

أنتاج المضادات الحيوية :Production of Antibiotics

الاحياء المجهرية المنتجة للمضادات:

الآكتينوميكسيتات Actinomycosis

وهي تنتج أكثر من 2080 نوعاً في المضادات الحيوية ويضطلع جنس *Streptomyces* بإنتاج حوالي 90% منها. تليه بقيته الأجناس التابعة لهذا المجموعة .

الفطريات Fungi :

وتنتج حوالي 70% وينتج حوالي 40% من قبل الفطريات الكيسية وحوالي 45% من الفطريات الناقصة.

البكتريا Bacteria

وتنتج أكثر من 360 مضافاً حيويًا ويقوم جنس العصيات بإنتاج حوالي 47% ثم يليه جنس *Pseudomonas*.

النباتات Plants:

أن العديد من النباتات تحوي مركبات لها تأثير المضادات الحيوية وقد اطلق عليها مصطلح عام *Phytocides* ويشمل العديد المواد المختلفة التركيب الكيماوي ومن المضادات النباتية

- Allicin

- Raphanin

- Pisatin

الحيوانات Animals:

أن طبيعة هذه المضادات تختلف فيما بينها فهي تكون مواد بروتينية أو انزيمات أو مركبات حيوية أخرى ومن أهمها :

- Lysozyme

- Interferon

- Erythrin

استعمالات المضادات الحيوية :

للمضادات الحيوية استعمالات عديدة يمكن مصدرها بما يلي:

- النواحي العلاجية البشري

- النواحي العلاجية البيطرية

- معالجة النباتات من الإصابات البكتيرية , الفيروسية , الفطرية.

- استعمال المضادات الحيوية في حفظ الأغذية دون التأثير على الطعم والنكهة وخاصة الأغذية المعلبة ,

حفظ الأسماك , حفظ اللحوم , حفظ الحليب ومنتجاته.

- استعمال المضادات كمنشطات لنمو الحيوانات حيث تضاف إلى العلف بتركيز أقل من تلك المستعملة

للعلاج بحدود 1-10 ملغم / كغم من العلف

أنتاج المضادات الحيوية

تتم أغلب عمليات إنتاج المضادات الحيوية باستخدام المزارع الغاطسة الهوائية للأحياء المجهرية وبما أن المضادات الحيوية هي مواد إضوية ثانوية وعليه فإن المراحل الأولى تركز لإنتاج الكتلة الحيوية ثم تليها العمليات الإنتاجية لكنها تشترك بخطوط عريضة .

بطريقة المزارع الغاطسة الهوائية تمنى الأحياء المجهرية داخل الوسط الغذائي وباستمرار لتحريك والتهوية ويمكن أن تحور الطريقة فتلائم الإنتاج منها:

1. استعمال مزارع الدفعة الواحدة
2. استعمال مزارع الدفعة الواحدة مع التعويض المستمر وفيها يسحب على فترات بحدود 30-60% من حجم الوسط التخثير وهذا يعوض باضافة وسط جديد.
3. طريقة الزراعة المتسلسلة وفيها تستعمل عدة مخمرات متسلسلة وتزرع الاحياء في المخمر الاول في وسط غذائي جديد وبعد ان تنمو الى مرحلة معينة تنقل الى مخمر ثاني وثالث وتطبق فيها ظروف اخرى اما المخمر الاول فيعاد ملئه بوسط غذائي جديد ملقح تو بالاحياء المجهرية

الايوساط الغذائية وتعقيمها:

- لكل مضاد حيوي وسط خاص به لكن كل الاوساط يجب ان تتصف بما يلي:
1. ان تكون مكوناته مواد اولية رخيصة ومتوفرة.
 2. ان تكون الاوساط تساعد على انتاج اكبر كمية ممكنة
 3. ان تكون مكونات الوسط ذائبة وسهلة الترشيح
 4. ان تكون ملائمة لأجراء عمليات الفصل والتنقية عند انتهاء التخثير

تحضير اللقاحات :

ان تحضير اللقاحات يعتبر اساساً لتخليق المضادات الحيوية بواسطة التخثير . أنتاج المضادات الحيوية بواسطة الاحياء المجهرية يعتمد على اللقاح من حيث الكمية والنوعية فالقاحات يجب ان تنمي في اوساط غذائية غنية لغرض ضمان الوصول الى حالة فسلفة جيدة .
تبدأ عملية تحضير اللقاح على الاوساط الصلبة المائلة ثم تنتقل الى دوارق هزازة اي الانتقال من الوسط الصلب الى السائل ثم تنتقل الى مخمرات صغيرة ثم مخمرات الانبات التي تكون محتوياتها ذات نسبة عالية من حجم المخمر الانتاجي .

العوامل المؤثرة على أنتاج المضادات الحيوية :

1. العوامل الغذائية Nutritional factors:

يتأثر انتاج المضادات الحيوية كما و نوعاً بكمية المواد الغذائية وطبيعية العوامل الداخلة في تركيب الوسط الزراعي. يتميز نمو الاحياء المجهرية المنتجة بطورين الاول الطور اللوغارتمي الذي يتميز باستهلاك الكائن الحي للمواد الغذائية يرافق نمو سريع في أنتاج المواد الايضية الاولية Primary metabolism والطور الثاني طور الثبوت Stationary phase حيث تستهلك جميع المواد الغذائية . المختصون في الايض الثانوي يطلقون مصطلح الطور الغذائي Trophophase على طور النمو السريع والطور المنفصل Idiophase على طور الثبوت ويسمى ايضاً التي ينتج فيه المضادات الحيوية بطور الانتاج Production phase. إن انتاج المضادات الحيوية تبدأ في نهاية الطور اللوغارتمي وفي هذا الطور تحدث تغيرات في نوعية الانزيمات الموجودة في خلايا الاحياء المجهرية وظهور الانزيمات الخاصة بإنتاج المضادات الحيوية.

• المصدر الكربوني carbon source

ان اليه سيطرة المصدر الكربوني carbon regulation على المنتجات الايضية الثانوية تكون عن طريقين.

1. كبح عملية الايض Catabolite repression

وفي هذه الحالة يتم تثبيط انتاج الانزيمات المساهمة في انتاج المضادات الحيوية كما في Actinomycin

2. تثبيط عملية الايض Catabolite inhibition وفيها يتم تثبيط فعالية الانزيم المساهم في انتاج المضاد الحيوي كما في حالة المضاد الحيوي Inodolymycin

- المصدر النتروجين Nitrogen source
ان انتاج المضادات الحيوية يثبط بالاستهلاك السريع المصدر النتروجين.
- الفوسفات اللاعضوية Inorganic phosphate
ان اضافة الفوسفات اللاعضوية بكميات كبيرة الى وسط يؤدي الى تقليل الانتاجية .
- الكبريت Salphut
وهو مهم بناء البروتينات ومرافقات الانزيمات.

العوامل البيئية

1. درجة الحرارة Temperature
2. درجة الحموضة pH
3. التهوية

خطوات انتاج مضاد البنسلين :

يمكن اجمال عمليات انتاج المضادات الحيوية ونأخذ انتاج البنسلين كما موضح بالخطط ادناه كمثال لإنتاج المضادات الحيوية كما في الشكل ادناه

تنقية واستخلاص المضادات الحيوية

التنقية :

ان المضادات التي تستعمل للأعراض العلاجية يجب ان تكون على درجة عالية من النقاوة بحدود 95-98% ويمكن تلخيص التنقية بالخطوات التالية :

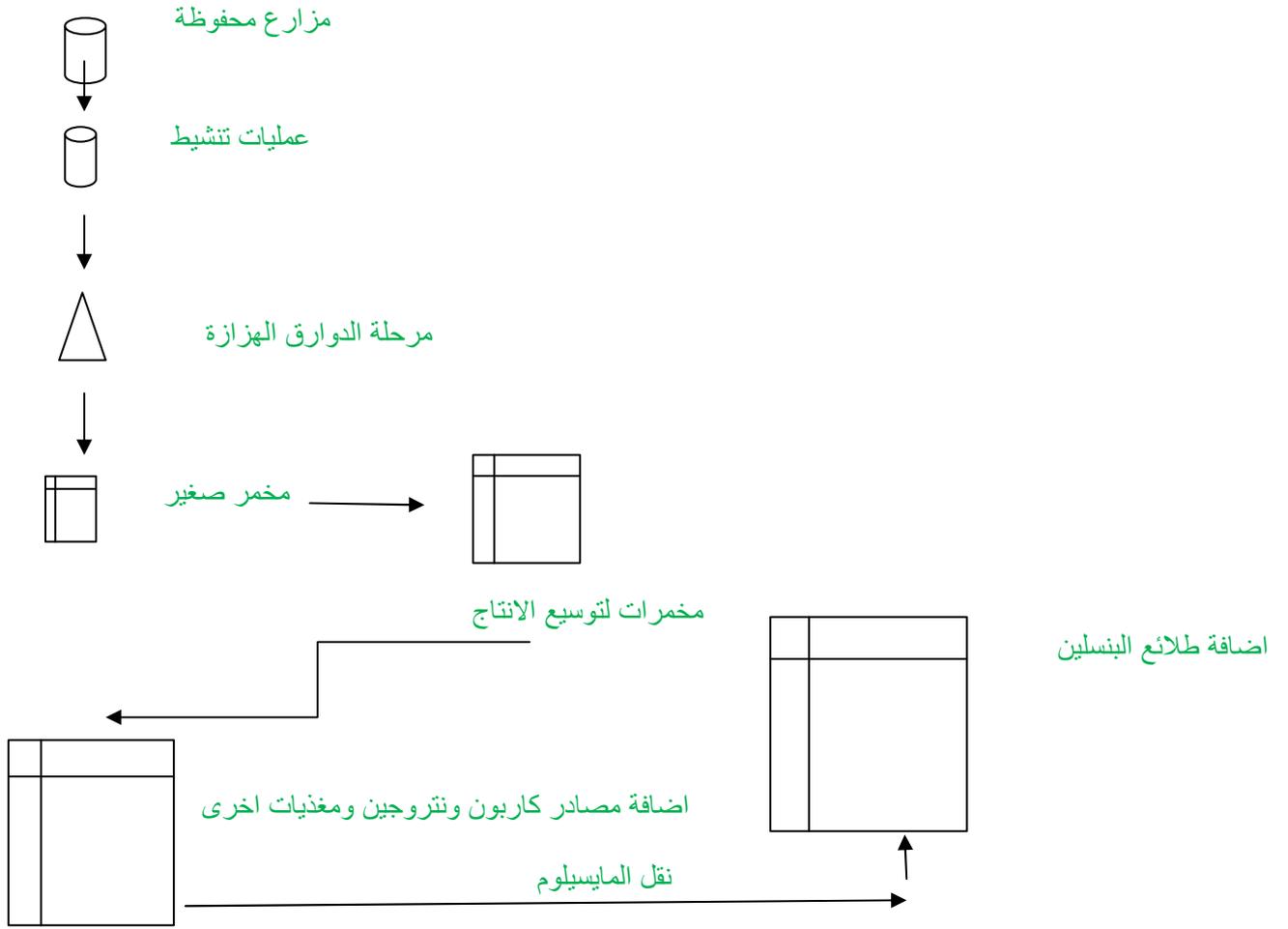
1. فصل الخلايا المنتجة والمواد الصلبة الغير ذائبة من وسط التخمير بواسطة الترشيح او الطرد المركزي
2. العزل الاولي ويتم بامتزاز المضاد على مواد مازة او استخلاصها بالمذيبات او الترشيح الفائق او الترسيب
3. عملية التنقية والفصل باستخدام مبادلات الايونية او طرق الكروماتوغرافي
4. عمليات الفصل النهائية بواسطة البلورة او طرق كروماتوغرافي او الفصل على اساس الوزن الجزيئي

الاستخلاص :

يتم بواسطة المذيبات وإعادة نقلها من مذيب الى اخر وفي كل مرة نتخلص من جزء من الشوائب ثم بعد ذلك يتبلور او يترسب.

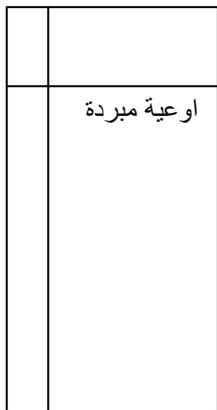
الترسيب:

وتعتمد الطريقة على ربط المضاد الى مادة عضوية او معدنية للحصول على مركب غير ذائب الذي يمكن ان يفصل بواسطة الترشيح او الطرد المركزي ثم يغسل الراسب ويجفف ويستخلص منه المضاد



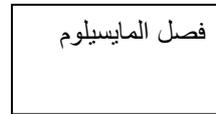
تنمية المايسيلوم (عملية ايض اولي)

مرحلة الانتاج (عملية ايض ثانوي)



وسائل تبريد

عملية تنقية واستخلاص



مجمل العمليات الانتاجية للبنسلين

السيطرة على المضادات المنتجة:

بعد الانتهاء من انتاج المضاد بكافة خطواته التي يجب ان تتم تحت ظروف معقمة صارمة لابد من اجراء بعض الفحوصات لاختبار صلاحيتها واحتفاظها بالتعقيم ومن هذه الفحوصات :

1. فحوصات التعقيم

ا. تتم تثبيط المضاد وإضافته الى اوساط غذائية وتحضن بدرجات حرارة مختلفة ولفترات ملائمة ويجب ان تخلو بعد فترة الحضن من اي نمو مما يشير الى خلو المستحضر من الاحياء الملوثة.
ب. اما اذا كان المضاد لا يثبط بالطرق الكيميائي عندها تستعمل احياء الاختبار من النوع المقاوم للمضاد وتحضن بدرجة حرارة وفترة ملائمة ثم يجري الكشف ،يجب ان يكون النمو بالأحياء المقاومة فقط وهذا يشير الى خلو مستحضر المضاد من الاحياء المجهرية.

2. الفحوصات الدوائية

ا. اجراء اختبار السمية
ب. توليد الحرارة
وهذه تجرى على الحيوانات المختبرية وكذلك يدرس تأثيرها على اجهزة الحيوان المختلفة مثل التنفس والجهاز العصبي وكذلك تعين LD₅₀ اي الجرعة التي تقضي على 50 % من الحيوانات المختبرية وكذلك الجرعة المميتة LD₁₀₀

3. التعبئة

ثم تعبأ المضادات وتعلم بالملصقات تذكر فيها اسم المركب سواء العلمي او التجاري وتاريخ النفاذية , الكمية الموجودة في العبوة , التركيز , اسم الشركة المنتجة واسم البلد , التحذيرات , افضل ظروف الخزن بعدها يصبح المنتج جاهز للبيع.

تصنيع الفيتامينات :

تعرف الفيتامينات على انها العناصر الضرورية والمهمة لنمو الكائنات الحية والقيام بالعمليات الحيوية في الانسان وبقية الاحياء الاخرى . تقسم الفيتامينات الى A,D والأخرى الذائبة في الماء وتضم فيتامينات C,B وتجهز المجموعة الاخيرة في الغذاء يوميا لكون الزائد منها يطرح خارجا ويعمل قسم منها كمرافقات انزيمية لعدد من الانزيمات . تضم مجموعة فيتامينات B

Cyanocobalamin(B12) , Thiamine(B1) ,Riboflavin (B12)

ويضم B12 مشتقات عديدة بعد Cyanocobalamin اهمها ..

أنتاج فيتامين B2 Riboflavin:

تم فصل فيتامين B2 Riboflavin لأول مرة بصورة نقية من الحليب عام 1879 ولكن تم تشخيصه والتعرف عليه كفيتامين عام 1920 , وهو مركب اصفر برتقالي له طعم مر قليل الذوبان في الماء ثابت اتجاه الحرارة , خاصة في الوسط الحامضي الا انه غير ثابت تجاه الضوء والقلويات .

مصدره :

معظم الاغذية إلا ان الخميرة اغنى مادة يليها الحليب ثم اللحوم والكبد والبيض والأسماك والخضروات الطازجة ،تظهر اعراض نقص هذا الفيتامين عند الاطفال والمسنين في حالة عدم توفر الغذاء وهذه الاعراض تكون عبارة تقرح زوايا الشفتين ، تورم الاسنان ، احمرار قرنية العين.

وظيفته :

- له دور هام في عملية تنفس الخلايا
- له علاقة بعملية التمثيل للكاربوهيدرات والدهون والبروتين
- يساعد الجسم على التخلص من الماء والأملاح بواسطة الكلى
- يقوم بدور مهم في بناء هيموكلوبين الدم
- يساعد على امتصاص مادة الحديد وتمثيلها داخل الجسم

التركيب :

ينتج فيتامين B2 من اتحاد الفلافين (Flavin) Isoalloxazine مع الرايبيتول D-ribitol المشتق من D-ribose ومن هذا اشتق Riboflavin.

يوجد في الطبيعة على هيئة مرافقين انزيمين Coenzyme

FMV =Flavin mononucleotide

FAD= Flavin adenine dinucleotide

إنتاجه

ينتج فيتامين B2 على نطاق التجاري بواسطة :

1. التخليق الكيميائي الكامل
2. التخليق الحيوي الكامل
3. التخليق المختلط ، حيث يتم التخليق الحيوي لسكر الرايبوز ثم تحويله كيميائيا الى فيتامين B2

1. التخليق شبه الحيوي:

تستعمل سلالات مطفرة من بكتريا *Bacillus subtilis* في انتاج الرايبوز الذي اصبح انتاجه بهذه الطريقة اقل كلفة من تحضيره بالطريقة الكيميائية ثم فصل خلايا البكتيريا بواسطة طريقة الترشيح ويعامل الراشح بالمواد الكيميائية وبذا نحصل على Riboflavin

2. التخليق الحيوي الكامل :

ينتج اكثر من 30 % من الانتاج العالمي ل B2 باستخدام الاحياء المجهرية M.O وتصنف السلالات حسب الانتاج الى M.O ، تنتج 100 ملغم/ لتر مثل بكتريا *Clostridium acetobutylicum* اذ تنتج هذه الكمية خلال اربعة ايام .

M.O تنتج اكثر من 500 ملغم / لتر وتشمل *Candida flareri* اذ ينتج 600 ملغم / لتر خلال 7 ايام
M.O تنتج عدة غرامات / لتر وتضم مجموعة من الفطريات الكيسية مثل *Eremothecium* اذ تنتج 5.3 / لتر خلال 5 ايام

سلالة مطفرة من بكتريا *Bacillus subtilis* تنتج حوالي 4-8 مرات مقارنة بالسلالات السابقة .

فصل وتنقية فيتامين :

تعتمد طريقة الفصل والتنقية على استخدام الفيتامينات :

1. في حالة استخدام للعلف الحيواني

- ضبط pH على 4.5 بعد انتهاء التخمير للمزرعة وتجفيفها
- تعامل المزرعة بأنزيم البروتيز البكتيري القاعدي لمدة 3 ساعات على حرارة 60 م
- تجرى عملية الطرد المركزي بعد تبريد المزرعة الى 25 م وضبط pH على 7
- يؤخذ الجزء الصلب ويغسل بالماء ثم يجفف

2. في حالة الاستخدامات الصيدلانية

- ضبط pH على 4.5 بعد انتهاء التخمير للمزرعة
- التسخين على حرارة 121م لمدة ساعة وذلك لاذبة الفيتامينات
- بعد ازالة الاجزاء الصلبة بالطرد المركزي يجرى معاملة السائل المتبقي بعامل مختزل مثل كلوريد التيتانيوم حيث يترسب الفيتامين المختزل والذي يكون اقل ذوباناً من الفيتامين المتأكسد.
- تعاد اكسدته في الهواء ويذوب في 10% HCl عند حرارة 60 م
- بعد اجراء عملية التبريد والتعادل تتم بلورة الفيتامين...