

الميكروبيوتا المستوطنة للعين

THE INDIGENOUS MICROBIOTA OF THE EYE

(١, ٣) تشريح وفسولوجيا العين

Anatomy and Physiology of the Eye

الخصائص التشريحية الرئيسة للعين موضحة في الشكل رقم (١, ٣). وتتكون الطبقة الخارجية لمقلة العين من طبقة ليفية شفافة (القرنية) في المقدمة وطبقة وقائية من النسيج الضام (الصلبة العينية) في الخلف. والمتحممة (طبقة شفافة من جلد معدل) تغطي القرنية، وتبطن كذلك جفن العين وحافة جفن العين. ويتم تزويد الصلبة العينية بالمغذيات عن طريق نسيج وعائي يعرف بطبقة العين المشيمية (نظير المشيمة). وتغطي شبكية العين الثلاثة أرباع الخلفية للسطح الداخلي لمقلة العين وتحتوي على الخلايا الحساسة للضوء، وعليها يتجمع الضوء بواسطة العدسات. وتعرف المنطقة التي تقع أمام العدسات بالفجوة الأمامية وهي ممتلئة بسائل (الخلط أو السائل المائي)، حيث يمد القرنية، القرزحية والعدسات بالمغذيات والأكسجين. وتعرف المنطقة التي تقع خلف العدسات بالغرفة الزجاجية، وهي ممتلئة بهلام شفاف يعرف بالخلط (السائل) الزجاجي.

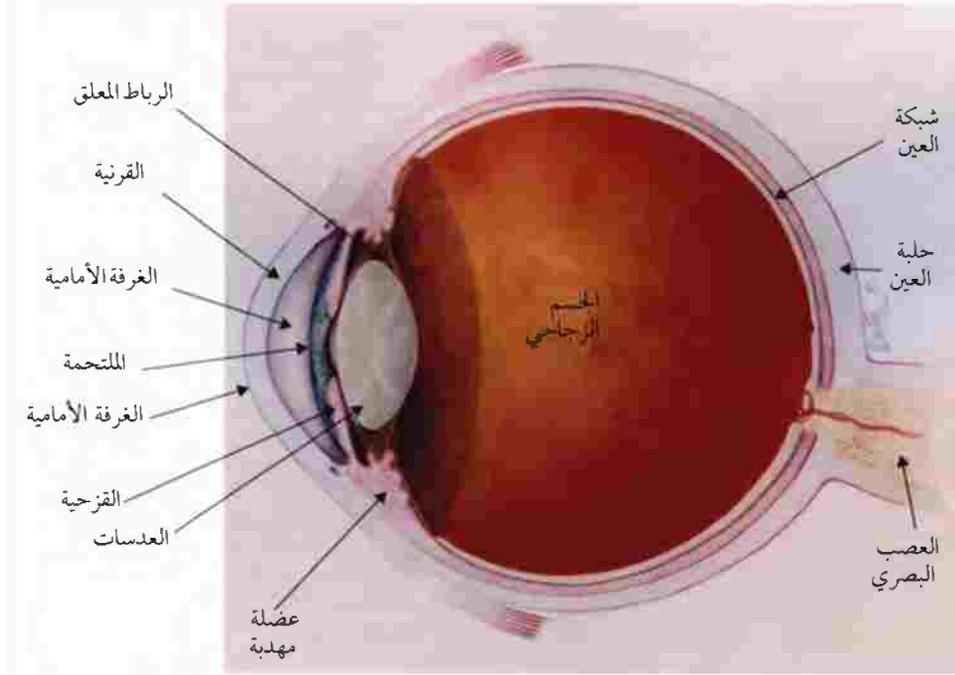
وتحمي رموش وحواجب العين مقلة العين من الأشعة المباشرة للشمس، الأجسام الغريبة، والتعرق. ووظيفة إضافية هامة جداً لجفون العين هي نشر الدموع على مقلة العين أثناء طرفة العين. وتقوم مجموعة من الغدد، الأنابيب والقنوات - تعرف بـ "الجهاز الدمعي" - بإنتاج وتحرير الدموع لمقلة العين (الشكل رقم ٢, ٣).

(٢, ٣) أنظمة الدفاع المضادة للميكروبات للعين

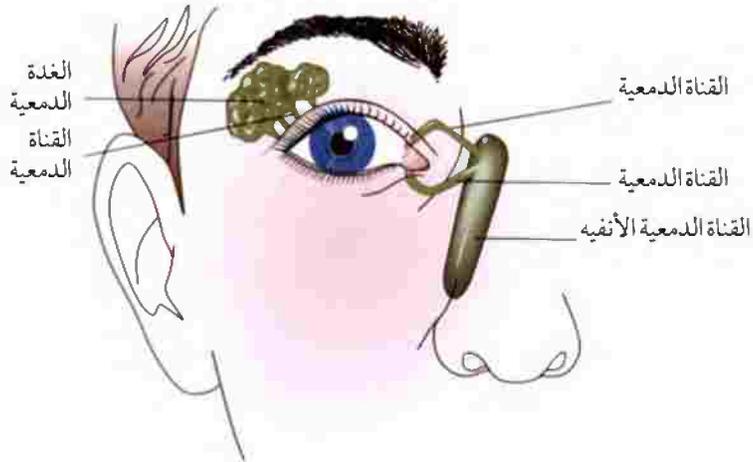
Antimicrobial Defense Systems of the Eye

تقوم جفون العين بحماية المتحممة من الميكروبات بواسطة ثلاث طرق هامة. أولاً، طرفة العين تحمي (والتي تحدث بمعدل طرفة عين كل ٥ ثواني) ضد الأجسام الحاملة للميكروبات. ثانياً، الجفون تقوم بإزالة بقايا الخلايا والخلايا الحرشفية المتساقطة حيثما تتحرك على القرنية، تقوم بتوزيع الدموع (بحجم كلي حوالي ٧ ميكرو لتر للعين

الواحدة) كغشاء رقيق (يعرف بـ "الغشاء الدمعي") على سطح العين. وكما سيرد لاحقاً، فإن الدموع لديها خواص مضادة للميكروبات واسعة النطاق.



الشكل رقم (١, ٣). الخصائص التشريحية للعين والتراكيب المقترنة بها (مخطط مقدم من المعهد الوطني للعيون، المعاهد الوطنية للصحة، بائيسدا، ميريلاند، الولايات المتحدة الأمريكية).



الشكل رقم (٢, ٣). منظر أمامي للجهاز الدمعي. تنتج الغدة الدمعية الدموع حيث تتدفق خلال الأنبوبة الدمعية إلى الملتحمة. وتفرغ الدموع الزائدة إلى التجويف الأنفي عن طريق القنوات الدمعية والأنبوبة الدمعية الأنفية.

إن طلائية الملتحمة هي طلائية حرشفية، طبقية حيث تتكون من بين خمس وسبع طبقات من الخلايا، وهي حاجز فعال ضد الغزو الميكروبي طالما بقيت سليمة. وهي تحتوي على عدد هائل من خلايا جوبليت المفرزة للميوسين فضلاً من الليمفوسيتات الداخل الخلايا الطلائية والخلايا المتفرعة (الدينديرية) (الشكل رقم ٣, ٣).

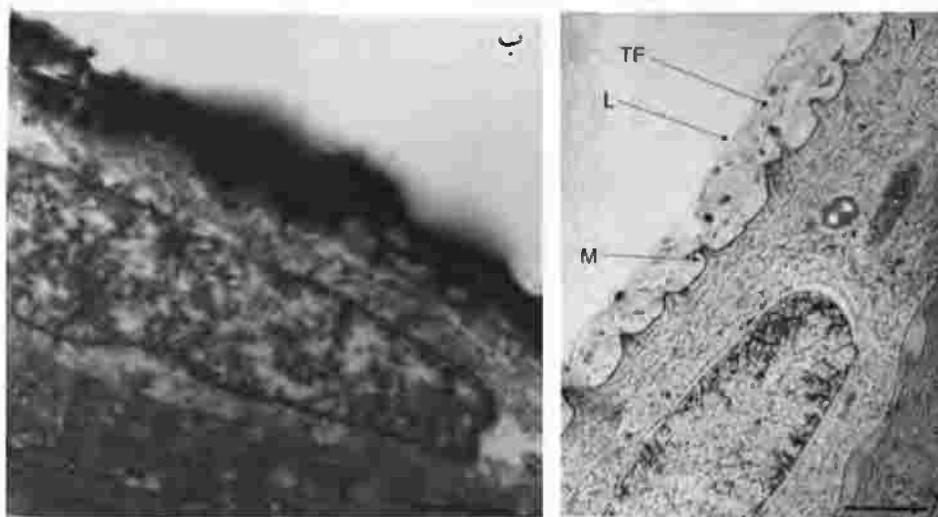


الشكل رقم (٣, ٣). قطاع عرضي في الملتحمة البشرية السليمة. تشير الأسهم إلى اثنين من خلايا جوبليت. صورة مقدمة من مارسيا م. جبيلات، قسم الرمذ وعلم المراثيات، كلية الطب جامعة ليوفيل، ليوفيل، كنتاكي، الولايات المتحدة الأمريكية.

والأغشية السيتوبلازمية للخلايا الطلائية للطبقة الخارجية ذات ثنيات عديدة (تعرف بـ "ثنيات دقيقة")، حيث تبرز لمسافة ٠,٥-٠,٧٥ ميكرومتر. وتعمل هذه على زيادة المساحة السطحية، وبالتالي تساعد على حركة المغذيات والفضلات عبر أغشية الخلايا فضلاً عن المساعدة على استقرار الغشاء الدمعي الذي يغطي الملتحمة.

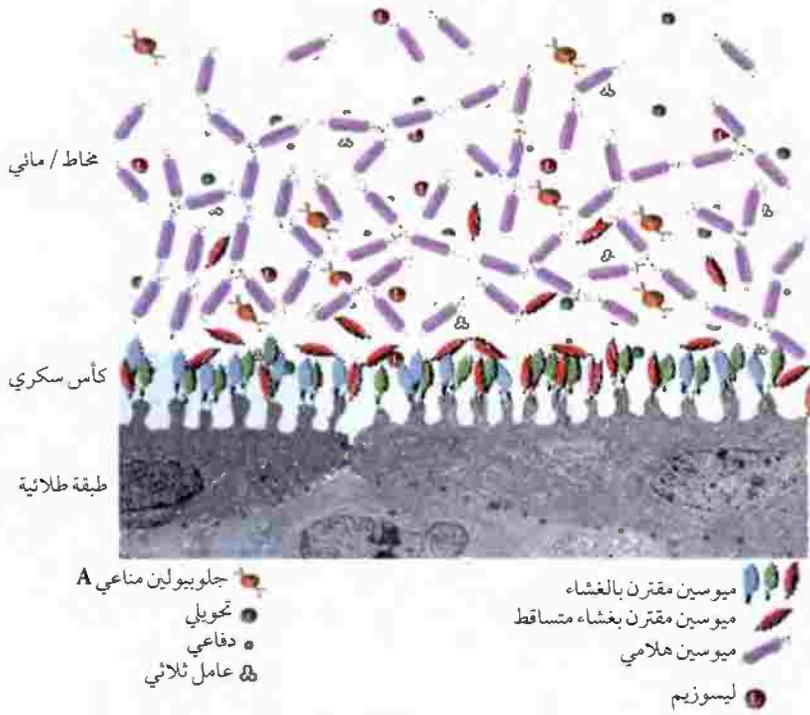
ويقوم الغشاء الدمعي بحماية الملتحمة من الجفاف، الميكروبات، والجسيمات (الشكل رقم ٤, ٣). ويعتمد سمكه على عدد من العوامل بما في ذلك السن، والجنس، ووقت آخر طرفة عين، ودرجة الحرارة، والرطوبة النسبية للبيئة. وتتراوح التقديرات من ٢,٧-٤,٦ ميكرومتر، ولا يرجع هذا التفاوت الواسع للعوامل سالفة الذكر فقط، ولكن أيضاً نتيجة اختلاف طرق القياس. وهناك بعض البراهين التي من شأنها أن تقترح أن الغشاء الدمعي يتكون من ثلاث طبقات - طبقة دهنية، وطبقة مائية، وطبقة مخاط - على الرغم من أن بعض العلماء قد اقترحوا أن الطبقتين الأخيرتين لا يمكن تمييزهما ولكنها تندمجان ببعضهما البعض (الشكل رقم ٥, ٣).

وسمك الطبقة الدهنية يكون بين ٠,٦-٢,٠ ميكرومتر، وتتكون من دهون فوسفاتية (فسفوليبيدات) ودهون متعادلة- تترام الأولى على السطح الهوائي البيئي، بينما تكون الأخيرة متلامسة مع الطبقة المائية السفلية. وتفرز الغدد الجفنية للجنف العلوي الدهون.



الشكل رقم (٤، ٣). (أ) صورة بالمجهر الإلكتروني القاطع للطبقة الطلائية لقرنية فأر، توضح الغشاء الدمعي (TF)، بما في ذلك الطبقة الدهنية (L)، على سطحها الخارجي. ويمكن كذلك رؤية الشايبا الدقيقة (M) بوضوح. (ب) عينة أخرى بعد التثبيت في الجلوتوترالدهيد وحمض التنيك، توضح الغشاء الدمعي كطبقة داكنة على سطح الطبقة الطلائية للقرنية. شريط المقياس ١ ميكرومتر، من: Tran, C.H., Routledge, C., Miller, J., Miller, F. and Hodson, S.A. (2003) *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*, 44, 3520-5. حقوق الطبع ٢٠٠٣م محفوظة لائحاد أبحاث الرمد والرؤية، ميريلاند، الولايات المتحدة الأمريكية، مستنسخة بتصريح من اتحاد أبحاث الرمد والرؤية عن طريق مركز حفظ حقوق الطبع.

ولهذه الطبقة ثلاث وظائف رئيسية: (١) تمنع تبخر الطبقات المائية السفلية، (٢) تسهل من انتشار الطبقات المائية نتيجة خواصها السطحية النشطة، (٣) يتعلق بها جسيمات الغبار، وبالتالي تحمي الطبقة الطلائية من خواصها الجليدية. وتحت الطبقة الدهنية تقع الطبقة المائية (بين ٤ - ٧ ميكرومتر من حيث السمك)، والتي تنتجها الغدد الدمعية وطلائية الملتحمة. وفضلاً عن المغذيات والمخرجات من الطبقة الطلائية، فإن الطبقة المائية تحتوي كذلك على جزيئات مستجيبة خاصة بأنظمة الدفاع المناعية الطبيعية والتكيفية، أي أجسام مضادة، إنزيمات، وبيبتيدات مضادة للميكروبات. ووظيفتها الأساسية هي ترطيب، تغذية، وإمداد طلائية الملتحمة بالأوكسجين وكذلك حمايتها من الميكروبات والإتلاف المادي. وتندمج هذه الطبقة المائية مع الطبقة المخاطية التي تقع تحتها، وهي الطبقة الداخلية وأكبر الطبقات الثلاثة من حيث السمك، وذات عمق بين ٣ - ٣٠ ميكرومتر.



الشكل رقم (٥, ٣). تتكون الطبقة الخارجية للغشاء الدمعي من دهون وهي تغطي طبقة مائية تحتوي أساساً على ميوسينات وبروتينات، مكونات دفاعية مضادة للميكروبات (مثل، ليسوزيم، IGA، دفاعيات، ترانسفيرين، إلخ)، وجزئيات أخرى. وتندمج الطبقة المائية مع طبقة المخاط، والتي تحتوي على تركيز أعلى من الميوسين المكون للهلام، MUC5AC فضلاً عن عوامل ثلاثية الشكل (بروتينات ضالعة في إصلاح وحماية الغشاء المخاطي). يتواجد تحت هذه الطبقة الكأس السكري للخلايا الطلائية للملتحمة. مستنسخة بتصريح من إلسيفر، أمستردام، هولندا (٢٠٠٤م)، من: Gipson, I. K. (2004).

Exp Eye Research 78, 379-88

وتنتج الخلايا الطلائية الحرفية وخلايا جوبليت للملتحمة الطبقة المخاطية، والتي تحتوي على نسبة عالية من الميوسينات التي ترتبط بالميكروبات، وبالتالي تعوقهم من الالتصاق بالتركيبة البصرية الكامنة أسفلها. وهناك نوعان من الميوسينات في الطبقة المخاطية - أحدهما مرتبط بالغشاء والآخر ذائب. والميوسينات المرتبطة بالغشاء (تنتجها الخلايا الطلائية الحرفية) قد حددت على أنها MUC4، MUC1، و MUC16، بينما قد تبين أن الميوسينات الذائبة الرئيسية - ميوسينات تكون هلام (تفرزها خلايا جوبليت) - هي MUC5AC. وقد تتواجد كذلك كميات صغيرة من الميوسينات الذائبة الأخرى (MUC2 و MUC7). والميوسينات المكونة للهلام (MUC2 و MUC5AC) تكون شبكة تغطي الملتحمة وهذه تعلق أو تصطاد الميكروبات، الأجسام الغريبة والخلايا الطلائية المتقشرة. وتسبب طرفة العين انهيار الشبكة إلى خيط وحيد، حيث يدفع إلى الزاوية الداخلية للعين. وتصبح بعد ذلك مضغوطة في شكل كتل صغيرة، وتدفع إلى

الجلد حيث تجف، وفي النهاية إما أن تسقط أو تزال بالفرك. ومن ثم فإن الميكروبات والأجسام الغريبة والبقايا يتم إزالتها من على سطح الملتحمة بشكل منتظم. والمصادر لمختلف مكونات الغشاء الدمعي موضحة في الشكل رقم (٦، ٣).



الشكل رقم (٦، ٣). مكونات الغشاء الدمعي ومصادرها. مستنسخة بتصریح من إلسيفر، أمستردام، هولندا (٢٠٠٦م)، من:

.Paulsen, F.P. and Berry, M.S. (2006) Mucins and TFF peptides of the tear film and lacrimal apparatus. *Prog Histochem Cytochem* 41, 1-53

يحتوي الغشاء الدمعي على مجموعة من المركبات المضادة للميكروبات (الجدول رقم ٦، ٣ والشكل رقم ٧، ٣)، حيث تبين أن الدموع تقوم سريعاً بقتل نطاق واسع من الكائنات الحية.

تحتوي الدموع على مستويات عالية من الجلوبيولين المناعي الإفرازي A (sIgA)، بينما يتواجد IgE و IgG كذلك ولكن بتركيزات أقل. ونادراً ما يرصد الـ IgM و IgD. ويمثل الـ IgA ١٧٪ تقريباً من المحتوى البروتيني الكلي، وله عدد من الوظائف الوقائية (الجدول رقم ١، ٣). وتمثل المستقبلات الشبيهة بالناقوس (TLRs) مكونات مهمة للاستجابة المناعية الطبيعية (انظر الفقرة ٤، ٢، ١)، وقد رصدت في كلٍّ من الملتحمة (TLR4، TLR2، و TLR9) والشكل رقم ٨، ٣) والقرنية (TLR1، ٢، ٣، ٤، ٥، ٦، ٧، ٨، ٩، و ١٠).

(٣، ٣) المحددات البيئية على سطح الملتحمة

Environmental Determinants on Conjunctival Surface

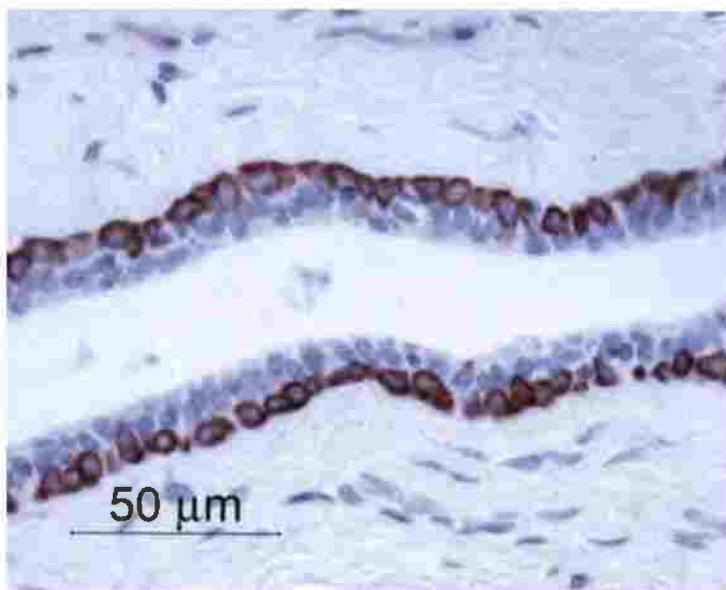
المنطقة الوحيدة من العين التي تستعمرها الميكروبات هي الملتحمة. والمصدر الغذائي الرئيسي المستمد من العائل للميكروبات هو السائل الدمعي، وتركيبه موضح في الجدول رقم (٢، ٣). وتحتوي الدموع على محتوى مائي عالٍ وهي متعادلة التوتر (أيزوتونية) - أسموزيتها ٣٢٠ ملي أسموز/كجم تقريباً. وتنتج بمعدل ١، ٢ ميكرو لتر/دقيقة تقريباً، ولكن قد يزداد هذا المعدل بشكل كبير كاستجابة لمؤثر مادي أو عاطفي. والدمعة الواحدة التي ينتجها شخص ما أثناء البكاء يكون حجمها ٥٠ ميكرو لتر، وينتج عدداً كبيراً من الدموع كل دقيقة.

الجدول رقم (١, ٣). مركبات مضادة للميكروبات التي قد تتواجد في الغشاء الدمعي.

المكون	الأنشطة المضادة للميكروبات
ليسوزيم (٦, ٠-٦, ٢ جم/١٠٠ مل)	يقتل بعض الأنواع موجبة الجرام، ذات تأثير تآزري مع لاكتوفيرين، LL-37, HBD-4
لاكتوفيرين (٢, ٩٠/١٠٠ مل)	HBD-2, SLP1، يجمع البكتيريا
ترانسفيرين إنزيم فوسفوليبيز A ₂ الإفرازي (٥, ٥)	رابط للحديد، لذلك يحد من النمو الميكروبي، قاتل للبكتيريا - تفاعل تآزري مع ليسوزيم Iga- LL-37، والدفاعات البشرية من النوع بيتا، يمنع الالتصاق البكتيري بخلايا العائل، يعزز من نشاط الخلايا القاتلة الطبيعية رابط للحديد ولذلك فهو يحد من النمو الميكروبي قاتل للبكتيريا، تأثير تآزري مع الليسوزيم، يثبط من الالتهاقي الأولي، يثبط من إنزيمات السيرين البروتيزيس التي تحررها النيوتروفيلات، وبالتالي يحمي الأنسجة من هذه الإنزيمات.
الدفاعات البشرية من النوع بيتا (HBD-1, HBD-2, HBD-3) LL-37	قاتل للميكروبات- ذات نشاط ضد البكتيريا، الفطريات والفيروسات
LEAP-1 (بيبتيد-١) الذي تنتجه الكبد، هيسدين LEAP-2	قاتل للميكروبات، يعادل أنشطة LPS وحمض الليبوتيكويك، ذات تأثير تآزري مع الليسوزيم، وهو مميز للنيفروفيلات والمونوسينات قاتل للميكروبات
لاكتوفيرين (٢, ٩٠/١٠٠ مل)	رابط للحديد، لذلك يحد من النمو الميكروبي، قاتل للبكتيريا - تفاعل تآزري مع ليسوزيم، Iga، LL-37، والدفاعات البشرية من النوع بيتا، يمنع الالتصاق البكتيري بخلايا العائل، يعزز من نشاط الخلايا القاتلة الطبيعية يحفز التفاعل بين فوق أكسيد الهيدروجين وثيوثيانات (كلاهما يوجد في الدموع) مما يؤدي إلى إنتاج هيبوثيوسينات- وهو نشط ضد نطاق واسع من الميكروبات
لاكتوبراوكسيديز	

إن المكونات الرئيسة للسائل الدمعي هي البروتينات، حيث قد تم تحديد ما يصل إلى ٤٩١ بروتيناً في السائل الدمعي من شخص واحد سليم. ويوجد جلو كوز و لاكتوز في السائل الدمعي، وهذه يمكن استخدامها كمصادر للكربون والطاقة بواسطة نطاق واسع من الميكروبات، ومع ذلك فإن تركيزاتها المنخفضة تعني أنه من المرجح أن تكون المصادر الرئيسة للمغذيات لميكروبات الملتحمة هي البروتينات، الميوسينات، والدهون الموجودة. وبين

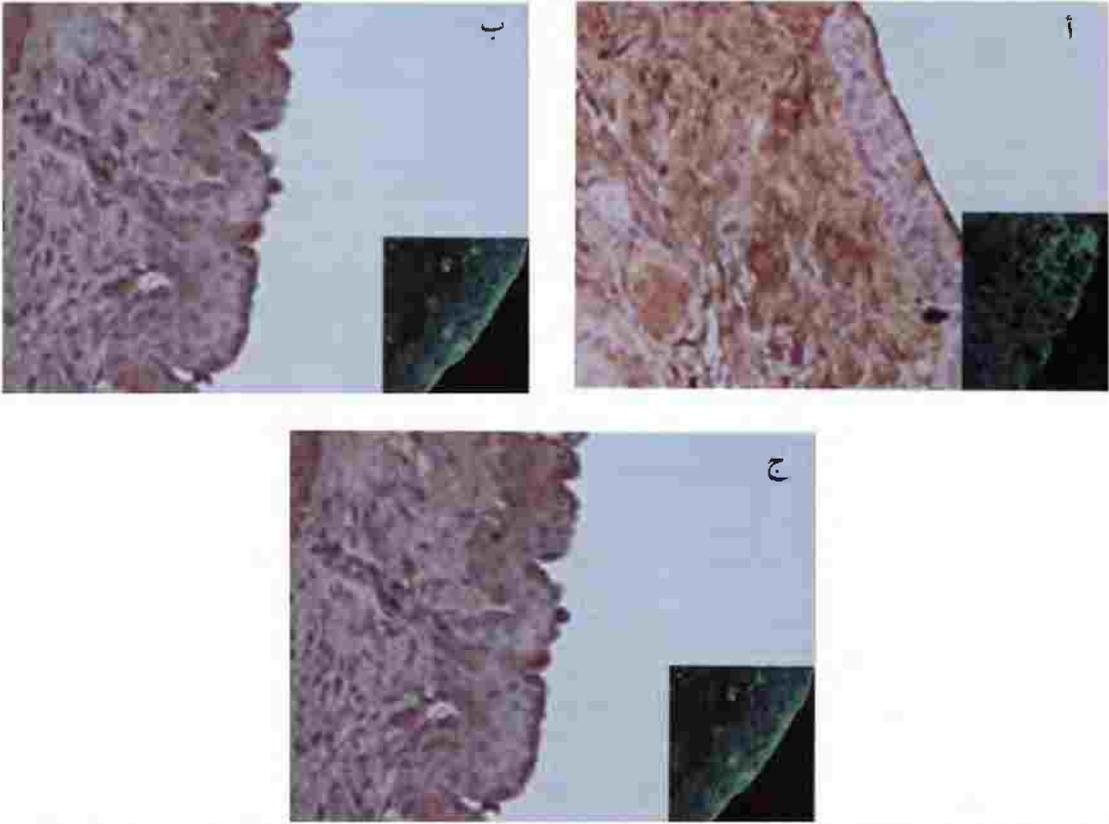
الجدول رقم (٣, ٣) أعضاء ميكروبيوتا العين القادرة على تحليل هذه الجزيئات الكبيرة (أحياناً بشكل جزئي فقط في حالة الميوسينات)، وبالتالي توفر أحماضاً أمينية، وسكريات، وأحماضاً دهنية كمصادر للكربون، والنيروجين، والطاقة. وعدد من البكتيريا التي عزلت من ملتحمات البشر - أساساً السبجيات المسببة للاخضرار - لها القدرة على النمو على ميوسينات العين. وتقوم إنزيمات السياليديزيس التي تفرزها بفسخ الأجزاء السكرية من جزيء الميوسين، ويمكن أن يتم تحليل هذه الأجزاء السكرية بعد ذلك بواسطة إنزيمات الجليكوسيديزيس و/ أو البروتيزيس (انظر الفقرة ١, ٥, ٣). ويمكن لعدد من البكتيريا أن تحلل البولينا بما في ذلك *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium spp*, وبعض السبجيات المسببة للاخضرار، مما يؤدي إلى تحرر الأمونيا وتكوين أيونات الأمونيوم، والتي يمكن أن تستخدم كمصادر للنيروجين.



الشكل رقم (٣, ٧). رصد كيميائي نسيجي مناعي (صبغة بنية اللون) لإنتاج بروتين قاتل للبكتيريا/ محفز للتفاذية في الخلايا الطلائية لقناة الغدة الدمعية الإفرازية. مستنسخة بتصريح سبرنجر للعلوم وأعمال الوسائط، برلين، ألمانيا، من: Peurabuori, H.

.Aho, V.V., Aho, H.J., Collan, Y. and Saari, K.M. (2006) *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 244, 143-8

لدى الغشاء الدمعي رقم هيدروجيني بين ١٤, ٧ - ٧, ٨٢، بمتوسط ٧, ٥، تقريباً، مع أنه يزداد قليلاً مع زيادة معدل تدفق الدموع. وهذا الرقم الهيدروجيني مناسب لنمو معظم ميكروبات العين. وفي حالة إغلاق الجفن لفترات ممتدة فإن الرقم الهيدروجيني ينقص إلى ٧, ٢٥ تقريباً نتيجة تحرر ثاني أكسيد الكربون المعلق في المحلول والذي تنتجه القرنية.



الشكل رقم (٨, ٣). رصد كيميائي نسيجي مناعي لـ TLRs في طلائية الملتحمة لأشخاص أصحاء. تشير الصبغة البنية إلى إنتاج (أ) TLR2، (ب) TLR4، و (ج) TLR9. صبغت الأنوية بـ «هيماتوزيلين» (التكبير الأصلي ٤٠×). الإطارات داخل الصورة هي صور باستخدام المجهر الماسح متحد البؤر (التكبير الأصلي ٦٠ ×) للطبقة الطلائية. مستنسخة بتصريح من الأكاديمية الأمريكية للرمد، سان فرانسيسكو، كاليفورنيا، الولايات المتحدة الأمريكية، من: Bonini, S., Micera, A., Ivieno, A. Lambiase, A. and Bonini, S. (2005) Expression of Toll-like receptors in healthy and allergic conjunctiva. *Ophthalmology* 112, 1528-34.

وفي حين تبقى درجة حرارة معظم مواقع الجسم ثابتة عند ٣٧ درجة مئوية، فإن درجة حرارة الملتحمة تكون أقل من ذلك بعدة درجات - ما عدا في حالة الظروف الحارة جداً والرطوبة العالية. والأسباب الرئيسة لفقدان الحرارة من العين هي تبخر الغشاء الدمعي، والحمل الحراري، والإشعاع. وحيث إن هذه العمليات تتأثر بشدة بالتغيرات في درجة الحرارة، الرطوبة وسرعة الهواء المحيط، فإن سطح العين (أكثر من أي منطقة أخرى في الجسم) يكون معرضاً بشدة لتغيرات في درجة الحرارة. إن درجة حرارة البيئة المحيطة عند ٢٠ درجة مئوية في هواء ساكن تؤدي إلى أن تكون درجة حرارة الملتحمة ٣٢ درجة مئوية. ويزداد معدل التبخر بزيادة حركة الهواء ولذلك فإن درجة الحرارة سوف تنقص أكثر في البيئة العاصفة. وعندما تنخفض درجة حرارة الهواء إلى ٦ درجات مئوية، فإن درجة حرارة الملتحمة تتدنى إلى ٢٧ درجة مئوية تقريباً في الهواء الساكن وإلى ١٧ درجة مئوية عندما تكون سرعة الهواء ٤ م/ثانية. وبالأخذ في الاعتبار أن معدل النمو الميكروبي ينقص إلى النصف لكل ١٠ درجات مئوية انخفاض في درجة الحرارة، فإن مثل

هذه التغيرات في درجة الحرارة سوف يكون له تأثير عميق على نمو ميكروبات العين. وكما سيناقدش لاحقاً في الفقرة (٢، ٤، ٣)، فقد تبين أن درجة حرارة البيئة (وربما بالاشتراك مع درجة الرطوبة) تؤثر على تركيب الميكروبيوتا العينية. علاوة على ذلك، فإن كائنات حية معينة مثل *Mycobacterium tuberculosis* - لها نطاق ضيق من درجة الحرارة للنمو (٣٠-٣٩ درجة مئوية)، بينما بعض السبقيات (مثل *Streptococcus mutans* و *Streptococcus sobrinus*) وأنواع سالبة الجرام (مثل *Alcaligenes faecalis* و *Pseudomonas cepacia*) لا تنمو جيداً في درجة حرارة أقل من ٣٠ درجة مئوية، ولذلك فدرجة الحرارة المنخفضة للملحمة قد تحد من بقاء هذه الكائنات الحية على قيد الحياة.

الجدول رقم (٢، ٣). تركيب الغشاء الدمعي. انظر الجدول رقم (١، ٣) للتفاصيل عن البيبتيدات والبروتينات المضادة للميكروبات التي

قد تتواجد.

المكون	التركيز
إجمالي البروتين	٣، ٦-٠، ٣ جم/مل
الزلال	١، ٢-٠، ١ جم/١٠٠ مل
جلوبيولينات مناعية	٠، ٤-٠، ٠٧ جم/١٠٠ مل
ليسوزيم	٦، ٦-٠، ٦ جم/١٠٠ مل
لاكتوفيرين	٢، ٢٢ مجم/١٠٠ مل
MUC5AC	٠، ٥ ميكروجم/مل
عامل نمو البشرة	٨ مجم/١٠٠ مل
أحماض أمينية	٦ مجم/١٠٠ مل
مضاد البروتيزيس	٠، ٥-٠، ٢ ملمول/لتر
جلوكوز	٥-١ ملمول/لتر
لاكتات	٥٤ مجم/١٠٠ مل
بولينا	٠، ٢-٠، ٠٢ جم/١٠٠ مل
كوليسترول	لا تتوفر معلومات
دهون أخرى (أساساً شمع أسترات أحادية وسترولات)	لا تتوفر معلومات
أحماض دهنية	لا تتوفر معلومات
إنزيمات (لاكتات دي هيدروجينيز، أميليز)	١٢٠-١٦٠ ملمول/لتر
Na ⁺	١٢٠-١٦٠ ملمول/لتر
Cl ⁻	١١٨-١٣٥ ملمول/لتر
HCO ₃ ⁻	٢٠-٢٥ ملمول/لتر
Mg ²⁺	٠، ٧-٠، ٩ ملمول/لتر
K ⁺	٢٠-٤٢ ملمول/لتر
Ca ²⁺	٠، ٥-١، ١ ملمول/لتر

الجدول رقم (٣, ٣). التحلل المائي للجزيئات الكبيرة بواسطة أعضاء ميكروبيوتا العين. في حالة الميوسينات فإن نوعاً واحداً يستطيع عادةً أن يحلل الجزيء بشكل جزئي فقط، حيث يتطلب التحلل الكامل للميوسينات مجعماً ميكروبياً (الفقرة ١, ٥, ٣).

جزيء كبير	الكائن الحي القادر على تحليل الجزيء كبير
ميوسين	سبقيات مسببة للاخضرار (مثل <i>Streptococcus oralis</i> , <i>Streptococcus sanguinis</i> ، <i>Strep. pneumoniae</i>)
بروتين	<i>Propionibacterium acnes</i> <i>Staph. epidermidis</i> , <i>Staph. aureus</i> , <i>P. acnes</i> , <i>M. luteus</i> , <i>Strep. pneumoniae</i>
دهن	لاكتوباسيلي، <i>H. influenzae</i> <i>Staph. epidermidis</i> , <i>Staph. aureus</i> , <i>P. acnes</i> , <i>Corynebacterium spp</i>

إن القيمة العالية لنسبة "المساحة إلى الحجم" للغشاء الدمعي تعني أنه بيئة هوائية بشكل عال - محتوي الأوكسجين الذائب هو ٧٥٪ على الأقل من الماء المشبع بالأوكسجين. ولذلك فإن بقاء الميكروبات اللاهوائية والمحبة لتركيزات منخفضة من الأوكسجين (مثل *Propionibacterium spp.* و *Peptosreptococcus spp.*) على قيد الحياة سوف تكون مقتصرة على البيئات الدقيقة ذات المحتوي الأوكسجيني المنخفض التي تخلفها الميكروبات الهوائية واللاهوائية الاختيارية المستهلكة للأوكسجين.

وكما شرح في الفقرة (٢, ٣)، فإن سطح الملتحمة مجهز بمجموعة واسعة من الآليات المضادة للميكروبات والتي لا بد من التغلب عليها قبل أن يتمكن أي استعمار ميكروبي من الحدوث. وتستعمر الميكروبات معظم تراكيب العين الإضافية (أي الحواجب، الجفون، الرموش)، ولكن العوامل البيئية التي تعمل في هذه المواقع تشبه تلك التي تعمل سواء على الجلد (في حالة الجفون) أو على الشعر (في حالة الرموش والحواجب)، ولذلك فلن تناقش أكثر. وستكون الميكروبيوتا لهذه المواقع أيضاً هي نفس ما هو متوقع للجلد والتراكيب المقترنة به.

(٤, ٣) الميكروبيوتا المستوطنة للعين

The Indigenous Microbiota of the Eye

تبدو الملتحمت في العديد من الأفراد إما أنها تؤوي عدداً ضئيلاً من النصاب الميكروبي أو تكون خالية من الميكروبات تماماً. ومن المرجح أن ذلك يرجع إلى المحتوى الغذائي المنخفض للسائل الدمعي، درجة الحرارة المنخفضة للملتحمة، ووجود نطاق واسع من الآليات المضادة للميكروبات. ومع ذلك، وبما أن جميع الدراسات لميكروبيوتا العين كانت عملياً قائمة على الاستزراع، فإن هذه النتائج ربما لا تعكس الموقف الحقيقي. والعثور على عدد صغير فقط من الميكروبات القابلة للاستزراع على السطح الخارجي للعين، قد دفع إلى نقاش ما إذا كانت هذه الكائنات الحية التي يمكن رصدها هناك تمثل ميكروبيوتا مستوطنة، أم أنها مجرد ميكروبات عابرة مشتقة من الجلد المجاور.

والبراهين لصالح الفرضية الأخيرة هي كالآتي: (١) في بعض الدراسات فإنه لم ترصد ميكروبات قابلة للاستزراع في الملتحمة لما يصل إلى ٦٥٪ من الأفراد الأصحاء، (٢) الميكروبات التي يمكن أن تستزرع هي عادةً - ليس دائماً - نفس الميكروبات التي تتواجد على الجلد تماماً. ومع ذلك، فهناك عدد من التفسيرات المحتملة لفشل رصد ميكروبات في نسبة كبيرة من عينات العين: (١) كمية العينة التي يتم الحصول عليها (ميكرولترات قليلة من السائل الدمعي) من الملتحمة صغيرة جداً، وبالتالي يكون من الصعب بمكان رصد الميكروبات باستخدام طرق الاستزراع التقليدية، (٢) طرق الاستزراع التي استخدمت في العديد من الدراسات لم تكن كافية، مثل عدم تضمين العديد منها تخمين العينات في ظروف لاهوائية، وقليل منها فقط قد استخدم مجموعة متنوعة من البيئات، (٣) وقليل جداً من الدراسات قد استخدم طرق رصد جزيئية لدراسة ميكروبيوتا العيون السليمة (مع ذلك قد استخدمت مثل هذه الدراسات على العيون المصابة)، ولذلك فقد فشلت في رصد الأنواع التي لم تستزرع بعد أو التي يصعب استزراعها. على سبيل المثال، ففي دراسة حديثة عن ميكروبيوتا الملتحمة لمرضى التهاب الملتحمة، لم تستزرع أي بكتيريا في ٥٥٪ من العينات التي رصدت فيها البكتيريا باستخدام طريقة تضخيم جين 16S rRNA بواسطة بي سي آر.

والنتائج التي تلمح إلى أن سطح الملتحمة يحتوي فعلاً على ميكروبيوتا مستوطنة تشمل:

- في حين أن العديد (ليس الكل) من الكائنات الحية التي استزرعت من الملتحمة يمكن أن توجد أيضاً على الجلد، فليس كل الكائنات الحية التي وجدت على الجلد يمكن رصدها على الملتحمة. وبالتالي، فبينما تنبع العديد من الكائنات الحية التي رصدت من الجلد، فإن البيئة العينية تتقي بعضاً من هذه الأنواع فقط للبقاء على قيد الحياة عليها، وهذه الأنواع هي التي ترصد على الملتحمة بشكل منتظم ومنسق.

- بعض الكائنات الحية التي تتواجد عادةً على الملتحمة ليست من أعضاء الميكروبيوتا الجلدية، مثل السبقيات

المسببة للاخضرار، *Haemophilus* و *Streptococcus pneumoniae*، *Peptostreptococcus* spp.، *Loctobacillus* spp.

influenza.

(١, ٤, ٣) أعضاء ميكروبيوتا العين Members of the Ocular Microbiota

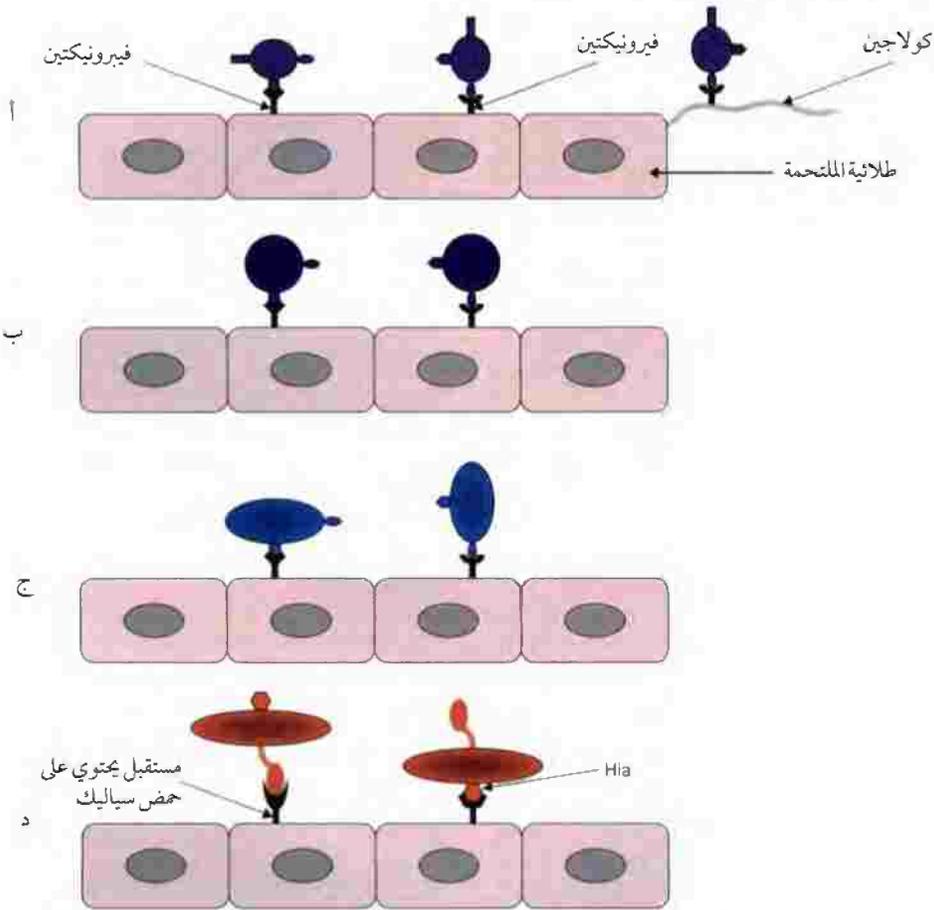
إن العديد من الكائنات الحية التي تمثل ميكروبيوتا العين تتواجد كذلك على الجلد وقد ذكرت في الفصل الثاني. وعلى الرغم من أن *Strep. pneumoniae* والسبقيات المسببة للاخضرار توجد كذلك على الملتحمة، إلا أنها قد اشتهرت أكثر كأعضاء لميكروبيوتا الجهاز التنفسي ولذلك سيتم شرحها بالتفصيل في الفصل الرابع. والأجناس *Peptostreptococcus* و *Lactobacillus* سيتم شرحها في الفصل الخامس والسادس على التوالي.

واللواصق الرئيسية لأعضاء ميكروبيوتا العين المتعلقة باستعمار الملتحمة موضحة في الشكل رقم (٩, ٣).

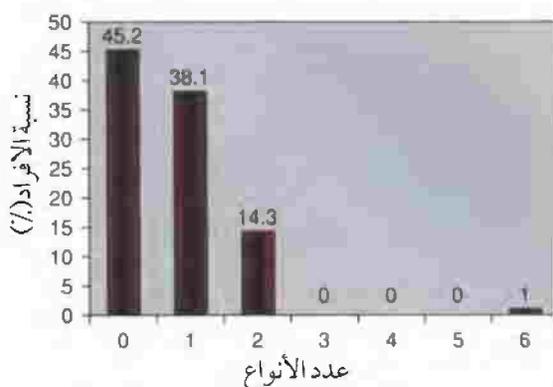
(٢, ٤, ٣) تركيب ميكروبيوتا العين Composition of the Ocular Microbiota

كما ذكر في الفقرة (١, ٣)، فإن المنطقة الوحيدة من العين المعرضة للبيئة الخارجية هي الملتحمة. والتراكيب المصاحبة - مثل الجفون -، تدعم مجتمعاً ميكروبياً مطابقاً تماماً لتلك الموجودة في مناطق الجلد المجاورة. ولذلك فهذه الفقرة ستقوم فقط بوصف ميكروبيوتا سطح الملتحمة وحافة جفن العين والذي - كما أشير في الفقرة (١, ٣)

- مغطى كذلك بالملتحمة. للأسف، ففي وقت كتابة هذا الكتاب (منتصف عام ٢٠٠٧م)، فإنه لم يوجد أي تقرير عن استخدام تقنيات جزيئية لدراسة ميكروبيوتا العين الخالية من المرض - على الرغم من أنها قد استخدمت لدراسة ميكروبيوتا الملتحمة لمرضى بالتهابات الملتحمة وأمراض أخرى. ولذلك فإن معرفتنا عن ميكروبيوتا العين مستمدة تماماً من دراسات معتمدة على الاستزراع. ويمكن عادةً أن تستزرع ميكروبات من الملتحمة، مع ذلك فنسبة العينات التي لا تستزرع منها أي كائنات حية تتراوح من صفر إلى ٦٥٪ في الدراسات المختلفة. وميكروبيوتا العين تكون عادةً بسيطة جداً و تتكون عموماً ليس أكثر من نوعين (الشكل رقم ١٠، ٣). وكثافة النصاب عادةً ما تكون منخفضة كذلك - رغم أن عدد البكتيريا المستزرعة تتفاوت بشدة في الدراسات المختلفة، حيث تتراوح من أقل ١٠٠ CFU (وحدة مكونة للمستعمرة) إلى أكثر من 10^5 CFU.

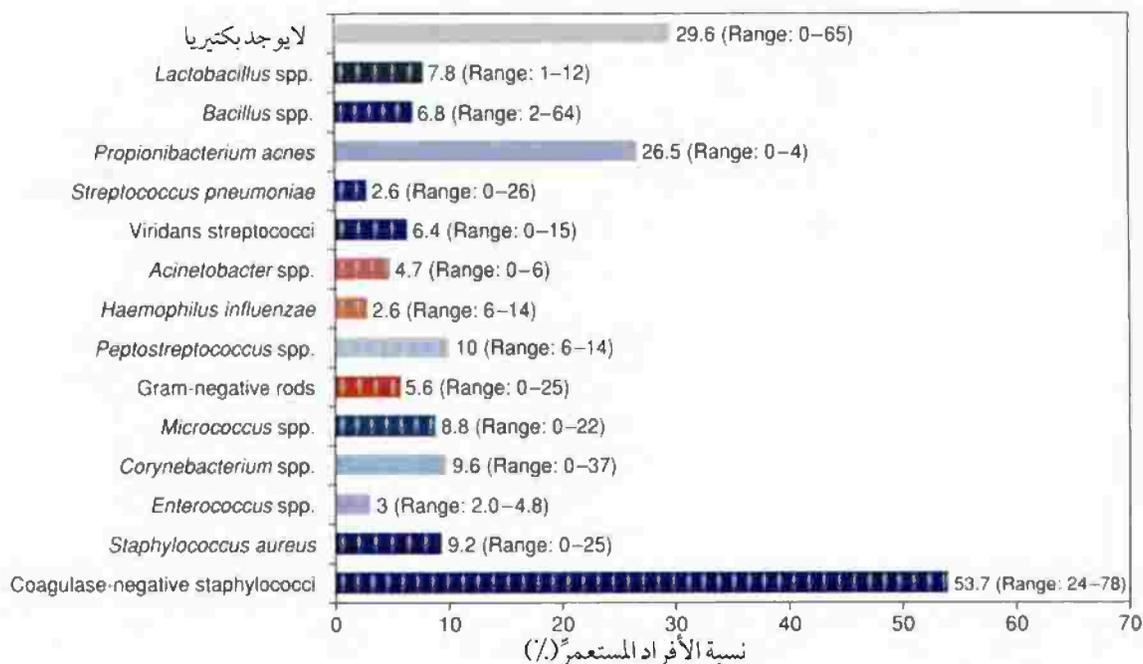


الشكل رقم (٩، ٣). لواصل أعضاء ميكروبيوتا العين ومستقبلاتها. (أ) *Staph. aureus*، (ب) CNS، (ج) سبقيات، لديها لواصل والتي تميز الفيرونيكتين على سطح الخلايا الطلائية للملتحمة. ويمكن لـ *Staph. aureus* أن ترتبط بأي كولاجين مكشوف في حالة تلف الطبقة الطلائية. (د) *H. influenzae* لديه لواصل شعيرية (فيبري)، والتي تتوسط الارتباط بالجزئيات المحتوية على حمض السياليك وبالجلوكوزامينوجليكان المحتوي على الكبريتات. ويحتوي كذلك على ناقل ذاتي للبروتين، والذي يرتبط بمسقبل غير معروف حتى الآن.



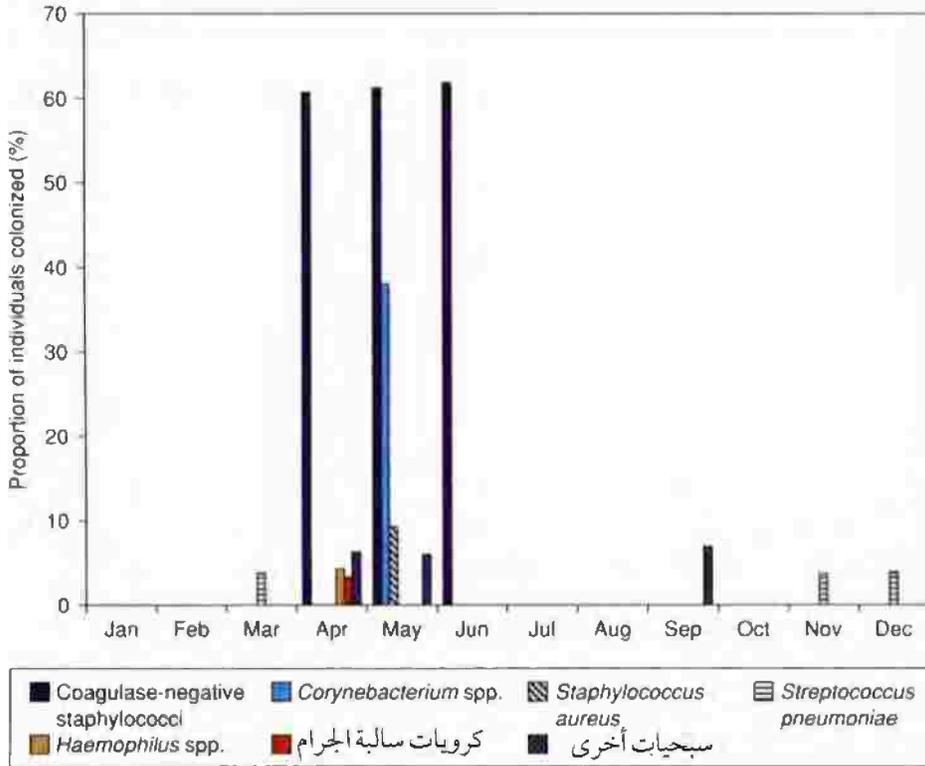
الشكل رقم (١٠, ٣). عدد الأنواع البكتيرية المختلفة المستزرعة من سطح المتلحمة. تشير القيم إلى نسب (%) الأفراد في مجموعة من ٤٢ شخصاً بالغاً سليماً الذين يتوون العدد المشار إليه من الأنواع.

والكائنات الحية الأكثر عزلاً هي المكورات العنقودية سالبة الكواجيليز (*Propionibacterium acnes*)، (CNS)، و- بمعدل أقل - *Corynebacterium spp* (الشكل رقم ١١, ٣). والكائنات الحية الأخرى التي ترصد كثيراً - ولكنها عموماً تمثل نسبة أقل في الميكروبيوتا - تشمل *Staph. aureus*، سبقيات، مكورات دقيقة، *Lactobacillus spp* و عصويات هوائية اختيارية سالبة الجرام.



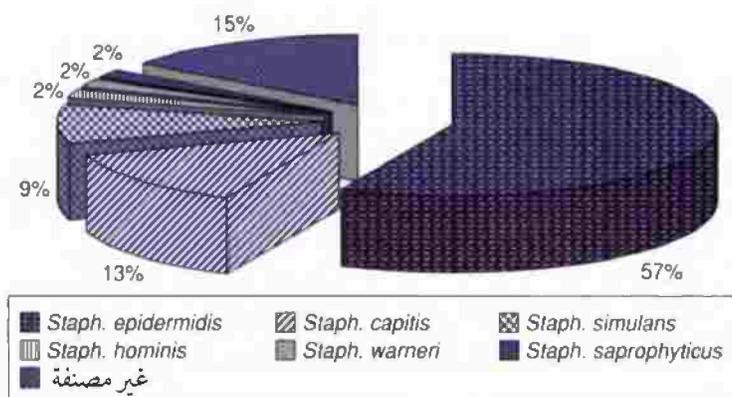
الشكل رقم (١١, ٣). معدل رصد مختلف الميكروبات على المتلحمة لأشخاص بالفين أصحاء. البيانات الموضحة هي متوسط قيم (ونطاقات) مشتقة من نتائج ١٧ دراسة معتمدة على الاستزراع شملت ٤٦٢٣ شخصاً من عدة دول (١-١٧).

ولقد تبين أن معدل رصد مختلف الأنواع البكتيرية على الملتحمة يتأثر بالعوامل المناخية - خصوصاً درجة الحرارة والرطوبة النسبية (الشكل رقم ١٢, ٣)، ففي دراسة أجريت في أسبانيا (مدريد)، وجد أن معدل عزل عدد من الكائنات الحية (*Corynebacterium spp.*، CNS، سبحيات و *H. influenzae*) كان أعلى بكثير أثناء الفترة من شهر أبريل إلى يونيو عنه في الفترة من يناير إلى مارس، وينظر ذلك زيادة في متوسط درجة الحرارة من ٢, ٨ - ٢, ١٦ درجة مئوية أثناء هذه الفترات. وتنخفض الرطوبة المناظرة أثناء هذه الفترات من ٦٣٪ إلى ٥٢٪.



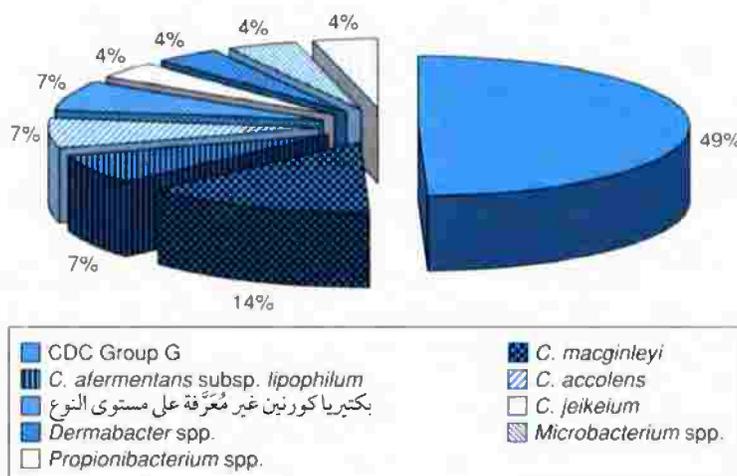
الشكل رقم (١٢, ٣). معدل عزل مختلف الميكروبات من الملتحمة أثناء شهور مختلفة في مدريد، أسبانيا. تمثل الأشرطة نسبة (%) من الأفراد المستعمرين بالأنواع المشار إليها أثناء الشهور حين تكون هناك زيادة كبيرة إحصائياً في معدل عزل هذه الأنواع. وعزلت كذلك جميع الكائنات الحية الأخرى في جميع ظروف أخذ العينات الأخرى، ولكن حذفت البيانات من أجل الوضوح. شملت الدراسة ما مجموعه ٤٤٣٢ شخصاً (١٨).

ورغم أن CNS عموماً تهيمن على ميكروبيوتا العين، فإن عدداً قليلاً من الدراسات فقط قام بتعريف العزلات على مستوى النوع. وفي إحدى الدراسات أجري ذلك (تعريف العزلات على مستوى النوع) فتبين أن *Staph. epidermidis* هو السائد وكان يمثل ٥٧٪ من الـ CNS التي تم عزلها (الشكل رقم ١٣, ٣). ولقد أوضحت دراسات أجريت على عزلات *Staph. epidermidis* التي تم الحصول عليها في حالات مختلفة لنفس الأفراد عبر فترة زمنية تمتد لستة أشهر، إنها ليست متطابقة تماماً حيث إن لها أنماطاً مختلفة من إليكتروفورسيس الهلام النابض.



الشكل رقم (١٣, ٣). هوية أعضاء ميكروبيوتا العين من أنواع CNS. وتشير القيم إلى نسب مختلف الأنواع التي عزلت من عيون ٣٤ شخصاً بالغاً.

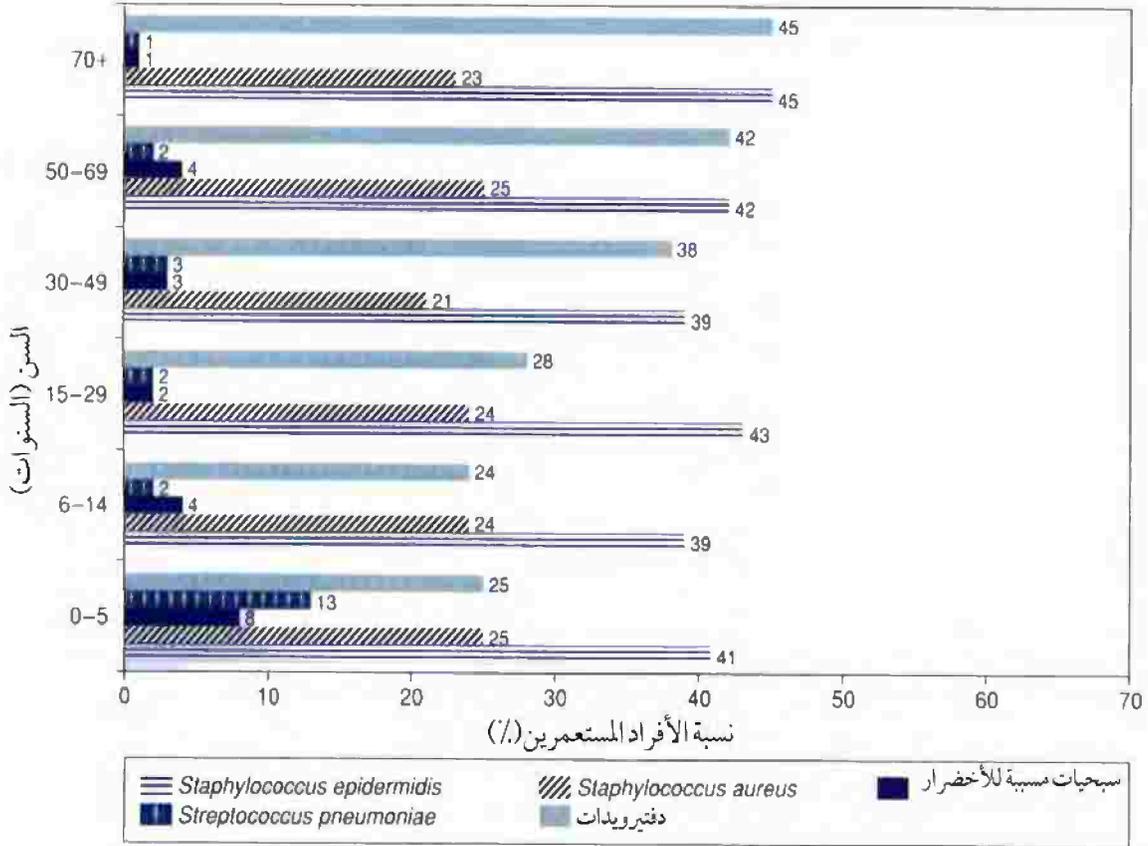
دراسات قليلة فقط قامت بتعريف بكتيريا الكورين المعزولة من الملتحمة. ففي إحدى الدراسات الحديثة، وجد أن جميع الـ *Corynebacterium spp.* التي تم عزلها هي من الأنواع المحبة للدهون ذات CDC (بمعنى مراكز للتحكم في المرض) مع هيمنة المجموعة G (الشكل رقم ١٤, ٣). وهذه الأنواع المحبة للدهون لا تعزل كثيراً من مواقع أخرى في جسم الإنسان، وذلك يدعم من رؤية أن الملتحمة لها فعلاً ميكروبيوتا مستوطنة مميزة خاصة بها.



الشكل رقم (١٤, ٣). أعضاء ميكروبيوتا العين من بكتيريا الكورين. وتشير القيم إلى نسب مختلف الأنواع التي عزلت من ملتحمة ٩٢ شخصاً بالغاً (٢٠). CDC، مركز الحد من المرض (أتلانتا، جورجيا، الولايات المتحدة الأمريكية).

أثناء فترات انغلاق العين، يتغير تركيب الدموع وينخفض الرقم الهيدروجيني، ولقد تبين أن ذلك يزيد من العدد الإجمالي للميكروبات الموجودة دون أن يغير من حصصهم النسبية. وتتغير ميكروبيوتا الملتحمة حسب السن،

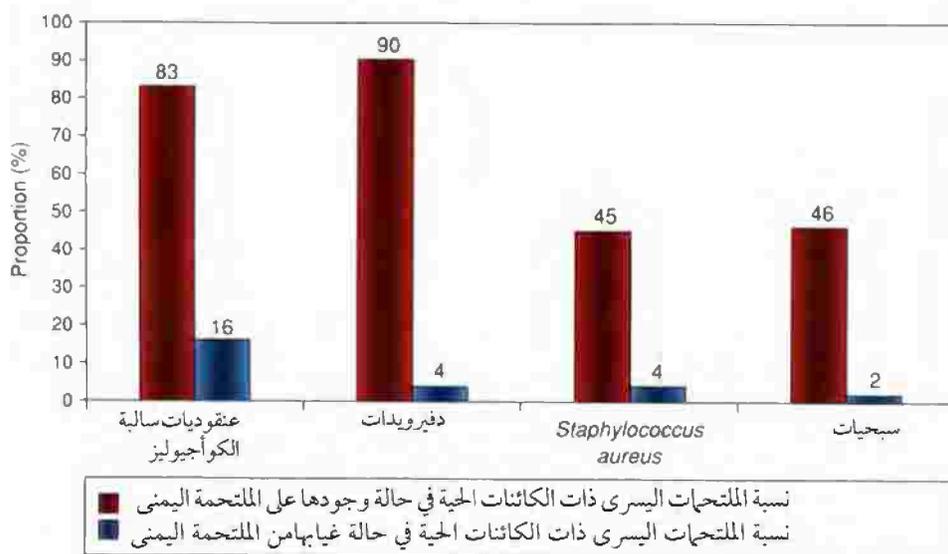
حيث يزداد معدل عزل بكتيريا الكورين والأنواع سالبة الجرام، وينخفض معدل عزل *Strep. pneumoniae* مع تقدم العمر (الشكل رقم ١٥, ٣).



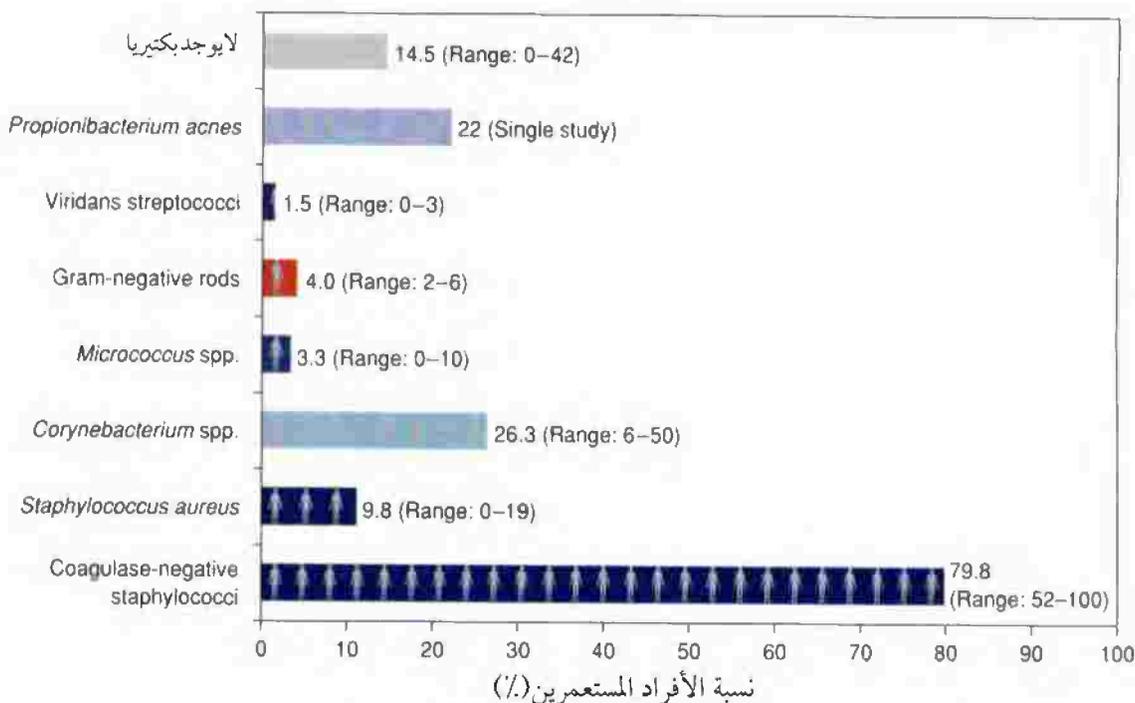
الشكل رقم (١٥, ٣). التفريعات في معدل عزل مختلف الكائنات الحية من الملتحمة بالنسبة للعمر.

إن الميكروبيوتا المستوطنة للعين اليسرى واليمنى تكون متشابهة بشدة في الأفراد الخالية من أي أمراض في العين. ومن ثم، ففي دراسة على ٤١٠ أشخاص بالغين، فرص العثور على نوع بكتيري معين في إحدى الملتحمتين في حالة وجوده على الملتحمة الأخرى كانت عموماً عالية جداً (مثل CNS والديفتيرويدات)، في حين أنه لو كان الكائن الحي غير موجود في إحدى الملتحمتين، فإن فرص وجوده في الملتحمة الأخرى كانت منخفضة جداً (الشكل رقم ١٦, ٣). وميكروبيوتا حافة الجفن متشابهة جداً لتلك الخاصة بالملتحمة، مع ذلك وبشكل عام فإن عدداً أكبر من الميكروبات يمكن استزراعها من حافة الجفن (الشكل رقم ١٧, ٣).

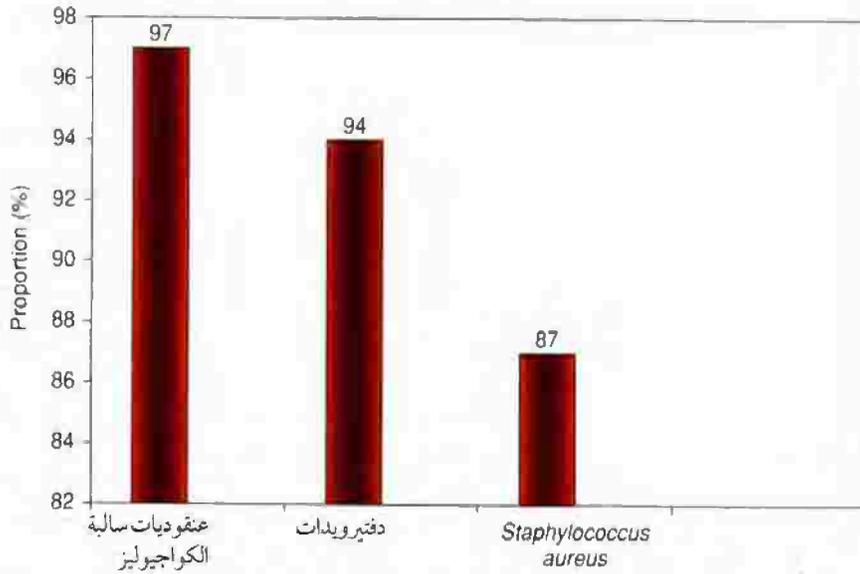
وفي دراسة مقارنة للبكتيريا الموجودة على الملتحمة وحواف الجفون للأفراد الأصحاء، كانت فرص العثور على نوع بكتيري معين على الجفن الأيسر في حالة وجوده على الملتحمة اليسرى عالية جداً (الشكل رقم ١٨, ٣).



الشكل رقم (١٦, ٣). ميكروبيولوجي مقارنة للملتهمة اليسرى واليمنى. استزرعت البكتيريا من الملتهمة اليسرى واليمنى لـ ٤١٠ أشخاص بالغين، واستخدمت النتائج لتحديد ما إذا كان وجود كائن حي على ملتهمة واحدة لشخص ما، يمكن أن يُنبئ عن احتمالية تواجده على الملتهمة الأخرى لهذا الشخص (٢٢).



الشكل رقم (١٧, ٣). معدل رصد مختلف الميكروبات على حواف الجفن لأشخاص بالغين أصحاء. والبيانات الموضحة هي متوسط قيم (ونطاقات) مشتقة من نتائج أربع دراسات شاملة ما مجموعه ٤٩٦ شخصاً من عدد من الدول (١، ٩، ١٣، ٢٢).



الشكل رقم (١٨, ٣). ميكروبيولوجي مقارن للملتحمة اليسرى وحافة الجفن الأيسر. استزرعت البكتيريا من الملتحمة اليسرى ومن حافة الجفن الأيسر من ٤١٠ أشخاص بالغين، واستخدمت الدراسة لتحديد ما إذا كان وجود كائن حي ما على الملتحمة اليسرى لشخص ما قد يُنبئ عن احتمالية تواجده على حافة الجفن الأيسر لهذا الشخص. وتشير الأشرطة إلى نسب جفون العين التي كانت إيجابية لنوع معين تم رصده على الملتحمة اليسرى (٢٢).

(٣, ٤, ٣) التفاعلات (تبادل الآثار) فيما بين أعضاء ميكروبيوتا العين

Interactions among Members of the Ocular Microbiota

إن الأجناس المهيمنة على ميكروبيوتا العين - المكورات العنقودية، الكورين بكتيريا وبروبيوني بكتيريا - تعرف جميعاً بأفرازها للبكتريوسينات. ومع ذلك، فإن دور هذه الجزئيات في الحفاظ على تركيب ميكروبيوتا العين لم يتم التحقق منه بعد. وبالمثل، فإن المنتجات النهائية لعمليات الأيض الغذائي (مثل حمض الخليك واللاكتيك) لميكروبات العين قد تكون مسؤولة عن استبعاد بعض الكائنات الحية من علي سطح الملتحمة. وقد أظهرت نتائج عدد من الدراسات أن العلاقات التضادية تعمل فعلاً في جسم العائل. وعلى سبيل المثال، فقد أظهرت إحدى الدراسات على الكائنات الحية التي عزلت من الملتحمة لأشخاص بالغين أصحاء، أنه في حالة وجود *Staph. aureus* على الملتحمة فإن احتمالات تواجد CNS أو بكتيريا الكورين تنقص بشدة. وربما يرجع ذلك إلى إنتاج مجموعة متنوعة من البكتريوسينات بواسطة *Staph. aureus*. ومن ثم، فإن البكتريوسين Bac 1829 هو مشبط لعدد من الـ *Corynebacterium spp.*، بينما BacR هو مشبط ليس فقط لـ *Corynebacterium spp.*، ولكن أيضاً للعديد من *Staphylococcus spp.* ولقد وجدت تلك الدراسة كذلك علاقة تآزرية بين *Corrynebacterium* و CNS - في حالة تواجد أي من هاتين المجموعتين من الكائنات الحية، فإن فرص العثور على أعضاء من المجموعة الأخرى يزداد بشكل واضح.

وبالرغم من أن الأساس لهذه العلاقة التآزرية لم يتم التحقق منه، فإنه من المعروف أن بعض الـ *Corrynebacterium spp.* تعتمد في نموها على الأحماض الدهنية، وأن بعض العنقوديات تنتج إنزيمات الليبيزيس، والذي بدوره يحمرر الأحماض الدهنية من الدهون. وقد تبين أن بعض سلالات المكورات الدقيقة العينية تفرز عدداً من البيبتيدات المضادة للميكروبات،

التي تتواجد أحياناً تشمل *Staph. aureus* وأنواع تنتمي للأجناس *Lactobacillus*، *Staphylococcus*، *Corynebacterium*، *Bacillus*، *Peptostreptococcus*، و *Micrococcus*. وغالباً لا يتم عزل الأنواع السالبة لصبغة الجرام. وحافة جفن العين لديها ميكروبيوتا قابلة للاستزراع مماثلة لميكروبيوتا الملتحمة، ولكن كثافة النصاب تميل إلى أن تكون أعلى. إن معرفتنا عن ميكروبيوتا العين مستندة على دراسات معتمدة على الاستزراع، حيث إنه - للأسف - لم يتم نشر أي دراسات غير قائمة على الاستزراع لميكروبيوتا العين الخالية.

المراجع

3.6 SOURCES OF DATA USED TO COMPILE FIGURES

- Gritz, D.C., Scott, T.J., Sedo, S.F., Cevallos, A.V., Margolis, T.P. and Whitcher, J.P. (1997) *Cornea* 16, 400-5.
- Ta, C.N., He, L., Nguyen, E. and De Kaspar, H.M. (2006) *Eur J Ophthalmol* 16, 359-64.
- Arantes, T.E., Cavalcanti, R.F., Diniz, M. de F., Severo, M.S., Lins Neto, J. and Castro, C.M. (2006) *Arq Bras Oftalmol* 69, 33-6.
- Ta, C.N., Chang, R.T., Singh, K., Egbert, P.R., Shriver, E.M., Blumenkranz, M.S., et al. (2003) *Ophthalmology* 110, 1946-51.
- Locatelli, C.I., Kwitko, S. and Simonetti, A.B. (2003) *Braz J Microbiol* 34, 203-8.
- Yamauchi, Y., Minoda, H., Yokoi, K., Maruyama, K., Kumakura, S., Usui, M., Cruz, J.M.C. and Fukutake, K. (2005) *Ocular Immun Inflam* 13, 301-4.
- Campos, M.S., Campos e Silva, L.Q., Rehder, J.R., Lee, M.B., O'Brien, T. and McDonnell, P.J. (1994) *Acta Ophthalmol (Copenh)* 72, 241-5.
- Iskeleli, G., Bahar, H., Eroglu, E., Torun, M.M. and Ozkan, S. (2005) *Eye & Contact Lens* 31, 124-6.
- Albietz, J.M. and Lenton, L.M. (2006) *Cornea* 25, 1012-19.
- Chisari, G., Cavallaro, G., Reibaldi, M. and Biondi, S. (2004) *Int J Clin Pharmacol Ther* 42, 35-8.
- Srinivasan, R., Reddy, R.A., Rene, S., Kanungo, R. and Natarajan, M.K. (1999) *Indian J Ophthalmol* 47, 185-9.
- Kato, T. and Hayasaka, S. (1998) *Jpn J Ophthalmol* 42, 461-5.
- Stapleton, F., Willcox, M.D., Fleming, C.M., Hickson, S., Sweeney, D.F. and Holden, B.A. (1995) *Infect Immun* 63, 4501-5.
- Soudakoff, P.S. (1954) *Am J Ophthalmol* 38, 374-6.
- Oguz, H., Oguz, E., Karadede, S. and Aslan, G. (1999) *Int Ophthalmol* 23, 117-20.
- Perkins, R.E., Kundsini, R.B., Pratt, M.V., Abrahamsen, I. and Leibowitz, H.M. (1975) *J Clin Microbiol* 1, 147-9.
- Singer, T.R., Isenberg, S.J. and Apt, L. (1988) *Br J Ophthalmol* 72, 448-51.
- Rubio, E.F. (2004) *Eye* 18, 778-84.

- Larkin, D.F. and Leeming, J.P. (1991) *Eye* 5, 70-4.
- von Graevenitz, A., Schumacher, U. and Bernauer, W. (2001) *Curr Microbiol* 42, 372-4.
- Osato, M. (1996) Normal ocular flora. In: Pepose, J.S., Holland, G.N., and Wilhelmus, K.R. (eds). *Ocular Infection and Immunity*. Mosby-Year Book Inc., St. Louis, Missouri, USA, pp. 191-9.
- Allansmith, M.R., Ostler, H.B. and Butterworth, M. (1969) *Arch Ophthalmol* 82, 37-42.

3.7 FURTHER READING

- Albietz, J.M. and Lenton, L.M. (2006) Effect of antibacterial honey on the ocular flora in tear deficiency and meibomian gland disease. *Cornea* 25, 1012-19.
- Arantes, T.E.F., Cavalcanti, R.F., Diniz, M. de F.A., Severo, M.S., Neto J.L. and de Castro, C.M.M.B. (2006) Conjunctival bacterial flora and antibiotic resistance pattern in patients undergoing cataract surgery. *Arq Bras Oftalmol* 69, 33-6.
- Barkana, Y., Almer, Z., Segal, O., Lazarovitch, Z., Avni, I. and Zadok, D. (2005) Reduction of conjunctival bacterial flora by povidone/iodine, ofloxacin and chlorhexidine in an out-patient setting. *Acta Ophthalmol Scand* 83, 360-63.
- Berry, M., Harris, A., Lumb, R. and Powell, K. (2002) Commensal ocular bacteria degrade mucins. *Br J Ophthalmol* 86, 1412-16.
- Bilen, H., Ates, O., Astam, N., Uslu, H., Akcay, G. and Baykal, O. (2007) Conjunctival flora in patients with type 1 or type 2 diabetes mellitus. *Adv Ther* 24, 1028-35.
- Chaidaroon, W., Ausayakhun, S., Pruksakorn, S., Jewsakul, S.O. and Kanjanaratanakorn, K. (2006) Ocular bacterial flora in HIV-positive patients and their sensitivity to gentamicin. *Jpn J Ophthalmol* 50, 62-80.
- Chang, J.H., McCluskey, P.J. and Wakefield, D. (2006) Toll-like receptors in ocular immunity and the immunopathogenesis of inflammatory eye disease. *Br J Ophthalmol* 90, 103-8.
- Chisari, G., Cavallaro, G., Reibaldi, M. and Biondi, S. (2004) Presurgical antimicrobial prophylaxis: Effect on ocular flora in healthy patients. *Int J Clin Pharmacol Ther* 42, 35-8.

- Dartt, D.A. (2004) Control of mucin production by ocular surface epithelial cells. *Exp Eye Res* 78, 173–85.
- de Aguiar Moeller, C.T., Branco, B.C., Yu, M.C.Z., Farah, M.E., Santos, M.A.A. and Höfling-Lima, A.L. (2005) Evaluation of normal ocular bacterial flora with two different culture media. *Can J Ophthalmol* 40, 448–53.
- de Souza, G.A., Godoy, L.M. and Mann, M. (2006) Identification of 491 proteins in the tear fluid proteome reveals a large number of proteases and protease inhibitors. *Genome Biol* 7, R72.
- Ermis, S.S., Aktepe, D.C., Inan, U.U., Ozturk, F. and Altindis, M. (2004) Effect of topical dexamethasone and ciprofloxacin on bacterial flora of healthy conjunctiva. *Eye* 18, 249–52.
- Evans, D.J., McNamara, N.A. and Fleiszig, S.M. (2007) Life at the front: Dissecting bacterial-host interactions at the ocular surface. *Ocul Surf* 5, 213–27.
- Fung, K., Morris, C. and Duncan, M. (2002) Mass spectrometric techniques applied to the analysis of human tears: A focus on the peptide and protein constituents. *Adv Exp Med Biol* 506, 601–5.
- Gipson, I.K. (2004) Distribution of mucins at the ocular surface. *Exp Eye Res* 78, 379–88.
- Huang, L.C., Jean, D., Proske, R.J., Reins, R.Y. and McDermott, A.M. (2007) Ocular surface expression and in vitro activity of antimicrobial peptides. *Curr Eye Res* 32, 595–609.
- Iskeleli, G., Bahar, H., Eroglu, E., Torun, M.M. and Ozkan, S. (2005) Microbial changes in conjunctival flora with 30-day continuous-wear silicone hydrogel contact lenses. *Eye & Contact Lens* 31, 124–6.
- Jumblatt, M.M., Imbert, Y., Young, W.W. Jr., Foulks, G.N., Steele, P.S. and Demuth, D.R. (2006) Glycoprotein 340 in normal human ocular surface tissues and tear film. *Infect Immun* 74, 4058–63.
- King-Smith, P.E., Fink, B.A., Hill, R.M., Koelling, K.W. and Tiffany, J.M. (2004) The thickness of the tear film. *Curr Eye Res* 29, 357–68.
- Kirkwood, B.J. (2007) Normal flora of the external eye. *Insight* 32, 12–13.
- Kumar, A. and Yu, F.S. (2006) Toll-like receptors and corneal innate immunity. *Curr Mol Med* 6, 327–37.
- Kumar, A., Zhang, J. and Yu, F.X. (2006) Toll-like receptor 2-mediated expression of β -defensin-2 in human corneal epithelial cells. *Microbes Infect* 8, 380–9.
- Li, J., Shen, J. and Beuerman, R.W. (2007) Expression of toll-like receptors in human limbal and conjunctival epithelial cells. *Mol Vis* 13, 813–22.
- McCulley, J.P. and Shine, W.E. (2004) The lipid layer of tears: Dependent on meibomian gland function. *Exp Eye Res* 78, 361–5.
- McIntosh, R.S., Cade, J.E., Al-Abed, M., Shanmuganathan, V., Gupta, R., Bhan, A., Tighe, P.J. and Dua, H.S. (2005) The spectrum of antimicrobial peptide expression at the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46, 1379–85.
- Micera, A., Stampachiachiere, B., Aronni, S., dos Santos, M.S. and Lambiase, A. (2005) Toll-like receptors and the eye. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 5, 451–8.
- Moeller, C.T., Branco, B.C., Yu, M.C., Farah, M.E., Santos, M.A. and Hofling-Lima, A.L. (2005) Evaluation of normal ocular bacterial flora with two different culture media. *Can J Ophthalmol* 40, 448–53.
- Ohashi, Y., Dogru, M. and Tsubota, K. (2006) Laboratory findings in tear fluid analysis. *Clin Chim Acta* 369, 17–28.
- Paulsen, F. (2006) Cell and molecular biology of human lacrimal gland and nasolacrimal duct mucins. *Int Rev Cytol* 249, 229–79.
- Paulsen, F.P. and Berry, M.S. (2006) Mucins and TFF peptides of the tear film and lacrimal apparatus. *Prog Histochem Cytochem* 41, 1–53.
- Paulsen, F.P., Pufe, T., Schaudig, U., Held-Feindt, J., Lehmann, J., Schröder, J.M. and Tillmann, B.N. (2001) Detection of natural peptide antibiotics in human nasolacrimal ducts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42, 2157–63.
- Peuravuori, H., Aho, V.V., Aho, H.J., Collan, Y. and Saari, K.M. (2006) Bactericidal/permeability-increasing protein in lacrimal gland and in tears of healthy subjects. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 244, 143–8.
- Rubio, E.F. (2004) Climatic influence on conjunctival bacteria of patients undergoing cataract surgery. *Eye* 18, 778–84.
- Spurr-Michaud, S., Argueso, P. and Gipson, I. (2007) Assay of mucins in human tear fluid. *Exp Eye Res* 84, 939–50.
- Ueta, M., Iida, T., Sakamoto, M., Sotozono, C., Takahashi, J., Kojima, K., Okada, K., Chen, X., Kinoshita, S. and Honda, T. (2007) Polyclonality of *Staphylococcus epidermidis* residing on the healthy ocular surface. *J Med Microbiol* 56, 77–82.
- von Graevenitz, A., Schumacher, U. and Bernauer, W. (2001) The corynebacterial flora of the normal human conjunctiva is lipophilic. *Curr Microbiol* 42, 372–4.
- Yu, F.S. and Hazlett, L.D. (2006) Toll-like receptors and the eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47, 1255–63.
- Zhao, H., Jumblatt, J.E., Wood, T.O. and Jumblatt, M.M. (2001) Quantification of MUC5AC protein in human tears. *Cornea* 20, 873–7.