فريق الكريات الحمراء التطوعي

كلية الصيدلة | السنة الخامسة

10

140

40

27/9/2018

التعقيم بالترشيح + المشعرات

د. مصطفى العموري

ميكروبيولوجيا صيدلانية | نظري

RBCs Pharmacy

أهلا فيكن حبايبنا بمحاضرة جديدة لطيفة ظريفة منكمل فيها بطرق التعقيم وهالمرة ح نحكي عن التعقيم بالترشيح، ونحكيلكن عن مشعرات طرق التعقيم ❤

فهرس المحاضرة:

التعقيم بالترشيح	2
ضبط التعقيم بالمراشح	8
مراقبة التعقيم وضمان العقامة	16
المشعرات الفيزيائية	20
المشعرات الكيميائية	25
المشعرات البيولوجية	35

التعقيم بالترشيح Filtration Sterilization

- وتعرف أيضاً بالعزل الميكانيكي.
- وهي طريقة مجازية للتعقيم في الصيدلة فقط ولا تحقق مصطلح العقامة لأن:

أقل قطر مرشحة مُستعمل في الصيدلة هو 0.1 µm = 100 nm، وأبعاد فيروس الإيدز HIV 80-100 nm بالتالي يمكن أن يمر عدد كبير منها عبر المرشحة.

فيروس الجدري Smallpox[1] والذي يعتبر من أكبر الفيروسات التي تصيب الإنسان أبعاده 250 nm (0.25 µm)، وبالتالي سنحصل على شكل صيدلاني يحوي فيروسات ⟸ لذلك سميت حُمّات راشحة.

لذلك نقول تعقيم بالترشيح كاصطلاح رغم معرفتنا أنها لا تعطي ضمان عقامة جيد.

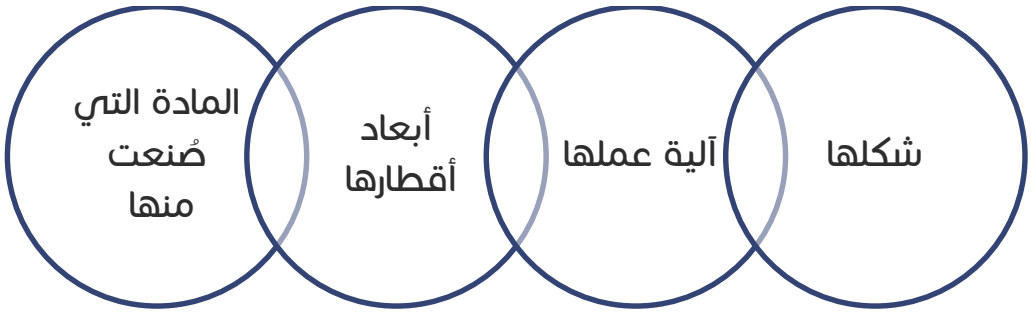
- بما أنَّ عملية الترشيح هي عملية عزل ميكانيكي للـ M.O في الهدف المراد تعقيمه هذا يحصر المواد التي يمكن تعقيمها إلى الموائع (أي السوائل والغازات) مثل:

- سوائل زيتية غير متحمّلة للحرارة.
- محاليل مائية لمواد غير متحمّلة للحرارة.
- الهواء والغازات (مثل هواء غرف التعقيم وغاز النتروجين المستخدم في تعبئة الأمبولات).
- ويمكن إذا أردنا تعقيم مسحوق مثلاً أن نقوم بحلّه في مذيب مناسب ونفلتر (نرشح) ثم نبلور من جديد، وبالمثل بالنسبة للفازلين يمكن حلّه بمذيب عضوي مناسب ونفلتر وبذلك نكون أنجزنا عملية التعقيم بالترشيح.

1 قديماً كان يُسمى Variola major.

أنواع المراشح Filters:

تصنّف المراشح وفق عدة تصنيفات حسب:



1. من حيث شكلها Shape:

مراشح سطحية "غشائيّة" Membrane filters:

آلية عملها الغربلة Sieving، وهي المرشحة البسيطة التي نتعامل معها في المخابر، تكون عبارة عن حاجز رقيق يحتجز المواد التي قطرها أكبر من قطر المسام وغالباً تكون مصنوعة من الألياف[2].

مراشح عميقة Depth filters:

وآلية عملها: الشَبْك Trapping والحشر Entrapment والادمصاص Adsorption، ويتم تصنيعها إما من:

- الألياف: تكون مكدّسة فوق بعضها البعض، تترك فراغات بينها تقوم بعملية شبك للعوالق الموجودة في الغازات أو السوائل ضمن هذه الألياف المكدسة -وهي مستخدمة للغازات بشكل أكبر من السوائل- وسائد ليفية Fibrous pads كما في الصورة.

- أو مواد صلبة (كالزجاج المحجّر Sintered glass والخزف المحجّر Sintered ceramic أو الفخار أو البورسلان أو آجر)، وتكون على شكل أنفاق قصيرة ومتعرجة مختلفة بالحجم والشكل بحيث عندما يمر فيها السائل تعلق فيها الأجزاء الكبيرة.

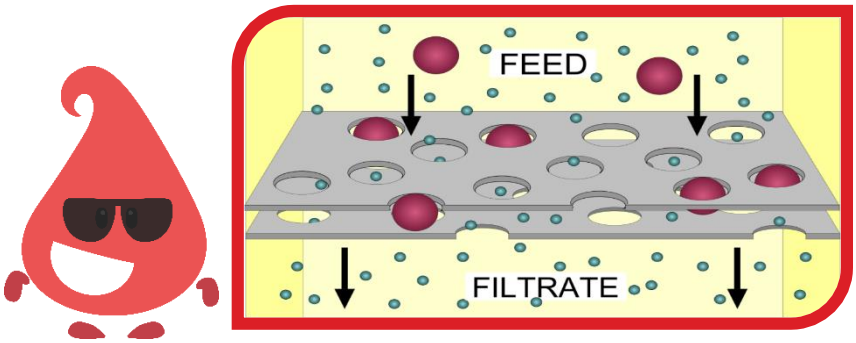
[2] التي سنتحدث عنها.

2. آليات الترشيح Mechanisms:

تختلف آلية الترشيح حسب شكل المرشحة وطبيعتها (عميقة، سطحية) وطبيعة المادة المصنوعة منها، وتكون آليات الترشيح كالتالي (سواء لترشيح السوائل أو الغازات):

أولاً: الغربلة (النخل) Sieving:

- هي الآلية التي تعتمد على فلتر غشائي (مراشح سطحية) Membrane filter له حجم مسام محدد تُحتجز ضمنه الخلايا والأجزاء التي حجمها أكبر من حجم المسام pore size أما الأصغر تعبر مع الرُشاحة، وهي أبسط الآليات.

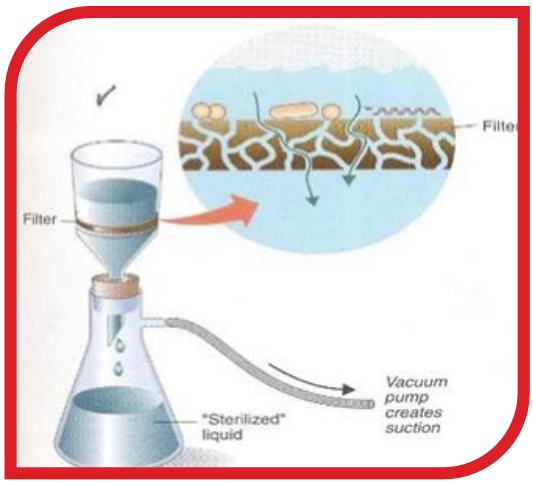


ثانياً: الشبك (الاحتجاز) ضمن المطرس Trapping within the matrix:

- نجدها في المراشح العميقة المصنّعة من شبكة من ألياف السيللوز المكدسة فوق بعضها.
- يوجد على سطح الخلية الجرثومية ألياف أو أهداب دقيقة "خمل Fimbria" يؤدي مرورها عبر المسامات إلى شبكها بين الألياف، وهنا لا يمكن القيام بعملية recycling لأن الجرثوم موجود في بيئة مناسبة له -الجرثوم قاعد ومرتاح- وفي حال وجود رطوبة سيتكاثر ويتشكّل بؤرة جرثومية.
- ويذكر أن الـ HEPA Filter[3] يعمل بهذه الطريقة، لذلك يكون لها عمر بالاستخدام أي نقوم بـ Validation.

[3] High efficiency particulate air.

ثالثاً: الحشر Entrapment:



نجدها في المراشح العميقة المصنّعة من الفخار أو البورسلان أو الزجاج، هنا يُحشر الجرثوم ضمن أنفاق المرشحة (وليس ضمن مسام ولا ضمن ألياف)، وهذه الأنفاق تكون متعرجة تتسع في مكان وتضيق في مكان آخر[4] وبالتالي إذا استطاعت الخلية (أو العالقة بشكل عام) المرور من منطقة ستعلق وتحشر في منطقة أخرى من النفق.

↩ وتتم عملية تنظيفها بمعاملتها بمواد ذات تأثير تآكلي قوي مثل الصود وحمض كلور الماء وذلك لحل جميع العوالق التي سدّت الأنفاق.

رابعاً: الادمصاص Adsorption: (لم يتحدث عنها الدكتور)

3. من ناحية قطر المسام: هناك 3 مراشح تستخدم صيدلانياً

0.2-0.22 µm :pore size	يُستعمل من أجل تعقيم السوائل من الجراثيم أو بذيراتها بهدف الحصول على نقاوة وعقامة في آن واحد، وهي الأكثر استخداماً في الصيدلة.
0.1 µm:	تستخدم لتعقيم بعض المشتقات التي مصدرها التقانة الحيوية مثل الإنسولين بهدف الحصول على نقاوة وعقامة في آن واحد.

[4] حسب شروط التشكيل، والصب، وشروط العمل، والتجفيف... ⇐ تؤدي لتشكيل أنفاق قد تكون قصيرة، أو متعرجة تصل للطرف الآخر من قطعة الزجاج مثلاً.

نحصل على الإنسولين بواسطة الـ E. coli، كما نعلم الـ E. coli من سلبيات الغرام وبالتالي قادرة على تشكيل البيروجينات.

وبالتالي أصبح لدينا مشكلتين:

- الإنسولين بروتين حساس للحرارة وبالتالي لا نستطيع تعقيمه بالحرارة.
- وجود البيروجين ووجود الـ E. coli التي يُرفض وجودها في جميع الأشكال الصيدلانية.

لذلك أفضل وسيلة للتعقيم هنا الترشيح (ستخلّصنا من الجرثوم الحي والبيروجين).

0.45 µm:	تستخدم لعزل الجراثيم بأشكالها الإعاشية والجزيئات الكبيرة في الـMicrobial Check، ولكن ليس بقصد التعقيم وإنما بهدف تنقية وجمع العينات الجرثوميّة، وتستخدم في المخابر الجرثومية أي للعزل والتنقية.

4. من حيث طبيعة المادة التي تتكوّن منها: من الأرشيف

قد تكون المراشح مصنوعة من:

الألياف:

- وهذه الألياف عبارة عن بوليمرات قد تكون: طبيعية (مثل مشتقّات السيللوز) أو صنعيّة، ويمكن المفاضلة بينها تبعاً لطبيعة المادة المراد ترشيحها "فالمادة الزيتية تختلف عن المادة المائية"، وتُستخدم لمرة واحدة مثل المراشح السطحية والعميقة من نمط الشبك ضمن المطرس.

مواد صلبة:

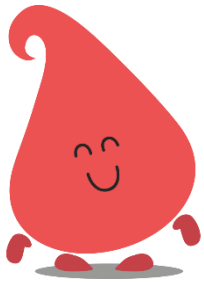
- مثل الخزف والزجاج والفخار والبورسلان، وهي قابلة لإعادة التدوير من خلال تنظيفها، وهي مقاومة للتأثير التآكلي لبعض المواد مثل الـ HCL والـ NaOH وبالتالي نضيف هذه المواد القادرة على حلّ المواد العالقة وتعود المرشحة صالحة للاستعمال مرة أخرى ☺، مثل المراشح العميقة المصنوعة من الخزف المحجّر.

ملاحظات:

- **المراشح العميقة والسطحية كلاهما بنفس الكفاءة لكن الترشيح بالمرشحة الغشائية membrane filter أسرع من المراشح العميقة، حيث أن آلية التعامل معها handling هي التي تفضّل أحدهما على الأخرى.**
- **تعتبر طريقة الغربلة هي الأفضل من بين طرق الترشيح والأكثر استخداماً في تعقيم الأشكال الصيدلانية لأنها تقوم بحجز كل الجزيئات من حجوم معيّنة وتمنع عبورها، إضافةً إلى أنها غالباً ما تستخدم لمرة واحدة مما يريحنا من ناحية التلوّث.**

<u>تختلف آلية الترشيح بحسب نوع المرشحة:</u>

- مراشح سطحية ⇔ النخل أو الغربلة.
- مراشح عميقة مصنوعة من ألياف ⇔ الشبك.
- مراشح عميقة مصنوعة من الفخّار ⇔ الحشر.



اختبارات ضبط وتعيير Validation طرق التعقيم بالمراشح الغشائية:

يوجد لدينا عدة اختبارات ومعايير تم تحديدها من قبل منظمات دولية مسؤولة مثل Health Industry Manufacturers Association (HIMA)، وفق هذه المنظمات أن هذه الاختبارات تفيد في الحكم على ثلاثة معايير أساسية للمرشحة:

جودة المرشحة Quality of filter. + سلامة المرشحة Integrity of filter. + فعالية المرشحة Efficacy of filter.

المشكلة هنا أنه لا يوجد آلة متساوية القطر نضع فيها المكونات ونضغط فتتشكل مرشحة بمسامات متساوية، فالظروف التي يحدث بها تشكّل لمسام المرشحة لا نستطيع التحكم بها فهي عملية غير مضبوطة تتغير بتغير الشروط، لذلك جودة المرشحة تختلف ضمن المعمل نفسه من طبخة لأخرى.

⇐ العوامل التي تتحكم بتشكّل المسامات قابلة للتغير من حين إلى آخر وبالتالي نحتاج إلى اختبارات تحكم على جودة هذه المراشح.

1. اختبار جودة المرشحة:

عندما نقول أن مرشحة بأبعاد 0.22 µm فهذا يعني أن قطر أكبر مسام موجود بالمرشحة هو 0.22 µm (لا يجب أن يوجد قطر أكبر منه إطلاقاً)، ولا يشترط أن تكون كل المسامات الموجودة بقطر 0.22 µm، والسؤال الذي يطرح نفسه كم يساوي هذا المسام من مُجمل المسامات الموجودة بالمرشحة وهذا ما لا يمكن تقديره، مثلاً كم مسام من هالألف؟؟؟ 100 أو 200 مسام...

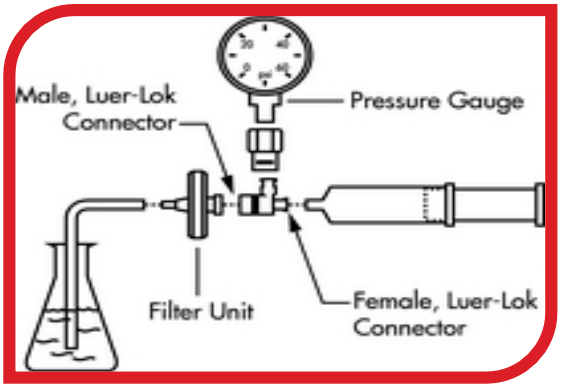
- كلما زادت نسبة المسام الأعظمي من جملة المسامات كلما كانت المرشحة أكثر جودة.
- مثلاً بـ 1 سم^2 لدينا 70% من المسامات بقطر 0.22 ⟸ يؤدي المرشحة ممتازة.
- أما لو كانت النسبة 20% ⟸ نقول مرشحة مقبولة.
- أي جودة المرشحة هي كم تساوي نسبة هذا المسام من مُجمل المسامات الموجودة بالمرشحة وهذا ما لا يمكن تقديره، وبشكل عام كلّما كانت نسبة المسامات المساوية 0.22 µm من إجمالي المسامات الموجودة في المرشحة أعلى كلّما كانت جودة المرشحة أكبر وبالتالي سرعة الترشيح أفضل، وكلما كانت نسبتها أقل كلما كانت المرشحة أسوأ.
- عملية الترشيح تتم تحت الضغط، ولدينا نوعين من الضغط:

ضغط سلبي	ضغط إيجابي
• تخلية في أسفل المرشحة	• الضغط على السائل فوق المرشحة مما يجبرها على العبور

الضغط المفضّل هو الضغط الإيجابي لأنه يقدّم سرعة جريان أعلى ويتجنّب حدوث التلوث في حالة الضغط السلبي

كيف يتم حسابه؟؟؟[5]

- تُحسب اعتماداً على اختبار الفقاعة Bubble test، حيث يؤخذ الغشاء "المرشحة الغشائية" ويُغسل بمادة فعّالة على السطح "سبان أو توين" ويوضع على حامل (نضع المرشحة بحامل)، ثم يطبّق ضغط متزايد بسرغ.



[5] سنركز عليه في العملي.. لا تصدقوا لأن متل العادة ح يقولولنا اخدتوه بالنظري والدكتور شرحلكن ياه ☺

- أوّل فقاعة تظهر بتطبيق أصغر ضغط توافق أكبر قطر مسام Pore size موجود في المرشحة، لأنَّ النفخ بأنبوب قطره كبير سهل، وكلما كان قطر الأنبوب الذي ننفخ فيه أصغر كان النفخ أصعب (علاقة عكسية بين الضغط وقطر المسام)، وليكن الضغط الموافق لأكبر قطر مسام يساوي X_1.
- ونستمر بزيادة الضغط حتى تظهر آخر فقاعة وهي توافق أصغر قطر مسام Pore size، وليكن الضغط الموافق لأصغر قطر مسام يساوي X_2.

فكلّما كان الفرق بين الضغطين (X_1 و X_2) أصغر كلّما كانت مسامات المرشحة أكثر تجانساً وجودة، وكلّما كان الفرق بين الضغطين (X_1 و X_2) أكبر كلّما كانت مسامات المرشحة أقل تجانساً وجودة.

2. اختبار سلامة المرشحة:

- يُستخدم هذا الاختبار للحكم على المرشحة بعد عملية التعقيم هل بقيت سليمة أم لا[6]، حيث أن الضغط الإيجابي قد يسبب تخرّب المسام وتوسعها.
- يُطبّق اختبار الفقاعة المذكور ذاته للتحرّي عن سلامة المرشحة بعد الترشيح، وتحسب القيم بعد الترشيح وتكون Y_1 الضغط الموافق لأكبر قطر مسام، و Y_2 الضغط الموافق لأصغر قطر مسام، أي نحسب القيم قبل الاستعمال X_1 و X_2 والقيم بعد الاستعمال Y_1 و Y_2[7].
- ومنطقياً يجب أن يكون $Y \leq X$، حيث:

إذا كانت $X=Y$ يعني لم يحدث تغيّر، وإذا كانت $Y < X$ لأنه سيحصل لدينا انسداد ببعض المسامات بعد الترشيح. أما في حال $Y > X$، فنستنتج أن المرشحة تأذّت واندمجت فيها المسامات وتوسّعت وبالتالي تأذّت سلامة المرشحة، يعني مثلاً قبل كان الضغط 5 يُعطينا فقاعة وبعد صار الضغط 3 يُعطي فقاعة.

[6] بسبب عمليات الضغط التي تتم عليها كما ذكرنا.

[7] قد يُرمز للضغط الموافق لأكبر مسام قبل الاستعمال بـ X والضغط الموافق لأصغر مسام بـ -X، وكذلك بالنسبة لـ Y.

ملاحظة:

- إذا تخربت المرشحة بعد عملية الترشيح يجب أن نخفف الحجم الذي نقوم بترشيحه.
- وبالتالي فإن اختبار نقطة الفقاعة أو الانتشار (The bubble point or diffusion Test) يُستعمل بعملية ضبط وتعيير الأغشية **قبل وبعد** عملية التعقيم.
- يمكن الاستعاضة عن اختبار الفقاعة السابق **باختبار مرور الغازات** Gas diffusion.

والجدول التالي يبين الفرق بين المراشح العميقة والمراشح السطحية (الغشائية):

الصفات	مراشح عميقة	مراشح سطحية
حجز الـM.O فوق حجم معيّن (أكبر من حجم الثقوب)	-	+
سرعة ترشيح عالية	-	+
إمكانيّة التنظيف والتخلّص من الأوساخ	+	- (الأغشية غالباً Disposable)
نمو الجراثيم خلال وعلى المرشحة	+ (خاصةً المصنوعة من الألياف مثل الـ HEPA filter)	Unlikely
هدر في مكوّنات المادة المرشحة	+	-
حجز السائل (عدم مروره أو توقّفه)	+	-
ادمصاص المواد المذابة	+	-
ثباتها كيميائياً	+	حسب نوع المتماثر
الترشيح الجيّد	+	+

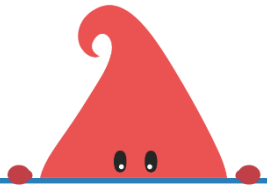
من الجدول نلاحظ أن:

- المراشح الغشائية والمصنوعة من الألياف هي disposable تستخدم لمرة واحدة.
- المراشح العميقة لا تستخدم في الصناعة الصيدلانية سوى في تعقيم الهواء.
- تعقيم السوائل بالمراشح الغشائية: نمرر عليها السوائل الغير متحملة للحرارة الثابتة في المحلات.

- **مثال:** لدينا مواد غير متحملة للرطوبة والحرارة على شكل بلورات ونريد تعقيمها فيمكن أن يتم إعادة بلورتها بمذيب غير ملوَّث بالجراثيم، ففي حال كان للمذيب فاعلية مضادة للجراثيم مثل الكلوروفورم فإنه سيقتل الجراثيم، أما إذا كان المذيب ليس له خاصية مضادة للجراثيم فإنه بعد حلها نقوم بعملية filtration ثم نقوم بإعادة بلورتها.
- تستخدم للتعقيم في بعض الحالات بمراشح 0.22، وتستخدم لترشيح الأمبولات والسيرومات للتنقية باستخدام مراشح بقطر 0.45.

3. اختبار فعالية المرشحة:

- فعالية المرشحة: هي قدرة المرشحة على احتجاز 10^7 خلية جرثومية في وحدة المساحة 1 سم^2 من سطحها.
- أي لكي يكون الغشاء فعالاً ومسموحاً باستعماله في الترشيح يجب أن يكون ذا قدرة على حجز 10^7 خلية من الـ Reference strain بالـ cm^2 الواحد من سطحه حسب دستور الأدوية الأمريكي والأوروبي.
- بعض المراجع المتشددة مثل دستور الأدوية البريطاني يفترض أن يكون غشاء الترشيح المستعمل في التعقيم له قدرة احتجاز 10^9 microbial cell/cm^2 من سطحه.



10^7 microbial cell/cm^2 ⇐ من سطحه بحسب الدستور الأمريكي والأوروبي.
10^9 microbial cell/cm^2 ⇐ من سطحه حسب دستور الأدوية البريطاني.

ذكرنا أن لكل طريقة تعقيم مشعر حيوي يختلف حسب قطر المسام pore size .

مثلاً عند 0.45 نستخدم السيراتيا الذابلة Serratia marcescens وهي من الإمعائيات وتعطي مستعمرات بلون برتقالي وأصفر، حجم خلاياها أكبر من 0.5 µm لذلك تستعمل كمشعر حيوي.

بينما عند 0.22 نستعمل جراثيم الزائفة الصغيرة Pseudomonas diminuta أو تسمى Brevundimonas diminuta لكن بشرط أن تكون مزروعة ضمن وسط مرق الغلوكوز في المصل الفيزيولوجي فتعطي في الوسط خلايا جرثومية أبعادها 0.3 µm.

طريقة العمل:

نأخذ مرشحة معلومة القطر والمسام ومعلق جرثومي يحوي جرثوم مرجعي ونضع في كل 1 $سم^2$ من المرشحة 1 مل من المعلق الجرثومي الذي يحوي 10^7 خلية جرثومية، فإذا كانت مساحة المرشحة 5 $سم^2$ نضع 5 مل ثم نقوم بعملية Filtration ⇐ يجب هنا أن تكون الرشاحة filtrate الناتجة عقيمة.

بعض المحاليل المستخدمة يكون لها صفات كيميائية -ليست خاملة- تتفاعل مع مكونات المرشحة

*البوليمرات الصنعية المستعملة في صنع المرشحة تختلف باختلاف المادة التي نعقمها[8]

المحاليل المائية	MCE, PVF
الزيت	MCE, PVF
المذيبات العضوية	PTFE, PVF
المحاليل المائية ذات pH عالية	PVF
الغازات	PTFE, PVF

- والجدول التالي يبين مساحة غشاء الترشيح وقدرته على ترشيح السائل مقدّرة بالليتر من حجم السائل، غالباً تأتي المرشحة بشكل أقراص -للاطلاع- 😉
- نلاحظ أنه كلما زادت مساحة سطح المراشح كلما تم إنجاز حجوم أكبر من المواد المراد ترشيحها.

انتبه: ليس جميع المواد التي يتم ترشيحها معلقات جرثومية

كلما كان عدد الجراثيم المسموح به أقل كلما كان عمر المرشحة أطول

قطر ورقة الترشيح (ملم)	مساحة الترشيح ($سم^2$)	الحجم النموذجي من السائل (الليتر)
13	0.8	أقل من 0.01
25	3.9	0.1 – 0.05
47	11.3	0.3 – 0.1
90	45	5 – 0.3
142	97	20 – 5
293	530	أكثر من 20

[8] MCE: Methyl cellulose
PVF: Polyvinyl fluoride
PTFE; Poly Tetra Fluoro-Ethylene

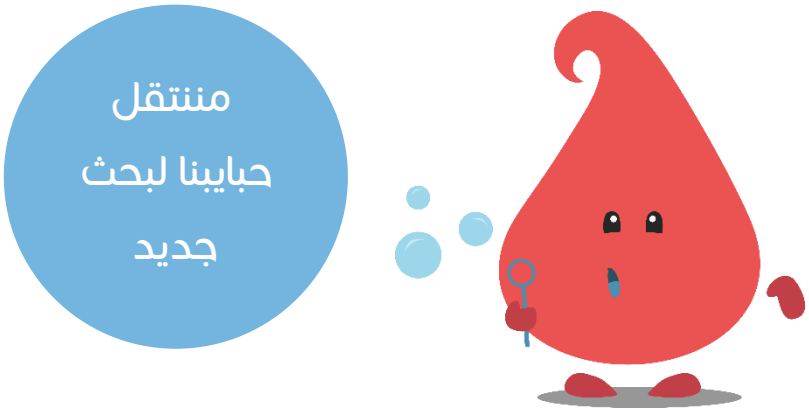
☺ **يُعقم الهواء بالمراشح العميقة المصنوعة من الألياف تسمى HEPA Filter وهي أهم قسم في جهاز الـ LAF -سنتحدث عنها لاحقاً-**

فيما يلي جدول يلخّص طرق التعقيم المستخدمة في الصيدلة: مطلوب ☹

Sterilization method	Conditions
Moist heat (autoclaving)	121°C for 15 min 134°C for 3 min
Dry heat	160°C for 120 min 170°C for 60 min 180°C for 30 min
Ethylene oxide	Gas concentration: 800–1200 mg/L 45–63°C 30–70% relative humidity 1–4 hours sterilizing time
Low-temperature steam and formaldehyde	Gas concentration: 15–100 mg/L Steam admission to 73°C 40–180 min sterilizing time depending on type of process
Irradiation Gamma-rays or accelerated electrons	25 kGy (2.5 Mrad) dose
Filtration	≤0.22 μm pore size, sterile membrane filter

ملحوظة

- **جهاز التعقيم بأشعة غاما يكاد يكون مفاعل نووي حقيقي -كمية كبيرة جداً من الطاقة تستدعي احتياطات كبيرة.**
- **جرعة الإشعاع المستخدمة في التعقيم 25 kGy.**



مراقبة التعقيم وضمان العقامة Sterilization control and sterility assurance

- المقصود بها مراقبة عملية التعقيم التي نقوم بها، فجزء منها سيتم على طريقة التعقيم والجزء الآخر على المنتج.
- ذكرنا سابقاً أنه علينا اتخاذ جميع الإجراءات التي تكفل الحصول على منتج عقيم ولكن رغم ذلك لا يمكن الجزم أنّ المنتج عقيم.
- لذلك علينا القيام بمراقبة لعملية التعقيم In process بجميع مراحلها والتأكد من أنها مثالية عبر استخدام الوسائل والطرق التي تدلّ على أن عملية التعقيم تسير بالمسار السليم - بقياس الحرارة، الضغط، الزمن، وتوزع البخار بشكل جيد ضمن حجرة التعقيم، والمشعرات الحيوية -، وبالإضافة إلى ذلك يجب إجراء اختبار العقامة للمنتج النهائي للتأكد من أنّ عملية التعقيم قد أدت فعلاً عملها بالقضاء على جميع الميكروبات في الشكل الصيدلاني.

سنذكر في هذه المحاضرة طرق مراقبة عملية التعقيم عن طريق المشعرات المختلفة وسنترك اختبار العقامة لمحاضرة لاحقة.

بعض المفاهيم:

تحديد مستوى التلوث Bioburden monitoring:

مثلاً تم طلب مادة من قبل المعمل بصفات محددة ولتكن الباراسيتامول بحيث لا يتجاوز المحتوى الجرثومي 2000 CFU/g لتصنيع شكل صيدلاني غير عقيم.

ذكرنا أنه في الأشكال الصيدلانية غير العقيمة نقوم بتحديد المحتوى الجرثومي bioburden ونقارنه مع microbial limit -المحدد دستورياً أو حسب المُصَنِع -أما إذا كانت ستدخل كمكوّن من مكونات شكل صيدلاني عقيم نجري اختبار العقامة، في حال أجرينا اختبار العقامة وكان غير موافق،

ما الحل ؟؟؟؟

بالبداية وأول خطوة نقوم بها عند الحصول على نتيجة «غير موافق» في اختبار العقامة المُجرى على المواد الأولية هي تحديد المحتوى الجرثومي كمّاً ونوعاً، لأن ذلك يحدد طبيعة الإجراءات المتخذة فيما بعد.

حيث في الأشكال الصيدلانية العقيمة الحشوية (الحقنية) لا نهتم فقط بالحصول على نتيجة إيجابية في اختبار العقامة، وإنما أيضاً يهمّنا الحصول على نتيجة إيجابية في اختبار البيروجينات، فلا قيمة لأي إجراء نتخذه ونحصل بالنتيجة على اختبار عقامة «موافق» واختبار بيروجين «غير موافق».

والطريقة المتبعة تعتمد على نوع الجراثيم وكميتها الموجودة في العينة bioburden:

1. ففي حال كان التلوث بالبذيرات الجرثومية Spores والجراثيم إيجابية الغرام: يمكننا إجراء التعقيم على المادة الأولية دون قلق لأن البذيرات الجرثومية وإيجابيات الغرام لا تعطي بيروجينات عند قتلها، فمهما كان عددها يمكننا أن نعيد التعقيم ونحن مطمئنون بأن نتيجة اختبار البيروجينات ستكون موافقة.

2. وفي حال كان التلوث بالفطور أيضاً يمكننا أن نعيد التعقيم.

3. أما في حالة الجراثيم سلبية الغرام: فنتذكر أن هذه الجراثيم تحوي في بنيتها على بنية سميناها Outer membrane أو الذيفان الداخلي Endotoxin وهي ذاتها البيروجين Pyrogen الذي يهمنا القضاء عليه في الأشكال الحقنية.

لذلك عند تعقيم مادة أولية حاوية على كميّة كبيرة من الجراثيم سلبية الغرام قد نحصل على اختبار عقامة موافق، ولكن يجب أن نضع في حسباننا تحرر كمية كبيرة من البيروجينات الناتجة عن الجراثيم المقتولة والتي قد تؤثر على نتيجة اختبار البيروجينات فنكون قد انتقلنا من مشكلة إلى مشكلة جديدة.

لذلك فالخيار الأفضل هو تغيير الشكل الصيدلاني في هذه الحالة إلى شكل آخر لا يشكّل وجود الجراثيم أو البيروجينات الناتجة عنها مشكلة هامة، فمثلاً:

- يمكن تحويل هذا الشكل إلى شكل صيدلاني عقيم آخر وهو القطورات العينية، لأنها تتمتع بميزة هامة وهي أننا لا نهتم بوجود البيروجينات في هذا الشكل.

- يمكن تحويله إلى شكل صيدلاني غير عقيم بشرط ألا تكون الجرثومة الملوِّثة من الجراثيم المرفوض وجودها في كل شكل والتي تحدثنا عنها سابقاً، فإذا كانت الجرثومية الملوثة مثلاً هي السالمونيلا فلا يمكن تحويل المادة إلى شكل مضغوطات، بينما يمكن تحويلها إلى تحاميل مثلاً (لأن السالمونيلا غير مرفوضة في التحاميل).

- أما لو كانت ملوثة بالسيراتيا فهنا نستطيع تحويلها لشكل فموي ما في مشكلة.

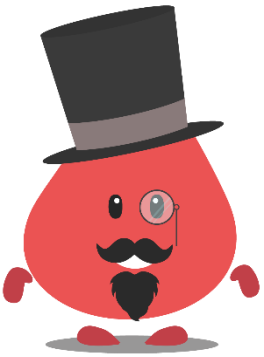
في حال كان لدينا مادة ثابتة بالحرارة وملوثة بالفطور والمادة نريد تحضيرها بشكل أمبولات أيضاً نستطيع استخدامها لأن الأمبولات تعقَّم بشكلها النهائي.

أي عندما يكون اختبار العقامة غير موافق نحدد بالبداية نوع الجرثوم الملوث وبناءً عليه نحدد آلية الخطوات اللاحقة -الدكتور بيجيب مسائل عليها كثير-

بالمختصر :

إجراء التعقيم على المادة الأولية	التلوث بالبذيرات الجرثومية والجراثيم إيجابية الغرام
إجراء التعقيم	التلوث بالفطور
تغيير الشكل الصيدلاني	التلوث بالجراثيم سلبية الغرام

انتبهوا حبايبنا :



- في حال كان الشكل الصيدلاني مثل -الأمبولات- غير عقيم فهنا ⟸ نرفض الطبخة.
- عند إجراء اختبار تجانس الوزن للمضغوطات وكانت غير موافقة ⟸ أيضاً نرفض الطبخة.
- بينما هنا المادة الأولية غير موافقة وبالتالي يمكن تغيير مواصفاتها -رفض المادة سيسبب خسارة للمعمل لذلك نعدل عليها-

سؤال هام للعملي:

س. لدينا مادة أولية غير عقيمة ستدخل في تحضير شكل صيدلاني عقيم ما هي الإجراءات التي سنقوم بها؟

ج. أول خطوة نقوم بتحديد نوع الجرثوم الملوِّث وكميته.

الوسائل المستخدمة في مراقبة طرق التعقيم

من الوسائل التي تدلّ على أنّ عملية التعقيم تسير بالاتجاه الصحيح هي المشعرات.

المشعرات

😊 وتصنّف المشعرات في ثلاثة أنواع حسب آلية المراقبة:

- مشعرات فيزيائية Physical indicators
- مشعرات كيميائية Chemical indicators
- مشعرات بيولوجية Biological indicators

المشعرات الفيزيائية Physical indicators:

تختلف المشعرات الفيزيائية التي نهتم بمراقبتها بحسب طريقة التعقيم المستخدمة.

1. بالنسبة للتعقيم بالحرارة الرطبة أو الجافة:

😎 المعيار الفيزيائي الأساسي الذي نهتم بمراقبته خلال دورة التعقيم هو درجة الحرارة Temperature، وذلك من خلال:

- 🖐 يوجد لصاقات توضع على الأوتوكليف من الخارج بحيث إذا وصلت درجة حرارة التعقيم للـ 121°C يتغير لون اللصاقة، وهي غير دقيقة لكن تعتبر مقبولة وتستخدم كنقاط علّام.
- 🖐 طريقة Master Temperature Record (MTR): وتستخدم كثيراً في الحرارة الرطبة.

- نعلم أن التعقيم بالحرارة يتألف من 3 مراحل: مرحلة التسخين، مرحلة الثبات، ومرحلة التبريد، ويتم رسم مخطط بياني chart يُظهر تغير درجات الحرارة مع الزمن[9] لكل دورة تعقيم عن طريق الحاسوب المرفق بجهاز التعقيم.

- يُقارن المخطط البياني لدورة التعقيم مع المخطط المعياري الذي يكون مرفقاً مع الجهاز والذي يدعى Master Temperature Record (MTR):

  - فإن كان موافقاً ← كان ذلك إشارة على أن سير عملية التعقيم كان جيداً.
  - وإن وجدنا انحرافات كبيرة عن هذا المخطط ← فذلك يدل على وجود مشكلة في الجهاز.

يُرفق مخطط دورة التعقيم في حال الموافقة عليه مع الملفّ الخاص لطبخة المادة الدوائية من أجل إجراءات التوثيق Documentation.

- في **الصاد الموصد** بالإضافة إلى مراقبة درجة الحرارة يجب أيضاً مراقبة الضغط والتوازن بينهما لكيلا يفقد البخار صفته الحدّية.

- عند تعقيم الأمبولات المائية وأكياس السيروم في الأوتوكليف المعتمد على مبدأ هواء التوازن ذكرنا أن الأوتوكليف الحقيقي والفعّال يكون بداخل الأمبولة أما الخارجي ليحافظ على التوازن ونقل الحرارة، السؤال المطروح هنا كيف سيتم قياس الحرارة والضغط داخل الشكل الصيدلاني؟؟

- يتم مراقبة درجة الحرارة داخل الجهاز بواسطة مزدوجات حرارية Thermocouple والتي تقيس تغيرات درجة الحرارة في أبعد نقطة في حجرة التعقيم عن المواد المراد تعقيمها.

[9] إذ تتأرجح درجة الحرارة في الصاد الموصد في طور الثبات بين 121 و126 درجة مئوية، وكذلك الأمر عند التعقيم بالحرارة الجافة إذ يُسمح بتغير درجة الحرارة حوالي 5 درجات مئوية صعوداً وهبوطاً.

- مثلاً عند تعقيم أمبولات 5 مل تحوي محلول مائي نقوم بتوزيع عدة أمبولات عيارية standard حجمها 5 مل ولها غطاء معدني وتشابه الأمبولات التي يتم تعقيمها على Thermocouple الموجود ضمن الجهاز، وتحوي أيضاً ميزان حرارة وضغط موصولة مع couple للكمبيوتر المركزي المراقب لعملية التعقيم.

- ويقوم الـ Thermocouple بقياس الحرارة والضغط داخل الأمبولة التي تم توزيعها ويعطي أيضاً جودة التعقيم ضمن هذه الأمبولات وينطبق الأمر على أكياس السيروم، ويسجل المخطط البياني ليتم فيما بعد مقارنته مع الـ MTR الذي يُعبّر عن الحرارة والضغط داخل الأمبولة -لأن نحنا بدنا 121 داخل الشكل الصيدلاني وليس بالخارج-

ولا ننسى أن نراقب الحرارة والضغط الخارجي

- في **الحرارة الجافة** يوضع شمع للحكم على طريقة التعقيم -سنتحدث عنها في المشعرات الكيميائية-

2. التعقيم بالغاز:

- من المتغيرات الفيزيائية التي ينبغي مراقبتها: التركيز، الضغط، درجة الحرارة، الرطوبة، الزمن.

- هنا يُستعمل ميزان حرارة عادي ففي حالة أوكسيد الإيتيلين الحرارة 20-54 وبزيادة درجة الحرارة تزداد الفعالية وتختصر دورة التعقيم.

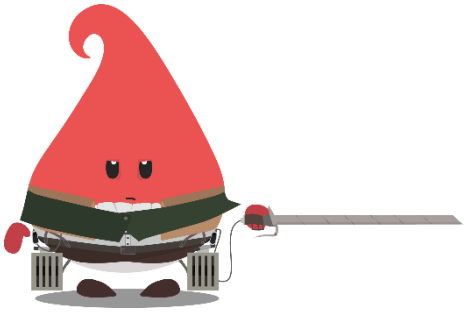
3. التعقيم بالأشعة:

- عن طريق وضع مواد بلاستيكية (مقياس الجرعة البلاستيكي Plastic dosimeter) وهو عادةً مادة من الـ Perspex والتي يتغيّر لونها عند امتصاص كمية معينة من الإشعاع (25 كيلو غراي مثلاً)، تغيّر اللون المشعر يكون مؤشر على أن المواد المراد تعقيمها تلقّت الجرعة الكافية لإنجاز عملية التعقيم مع أنه ليس الأكثر دقّة.

هنا لا نقيس الزمن لأن قدرة المواد المشعة تخفّ مع الزمن أي ليست ثابتة، ففي البداية تكون طاقة العنصر المشع ممتازة وبالتالي الزمن يكون قصير وإذا أردنا الحصول على نفس كمية الطاقة بعد خمس سنوات مثلاً سنحتاج لزمن أطول.

حيث أن الجرعة تساوي قدرة الإشعاع أو كمية الإشعاع مع الزمن، والخلية الجرثومية لتموت تحتاج لجرعة محددة ولأن التفاعل كمي فقد نحصل على الجرعة المطلوبة خلال نصف ساعة وفي بعض الحالات قد نحتاج لـ 2 ساعة

لذلك في الإشعاع لا نأخذ الزمن والحرارة بعين الاعتبار وإنما فقط نقيس الجرعة.



ملاحظة: عندما تُستنفذ الطاقة الموجودة بالعناصر المُشعة لأغراض صناعية "توليد كهرباء.." يبقى بقايا لا تفيد بالأغراض الصناعية وسامة للإنسان لذلك تستخدم بالسلاح.

4. التعقيم بالترشيح:

تحدّثنا عن اختبارات ضبط وتعيير طرق التعقيم بالمراشح الغشائية، وكان منها اختبارا جودة المرشحة وسلامة المرشحة (اختبار الفقاعة The bubble point أو Gas diffusion) وهما مشعران فيزيائيان، واختبار فعالية المرشحة وهو عبارة عن مشعر بيولوجي (وكلّها تخص المراشح الغشائية).

أما بالنسبة للمراشح العميقة Depth filters كالـ HEPA filter والتي تستخدم لتعقيم الغازات فقط -وليست للسوائل- وبشكل أساسي الهواء، فيمكن ضبطها وتعييرها من خلال اختبار Diocytlphtalate (DOP) (اختبار انتشار الغاز Gas diffusion) وهو عبارة عن دخان -أي جزيئات معلّقة في هواء-.

لدينا جهاز يقوم بسحب الهواء من الخارج ليخضع لعملية pre-filtration، ثم يتم ضغطه وتمريره على الجهاز الحاوي على الـ HEPA filter

قبل وصوله للـ HEPA filter يتم إمرار دخان **DOP** الذي يحوي عوالق أبعادها أكثر من 0.3 ميكرون -أي الدخان له حجم- وهذه العوالق يجب ألا تعبر إلى الداخل -يعني ما لازم نشوف هالعوالق في الداخل-

لذلك يُراقب الدخان المتسرّب من الجهاز ومع ذلك يُسمح بوجود نسبة يجب ألا تتجاوز 5%، وهذه النسبة ليست من الـ HEPA وإنما من الفواصل الجانبية والوصلات المحيطة بالمرشحة لأنها ليس محكمة الإغلاق وبالتالي يحدث تسريب.

وتعرّف الـ HEPA filter بأنها المرشحة التي قطر مسامها الأعظمي 0.22 ميكرون وتستطيع أن تعزل الجزيئات أو العوالق من الهواء التي أبعادها أكبر من 0.3 ميكرون بنسبة 99.997% وفق اختبار الـ DOP

😎 **يمكن الاستعاضة عن الاختبار السابق باستعمال جزيئات ذات أبعاد دقيقة ومعلومة من كلور الصوديوم أكبر من** 0.3 **ميكرون، تذر في الهواء الداخل إلى جهاز الترشيح** HEPA filter **ومن ثم يُكشف عن وجود تلك الجزيئات** (NaCl) **في الهواء الداخل إلى جهاز الترشيح.**

يجب ألا نرى جزيئات NaCl في الهواء

- ويعبّر عن قدرة ترشيح الجهاز بالنسبة المئوية لكميّة الجزيئات التي احتُجِزت على غشاء الترشيح من مجمل الكمية التي تعرّض لها وذلك ضمن شروط محددة ومعروفة.

المشعرات الكيميائية Chemical indicators:

- عند التعقيم بالحرارة الرطبة مثلاً، قلنا أن كل نقطة من الجزء المراد تعقيمه يجب أن يلامسها البخار على الأقل لمدة 8د، فكيف لنا أن نتأكد من حصول هذا؟؟

☜ هنا لا بد من إضافة مادة يحدث فيها تغير فيزيائي أو كيميائي ملحوظ بعد ملامستها للبخار لـ 8 دقائق، وبالتالي عندما نلاحظ ذلك التغيّر نستدل على أن البخار قد لامس المادة فعلاً لمدة 8 دقائق.

- إن وظيفة المشعر الكيميائي هي الاستدلال على توزع عامل التعقيم داخل حجرة التعقيم ووصوله للمادة بالتركيز الكافي والمدة الزمنية الكافية لإنجاز عملية التعقيم، فلا يمكن الاعتماد على المشعر الفيزيائي لوحده.

- تعتمد هذه المشعرات على مبدأ طرق التعقيم (الحرارة الجافة والرطبة والغازات المعقّمة والأشعة) وتختلف باختلاف طريقة التعقيم.

- ويبين الجدول التالي بعض الأمثلة على المشعرات الكيميائية المستخدمة في مراقبة عمليات التعقيم المختلفة:

طريقة التعقيم	طريقة المراقبة
(1) الصاد الموصد أو الحرارة الجافة	**المبدأ:** سائل ملوّن حساس للحرارة. **الجهاز:** أنابيب مغلقة مملوءة جزئياً بسائل يتبدل لونه عند درجات الحرارة المرتفعة، سرعة تغيّر اللون متناسبة مع درجة الحرارة مثل أنابيب Browne. **معالم المراقبة:** حرارة – زمن – طاقة.
(2) حرارة جافة فقط	**المبدأ:** مواد كيميائية حساسة للحرارة. **الجهاز:** عادةً شمع أبيض حساس للحرارة يُغلِّف مؤشر أسود أو سطح (ورق) مطبوع، وعند درجة الحرارة المحدّدة يذوب الشمع مُظهراً الخلفية، ومقدار كمية الشمع الذائب يدل على الزمن الذي وصلت فيه درجة الحرارة إلى الدرجة المطلوبة. **معالم المراقبة:** حرارة – زمن.
(3) الصاد الموصد فقط	**المبدأ:** مواد كيميائية حساسة للبخار. **الجهاز:** عادةً مواد كيميائية عضويّة بشكل حبر الطباعة مشرّب على مادة حاملة، وبمشاركة الرطوبة والحرارة يتغير لون الحبر إلى الأسود، تستعمل أدوات هذا النوع في عبوات الضمادات عند تعقيمها للتأكد من أن عملية طرد الهواء تمت بشكل صحيح أم لا، والتأكد من أن البخار نفذ إلى داخل الضمادات (اختبار Bowie-Dick). **معالم المراقبة:** البخار المشبع.

(4) الصادّ الموصد فقط	المبدأ: الخاصّية الشعرية Thermalog S. الجهاز: يتألف من صباغ أزرق في حبيبات شمعية، والذي ينتشر في البخار المشبع عند وصوله نقطة الذوبان. في حرارة الصاد الموصد وباستمرار وجود البخار تذوب الحبيبات وترتحل على طول شريط ورقي مشكّلة حزمة زرقاء طولها يعتمد على مدة التعرض ودرجة الحرارة. معالم المراقبة: الحرارة – البخار المشبع (أي بالصفة الحدية) – الزمن.
(4) التعقيم بأوكسيد الإيتيلين	المبدأ: كيماويات متفاعلة. الجهاز: ورق مشعر مشرّب بمواد كيميائية متفاعلة والتي تتفاعل مع أوكسيد الإيتيلين معطيةً لون بوجود الرطوبة والحرارة. في بعض الأدوات سرعة تطوّر اللون تابعة لدرجة الحرارة وتركيز أوكسيد الإيتيلين. معالم المراقبة: تركيز الغاز 800- 1200 ملغ/ل – درجة الحرارة – الزمن (للأدوات المحددة حسب دورة التعقيم التي يتم اختيارها وتركيز الغاز المستخدم).
(5) التعقيم بأوكسيد الإيتيلين	المبدأ: الخاصية الشعرية Thermalog G. الجهاز: كما في حالة Thermalog S الهجرة على شريط ورقي. تحصل الاستجابة المثالية عند دورة تعقيم 900 ملغ/ل من أوكسيد الإيتيلين ودرجة الحرارة 54 مئوية ورطوبة 40 – 80٪. المستوى المنخفض من أوكسيد الإيتيلين و/أو درجة الحرارة يؤخر زمن الاستجابة، ويزول لون الحزمة الأزرق عند رطوبة نسبية أقل من 30٪. معالم المراقبة: تركيز الغاز – درجة الحرارة – الزمن (للدورة المحددة).

(6) البخار منخفض الحرارة مع الفورم ألدهيد	**المبدأ: مواد كيميائية متفاعلة.** **الجهاز: ورق مشعر مشرّب بالفورم ألدهيد والبخار ومادة كيميائية متفاعلة حسّاسة للحرارة والتي يتغيّر لونها خلال عملية التعقيم.** **معالم المراقبة: تركيز الغاز – الحرارة – الزمن.**
(7) التعقيم بالأشعة	**المبدأ: مواد كيميائية متفاعلة.** **الجهاز: مواد بلاستيكية perspex مشرّبة بمواد كيميائية حساسة للإشعاع والتي يتغيّر لونها عند جرعة إشعاع قليلة نسبياً.** **معالم المراقبة: تشير فقط للتعرّض للإشعاع.**
(8) التعقيم بالأشعة	**المبدأ: أدوات قياس الجرعة.** **الجهاز: سائل كبريتات النشادر الحديدي الحمضي Acidified ferric ammonium sulphate أو كبريتات الشمع ceric sulphate التي تستجيب للإشعاع بتغيّر في الكثافة الضوئية (قبل وبعد إنجاز عملية التعقيم) مرتبط بالجرعة.** **معالم المراقبة: تقيس بدقّة جرعة الإشعاع.**

ملاحظات على الجدول السابق:

في التعقيم بالحرارة الجافة والرطبة:

- **في الحرارة الجافة:** نحتاج إلى مشعر يقيس وصول الحرارة مع الزمن.
  - **أنابيب بروان Browne:** هي أنابيب مملوءة بسائل يتبدل لونه عند التعرض للحرارة لزمن كافي، توضع الأنابيب شاقولياً ويراقب تبدل لونها:
  - مثلاً وصلت الحرارة لدرجة محددة ولمدة كافية يتغير لونه من الأصفر إلى الأسود، حيث أن لون المشعر يتغير عند حصوله على الطاقة الكافية (حرارة كافية وزمن كاف).

أما في الحرارة الرطبة ذكرنا أن F_0 Concept يجب أن يكون على الأقل 8 دقائق في الدرجة 121°C.

فهو غير كافٍ في الحرارة الرطبة لوحده لأنه يراقب الحرارة والزمن (فهو لا يراقب وصول عامل التعقيم وهو البخار إلى المادة المعقّمة)، بينما هو كافٍ في الحرارة الجافة.

في الحرارة الجافة:

عامل التعقيم هو الحرارة، ويجب ضمان توزيع الحرارة داخل حجرة التعقيم بشكل جيد، لذلك نستخدم إما:

A. الشمع: يوضع مشعر في منتصف الحجرة ويكون عبارة عن مادة شمعية بشكل أنبوب وفي المنتصف مؤشر معين أو نواة، الشمع مادة غير ناقلة للحرارة ويبدأ بالذوبان عند الوصول إلى درجة الحرارة المطلوبة (مثلاً 170°C)، ويكون الزمن اللازم لذوبان الشمع كاملاً وظهور المؤشر أو النواة داخل الشمع هو ساعة (وهي مدة التعقيم بالحرارة الجافة عند الدرجة 170°C)، فعند الانتهاء من عملية التعقيم نقوم بإخراج العمود فإذا كانت هناك لا تزال طبقات شمع على العمود ولم تظهر النواة فهذا يعني وصول درجة الحرارة إلى 170°C ولكن ليس للمدة الزمنية الكافية لإنجاز عملية التعقيم.

ملاحظة: لكل نوع من الشمع درجة حرارة خاصة يذوب عندها

B. أنابيب Browne وهي كافية كمشعر كيميائي لأن عامل التعقيم الحرارة وليس البخار.

في الصاد الموصد:

نحتاج إلى قياس توزع ووصول البخار المشبع، ويتم باستخدام:

طريقة Bowie-Dick

- يكون لدينا ورق يمتص أو يتشرب مادة كيميائية ملونة مغلف بشمع، نحتاج حرارة تؤدي لذوبان الشمع في الدرجة 121°C.
- البخار المشبع يحل محل المادة الكيميائية فتتشرب على الورق وتعطي لون (أسود مثلاً).
- حتى يذوب الشمع يحتاج على الأقل 8 دقائق، وبالتالي عند رؤية اللون نستدل أن البخار قد لامس المادة وعليه يكون أكثر دقة من أنابيب براون.

مشعر Thermalog S

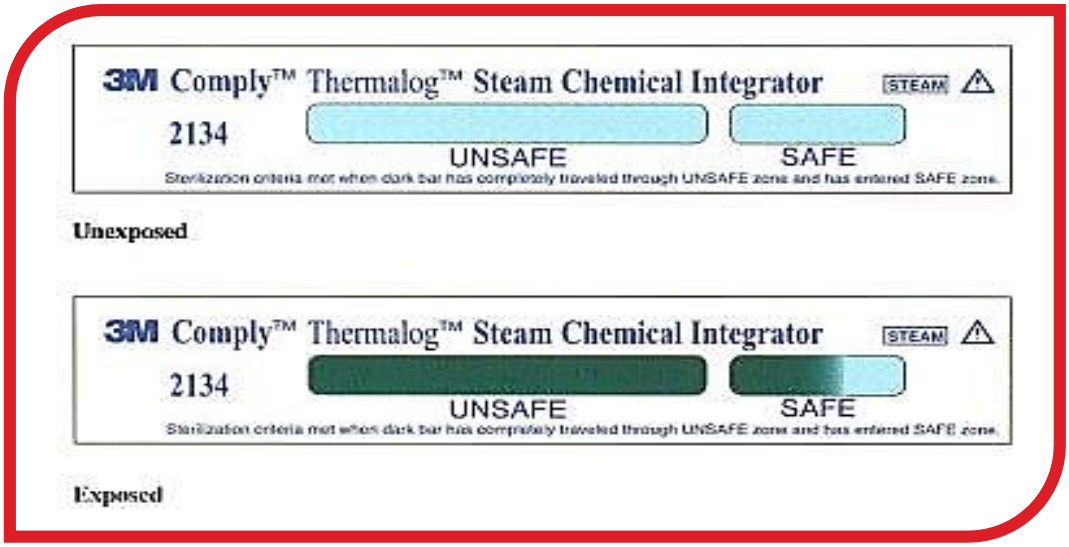
- وهو يشابه اختبار Bowie-Dick من حيث المبدأ واعتماده على البخار لكن يخالفه بطريقة القراءة، فهنا تهمنا المسافة التي قطعها على ورق الترشيح بالخاصية الشعرية أكثر من ظهور لون وهو الأكثر شيوعاً واستخداماً.
- يكون عبارة عن أشرطة (تشبه الكاسيتات) من مادة شمعية أيضاً وملونة (زرقاء مثلاً) في داخلها ورق (ورق ترشيح مثلاً) توضع بشكل شاقولي ضمن الأوتوكليف، ونقوم بتوزيع العديد من المشعرات الكيميائية في مختلف أرجاء حجرة التعقيم، ونقبل بنجاح اختبار المشعر الكيميائي إذا وصل البخار لجميع هذه المشعرات للزمن الكافي لإنجاز التعقيم وفق مفهوم F_0 وهو 8 دقائق.
- هذا الشمع يبدأ بالذوبان عند الدرجة 121°C مثلاً فيجب أن يستمر البخار بإعطاء طاقة للشمع حتى يُحافظ على ذوبانه، طالما بقي الشمع ذائباً فإنه يستمر بالصعود على الورقة إلى الأعلى بالخاصة الشعرية ووصوله إلى حد معين يعني استيفاء الزمن اللازم للتعقيم، لذلك فالمشعر لا يقيس الحرارة والزمن فقط وإنما يُعطي فعالية

البخار وقدرته على التحول (أي هل استمر وجود البخار بالصفة الحدية أم لا طيلة مدة التعقيم، فلو فقد الصفة الحدية لن يُعطي طاقة للشمع).

- الصورة التالية هي لمشعر Thermalog S ونلاحظ أنه يحوي حجرتين مكتوب تحت أحدهما غير آمن Unsafe والأخرى مكتوب تحتها آمن Safe، ولكي نقول إن المشعر قد تعرض للبخار بالصفة الحدّية طيلة مدة التعقيم يجب أن يجتاز الشمع المنطقة غير الآمنة Unsafe إلى الآمنة Safe.

- وإذا وصل الشمع فقط لآخر المنطقة غير الآمنة Unsafe نقول إن عملية التعقيم غير كافية، أي أن البخار لامس المادة لكن لفترة 8د أو أقل.

- أما Safe فيدل على أن البخار قد حقق شرط الملامسة أكثر من 8د وهو المرغوب بالتعقيم.



بالنسبة للتعقيم بأوكسيد الإيتيلين:

- التركيز المطلوب عند التعقيم بأوكسيد الإيتيلين من 800-1200 ملغ/ل، ويجب وجود زمن كافي ليقوم بعملية التعقيم.

- المشعر الكيميائي المستخدم مشابه تماماً لسابقه thermalog S المستخدم في الصاد الموصد ويدعى thermalog G، ولكن هنا يرتبط تغيّر لون المشعر من

المنطقة غير الآمنة إلى المنطقة الآمنة بكل من تركيز الغاز المستعمل ودرجة حرارة التعقيم والزمن.

- يعطي المشعر الكيميائي Thermalog G[10] تغير في اللون في حال كان تركيز الغاز 900 ملغ/ل طيلة مدة التعقيم، وعندما يتغيّر لون المشعر في كلتا المنطقتين غير الآمنة والآمنة نقول إن التركيز قد تجاوز 900 ملغ/ل ⟸ وبالتالي فإن عملية التعقيم كانت جيدة.

- لكن في حال استخدام التركيز 800 ملغ/ل مثلاً تنجز كامل عملية التعقيم دون أن يعطي Thermalog G أي تغير، لذلك في الجدول تمّ تحديد شروط دورة التعقيم الملائمة لاستخدام هذا المشعر.

- لا يكون تغيير شروط دورة التعقيم اعتباطياً، فيجب أن نغيّر الشروط وفقاً للمشعرات الكيميائية المتوافرة، فإذا غيّرنا التركيز مثلاً يجب أن يكون لدينا مشعر يقيس التركيز الجديد، فتغيير الشروط إذاً يكون ضمن المشعرات الكيميائية المتوافرة لدينا والتي تساعدنا في القياس.

- اختيار الحرارة والتركيز والرطوبة والزمن لدورة التعقيم مرتبط بالمادة المراد تعقيمها (فمثلاً دورة تعقيم السيرنغات ستكون مغايرة لدورة تعقيم الشاش)، وحسب المعمل الذي نعمل به وظروفه، والذي يحكم على عملية التعقيم هو اختبار العقامة، فلنا حرية التعديل بدورة التعقيم ضمن المجالات المسموحة للوصول إلى العقامة.

⟸ تختلف درجة الحرارة والرطوبة المستخدمة بما يتلاءم مع المواد المراد تعقيمها

- وتكون طريقة ضبط عملية التعقيم بأوكسيد الإيتيلين معتمدة على المشعر الحيوي للتأكد من وصول التركيز للحد المطلوب وللمدة الكافية.

[10] مشابه لمبدأ عمل الـ Thermalog S.

تذكّر: الضابط الأفضل لنجاعة عملية التعقيم بأوكسيد الإيتيلين هو وضع المشعر الحيوي وفي هذه الحالة هي بذيرات جراثيم العصويّة الرقيقة Bacillus subtilis
وبعد عملية التعقيم نقوم بزرع المشعر الحيوي المستخدم فإذا كان هناك نمو فدورة التعقيم غير جيدة، عندها نقوم بتغيير شروط دورة التعقيم (نغيّر تركيز، درجة الحرارة، زمن، رطوبة) لنصل في النهاية لدورة تعقيم يكون فيها نمو المشعر الحيوي Biological Indicator معدوم، ويبقى أن يؤكّد لنا اختبار العقامة أن دورة التعقيم كانت جيدة والمنتجات عقيمة.

في التعقيم بالغاز باستخدام الفورم ألدهيد:

- **يمكن إضافة مواد كيميائية كمشعرات كيميائية حساسة للفورم ألدهيد يتغير لونها وتكون بمثابة مؤشرات تدل على إنجاز عملية التعقيم.**

في التعقيم بالترشيح: من الأرشيف

- **فإنه لا بد من الإشارة إلى عدم وجود مشعرات كيميائية لضبط وتعيير المراشح الغشائية، لكن بالمقابل يوجد مشعرات كيميائية لضبط المراشح العميقة (مراشح الغازات) المتمثلة بالـ HEPA filter وذلك من خلال استخدام كل من اختبار DOP واختبار كلور الصوديوم.**
- **حيث ذكرنا أن معيار نجاح الاختبار يحدد من خلال كشف نسبة العوالق التي تحتجزها المرشحة من هاتين المادتين وتبعاً لطريقة الكشف عن هذه العوالق يكون نوع المشعر، فإذا استخدمت طريقة فيزيائية في الكشف عن دخان DOP (كاللون مثلاً) كان المشعر فيزيائياً وإذا أخذت عينة من الغاز وحلّل محتواها كان المشعر كيميائياً.**
- **والأمر مماثل بالنسبة لكلور الصوديوم فإذا كُشف عنه من خلال الطعم مثلاً كان المشعر فيزيائياً، وإذا استخدمت طريقة كيميائية كالمعايرة كان المشعر كيميائياً.**

نتذكر أن المرشحة الفعّالة وفقاً لاختبار الـ DOP هي المرشحة القادرة على احتجاز 99.997٪ من الجزيئات التي تزيد أبعادها عن 0.3 ميكرون.

بالنسبة للأشعة:

- الـ Plastic Dosimeter -المشعر الفيزيائي المستخدم- لا يعطي قياس الجرعة بدقة.
- لذلك يتم تمرير أمبولات حاوية على كبريتات النشادر الحديدي في pH حامضيّة، وبعد الانتهاء من دورة الإشعاع نقوم بقياس الامتصاص الضوئي لهذه الأمبولات (نقيس قبل وبعد التعقيم بالأشعة) لمعرفة كمية الأشعة التي تلقتها المواد المراد تعقيمها بدقّة.
- هنا يكفي توزيع أمبولة واحدة عكس بقية الطرق السابقة التي نوزع فيها عدة أمبولات، لأن الأشعة هنا لها قدرة عالية على الاختراق وبالتالي لا يوجد شك بأن الأشعة قد نفذت إلى الأمبولة أو لا.

نتائج:

المشعر الكيميائي عموماً أهم من الفيزيائي ولا يمكن الاستغناء عنه	بالتعقيم بالإشعاع المشعر الفيزيائي هو نفسه الكيميائي	التعقيم بالترشيح المشعر الفيزيائي هو الأساس ولا وجود لمشعر كيميائي

المشعرات البيولوجية Biological indicators (BIs):

- تكون كلمة الفصل دائماً للمشعرات البيولوجية لتقييم جودة أو كفاءة دورة التعقيم على الرغم من كل عيوبها، وهو اختبار لقدرة طريقة التعقيم على القضاء على المتعضّية الدقيقة المرجعية والأكثر مقاومة لطريقة التعقيم.

- مبدأه: يتم وضع الجرثوم الأكثر المقاومة لطريقة التعقيم في أماكن مختلفة من حجرة التعقيم، وبعد الانتهاء من دورة التعقيم يتم زرع المشعر الحيوي وهنا يجب ألا يحصل نمو فإذا حصل نمو هذا يدل على عدم كفاية دورة التعقيم.

- تكون المشعرات البيولوجية دوماً بشكل بذيرات جرثومية تستعمل بطرق التعقيم المختلفة الفيزيائية والكيميائية عدا الأشعة فوق البنفسجية UV (نستخدم الأبواغ الفطرية للرشاشيات).
- ليس له ضوابط معيارية للتحكم به لذلك هو من أسوأ المشعرات ☹

في حال كانت نتيجته مطابقة فهذا لا يعني أن اختبار العقامة أيضاً مطابق

المشعرات البيولوجية المستخدمة في عمليات التعقيم المختلفة

- لكل طريقة تعقيم مشعر بيولوجي مرجعي مقاوم لها أكثر من غيرها من طرق التعقيم، ونكون على علم بكل ما يتعلق بالمشعر الحيوي مثل الـ D-value ومقاومتها لطريقة التعقيم.

الصاد الموصد	الحرارة الجافة والغاز
B. stearothermophilus	B. subtilis
UV	أشعة
Aspergillus niger	B. pumilus

الترشيح

Brevundimonas diminuta أو Pseudomonas diminuta

Serratia marcescens

ملاحظة: ورد معنا في المحاضرة السابقة أن بعض الغازات المؤكسدة كان المشعر الحيوي لها أيضاً B. stearothermophilus وليس B. subtilis

والآن نعرض لكم هذا الجدول الذي يوضح المشعرات الحيوية مع التراكيز التي تستخدم بها والـ D-value الخاصة بها:

طريقة التعقيم	البذيرات الجرثومية	تركيزها	D-value
الصاد الموصد (121°C)	B. stearothermophilus[11] C. sporogenes	$< 10^5$	1.5 دقيقة (يمتد لـ 2) 0.8 دقيقة
الحرارة الجافة (160°C)	B. subtilis var niger[12]	$< 10^5$	10 – 5 دقيقة
أوكسيد الإيتيلين (600 ملغ/ل، 54°C، رطوبة 60%)	B. subtilis var niger	$< 5 \times 10^5$	2.5 دقيقة
بخار مع الفورم ألدهيد (12 ملغ/ل، 73°C)	B. stearothermophilus	$< 10^5$	5 دقيقة
الأشعة المؤينة Ionizing radiation	B. pumilus	$< 10^7 - 10^8$	3 kGy 0.3 Mrad

[11] يمكن في بعض الأحيان استخدام B. subtilis.

[12] يوجد لجراثيم Bacillus subtilis عدد كبير من الذراري فعندما نقول B. subtilis var niger فإنها بمثابة تمييز للذرية المستخدمة كمشعر بيولوجي.

عيوب المشعرات البيولوجية

1) قد تعطي نتيجة تعقيم إيجابية كاذبة أي عدم ظهور نمو للمشعر البيولوجي مع أن عملية التعقيم غير جيدة والمشعر لم يُقتل أثناء التعقيم (فنقول أنّ دورة التعقيم جيدة مع أنها غير جيدة)، وقد يعود السبب إلى أن فترة الحضن غير كافية، أو شروط الحضن غير مناسبة، الوسط المغذي غير ملائم لنمو المشعر أو درجة حرارة غير كافية...

2) يجب أن يكون المشعر الحيوي على هيئة المواد المراد تعقيمها وموجودة بشكل مماثل لها: فإذا كنا نعقم أمبولات (مائية أو زيتية) يكون المشعر ضمن أمبولات (مائية أو زيتية)، أو نعقم فازلين -أساس مرهمي- بالحرارة الجافة فيجب أن يكون المشعر موجوداً ضمن فازلين، نعقّم شاش نضع المشعر بوسط يشبه الشاش...

3) مشكلة الزمن الطويل لقراءة النتيجة: حيث تحتاج البذيرات إلى 7 أيام لتنمو وتُظهِر نتيجة الحضن (العكر)، ولا نستطيع التصرف بالمواد التي عقّمناها طيلة هذه المدة حيث تبقى تحت الحجر حتى ظهور النتائج.

يمكن اختصار هذا الوقت عن طريق استخدام المشعر البيولوجي على شكل حبابة أو أمبولة زجاجية تحوي البذيرات والماء بشكل منفصل حيث يفصل بينهما حاجز، نقوم قبل وضعه في حجرة التعقيم بعملية ضغط لإزالة الحاجز فينحل مسحوق البذيرات في الماء الموجود.

يحوي الماء على ركازة حساسة للأنزيم الذي تطلقه البذيرة أثناء الإنتاش Germination (لتحريرها من الغشاء المحتجزة داخله) وبتأثير الأنزيم على الركازة يتغير لونها، ونستدلّ من تغير اللون بعد عملية التعقيم بأن البذيرات انتشت ⟸ وبالتالي عملية التعقيم لم تكن جيدة.

مثلاً تفرز بعض أنواع البكتيريا أنزيم ألفا غلوكوزيداز وركازته تكون الغلوكوز، ويكون الغلوكوز مرتبطاً مع مادة تعطي لوناً عند تحررها منه، فعند إضافة الغلوكوز إلى الوسط الذي يتم فيه الإنتاش سيفككه أنزيم ألفا غلوكوزيداز وستتحرر المادة الملونة لتعطي لون، وهذا اللون يمكن ملاحظته خلال 48 ساعة.

ϟ) قد تعطي نتيجة سلبية كاذبة يعني ملاحظة نمو للمشعر البيولوجي مع أنه قد قُتل أثناء دورة التعقيم وذلك نتيجة التلوث (فنقول إن دورة التعقيم غير جيدة مع أنها في الحقيقة جيدة)، فمن الممكن أن يكون قد حدث تلوث أثناء العمل ونقل المشعر الحيوي أو أن الوسط غير عقيم، أي حدوث تلوّث في عمليات المعالجة بعد التعقيم handling.

في دورة التعقيم يجب توزيع ما لا يقلّ عن 30 مشعر حيوي نقوم بزرعها ومراقبة النمو بعد انتهاء عملية التعقيم لنقوم بعد الحضن بقراءة النتائج.

تذكر: تسمح دساتير الأدوية بنمو 5% من المشعرات الحيوية.

😂 نلاحظ أنه من الممكن استخدام أكثر من مشعر بيولوجي لنفس طريقة التعقيم وأنه ليس حكراً على طريقة معينة.

ملاحظات من الأرشيف:

✍ نلاحظ في الجدول أن عدد البذيرات الجرثومية هو أكبر من 10^5 مع أننا ذكرنا أن ضمان العقامة المطلوب هو 1 بالمليون لطريقة التعقيم بالصاد الموصد مبني على تركيز بدئي هو 10^4 من الجراثيم المرجعية وبناءً عليه حُسب زمن دورة التعقيم، بمعنى أن مدة التعقيم محسوبة على افتراض أنّ:

تركيز الجراثيم الملوثة البدئي = 10^4

ضمان العقامة المطلوب = 10^{-6}

ومنه عامل التعطيل $IF = 10^{10}$

وبالتالي فإنّ زمن التعقيم هو $t = D \times \log IF$، ومنه:

✍ $t = 1.5 \times 10 = 15$ minutes

✍ وبالتالي ألا يشكّل زيادة تركيز المشعر الحيوي في هذه الحالة خطراً على زمن دورة التعقيم المحسوب ويتطلّب زيادته للحصول على ضمان العقامة ذاته؟؟

✍ الجواب أن ذلك لا يؤثر على ضمان العقامة لسبب ذكرناه سابقاً وهو أن حرارة التعقيم ليست ثابتة وإنما تتأرجح بين الحد الأدنى من درجة الحرارة بالتعقيم بالحرارة الرطبة هو 121°C وحد أعلى هو 126°C، فالمنبع الحراري يستمر بالتسخين بعد الحد الأدنى حتى تصل الحرارة إلى الحد الأعلى ليُفتح الصمام وتعود الحرارة إلى النزول وتستمر درجة الحرارة بالصعود والنزول ضمن هذا المجال طيلة مدة التعقيم.

مريض بالناعور لديه نقص بالعامل الـ 8 فهو يحتاج لنقل بلازما مستمر ⇐ نتيجة النقل المستمر له أصيب بفيروس التهاب الكبد B. ☹
مشتقات الدم "بلازما، صفيحات، كريات الدم الحمراء..."، بالإضافة إلى كيس الدم تعتبر أشكال صيدلانية ولا يوجد خيار إلا ضمان المُعطي بالاختبارات التي تجرى على دمه.
ولكن يوجد قصور بهذه الاختبارات حيث يوجد مجموعة من العوامل التي تجعل هذه الطرق غير كافية للتقييم بشكل جيد وممتاز.
الطريقة المتبعة لتعقيم البلازما هي التسخين لدرجة حرارة 55°C[13] في حمام مائي لمدة ساعة ثم نبرد ساعة ثم نسخن ونبرد وهكذا... هذه الطريقة تعطي ضمان عقامة يكاد يكون 0.1 ☹ ولكن ليس هناك خيار آخر.

[13] وهو أقصى حد مسموح للحرارة، لأنه بالدرجة 56 مئوية تتخرب المتممة.

الهدف الأول للـ Pharmaceutical Microbiologist هو الشكل الصيدلاني ثم يأتي الإنسان بالمرتبة الثانية وما من خطر من الفيروسات على الشكل لصيدلاني.

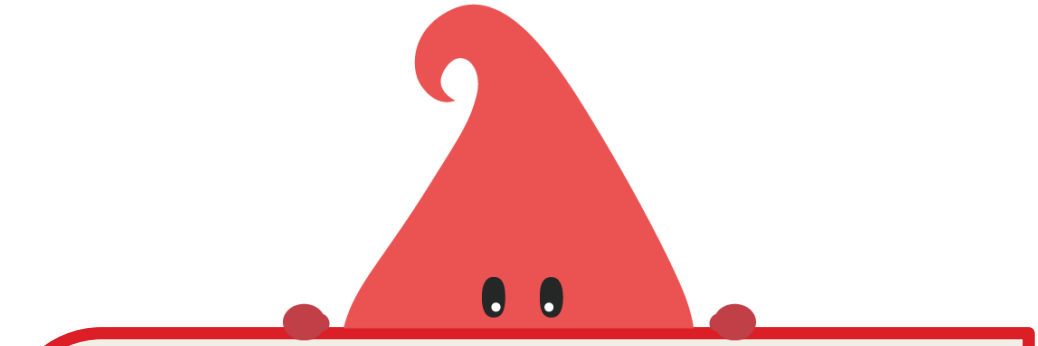
⇐ الفيروسات بكيس الدم لا تخربه فهي لا تتطفل داخل الخلايا الدموية.

تذكّر: الفيروس لا ينمو بداخل أي خلية.

فمثلاً: فيروس التهاب الكبد B يحتاج خلية كبد ليتكاثر.

وهذا ما يُعرف بالـ Host cell أو الخلية الهدف "الملائمة" كما تعلمنا في مُقررات سابقة.

RBCs' Quote



يا ابني ما بدي تحفظ المعلومات بصم بدي
تفهم اكتر لانو انا ما بزعل غير ع المريض
الفقير يلي بيجي لعندك وبيثق فيك لتعطيه
دوا كرمال ما يدفع كشفية لدكتور لهيك حط
ببالك هاد المريض