ميكروبيولوجيا صيدلانية
السنة الخامسة
جامعة حماة – كلية الصيدلة

المحاضرة السادسة
مبادئ وطرق التعقيم
Principles and Practice of Sterilization

د. سوسن الخاني

مصطلحات هامة

- قاتل جراثيم Germicide : هي المادة التي تقتل المتعضيات الدقيقة M.O، وليس بالضرورة أن تقتل البذيرات الجرثومية.
- العقامة Sterility: غياب أي متعضية دقيقة قادرة على الحياة
- التعقيم Sterilization: هو العملية التي يتم بها إزالة أو تخريب أي شكل قادر على الحياة للعضويات الدقيقة
- قاتل فيروسات Viricide: كل مادة تقتل الفيروسات Viruse
- Bacteriostatic: أي مادة توقف او تؤخر النمو البكتيري

- طرق التعقيم sterilization methods:
- تحدثنا عن احد طرق التعقيم وهي المعقمات الكيميائية والتي تستخدم للاجزاء التي لايمكن تعقيمها بالطرق الفيزيائية المختلفة
- سنتكلم الان عن طرق التعقيم الفيزيائية (الحرارة ، الاشعاع ، الغاز ، الترشيح سنفصل فيها لاحقا) ونقول بأن طرق التعقيم الفيزيائية اكثر فعالية في القضاء على المتعضيات الدقيقة من طرق التعقيم الكيميائية والسبب ان سقف التطبيق مفتوح فمن الممكن زيادة زمن التطبيق الى الحد الذي نرغب فيه فالعوامل المتداخلة مع طرق التعقيم الفيزيائية قليلة جدا بينما المواد الكيميائية توجد المواد العضوية ، PH التطبيق، التركيز كذلك بطرق التعقيم الفيزيائية لا يوجد الية للمتعضيات الدقيقة لكي تقوم بطفرة مقاومة لها
- بشكل عام العقامة هو مصطلح مطلق أي اما عقيم او غير عقيم ولايوجد تدرج بينهما أي لايمكن ان نقول عقيم بنسبة 90%
- الى الان لايمكن الوصول الى كلمة عقامة في الحياة العملية فمثلا التعقيم بالحرارة يوجد متعضيات دقيقة قادرة ان تنمو بدرجات الحرارة العالية مثل المتعضيات الدقيقة التي تنمو ضمن البراكين، حيث وجود خلية جرثومية واحدة قادرة على الحياة يُخرج المنتج الصيدلاني من نطاق العقامة لذلك تم استخدام مصطلح ضمان العقامة sterility assurance او مؤشر الأمان المكروبي microbial safety index والذي يعطي قيم رقمية لاحتمالية وجود مكروب قادر على الحياة (سنتحدث عنه لاحقا).

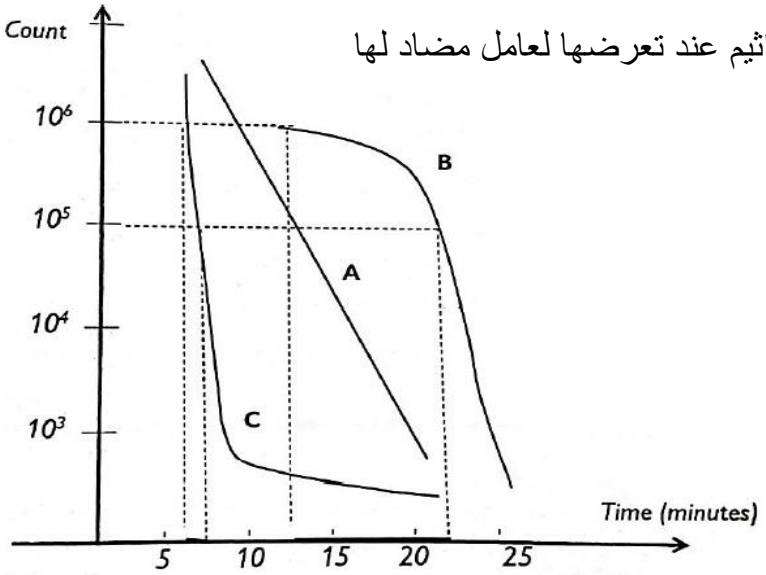
حساسية العضويات الدقيقة M.O Microorganisms للطرق المستخدمة في القضاء عليها

- أن كل طريقة من طرائق التعقيم مهما كانت فعّالة ومهما اشتدت الشروط المستخدمة فيها فإن هناك M.Oقادر على أن يبدي مقاومة كبيرة في وجه هذه الطريقة يُدعى **مشعرا حيويا** Biological indicator، وإذا أثبتت الطريقة فعاليّتها في القضاء على هذا ال M.O بالذات نوعا وكمّا ، كان ذلك مؤشرا حيويا واضحا على أن جميع الأشكال الأقل مقاومة منه قد أُبيدت بشكلٍ كامل.
- هذا المشعر الحيوي يختلف باختلاف طريقة التعقيم، ونستخدمه كعياري للحكم على طريقة التعقيم المتبعة.
- المشعرات الحيوية المناسبة لإختبار عمليات التعقيم هي بذيرات الجراثيم المتحملة وهي على سبيل الذكر لا الحصر العصويات الدهينية الأليفة للحرارة Bacillus stearothermophilus عند التعقيم بالحرارة الرطبة ، و العصوية الرقيقة Bacillus subtilis عند التعقيم بالحرارة الجافة وعند التعقيم بالغاز (أكسيد الإيتيلين) ، العصوية القزمة Bacillus pumilus عند التعقيم بالأشعة
- في كل طرق التعقيم يكون المشعر الحيوي من البذيرات الجرثومية (التي يمكن أن تكون بذيرات هوائية أو لاهوائية) لكن معظمها تكون بذيرات هوائية، ولكن يشذ عن هذه القاعدة طريقة التعقيم بال UV حيث أن المشعر الحيوي لها هو الأبواغ الفطرية وتحديدا فطور الرشاشيات السوداء Aspergillus nigerبسبب شدة مقاومتها للأشعة فوق البنفسجية. (ملاحظة هامة اشعة ال UV بطيئة جدا في التعقيم وهي عادة تستخدم لحفظ العقامة اما اذا استخدمت لتعقيم مسحوق ما يجب فرده بشكل طبقة رقيقة نسلط عليها اشعة ال UV لفترة طويلة من الزمن ثم نقوم بإختبار العقامة اذا اجتازه نقوم بإستعماله).
- ملاحظة البذيرات الجرثومية هي الأكثر مقاومة لطرق التعقيم يليها الابواغ الفطرية يليها الاشكال الاعاشية سواء جراثيم او فطور

مبادئ التعقيم Principles of Sterilization

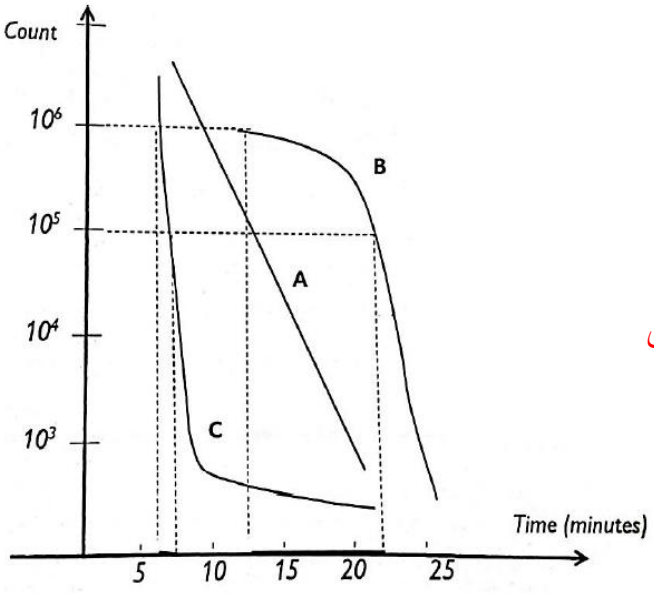
• منحنيات البُقيا Survivor Curves

- هي منحنيات تعبر عن المتعضيات الدقيقة M.O القادرة على الحياة بعد القيام بعملية المعالجة ، تربط بين تعداد الجراثيم (على محور العينات)، وزمن التعقيم أو جرعة العامل المعقّم المستخدم في القضاء عليها (على محور السينات).



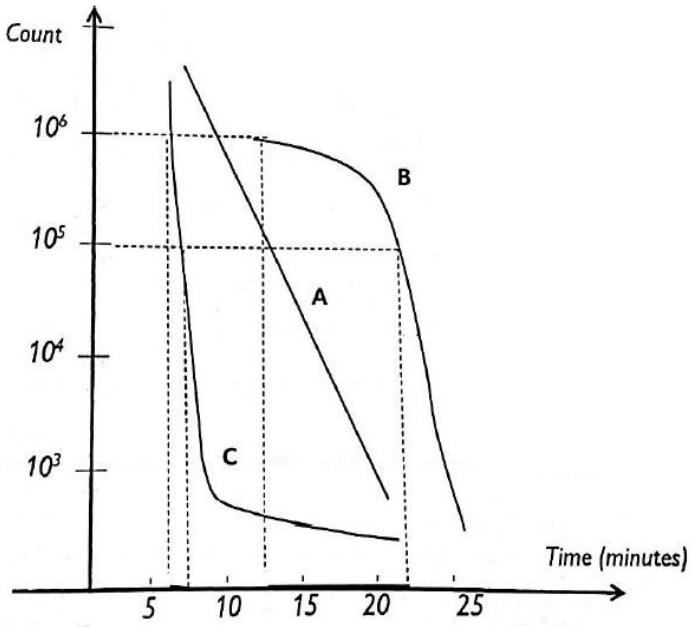
- هذا المنحني يمثل السلوك الذي تتبعه الجراثيم عند تعرضها لعامل مضاد لها خلال فترة زمنية محددة
- يوجد ثلاثة منحنيات هي A و B و C سنفصل فيها :

• المنحني B والمنحني C:



- إن السلوك الطبيعي للعضيّات الدقيقة تجاه العامل المستخدم في القضاء عليها ليس التناقص الطردي، أي أن العضيات لا تتناقص بشكل طردي بزيادة الزمن أو الجرعة (يعني لاتنقص العضيات بمقدار 1 log cycle في الساعة الأولى ونفس المقدار في الساعة الثانية وهكذا...)، بل يتخذ التناقص النموذجين B و C ويعود ذلك **لتشكل البذيرات المقاومة للتعقيم** فعند بدء عملية التعقيم يتم قتل بعض المتعضيات الدقيقة ونظرا لوجود او تشكل البذيرات يصبح تناقص العدد بطئ مع الزمن (او مع جرعة الاشعاع)
- المنحني B يدل على ان المادة التي يتم تعقيمها ملوثة بعدد كبير من البذيرات حيث نلاحظ بالبداية ان البذيرات لاتستجيب ويكون تناقصها بطيء ولكن بعد مرور فترة على التعرض يحصل تناقص سريع وتدريجي متناسب مع الزمن (او جرعة الاشعاع)
- المنحني C يدل على ان المادة التي يتم تعقيمها ملوثة بعدد كبير من الاشكال الاعاشية حيث نلاحظ بالبداية تناقص سريع في عدد المكروبات (الاشكال الاعاشية) حتى الوصول الى نقطة معينة يبدأ تشكل البذيرات فنلاحظ ان التناقص يصبح بطيء

- المنحني A:

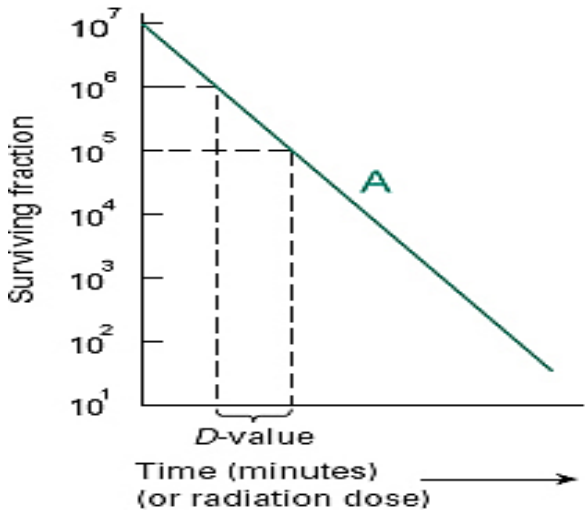


- المنحني A هو عبارة عن خط مثالي غير موجود في الحالة الطبيعية ، وإنّما هو خط ناتج عن عملية البحث عن أفضل خط بياني يربط بين المنحنيين السابقين (B و C) حيث يقوم الكوبيوتر برسمه ، وفيه يُفترض أن تناقص عدد الجراثيم يكون طرديا مع زيادة زمن تطبيق درجة حرارة ثابتة ويكون هذا التناقص بنفس السرعة من البداية إلى النهاية، أي أنه تمثيل مثالي "غير واقعي" وجميع المفاهيم التي سنذكرها والتي سنبني عليها فيما بعد المعايير اللازمة لإجراء عملية التعقيم مدروسة وفق المنحني A الذي نؤكد على أنه وهمي وغير ممثل للحالة الحقيقية في سلوك التناقص بعدد الجراثيم في التعقيم ، لجأنا الى إيجاد علاقات رياضية مبنية على المنحني A للحصول على طرق ثابتة في التعقيم (أي زمن محدد او جرعة اشعاع محددة) يتم اتباعها لكي نصل الى مانريد ولكن لاتضمن ذلك ، حيث من الطبيعي أن نقوم بعملية التعقيم والشكل الصيدلاني الناتج قد يكون غير عقيم "هام" لأن السلوك الذي اعتمدنا عليه هو السلوك المثالي غير الموجود في الطبيعة. لذلك نلجأ لمراقبة عملية التعقيم (باستخدام المشعرات الحيوية) و لإجراء اختبار العقامة (سنتحدث عن مراقبة التعقيم واختبار العقامة لاحقا)

- سنعتمد على المنحني A لإيجاد مصطلحات التعقيم D-value ، و Z-value ، و عامل التعطيل IF Inactivation Factor ، وضمان العقامة Sterility assurance

- **أولا مفهوم D-value :**

نصادفه بكثرة في حال استعمال طرق التعقيم بالحرارة أو الأشعة، ويُعرّف على أنه الزمن اللازم لدرجة حرارة ثابتة أو جرعة الإشعاع اللازمة لإنقاص عدد الجراثيم في معلق مكروبي معلوم النوع بمقدار 90% من العدد البدئي أو إنقاص لوغاريتم عدد المتعضيات الدقيقة الحية بمقدار 1 log cycle مثال: 10^6 تصبح 10^5

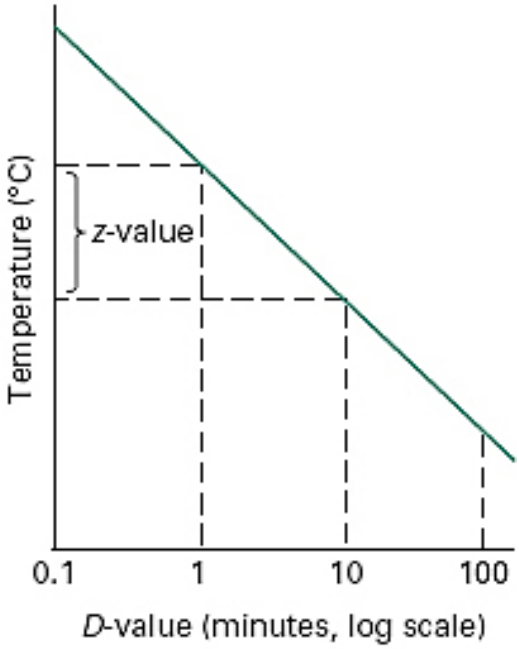


• ان قيمة D-value تختلف بإختلاف نوع المتعضيات الدقيقة

لأن قيمة ال D-value لتعقيم عينة ملوثة بال E. coli مختلفة عن قيمة ال D-value لتعقيم عينة ملوثة بالمتفطرات، كذلك فإن قيمة D-value لعينة ملوثة بال E. coli يتم تعقيمها في الدرجة 100مئوية مختلفة عن قيمة ال D-value لعينة ملوثة بنفس الجرثوم يتم تعقيمها في الدرجة 110 مئوية.

• ثانيا مفهوم Z-value

هي عبارة عن قرينة تربط بين ال D-value ودرجة الحرارة (او درجة الاشعاع) ، وتعرّف على أنها مقدار الزيادة في درجة الحرارة أو درجة الإشعاع لإنقاص قيمة ال D-value بمقدار 90 % أو درجة لوغارتمية واحدة وذلك بهدف إنجاز عملية التعقيم بشكل أسرع. أي لتقليل ال D-value



يمكن أن تحسب من العلاقة: "غير هامة"

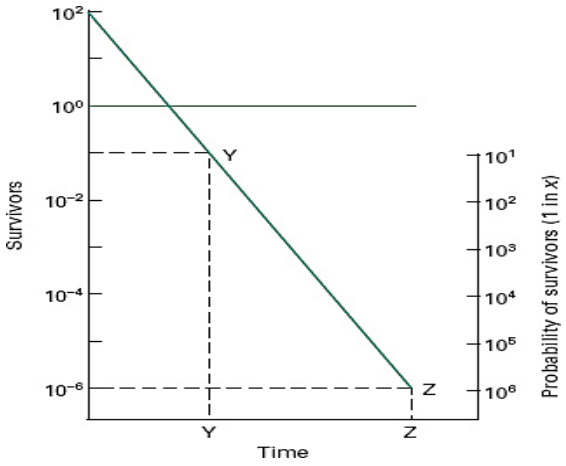
$$Z = \frac{T_2 - T_1}{\log D_1 - \log D_2}$$

حيث D2,D1 هي الـ D-Value عند الدرجتين T2,T1 على الترتيب.

- توضيح:
- فرضا لديك معلق جرثومي لخفض عدده 90 % بدرجة حرارة 110م نحتاج ل 100 دقيقة.
- نريد اختصار الوقت ل 10 دقائق نقوم بزيادة درجة الحرارة، وهذه الزيادة بدرجة الحرارة تمثل ⟸ ال Z-value (مقدار الزيادة بدرجة الحرارة).
- مثال اخر
- لنفرض اننا نعقم بدرجة حرارة 140 م لمدة 3.5 ساعة فمن اجل انقاص زمن التعقيم يجب زيادة درجة الحرارة وهذه الزيادة تكون محسوبة رياضيا وتمثل ال Z value فلنفرض ان z value =110 اذا نرفع الحرارة الى 250 فنحتاج نصف ساعة فقط لانجاز التعقيم

- **ثالثا ضمان العقامة Sterility assuranceأو سلامة العقامة Microbial safety index**
- العقامة مفهوم مطلق لا يقبل التجزئة ولا خيار ثالث فإما أن يكون الشكل عقيم أو غير عقيم.
- وفي الوقت ذاته لا يمكن ضمانها مطلقا بأي شكل من الأشكال، وما من إجراءات كافية في مختلف آليات التعقيم مهما كانت متطورة تستطيع أن تجزم بأننا وصلنا إلى العقامة 100%
- أشد ما بوسعنا فعله للاقتراب من مفهوم العقامة المطلق في الوقت الحالي هو أن نزيد ضمان العقامة (أي أن نقوم بتقليل احتمال وجود جراثيم إلى حدود متناهية في الصغر).
- يعرف ضمان العقامة : إعطاء قيمة عددية لاحتمال أن يكون الشكل المُعقّم غير عقيم. يُطلب في الصناعة الصيدلانية الوصول إلى ضمان عقامة في المنتجات العقيمة. وضمان العقامة بالصيدلة بالتعريف هو: احتمال أن يكون جزء واحد من أصل مليون جزء معقم ملوث بخلية جرثومية واحدة
- أي أنه من كل مليون منتج عقيم يتم إنتاجه في المعمل الدوائي يسمح لمنتج واحد فقط أن يكون غير عقيم، ويُسمح لهذا المنتج غير العقيم أن يحوي فقط خلية جرثومية واحدة، وكلّما انخفضت قيمة الضمان عن هذا الحد كان ذلك أفضل (أي كلما زاد المقام) كان الضمان أفضل يعني اذا كان لدينا شكل واحد ملوث من أصل 2 مليون شكل معقم فإن ضمان العقامة هنا أفضل من أن يكون لدينا شكل واحد ملوث من أصل مليون شكل معقم

- ولتوضيح هذا الأمر لندرس المثال التالي وفق المعايير التي ذكرنا أنها مثالية (أي وفق الخط البياني A) :



- لنفرض أن لدينا منتج أو أداة ملوّثة وأردنا تعقيمها بالحرارة الجافة وكان عدد الجراثيم البدئي 10^2 ، إذا أردنا الوصول إلى ضمان العقامة المثالي وهو 10^{-6} أي احتمال وجود الجراثيم هو واحد بالمليون (جزء واحد ملوث من أصل 10^6 جزء معقم فما هو الزمن المطلوب للوصول إلى هذا الضمان؟

- الجواب :

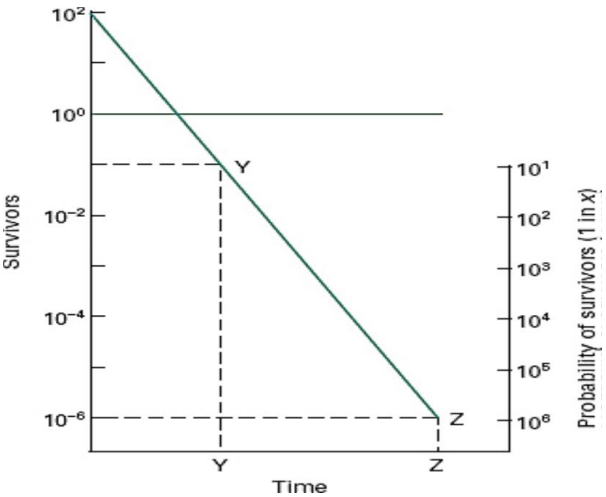
- نحن بحاجة لتعريض الشكل لدرجة حرارة ثابتة مدة زمنية ولحساب المدة الزمنية الكلية نحتاج:

1 - نحن بحاجة إلى حساب زمن ال D-value (لإنقاص عدد الجراثيم الكلّي بمقدار 1 log cycle أي من 10^2 إلى 10^1) وعلى فرض كان الزمن اللازم لإنقاص هذا العدد من الجراثيم 2 دقيقة أي أن D-value = 2 min

2 - نحتاج ل value-D أخرى لإنقاص عدد الجراثيم من 10^1 إلى 10^0

3- نحتاج لتعريض الشكل لمدة تعادل value-D للمرة الثالثة لجعل احتمال إيجاد جراثيم في هدف التعقيم هو 10^{-1} ... وهكذا حتى الوصول للرقم المطلوب وهو 10^{-6}

4- إذا نحتاج لتعريض الشكل للحرارة الجافة **لمدة تعادل 8 D-value** وبما أن ال value-D يبقى ذاته في الحالة المثالية مهما كان العدد البدئي للجراثيم ونحن افترضنا أننا نتعامل مع حالة مثالية ووجدنا بالتجربة في أول مرة أن قيمة ال D-value تساوي 2 دقيقة فيكون الزمن الإجمالي اللازم للتعقيم هو 8*2= 16 أي يجب تعريض الشكل للحرارة الجافة لمدة 16 دقيقة كي نصل لضمان العقامة



- لكن نحن بحاجة لمعرفة نوع الجرثوم وكميّته في العينة المدروسة، فال D-value كما أشرنا تختلف من جرثوم إلى آخر، كما أن الزمن اللازم لإنجاز ضمان العقامة يختلف إذا ما كان عدد الجراثيم البدئي هو 10^4 عمّا إذا كان 10^2 .
- وبما أن قيمة ال D-value تختلف باختلاف نوع ال M.O، ومن غير المنطقي أننا كلما أردنا تعقيم أداة أن نجري اختبارات تعيين كيفي وكمّي للميكروبات الموجودة فيها لتحديد قيمة ال D-value فهذا سيجعل عملية التعقيم معقدة جدا خاصة إذا أخذنا بعين الاعتبار اختلاف المعايير بين الجراثيم من أنواع مختلفة وحتى الذراري الجرثومية من النوع نفسه.
- من هذا المنطلق نعود إلى نفس الفكرة التي ذكرناها سابقا وهي الاعتماد على المعايير الخاصة بأشد الميكروبات مقاومة لعملية التعقيم وأكثرها تحمّلا للشروط المستخدمة فيها من الناحيتين الكيفية والكمية، فإن استطاعت طريقة التعقيم التغلّب على المقاومة التي تبديها هذه المتعضيات فمن المؤكد أنها ستتغلب على الميكروبات التي تبدي مقاومة أضعف منها. ومن هنا ظهرت فكرة المشعرات الحيوية

- **رابعا عامل التعطيل Inactivation factor (IF)**

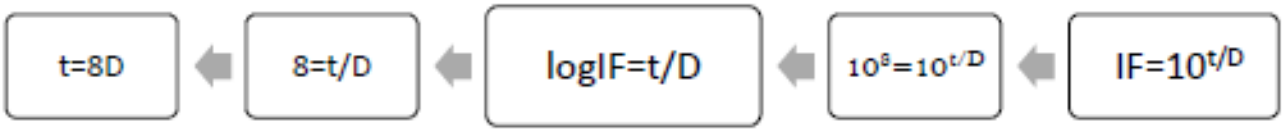
- يمكن توقع إجراءات التعقيم الضرورية للحصول على ضمان عقامة عالي لجرثوم معروف ال D-valueمن خلال حساب عامل التعطيل (IF)
- ويمكن أن يُعرَّف على أنه **نسبة الانخفاض "مقدار النقص" في عدد الجراثيم من العدد البدئي الموجود في العينة حتى الوصول إلى ضمان التعقيم المطلوب وهو 10^{-6}** ، فمثلا إذا كان العدد البدئي للجراثيم في العينة هو 10^2 فيجب أن ينخفض هذا العدد 10^8 وهذا الرقم الأخيرة هو ما يطلق عليها اسم عامل التعطيل.
- يرتبط عامل التعطيل مع كل من زمن عملية التعقيم وال D-value لل M.O المعياري وفق العلاقة التالية

$$IF=10^{t/D}$$

حيث t : زمن التعقيم المطلوب (في حالة التعقيم بالحرارة أو الغاز)، أو الجرعة (في حالة التعقيم بالأشعة).

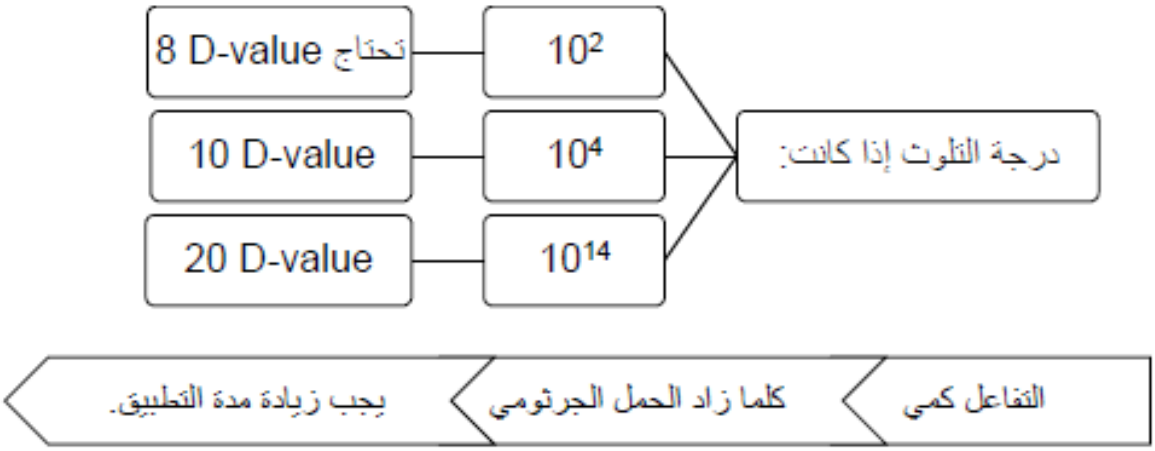
D: هي ال D-value لل M.O المرجعي لطريقة التعقيم المتبعة.

• مثال: لأجل الوصول لضمان العقامة من شكل يحوي 10^2 CFU نحتاج IF 10^8



• أي لكي نصل لحد العقامة يجب أن نستمر بتطبيق طريقة التعقيم لمدة تساوي 8 D-value ونأخذ قيمة ال D-value للشكل الأكثر مقاومة لطريقة التعقيم التي نريد استخدامها

• مثال لدينا محلول الديكستروز 5% (المماكب الضوئي للغلوكوز) يتخرب بدرجة 121م اذا استمر بالتعرض لها لمدة 15 د. أي هو متحمل للحرارة لكن لا يتحمل الزمن الطويل، لذلك نرفع الحرارة للدرجة ل 134م لمدة 3 د وبالتالي برفع درجة الحرارة زاد IF وتنقص D value وزاد مقدار الانخفاض بعدد الجراثيم وبالتالي تقليل مدة تطبيق الحرارة أي أنقصنا زمن التطبيق برفع درجة الحرارة.



- يمكننا الآن أن نفهم بسهولة كيفية **حساب المدة اللازمة لإجراء عمليات التعقيم المختلفة** والواردة في الجدول التالي:

Sterilization protocol	Biological indicator (BI)	D-value	Log If
Steam under pressure (121°C for 15 min)	B. stearothermophilus	1.5 min	**10**
Dry heat (160°C for 2 hours)	B. subtilis (var. niger)	Max 10 min	**12**
Irradiation (25 kGy, 2.5 Mrad)	B. pumilus	3 kGy (0.3 Mrad)	**8.3**

نجد اننا إذا أردنا تطبيق الحرارة الرطبة لتعقيم أداة معينة فإن بروتوكول التعقيم ينص على أن تطبيق درجة حرارة ١٢١ لمدة ١٥ كافي للوصول لضمان العقامة، طيب من أجت ال ١٥ دقيقة؟؟ نضرب قيمة ال D-value للشكل الأكثر مقاومة للحرارة الرطبة بقيمة ال log IF الخاص بها،

يعني 1.5x ١٠ = ١٥ دقيقة

- الخلاصة: كل هذه القواعد IF، Z-value، D-valueهي نقاط علام الهدف منها أن تشير إلى الطريق السليم في العمل ولكن ليس بالضرورة أن تحقق الهدف المطلوب ونحصل على شكل عقيم لذلك يوجد مايسمى مراقبة التعقيم بالمشعرات الحيوية واختبار العقامة

- ملاحظة هامة : تستعمل المشعرات الحيوية بشرط ان تتواجد بشكل مماثل للمادة المراد تعقيمها مثلا المرهم يحتوي على فازلين (أساس دسم) ، فيجب ان يوضع المشعر الحيوي ضمن أساس دسم مماثل له وهو زيت البارافين (فازلين مذاب) حيث يبقى بشكله السائل ضمن درجة الحرارة العالية واخترنا البارافين السائل وليس الفازلين لامكانية الترشيح منه أي ترشيح البذيرات من السائل واخذها وزرعها ومراقبة نموها

طرق التعقيم Sterilization Methods

- طرق التعقيم المتبعة في الصيدلة هي:

- **A) الكيميائية**: المعقمات الكيميائية: هي المواد الكيميائية التي تستعمل في عمليات التعقيم بشكلها السائل مثل: الغلوتار ألدهيد، فوق أكسيد حمض الخلPer acetic acid ، هيبوكلوريت الصوديوم، والبوفيدون اليودي. اما المعقمات بشكلها الغازي (نتيجة تسخين الشكل السائل) فهي الفورمالدهيد ، والماء الاوكسجيني

- **B) فيزيائية:**

1- الحرارة: وهي أبسط هذه الطرق، حيث توجد بشكلين إما لوحدها (بغياب الماء) وتسمى التعقيم بالحرارة الجافّة أو مع الماء وتسمى التعقيم بالحرارة الرطبة،

2- الاشعاع : اشعة غاما ، اشعة ال UV

3- الغاز : يوجد اليتين اما التأثير عن طريق الألكلة مثل غاز أوكسيد الايتلين (الأكثر استخداما في الصناعة الصيدلانية) و الفورمالدهيد او عن طريق الاكسدة مثل غاز الكلور ، الأوزون ، الماء الاوكسيجيني ، فوق أكسيد حمض الخل

4- العزل او الترشيح

أولا التعقيم بالحرارة

- التعقيم بالحرارة سواء الرطبة أو الجافة يمر بثلاث مراحل:
- الطور الأول: طور التسخين Heating stage
- الطور الثاني: طور الثبات Holding stage
- الطور الثالث: طور التبريد Cooling stage

الطور الأول: طور التسخين Heating stage

- ويتم فيها رفع درجة الحرارة وصولا للحد المطلوب، مثلا تكون 121° C في حالة الصاد الموصد
- يختلف هذا الزمن حسب طريقة التسخين المتبعة والأدوات المستخدمة

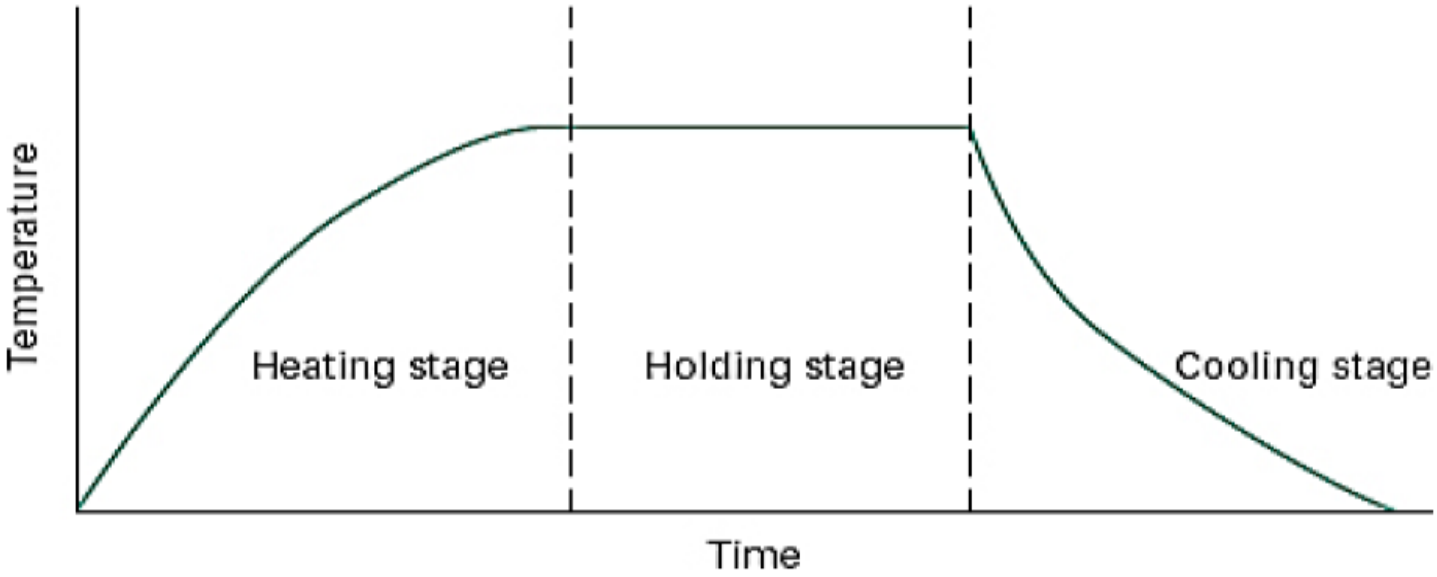
الطور الثاني: طور الثبات Holding stage

- هو الزمن اللازم والكافي لإنجاز عملية التعقيم ويبدأ عند الوصول لدرجة الحرارة المطلوبة (121 بالحرارة الرطبة) وعند بداية هذا الطور يتم بدء احتساب 15 دقيقة في الصاد والموصد (عند درجة الحرارة 121) وهو يطول أو يقصر حسب درجة الحرارة.

الطور الثالث: طور التبريد Cooling stage

- ترك الأجزاء المعقمة لتعود لدرجة حرارتها الطبيعية.

ملاحظة : وعادة ما يتم البدء بحساب زمن دورة التعقيم ابتداء من لحظة الوصول إلى طور الثبات، وهذا منطقي لأن حساب معايير التعقيم تمت بناء على طور الثبات الذي تصل فيه درجة الحرارة لدرجة المطلوبة للقضاء على المتعضية الدقيقة



- الشكل البياني السابق يبين مخطط لزيادة الحرارة مع الزمن والواضح من المخطط ان المادة المعقمة تبقى تحت تأثير حرارة مرتفعة خلال فترتي التسخين والتبريد وهذه الحرارة تساهم في عملية القتل الجرثومي أي في عملية التعقيم لذلك طرق التعقيم الحديثة (في الصناعة الغذائية فقط) تأخذ بالحسبان كمية الطاقة (الممثلة بالحرارة) في كل مراحل دورة التعقيم (أي في مرحلتي التسخين و التبريد وليس فقط في مرحلة الثبات)
- أن ال M.O يكتسب طاقة بطور التسخين والتبريد، ولابدّ أن نأخذ بعين الاعتبار هذه الطاقة التي يكتسبها الجرثوم في كلا الطورين واحتسابها كجزء من دورة التعقيم الكاملة. حيث التفاعل بين المتعضيات الدقيقة والعامل المعقم هو تفاعل كمي
- كيف يكتسب الميكروب حرارة في طور التبريد ؟

الخلية الجرثومية مادة عضوية وبالتالي عندما تتعرض للحرارة تتغير من شكل إلى آخر ولا تستطيع إعادة الحرارة التي اكتسبتها، في طور التبريد يتوقف إمداد الأوتوكليف بالحرارة، وكل ما يحيط بالخلية الجرثومية (الكائن العضوي الوحيد الموجود في الأوتوكليف) من الماء والأدوات الأخرى سيبدأ بالتخلي عن الحرارة تدريجيا ، أما الخلية الجرثومية تستمر باكتساب الحرارة الناتجة عن المواد المعدنية وغير العضوية المحيطة بها حتى تموت.

- تم حساب كمية الطاقة التي تأخذها الخلية الجرثومية في طور التسخين والتبريد وخفض زمن طور الثبات وهذا يشاهد في الصناعات الغذائية (حيث يفيد تقليل زمن التعقيم بالحفاظ على المواد الغذائية من التخرب بسبب الحرارة) لذلك تم وضع **مصطلح F** (F concept) الذي يُعرف في الصناعة الغذائية على أنه الزمن المكافئ (مقدرا بالدقائق) لفعالية التعقيم في درجة حرارة معينة والتي تعطي نفس التأثير القاتل للجراثيم فيما لو أجريت بدرجة الحرارة المطلوبة في طور الثبات.

مثال : الحرارة اللازمة لإنجاز عملية التعقيم في الصاد الموصد هي 121 لمدة 15 دقيقة للجرثوم المرجعي وبحساب كمية الطاقة التي تتلقاها المادة المعقمة خلال فترتي التسخين والتبريد وتحويلها الى زمن (يقوم بهذه الخطوة برنامج الكومبيوتر) وبحرارة 121 يمكن تقليل فترة الثبات holding stage الى اقل من 15 دقيقة أي مثلا تصبح 13 دقيقة (وهذا ما يشاهد في مصانع المربيات) أي الطاقة التي اكتسبها الجرثوم في طوري التسخين والتبريد تم تحويلها الى زمن يتم اقتطااعه من زمن طور الثبات وبالتالي تقليل زمن دورة التعقيم. وهذا مايعرف بمصطلح F أي تحويل أي معالجة حرارية عند أي درجة حرارة الى مايكافئها من زمن (دقائق) ، وتكون عند الدرجة 121 م في حالة الصاد الموصد (عند درجة التعقيم holding stage)

- أي بدل ان نعقم بالحرارة 121 لمدة 15 دقيقة تم التعقيم بالحرارة 121 لمدة 13 دقيقة

- يتم حساب ال F عادة عبر حاسوب مرفق مع الأوتوكليف.
- يكون الحاسوب قادر على حساب الطاقة التي يستطيع الأوتوكليف تقديمها خلال كل من طوري التسخين والتبريد ولتكن 110 كيلو كالوري، ويتم حساب الزمن الذي تستطيع فيه درجة الحرارة 121 إعطاء طاقة بمقدار 110 كيلو كالوري ثم يتم اقتطاع هذا الزمن من طور الثبات وبالتالي تقليل زمن دورة التعقيم.
- لماذا نلجأ لتقليل زمن دورة التعقيم؟ لمَ لا نبقي على الزمن أطول فنحصل على ضمان عقامة أفضل؟
- يكون ذلك عائد إلى طبيعة وخواص المنتجات المراد تعقيمها حيث. يتم مراعاة هذا الأمر بشكل خاص عند تعقيم المنتجات الغذائية، فقد يؤدي زيادة تعقيم هذه المنتجات لفترة طويلة إلى التأثير على جودتها ومذاقها، لذلك يُعمد إلى تقليص زمن التعقيم ما أمكن باستخدام مفهوم F، وذلك للحفاظ على جودة المنتج من الناحية الغذائية.

في الصناعات الصيدلانية لايتم اللجوء إلى هذا المفهوم إطلاقا وإنما يتم احتساب زمن التعقيم حصرا ابتداء من طور الثبات فزمن 15 دقيقة عند التعقيم بالحرارة الرطبة مقدس ولايمكن الاستغناء عنه. (يمكن ان نجد بعض دساتير الادوية (الإنكليزي خاصة) تنصح بأن الا تقل ال F-value عن 8 دقائق في حال التعقيم بالحرارة الرطبة بالحرارة 121 م) .

- ان الحرارة هي اقدم طرق التعقيم استخداما وهي على نوعين الحرارة الرطبة والحرارة الجافة

الحرارة الرطبة : يتوفر فيها الماء وحرارة فتحدث عملية حلمهة للمكروبات ، وهي اسرع طرق التعقيم ، تعمل على تعطيل البنى وتوقيف وظيفة الانزيمات والبروتينات أي تخربها وبالتالي تمنع تكاثرها .

الحرارة الجافة : تعتمد على مبدأ الاكسدة وهي بطيئة جدا لعدم وجود الاحتراق وتعد اكثر فاعلية في تخريب البنى حيث تحولها لمكوناته الأساسية H , C, N.....

- **1- التعقيم بالحرارة الرطبة :**
- التعقيم بالحرارة الرطبة من اقدم طرق التعقيم خاصة في علم الجراثيم حيث استخدمت وطورت بشكل أساسي لتعقيم أوساط الزرع وهي الان ذات تطبيق واسع جدا وفي مجالات مختلفة بدءا من المواد الغذائية الى الصيدلانية والطبية حيث تستعمل الصناعة الطبية والصيدلانية لتعقيم :

- الضمادات dressings
- الانسجة الماصة sheets
- المعدات الجراحية والتشخيصية
- الاوعية
- الماء المعد للحقن
- السدادات
- المستحضرات العينية المائية
- سوائل الغسل (الرحض irrigation fluid)

بالإضافة الى كل المواد التي لاتتحمل الحرارة الجافة وتتحمل الحرارة الرطبة والتي تسمح حالتها الفيزيائية بذلك

- يستلزم التعقيم بالحرارة الرطبة بخار ماء بدرجة حرارة 121م الى 134 م
- دورة التعقيم شائعة الاستخدام في تعقيم السوائل المعلبة (مثل الامبولات المائية) حيث تستخدم الحرارة 121 م لمدة 15 دقيقة بينما تستخدم الحرارة 134 م لمدة 3 دقائق لتعقيم المواد ذات المسامية (مثل الضمادات الجراحية)
- الحرارة الرطبة هي افضل طرق التعقيم ، الشرط الأساسي لتعقيم المواد بالحرارة الرطبة هي تحملها لدرجة الحرارة 121-134 م وثباتيتها في المحاليل المائية
- ملاحظة : المواد المصنوعة من السيللوز تكون ذات مسامية عالية نعقمها بالحرارة الرطبة 134 م لمدة 3 دقائق اما بالحرارة الجافة فتعقم بالحرارة 140 لمدة 3 ساعة (قد تسبب الحرارة الجافة اسمرارها لكن ليست بمشكلة) أي لدي خيارين لتعقيمها والأفضل بينهما هي الحرارة الرطبة لانها الاسرع
- ملاحظة : عامل التعقيم بالحرارة الرطبة هو البخار steam

Temp. (c)	Holding time (min)	Steam pressure (Kpa)	Log If
115	30	69	5.2
121	15	103	10
126	10	138	21
134	3	207	40

يوضح الجدول ضغط البخار الواجب تطبيقه عند كل درجة حرارة ونلاحظ ارتفاع قيمته مع ارتفاع درجة الحرارة وتصبح فعالية التعقيم اعلى

ملاحظة : الحرارة 115 م تشاهد في دستور الادوية البريطاني ولكن أحيانا هذه الدرجة غير فعالة في حال وجود بذيرات محتملة للحرارة

البخار كعامل تعقيم steam as a sterilizing agent:

- هناك ثلاثة أنواع للبخار :

1- البخار الرطب : يتولد فوق الماء الذي ينشأ منه مباشرة في حجرة التعقيم

2- البخار الجاف المشبع : هو البخار الذي يُنقل بعيدا عن المكان الذي تولّد فيه (حيث في الصاد الموصد الضخم يتم سحب البخار من المرجل الحاوي على الماء الى حجرة التعقيم)

ملاحظة : النوعين السابقين من البخار لهما نفس القدرة بالتعقيم

3- البخار عالي الحرارة (البخار المحمص super heated steam) :هو هواء ساخن وهو عديم الفعالية كعامل تعقيم لذلك يجب ان لا تتجاوز كميته مقدار 5% ضمن جهاز الصاد الموصد (أي يُسمح بإرتفاع درجة حرارة التعقيم 5 درجات زيادة على درجة حرارة التعقيم الأساسية) وهذا ما سوف نشاهده في المخبر العملي حيث جهاز الاوتوكليف يصدر صوتا بشكل ألي عند تفريغ البخار عند الحرارة 126 م بدلا من الحرارة 121 م الأساسية للتخلص من ضغط البخار المرتفع المتشكل في جهاز الاوتوكليف او الصاد الموصد (حيث اذا لم يتم تفريغ البخار سيؤدي ذلك الى تشكل كميات كبيرة من البخار المحمص الغير فعال في التعقيم)

يتشكل البخار المحمص نتيجة عدة أسباب :

أولا :عند ارتفاع ضغط البخار في حجرة التعقيم عن الحد المسموح به لكل درجة حرارة (حسب الجدول السابق)

ثانيا: عند انخفاض الضغط في اثناء نقل البخار من المرجل الى حجرة التعقيم (وهذا يحدث في الفترة الزمنية الأولى عند تشغيل جهاز الصاد الموصد ويعود الضغط طبيعيا مع الوقت) حيث يحدث انخفاض في درجة الحرارة البخار بينما ترتفع درجة حرارة غطاء جهاز الصاد الموصد التي تنعكس الى الأدوات المراد تعقيمها فيزداد درجة حرارة الأدوات وبالتالي تتساوى درجة حرارة البخار مع درجة حرارة الأدوات فيفقد البخار قدرته على التعقيم

- متى يكون البخار عامل تعقيم جيد ؟

لكي يكون البخار عامل تعقيم فعال يجب ان يكون قادر على تأمين الرطوبة والحرارة الكافيتين لتعقيم المواد المراد تعقيمها (أي توفر شروط حدوث لحلمهة ألا وهي الحرارة والرطوبة لكي تتخرب البنى الحيوية للمتعضيات الدقيقة وبالتالي توقف تكاثرها وموتها حيث لايؤكسدها ولا يحرقها فقط يوقف وظيفة انزيمات المتعضيات الدقيقة) وحتى تتوفر الرطوبة والحرارة المناسبين يجب ان يتوفر الجو المشبع بالبخار أي يكون البخار بحالة توازن حراري مع الماء الذي يتولد منه وهذا يدعى الطور الحدي (أي التوازن بين الطور الغازي والمائي) فعندما يلامس البخار سطح بارد (اقل من درجة حرارته نسبيا) يتكثف ويطلق الحرارة الكامنة فيه والتي تمثل 80% من طاقة التسخين

- أي لكي يكون البخار عامل تعقيم جيد يجب ان يتصف بعدة صفات :

1- ملامسة البخار ووصوله الى المتعضيات الدقيقة (أي يجب توزيع المواد المراد تعقيمها بشكل جيد غير متكدسة فوق بعضها لكي يصل البخار لكل الأجزاء)

2- ان يكون البخار ضمن الطور الحدي (التوازن بين الطور الغازي والطورالمائي)

3- ان يتخلى البخار عن 80% من الطاقة المحملة من المنبع (وهذا يحدث عندما يلامس البخار سطحا ابرد منه أي اقل من درجة حرارته نسبيا اما اذا كانت حرارة المواد المراد تعقيمها متساوية مع حرارة البخار هنا يفقد البخار قدرته على التعقيم وهذا يحدث في الفترة الأولى من بداية تشغيل جهاز الصاد الموصد اي اثناء نقل البخار من المرجل الى غرفة التعقيم)

- يوجد ثلاثة أنواع للصاد الموصد من حيث مبدأ (أي حسب ضبط وتعيير عملية التعقيم بالحرارة الرطبة):

- أولا التعقيم بالصاد الموصد على **مبدأ الازاحة او طرد الهواء** عند تشغيل جهاز الصاد الموصد (الموجود بالمخبر) نشاهد ان البخار الذي يدخل من الأعلى الى حجرة التعقيم يدفع الهواء ليخرج من حجرة التعقيم عبر الصمام الذي يبقى مفتوح الى أن يخرج منه البخار بشكل مستمر عندها يغلق الصمام وترتفع درجة الحرارة حتى تصل الى 121 م ويبدأ بحساب الزمن أي الهدف من طرد الهواء من حجرة التعقيم هو ان يلامس البخار المواد المراد تعقيمها ، يستخدم هذا المبدأ في تعقيم الأوساط الزرعية ، السوائل المعبئة بالاوعية الزجاجية غير محكمة الاغلاق (أي لانعقم الامبولات المائية لانها محكمة الاغلاق حيث ستنفجر)

- ثانيا التعقيم بالصاد الموصد على **مبدأ التخلية** حيث يتم تفريغ الهواء بشكل ألي قبل التزود بالبخار ثم يتم ادخال البخار بشكل نبضات متناوبة او تفريغ الهواء بشكل نبضات مع ادخال البخار بشكل متتالي وتستخدم هذه الطريقة في تعقيم الضمادات (المواد عالية النفوذية) حيث تسمح نبضات البخار بالتأكد من وصول البخار لكافة أجزاء الضماد

ثالثا التعقيم بالصاد الموصد على **مبدأ التوازن** حيث يتم الحفاظ على نسبة من الهواء داخل حجرة التعقيم ليؤمن ضغط كافي يمنع العبوات (محكمة الاغلاق) من الانفجار ، يتم تعقيم الامبولات المائية و أكياس السيروم و القطرات العينية التي تعقم بشكلها النهائي، يتم تعبئة الامبولات بغاز عقيم (هو غاز النتروجين يُعقم بالفلترة) ثم تغلق الامبولة وتوضع ضمن الاوتوكليف فيتشكل بخار داخل الامبولة يعمل على تعقيم محتوى الامبولة (أي كأن الامبولة تحولت الى اوتوكليف داخلي) اما الغاز داخل الامبولة فيجب ان يكون عقيم لان البخار لايتغلغل ضمن الغاز ، ولكي لاتنفجر الامبولة نتيجة ارتفاع الضغط داخلها يتم الحفاظ على نسبة من الهواء ضمن جهاز الصاد الموصد مهمته الحفاظ على ضغط متوازن مع محتوى الامبولة (فهنا جهاز الاوتوكليف أصبحت مهمته تأمين الحرارة لتشكيل البخار داخل الامبولة ، والحفاظ على الضغط الخارجي متوازن مع الضغط داخل الامبولة كي لاتنفجر الامبولة او تنكسر) ،لا يتم تعقيم الامبولات الزيتية بالحرارة الرطبة وذلك لعدم إمكانية تشكل بخار داخل الامبولة وبالتالي لن يتعقم وانما تعقم الامبولات الزيتية بالحرارة الجافة او تجمع عقيمة حيث يعقم المحتوى الزيتي بالترشيح

- **2- الحرارة الجافة :**
- تقتل الحرارة الجافة المتعضيات الدقيقة بفعل الاكسدة التي تعتبر اكثر فعالية في تخريب البنى الجرثومية لكنها تحتاج فترة طويلة وتعد من اسهل الطرق
- مجال التعقيم بالحرارة الجافة 140-650 م مع اختلاف زمن التطبيق ، الحرارة المفضلة بشكل عام 170م لمدة ساعة
- 140 م لمدة 3-2.5 ساعات
  160 م لمدة 2-1.5 ساعة
  250 لمدة 30 دقيقة
  اما للقضاء على البيروجينات نستخدم الحرارة 250 لمدة 45 دقيقة او 140 لمدة 8 ساعات او 650 لمدة 1 دقيقة
- تستعمل الحرارة الجافة في تعقيم :
  - الأدوات الزجاجية
  - أدوات الجراحة المعدنية
  - السوائل اللامائية الثابتة حراريا
  - البودرة الثابتة حراريا
- ملاحظة يفضل استخدام الحرارة 140 لمدة 3 ساعات في تعقيم الضمادات والقطن (المواد عالية النفوذية) بدلا من الحرارة 170 لمدة ساعة وذلك لكي لاتتخرب وتفقد صفاتها المرنة ، أي نخفض الحرارة مع زيادة الزمن
- عند ترتيب المواد المراد تعقيمها ضمن جهاز الحرارة الجافة يجب ان توضع المواد الأكثر ناقلية للحرارة (المواد المعدنية) بالقرب من الجدران (أي بالقرب من مصدر الحرارة) اما قليلة التوصيل للحرارة (مثل السيليوز) في منتصف الجهاز لكي لاتعيق وصول الحرارة لمنتصف الجهاز اذا ما وضعت بالقرب من الجدران
- يوجد نوعين من أجهزة الحرارة الجافة : 1- نظام الوجبة batch (الفرن) مصدر الحرارة سخان كهربائي (منبع حراري من التنغستين مثلا) .
  2- النظام المستمر (الانفاق) مصدر الحرارة فيه هي الاشعة الحمراء IR .

ثانيا التعقيم بالغاز

- الغازات لها فعالية مضادة للميكروبات تصنَّف ضمن طرق التعقيم الفيزيائية ولكن فعل التعقيم يكون بتفاعل كيميائي، وهنا نميّز آليتين للتعقيم حسب مبدأ العمل:

- **1 - الألكلة:** إضافة مجموعة ألكيل إلى الزمر الوظيفية والمجموعات العضوية (مجموعات سلفهدريل ، الأمين ، الهيدروكسيل ، الاإيمين) ضمن الجرثوم ما يؤدي لقتلها مثل أوكسيد الإيتيلين والفورم ألدهيد.

- **2 - الأكسدة:** الغازات التي تعمل بآلية الأكسدة تعطي فعل الأكسدة بدرجات حرارة منخفضة وهذا ما يميزها عن فعل الأكسدة بالحرارة الجافة، من جهة أخرى فعل الأكسدة بالغازات لطيف أي يقتل الجرثوم ويعقم ولكنه غالبا لا يخلص من البيروجينات ، تستخدم هذه الغازات بكثرة في المشافي.

- الشرط العام: حتى يعقم الغاز مادة يجب أن يكون قادراً على اختراقها.

- من الغازات المؤلكلة أوكسيد الإيتيلين والفورم ألدهيد، أوكسيد الإيتيلين الأكثر شيوعا للاستخدام في عمليات التعقيم في الصيدلة.

- تستخدم الغازات (أوكسيد الايتلين فقط) لتعقيم المواد البلاستيكية او المطاط او الورق او الالياف أو غير المتحملة للحرارة (سيرومات ، سرنغات ،الأدوات الطبية وحيدة الاستعمال disposable ، الأجزاء التي تغرس بالاعضاء ، حتى علب البتري ، الكمامات ، الشاش)، أيضا لتعقيم الغرف والمساحات الكبيرة فإذا تلوثت غرفة العمليات في مشفى تكون عندها الحرارة الرطبة والجافة خيارات غير متاحة ويتم التعقيم بالغاز وغالبا الفورم ألدهيد.

جدول يبين ميزات وعيوب غاز ازكسيد الايتلين و بخار الفورمالدهيد منخفض الحرارة

	أوكسيد الايتلين
الميزات	1- مُوافق عليه من قِبل المنظمات الدولية الصحيّة المختلفة. 2- يتمتع بنفوذية واختراقية عالية اذ أنه يخترق البلاستيك والبولميرات الصنعية (أهم ميزة) عكس الفورمالدهيد. 3- يُستخدم كبديل مقبول للتعقيم بأشعة غاما، نعقم به المواد ال disposableالتي لا نستطيع تعقيمها بأشعة غاما. 4- يمكن للتعقيم ان ينجز بدرجة حرارة المحيط وذلك بزيادة مدة التعرض 5- قليل التماثر على السطوح، وبالتالي لا يتجمع أو يترك آثار، وإذا حدث وترك أثر فإن الأثر المتبقي منه يمكن التخلص منه بسهولة وبالتالي نادراً ما يسبب تخرّب المواد المعقَّمة، قليلاً ما يشكّل متماثرات صلبة مع المواد المراد تعقيمها. 6- يخترق المواد البلاستيكية والمطاطية.
العيوب	A) مزيج أوكسيد الإيتيلين مع الهواء بنسبة 3.6% على ارتفاع منخفض قابل للانفجار ويشكّل ما يسمى بالغيمة الحارقة ، الأمر الذي حدّ من استخدامه في بعض الدول والمستشفيات (يمكن استخدامه كسلاح كيميائي). B) تركيزه السمّي (في حال حدث تسريب ونحن نعقم به) غير محسوس بالشم. C) لا يخترق السوائل (صفة عامة للغازات). D) في بعض الحالات النادرة جدا قد يتفاعل مع بعض المتماثرات الصنعية غير الجيدة فيؤثر على قساوة المواد المعقَّمة (تُعقم به سيرنغات لها قساوة معينة بعد التعقيم قد تصبح لدنة)،أي قد يؤثر على متانة بعض البوليمرات.

	بخار الفورمالدهيد منخفض الحرارة LTSF
الميزات	1- غير منفجر، وغير قابل للاشتعال. 2- التركيز الأقل من السمّي محسوس بالشم، لذلك يمكن للعاملين اتخاذ الاحتياطات اللازمة "ميزة هامة". 3- قد تكون دورة التعقيم به أقصر. 4- يتم الحصول عليه بتسخين محلول مائي (الفورمالين) او بلورات بارا فورم الدهيد بوجود القليل من البرمنغنات لدرجة 70-80 م ، وهو كمصدر مريح اكثر من استعمال أسطوانات أوكسيد الايتلين 5- يُستعمل لتعقيم غرف المرضى المضعفين مناعيا (مرضى زراعة الكلية).
العيوب	A) اختراقيته ضعيفة جداً، لأن جزيئات الفورم ألدهيد تكون محمولة على جزيئات بخار الماء، أي يجب أن ينفذ بخار الماء ويسحبه معه ولكننا نعلم أن قدرة بخار الماء على الاختراق ضعيفة فبالنتيجة تكون اختراقية LTSFضعيفة أيضا B) يتماثر على السطوح مُشكّلاً مادة الفورمالين (المحلول المائي)، ولذلك يُمنع استخدامه في معامل الأدوية "الصيدلانية" و يُحصر استخدامه في المشافي وغرف نقل الأعضاء.

1- غاز أوكسيد الايتلين

1- التركيز المطلوب من الغاز (800-1200) ملغ/ل.

2- ودرجة حرارة (20 م -55 م) .

3- رطوبة (63%-73%) .

4- زمن التطبيق من (20 د - 2 سا).

- تختلف الشروط التي يتم اختيارها باختلاف المعامل والهدف الذي يتم تعقيمه وباختلاف القائمين على عملية التعقيم.
- يتم ضبط دورة التعقيم بالمشعر الحيوي حيث نقوم أثناء دورة التعقيم بتوزيع كمية من المشعر الحيوي في حجرة التعقيم بأماكن مختلفة، (30 مشعرعلى الأقل) ثم نقوم بعملية التعقيم وبعد انتهاء عملية التعقيم نقوم بزرع المشعر، في حال كانت نسبة النمو لا تتناسب مع دستور الادوية نعيد دورة التعقيم بعد تغيير شروط التعقيم (الرطوبة، درجة حرارة التطبيق، التركيز، الزمن) حتى نصل لطريقة التعقيم المثلى.
- لايوجد ضوابط حسابية لتحديد تركيز الغاز ودرجة الحرارة ورطوبة كتلك التي وجدناها في التعقيم بالحرارة و الاشعة (F-concept ، D-value ، Z- value .....) أي يتم التعقيم حسب القياسات التجريبية (هذا ينطبق على التعقيم بجميع الغازات)
- المشعر الحيوي للغاز هو جرثومة العصوية الرقيقة Bacillus subtilits

- **تصميم جهاز التعقيم بأوكسيد الإيتيلين Sterilizer design :**

- يتألف جهاز التعقيم بأوكسيد الإيتيلين من:

1. - حجرة فولاذية مصممة بمواصفات خاصة أهمها أن تكون متينة وجدارها متحمّل للضغط لتجنب خطر الانفجار.

2- المضخة المُفرّغة للهواء (المُخلّية) Vacuum pump : تقوم بإفراغ الهواء ليحل محلّه غاز أوكسيد الإيتيلين.

3- أسطوانة الغاز Gas cylinder : مصدر لغاز أوكسيد الإيتيلين بالتركيز المطلوب، والتركيز المستخدم من الغاز يتراوح بين 1200 – 800 ملغ/ل (ملغ في لتر من جو التعقيم).

4- غلاف من الماء الساخن Hot-water jacket : يتم تسخينه لتأمين درجة حرارة منتظمة لحجرة التعقيم.

- **مراحل العمل Operation :**

1) نرتب المواد التي نريد تعقيمها في الحجرة، ثم نقوم بعملية التخلية من الهواء ليحل محله الغاز لأن دخول غاز أوكسيد الإيتيلين يجب أن يكون دون وجود الهواء.

2) ثم نقوم بعملية ترطيب للجو (أوكسيد الإيتيلين لا يعمل بغياب الرطوبة بشكل جيد، فنحن بحاجة لحرارة ولرطوبة قد تصل حتى 73% وذلك حتى تتم عملية الألكلة) .

3) يُدخل غاز أوكسيد الإيتيلين بالتركيز المطلوب على شكل نبضات.

ذكرنا أن التفاعل كمي بين ال M.O وب التالي في حال كانت كمية ال M.O كبيرة سيتم استهلاك كبيرة من الغاز وبالتالي يحدث نقص بالتركيز الأمر الذي يؤثر بدوره على جودة التعقيم وفي هذه الحالة يجب زيادة تركيز الغاز ضمن الحجرة.

4) بعد انتهاء عملية التعقيم نقوم بالتخلص من الأثر السمي المتبقي من الغاز ضمن حجرة التعقيم والأدوات التي تمّ تعقيمها وفق مايلي:

- بالنسبة لحجرة التعقيم: نقوم بإيقاف مصدر الغاز، ثم نجري تهوية بسيطة للحجرة بحيث يتم شفط الغاز وطرده للخارج، ويفضل ان يكون الهواء الداخل معقَّم بال HEPA filter .
- أما بالنسبة للأثر المتبقي ضمن الأداة فيتم التخلص منه بطريقتين وذلك حسب كمية الإنتاج أو سرعة الإنتاج:
- إما: يُترك ليتطاير وحده في حال كانت كمية الإنتاج قليلة، حيث يتم فتح حجرة التعقيم ووضع الأدوات التي تمّ تعقيمها على الرف في المستودع فيتحرر غاز أوكسيد الإيتيلين من هذه الأدوات ببطء ويلعب دور حافظ للتعقيم ويحافظ عليه لفترة كافية ويقوم أيضا بتعقيم الجو ضمن المعمل لذلك فإن هذه الطريقة مفضلة واقتصادية أكثر ولكن يجب الانتباه إلى السمّية في الهواء.
أو: يتم الجرف بهواء عقيم في حال كانت كمية الإنتاج ضخمة أو إذا كنا بحاجة لسرعة في الإنتاج ، حيث نقوم بعملية إدخال لهواء عقيم معقَّم بال HEPA filtration يقوم بطرد الأثر المتبقي من أوكسيد الإيتيلين.

- **ماذا يعقَّم بأوكسيد الإيتيلين؟**

- يُستخدم لتعقيم جميع الأدوات المعدّة للاستخدام لمرة واحدة (عند عدم توفر أشعة غاما) مثل: السيرنغات البلاستيكية والقثاطر والكمامات وأطباق البتري البلاستيكية، الشاش...

- الأفضل عند تعقيم المواد المعدة للاستخدام مرة واحدة استخدام أشعة غاما (تكلفتها قليلة)، ولكن إن لم تكن متوفرة نقبل التعقيم بأوكسيد الإيتيلين.

- لا نعقم بأوكسيد الإيتيلين السوائل أو الأمبولات، فهو يخترق الزجاج لكنه غير قادر على اختراق السائل وبالتالي لا يتفاعل مع ال M.Oالموجودة داخل السائل.

- يبيّن المخطط التالي تغيّرات الضغط بدلالة الزمن خلال **دورة التعقيم بغاز أوكسيد الإيتيلين**:

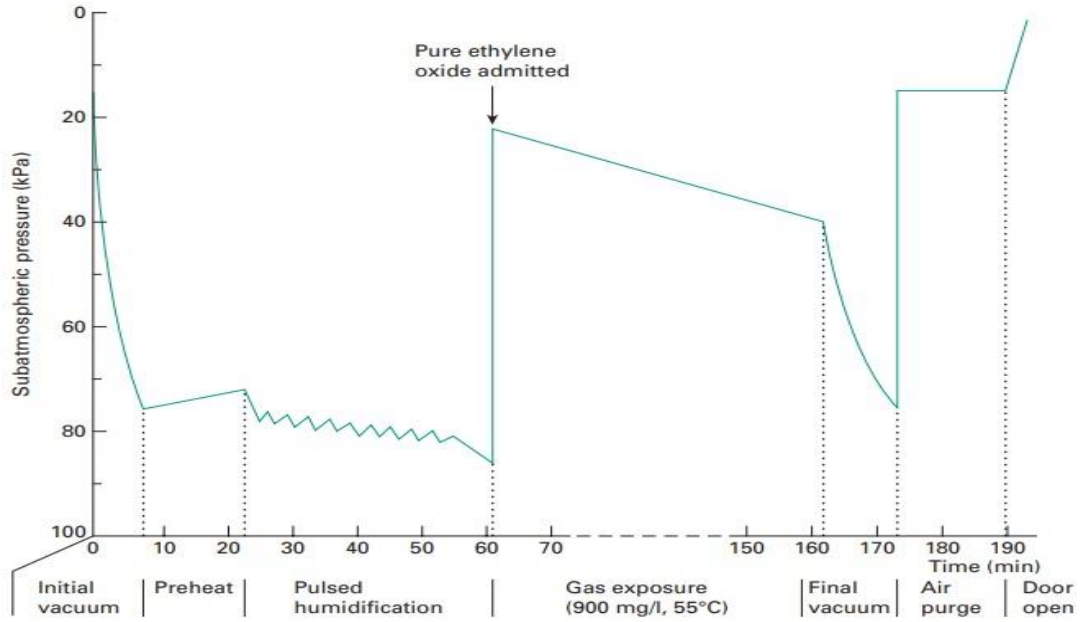


Figure 21.7 Typical operating cycle for pure ethylene oxide gas.

- إذا يمكن تلخيص خطوات العمل بالترتيب مع الزمن كما يظهرها الشكل السابق :

1 - أولاً نقوم بعملية تخلية لإخراج الهواء وهذا يعني انخفاض الضغط في حجرة التعقيم.

2. - ثم نقوم بتسخين الجو للوصول إلى الدرجة المثلى لعملية التعقيم، ثم نزيد من رطوبة الجو في حجرة التعقيم.

3- بعدها نُدخل الغاز بتركيز 900 ملغ/لتر في الدرجة C 55 والذي يؤمنها الغلاف البخاري Steam jacketوبرطوبة نسبية 63% .

نلاحظ أن زمن التعريض للغاز حوالي 100 دقيقة (بين ال 160 – 60 على المخطط) ويمكن أن نزيد درجة الحرارة أو التركيز لتقليل زمن دورة التعقيم، زمن التعريض 100 دقيقة ولكن الدورة ككل تستغرق 3 ساعات.

4- ثم نقوم بعملية تخلية للتخلص من غاز التعقيم، وبعدها نقوم بإدخال الهواء النظيف إلى الجهاز.

دورة التعقيم هذه تعود لكل مصنع لوحده فكل مصنع قام بعملية Validationلعملية التعقيم المتّبعة لديه وبالتالي وضع الشروط الملائمة لإنجاز دورة تعقيم ناجحة.

- وكما ذكرنا سابقا يتم ضبط عملية التعقيم بواسطة المشعر الحيوي وهو بذيرات جراثيم العصويّة الرقيقة Bacillus subtilis، بالإضافة لمشعرات أخرى كيميائية مثل قياس تركيز الغاز حيث يتم توزيع مشعرات كيميائية لتحكم على توزع الغاز بحجرة التعقيم وذلك للتأكد من وصوله لكل النقاط في حجرة التعقيم، وكذلك ويمكن استخدام مشعر فيزيائي لقياس الحرارة والرطوبة.
- بما ان الجرثوم المتعرض للتعقيم بالغاز يحتاج وقت أطول لاستعادة نموه فبالتالي فإن اختبارات الحكم على جودة العقامة تستهلك وقت أطول من الطرق الأخرى لذلك فترة الحجر تكون اطول

2- الفورمالدهيد Formaldehyd (بخار الفورمالدهيد منخفض الحرارة LTSF)

- التركيز المطلوب من الغاز 15-100 ملغ/لتر

  درجة الحرارة 70-80 م

  الرطوبة 45 -63%

- المحلول المائي للفورم ألدهيد بتركيز 38% يسمى الفورمالين، ويستخدم بكثرة لحفظ الأنسجة والأعضاء والتحنيط.
- أما ليُستعمل الفورم ألدهيد بعمليات التعقيم يجب أن يكون بشكل غاز (بالبخار fumigation)
- الفورمالدهيد يوجد:إما بشكل بلورات تدعى بارافورم ألدهيد Paraformaldehyde أو محلول نسبته 38-40 % يسمى فورمالين.

- **الاستخدامات:**
- حاليا يُستخدم في تعقيم غرف العمليات في المشافي وخاصة غرف زراعة الأعضاء مثل زرع الكلية
- يستخدم لتعقيم المستشفيات في حال تفشّي جراثيم مشفوية Nosocomial infections، حيث تكون هذه الجراثيم مقيمة في الأدوات ويصعب الوصول إليها بطرق التطهير اليومي (قد تتواجد هذه الجراثيم بأجهزة التهوية). وللتخلص من هذه الجراثيم المشفوية نحتاج لعامل ذو قدرة مضادة للجراثيم عالية ويستطيع التغلغل، قد يخطر ببالنا أوكسيد الإيتيلين ولكننا لا نستخدمه لأن مزيجه في الهواء قد ينفجر ويكون الفورمالدهيد هو الخيار الأفضل هنا.
- ولكن قلّ استعماله في الصيدلة كمادة معقمة، لأن قدرته على الاختراق قليلة، أي نفوذيته ضعيفة فهو لا يعقِّم البلاستيك كما أنه يتماثر على السطوح.

وفيما يلي **مخطط لدورة التعقيم بالفورمالدهيد**

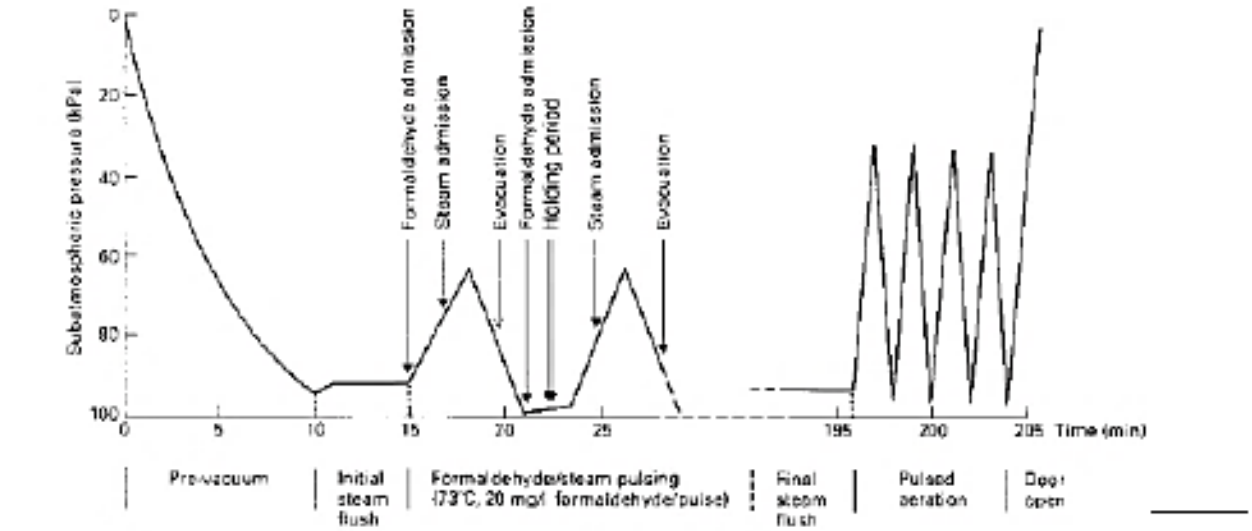


Fig. 20.8 Typical operating cycle for low-temperature steam and formaldehyde treatment.

• تابعوا على محور السينات خطوات التعقيم ببخار الفورم ألدهيد:

1 - يجب أن تكون حجرة التعقيم متحمّلة للضغط، نقوم بترتيب المواد في الحجرة نقوم بعملية التخلية للتخلص من الهواء (هنا لا يوجد خطر الانفجار).

2- ثم عملية الترطيب بواسطة إدخال نبضة من البخار المنخفض الحرارة مع الفورمالدهيد.

3- ثم عملية إدخال الفورمالدهيد بالدرجة 73م بتركيز 20 ملغ/ل (المجال من 15 - 100 ملغ/ل) بشكل نبضات متتالية، بحيث يتغلغل في كل المواد وذلك خلال فترة محددة من الزمن.

4 - ثم عملية التبريد وطرد الغاز المتبقي من الفورمالدهيد.

5 - ويتم ضبط الشروط بنفس الآلية اللي اتبعناها عند التعقيم بأوكسيد الإيتيلين (المشعر الحيوي).

• ملاحظة هامة: لانستخدم LTSF للتعقيم في الصيدلة أما في المشفى يمكن استخدامه.

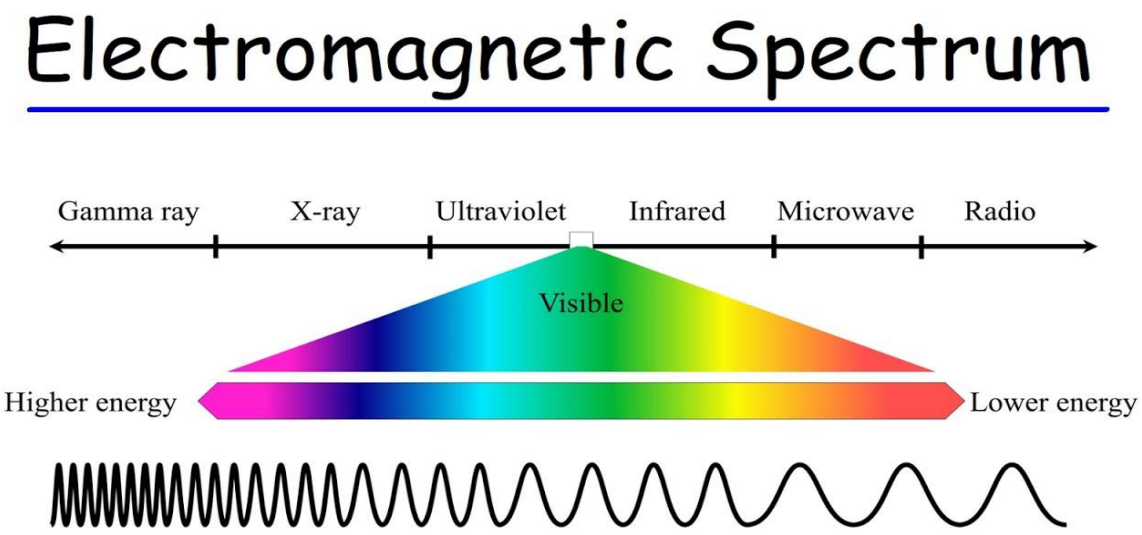
3- الماء الأوكسجيني Hydrogen peroxide

- وهو من الغازات التي تعقم بالاكسدة (تشمل عدة غازات منها فوق أكسيد حمض الخل ، الأوزون ، غاز ثاني أوكسيد الكلور ، كلوروبيكرين وغيرها)
- يستخدم الماء الاوكسيجيني كمحلول مائي بتراكيز 10%-30% في التطهير ويعتبر من المواد المطهرة ذات مستوى التطهير المتوسط (غير فعال على البذيرات) في حال رفع درجة الحرارة أثناء تطبيق الماء الأوكسجيني قد نرفع مستوى التطهير ليصبح ذو مستوى عالي ويصبح فعالاً على الفيروسات الخطرة والبذيرات.
- ان الماء الأوكسجيني محلوله مطهر أما بخاره معقّم والشرط الأساسي لتكون عمليّة التعقيم ببخار الماء الأوكسجيني جيدة هو عدم تحوّله إلى ماء (مضاد استطباب)، فحين يتحوّل لماء يصبح مطهراً وليس معقّماً.
- لاستخدامه كغاز نقوم بتسخينه فيتبخر ونحصل على جذور حرة (OH *) المدموجة مع جزيئات بخار الماء الأوكسجيني لأن لها قدرة عالية على الأكسدة، أما في حال تماثرت وتحول البخار لماء أصبح الفعل تطهير وليس تعقيم ⟸ بالنتيجة الجزء الفعّال هو جذور OH * الحرة، وآلية التعقيم هي الأكسدة.
- قدرته على الاختراق مقبولة، ولكن يبقى ضعيفا في اختراق البوليمرات الصنعيّة فلا يستخدم في تعقيم السرنغات والمواد المعدة للاستخدام مرة واحدة، فهو إذاً لا يستخدم في الصيدلة واستخدامه الأساسي في المستشفيات.
- المشعر البيولوجي الذي يضبط شروط دورة التعقيم: العصيات الدهنية المحبة للحرارة Bacillus stearothermophilus وبعض المراجع تسميها . Geobacillus
- السمية: قد يسبب حروق على مستوى الجلد والأغشية المخاطية مثل أي مادة مؤكسدة، له أيضا تأثير قاصر للألوان "يستخدم في الصبغات" ولكن بالنتيجة تبقى سميته منخفضة بالمقارنة مع العوامل الأخرى.

ثالثا التعقيم بالإشعاع Radiation Sterilization

- الشعاع هو شكل من أشكال الطاقة ينتقل بشكل موجي أو مادي (جسيمات) عبر الفراغ أو عبر جسم ما، وله على هذا نوعان:
- جسيمات مسرّعة Accelerated electrons : تشمل أشعة ألفا α- وأشعة بيتا β-، استخدامها في الصيدلة نادر لأنه يشكل خطراً صحيا وبيئيا .
- الإشعاع الكهرومغناطيسي : مثاله أشعة غاما وهو المستخدم صيدلانياً

هناك عدد من الاشعاعات المختلفة بطول الموجة وكما نعلم أن الإشعاع عالي الطاقة يكون قصير طول الموجة والعكس صحيح:



يبين الجدول التالي أنواع الأشعة المستخدمة وصفات كل منها:(

الأشعة	الصفات
أشعة غاما	الأكثر فعالية، موجة قصيرة وطاقة عالية، آلية التأثير بالتأيّن والإشعاع، قدرة اختراقية عالية.
أشعة X	قصيرة طول الموجة وطاقة عالية، قدرة اختراق ممتازة، آلية التأثير تأيّن، قد تُستخدم للتعقيم لكنها غير مستخدمة في الصيدلة بسبب تأثيراتها الضارة.
الأشعة فوق البنفسجية UV light	آلية عملها تهييج الإلكترونات، لا تعمل بالإشعاع ولا بالتأيين، اختراق معدوم (لا تخترق سوى السوائل والغازات).
الأشعة تحت الحمراء Infrared (IR)	طويلة طول الموجة، قليلة الطاقة، إشعاع قليل، تعقيم بالحرارة الجافة (تعقّم بها النباتات الطبية الجافة بالدرجة 85 مئوية).
المايكروويف Microwaves	طويلة طول الموجة، مستويات قليلة جداً من التأيّن والإشعاع والطاقة، تعقّم بالحرارة الجافة.
الأجزاء المسرّعة α-rays	هي نواة ذرة الهيليوم، وزنها ثقيل، اختراق قليل (يمكن أيقافها بقطعة ورق مقوى)، سرعتها منخفضة بمتاز بقدرة كبيرة على تأيين المواد.
الأجزاء المسرّعة β-rays	إلكترونات مسرّعة، طاقة عالية جداً، اختراقيتها أعلى من جسيمات ألفا، وسرعة عالية، مؤذية جداً لذلك لا تستخدم في التعقيم.

- الإختراق شرط مهم لقبول الأشعة كمادة معقمة
- IR و Microwavesمبدأ عملها التعقيم بالحرارة الجافة.
- إن أهم اشعة مستخدمة في الصيدلة هي الأشعة غاما (مؤينة) والأشعة فوق البنفسجية (غير مؤينة) وكلاهما يؤثران على مستوى دنا المتعضية (تخريبه)

1- أشعة غاما Gamma rays (γ-ray)

خواصها العامة:

- المصدر: بعض العناصر المشعة CO 60 و CS137
- من أهم ميزاتها الاختراقية العالية جداً
- المبدأ: التأين، حيث أن الطاقة العالية لأشعة غاما تؤثر على المواد العضوية والخلايا الجرثومية لأنها تعطي جذور حرّة ضمن الخلية الجرثومية، هذه الجذور ستخرب DNAالخلية بشكل غير قابل للإصلاح.
- التأين له أضرار على المادة المراد تعقيمها إذا كانت تحوي ماء لأن الماء يتأين ويشكّل جذور حرة ستهاجم المادة الدوائية الفعالة وتخربها ، لهذا لا نعقم به المواد السائلة.

يشترط في المادة التي يتم تعقيمها بالإشعاع:

- 1. أن تكون غير متخربة بالإشعاع.
- 2. أن تكون خالية من الماء وغير متأينة.

- يتضمن **جهاز التعقيم** بشكل أساسي منبع مصنوع من مادة مشعة يكون مغمورا بالماء، وذلك لتقليل شدة الإشعاع الناجم فكما نعلم أن اختراقية الأشعة غاما عبر الماء أبطأ من المواد الأخرى.

ويتم إخراجه من الماء فقط أثناء دورة التعقيم وذلك:

- 1. - **للتخفيف من الانتشار** لأن انتقال الأشعة بالسوائل والمواد الصلبة أخف من انتقالها بالغازات.
- 2. - للمحافظة على العنصر المشع لأن **قدرته وطاقته تخف مع الزمن**.

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 مصنوعة من الاسمنت بسماكة 2 ملم ويكون هذا الاسمنت حاويا على طبقات من الرصاص الذي له القدرة على امتصاص الأشعة، بهدف منع تسرب الأشعة خارج الجهاز.

- **محدوديات ومشاكل الأشعة غاما:**

- A - لايمكن الاعتماد على ال value-D، وال value-Z، وغيرها من الزمن اللازم للتعقيم. بسبب أن منبع الأشعة هو عنصر مشع وهذا العنصر تتناقص قدرته على الإشعاع بمرور الزمن، أي أن جرعة الإشعاع في تبدل مستمر مع الزمن، وحل هذه المشكلة هو نضيف مُشعرات فيزيائية إلى حجرة التعقيم أهمها مادة بلاستيكية تدعى الزجاج العضوي Dosimeter Perspex وهي مادة ينقلب لونها من الأصفر إلى الأسود عندما تتلقى الجرعة الكافية من الإشعاع، فمثلاً إذا كان الزمن اللازم لعملية التعقيم نظريا هو ساعة وتغيّر اللون بعد 45 دقيقة ننهي عملية التعقيم ولا ننتظر اكتمال الساعة.
- B- الاختراقية العالية: التي هي ميزة لكن في ذا 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.
- المشعر الحيوي وهو بذيرات العصويات القزمة Bacillus pumilus

ماذا نعقم بأشعة غاما :

- جميع المواد الغير قابلة للتأين والتي لا تؤثر الأشعة على ثباتيتها أو طبيعتها الكيميائية، مثل المحاليل اللامائية والمنتجات الحساسة للحرارة.
- بعض المركبات العضوية التي لا تتشرد والتي تحتاج ضمان عقامة عالي، مثل: الخيوط الجراحيّة الممتصة التي تُستخرج من أمعاء الخروف (كما ذكرنا سابقا أمعاء الخروف تحتوي على أصعب أنواع الجراثيم من ناحية التعقيم وهي ال Clostridium والتي تكون قادرة على تصنيع البذيرات كما أن الأمعاء قد تلتقط Bacillus من جلد الخاروف أثناء سلخه لذلك تكون العوامل الممرضة الملوثة للخيوط مقاومة جدا لطرق التعقيم والأشعة غاما هي المثلى في التعقيم) .
- المراهم وحيدة الجرعة Unit dose ointments بشرط أن تكون المادة الدوائية الفعالة بداخله غير متشردة (الفازلين مثلاً يمكن تعقيمه بالإشعاع فهو خامل تجاه عملية التأين أو التشرد).
- جميع الأدوات ذات الاستخدام الوحيد المصنوعة من بوليمرات صنعية لا تتحمل حرارة التعقيم مثل القثاطر، الشاش، القطن، السيرنغات البلاستيكية، الأدوات الجراحية وحيدة الاستعمال (أي الأدوات الجافة التي لا تتأثر بالأشعة).

لا تستعمل أشعة غاما في تعقيم:

- 1. المحاليل المائية
- 2. بالإضافة إلى أن بعض المواد الزجاجية أو البلاستيكية مثل متعدد رباعي فلورو ايتيلين PTFE، والبولي بروبيلين Polypropylene ا لمستعملة في التغليف أو في الأدوات الطبية يمكن أن تتخرّب بأشعة غاما

- ملاحظات:
- نقاس الأشعة المؤينة مثل أشعة غاما وأشعة x بواحدة قياس الجرعة الاشعاعية وتدعى غراي gray وتعكس كمية الطاقة التي أودعت في 1 كغ من الجسم الحي أو المادة أي: 1GY=1 Joul/K.gram
- تستخدم في بريطانيا جرعة اشعاع 25 كيلوغراي بينما تستعمل اقل في كندا والولايات المتحدة وبشكل عام تتراوح الجرعة بين 15-25 كيلو غراي
- الخلية الجرثومية مقاومة للتخرب بالاشعاع فالجرعة الكافية لتخريب خلية الانسان بحاجة 12 ثانية بينما تحتاج الخلية الجرثومية إلى 12 ساعة، لهذا وجب أخذ احتياطات كبيرة عند التعقيم بأشعة غاما.
- بشكل عام تعتمد الجرعة الممتصة على قوة المنبع وقد يصل مدة التعرض الى 20 ساعة

2- الأشعة فوق البنفسجية Ultra violet light

- المصدر: مصابيح الزئبق الذي يعطي طول موجة (256 nm)
- الاختراق: قدرتها على الاختراق ضعيفة للمواد الصلبة وجيدة في الماء والهواء.
- آلية التأثير: تهييج الذرات وتطفير الدنا الجرثومي، ولكن الجراثيم قادرة على إصلاح هذا الخلل إذا كان التعرّض لل UV غير كاف.
- لها تأثير مسرطن للخلايا البشرية
- استخداماتها: تستخدم لحفظ الماء والهواء ضمن المعمل الدوائي.

في حالات قليلة واستثنائية 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 ال UVومن ثم يجري اختبار العقامة فإذا كان ايجابيا تكمل المادة رحلتها إلى الشكل الصيدلاني، وإذا كان سلبيا يعاد تعقيمها ال UVوهكذا.

- **من مشاكل التعقيم بال UV :**

- 1. تتناقص فعالية المصباح الزئبقي مع الزمن لذلك لا بد من تغييره باستمرار ومنع تراكم الغبار عليه فالغبار مادة صلبة تحجب ال UV
- 2.يُمنع استخدامها مع HEPA filter، فالخلية الجرثومية تكون متحركة بتأثير تيارات الهواء وبالتالي لن تأخذ الوقت الكافي من التعرض ال UV (يتم العمل مع تشغيل HEPA filterللعمل بجو عقيم وبعد الانتهاء يتم تشغيل ال UV لحفظ العقامة بمستويين أفقي لتعقيم السطوح، وعمودي لتعقيم الجو، وفي اليوم التالي يجب تشغيل HEPA filterقبل إطفاء ال UVبخمس دقائق) .
- 3 - يُمنع استخدامها بوجود العامل البشري (لتأثيرها المسرطن).
- 4- بطيئة ويمكن للجراثيم أن تقاومها ما لم تطبق لفترة طويلة.
- المشعر الحيوي لل UV هي الأبواغ الفطرية وخاصةً أبواغ فطور الرشاشيات السوداء Aspergillus niger spores