ASPIRIN
TEAM
PHARMACY

08

40
صفحة

140
ليرة

الأربعاء 2017\12\13

جامعة دمشق

كلية الصيدلة

السنة الخامسة

الفصل الأول

الميكروبيولوجيا الصيدلية

طرق التعقيم (2)

أ.م.د. مصطفى العموري

مكتبة الأوائل
Al Awael library
نفق الصيدلة – مقابل مشفى الأسد الجامعي
هاتف : 0991415795

Aspirin
analgesic for college students :)

مرحباً أصدقائي ^_*

سنكمل في هذه المحاضرة طرق التعقيم، وسنتحدث عن:

A. التعقيم بالبلازما

B. التعقيم بالأشعة

C. التعقيم بالترشيح

ثم ننتقل للبحث الأخير فيما يخص التعقيم لنتحدث عن المشعرات:

1. الفيزيائية

2. الكيميائية

3. الحيوية

لنبدأ.. *_*

التعقيم بالبلازما

أولاً: تعريف البلازما

هي الشكل الرابع للمادة، وهي الشكل الأكثر توافراً لها، فجميع الخلايا الحية تحوي بلازما.

ثانياً: مبدأ التعقيم

بعض المواد الكيميائية [H_2O_2-فوق أكسيد حمض الخل...] عند تعريضها لفرق كمون وحقل مغناطيسي تتحول إلى غبار جزيئي (سديم من الجزيئات الفعالة)، تمتلك هذه الجزيئات فعالية عالية التعقيم.

مثال: عند تحويل H_2O_2 إلى بلازما سينتج لدينا:

$$UV\ ,\ HOOH^*\ ,\ OOH^*\ ,\ OH^*$$

هذه الجزيئات + الأشعة ⇐ تمتلك فعالية تعقيم عالية

ملاحظة:

H_2O_2

✪مطهر←بشكله السائل

✪معقم←غاز: الجزء الفعال هو فقط OH*

←بلازما: 3 جزيئات فعالة + UV

نتيجة:

البلازما تعقم بالأكسدة بدرجات حرارة منخفضة.

ثالثاً: ميزات التعقيم بالحرارة

☆ الفعالية على كل المتعضيات.

☆ فعل الأكسدة بدرجات حرارة منخفضة.

☆ تمتلك فعل أكال ضئيل على المواد.

☆ بعد انتهاء التعقيم تكون المواد جاهزة للاستخدام فوراً.

رابعاً: مساوئ التعقيم بالبلازما

♦ تستخدم في المشافي ولا تستخدم في الصناعة الصيدلانية.

♦ مشكلة الاختراق: فهي تشترك مع الغازات في هذه المشكلة وهو أحد أسباب عدم استخدامها صيدلانياً.

♦ كلما زادت المسافة بين مكان توليد البلازما والمكان الذي توضع به المواد المراد تعقيمها كلما قلّت فعالية التعقيم أي أنها مرهونة بحجم محدد، وهو السبب

الثاني في عدم استخدامها صيدلانياً.

♦ **وجود الماء** يُعد مشكلة للتعقيم بالبلازما، فالبلازما لا تستطيع اختراق الماء وأحد المشاكل المواجهة في هذا المجال هو الماء الأوكسجيني الذي من ميزاته أنه قد يتحول لماء أثناء التعقيم.

♦ **التوافقية مع المواد:**

البلازما تقريباً متوافقة مع جميع المعادن والمتماثرات البلاستيكية، لكن لوحظ أن الأدوات البلاستيكية الشفافة قد تصبح داكنة {عاتمة} مع تكرار تعقيمها بالبلازما.

خامساً: ماذا نعقم بالبلازما

❍ **المواد البلاستيكية والمواد وحيدة الاستخدام** التي لا يمكن أن تعقم بالحرارة ضمن المشفى.

❍ لا يفضل أن نعقم بها المواد عالية المسامية كالقطن والشاش لأنه قد تتشكل طبقة مائية تمنع نفاذ البلازما.

توجد وحدة تعقيم بالبلازما في مشفى الأسد الجامعي.

سادساً: المشعر الحيوي للتعقيم بالبلازما

هو B. stearo thermophilus

التعقيم بالأشعة

أولاً: ماهي الأشعة وما هي أنواعها

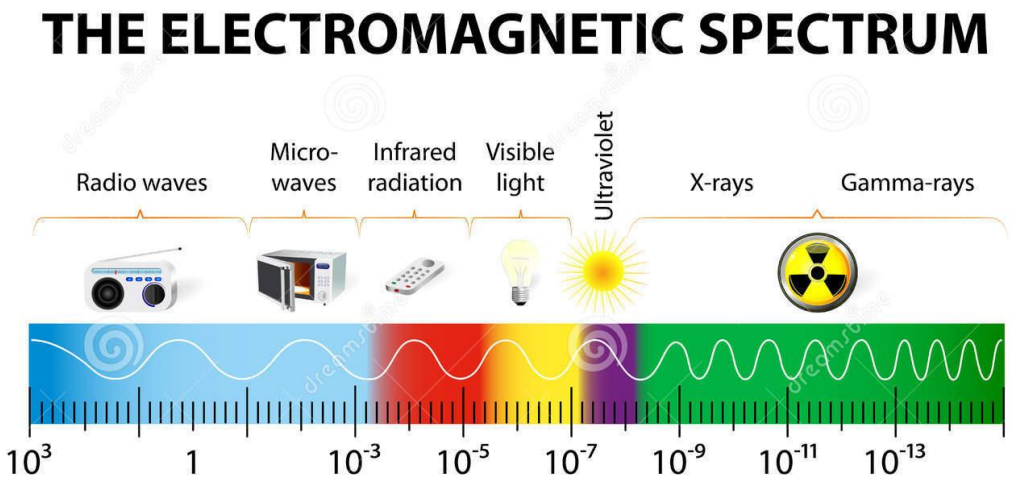
الشعاع هو شكل من أشكال الطاقة ينتقل بشكل موجي أو مادي (جسيمات) عبر الفراغ أو عبر جسم ما، **وله على هذا نوعان:**

A. **جسيمات مسرعة**: إشعاع α و β استخدامه في الصيدلة نادر لأنه يشكل خطراً صحياً وبيئياً.

B. **إشعاع كهرومغناطيسي**: ومثاله أشعة غاما γ وهو المستخدم صيدلانياً.

⇦ وكما نعلم فإن مخطط الطيف المغناطيسي يضم عدة أنواع، لنستذكرها ونرى أياً منها يُستخدم في التعقيم..

⇦ كما تعرض الصورة التالية هنالك عدد من الاشعاعات المختلفة بطول الموجة وكما نعلم أنه الاشعاع عالي الطاقة يكون قصير طول الموجة والعكس صحيح، هذه الاشعاعات هي:



أنواع الأشعّة	الصفات
أشعّة غاما	الأكثر فعاليّة، موجة قصيرة وطاقة عالية، آليّة التأثير بالتأيّن والإشعاع، قدرة اختراقيّة عالية.
أشعّة X	قصيرة طول الموجة وطاقة عالية، قدرة اختراق ممتازة، آليّة التأثير تأيّن، قد تستخدم للتعقيم لكنّها غير مستخدمة.
الأشعّة فوق البنفسجيةU.V light	آليّة عملها تهييج الالكترونات، لا تعمل بالإشعاع ولا بالتأيين، اختراق معدوم (لا تخترق سوى السوائل والغازات).
الأشعّة تحت الحمراء Infra-Red (IR)	طويلة طول الموجة، قليلة الطاقة، إشعاع قليل، تعقيم بالحرارة الجافّة (تعقّم بها النباتات الطبيّة الجافة بالدرجة 85 مئويّة).

المايكروويف Microwaves	طويلة طول الموجة، مستويات قليلة جداً من التأيّن والإشعاع والطاقة، يعقّم بالحرارة الجافة.
الأجزاء المسرّعة α- Rays	تعمل على شحن ذرة الهيليوم، وزنها ثقيل، اختراق قليل، سرعتها كبيرة لذلك هناك خطر باستعمالها.
الأجزاء المسرّعة β- Rays	الكترونات مسرّعة، طاقة عالية جداً، اختراق عالي، مؤذية جدّاً لذلك لا تستخدم في التعقيم.

ملاحظات على الجدول

- أشعة X غير مستخدمة لما لها من خطر على الصحة العامة.
- نلاحظ أن الاختراق شرط مهم لقبول الأشعة كمواد معقمة.
- **الأشعة:**
  - أشعة γ غاما والأشعة X تستخدم في التعقيم بالأشعة
  - IR و Microwave تستخدم للتعقيم بالحرارة الجافة
  - UV لا تعقم وإنما تحفظ العقامة، وندرسها مع الأشعة المعقمة

ثانياً: مبدأ عمل الأشعة

الهدف في كل أنماط الأشعة هو الـDNA والذي يتم تجريبه إما بالتأين Ionizing {بالنسبة للأشعة γ} أو التهييج {بالنسبة للـUV}.

سندرس من الأشعة نوعين هما:

I. **أشعة غاما γ**

II. **أشعة الـUV**

I) أشعة غاما γ

أولاً: الخواص العامة

☑ **المصدر**: بعض العناصر المشعة CO^{60} و Cs^{137}

☑ **الاختراقية**: عالية جداً جداً

☑ **المبدأ**: التأيين

☑ **شرط المادة التي يتم تعقيمها**:

- أن تكون المادة غير متخربة بالإشعاع
- أن تكون المادة غير متأينة أو قابلة للتأين

تذكر:

أوكسيد الايتلين
بديل مقبول وغير
جيد للأشعة غاما γ

ثانياً: ماذا نعقم بأشعة غاما γ

نعقم	لا نعقم
المواد وحيدة الاستخدام والغير ممكن تعقيمها بالحرارة (سيرنغات بلاستيكية)	الماء أو أي شكل صيدلاني قد يحوي ماء، لأن الماء قابل للتأين، وعند تأينه سيعطي جذوراً حرة
المركبات العضوية غير المتأينة غير القابلة للتأيين والمتطلبةلدرجة ضمان عقامة عالي كالخيوط الجراحية	بعض أنواع البلاستيك المستخدم بالتغليف كـ[PTFE و بولي بروبيلين]
عموماً كل مادة غير متأينة تكون قابلة للتعقيم بالأشعة غاما γ	

ثالثاً: متطلبات ومحددات عملية التعقيم بالأشعة

على عكس الغازات فعند الحديث عن الأشعة فإن هنالك قوانين وقيم كالـ *Z- value* و *D- value* تحدد لنا الجرعة من الإشعاع والتي تُقدر بواحدة تدعى "كيلو غراي

KG" حيث:

1 Gy = 1 Joule/K.gram

وغالباً ما تستخدم جرعة وسطية قدرها 20KG خلال عدة ساعات

سؤال: لماذا يكون زمن جرعة الإشعاع عدة ساعات في حين أن الأشعة غاما γ عالية الطاقة وعالية الاختراقية؟

الجواب: وُجد أن الأشعة غاما γ حتى تخرب:

- **خلية بشرية:** تحتاج لـ12 ثانية
- **خلية جرثومية:** تحتاج لعدة ساعات (قد تصل لـ12 ساعة).

لذلك ولأننا نحتاج لـ12 ساعة من الإشعاع المستمر فإنه يتم تشبيه جهاز التعقيم بالأشعة غاما γ بالمفاعل النووي.

جهاز التعقيم بالأشعة غاما γ

- **منبع الإشعاع مصنوع من مادة مشعة:**

يكون هذا المنبع مغموراً بالماء، وذلك للتقليل من شدة الإشعاع الناجم فكما نعلم أن اختراقية الأشعة غاما γ عبر الماء أبطأ من المواد الأخرى.

- **حجرة المواد المراد تعقيمها:**

توضع قرب المنبع [لأنه كلما بعدت المسافة كلما قلت كفاءة التعقيم] ولا أهمية لترتيب المواد بطريقة معينة لأن اختراقية الأشعة عالية.

- **جدران الجهاز تصنع من الاسمنت** بسماكة 2m ويكون هذا الاسمنت حاوياً على طبقات من الرصاص الذي له القدرة على امتصاص الأشعة، والهدف طبعاً هو منع تسرب الأشعة خارج الجهاز.

رابعاً: محدوديات ومشاكل الأشعة غاما γ

A) **لا يمكن الاعتماد على Z- value و d- value وغيرها لتحديد الزمن اللازم للتعقيم، للسبب الهام التالي:**

منبع الأشعة هو عنصر مشع وهذا العنصر تتناقص قدرته على الإشعاع بمرور الزمن، أي أن جرعة الإشعاع في تبدل مستمر مع الزمن.

ماحل هذه المشكلة؟

الحل: تضاف إلى حجرة التعقيم مادة بلاستيكية تدعى *perspex* وهي مادة ينقلب لونها من الأصفر للأسود عندما تتلقى الجرعة الكافية من الإشعاع وهي التي تحدد فعلاً زمن التعقيم.

مثلاً: إذا كانت دورة التعقيم حسب الـ*Z- value* و *D- value* هي ساعتين، والمادة انقلب لونها بعد *1.5* ساعة عندها لا داعي للانتظار ساعتين وتنتهي دورة التعقيم.

B) **الاختراقية العالية:**

التي هي ميزة لكن في ذات الوقت مشكلة إذ تتطلب أخذ كثير من الاحتياطات.

C) **التأين:**

وهي أكثر المحدوديات أهمية، فكثير من المواد لا تعقم بهذه الطريقة لأنها ستتأين وتتغير طبيعتها.

D) **التكلفة**

خامساً: المشعر الحيوي

بذيرات الـB. pumilus

II) أشعة [ضوء] UV

أولاً: معلومات عامة

- **المصدر**: مصباح الزئبق الذي يعطي طول موجة (256 nm)
- **الاختراق**: ضعيفة للمواد الصلبة، جيدة في الماء والهواء
- **المبدأ**: تهييج الذرات وتخريب وتطفير DNA الجرثومي

ثانياً: ماذا يعقم بالـU.V

- تستخدم **لحفظ عقامة** الماء والهواء ضمن المعمل الدوائي.
- في حالات قليلة تستخدم لتعقيم مساحيق المواد الدوائية التي يتعذر تعقيمها بالوسائل الأخرى والملوثة **بجراثيم**، حيث تُفرش هذه المساحيق على طبقات رقيقة وتترك فترة طويلة [24 ساعة] تحت أشعة الـ*UV* ومن ثم يجري اختبار العقامة، فإذا كان إجابياً تكمل المادة رحلتها إلى الشكل الصيدلاني، وإذا كان سلبياً يعاد تعقيمها بالـ*UV* وهكذا..

ثالثاً: محدوديات ومشاكل التعقيم بالـU.V

〉 **تتناقص فعالية المصباح الزئبقي مع الزمن** لذلك لابد من تغييره باستمرار ومنع تراكم الغبار عليه [الغبار مادة صلبة ⇐ وبالتالي يحجب الـ*UV*].

〉 **بطيئة** ويمكن للجراثيم أن تقاومها ما لم تطبق لفترة طويلة.

رابعاً: المشعر الحيوي

كما ذكرنا سابقاً أن الأبواغ الفطرية تقاوم الـ*UV* بشكل أكبر من البذيرات الجرثومية، لذلك كان **المشعر الحيوي** لـUV **هو أبواغ فطرية وتحديداً** Aspergillus niger spores

III) التعقيم بالترشيح

Filteration Sterilization

هو وسيلة ميكانيكية تتحلى بالفصل الفيزيائي للميكروبات ولا يتضمن أي قتل أو تثبيط لها.

سؤال افتتاحي: هل الترشيح حقاً يحقق مصطلح العقامة؟

العقامة: هي خلو الشكل الصيدلاني من أي شكل من أشكال الحياة {جراثيم، فطور، أبواغ، فيروسات...الخ}

الترشيح: أصغر مرشحة مستخدمة صيدلانياً أبعاد أقطارها $0.1\mu m$ أي $100nm$ بهذه الأبعاد لا توجد جراثيم أو فطور ⇐ ستعلق هذه الميكروبات على سطح المرشحة، لكن بهذه الأبعاد وأبعاد أصغر يتواجد الكثير من الفيروسات ⇐ يمكن أن ترشح هذه الفيروسات إلى الشكل الصيدلاني كـ*HIV* الذي تتراوح أبعاده بين $80 \rightarrow 100nm$ ، هذا السبب في تسمية الفيروسات بالحمات الراشحة.

أي أننا سنحصل في النهاية على منتج صيدلاني يحوي فيروسات أي منتج غير عقيم وعليه فالترشيح لا يؤدي إلى التعقيم.

إذاً لم نستخدمه؟

لأنه أحياناً لا يوجد غيره ونكون مضطرين لاستخدامه على الرغم من العيب السابق.

فالمنتجات الحيوية كما ذكرنا لا سبيل لتعقيمها لا بالحرارة ولا بالأشعة ولا بالغازات، لذلك نكون مضطرين لقبول الترشيح ذو ضمان العقامة القليل.

ملاحظة:

البلازما يمكن تعقم أن بدرجة 55°C لمدة ساعة ثم تُبرد ثم تسخن لل55°C ثم تبريد مع ضمان عقامة سيئ [أسوء من الترشيح].

إذاً فيما يتعلق بالمنتجات الحيوية لا سبيل لنا سوى القبول بالطرق التي لن تضمن للشكل الصيدلاني العقامة.

أولاً: تصنيف المراشح الصيدلانية

تصنف وفق عدة تصنيفات هي:

أ) أبعاد أقطارها

ب)شكلها

ج)آلية عملها

د) المادة التي صُنعت منها

A.أبعاد الأقطار للمسام

هنالك 3 مراشح تُستخدم صيدلانياً:

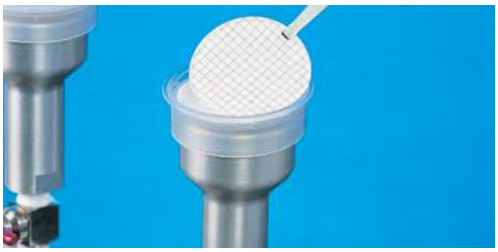
- 0.45µm ← بهدف التنقية + جمع العينات الجرثومية
- 0.22µm ← بهدف التعقيم
- 0.1µm ← بهدف التعقيم للمركبات ذات الخصوصية كالمركبات المصنعة بالهندسة الوراثية، فالأنسولين المحضر من الـ*E.coli* يتم تعقيمه بهذه الطريقة من أجل التخلص من جراثيم الـ*E.coli* وبقاياها (البيروجينات).

الترشيح بهدف التعقيم قد يزيل البيروجينات.

B.من حيث الشكل

نميز 3 أنماط:

1) **سطحية:**



وهي المرشحة البسيطة التي نتعامل معها في المخابر، وهي عبارة عن طبقة واحدة من متماثر نترك فيها مساماً بأبعاد محددة.

2) **عميقة: وهي توجد بشكلين:**

✧ إما **ألياف متماثرة مطواة فوق بعضها عدة طبقات** [يمكن اعتبارها عدة طبقات من المرشحة السطحية].

✧ أو تكون على شكل **أنفاق قصيرة ومتعرجة ضمن مادة صلبة**

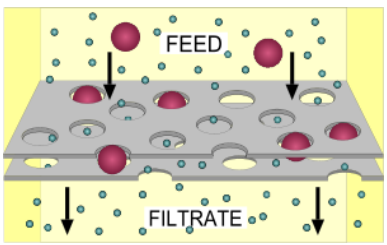
ومثالها: الزجاج المحجر والخزف المحجر والفخار، إذ تتواجد ضمن مادة الفخار مثلاً أنفاق صغيرة ومختلفة الأبعاد تعلق فيها الأجزاء الكبيرة.

C. من حيث آلية العمل

نميز 3 أنماط:

A) الغربلة Sieving

←**ومثالها**: المراشح السطحية، إذ تملك حجم مسام محدد وبالتالي الأجزاء الأكبر من هذا الحجم ستعلق والأجزاء الأصغر ستعبر عبر المرشحة.



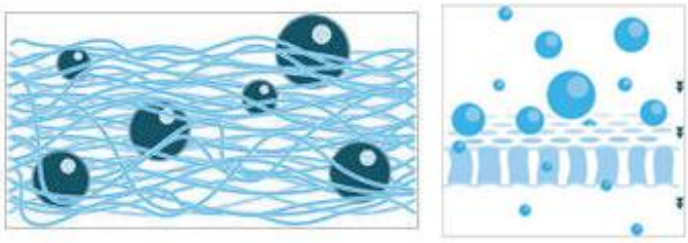
←وهي الطريقة الأفضل والأكثر استخداماً صيدلانياً.

←تستخدم مرة واحدة

B) الحجز ضمن المطرس Trapping within matrix

ومثالها المراشح العميقة نمط (1).

إذ تقوم شبكة المتماثر (سيللوز مثلاً) المتطبقة فوق بعضها بحجز الأجزاء كالخلايا الجرثومية بين عيون هذه الشبكة ويساعد على هذا بنية بعض الجراثيم التي تمتلك الزغابات *billi,Fimbria* التي تلتصق بالسيللوز.



ولهذه الطريقة سلبيتين:

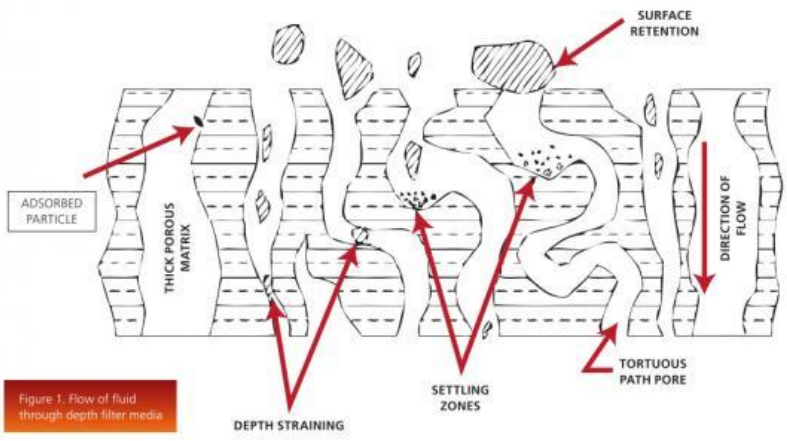
- الجراثيم التي لا تمتلك زغابات قد تعبر (كالمفطورات مثلاً).
- المرشحة تحتجز الجراثيم لكن لا تقتلها ⇐ قد تتحول هذه المرشحة لبؤرة خاصة إذا توافرت الرطوبة.

ملاحظة:

HEPA Filter المستخدم لتنقية الهواء يندرج تحت هذا النمط.

C) الحشر Entrapement

مثالها: المراشح العميقة نمط (2) [المصنوعة من الزجاج أو الفخار أو البورسلان]، هنا يُحشر الجرثوم ضمن أنفاق المرشحة وفي حال هرب من نفق فإنه سيحشر في آخر.



D. من حيث المادة التي تصنع منها المرشحة

تتعدد المواد التي تصنع منها المرشحة، **ولدينا نمطين أساسين:**

- **المراشح السطحية والعميقة نمط (1):** مصنوعة من ألياف المتماثر الطبيعي كالسيللوز أو المتماثر الصنعي كالـ(فلور بولي فينليدين-بولي فينيل فلورايد PVF-بولي تترا فلورو ايتلين PTFE)، وتستخدم لمرة واحدة فقط.
- **المراشح العميقة نمط (2):** مصنوعة من الخزف أو الفخار أو الزجاج وأبرز ما يميزها هو أنه يمكن أن يعاد استخدامها، إذ يمكن أن يتم تطهيرها وتنظيفها كونها مواد خاملة لا تتأثر بالتأثير التآكلي للمواد المنظفة.

ملاحظة:

HEPA . Filter : **تستخدم لـ6←9 أشهر وأحياناً لسنة كاملة، وذلك حسب فعاليتها ومدى مطابقتها للفحوصات.**

وهذا جدول يوضح الفرق بين المراشح العميقة والسطحية \هام

الصفات	مراشح عميقة	مراشح سطحيّة
حجز الـ M.O فوق حجم معيّن (أكبر من حجم الثقوب)	-	+
سرعة ترشيح عالية	-	+
إمكانيّة التنظيف والتخلّص من الأوساخ	+	- (الأغشية غالباً Disposable)
نموّ الجراثيم خلال وعلى المرشحة	+ (خاصّة المصنوعة من الألياف مثل الـ HEPA filter)	Unlikely
هدر في مكوّنات المادّة المرشحة	+	-
حجز السائل (عدم مروره أو	+	-

توقّفه)		
ادمصاص المواد المذابة	+	-
ثباتها كيميائيّاً	+	حسب نوع المتماثر
الترشيح الجيّد	+	+

ملاحظات على الجدول

- M.O تعني Micro-Organism: كما قلنا المراشح العميقة لا تُهم فيها الأبعاد وإنما تعتمد على حجز أو حشر الجرثوم.
- من حيث الهدر: فالمراشح العميقة قد يعلق فيها جزء من السائل المراد ترشيحه، وكلما زاد عدد طبقات المرشحة زاد الهدر وأصبحت عملية الترشيح أبطأ.

ثانياً: المواد التي يمكن تعقيمها بالمراشح

- **السوائل الزيتية أو المائية غير الثابتة حرارياً.**
- **الغازات**: تذكر N_2 الذي يضخ ضمن الأمبولات.

وعليه تختلف المادة التي تصنع منها المرشحة ستختلف بين هذه المواد، فالماء يختلف عن الزيت ويختلفان عن الهواء، لذلك نميز:

المحاليل المائيّة	MCE أو PVF
الزيت	MCE أو PVF
المذيبات العضويّة	PVF أو PTFE
المحاليل المائيّة ذات pH عالية	PVF
الغازات	PVF أو PTFE

ثالثاً: تسريع عملية الترشيح

الترشيح هو عملية بطيئة لذلك يمكن تسريعها بتطبيق ضغط، وله نوعان:

أ. ضغط إيجابي:

أي الضغط على السائل فوق المرشحة مما يجبر المواد على العبور– وهو المفضل، لكن ننتبه أنه عند زيادة الضغط أو عندما يكون قطر المسام صغيراً جداً فإنه من الممكن أن تتخرب المرشحة فتتوسع مساماتها وتندمج مع بعضها.

ب. ضغط سلبي:

يوصل الوعاء الذي تُستقبل فيه الرشاحة بمخلية هواء، أي يتم سحب الهواء من أسفل المرشحة مما يسرع عملية الترشيح، وهي طريقة غير مفضلة لأنها قد تلوث المادة بعد ترشيحها.

رابعاً: اختلافات وتباينات المراشح

لا يمكن لمرشحتين أن تتطابقا، فالظروف التي يحدث بها تشكل لمسام المرشحة لا نستطيع التحكم بها، لذلك ستختلف المراشح بين معمل ومعمل آخر وضمن المعمل نفسه، فلا توجد حتى الآن أية آلية للتحكم بعدد وعمق الأنفاق في الفخار عند تصنيعه، أو عدد عيون الشبكة وحجمها في المراشح العميقة، هذه الاختلافات تفرض علينا تقييم *Validation* للمرشحة المستخدمة.

خامساً: تقييم عمل المرشحة \هاام\

يتم تقييم عمل المرشحة وفق 3 معايير هي:

I. الجودة

II. السلامة

III. الفعالية

أولاً: اختبار الجودة

عندما نقول أن مرشحة ما بأبعاد $0.22\mu m$ فإن هذا يعني أن قطر أكبر مسام (سُمْ) موجود هو $0.22\mu m$ ، ولا يشترط أن تكون كل المسامات الموجودة بقطر $0.22\mu m$ ، لكن كلما زاد عدد المسام التي قطرها $0.22\mu m$ من العدد الكلي للمسام، كلما زادت جودة المرشحة.

كيف يجري الاختبار؟

يدعى بـ"اختبار الفقاعة Bubble"

i. تؤخذ المرشحة المراد فحص جودتها (ولتكن مرشحة $0.22\mu m$) وتبلل بمادة فعالة على السطح.

ii. نبدأ بتطبيق ضغط متزايد شيئاً فشيئاً.

iii. عندما نصل إلى ضغط معين تتشكل فقاعة، هذه الفقاعة تدل على المسام الكبير، ولندعو هذا الضغط بـ X_1

iv. نستمر بزيادة الضغط فنلاحظ تشكل فقاعات وانفجارها.

v. نستمر بزيادة الضغط حتى تشكل آخر فقاعة، هذه الفقاعة تدل على المسام الأصغر ولندعو هذا الضغط بـ X_2

تقييم نتيجة الاختبار

كلما كان X_1 و X_2 متقاربين، كانت جودة المرشحة أفضل.

فمثلا: إذا كان X_1 توافق حجم مسام $0.22\mu m$ و X_2 توافق $0.20\mu m$ فالمرشحة ذات جودة جيدة.

نتيجة:

تزداد جودة المرشحة كلما كانت نسبة المسامات التي لها القطر المعنون (0.22μm مثلاً) من إجمالي المسامات الموجودة أكبر.

ثانياً: اختبار السلامة

- **إذا قمنا بترشيح محلول لمادة ما، كيف نضمن أن المرشحة أثناء الترشيح لم يحدث فيها انقلاب أو التحام واندماج للمسامات داخل بعضها؟**
- **هنا لابد من أن نتأكد أن أقطار المسامات لم تتغير أثناء الترشيح، أي أقطار المسام بعد الترشيح يجب أن تساوي الأقطار بعد الترشيح.**

كيف يجري الاختبار؟

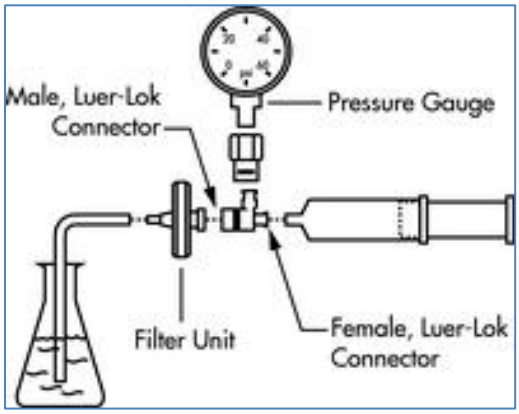
- **تؤخذ المرشحة بعد إجراء عملية الترشيح ويجري عليها فحص الفقاعة السابقة.**
- **تسجل القيم: Y_1 ← الضغط الموافق لقطر أكبر مسام**

Y_2 ← الضغط الموافق لقطر أصغر مسام

يفترض بعد إجراء الترشيح أن تكون $X_1 \leq Y_1$

أي:

- **إما أن الضغط متساوي: أي قطر المسام لم يتغير.**
- **أو أن الضغط أكبر: وهذا معناه أن قطر المسام أصبح أصغر، وهذا منطقي لأنه بعد الترشيح فإن المواد التي ستعلق على المرشحة ستصغر أبعاد مساماتها.**



تقييم النتائج

$X_1 \leq Y_1$ ← المرشحة مقبولة

$X_1 > Y_1$ ← هذا يعني أن قطر المسام قد زاد، وهذا إن دل على شيء فهو يدل على اندماج المسامات وتوسعها أثناء الترشيح ⇐ وبالتالي سيحدث ارتشاح لمواد لا يفترض أن ترتشح.

وغالباً ما يكون السبب هنا هو أن الضغط المطبق أثناء الترشيح كان كبيراً.

ثالثاً: اختبار الفعالية

عندما نستخدم مرشحة 0.22µm مثلاً، ما الذي يضمن لنا أن كل الأجزاء والجراثيم التي قطرها أكبر من هذا القطر ستعلق على المرشحة؟

الجواب: هذا ما يخبرنا به اختبار الفعالية

كيف يجري هذا الاختبار؟

تؤخذ جراثيم تدعى "الزائفة الصغيرة *Pseudomonas diminute*" [تمتاز هذه الجراثيم أنه عند زراعتها في وسط مرق مغذي حاوٍ على غلوكوز فإنها ستعطي خلايا بأبعاد *0.3µm*]، و يحضر منها معلق جرثومي بتركيز محدد ثم يمرر على مرشحة ويحسب العدد الذي علق على المرشحة.

تقييم النتائج

- حسب الدستور الأمريكي: تقبل المرشحة إذا احتجز سطحها 10^7 cFu/cm² من الجرثوم العياري.
- حسب الدستور البريطاني: تقبل المرشحة إذا احتجز سطحها 10^9cFu/cm² من الجرثوم العياري.
- الجراثيم العيارية تختلف باختلاف القطر:

0.22µm الجرثوم العياري هو الزائقة الصغيرة [0.3µm]

0.45µm الجرثوم العياري هو السيراتيا المميعة [0.5µm]

وبهذا ننهي الترشيح وننهي معه طرائق التعقيم

↓ جدول يوضح بروتوكولات التعقيم ↓

طريقة التعقيم	الشروط
الحرارة الرطبة	121 درجة مئويّة لمدّة 15 دقيقة. 134 درجة مئويّة لمدّة 3 دقائق. 143 درجة مئويّة لمدّة دقيقة.
الحرارة الجافّة	160 درجة مئويّة لمدّة ساعتين. 170 درجة مئويّة لمدّة ساعة. 180 درجة مئويّة لمدّة نصف ساعة.
أوكسيد الإيتلين	تركيز الغاز من 1200 -800 ملغ/ ليتر. درجة الحرارة 63 -45°مئويّة. الرطوبة النسبيّة % 37 -30. زمن التعقيم 4-1 ساعات.
البخار منخفض الحرارة و الفورم ألدهيد	تركيز الغاز 100 -15 ملغ/ ليتر. درجة حرارة البخار 73° مئوية. زمن التعقيم 180-40 دقيقة و يعتمد ذلك على نمط عمليّة التعقيم.
الإشعاع (أشعة غاما و الالكترونات المحرّضة)	جرعة 25 كيلو غراي.
الترشيح	قطر المسام أقلّ من 0.22 ميكرون

نبدأ بالقسم الثاني من محاضرتنا .. وبعنوان جديد هو ..

مراقبة طرق التعقيم

- قلنا سابقاً أننا نضع خطة للوصول لمفهوم العقامة لكن دون أن ندركها، ومن ضمن الخطة والخطوات المتبقية هي مراقبة عمليات التعقيم، فمثلاً:
- عند التعقيم بالحرارة الرطبة، ما الذي يدلنا أن البخار قد لامس المادة لمدة 8 دقائق؟
- أو عند التعقيم بالحرارة الجافة، ما الذي يدلنا أن الحرارة قد وصلت للمادة المراد تعقيمها؟
- أو عند التعقيم بالأشعة، ما الذي يضمن أن المادة تلقت جرعة الإشعاع؟
- وفي كل طرق التعقيم، ما الذي يدلنا على أن الجراثيم الموجودة قد تم التخلص منها؟
- كل هذه الأسئلة جوابها هو استخدام مشعرات لمراقبة عمليات التعقيم..

والمشعرات المستخدمة هي ثلاثة:

A) فيزيائية

B) كيميائية

C) حيوية

قبل أن نخوض في تفاصيل هذه المشعرات، ننوه للفكرتين التاليتين:

1- تقييم الصلاحية validation بين المراقبة الدوائية والميكروبيولوجيا

✸ **المراقبة الدوائية**: تكون نتائج هذا الاختبار إما مقبول أو مرفوض

مثال: عند إجراء فحص التفتت للمضغوطات، فإن تلك التي تحقق الشرط الدستوري تكون مقبولة أما التي لا تحققه تكون مرفوضة.

✸ **في الميكروبيولوجيا الصيدلية**: لا يوجد هنا قبول أو رفض [لأن مفهوم العقامة المطلقة هو مفهوم مثالي] وإنما يوجد ضبط وتعيير، فلو أن أوتوكليفاً لم يحقق شروط العقامة، فلا يعقل أن نقوم بإتلافه، بل نقوم بإعادة ضبطه ليحقق تلك الشروط.

2- المراقبة يجب أن تكون أثناء وبعد عملية التصنيع

بعض الدساتير تطالب بأن تكون المراقبة فقط أثناء عملية التصنيع *in proceess control* ، فإذا كانت النتائج إيجابية، فهذا يدل على أن عملية التعقيم فعالة ولا حاجة للمراقبة لاحقاً، لكن هذا غير مقبول، إذ يجب أن يخضع المنتج النهائي إلى مراقبة تتجلى بفحص العقامة وهو الحكم الذي يقبل الشكل أو يرفضه، وبالتالي يعبر كفاءة التعقيم.

أنواع المشعرات

أولاً: فيزيائية

وهي تختلف باختلاف طرق التعقيم، فيكون لدينا:

A. التعقيم بالحرارة {الجافة أو الرطبة}

العامل الأهم الذي تجب مراقبته هو [درجة الحرارة] وتراقب وفق الخطوات التالية:

✍ يُرسم المنحنى الحراري لكل دورة تعقيم بواسطة حاسوب يوصل لحساسات (مزدوجات) حرارية توضع في أبعد نقطة في حجرة تعقيم المواد ويلاحظ أن الحرارة فيه تتأرجح.

تذكر:

- حرارة رطبة: الحرارة تتأرجح بين 121←126
- حرارة جافة: الحرارة تتأرجح ±5 عن الدرجة المحددة.

✍ يقارن المنحنى السابق مع منحنى يدعى "سجل الحرارة الأعظمي Master Temperature RecordMTR"، هذا السجل أو المنحني يكون مرفقاً مع الجهاز من الشركة المصنعة.

✍ يجب أن يكون المخططان متطابقان وإلا فإن هنالك خلل بجهاز التعقيم المستخدم.

ملاحظة:

في الأوتوكليف [حرارة رطبة] لا تكفي مراقبة الحرارة وإنما يجب مراقبة الضغط أيضاً.

B. التعقيم بالغاز

يجب مراقبة المتغيرات التجريبية:

حرارة – رطوبة – تركيز الغاز – الزمن

C. الأشعة

كما ذكرنا قبل قليل تعتمد وبشكل كبير على المشعر المدعو بـ plastic dosimeter مقياس الجرعة البلاستيكي" ، والذي هو مادة بلاستيكية من perpex يتغير لونها عند تلقي جرعة الإشعاع الكافية.

D. التعقيم بالترشيح

- تحدثنا عن المراشح السطحية وقلنا أن لها 3 اختبارات، اثنان منها فيزيائيان هما: الجودة والسلامة [أما الفعالية فمشعر حيوي].

- سنتحدث هنا عن اختبار خاص بالمراشح العقيمة المصنوعة من ألياف كالـ HEPA Filter المسؤولة عن تعقيم الغاز:

اختبار الـDoP أو انتشار الغاز Gas Diffusion

يتم توليد دخان (جزيئات صلبة معلقة في غاز) من مادة الـDoP/ دي أوكتيل فتالات/ ومن ثم تمرر على الـHEPA Filter ويراقب الدخان المتسرب من الجهاز.

معيار الجودة

تكون المرشحة جيدة إذا كانت قادرة على حجز نسبة أكبر من 99.997٪ من العوالق ذات الأبعاد الأكبر من 0.3 ميكرون أو إذا لم تحرر نسبة أكبر من 5٪ من إجمالي كمية الدخان المشكلة.

ملاحظة:

يمكن أن يجري تحديد جودة الـHEPA باستخدام NaCl مطحون بأبعاد أكبر من 0.3 بدلاً من الـDoP.

ثانياً: كيميائية

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

⇦ هنا لابد من إضافة مادة يحدث فيها تغير فيزيائي أو كيميائي ملحوظ بعد ملامستها للبخار لـ8 دقائق ⇐ وبالتالي عندما نلاحظ ذلك التغير نستدل أن البخار قد لامس المادة فعلاً لمدة 8 دقائق.

إذاً: الغرض من المشعر الكيميائي

الاستدلال على وصول عامل التعقيم للمادة بالتركيز الكافي والزمن اللازم لإنجاز عملية التعقيم.

المشعر الفيزيائي لا يكفي ولابد من المشعر الكيميائي وهو مشعر لا يمكن أن يستغنى عنه.

⬇ يبين لنا الجدول التالي المشعرات الكيميائية المستخدمة لطرائق التعقيم التي مرت معنا . ⬇

\هاام للحفظ كاملاً\

طريقة التعقيم	طريقة المراقبة
(1) الصادّ الموصد أو الحرارة الجافّة	المبدأ: سائل ملوّن حسّاس للحرارة.
	الجهاز: أنابيب مغلقة مملوءة جزئيّاً بسائل يتبدّل لونه عند درجات الحرارة المرتفعة، سرعة تغيّر اللون متناسبة مع درجة الحرارة مثل أنابيب Browne.
	معالم المراقبة: حرارة - زمن.
(2) حرارة جافّة فقط	المبدأ: مواد كيميائيّة حسّاسة للحرارة.
	الجهاز: عادة شمع أبيض حسّاس للحرارة يغلّف (يحجب) مؤشّر أسود أو سطح (ورق) مطبوع، عند درجة الحرارة المحدّدة مسبقاً يذوب الشمع بسرعة مظهراً الخلفيّة.
	معالم المراقبة: حرارة - زمن.

(3) الصادّ الموصد فقط	المبدأ: مواد كيميائيّة حسّاسة للبخار.
	الجهاز: عادةً مواد كيميائية عضويّة بشكل حبر الطباعة مشرّب على مادّة حاملة، وبمشاركة الرطوبة والحرارة يتغيّر لون الحبر إلى الأسود، تستعمل أدوات هذا النوع في عبوات الضمادات عند تعقيمها للتأكّد من عمليّة طرد الهواء تمّت بشكل صحيح أم لا، والتأكد من أنّ البخار نفذ إلى داخل الضمادات (اختبار Bowie- Dick)
	معالم المراقبة: البخار المشبع.
(4) الصادّ الموصد فقط	المبدأ: الخاصيّة الشعريّة Thermalog S.
	الجهاز: يتألّف من صباغ أزرق في حبيبات شمعيّة، والذي ينتشر في البخار المشبع عند وصوله نقطة الذوبان. في حرارة الصادّ الموصد وباستمرار وجود البخار تذوب الحبيبات وترتحل على طول شريط ورقيّ مشكّلة حزمة زرقاء طولها يعتمد على مدّة التعرّض ودرجة الحرارة.
	معالم المراقبة: الحرارة- البخار المشبع (أي بالصفة الحدّيّة)- الزمن.
(4) التعقيم بأكسيد الايتلين	المبدأ: كيماويّات متفاعلة.
	الجهاز: ورق مشعر مشرّب بموادّ كيميائيّة متفاعلة والتي تتفاعل مع أوكسيد الايتلين معطية لون بوجود الرطوبة والحرارة. في بعض الأدوات سرعة تطوّر اللون تابعة لدرجة الحرارة وتركيز أكسيد الايتيلن.
	معالم المراقبة: تركيز الغاز- درجة الحرارة- الزمن (للأدوات المحدّدة حسب دورة التعقيم وتركيز الغاز المستخدم).

(5) التعقيم بأكسيد الايتلين	المبدأ: الخاصّة الشعريّة Thermalog G.
	الجهاز: كما في حالة Thermalog S الهجرة عبر شريط ورقيّ.
	تحصل الاستجابة المثاليّة عند دورة تعقيم 600 ملغ/ل من أكسيد الايتلين ودرجة الحرارة 54° مئوية ورطوبة 40-80%. المستوى المنخفض من أكسيد الايتلين و/أو درجة الحرارة يؤخّر زمن الاستجابة، ويزول لون الحزمة الأزرق عند رطوبة نسبية أقلّ من 30%.
	معالم المراقبة: تركيز الغاز- درجة الحرارة- الزمن (للدورة المحدّدة).
(6) البخار منخفض الحرارة مع الفورم ألدهيد	المبدأ: مواد كيميائيّة متفاعلة.
	الجهاز: ورق مشعر مشرّب بالفورم ألدهيد والبخار ومادة كيميائيّة متفاعلة حسّاسة للحرارة والتي تغيّر لونها خلال عمليّة التعقيم.
	معالم المراقبة: تركيز الغاز- الحرارة- الزمن.
(7) التعقيم بالأشعة	المبدأ: موادّ كيميائيّة متفاعلة.
	الجهاز: موادّ بلاستيكيّة perspex مشرّبة بموادّ كيميائيّة حسّاسة للإشعاع والتي يتغيّر لونها عند جرعة إشعاع قليلة نسبيًّا.
	معالم المراقبة: تشير فقط للتعرّض للإشعاع.
(8)	المبدأ: أدوات قياس الجرعة.

التعقيم بالأشعّة	الجهاز: سائل كبريتات النشادر الحديديّ الحمضيّ Acidified ferric ammonium sulphate أو كبريتات الشمع ceric sulphate تستجيب للإشعاع بتغيّر في الكثافة الضوئيّة (قبل وبعد إنجاز عمليّة التعقيم) مرتبط بالجرعة.
	معالم المراقبة: تقيس بدقّة جرعة الإشعاع.

الشرح

1] الحرارة الرطبة

A) أنابيب براون Brown

أنابيب مملوءة بسائل يتبدل لونه عند التعرض للحرارة لزمن كافي، توضع هذه الأنابيب شاقولياً ويراقب تبدل لونها، فمثلاً:

أصفر	بنفسجي	أسمر	أسود
• في بداية التعقيم	• 121°C • لمدة دقيقتين	• 121°C • لمدة 10 دقائق	• 121°C • لمدة ربع ساعة

إذاً: عند تحول اللون من الأصفر إلى الأسود نعلم عندها أن الحرارة وصل للهدف وبالزمن الكافي.

مشكلة هذه الطريقة

أننا نقيس وصول الحرارة خلال الزمن وليس البخار خلال الزمن

ونحن نعلم أن البخار هو عامل التعقيم الأساسي، فمن الممكن أن يكون البخار ضمن الأوتوكليف جافاً أو عالي الحرارة ⇐ وبالتالي سيعطي المشعر نتيجة إيجابية على الرغم من أن عملية التعقيم سيئة.

B) اختبار Bowie- Dick

يكون لدينا ورق يمتص أو يتشرب مادة كيميائية ملونةمغلف بشمع

- الحرارة ← تؤدي ذوبان الشمع
- البخار المشبع ← يحل المادة الكيميائية فتتشرب على الورق ⇐ تعطي 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 سابقه.

ملاحظة:

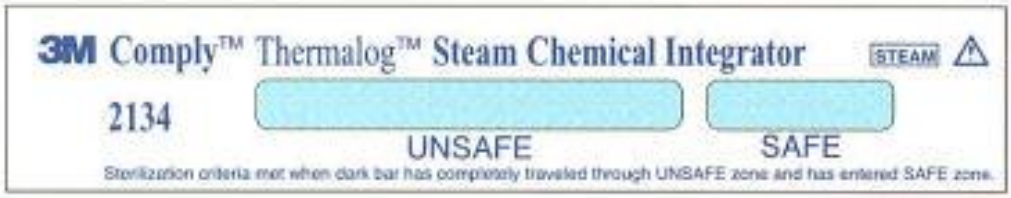
يستخدم هذا المشعر بشكل خاص عند تعقيم المواد المسامية.

C) Thermdog S

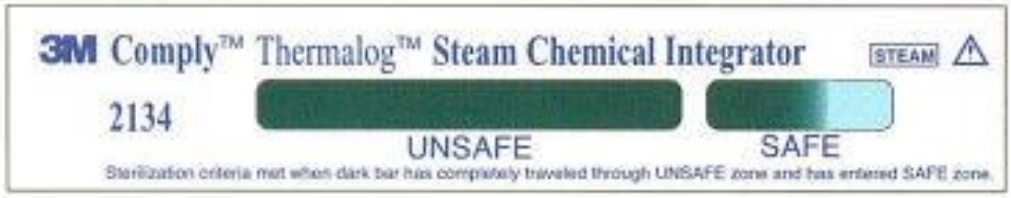
✓ يشابه الاختبار السابق من حيث المبدأ + اعتماده على البخار لكن يخالفه بطريقة القراءة، فهنا يظهر لون لكن لا يهمنا ظهوره بقدر ما تهمنا المسافة التي قطعها على ورق الترشيح بالخاصية الشعرية.

✓ كلما قطع اللون بالخاصة الشعرية مسافة أطول ⇐ البخار لامس المادة فترة أطول.

✓ نلاحظ في الصورة التالية توضيحاً لعمل هذا المشعر:



Unexposed



Exposed

لدينا منطقيتين يسير فيهما اللون:

1) unSafe: هذا يدل على أن البخار لامس المادة لكن لفترة 8 دقائق أو أقل، فإذا توقف اللون عند نهاية هذه المنطقة ⇐ البخار لامس المادة لمدة 8 دقائق وعملية التعقيم ليست كافية.

2) Safe: وصول اللون إلى هنا يدل على أن البخار قد حقق شرط الملامسة أكثر من 8 دقائق، وهو المرغوب بالتعقيم.

2] الحرارة الجافة

أنابيب براون Browne

مع ملاحظة أن أنابيب براون تكفي كمشعر كيميائي لوحدها بالحرارة الجافة لأن عامل التعقيم هنا هو الحرارة وليس البخار.

استخدام الشمع

في أفران الحرارة الجافة نلاحظ أن ميزان الحرارة يوضع على باب الفرن وبالتالي قد تكون الدرجة التي يسجلها ليست هي التي في منتصف الفرن، حيث المواد المراد تعقيمها لذلك فإن أكبر مشكلة تعاني منها الأفران هي عدم التجانس الحراري، لذلك

لابد من توزيع مشعرات كيميائية تقيس الحرارة مع الزمن ومنها الشمع وفق الآتي:

✦ مادة شمعية بداخلها نواة معدنية ملونة

✦ حتى تبدأ الشمعة بالذوبان تحتاج لدرجة حرارة 160°C

✦ الوقت الكافي لظهور النواة المعدنية هو ساعتين

وبالتالي بعد تطبيق درجة 160°C لمدة ساعتين، يجب أن تذوب الشمعة بالكامل وتظهر النواة المعدنية، أما إذا وجدنا سماكة شمع على النواة المعدنية ⇐ نستنتج وجود مشكلة بالتجانس الحرارة ضمن الفرن.

3] التعقيم بالغازات

الغازات لا تمتلك ضوابط محددة، لذلك قلنا أن المدخلات تحدد تجريبياً، وتختلف دورة التعقيم بالغاز من مادة إلى أخرى لذلك ننتبه إلى عبارة **للأدوات المحددة حسب دورة التعقيم وتركيز الغاز المستخدم**\\ أي أننا لا نستطيع استخدام ذات المشعر لدورتي تعقيم لمادتين مختلفتين.

مثلاً:

- ❒ المادة A: تحتاج تركيز غاز 600 mg/L حتى يتم تعقيمها، المشعر المستخدم يتغير لونه عند التعرض لتركيز 600 mg/L لمدة 30 دقيقة مثلاً.
- ❒ المادة B: تحتاج لتركيز 900 mg/L حتى يتم تعقيمها، هنا في حال استخدمنا المشعر السابق فإنه سيتغير لونه مباشرة، ليس لأن عملية التعقيم فعالة أو تمت؛ بل لأن التركيز المستخدم مرتفع، فالمشعر مصنوع بحيث يكون التركيز الذي يغير لونه هو 600 mg/L وليس 900 mg/L.

1) أوكسيد الايتلين

مواد يتغير لونها عند التفاعل مع أوكسيد الايتلين

2) Thermolog G

نفس مبدأ الـ Thermolog S ، ونعيد وننوه إلى عبارة \\للدورة المحددة\\.

3) الفورم ألدهيد LTFA

مواد كيميائية متفاعلة \\للدورة المحددة\\.

4] التعقيم بالأشعة

كما يعرض الجدول السابق هنالك نمطين من المشعرات الكيميائية.

- **الأقل دقة**: مواد كيميائية متفاعلة تدل فقط على التعرض للإشعاع (وهي ذاتها المشعر الفيزيائي).
- **الأعلى دقة**: تتم باستخدام أمبولات كبريتات النشادر الحديدي الحمضي التي تمتص الإشعاع وتحدد بدقة جرعته.

5] التعقيم بالترشيح

- على عكس باقي أنواع التعقيم فإن المشعر الفيزيائي هو أكثر أهمية من المشعر الكيميائي ولا وجود فعلياً لمشعر كيميائي لأن عملية الترشيح هي بالأصل فيزيائية ولن تترافق مع أي تغير كيميائي ملحوظ.
- لكن يمكن عند اختبار الـDOP كيميائياً في حال اعتمدنا طرائق كيميائية لتحديد كمية البخار التي عبر الـHEPA . Filter

نتائج

✧ المشعر الكيميائي عموماً أهم من الفيزيائي ولا يمكن الاستغناء عنه.

✧ بالتعقيم بالإشعاع، المشعر الفيزيائي هو ذاته الكيميائي.

✧ بالتعقيم بالترشيح: المشعر الفيزيائي هو الأساس ولا وجود لمشعر كيميائي.

ثالثاً: المشعرات الحيوية

لها كلمة الفصل في تحديد فعالية التعقيم من عدمها على الرغم من جميع عيوبه.

لم لها كلمة الفصل؟

ولنفترض أننا نعقم بالأوتوكليف وقمنا بضبط الضغط والحرارة (مشعر فيزيائي) وتأكنا من ملامسة البخار لكل نقاط الهدف [بالمشعر الكيميائي] فهذا لا يكفي، بل يجب أن نتحقق من قدرة الأوتوكليف على القضاء على الجراثيم الأكثر مقاومة له أي الـ *B. stearothermophilus* لذلك نضعها ضمن الأوتوكليف ثم نقوم بزرعها وملاحظة العكر، وتوجد هنا حالتان:

❋ **يوجد عكر** ⇐ **حدث نمو أي أن طريقة التعقيم غير مجدية**

❋ **لا يوجد عكر** ⇐ **أي أن طريقة التعقيم مجدية**

عيوب المشعرات الحيوية

1) يجب أن توضع على هيئة المادة المراد تعقيمها

⇦ فلو كنا نعقم أمبولة *2mL* مائية بالأوتوكليف فيُصاغ عندها المشعر الحيوي على شكل أمبول مائي *2mL*.

⇦ أو كنا نعقم أساس مرهمي بالحرارة الجافة فيُصاغ عندها المشعر الحيوي على هيئة مرهم عيني.

2) طول مدة القراءة

- ذلك لأن الأمبولة المائية للمشعر الحيوي يجب أن تزرع , والفترة اللازمةلذلك هي 7أيام [ريثما تنتش وتتكاثر إلى الحد الذي تعطي فيه عكر].
- بعض المعامل لا تنتظر هذه المدة وتعتمد على قراءة اليوم الثاني والثالث وذلك لسهولة وسرعة طرح المنتج بالسوق، أو استخدامه لأنه المنتج أو السواغ لن يكمل طريقه للمراحل اللاحقة في حال كان اختبار المشعر الحيوي ايجابي[أي حدث نمو وعكر].

3) إعطاء إيجابية كاذبة

الإيجابية الكاذبة تعني أن وسيلة التعقيم لم تقضِ على المشعر الحيوي لكن لم يحدث نمو أو عكر بعد 7 أيام، وهذا مناقض للمنطق فيفترض إذا كانت وسيلة التعقيم غير فعالة ⇐ المشعر الحيوي لن يموت ⇐ يحدث نمو ⇐ يعطي عكر.

ما سبب الإيجابية الكاذبة؟

← عدم ملائمة شروط الزرع، فمثلاً:

- عملية الزرع كانت خاطئة
- المشعر لم يحضن بدرجة ملائمة
- استخدام وسط خاطئ

4) إعطاء سلبية كاذبة

السلبية الكاذبة تعني أن وسيلة التعقيم قضت على المشعر الحيوي لكن حدث هنالك نمو وعكر بعد 7 أيام، وهذا أيضاً مناقض للمنطق، فيفترض إذا كانت وسيلة التعقيم فعالة⇐ المشعر الحيوي سيموت ⇐ لن يحدث نمو ⇐ لن يظهر عكر.

ما سبب السلبية الكاذبة؟

التلوث الذي قد يطرأ على المشعر الحيوي بعد تطبيق التعقيم عليه، فمثلاً قد يتلوث الوسط الزرعي بملوث خارجي ⇐ وبالتالي سيظهر عكر مصدره التلوث الخارجي وليس المشعر الحيوي.

ما هي أنواع المشعرات الحيوية وكيف تستخدم؟

عرضنا سابقاً جدول المشعرات الخاصة بكل طريقة تعقيم كالآتي:

طريقة التعقيم	المشعر الحيوي
حرارة رطبة	B. stearo thermophilus
حرارة جافة	B. subtiles
أشعة	B. pumilus
UV light	Aspergillus niger

وورد معنا بالمحاضرة السابقة أن بعضاً من الغازات المؤكسدة كان المشعر الحيوي لها أيضاً الـ B.stearo thermophilus وليس B. subtiles كما يعرض الجدول.

والآن نعرض لكم هذا الجدول الذي يوضح ما هي المشعرات الحيوية مع التراكيز التي تستخدم بها مع D- value الخاصة بها.⬇

طريقة التعقيم	البذيرات الجرثوميّة	تركيزها	D- value
الصادّ الموصد (121 °م)	B.Stearothermophilus[1] C. sporogenes	10^5<	1.5 دقيقة (يمتد لـ 2) 0.8 دقيقة
الحرارة الجافّة (160 °م)	B. subtillis var niger[2]	10^5<	10-5 دقيقة

[1] يمكن استخدام الـ B.subtillis أيضاً ولكن إذا أتى ضمن الخيارات أحد البذيرات المذكورة بالجدول نختار ما ورد بالجدول.

أكسيد الايتلين (600 مغ/ل، 54 درجة مئويّة، رطوبة 60%)	B. subtillis var niger	5 x < 10^5	2.5 دقيقة
بخار مع الفورم ألدهيد (12 مغ/ل، 73 °م)	B.Stearothermophilus	10^5<	5 دقيقة
الأشعّة المؤيّنة Ionizing radiation	B. pumilus	- 10^7 < 10^8	3 KGy 0.3 Mrad

نلاحظ أن المشعر الحيوي ليس حكراً على طريقة معينة، ويمكن استخدام أكثر من مشعر حيوي لطريقة واحدة مع مراعاة الـD- value لهذا المشعر.

كيف نقرأ نتائج المشعرات؟

يوزع 30 مشعر حيوي [30 أمبولة تحوي ذات المشعر] ضمن الأوتوكليف مثلاً، يجب بعد الزرع أن لا يحدث نمو في أي منها {بعض الدساتير تسمح بالنمو بنسبة 5٪ من المشعرات}.

المشعرات الحيوية للمراشح:

A. المراشح الغشائية أو السطحية

يختلف المشعر الحيوي باختلاف مسام المرشحة، فنميز :

⇦ **قطر 0.45 µm** : المشعر المستخدم هو **جراثيم السيراتيا المميعة** Seratia marcens إذ تمتاز هذه الجرثومة بأن أبعادها أكبر من 0.4 ميكرون.

⇦ **قطر 0.22 µm** : المشعر المستخدم هو **جراثيم الزائفة الصغيرة** Pseudomonas diminut ، فكما ذكرنا سابقاً أن هذه الجراثيم عندما تزرع في وسط غني بالغلوكوز تعطي جراثيم أبعادها 0.3 ميكرون.

[2] يوجد لجراثيم Bacillus subtilis عدد كبير من الذراري فعندما نقول Bacillus subtilis var niger فإنها بمثابة تمييز للذريّة المستخدمة كمشعر بيولوجيّ.

B. المراشح العميقة (كالـ HEPA . Filters)

يمنع منعاً باتاً ويُحظر استخدام مشعر حيوي عند تقييم فعالية الـ HEPA . Filter.

اختصار زمن القراءة في المشعرات الحيوية

- هنالك أحد الاختبارات والطرق المساعدة لاختصار زمن القراءة **وهو كالآتي:**
- تقوم الشركات المصنعة بتوفير المشعرات الحيوية مع وسط سائل، هذا الوسط يحوي ركازة لأنزيم يفرز أثناء انتاش هذه البذيرات، وغالباً ما يكون هذا الأنزيم من نمط α غلوكوزيداز.
- قبل وضع المشعر [الذي هو بذيرات] ضمن طريقة التعقيم، يتم مزجه بهذا السائل..
- يوضع المشعر ضمن دورة التعقيم **وهنا نميز حالتين:**

1) حدوث تعقيم مقبول

أي أن طريقة التعقيم قضت على كل البذيرات ⇐ وبالتالي لن يحدث إنتاش ⇐ ولن يحدث إفراز للأنزيم α غلوكوزيداز ⇐ لن يتم هضم الركازة ⇐ لن يحدث تغير باللون.

2) عدم حدوث تعقيم جيد \تعقيم غير كافي\:

أي أن طريقة التعقيم لم تقضِ على كل البذيرات ⇐ البذيرات المتبقية ستنتش ⇐ سيحدث إفراز للأنزيم α غلوكوزيداز ⇐ سيتم هضم الركازة ⇐ سيحدث تغير باللون.

""يمكن ملاحظة التغير باللون خلال 48 ساعة""

حل أسئلة المحاضرة السابقة

السؤال الأول

سيرومات $NaCl$ لا داعي أن نضخ غاز N_2 فيها، لأنها لا تحوي مواد قابلة للأكسدة بأوكسجين الهواء.

السؤال الثاني

- **الغازات المؤلكلة:** Bacillus subtilis
- **الغازات المؤكسدة:** B. stearo thermophilus

السؤال الثالث

كطريقة صنع الأمبول المائي مع الاختلاف في العبوة، فهنا يكون البلاستيك على شكل حثيرات يتم صهرها بدرجات حرارة عالية وقولبتها على شكل أمبولات مما يضمن تخليصها من البيروجينات ومن ثم تصل لقسم التعبئة حيث تعبأ بالمحلول، والإغلاق بعد التعبئة يتم بعملية ضغط بسيطة وليس بالسهم الناري.

السؤال الرابع

A ← حرارة رطبة	B ← حرارة جافة	C ← فورم ألدهيد
D ← أوكسيد الايتلين	E ← أوزون	

السؤال الخامس

أمبول مائي	ليدوكائين بلاستيكي	وسط مكونكي السائل	فازلين	مبدأ أكسدة
حرارة رطبة	حرارة رطبة	حرارة رطبة	حرارة جافة	حرارة جافة+غازات مؤكسدة

أمبول زيتي	مرهم عيني	ملابس ملوثة ببقايا عضوية	121°C لربع ساعة	طبق بتري زجاجي
حرارة جافة	حرارة جافة	غازات مؤكسدة	حرارة رطبة	حرارة جافة
فيال الليدوكائين	**سيرنغات**	**شراب السيتامول**	**160°C لساعتين**	**محلول الآغار قبل صبه**
حرارة جافة	أوكسيد الايتلين	الشرابات لاااا تعقم لأنها أشكال نظيفة	حرارة جافة	حرارة رطبة

الأسئلة

1] ما الفرق بين الترشيح والتحال؟

2] صل بين مايلي:

0.45µm	0.22µm	0.1µm
أشكال إعاشية	بعض الفيروسات	بذيرات

3] ما هي أنماط المراشح المستخدمة صيدلانياً؟

4] أيهما أفضل: مرشحة 0.22µm بنسبة 90٪ و 0.16µm بنسبة 10٪

أم: مرشحة 0.10µm بنسبة 80٪ و 0.60µm بنسبة 20٪

5]هل يعد العامل الزمني هاماً جداً عند الحديث عن التعقيم بالأشعة؟

6] ما هو التركيز العام المستخدم من أوكسيد الايتلين بالتعقيم؟

7] برأيك لم يمنع استخدام مشعر حيوي لتقييم فعالية الـHEPA Filter؟

By : R. Kh. & Bilal Ta.

السعر: 140 ل.س