الجمهورية العربية السورية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة المنارة

كلية الصيدلة

الأخماج الجرثومية المزمنة (biofilms)

مشروع تخرج أعد لنيل درجة الإجازة في الصيدلة والكيمياء الصيدلية

إعداد الطالب

عابد الرحمن حسن سرور

إشراف

أ. د. هيثم يازجي

العام الدراسي 2022/2021

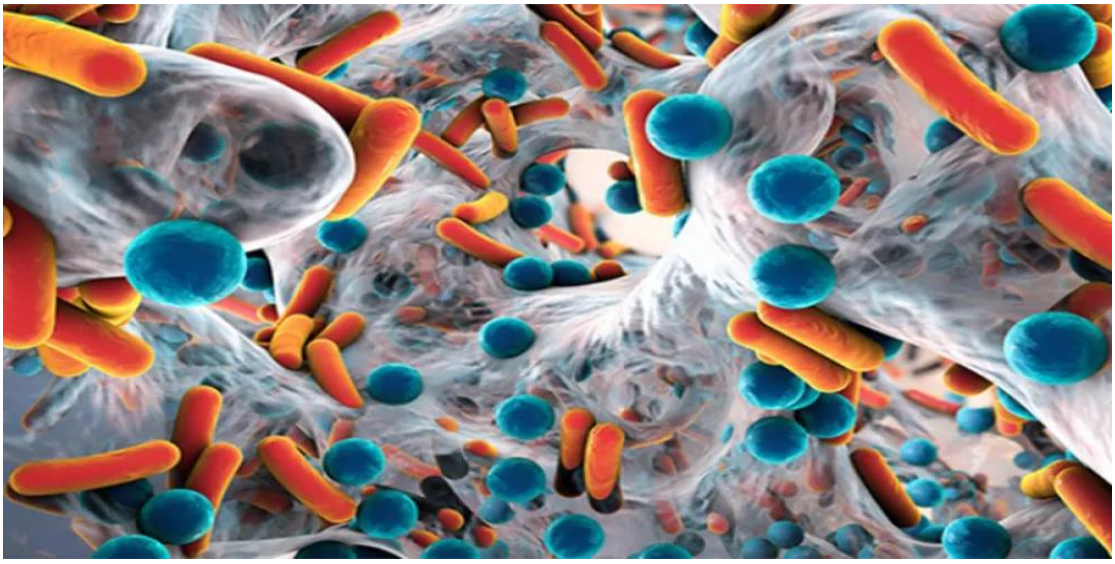
إهداء

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات تم انهاء مشروع تخرجي بنجاح أهدي تخرجي الى معلم البشرية محمد صلى الله عليه وسلم والى سيدة تحت أقدامها الجنة أمي الى رجل أفنى حياته من أجلي أبي إلى أخي إلى كل الأصدقاء والزملاء في الدراسة والى من تقف الكلمات حائرة أمام فضلهم ومساعدتهم أساتذتي الأفاضل اليكم جميعاً أحني قامتي وأقدم ثمرة سنواتي الدراسية سائل المولى عز وجل أن ينفع به وأن يجعله لوجهه الكريم.

الصيدلاني :عابد الرحمن حسن سرور

.

الجراثيم



ما هي الجراثيم

تعيش الجراثيم في كل الأماكن المحيطة بنا، حيث أنها موجودة في الهواء، والنباتات، والطعام، والحيوانات، وكذلك في الماء، والتربة، ومختلف الأسطح، وتوجد أيضاً في الجسم.

تعتبر أغلب أنواع الجراثيم غير ضارة، حيث أن الجهاز المناعي يعمل على حماية الجسم من العدوى التي تسببها، ومع هذا، قد تسبب هذه الجراثيم أضراراً صحية حينما تتطور ويصعب على الجهاز المناعي مقاومتها.

ويعتبر غسل اليدين جيداً، وفي كثير من الأحيان هو أفضل طريقة لمنع الجراثيم من التسبب في العدوى والمرض.

انواع الجراثيم

تختلف أضرار الجراثيم وفقاً لنوعها، تشمل أنواع الجراثيم وأضرارها ما يلي:

البكتيريا

هي كائنات أحادية الخلية لا يمكن رؤيتها بالعين المجردة، ويمكن رؤيتها عن طريق المجهر، إذ أنها متناهية الصغر بشكل يصعب تصوره، فعلى سبيل المثال، إذا تم وضع آلاف من البكتيريا جنباً إلى جنب، فلن تبدو سوى جزء صغير من حجم عقلة الإصبع.

وتنقسم أنواع البكتيريا إلى بكتيريا نافعة وبكتريا ضارة، إذ أن هناك بكتيريا تعيش داخل الجسم لتقدم مجموعة من الفوائد الهامة له مثل:

بكتيريا الأمعاء: والتي تساعد في عملية الهضم، وتقضي على بعض أنواع الكائنات الحية التي تسبب العدوى والأمراض.

بكتيريا المهبل: أيضاً من أنواع البكتيريا المفيدة، حيث تضمن الحفاظ على صحة المهبل ووقايته من العدوى.

وفي المقابل، هناك العديد من أنواع البكتيريا الضارة التي يمكن أن تدخل الجسم وتسبب العديد من المشكلات الصحية الناتجة عن العدوى، حيث تسبب تدمير الخلايا وقد تهاجم الأنسجة بشكل مباشر وتسبب تلفها، وذلك في حالة صعوبة مقاومتها من قبل الجهاز المناعي، وأبرزها:

البكتيريا التي تهاجم الجهاز التنفسي وتسبب التهاب الحلق،

البكتيريا التي تخترق الجلد وتنمو به: وبالتالي تؤدي إلى التهاب الجلد وتهيجه والإصابة بالحبوب.

البكتيريا التي تصيب الجهاز البولي: وتسبب التهاب المسالك البولية.

البكتيريا التي تهاجم المهبل: وتسبب عدوى بكتيرية في المهبل

الصادات الحيوية والمقاومة

ماهي مقاومة الصادات:

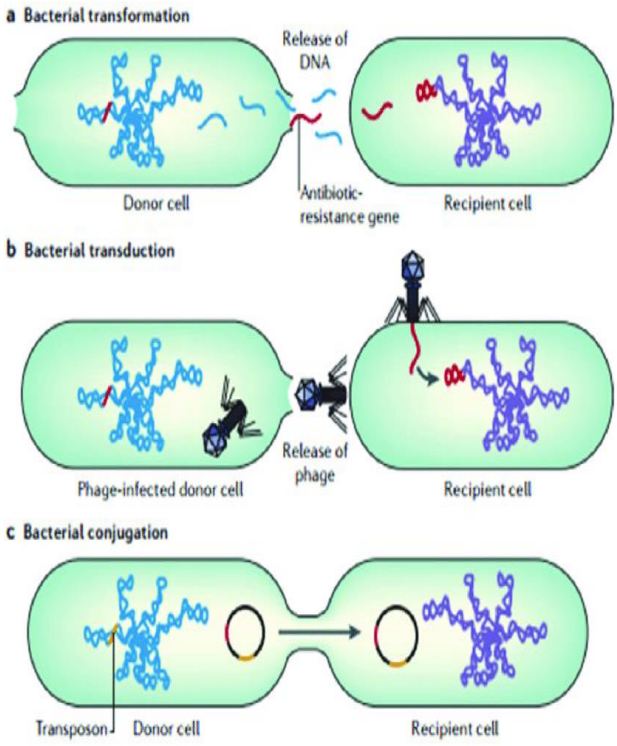
-مكتسبة

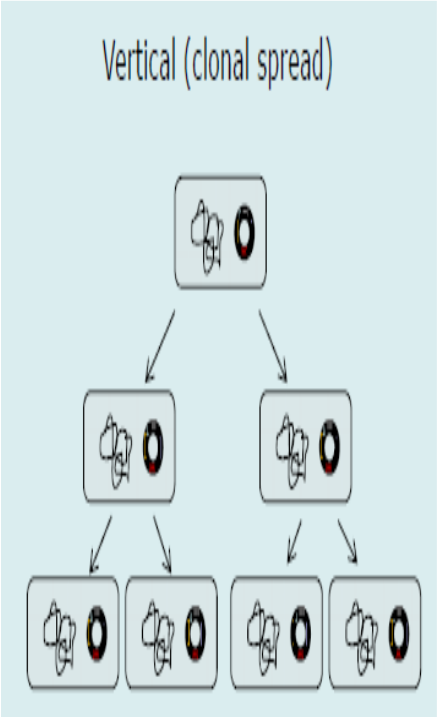
بسبب تغيرات ضمن الجراثيم الحساسة

الطفرات (إما ان تكون موروثة و تنتقل من جرثوم إلى نسله)

الانتقال الجيني الافقي:

1- التحويل
2-انتقال الطفرات بواسطة الفيروسات
3-الارتباط: هو نوع من الجنس بين الجراثيم

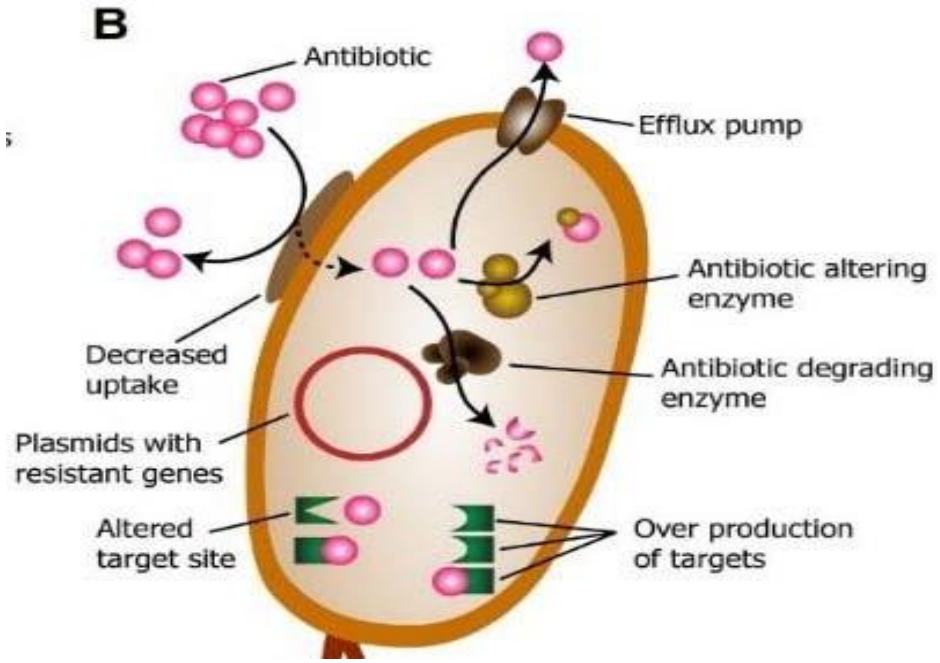




هناك ثلاث انواع رئيسية من اليات المقاومة (المكتسبة):

– إنقاص التراكم الحيوي للدواء داخل الخلية من خلال زيادة طرد الدواء أو تقليل ادخاله بواسطة المضخات
الغاء تفعيل الدواء بواسطة الانزيم : وهي مكتسبة حيث يمتلك الجرثوم جيني يعبر عن الانزيم

تعديل اهداف خلوية :
- طفرات
- تعديل كيميائي
- حماية الموقع الهدف: حيث تقوم بعض البروتينات بالجلوس عليه
- الافراط في التعبير عن لهدف الحساس لهدف اكثر مقاومة



★ المقاومة الطبيعية :

وهي تعود لميزة البنية او الوظيفة تسمح بالمقاومة لكل أفراد المجموعة (انواع واجناس):

-عدم قدرة الدواء على عبور الجدار الخلوي كما في حالة الجراثيم سلبية الغرام

-إخراج الدواء للخارج بواسطة التعبير الجيني عن مضخات تطرد الدواء للخارج كما في حالة الزائفة

-انتاج فطري للأنزيمات الذي يلغي فعالية الدواء كما في حالة الجراثيم المعوية المنتجة للبيتالاكتاماز

-فقدان الفة الدواء للهدف الجرثومي

-فقدان الهدف كما في حالة فقدان الجدار الخلوي في المايكو بلازما

★ عوامل تؤثر على مستوى المقاومة:

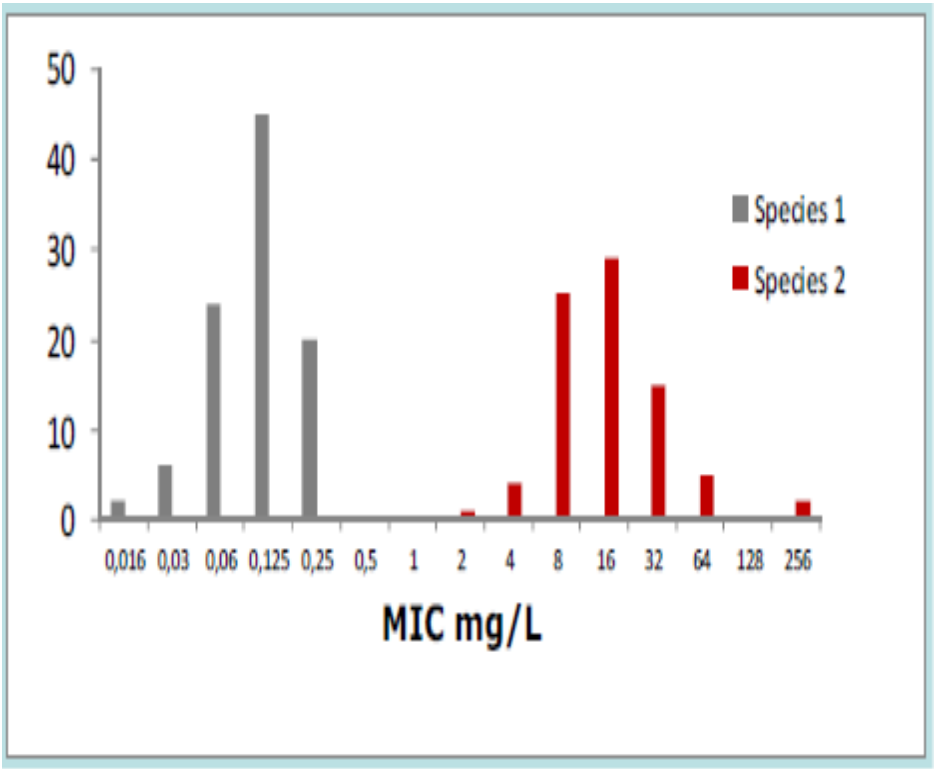
المستوى الطبيعي لمقاومة الانواع

الجين المقاوم او الطفرة المتورطة

تعبير الجين في االسلالة

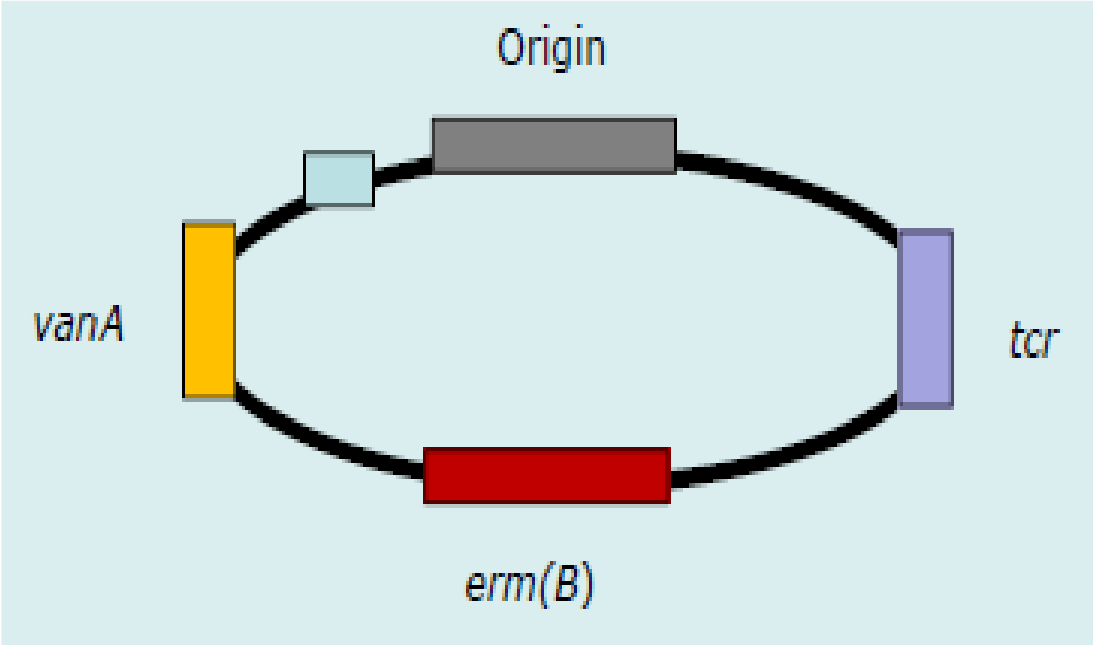
وجود جينات او طفرات اخرى تتفاعل مع الجين المقاوم

مثال عن المستوى الطبيعي لمقاومة الانواع:

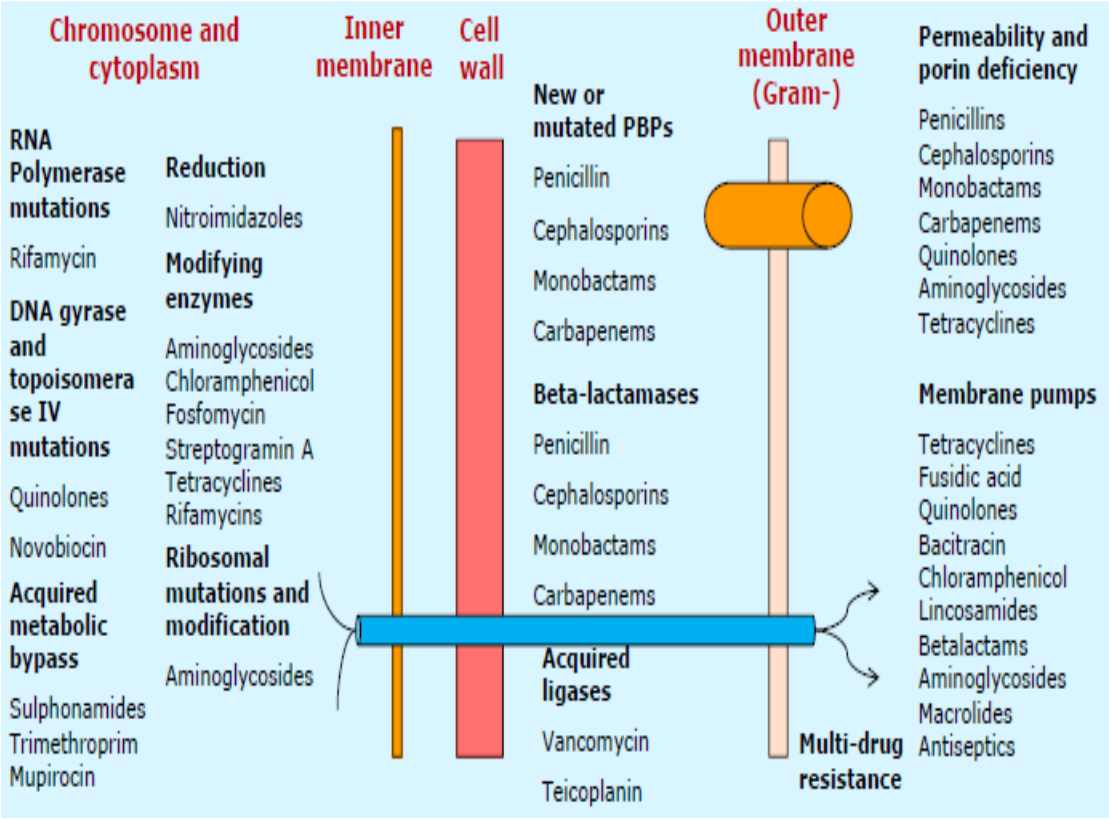


ماهي المقاومة المتصالبة:
مقاومة لدوائين متعلقين ببعضهما مثل الافوبارسين والفانكومايسين او غير متعلقين ببعضهما مثل اللينكوزاميدات والاريثرومايسين بواسطة الية بيولوجية واحدة

مقاومة لادوية غير متعلقة ببعضها مثل التتراسيكلينات والسلفوناميدات بسبب اليات مقاومة مختلفة تقع على نفس العامل الجيني



نظرة عامة على مقاومة الصادات الحيوية:



المقاومة للصادات الحيوية مقدمة للأسباب والاليات:

اساس المقاومة:

الاساس الجيني:

الكروموزومات التي تسبب الطفرات الطبيعية

التواسط بالبلاسميد

طفرات تقع على عامل جيني متحرك

أليات غير جينية:

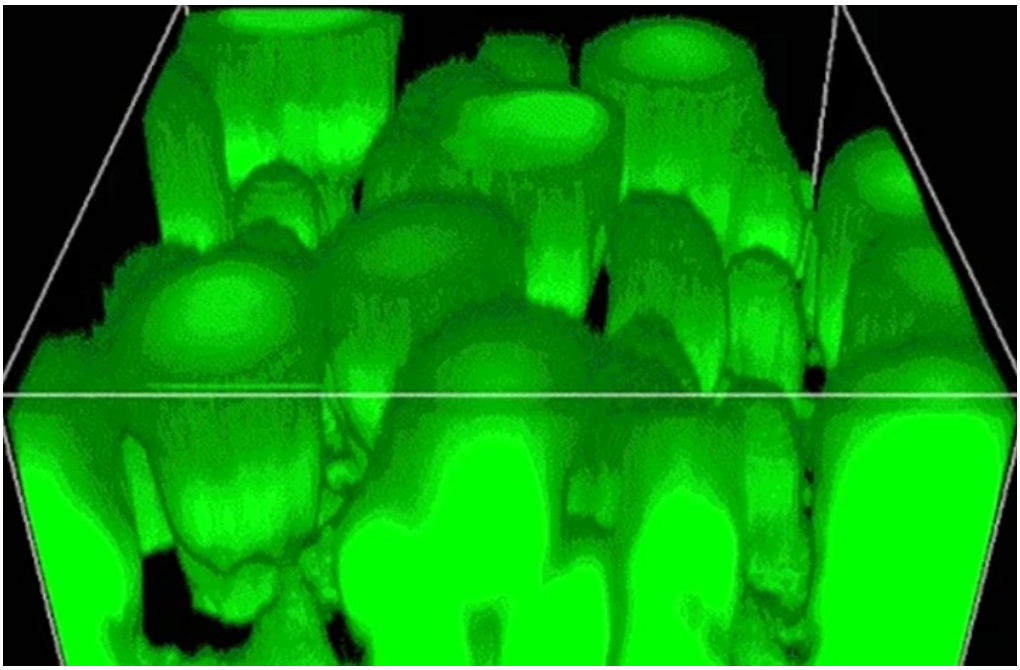
عدم قابلية الدواء للدخول كما في حالة السل او الخراج

طور الثبات

البروتوبلاست والسفيروبلاست حيث لايوجد جدار خلوي

تجمع الجراثيم

تستطيع الجراثيم التواجد إما بشكل منفرد أو معا أي تجمع فيزيائي الجراثيم المفردة تسمى planktonic وظاهرة تجمع الجراثيم تسمى البيوفيلم والخلايا الجرثومية المفردة تستطيع التحرك بحرية.
تمت دراسة الجراثيم لأكثر من مئة عام في طبق هزاز حيث تنمو الجراثيم بالسرعة القصوى والذي قام بذلك روبرت كوخ.
هذا مناقض تماما للبيوفيلم حيث الجراثيم تتجمع وتنمو في طبقات.
يمكن أن نشاهد البيوفيلم للزائفة الزنجارية بواسطة بروتين الفلورة الأخضر ويمكن أن نلتقط العديد من الصور بواسطة confocal microscope الذي يمكننا من أخذ صور ثلاثية الأبعاد ونشاهد طبقات الجراثيم فوق بعضها البعض



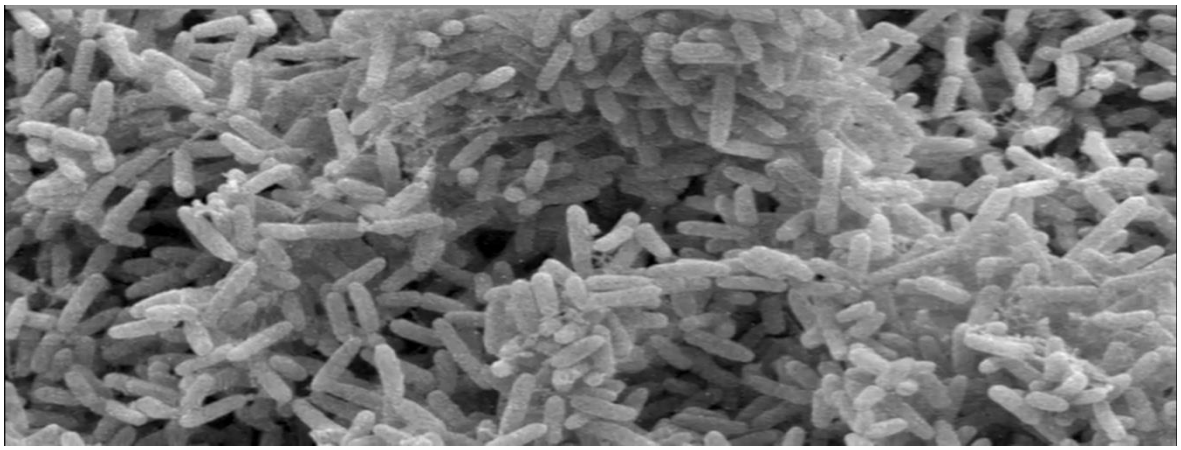
الحياة الطبيعية للجراثيم هي التجمع وهكذا تكون الجراثيم في الطبيعة وقليل جدا من الجراثيم تتواجد مفردة ولفترة قصيرة بينما هي في طريقها لتتجمع وتشكل فيلم حيوي جديد
مصطلح الفلم الحيوي أتى من الطبقة اللعابية اللزجة الخضراء والتي تشبه الفلم والتي تشاهد في كل مكان مادام يوجد ماء غير عقيم يتدفق فوق سطح ويمكن تواجده أسفل مراكب البحارة الذين يقومون بإزالته

توجد الأفلام الحيوية أيضا في جسم الإنسان
لدينا جراثيم في أجسامنا بما يعادل 10 أضعاف عدد خلايا أجسامنا ومعظمها إن لم يكن جميعها موجودة على شكل بيوفيلم (جلد-فم-الأمعاء-مهبل....)
والإستثناء هو داخل جسم الإنسان (دم-أعضاء-دماغ.....) هذه المناطق يجب أن تكون خالية من الجراثيم لكي نكون أصحاء
والمشكلة هي عندما ندخل أجسام غريبة لأجسامنا حيث تميل الجراثيم للإلتصاق عليها وتشكيل الأفلام الحيوية , وفي كل مرة زرعة أو قثطرة تدخل فخطر إصابة الزرعة بالفيلم الحيوي 1-10% ولكن القثطرة البولية خطر إصابتها بالفيلم الحيوي هو % 100 إذا تم استخدامه لأكثر من أسبوع
المكان الأكثر وضوحا للأفلام الحيوية في جسم الإنسان والذي لا نستطيع ولا يجب منعه هو الترسبات على الأسنان
هذه المادة البيضاء والتي تستطيع خدشها عن سنك هي في الحقيقة جزء من الفلورا الطبيعية ولكن اذا لم تزال مرة إلى مرتين يوميا سوف تتحول إلى ترسبات كما في الصورة

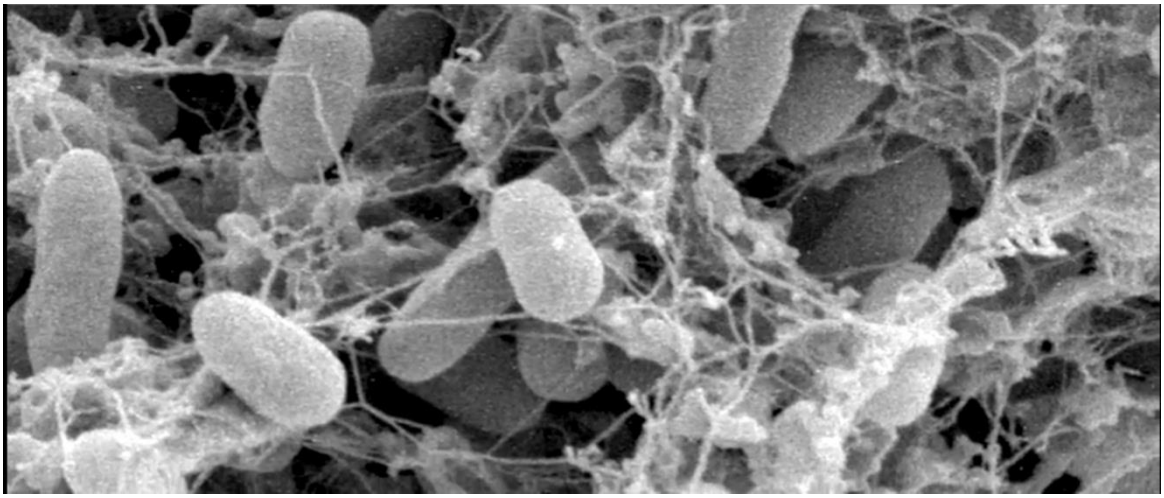
الأفلام الحيوية على الأسنان أيضا هي أول مكان اكتشف فيه العلماء الأفلام الحيوية

إذا ما المشكلة في الأفلام الحيوية ؟
كما نعلم أن الجراثيم المفردة من السهل بلعمتها بواسطة كريات الدم البيضاء والمضادات الحيوية تستطيع بسهولة قتل الجراثيم المفردة إذا لم تكن مقاومة
تزداد المشكلة سوءاً عندما تبدأ الجراثيم بالتجمع لتشكل قلاع صغيرة عندها لا يمكن لكريات الدم البيضاء ولا المضادات الحيوية قتل الجراثيم فهم يصبحون متحملين ومستديمين
وكنتيجة لذلك لو أن جراثيم ممرضة شكلت فيلم حيوي في جسم الإنسان لا يمكن معالجته هنا أصبح لدينا خمج مزمن
أجريت تجربة على مجموعة من المتطوعين تم تقسيمهم إلى مجموعتين تم حقن المجموعة الأولى ب 7.5 مليون جرثومة من نوع العنقودية المذهبة تحت الجلد بينما المجموعة الثانية تم حقنهم فقط ب 100 جرثومة تحت الجلد لكن مع شبكة صغيرة
في المجموعة الأولى التي حقنت بعدد كبير من الجراثيم تقريبا نصف المتطوعين أصبح لديهم خمج ولكن ليس شديد وجميعهم تم شفائهم بشكل تلقائي
على النقيض المجموعة الثانية التي تملك عدد قليل جدا من الجراثيم لكن متجمعين على شبكة كل المتطوعين أصيبوا بخمج ولم يشفى أحد منهم بشكل تلقائي لأنه يجب إزالة الشبكة لكي يزول يتوقف الخمج
السبب في هذا كان أن الجراثيم قد شكلت فيلم حيوي على الشبكة حيث لا يستطيع الجهاز المناعي إزالته عكس الجراثيم المفردة في المجموعة الأولى

النتيجة المهمة التي حصلنا عليها من هذه التجربة هي أنه لو ان هناك عدد قليل جدا من الجراثيم قادرة على تشكيل فيلم حيوي هنا سيكون لدينا مشكلة
إذا ما هو الفيلم الحيوي ؟ هو تجمع فيزيائي للجراثيم بشكل طبقات فوق بعضها البعض كما نرى في هذه الصورة بواسطة المجهر الإلكتروني



الجراثيم لا تتحرك عندما تتجمع هكذا ولو دققنا أكثر في هذه الصورة سوف نجد أن الجراثيم معلقين ومرتبطين ببعضهم بواسطة ما يسمى بالماتريكس حيث يرتبطون بخيوطها



الماتريكس تتألف من دنا خارج خلوي وبروتينات وسكريات متعددة وجزيئات أخرى مشابهة وتختلف الماتريكس بين أنواع الجراثيم
وحتى ضمن النوع الواحد حسب المسكن إن كان داخل جسم الإنسان أو في الطبيعة
ويمكن تعريف الفيلم الحيوي تبعا لذلك بأنه تجمع متماسك من الخلايا الجرثومية مضمنة في ماتريكس ويكون الفيلم الحيوي أكثر تحمل لمعظم الصادات الحيوية ومناعة المضيف من الخلايا الجرثومية المفردة
وهذا التجمع يكون بشكل طبقات فوق بعضها البعض مشكلا تدرج متناقص بالأوكسجين والمواد الغذائية في داخل الفيلم الحيوي مما يبطئ نمو الطبقات الداخلية في الفيلم الحيوي
كم عدد طبقات الجراثيم التي تلزم لتشكل فيلم حيوي هذا غير معروف ولكن هذا غالبا يعتمد على موقع الفيلم الحيوي
في معظم الإصابات الجرثومية المزمنة وجدنا أفلام حيوية صغيرة جدا بقطر 5 ميكرومتر ولكن أيضا وجدنا افلام حيوية ضخمة تصل ل١ سنتيميتر
ما نعلمه اليوم هو أن كل الإصابات الجرثومية المزمنة تتضمن فيلم حيوي وفي الاصابات الجرثومية الحادة تكون الجراثيم في أكثر في الحالة المفردة
إذا الفيلم الحيوي في الاصابات الجرثومية المزمنة محمي من المناعة والمضادات الحيوية بينما الجراثيم المفردة في الاصابات الجرثومية الحادة يمكن أن تزال بالمناعة وإذا لم يستطع الجهاز المناعي يكون ذلك بالمضادات الحيوية بغياب المقاومة وبدأ العلاج باكرا.

المناعة

على الرغم من أن الجهاز المناعي يعمل بشكل جيد إلا أن خطوة الحذف غير كافية في بعض الأحيان وذلك يؤدي إلى إصابة مزمنة أو مستمرة سبب شائع لضعف القدرة على حذف الكائن الحي الممرض هو عندما تنظم الجراثيم نفسها وتشكل فيلم حيوي .

الأفلام الحيوية من الصعب قتلها وذلك بسبب تحملها للجهاز المناعي والمضادات الحيوية وتسبب إصابات مزمنة .

مدة الإصابة سواء كانت حادة أم مزمنة هي معتمدة على نوع الجرثوم ومعظم الجراثيم إن لم يكن جميعها هي قادرة على تشكيل أفلام حيوية وقادرة على الحياة منفردة وبالتالي تستطيع أن تسبب إصابات مزمنة وحادة .

بينما فوعة الجرثوم أو ضعف جهاز المناعة يلعب دور أساسي في تشكيل الإصابة الحادة وهناك عوامل متنوعة للمضيف تؤدي لتشكيل فيلم حيوي وهناك أمثلة عنها
مثل:
1- وجود جسم غريب مثل الأجهزة داخل أو خارج وعائية حيث زادت نسبة تشكل الفيلم الحيوي أكثر من مئة ألف مرة بوجود جسم غريب.

2-تنخر الأنسجة بسبب ضعف الوارد الدموي للنسيج وذلك يؤدي لتشكيل جروح مزمنة

3-ضعف بعض مكونات جهاز المناعة الفطري المتضمنة في حذف الجرثوم مثل ضعف وظيفة الأهداب الموجودة على الغشاء المخاطي للجهاز التنفسي كما في حالة التليف الكيسي
ضعف وظيفة أحد أنواع الكريات البيض الموجودة في موقع الإصابة الجرثومية مثل حالة التهاب العظم والنقي المرتبط بالزرعات

4-عدم وجود علاج بمضاد حيوي فعال وذلك إما بسبب عدم تشخيص الإصابة الجرثومية أو أن جرعة المضاد الحيوي غير كافية أو أنها كانت لفترة قصيرة من الزمن غير كافية لإزالة الإصابة الجرثومية الحادة
هذه هي بشكل أساسي الحالات التي تؤدي لتشكيل الإصابات المزمنة من الحادة

حالما تشكل الجراثيم نفسها في فيلم حيوي فهي تتأقلم مع المضيف أي تجعل من نفسها أقل اختراقية وفوعة (سموم-الحركة الضرورية للإصابة الحادة)وأكثر استدامة

تم إيجاد الأفلام الحيوية في ناظمات القلب –مضخات القلب-والشبكات الوعائية- المفاصل الإصطناعية وأنواع أخرى من الزرعات ووجدت أيضا في التهاب الأذن الوسطى المزمن والتهاب الجيوب الأنفية المزمن والجروح المزمنة والإصابة الجرثومية المزمنة للرئة في حالة التليف الكيسي وعلى الحصية الموجودة في الكلية والقثاطر داخل وخارج الوعائية .
ويمكن لجراثيم من الفيلم الحيوي أن تنفصل عنه وتصبح منفردة وتشكل إما فيلم حيوي جديد في مكان جديد أو تشكل إصابة حادة ثانوية

خواص البيوفيلم

تعريف البيوفيلم الجرثومي : هو تجمع الجراثيم مع بعضها وتكون هذه الجراثيم محاطة بالماتريكس التي أنتجتها بنفسها وهذا التجمع موجود على سطح

هناك العديد من الطرق لدراسة البيوفيلم

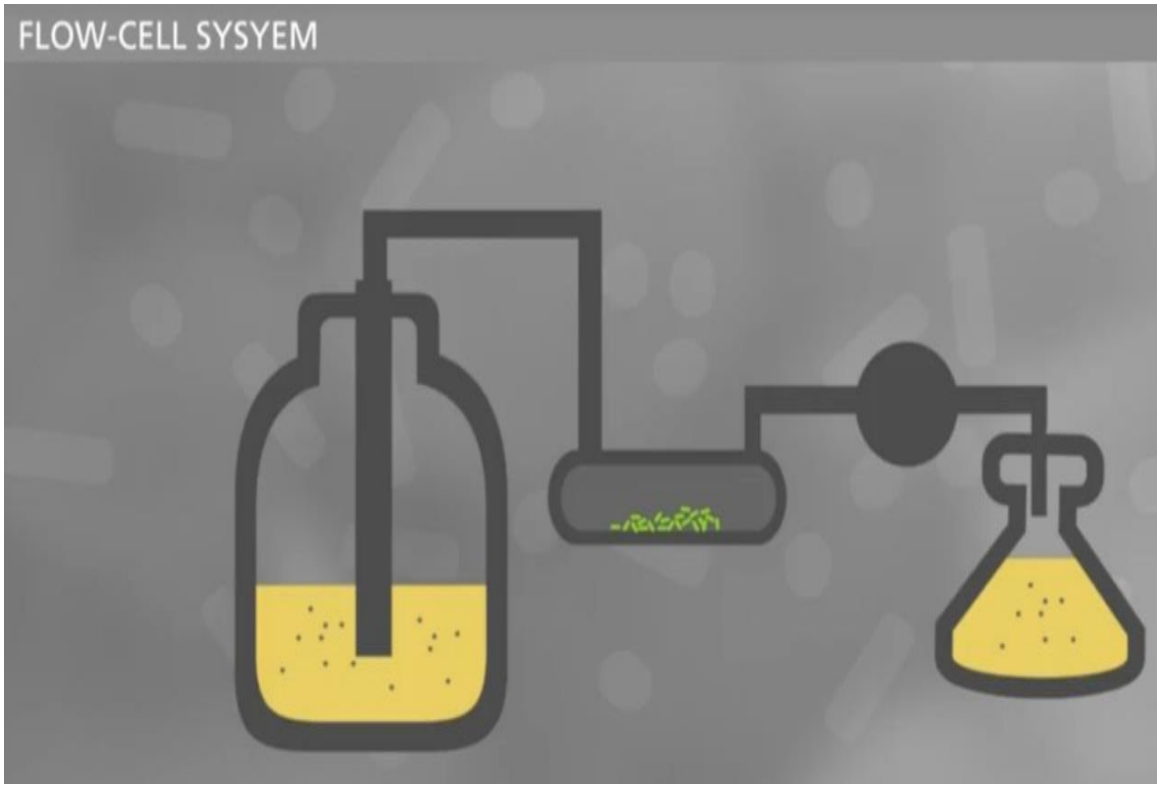
تتنوع الاختبارات المخبرية من الاختبارات البسيطة والرخيصة إلى المعقدة والغالية والتي تكون أكثر تمثيلا للواقع

هناك اختبار تم تطويره في قسم الصحة العالمية للمناعة والكائنات الحية الدقيقة لجامعة كوبنهاغن والذي تم تسميته الاختبار نصف الصلب هنا يكون البيوفيلم غير ملتصقا بسطح ولكن بدلا من ذلك يبقى في ماتريكس نصف صلب يتألف من بودرة لحم مهضوم و دم وسيروم الحصان

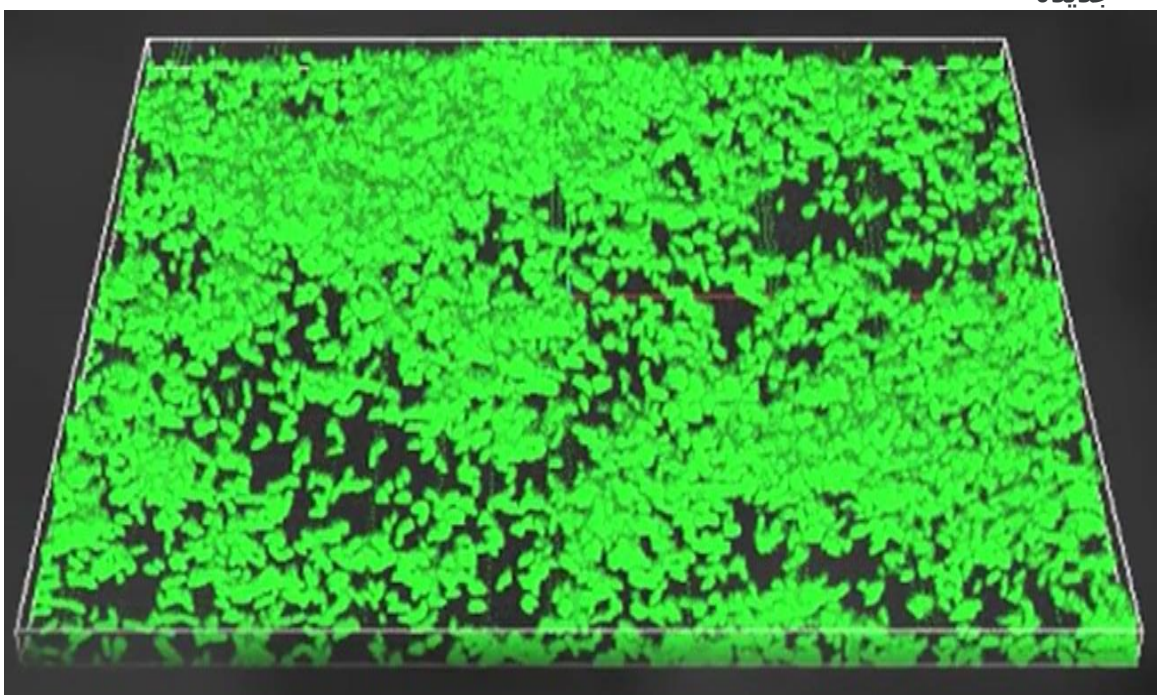
إن فكرة هذا الاختبار هو الحصول على بيوفيلم أكثر واقعية حيث في هذا الاختبار مكونات المضيف موجودة وهناك أهمية مضاعفة لمكونات المضيف هنا

أولا, البيوفيلم المتشكل مختلف عن البيوفيلم المتشكل على طبق طبق البتري
ثانيا, مكونات المضيف تربط بشكل فعال جزيئات من المضادات الحيوية وذلك يجب أن يأخذ بعين الاعتبار عند تقييم علاج البيوفيلم

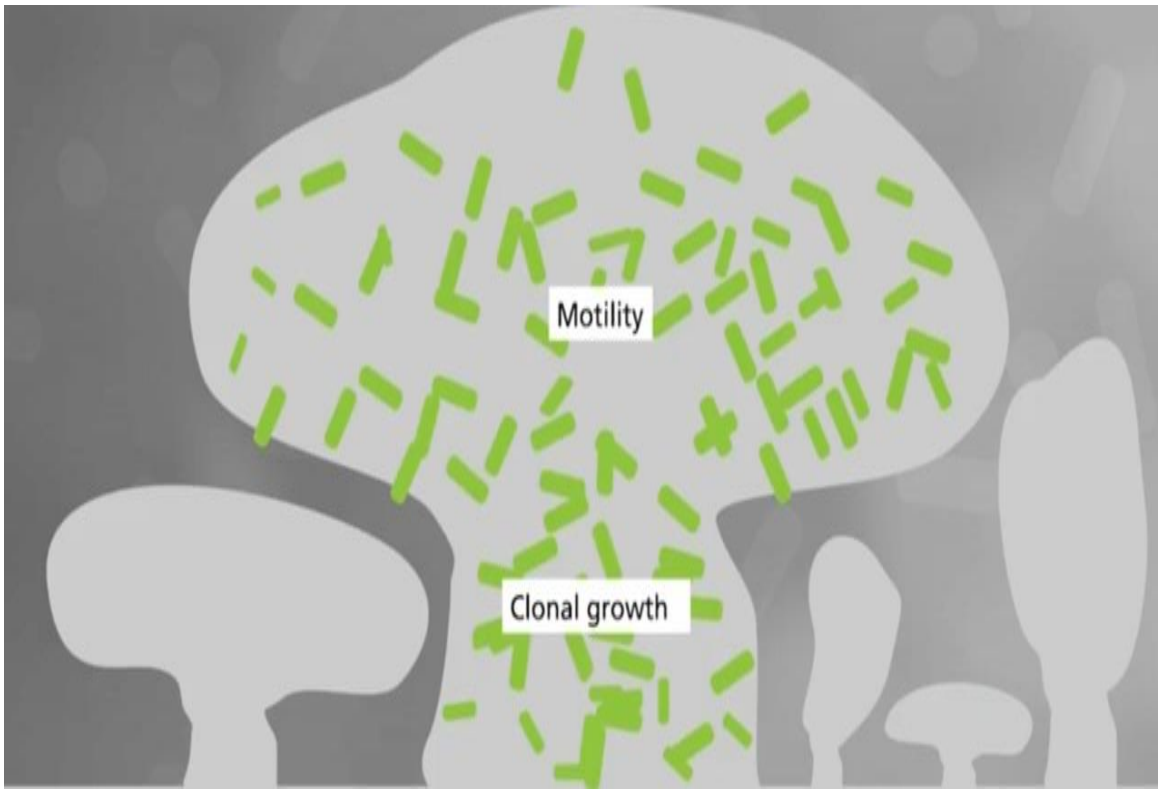
هناك العديد من نماذج البيوفيلم ولكن يبقى النموذج الأفضل للبيوفيلم هو الذي نحصل عليه من نظام تدفق-خلية هذا النظام يستخدم سائل متدفق فوق الجراثيم النامية في حجرة
والفكرة من هذا النظام هو لإبقاء الجراثيم مزودة بمصدر قليل لكن ثابت من المغذيات والتخلص من الجراثيم غير الملتصقة وبذلك نحصل على بيوفيلم ملتصق بقاع الحجرة وهناك العديد من الصور والفيديوهات المفيدة للبيوفيلم المتشكل تم الحصول عليها بواسطة هذه التقنية



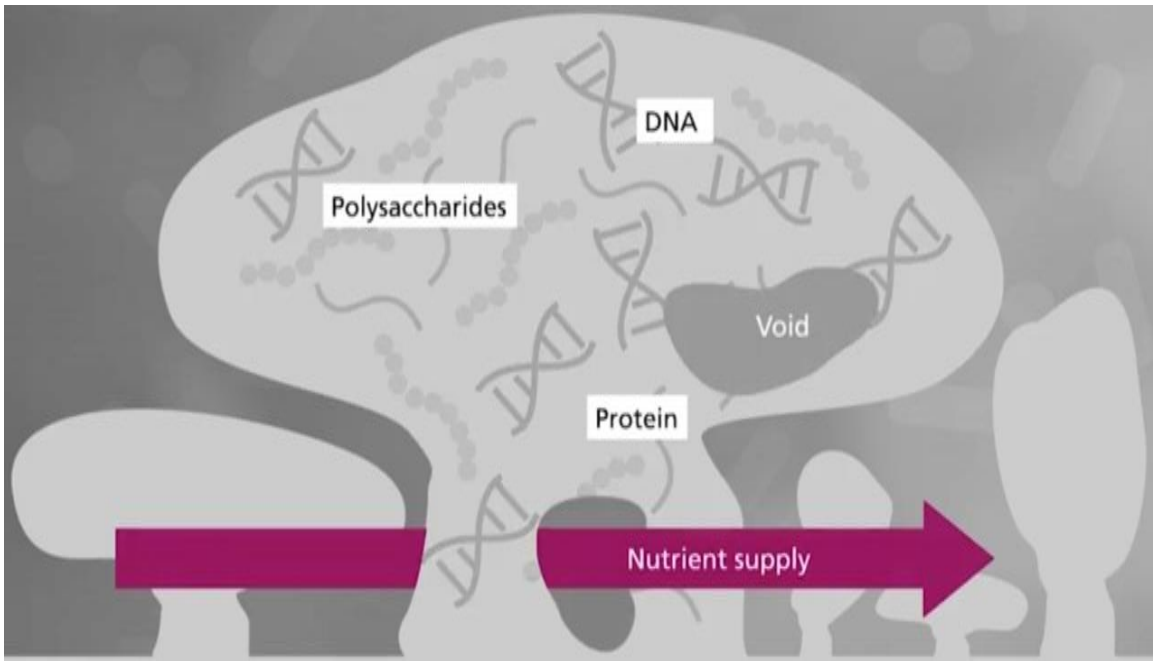
الجراثيم الملتصقة بالسطح تنمو لتشكل كتل أبراج ضخمة تشبه الفطور وأخيرا البكتيريا داخل هذه الفطور تنتشر إلى الوسط المحيط لتشكل أفلام حيوية جديدة وتستعمر أسطح جديدة



من خلال أخذ صورة أقرب للفطر نجد أن السويقة تتشكل من التضاعف النسيلي (أي أن الجراثيم تنقسم وتتضاعف لتشكل السويقة)
على النقيض قبعة الفطر يعتمد تشكلها على الحركة نجد في الصورة هنا كيف أن الجراثيم المتحركة تزحف لقمة البيوفيلم لتشكل قبعة البيوفيلم



خلال هذه المرحلة الماتريكس تنتج , الماتريكس هي مادة طينية لزجة تتألف بشكل أساسي من الماء بالإضافة إلى جزيئات ضخمة مثل السكريات المتعددة والدنا والبروتين هذه البنية تتخللها قنوات لدخول المغذيات وخروج الفضلات



عند قياس تراكيز الأوكسجين ضمن البيوفيلم من الواضح أنه غير كافي حيث أن الأوكسجين يستهلك بسرعة من خلال الجراثيم في الطبقات الخارجية وبعد ذلك الجزء الموجود في الوسط تقريبا خالي من الأوكسجين

وبسبب الخلو من الأوكسجين وأيضا ممكن المغذيات يكون معدل النمو ضمن البيوفيلم أبطأ بشكل كبير من الجراثيم المفردة خارج البيوفيلم

وبسبب مكونات الماتريكس , نقص الأوكسجين وما يليله من بطء نمو, جميعها عوامل تساهم بالعلامة المميزة للبيوفيلم وهي التحمل الكبير تجاه الخلايا المناعية و المضادات الحيوية.

وتبعا لهذه العوامل البيوفيلم يستطيع ببساطة تحمل المضادات الحيوية بجرعات تكون قاتلة للجراثيم المفردة.

معظم المضادات الحيوية تستهدف العمليات الإستقلابية وفي حال تم اختراق الماتريكس بواسطة المضادات الحيوية عندها لن يجدوا هدف لتثبيطه

بشكل مثير للإهتمام هي فقط عمليات فيزيولوجية تجعل البيوفيلم متحمل وليست ميزة جينية(مقاومة المضادات الحيوية) .

جميع تلك الصفات أو العمليات أو الميزات التي تجعل البيوفيلم متحمل هي عكوسة ويمكن إلغائها

هناك سؤال مهم هنا : هل البيوفيلم المتشكل في نظام تدفق-خلية هو نموذج حقيقي يمثل ما يحصل خلال الخمج؟ لقد نظر الباحثون في هذا السؤال وبشكل مثير للإهتمام لقد وجدوا أن الأفلام الحيوية الموجودة في الجسم هي في الواقع صغيرة جدا يترواح حجمها بين 5-100 ميكرومتر و جميعهم لا يشبهون البنية الضخمة للفطر الموجود نظام تدفق-خلية

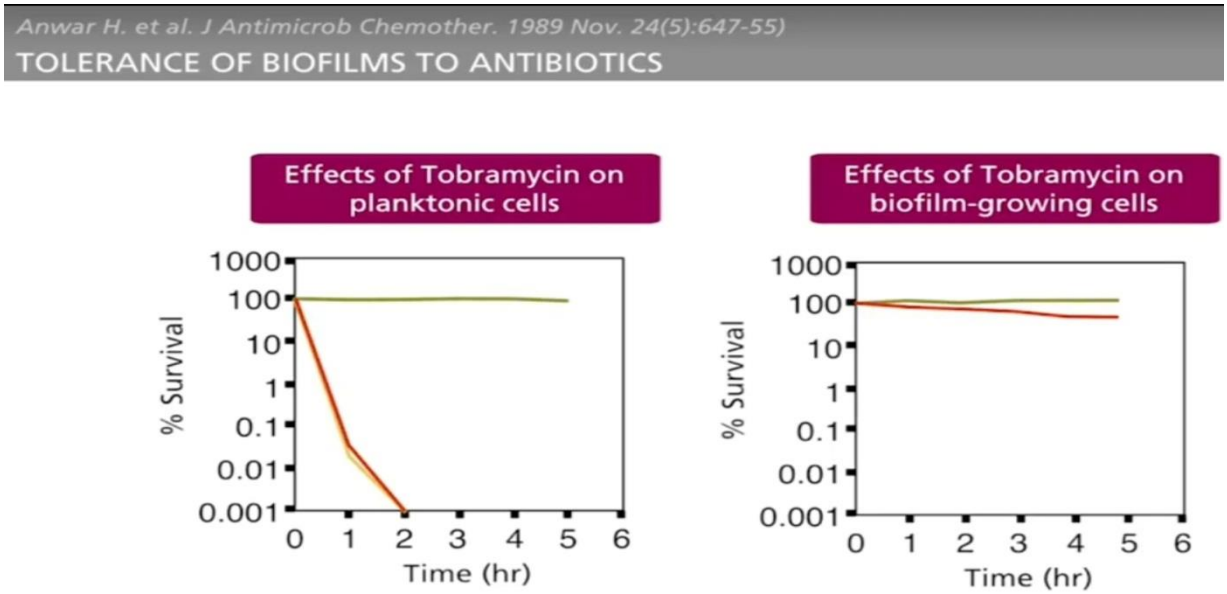
وبالإضافة إلى أنهم صغار جدا تلك الأفلام الحيوية غالبا ما تكون متوزعة بشكل غير متجانس وهذا يعني أنه من الصعب جدا إيجادهم وتشخيصهم

توضيح أخر مهم العديد من الاختبارات المخبرية تقيم الخواص المضادة للبيوفيلم المرتبط مع السطح فقط ماذا لو أن البيوفيلم تحرر إلى الوعاء الدموي ؟هذه القضية تحتاج المزيد من البحث

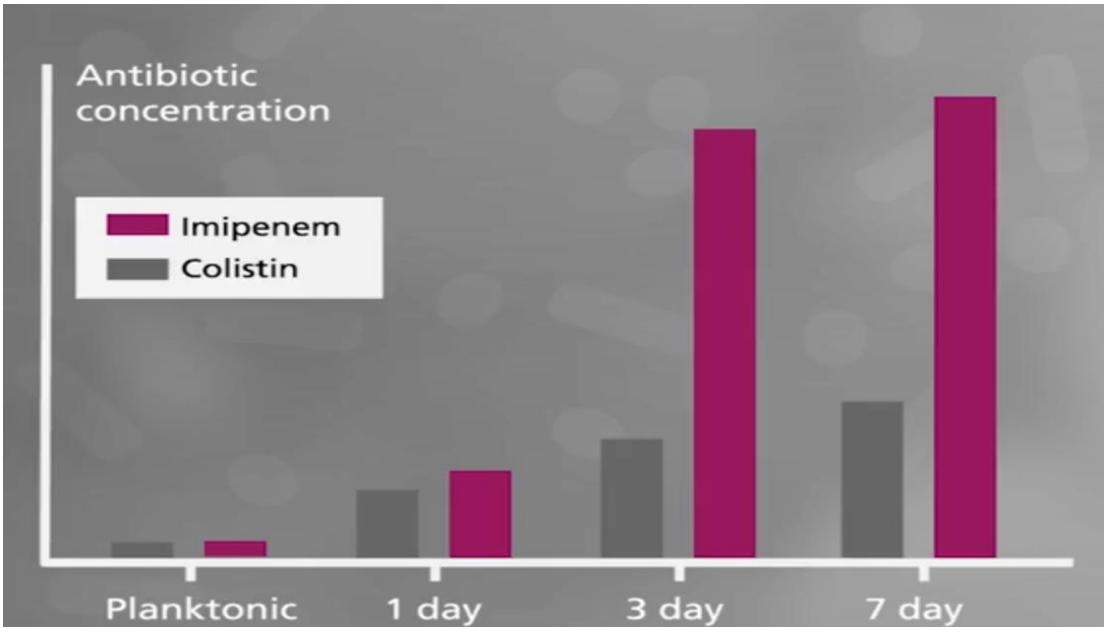
فشل العلاج في الإصابات المزنة

الأليات المتورطة في تحمل البيوفيلم للمضادات الحيوية

إن الفيلم الحيوي لجميع أنواع الجراثيم متحمل لجميع أنواع المضادات الحيوية



إن التحمل للمضادات الحيوية يتطور بتطور الفيلم الحيوي حيث أن الفيلم الحيوي المتشكل حديثا قليل التحمل للمضادات الحيوية ولكن بعد مرور 3-5 أيام نلاحظ ازدياد نلاحظ ازدياد تحمله من خلال زيادة التراكيز البلازمية اللازمة لقتله



إن تحمل الجراثيم في الفيلم الحيوي لمركبات المضادات الحيوية هو متعدد العوامل ونتيجة لتفاعل بين 3 أنواع من اليات التحمل:

1- الفزيائية 2- الفيزيولوجيا 3- اليات التحمل المتأقلمة

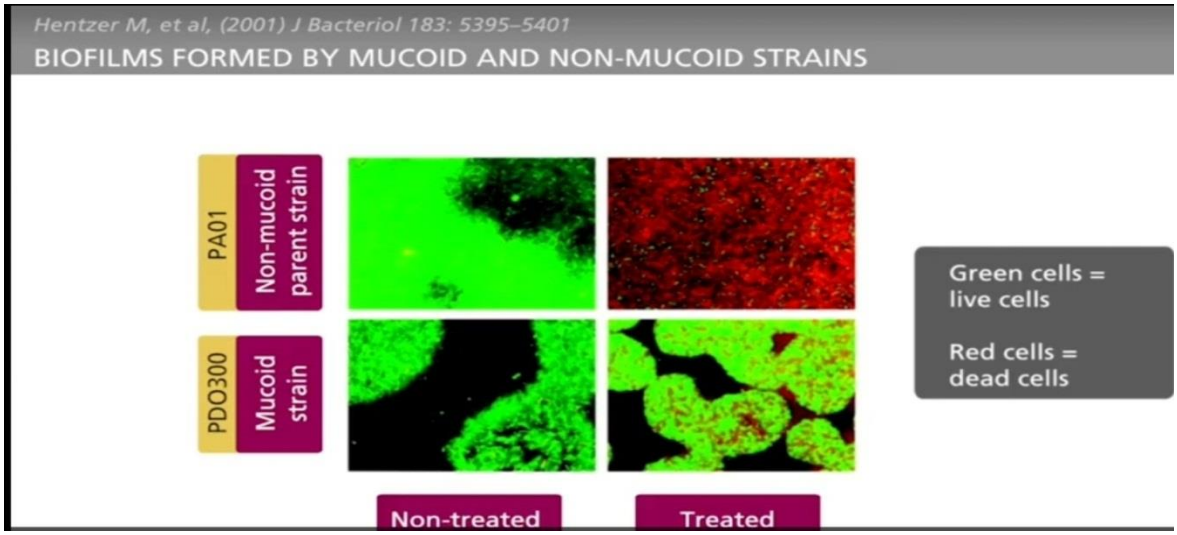
1- الفيزيائية: تعتمد على البنية ثلاثية الأبعاد للكتلة الحيوية التي تتألف من خلايا الجراثيم و الماتريكس .

بعض مكونات الماتريكس مثل DNA أو السكاكر المتعددة (الألجينات) تربط بعض أنواع المضادات الحيوية مثل التوبرامايسين والكوليستين

وهذا الارتباط يؤدي إلى تأخير انتشار المضادات الحيوية في الفيلم الحيوي .

وبذلك نجد أن الأفلام الحيوية التي يدخل المخاط والألجينات في بنيتها ومنتجة فيها بغزارة بسبب أحد سلالات الزائفة الزنجارية سيكون أكثر صعوبة علاجها من الأفلام الحيوية المتشكلة من سلالات غير مخاطية

وهنا في الصورة التالية نجد أن الأفلام الحيوية المخاطية الممثلة بالرمز PDO300 سيكون أكثر صعوبة شفائه من غير المخاطي pao1



وبالتالي فإن العوامل التي تنظم تشكيل الماتريكس تلعب دور في التحمل الفيزيائي للفيلم الحيوي .

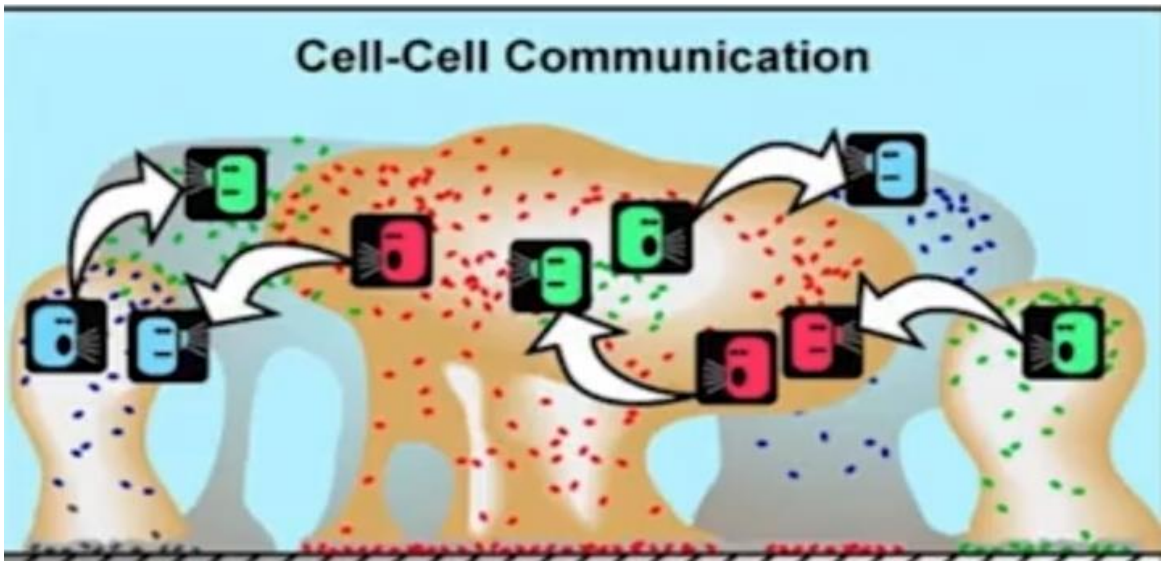
أمثلة عن بعض العوامل:

المضادات الحيوية بتركيز أقل من التركيز المثبط يمكن أن يزيد من تشكل الفيلم الحيوي بشكل رئيسي من خلال زيادة تشكيل الماتريكس وبالتالي

زيادة التحمل للمصادات الحيوية .

عامل اخر يؤثر في التحمل وهو quorum sensing : وهي الية للتواصل بين الخلايا والذي يجعل التعبير الجيني متزامنا في الخلايا

وهذا ضروري بسبب العدد الكبير من الخلايا في الفيلم الحيوي



Quorum sensing: له دور في إنتاج الدنا خارج الخلوي والذي له دور إعاقة اختراق بعض المضادات الحيوية

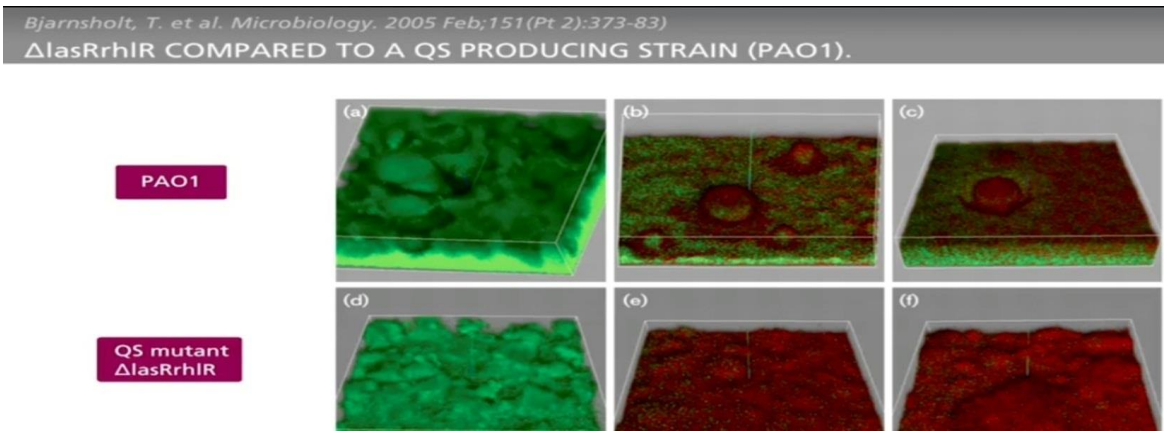
وإن الدنا خارج الخلوي الذي ينتج في الأفلام الحيوية أيضا له دور مثبت

مثال : لأن الأفلام الحيوية المتشكلة بواسطة الزائفة الزنجارية والتي لديها طفرة بال(qs) هي أكثر هشاشية من الفيلم الحيوي غير الطافر

حيث يكونون الطافرين أكثر عرضة لقوى القص والبلعمة بالإضافة سيكون هناك نمو أكثر مما يجعلهم أكثر عرضة للصادات الحيوية

في الصورة التالية يمكن ملاحظة أن التوبرامايسين أكثر فعالية في قتل الزائفة الطافرة التي لا تقوم ب إدراك النصاب

بالمقارنة مع السلالة غير الطافرة واسمها pao1



2- التحمل الفيزيولوجي : يتم تحيده من خلال الحالة الإستقلابية للجراثيم التي تنمو في البيوفيلم

وفي الصورة التالية يمكننا إيجاد أن المعدل الإستقلابي يتم التعبير عنه من خلال القدرة على اصطناع البرويتن والذي يحدث فقط في الواجهة

سائل- هواء للفيلم الحيوي

معدلات النمو بالطبقات الداخلية تتناقص بتناقص الأوكسجين والمغذيات وتمكن العلماء من ملاحظة أنه عند الوصول إلى عمق 50 ميكرومتر تكون الظروف لاهوائية .

في المخبر تمت ملاحظة أن الفيلم الحيوي يتألف على الأقل من مجموعتين فرعيتين من الخلايا الجرثومية

-مجموعة هوائية نامية

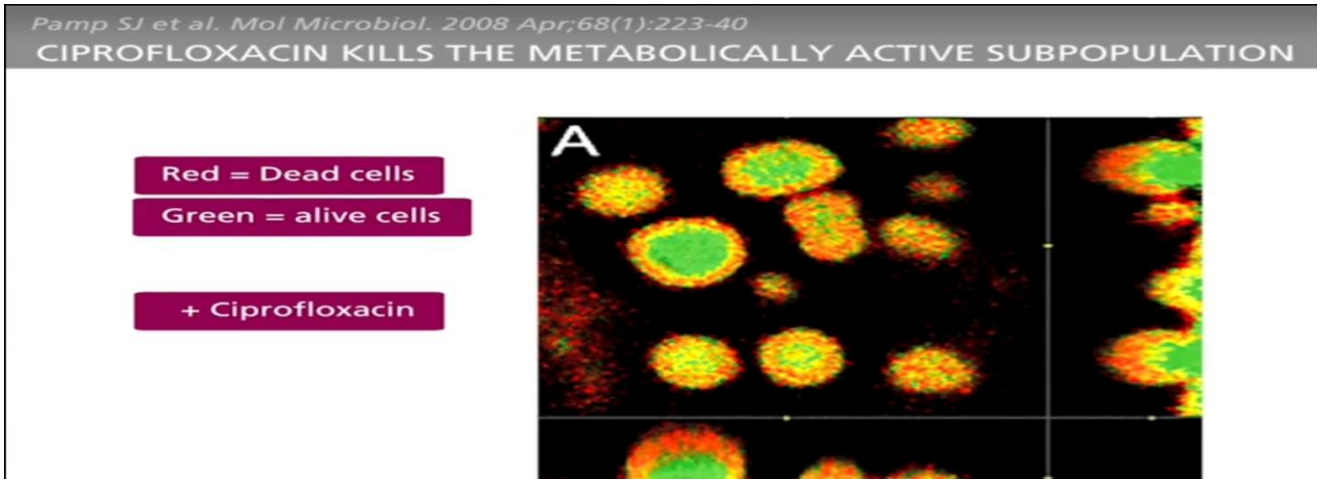
- مجموعة أكثر سباتا وذات نمو لا هوائي

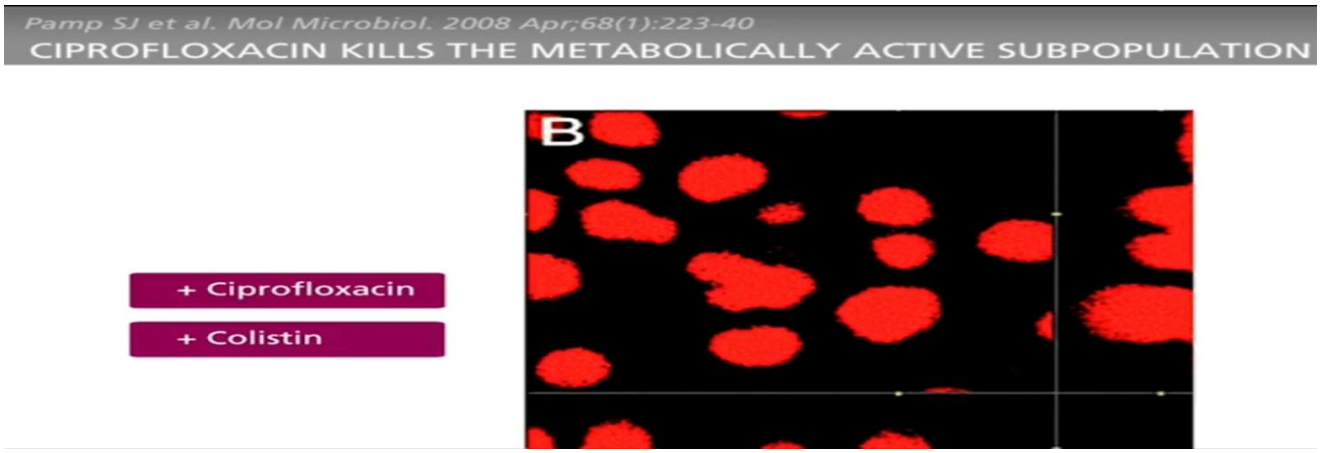
هناك صادات حيوية تعمل على الأغشية الخلوية للجراثيم مثل الكوليستين ويبقى فعال حتى عند وجود تركيز منخفض من الأوكسجين

وبذلك سوف يكون قادرا على قتل الجزء الدالخي من البيوفيلم .

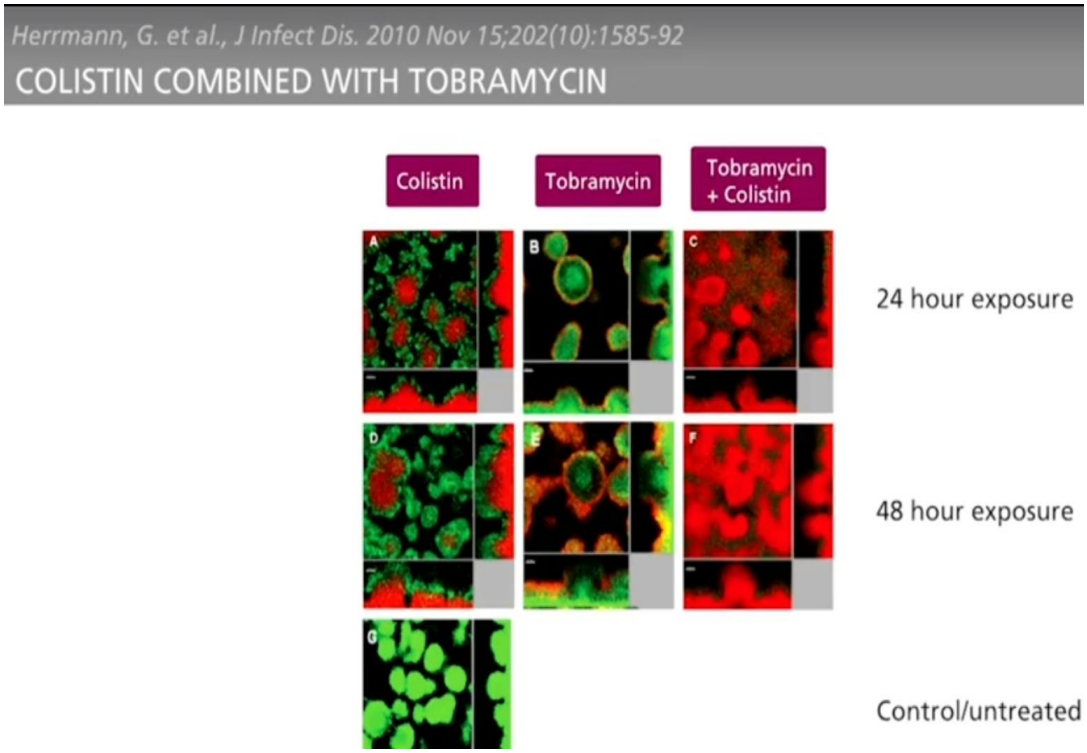
مضادات حيوية مثل الأمينوغليكوزيدات والفلوروكينولونات والبيتالاكتمات لا تعمل بوجود تركيز منخفض من الأوكسجين وبذلك تقتل فقط الجزء النامي من البيوفيلم .

وبالتالي مزيج من هذين النوعين من الدوائين سيكون لهما تأثير تأزري





ويمكن الحصول على تأثير مشابه عند مشاركة الكوليستين مع التوبرامايسين



التأثير القاتل لمزيج من الأدوية (أمينوغليكوزيدات- فلوروكينولونات-كوليستين) على أي حال غير كامل لأنه دائما جزء صغير من الجراثيم سوف ينجو ونسميهم المستديمات

المستديمات : أنماط ظاهرية متنوعة من خلايا منتظمة توصف بأنها لا تنمو هاجعة متحملة للعلاج المضاعف بالأدوية وهي تمثل جزء صغير من جراثيم الفيلم الحيوي أقل من 0,1% .

عدد كبير من الجينات المختلفة متورطة في وجود النمط الظاهري للمستديمات وهذا يعني أن هناك طرق عديدة يمكن أن تؤدي للخلية المستديمة

إيقاظ المستديمات من خلال تحفيز العمليات الاستقلابية لديهم هو اقتراح لعلاج قوي للبيوفيلم

3-اليات التحمل المتأقلمة : أو التحمل العابر للفيلم الحيوي بسبب التحريض العابر لالليات المقاومة فقط في وجود المضادات الحيوية

وعندما يتوقف كورس الصادات الحيوية هذا النوع من التحمل يختفي فهو لا يتطلب تغييرات جينية

هو متواسط بشبكات تنظيمية والتي تشتغل فقط في وجود المضادات الحيوية والتحمل المتأقلم يمكن أن يكون لمجموعة محددة من الصادات الحيوية أو عام

أمثلة عن اليات التحمل الخاصة

- تحفيز البيتالاكتاماز
- تبديل الليبو بولي سكاريد : الموجود على الغشاء الخلوي الخارجي للجراثيم سلبية الغرام لدى وجود الكوليستين

أمثلة عن اليات غير خاصة للتحمل :

- زيادة التعبير الجيني للمضخات التي تطرد الدواء
- تحويل الخلايا الجرثومية الحساسة الطبيعية إلى متحملة صعبة ومستعمرات صغيرة متنوعة
- الحماية ضد الدواء الذي يحرض الشدة التأكسدية

للنظرة الأولى هذه الاليات المختلفة المتورطة في تحمل الفيلم الحيوي للصادات يبدو انها تعمل بشكل غير معتمد عليها

لكن هناك دليل في الافلام الحيوية للزائفة الزنجارية على وجود منظمات جينية شائعة (مثل المنظم brlR المتورط في التحمل ضد الشدة التأكسدية وتنظيم التعبير الجيني للمضخة التي تطرد الدواء)

الحماية ضد الدواء الذي يسبب الشدة التأكسدية(غير خاصة)

وقد تم إيجاد أن الية القتل للمضادات الحيوية القاتلة للجراثيم تتضمن احداث اضطراب في استقلاب الجرثوم مؤدية إلى تشكيل انواع من الاوكسجين التفاعلي الذي يمكن قاتل أو مطفر للجرثوم حسب تركيز هذا الاوكسجين االتفاعلي

بهذه الألية تعالج:

- الأفلام الحيوية للزائفة الزنجارية بواسطة السيبروفلوكساسين
- قتل burkholderia cenocepacia by tobramycin
- Candida albicans by miconazol

من السابقين هذا يدلنا على أن انتاج الاوكسجين التفاعلي جدا هو الية عامة مشاركة في قتل الجراثيم والفطور

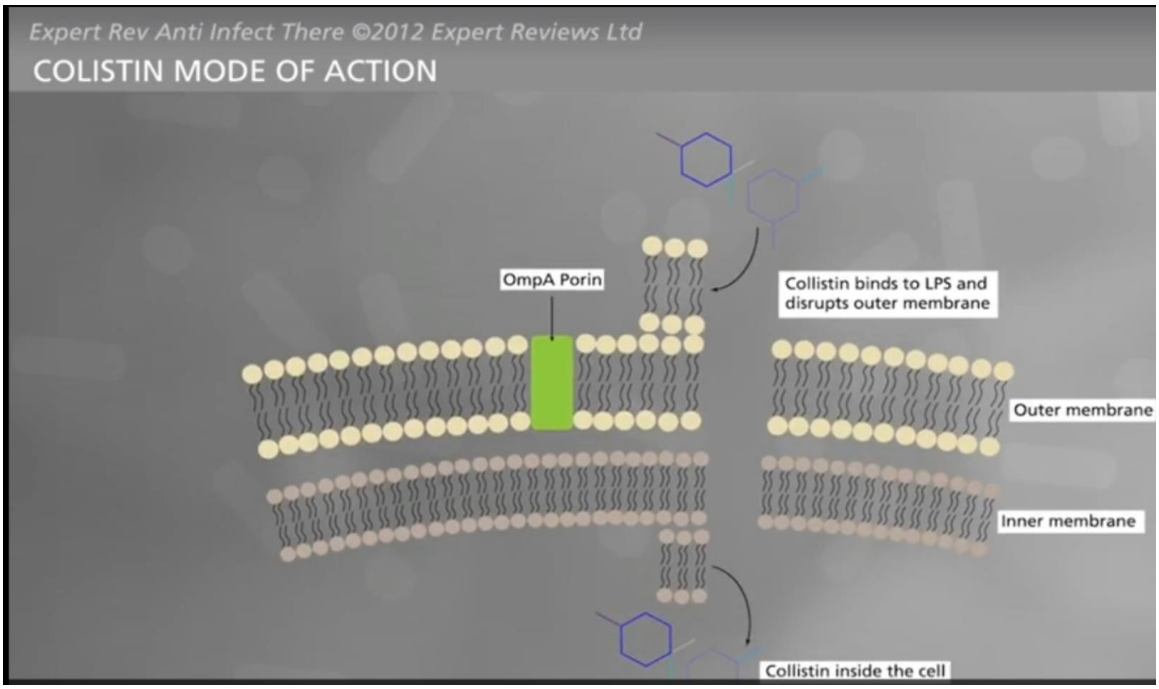
الحماية ضد الشدة التاكسدية ينقص فعالية قاتلات الجراثيم وقاتلات الفطور والاليات التي تزود هذه الحماية مهمة لنجاة الفيلم الحيوي المعالج

في الافلام الحيوية للزائفة الزنجارية الحامية ضد الاوكسجين التفاعلي جدا يتم من خلال نظام تنظيمي يشارك ايضا في الاستجابة لمحدودية الاغذية يدعى بنظام لاستجابة الصارمة .

نظام الاستجابة الصارمة يحمي الزائفة الزنجارية من المضادات الحيوية المحرضة للشدة التاكسدية من خلال الحفاظ على كمية كافية من انزيمات الحماية (الكاتالاز).

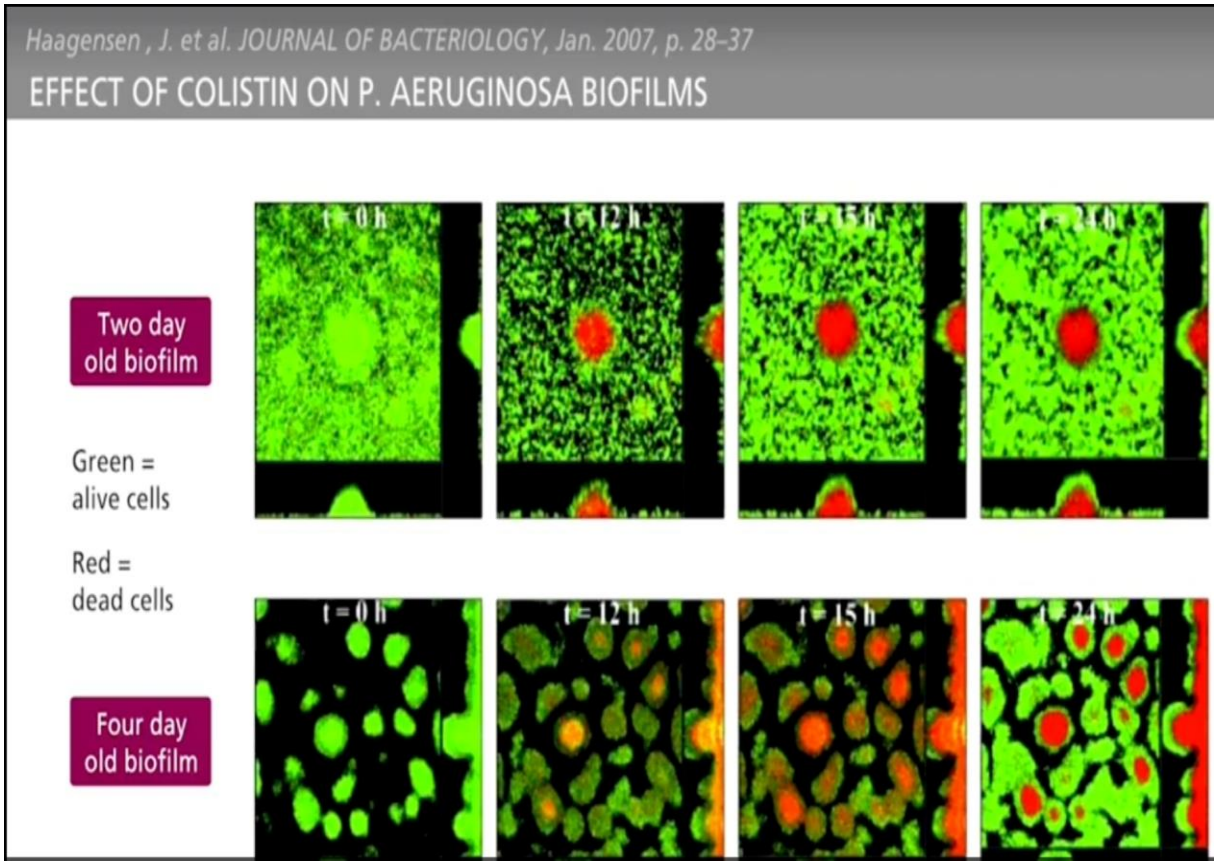
إذا نظام الاستجابة الصارمة يبدو انه يلعب دور مهم في حماية الفيلم الحيوي ضد المضادات الحيوية المحرضة للشدة التاكسدية والغاء تفعيل نظام الاستجابة الصارمة يمكن ان يكون الية محتملة للصادات الحيوية التي تعالج الفيلم الحيوي .

تغيير تركيب الغشاء الخارجي الليبو بولي سكاريد هو الية تحمل خاصة ضد الكوليستين لأن الكوليستين عليه الوصول الى الغشاء السيتوبلازمي للجراثيم سلبية الغرام إذا يجب عليه اجتياز الجدار الخلوي من خلال الارتباط بالليبو بولي سكاريد على الغشاء الخارجي



وكاستجابة للكوليستين تقوم الخلية الجرثومية من خلال نظام تنظيمي معين بتغيير الليبو بولي سكاريد من خلال إضافة ارابينوز إلا أن هذه العملية تتطلب طاقة فهي موجودة فقط في المجموعة الفرعية الفعالة استقلابيا التي تنجو وكما نرى في الصورة التالية عند

العلاج بصاد حيوي.

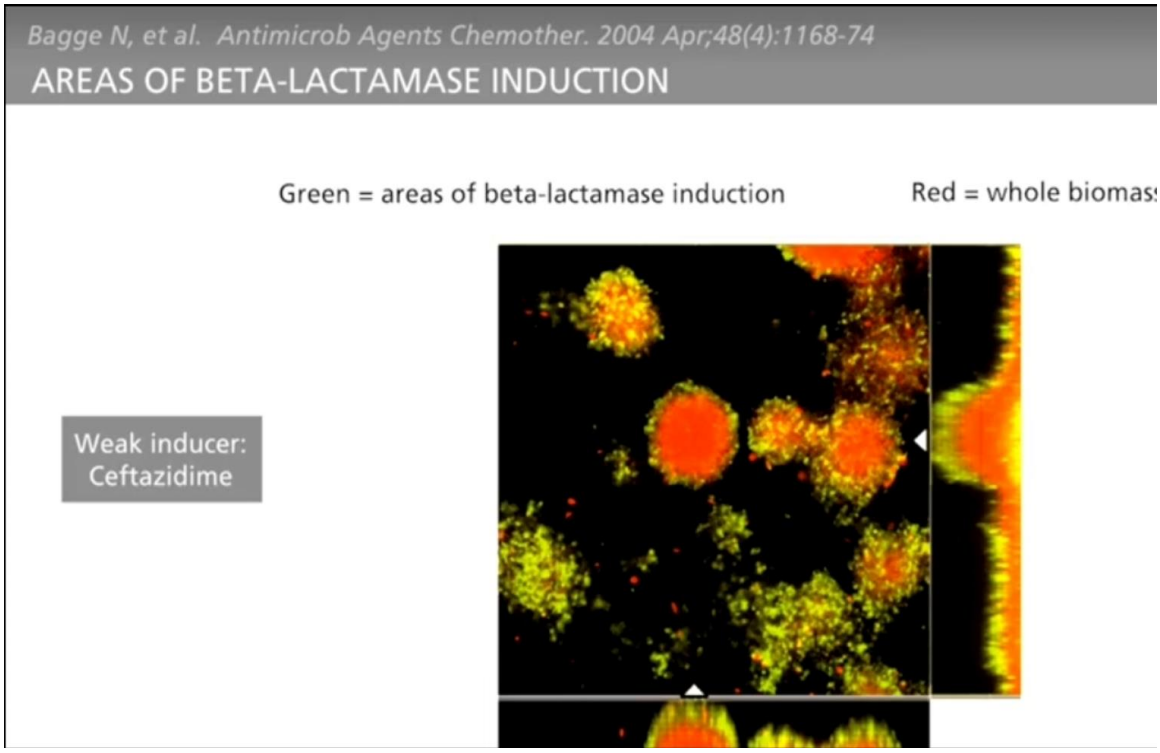


3- تحفيز البيتالاكتاماز في الافلام الحيوية هي الية تحمل خاصة ضد صادات البيتالاكتام في الزائفة الزنجارية والجراثيم سلبية الغرام الاخرى فإن انتاج البيتالاكتماز يحرض بوجود المضاد الحيوي ويختفي عندما ينخفض تركيز لصاد الحيوي.

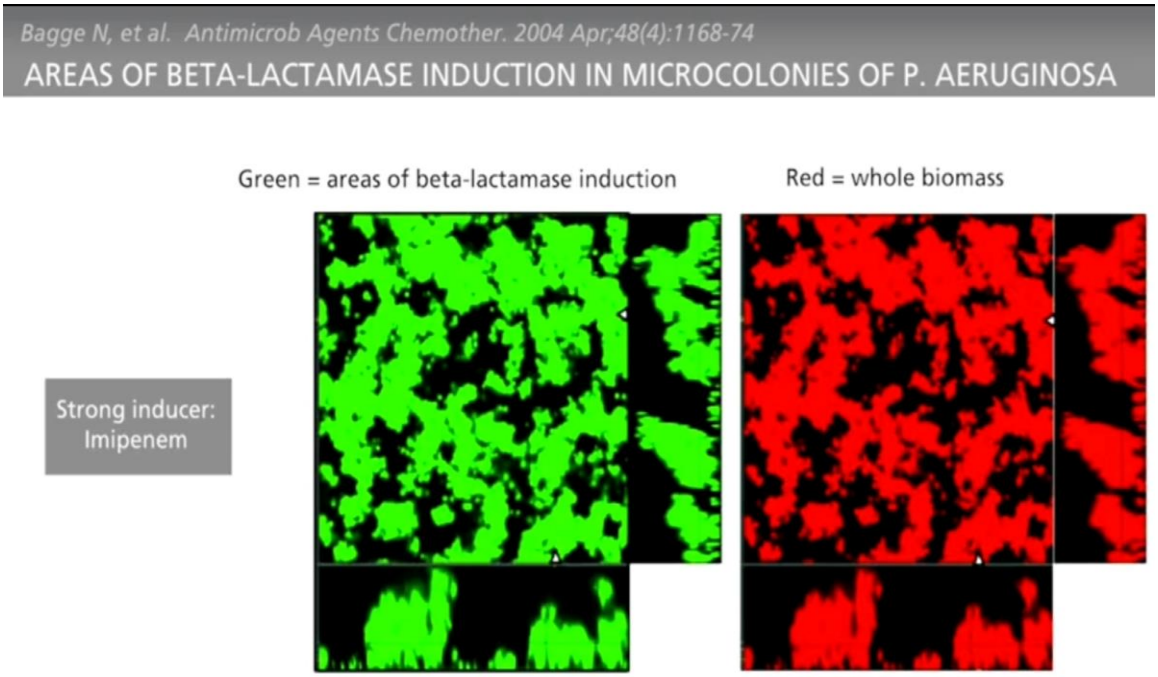
صادات البيتا لاكتام المتنوعة لديها القدرة على تحريض ازيمات بيتالاكتماز متنوعة يمكن للجراثيم ان تتعرض لطفرة في النظام التنظيمي المعقد الذي يحرض البيتالاكتاماز وبذلك تصبح هذه الجراثيم منتجة بشكل ثابت للبيتا لاكتاماز وبذلك المقاومة تجاه هذه المجموعة المهمة من الصادات الحيوية .

في هذه التجربة منطقة المحرض للجين البنيوي للبيتالاكتاماز كان موسوما بروتين الفلورة الخضراء والأفلام الحيوية كانت متشكلة في نظام تدفق- خلية .

في الصورة التالية تستطيع مشاهدة أنه تحت العلاج بالسيفتازيديم والذي هو محرض ضعيف للبيتالاكتاماز يتم تحريض الانزيم في الطبقة السطحية للفيلم الحيوي(أخضر).

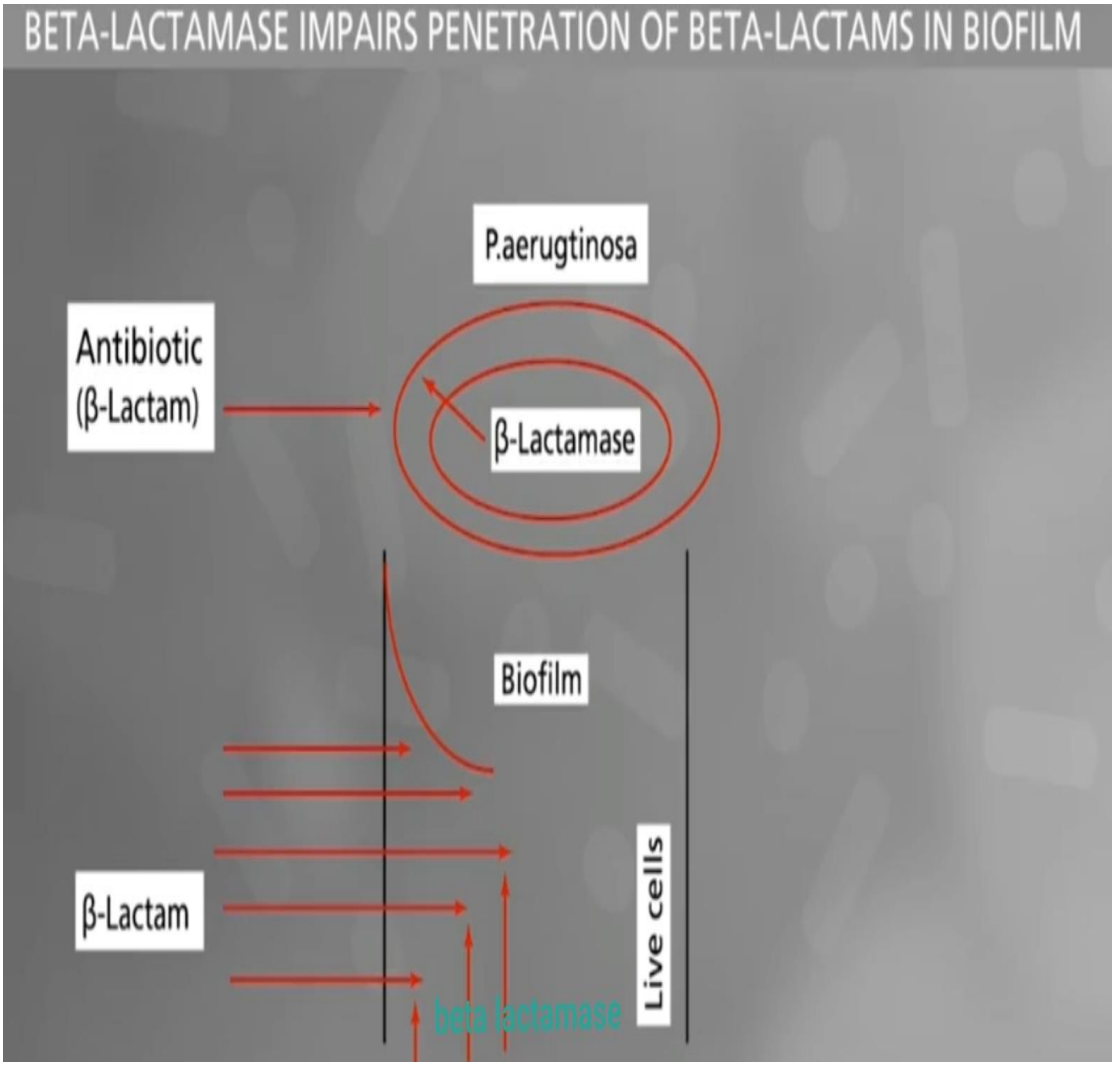


على أي حال عندما يعالج الفيلم الحيوي للزائفة الزنجارية imipenem والذي هو محرض قوي للبيتالاكتاماز فيتحرض الانزيم في كل طبقات الفيلم الحيوي ويظهر ذلك باللون الاخضر والكتلة الحيوية الكاملة للفيلم الحيوي ملونة بالاحمر .

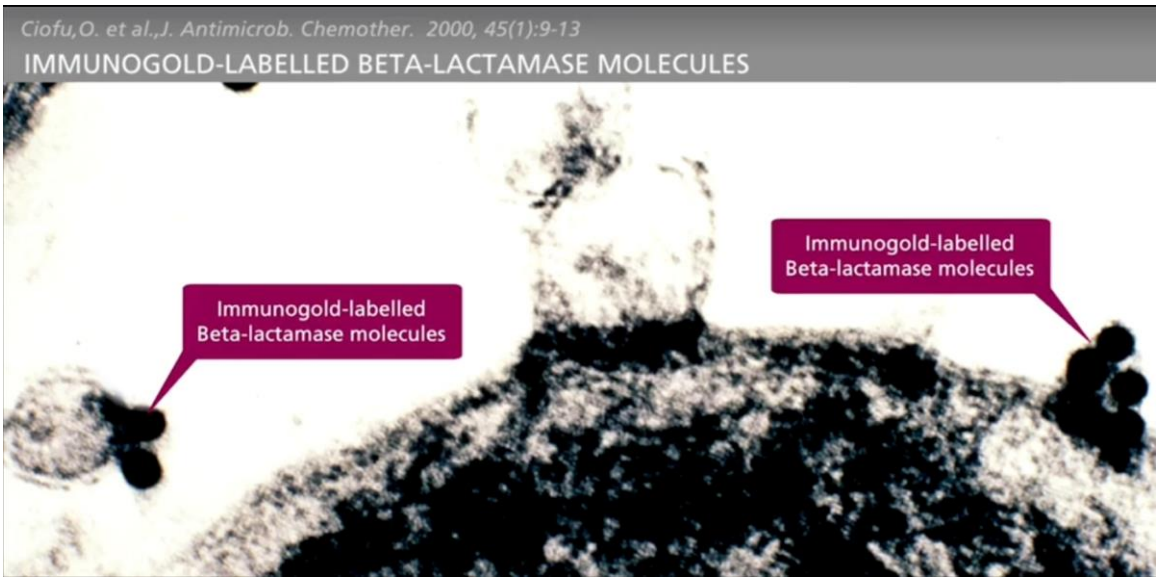


وجود البيتالاكتاماز في ماتريكسس البيوفيلم سوف يؤدي إلى حلمهة صادات البيتالاكتام قبل الوصول للخلية الجرثومية الموجودة في عمق البيوفيلم .

الباحثون أكدوا من خلال النماذج الرياضية أن الجراثيم التي تعبر عن مستويات عالية من كروموزومات البيتالاكتاماز التي تنمو في افلام حيوية سوف تتعرض إلى تراكيز قليلة من الصاد الحيوي البيتالاكتام بسبب تراكم الانزيم في الماتريكس



يمكن أن يفرز البيتالاكتاماز في حويصلات غشائية ويفرغ في ماتريكس البيوفيلم



وبالتالي اضعاف اختراق صادات البيتالاكتام في البيوفيلم وهذا يؤثر على الجرعة وطريقة الاعطاء لصادات البيتالاكتام .

بالاضافة الى مشكلة التحمل الجرثومي يوجد مشكلة المقاومة الجرثومية .

اليات المقاومة الجرثومية للصادات هي موروثة بسبب طفرات وهي غير عكوسة وقد تم تسجيل حالات لتطور المقاومة للصادات الحيوية في البيوفيلم حتى بغياب الصاد الحيوي المختار.

مما يؤكد أن الافلام الحيوية هي ارض خصبة لتطور المقاومة الجرثومية وتطور المقاومة تتضمن طفرات .

تنقل المقاومة لواحد أو عدة صادات حيوية.

استمرارية الطفرات في الفيلم الحيوي يعتمد على ملائمة كلفتها للنجاة في البنية المجزاة للبيوفيلم .

وجود مقاومات متنوعة بالبيوفيلم يزود تأثير حماية لمجموعات فرعية من الخلايا فتصبح قادرة على النجاة أو التكاثر عندما يتعرض البيوفيلم لاعتداءات من الصادات الحيوية مسهلين بذلك اعادة بناء البيوفيلم بعد توقف المعالجة بالصادات الحيوية .

هناك الية لزيادة القدرة على التطفر في البيوفيلم وهي الاكسدة وهذا بسبب زيادة انتاج الاوكسجين التفاعلي ونقص مضادات الاكسدة في البيوفيلم.

إن مفهوم الشدة التأكسدية بالبيوفيلم يمكن ان يكون متناقض (غير معقول) بسبب انخفاض ضغط الاوكسجين الذي تم كشفه عميقا في البيوفيلم

(أي لايوجد الكثير من الأوكسجين فكيف تحدث الأكسدة).

على أي حال التنفس الهوائي كافي لينتج شدة تأكسدية كافية لاحداث ضرر بالدنا .

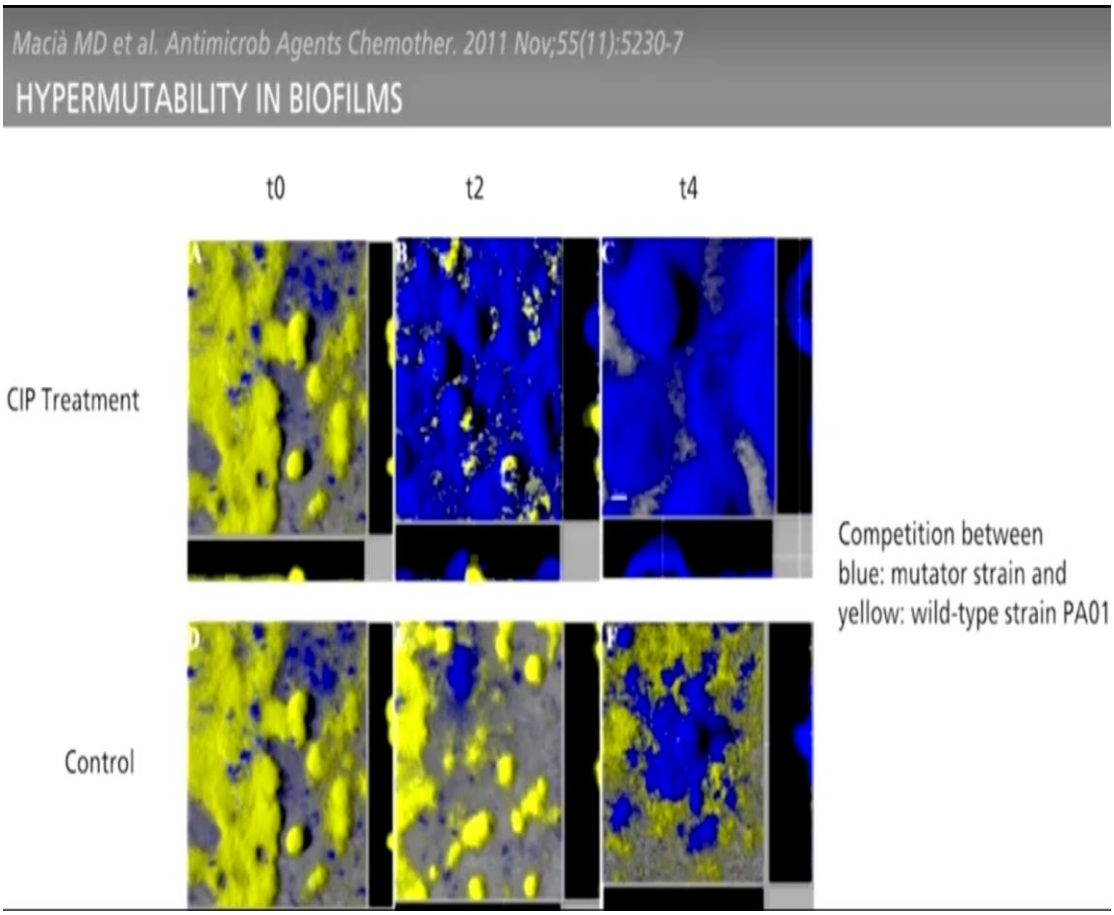
وبالإضافة للشدة التأكسدية باطنة النمو فإن الجراثيم النامية الموجودة في الطبقة السطحية من البيوفيلم في الرئة المتليفة كيسيا هي معرضة لأوكسجين تفاعلي خارجي المنشأ من الخلايا المناعية المفعلة المحيطة بالبيوفيلم .

إن القشع في الرئة المتليفة كيسيا يمثل بيئة منخفضة الاكسجة بسبب استهلاك الاوكسجين من الكريات البيض متعددة الأنوية والتي تحرر الاوكسجين التفاعلي الذي يتفاعل مع الخلايا الجرثومية المغروسة بالبيوفيلمم وهذا يخلق بيئة فريدة في القشع الذي يحوي ضغط منخفض من الاوكسجين والمملوء بالاوكسجين التفاعلي .

إن العلاقة بين الشدة التأكسدية وسلالة الزائفة الزنجارية عالية التطفر تمت رؤيتها في مريض التليف الكيسي.

إن تزايد القدرة على التطفر في البيوفيلم تحرض ظهر الطفرات متضمنة الطفرات التي تتعلق بالمقاومة الجرثومية

الطفرات المقاومة للصادات الحيوية سوف تختار الصادات التي يتكرر اعطائها كما سترى في الصور التالية



بعد اربع ايام فقط من العلاج بالسيبروفلوكساسين حيث الطافر هو في الصورة t2 السلالة الزرقاء التي تأخذ كامل بنية البيوفيلم .

بينما في الافلام الحيوية غير المعالجة ولكن الممزوجة مع الفيلم الحيوي الطافر control و عمره اربع ايام فقط كانت السلالة غير الطافرة هي المسيطرة ولكن بشكل مثير للاهتمام نسبة السلالة عالية القدرة على التطفر تزايدت بعد 6 ايام

وهذا يوضح لنا أن الافلام الحيوية النامية من تلقاء نفسها وبدون تحريض تفضل اختيار المجتمع الطافر.

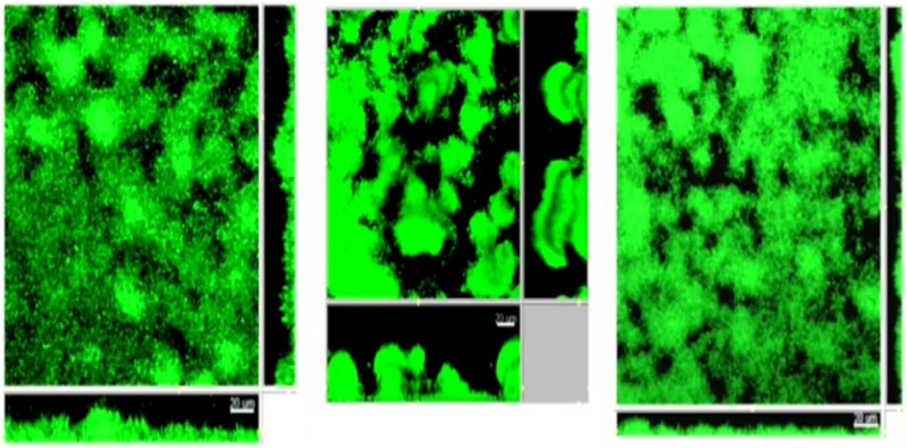
تطور الطفرات المقاومة لكل اصناف الصادات الحيوية خلال الاصابة المزمنة الرئوية للرئة المتليفة كيسيا قد تم توثيقه .

وقد تم توضيح ايضا أن السلالات عالية القدرة عللى التطفر تشكل افلام حيوية افضل من السلالات مع تكرارية طبيعية للطفرات .

الطفرات في اصلاح الدنا تشكل افلام حيوية افضل من السلالات التي لديها تكرارية طبيبية للطفرات مثل سلالة Pao1 mutT التي تشكل افلام حيوية مع مستعمرات محسنة النمو مميزة مقارنة بالسلالات الطبيعية .

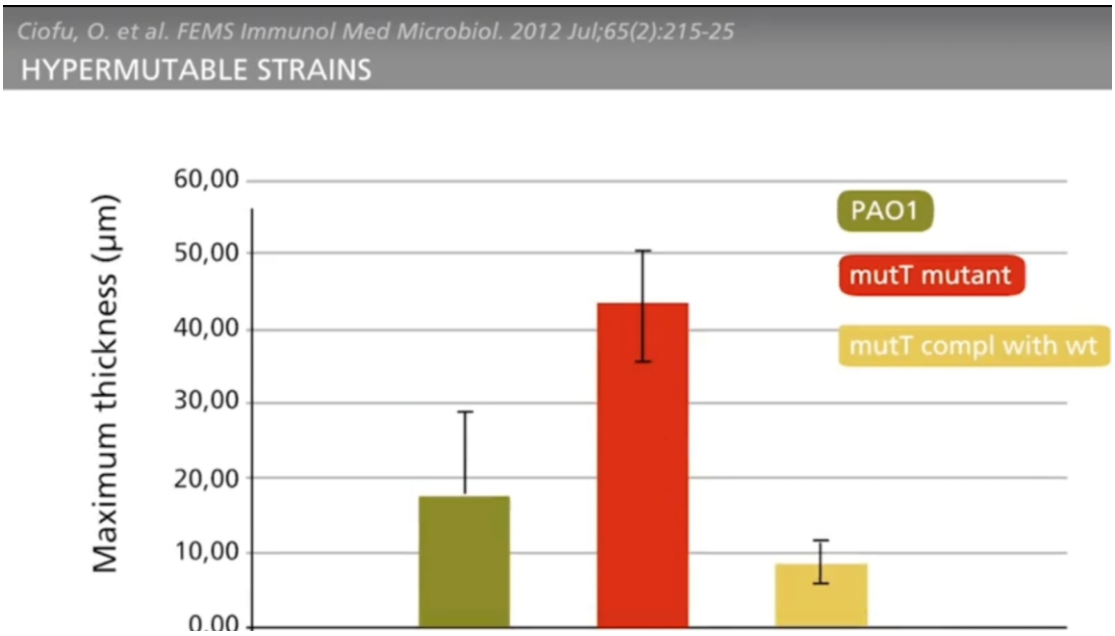
Ciofu, O. et al. FEMS Immunol Med Microbiol. 2012 Jul;65(2):215-25

HYPERMUTABLE STRAINS

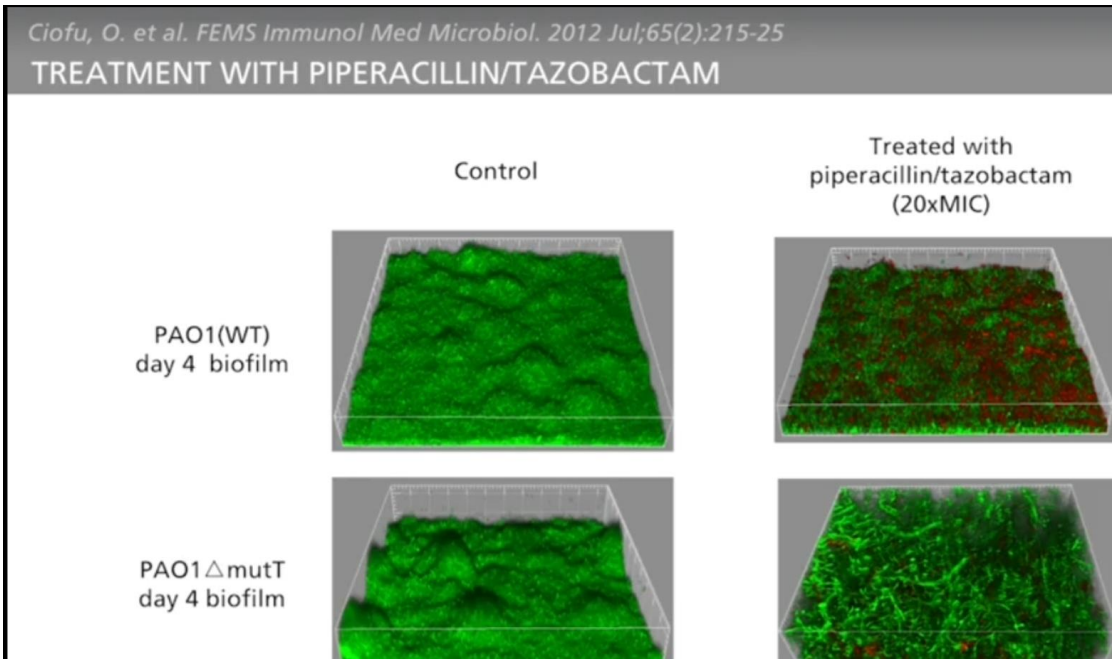


PAO1 PAO1ΔmutT PAO1ΔmutT complemented with mutT

الافلام الحيوية المتشكلة بواسطة السلالات عالية التطفر كانت مميزة بضخامتها بحجمها وتشكل مستعمرات عالية الثخانة



عندما عولجت الافلام الحيوية للزائفة التي تملك افلامها حجوم ضخمة بالبيبارسيللين والتازوباكتام نجت بشكل افضل من العلاج مقارنة بالطبيعية



التليف الكيسي-الإصابة الرئوية المزمنة

إن الاصابة الرئوية الجرثومية المزمنة لمصاب بالتليف الكيسي هي أكثر إصابة درس فيها البيوفيلم الجرثومي

إن معظم معلوماتنا حول البيوفيلم مشتقة من هذا المرض بالإضافة إلى ذلك أغلبية المقالات العلمية تتكلم عن التليف الكيسي .

على الرغم من الجهود المتزايدة في البحث في الاصابات الجرثومية المزمنة

والتليف الكيسي هو المرض الوراثي القاتل الأكثر شيوعا في القوقازيين

نسبة حدوث هذا العيب الجيني في العالم هي 1:2000 -1:32000 بين كل مولود جديد

وهو يؤثر على كثير من الأعضاء ولكن التأثير الاكثر حدة يكون على الرئة.

هناك سبب جيني للتليف الكيسي وهو عيب في الجين المسؤول عن المضخة الغشائية التي تنقل الصوديوم والكلور ويقع هذا الجين على الكروموزوم السابع .

ويؤثر هذا الجين على حركة الملح والماء إلى داخل وخارج الخلايا فإن هذا الخلل بالناقل بالإضافة إلى الإنتانات المتكررة يمكن أن يؤدي إلى بناء مخاط سميك لزج بشكل أساسي في الرئة والجهاز الهضمي .

الخلل في هذا الجين سوف يسبب تناقص في إفراز الكلور وزيادة امتصاص الصوديوم وهذه النتيجة تؤدي لتجفيف المخاط الضار و يكون من الصعب جدا إزالة هذا المخاط ميكانيكيا من خلال السعال.

هذا المخاط هو مكان ملاءم للجراثيم للاختباء وهو السبب في الإصابة المزمنة الجرثومية للرئة .

الناس الأصحاء أيضا ينتجون مخاط لكن يمكنهم إخراجه من الرئة .

الزائفة الزنجارية هي الجرثوم الاكثر شهرة في الرئة المتليفة كيسيا .

يمكن إعطاء مريض التليف الكيسي علاج كثيف مع تركيز عالي من الصادات الحيوية و هذا العلاج يشار إليه بالعلاج المحافظ والعلاج الكابح المزمن

سابقا كان 50% فقط من مرضى التليف الكيسي ينجون لمدة 5 سنوات من الاصابة المزمنة بالزائفة الزنجارية بالرئة المتليفة كيسيا .

لكن معظم مرضى التليف الكيسي ينجون اليوم لعشرات السنين مع إصابة مزمنة بالزائفة وعلى الرغم من العلاج الكثيف الجرثوم لا يزال مستمر في الرئة المتليفة كيسيا .

منذ عدة سنوات تمت إجراء دراسة في جامعة كوبنهاغن حيث تمت مقارنة عينات الرئة في المرضى المتليفين كيسيا قبل وببعد العلاج المكثف المزمن الذين تلقوه .

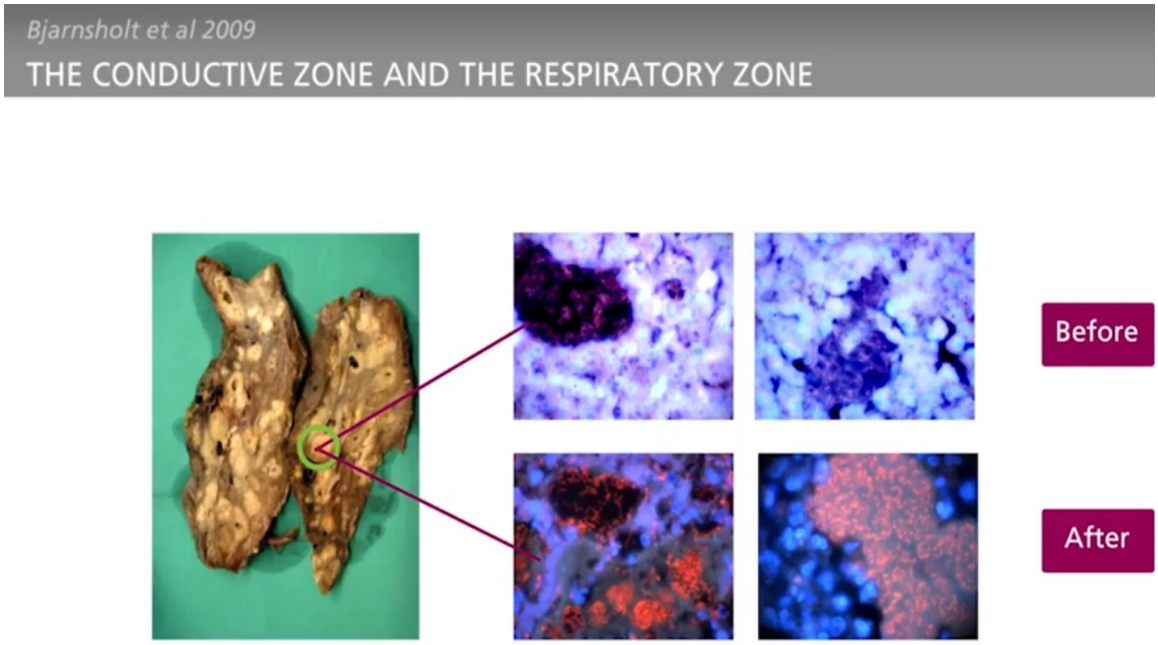
حيث أخذنا 12 رئة لمرضى تلقوا علاج قصير الأمد وظلوا هؤلاء المرضى أحياء لمدة 3,5 سنوات مع الإصابة المزمنة قبل الموت .

المجموعة الثانية كانت 3 رئات من إصابة حالية مزمنة طويلة .

حيث حصلوا على صادات حيوية وريدية حقن مباشر كل 3 أشهر بالإضافة إلى استنشاق الكوليستين يوميا هذه المجموعة استمرت لديها الإصابة المزمنة لمدة 28 سنة كمتوسط وتمت زراعة رئتين لهم عوضا عن القديمتين .

ومن خلال هذه الدراسة تمكن الباحثون من توضيح مكان تواجد الجراثيم المفردة والبيوفيلم في الرئة .

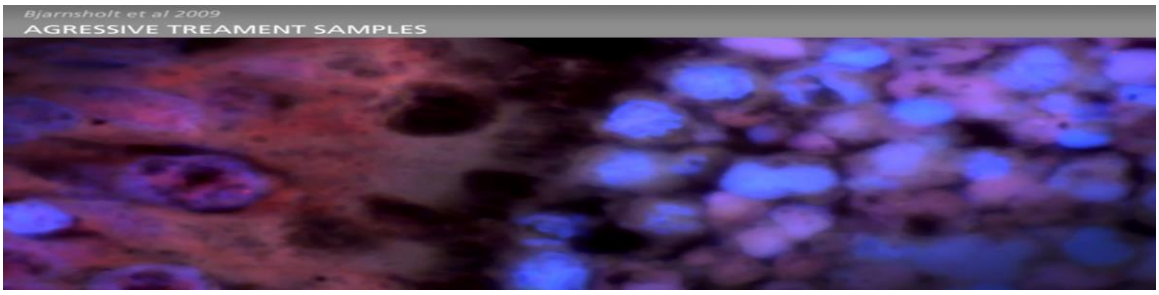
استخدم الباحثون في هذه الدراسة صبغات خاصة لتلوين الجراثيم باللون الأحمر والكرياب البيض باللون الأزرق



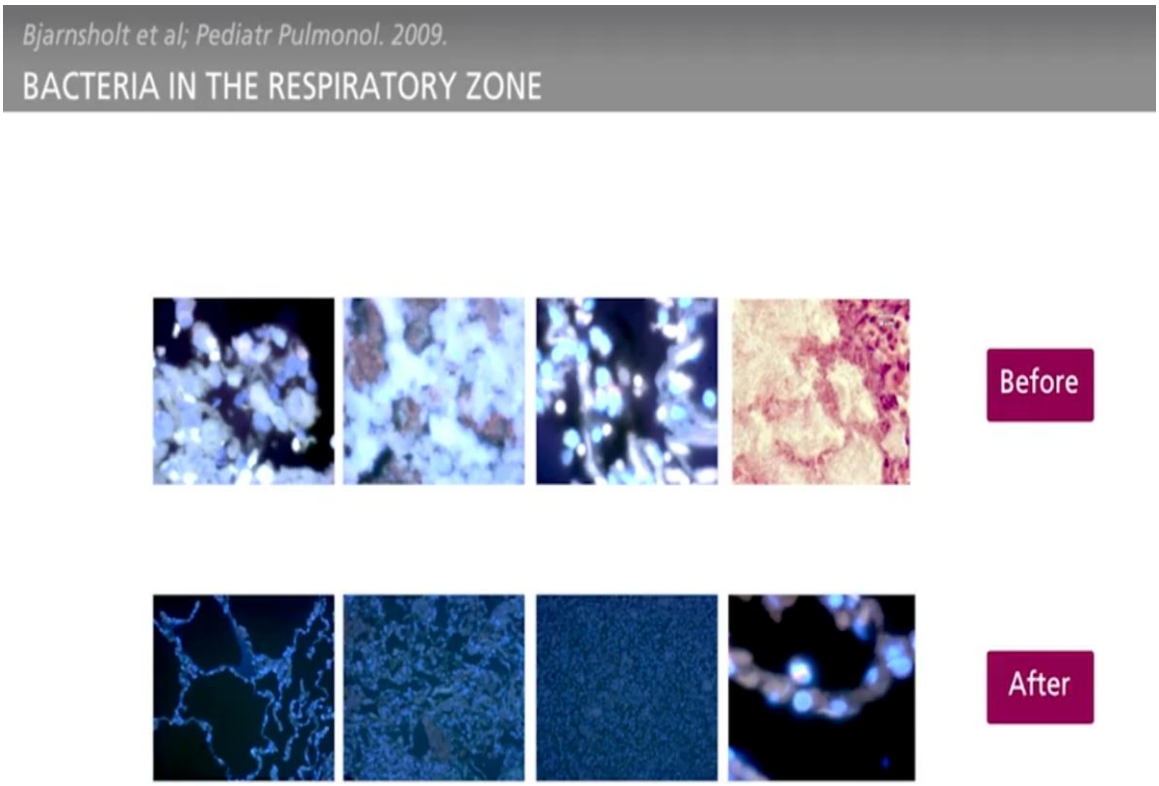
نستطيع أن نرى من خلال هذه الصور في مجموعتي العينات البيوفيلم يوجد في المنطقة التوصيلية والسبب في أن صور(قبل) أقل توهجا هو عمر العينات

كما نرى كمية من الكريات البيضاء محيطة بالجراثيم والاختلاف الوحيد الذي استطاع الباحثون كشفه هو أن المجموعة غير المعالجة لديها نسيج مدمر أكثر من المرضى المعالجين علاج كثيف حيث كان من الصعب ايجاد نسيج سليم في المجموعة غير المعالجة .

في العينات المعالجة علاج كثيف أيضا تم كشف نسيج مدمر لكن الطرق الهوائية السليمة كانت أكثر حتى أننا نستطيع رؤية الأهداب في الصورة التالية .



والجزء المهم من الدراسة كان عندما فحصنا المنطقة التنفسية لكلا مجموعتي العينات



في المجموعة (قبل) التي لم تتلق علاج كثيف تم إيجاد جراثيم في المنطقة التنفسية بينما وبشكل لافت للنظر فقط عدد قليل جدا من الجراثيم في

المنطقة التنفسية للمجموعة التي تلقت علاج كثيف.

وتم كشف الكثير من التدمير للمجموعة التي لم تتلق العلاج الكثيف مقارنة بالمجموعة التي تلقته.

هذا يعني أنه قبل العلاج الكثيف الزائفة تمكنت أصابت ودمرت الئة المتليفة كيسيا بسبب الانتشار السريع للمنطقة التنفسية.

العلاج الكثيف المحافظ يكبح لكن لا يزيل الجراثيم من المنطقة التوصيلية ولكن على الأقل المنطقة التنفسية محمية من الأصابة بالبيوفيلم لمدى طويل والمنطقة التوصيلية تلعب دور مخزن حيث يوجد فيها بيوفيلم مغروس بالقيح والماخط .

بشكل مثير للإهتمام لم نجد جراثيم ملتصقة بالنسيج الظهاري حيث الافلام الحيوية كانت كلها مغروسة بالقيح والمخاط ومحاط بالكريات البيض .

إذا كخلاصة : الزائفة الزنجارية تستمر في الرئة المتليفة كيسيا على الرغم من العلاج الكثيف بالمضادات الحيوية والعدد الكبير من الكريات

المحيطة بها وذلك بسبب قدرتها على تشكيل افلام حيوية وضمن هذه الافلام الحيوية الجراثيم محمية

علاج الإصابات المزمنة

كيف تعالج الإصابة الجرثومية المزمنة ؟ علي أن أشير من البداية على أنه لا يوجد جواب صريح لهذا السؤال وإنما طرق مختلفة.

على النقيض من علاج الإصابة الحادة بالصادات الحيوية والتي تهدف دائما إلى إزالة الجرثوم فهذه ليست داءئما الحالة للإصابات المزمنة .

ومن أجل رفع نسبة النجاح العلاجي فإنه من المهم في البداية أن نحدد هدف المعالجة هل نريد إزالة أم فقط كبح البيوفيلم في موقع الإصابة ؟

العلاج الأكثر فعالية للإصابات المتعلقة بالبيوفيلم هو إزالة البيوفيلم وعندما يكون ممكنا نشارك بالصادات الحيوية .

الاستئصال الجراحي للأنسجة المصابة بالبيوفيلم يمكن ان يكون ممكنا في بعض الحالات (التهاب عظم ونقي – التهاب جيوب انفية مزمن –جروح مزمنة – إزالة جسم غريب عن الجسم – القثاطر داخل وخارج الوعائية)

على أي حال في بقية الإصابات المزمنة الهدف هو كبح الجراثيم التي تنمو في البيوفيلم من أجل إنقاص الاستجابة الالتهابية والتي هي غير قادرة على إزالة البيوفيلم لكن بدلا من ذلك تحفز تدمير النسيج الموضع .

- بعض الأمور العامة التي يجب أن تؤخذ بعين الاعتبار و المتعلقة بالعلاج بالصادات الحيوية ضد الاصابات بالبيوفيلم :

- استخدام مزيج علاجي بجرعة عالية متضمن صادات تعمل على الخلايا غير الفعالة استقلابيا
- اعطائها لفترات طويلة من الوقت بسبب التحمل الداخلي للبيوفيلم تجاه الصادات الحيوية .
- هناك أنواع مختلفة للأفلام الحيوية : ملتصقة بسطح أو تجمعات مغروسة في مواد بيولوجية :

بشكل أوضح الأسطح يمكن أن تكون مواد غريبة عن الجسم (طرف صناعي) أو نسيج ميت أو أسطح مخاطية.

تحديد أي نوع من الأفلام الحيوية الذي سوف نعالجه؟

وأين يقع البيوفيلم ؟

هي متطلبات مسبقة يجب معرفتها من أجل اختيار العلاج الأكثر ملائمة .

لأن تأثير الصاد الحيوي سوف يعتمد على التركيز الواصل لموقع الإصابة .

الحركية والديناميكا الدوائية :

لفهم فعالية الصادات الحيوية في موقع الإصابة من المهم أن نقدم مفهومين فارماكولجيين الحركية والديناميكا الدوائية .

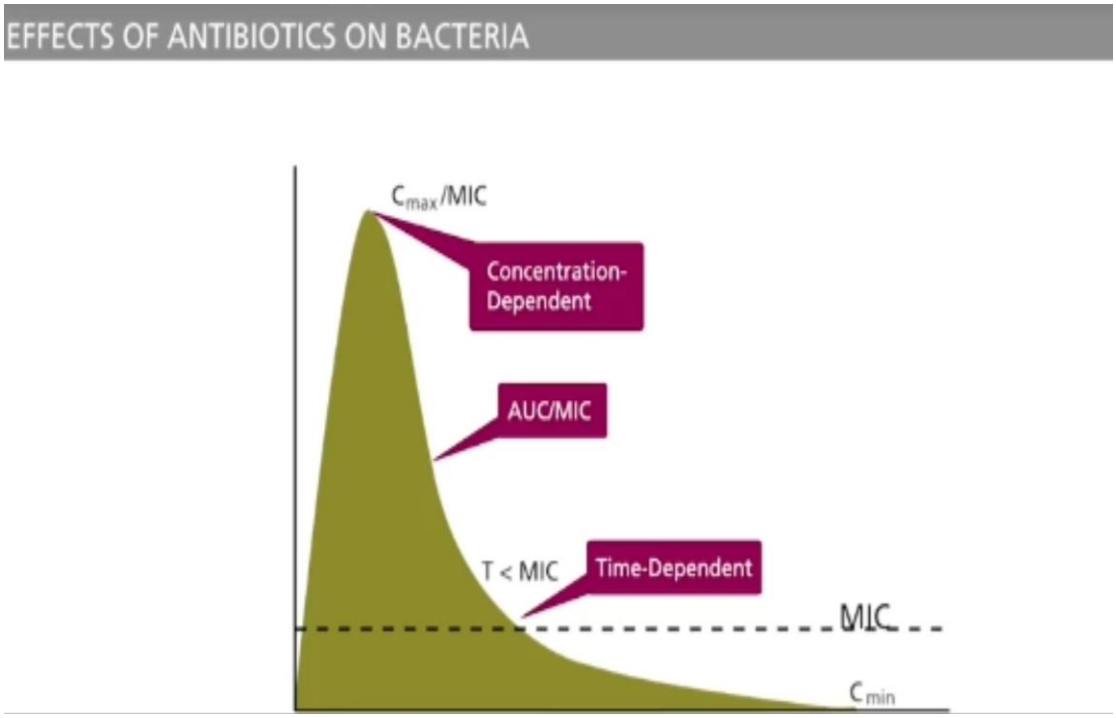
الحركية الدوائية : تصف تركيز الصاد الحيوي الحر بمرور الوقت أثناء مروره عبر الحجر المختلفة في الجسم وهي تعتمد على الامتصاص ولتوزع والاستقلاب والاطراح

وحالة المريض الصحية تؤثر على واحد أو أكثر من العمليات السابقة وهذا يدلنا على تعديل الجرعة حسب اللحالة باللإضافة إلى الخلفية الجينية للمريض أيضا سوف تؤثر على الحركية الدوائية من خلال الانزيمات الاستقلابية وهذا ما يدعي بالفارماكوجينيتك.

الديناميكا الدوائية للدواء تصف تأثير الصاد الحيوي في موقع الإصابة وعلاقته بالتركيز الضروري لتثبيط نمو الجراثيم وهذا التركيز يحدد في أنبوب اختبار في المخبر.

التركيز المصلي للدواء يجب أن يكون على الاقل اكبر بعشر مرات من التركيز الذي يثبط النمو الجرثومي .

هناك 3 طرق تظهر فيها الصادات تأثيرها على الجراثيم المعتمدة على الوقت-الجرعة – التركيز

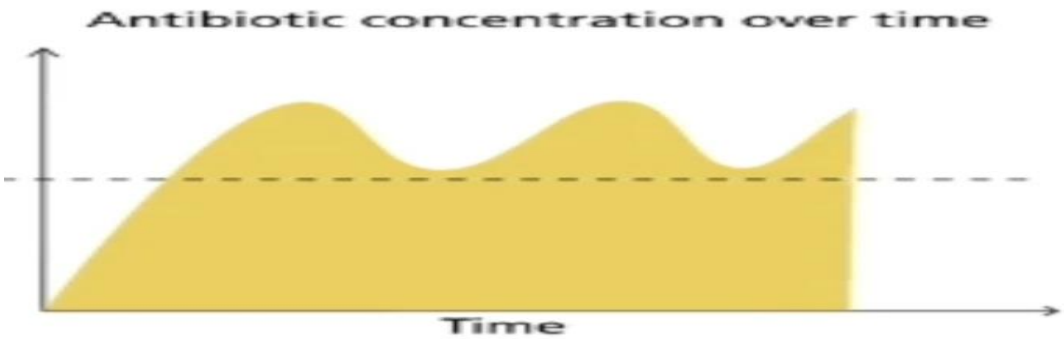


التأثير المعتمد على الوقت : الصاد يجب أن يعطي بجرعات صغيرة عدة مرات باليوم

ويجب أن تكون الفترة التي يكون فيها تركيز الصاد فوق التركيز الذي يثبط نمو الجراثيم في المخبر أطول ما يمكن ليكون القتل افضل ما يمكن

وهذا هو العلاج في حالة صادات

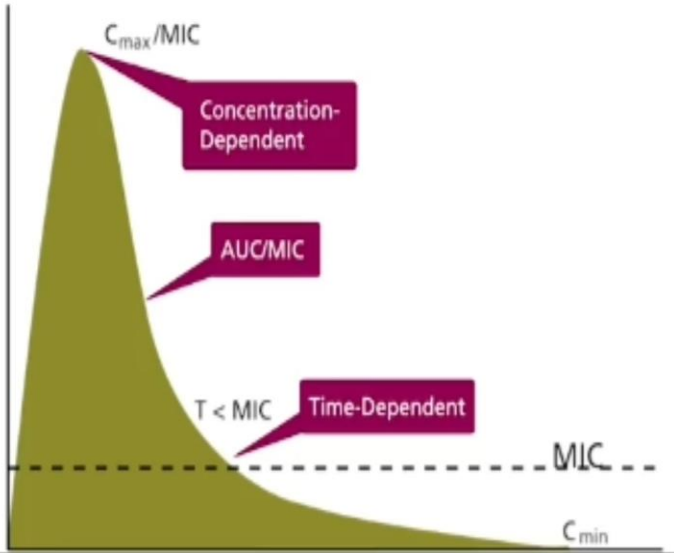
- البيتالاكتام
- الفانكومايسين



التأثير المعتمد على التركيز : كلما كان التركيز أكبر من التركيز المثبط للجراثيم كلما كان القتل أفضل هذا يعني أن الجرعة كاملة يجب ان تعطى مرة واحدة باليوم او مرات قليلة باليوم

هذه الطريقة لصادات للأمينوغليكوزيدات والكوليستين

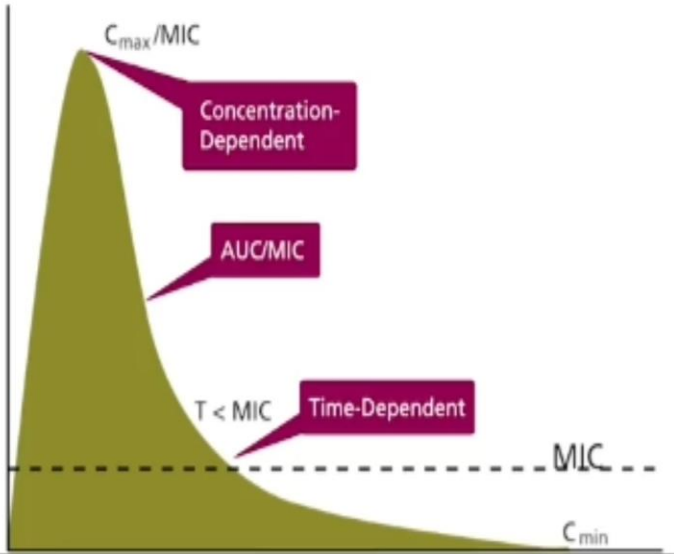
EFFECTS OF ANTIBIOTICS ON BACTERIA



التأثير المعتمد على الجرعة التركيز ومدة تأثير الصاد مهمين

وهذه الحالة للكينولونات.

EFFECTS OF ANTIBIOTICS ON BACTERIA



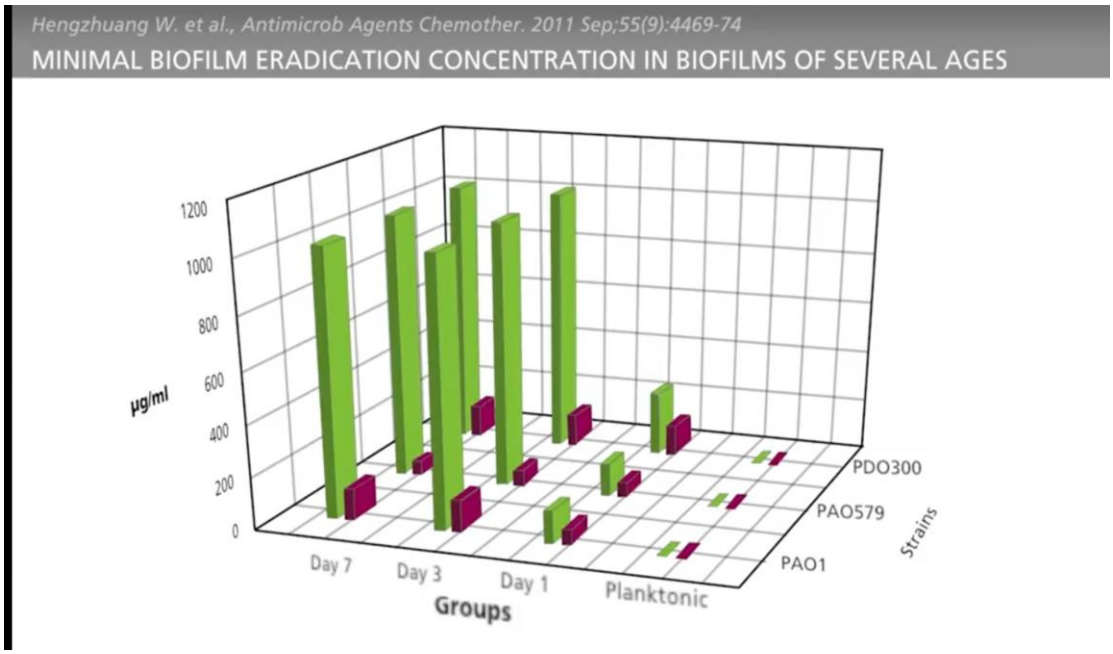
معظم دراسات الحركية والديناميكا تمت على الجراثيم الفردية وتطبيق النتائج على البيوفيلم هو في الحقيقة مششكلة لأن جراثيم البيوفيلم تختلف عن الجراثيم المفردة .

معلوامت الحركية والديناميكا للعوامل المضادة للجراثيم على جراثيم البيوفيلم يمكن أن تساعد في بناء نظام تجريع صارم فعال للعلاج وتقليل فرصة تطور المقاومة الجرثويمة .

MBIC التركيز الادنى المثبط للبيوفيلم

MBEC التركيز الادنى القاتل للبيوفيلم

تركيز الصاد اللازم لقتل البيوفيلم هو أعلى بكثير أكثر بالاف المرات من اللازم للمفرد



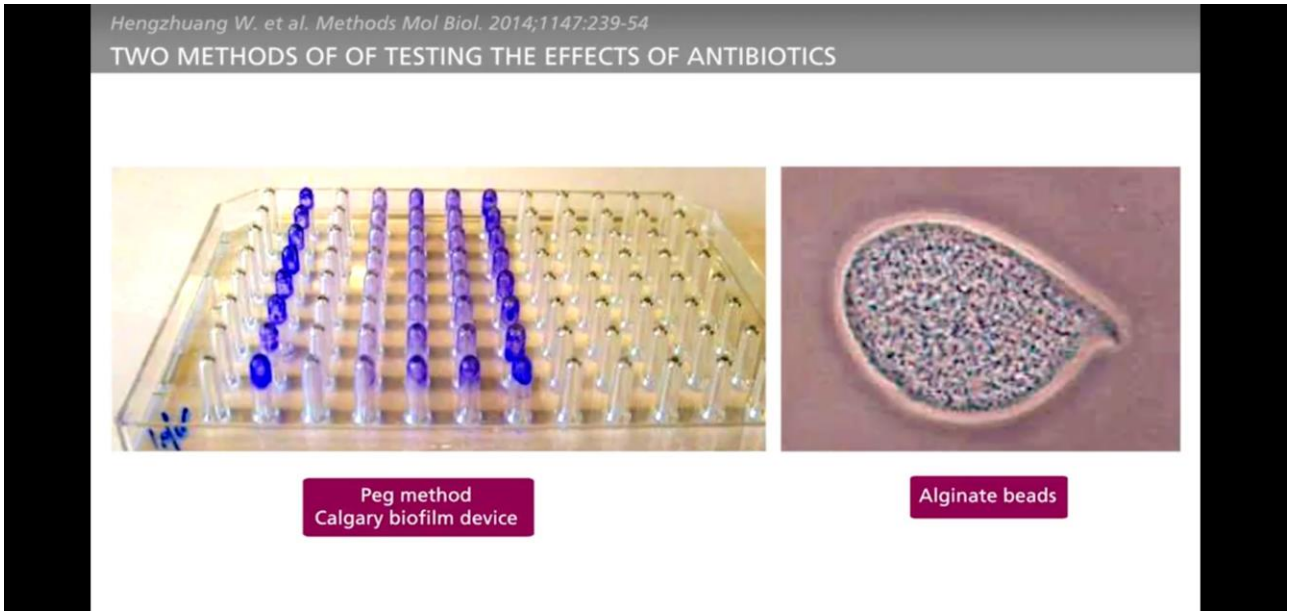
المشكلة الاساسية في ضبط علاج البيوفيلم المعتمد على MBIC/MBEC

هو فقدان الطرائق التقليدية لنحصل على هذه القيم في المختبر والطرائق المتاحة حاليا هي فقط لاغراض بحثية .

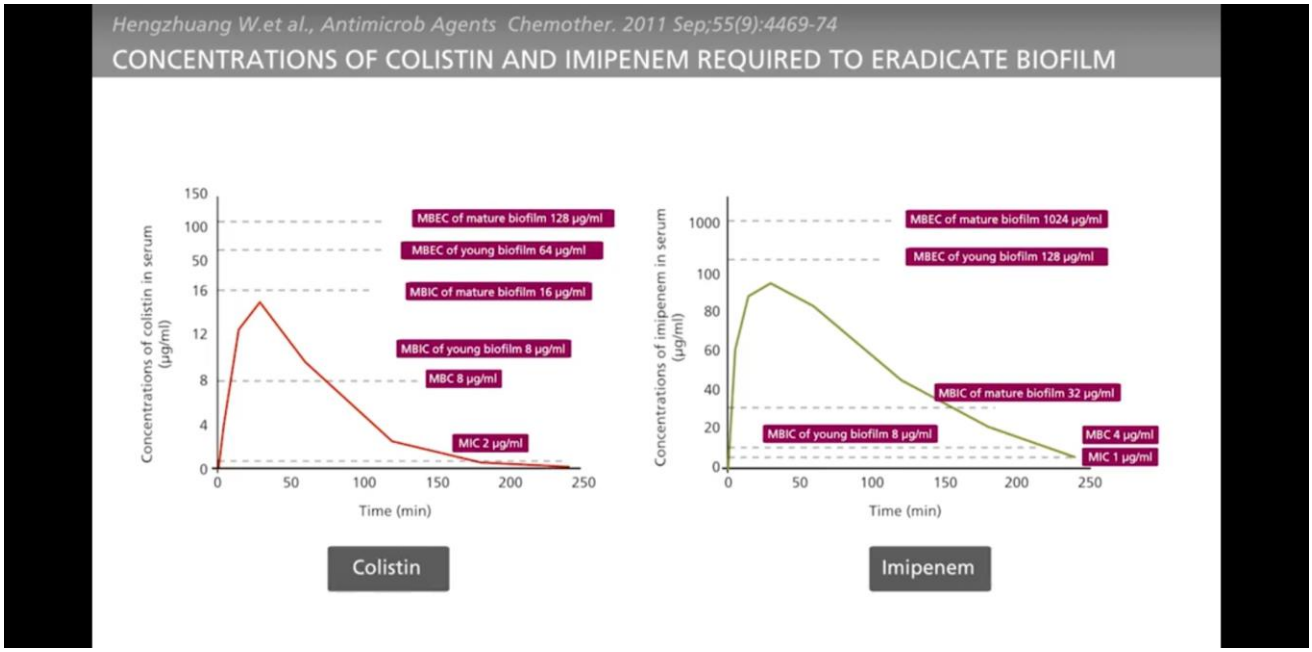
هناك طريقتان شائعتان لاختبار فعالية الصاداتعلى البيوفيلم المتشكل

PEG METHOD OR CALGORY BIOFILM DEVICE: غير مثالي ولاينتج بيوفيلم مشابه للموجود في جسم الكائن الحي في الرئة المتليفة كيسيا

ALGINATE BEADS



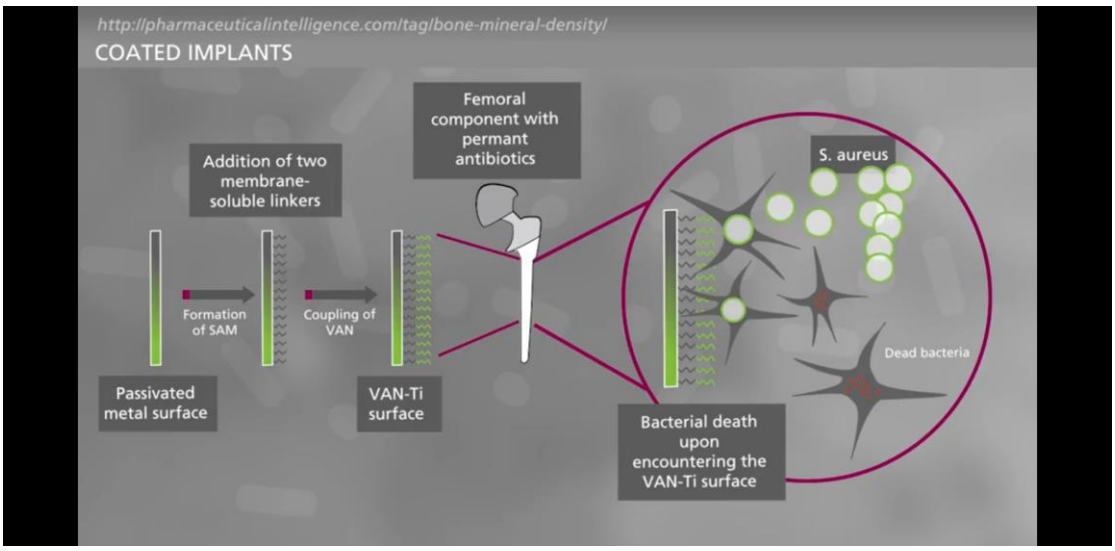
MBEC من الصعب الوصول له في جسم الكائن الحي بسبب الاثار الجانبية والسمية للصاد في المخطط التالي نشاهد ال MBEC for two antibiotics في مخطط الايميبينيم والكوليستين نشاهد تركيز الصاد فينماذج حيوانية كما نرى أن أعلى تركيز في الكائن الحي هو أقل من من MBEC ومن هذا نستنتج انه من المستحيل قتل البيوفيلم باستخدام العلاج الاحادي للصادات الحيوية بالاطاء الجهازي



ولكن يمكن الوصول لهذا التركيز العالي من الصاد الحيوي في موقع الاصابة من خلال الاستنشاق او اعطاءات موضعية أخرى على سبيل المثال الإسمنت العظمي او العظم المطلي بصاد حيوي لالتهاب العظم والنقي .

الزرعات المغلفة بالصاد الحيوي نستطيع استخداهها لمنع تشكل البيوفيلم .

ونرى في الصورة التالية الفانكومايسين وهو دواء مرتبط برابطة تساهمية بزرعة تيتانيوم



العلاج الموضعي يمكن أن يزودنا بتراكيز عالية من الصاد الحيوي في موقع الاصابة بالبيوفيلم متجنبين التاثيرات الجانبية والسمية .

الخرز في الصورة السابقة الذي يحرر الصاد الحيوي مزروع في موقع الاصابة العظمية بالبيوفيلم .

الحركية والديناميكا الدوائي:

بارانترات الصادات الحيوية المعتمدة على الوقت –جرعة- تركيز .والتي وثقت للجراثيم المفردة أيضا تم توثيقها للبيوفيلم ولكن بجرعات اعلى ووقت أطول للعلاج.

ولكن هناك استثناء لهذه القاعدة وهو صادات البيتالاكتام والتي تأثيرها على البيوفيلم يتغير من المعتمد على الوقت إلى المعتمد على التركيز إذا كانت الجراثيم منتجة للبيتالاكتاماز.

لو أن الزائفة االزنجارية انتجت كميات منخفضة اساسية من البيتالاكتاماز فإن بارامترات الحركية والديناميكا لن تتغير وتكون معتمدة على الوقت بالنسبة للجرثيم المفردة والبيوفيلم .

على أي حال فإن التراكيز العالية من الصادات الحيوية والفترات الطويلة من التأثير مطلوبة لقتل البيوفيلم مقارنة بالجراثيم المفردة.

الاعطاء السمتمر من الصادات الحيوية سيكون له تأثير أفضل في حال علاج البيوفيلم حيث سيتعرض في هذه الطريقة لوقت اطول لتراكيز فوق الMBIC

على أي حال حتى الان لا يوجد دليل كافي للاعطاء المستمر للاستخدام الروتيني.

الاعطاء المستمر يستخدم عند المرضى الذين لم يستجيبوا على طرق التجريع التقليدية أو أنهم أصيبو بالزائفة الزنجارية المقاومة للعديد من الادوية .

في حالة الافلام الحيوية المتشكلة بواسطة الزائفة التي تنتج مستويات عالية اساسية من البيتالاكتاماز عندها الحركية والديناميكا الدوائية تتغير من المعتمد على الوقت إلى التركيزلذلك فإن المعالجة بمركبات ثابتة تجاه البيتالااكتاماز مثل الميرو بينيم أو بشكل مشاركة مع مثبطات البيتالاكتتاماز مثل

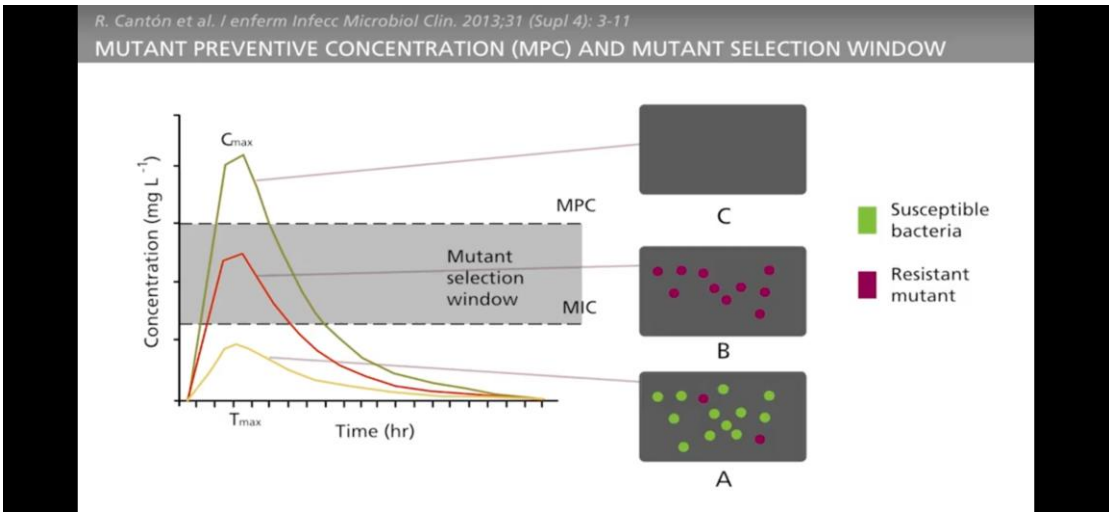
CLAVULANIC ACID –TAZOBACTAM-SULBACTAM

يمكن أن يحسن اختراقية الدواء داخل البيوفيلم .

بجانب التحمل للصادات الحيوية فإن الأفلام الحيوية وبسبب استدامتها فهي بيئة مفضلة لتطوير مقاومة للصادات الحيوية .

بالنسبة للجراثيم المفردة المنماة في وسط زرعي فإن تركيز الوقاية من الطفرات هو تركيز الصاد في موقع الإصابة الذي لايختار لاجل طفرات المقاومة .

إن مدى التراكيز بين أدنى تركيز مثبط والتركيز الذي يقي من الطفرات يدعى نافذة اختيار الطفرات وهذا يعني أن تراكيز الصادات داخل هذه النافذة غير كافي لقتل كل الجراثيم الموجودة في اللوحة (سي) لكن بدلا من ذلك تختار لها طفرات مقاومة مشاهدة في اللوحة (بي).



إن القدرة العالية على التطفر في البيوفيلم تفضل التطور التدريجي للمقاومة .

وكنتيجة لما سبق نستنتج أن التركيز الواقي من الطفرات يتزايد في حالة البيوفيلم وبالتالي توسيع النافذة .

أهمية الحركية والديناميكا الدوائية للعلاج الموصى به:

علاج البيوفيلم بواسطة الجمع بين العلاجات وهذا الجمع اختير على أساس التأثير على المجموعات الفرعية في البيوفيلم مثل السيبروفلوكساسين الذي يستهدف الخلايا الفعالة استقلابيا والكوليستين الذي يستهدف الخلايا غير الفعالة استقلابيا وهذين العلاجين تم استخدامهما منذ عام 1989 في نماذج جامعة كوبنهاغن للعلاج المتناوب للإصابة بالزائفة لمريض رئة متليفة كيسيا .

الكوليستين مستنشق والسيبروفلوكساسين فموي ونستخدمهم لمدة اطول وبجرعات أعلى لدى لدى عودة الإصابة الجرثومية .

ولقد وجد في مرض التليف الرئوي أن الجمع بين الكوليستين والتوبرامايسين بالطريق الاستنشاقي ينقص بشكل مميز من حجم الإصابة في الدراسات على الحيوان والمخبر لقتل الزائفة الزنجارية .

العلاج المشترك : يقي من تطور المقاومة الجرثومية خاصة عندما يكونون جراثيم ذوات قدرة عالية على التطفر .

هناك تحديات إضافية لعلاج الافلام الحيوية بالصادات الحيوية وهي ظروف البيئة المتواجدة فيها الافلام الحيوية على سبيل المثال تركيز الاوكسجين المنخفض في المخاط لمريض التليف الرئوي أو في الزرعات العظمية يمكن أن يضعف تأثير بعض الصادات لأن التأثيرات الجانبية للجراثيم تعتمد على انتاج أنواع الاوكسجين التفاعلية لذلك الجمع بين الصادات مع مركب يعطل بينة البيوفيلم هو خيار علاجي اخر مقترح من الدراسات المخبرية .

وتمت ملاحظة الدنا في الماتريكس حزء هام في الافلام الحيوية للزائفة الزناجرية وبذلك يكون العلاج بحالات الدنا أو الالجينات يمكن أن يحسن اختراقية الصادات في البيوفيلم

مشاركة أخرى تتضمن الجمع بين أدوية مضادة للزائفة مثل الماكروليدات مثل الازيتروميسين وهذه المشاركة قدمت في جامعة كوبنهاغن في عام 2001 وهناك اقتراح أن تأثيرها متعدد العوامل:

- متعلق بتثبيط إدراك النصاب
- متعلق بفعالية مضادة للالتهاب
- متعلق بتثبيط الألجينات

<u>طرق الإعطاء:</u>

اعتمادا على موقع البيوفيلم مثلا إذا كانت الاصابة تقع في أجزاء مختلفة من الطرق الهوائية مثلا في الجيوب الانفية والمنطقة الغربالية والمنطقة التوصيلية للهواء في الرئة والمنطقة التنفسية في الرئة.

ولعلاج هذه الافلام الحيوية غير المتجانسة للزائفة عندها نجمع بين علاجات موضعية مثل أجهزة الاستنشاق للجيوب (بخاخات الضبوبات)تستخدم لعلاج الطرق التنفسية العلوية .

وهذا النوع من الاستنشاق يجب ان يترافق مع استنشاق رئوي لعلاج الاصابة في المنطقة التوصيلية في الرئة بالاضافة الى المشاركة مع مع الاعطاء الجهازي فمويا او وريديا للصاد حيوي من أجل الوصول للمنطقة التنفسية من الرئة .

INHALATION DEVICE
FOR SINUSES

(PARI-SINUS NEBULIZER)

هناك مشكلة مهمة في ترجمة المعلومات المعطاة في نماذج الاطباق في المخبر للافلام الحيوية الواقعية هو أن الافلام الحيوية الموجودة في جسم الكائن الحي لديها تنوي بنيوي ضخم في الحجم والشكل والتركيب والماتريكس وهذه جميعها تمثل تحدي للعلاج بالصادات الحيوية .

خلاصة :

- يمكن إيقاف الافلام الحيوية من خلال العلاج الكثيف الباكر بالصادات الحيوية سواء للعلاج أو الوقاية.
- يمكن إزالة البيوفيلم بالعمل الجراحي
- العلاج يكون بالجمع بين الادوية التي تمارس تأثير تأزري على مجموعات مختلفة من جراثيم الافلام الحيوية .

تشخيص الاصابات المزمنة

تشخيص الإصابات المزمنة الجرثومية هو بنفس صعوبة علاجها

هناك ثلاث قضايا رئيسية عندما نتكلم عن تشخيص الإصابات المزمنة الجرثومية بالافلام الحيوية :

1-عينة الجراثيم

2- تحديد الجراثيم في العينة

3- إثبات فيما إذا شكلت الجراثيم بيوفيلم

في الإصابات المزمنة الجرثومية في حالة التليف الكيسي من السهل جدا الحصول على عينات جيدة بسبب ان المرض يقومون بالسعال ويخرجون القشع في كل وقت ومن السهل جدا أن انقوم بالزراعة وتشخيص الجرثوم هنا.

لكن هذه ليست الحالة في الاصابات المزمنة الاخرى حيث يكون من الصعب أخذ العينات والتشخيص والزراعة فقط المثال السابق هو الاستثناء والبقين صعبين

المراجع:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14000901

https://academic.oup.com/femspd/article/65/2/215/681757

https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-4939-0467-9_17

https://www.researchgate.net/publication/8661019_Bacterial_Biofilms_From_the_Natural_Environment_to_Infectious_Diseases

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4231143/

https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X14002828

https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0020492
https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.2012.1976

https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.0607651104

https://www.coursera.org/learn/bacterial-infections

https://www.coursera.org/learn/antimicrobial-resistance#:~:text=The%20course%20will%20cover%20the,dissemination%20and%20how%.20that%20happens

https://altibbi.com/%D9%85%D8%B5%D8%B7%D9%84%D8%AD%D8%A7%D8%AA-%D8%B7%D8%A8%D9%8A%D8%A9/%D8%B9%D9%84%D9%85-%D8%A7%D9%84%D8%A7%D8%AD%D9%8A%D8%A7%D8%A1-%D8%A7%D9%84%D8%AF%D9%82%D9%8A%D9%82%D8%A9/%D8%AC%D8%B1%D8%A7%D8%AB%D9%8A%D9%85