3(1).127-129
6) Hatoum, R. ;Labrie, S .and Fliss, I.(2012) .Antimicrobial and probiotic properties of yeasts: from fundamental to novel applications.Front Microbiol.19:3:421.
7) (WGO) World Gastroenterology Organisation. (2011). Probiotics and prebiotics.
8) **Kala, R.;** Chauhan,H.; Rajput,A and Kutty,R.(2012). biofilm characterization and quorum quenching in pathogenic strains *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa.*Inter. J. of Adv. Biotech. and Res.3(1):515-522.
9) **Mathur,** T.; Singhal, S.; Khan, S.; Upadhyay, D.J.; Fatma, T.; and Rattan, A. (2006). Detection of Biofilm Formation among The Clinical Isolates of Staphylococci: An Evaluation of Three Different Screening Methods. Indian J. Med. Microbiol. ,24(1):25-29.
10) **Clinical** and Laboratory Standards Institute . (2009). Performonance standareds for antimicrobial testing .Nineteeth information supplemenet .M100 -S19 .Vol, 29 .No.3 Replace M100-S18 vol,28 .No.1.
11) **Ellis**, D. H. (1994). Clinical Mycology. The Human Opportunistic Mycosis. Gillingham Printers PTY Ltd .

12) **Al-Gosha**ʾ ah,F,A,S.(2005).Studying the effect of inhibitory substances produced by *Saccharomyces boulardii* on virulence factors of some enteric bacteria. Ph.D thesis, AL-Mustansiriya University, College of Science.

13) **Mohamudha** ,P.R and Ayesha,B.J.(2010).Pr oduction and effect of killer toxin by *Saccharomyces cerevisiae* on sensitive yeast and fungal pathogens.International,J.of Pharmaceut.Scien.Rev.and Res.3(1).127-129.

14) **Gupta**, S. (1996). The Short Text Book of Pediatrics. 7th ed., Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.

15) **Todar ,K.** (2004). textbook of Bacteriology.University of Wisconsin Madison- department for microbiology. Toder's online.

16) **Nagaveni,**S.,Rajeshwari,H.,Kumar,A,Patil,S.A.andChardrakanth,R.K (2010). Evaluation of biofilm forming ability of the multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*.5(4):563-566.1044.

17) **Clinical** and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2010). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Approved standard M100-17. 27(1). National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA. USA.

18) **Pitout,** J.D.; Reisbig, M.D.; Venter, E.C.; Church, D.L. and Hanson, N.D.(2003). Modification of the double. disk test for detection of enterobacteriaceae Producing extended- Spectrum and Ampc beta-Lactamases. J. Clin. Microbiol. 41(8): 3933-5.

19) **Subha,** A.; Devi, V.R. and Ananthan, S.(2003). Ampc beta- Lactamase producing multidrug resistant strain of *klebsiella* spp. and *Escherichia coli* isolated from children under five in chennai. J. Med. Res. 117: 13-8.

20) **Hocquet**, D.; Bertrand, X.; Kohler, T.; Talon, D. and Plesiat, P.(2003). Genetic and phenotypic variations of aresistant *Pseudomonas aeruginosa* epidemic cline. Antimicrob. Agents and chemother. 47(6): 1887-94.

٢١)**حسين**,مروان يوسف و نظام ,عدنان علي (٢٠١٢). عزلات من الجراثيم المترافقة مع إنتانات الأذن في المستشفى الوطني بالقامشلي ومدى مقاومتها للمضادات الحيوية. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية المجلد ٢٨ (العدد الأول):ص٣٧٤-٣٨٨.

22) **Lodder**, J. (1974). The Yeast, A Taxonomic Study. North-Holland Publishing Co., Amsterdam-London.

23) **Dabhole,**M.P. and Joishy,K.N.(2005).Production and effect of killer toxin by *Saccharomyces cerevisiae* and *Pichia kluyveri* on sensitive yeasts and fungal pathogens.India, J.Biotechn.,4:290-292.

24) **Auclair**,E.(2001) .Yeast as an example of the mode of action of probiotics in monogastric and ruminant species In: Feed manufacturing in the Mediterranean region. Brufau J.(ed.) Zaragoza : CIHeam-IAMZ,pp.45-53.

# Effect of the Crud Filterate of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* Against *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation

**Ehsan Ali Raheem and Dr. Nibras Nezar Mohmood**
Department of Biology / College of Science
Al-Mustansiryia University.

## ABSTRACT

Tow hundrd seven samples were collected from some hospitals in Baghdad for all ages and both sexs. The results also showed that (68) isolate have been diagnosed as *Pseudomonas aeruginosa* from different sources

The ability of the isolates to produce biofilm were tested using two methods include,Congo Red Agar (CRA) was showed (16) isolate biofilm producer and (52) isolate not biofilm producer , While the second method for detection of biofilm poducer was microtiter plates (MTP) Showed the results (28) isolate biofilm producer and (40) not biofilm producer.

The selected isolates biofilm producer were subjected to sensitivity test against (17) antibiotics and the results showed that isolates in this study carry multiple- drug resistance , and then the resistant of bacteria gradually to other antibiotics until showed less was resistant to the Imipenem .

Dry imported bakery yeasts that are available in locally markets were used to obtain isolates of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* , Which included all of AY isolate from Angel yeast (Chinese origin ), MY isolate from Magestic yeast (Chinese origin ),PY isolate from Packmaya yeast (Turkish origin ) and LY isolate from Altunsa yeast (Turkish origin ) , Screening of yeast isolates filterates to selected more efficient isolate to producing inhibitors proteins by using well diffusion method to determine the impact of this these substances towards *P. aeruginosa* biofilm producer under study ,Unconcentrated filterates of the yeast *S. cerevisiae* isolates did not show any inhibitory effect against the bacterial isolates.