جَـامعة
المَـنارة
MANARA UNIVERSITY

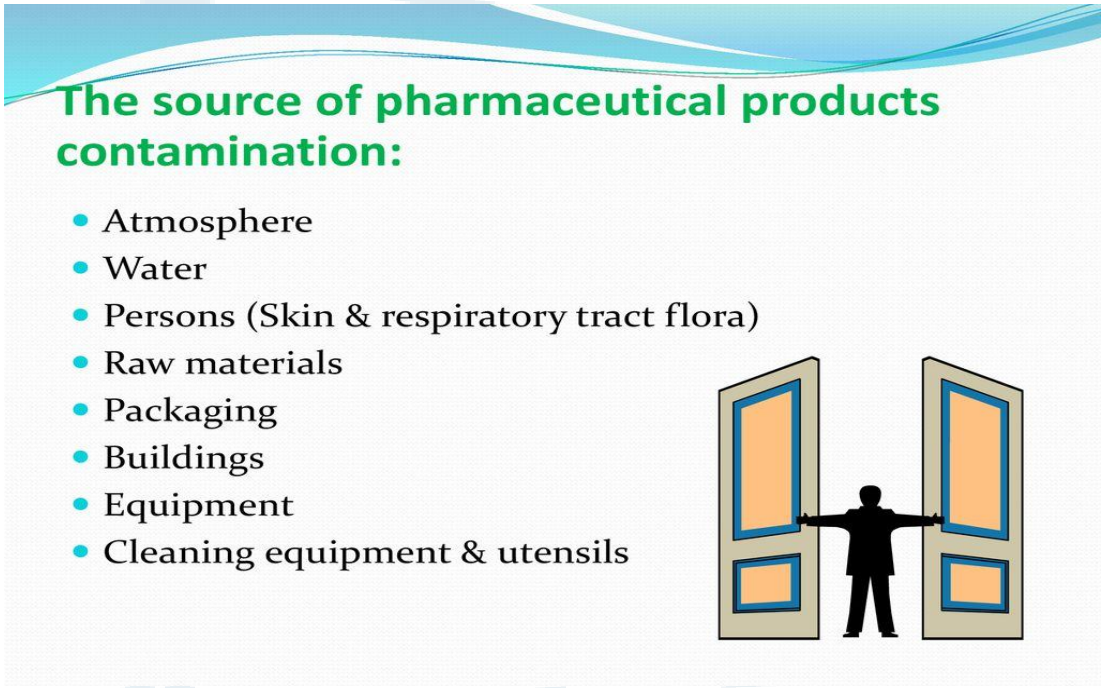
# علم الميكروبيولوجيا الصيدلانية

# Pharmaceutical Microbiology

MANARA UNIVERSITY

## المحاضرة الثانية

## مصادر التلوث الميكروبي للأشكال الصيدلانية (1)



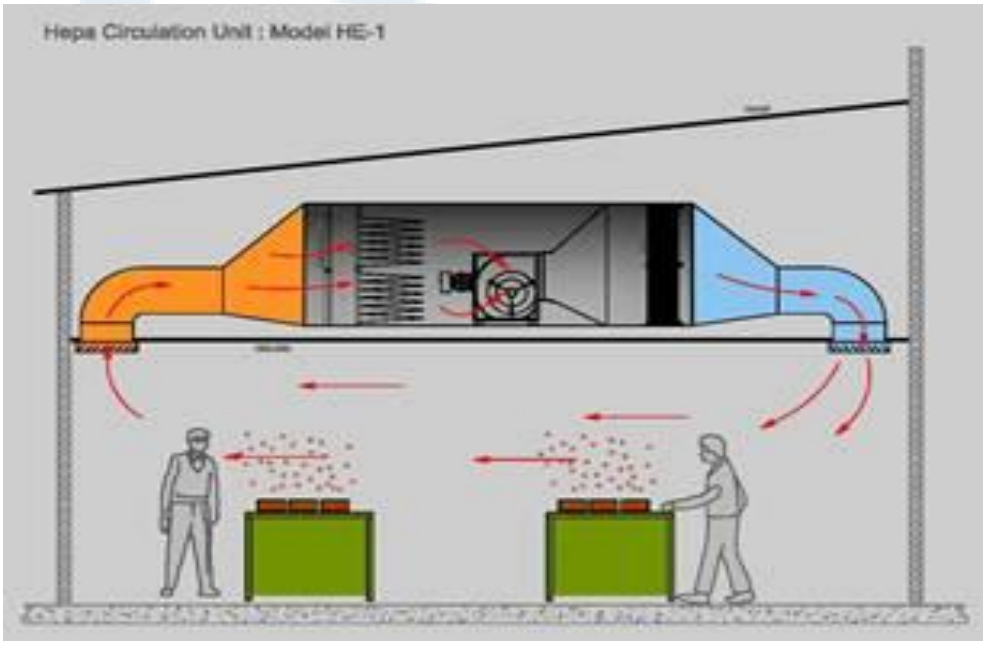

### الهواء كمصدر للتلوث في الصناعة الصيدلية

- ❑ يعتبر الهواء وسطاً فقيراً بالمواد المغذية اللازمة لنمو الأحياء الدقيقة.
- ❑ نسبة الرطوبة الموجودة في الهواء غير كافية لنمو الأحياء الدقيقة.
- ❑ بالرغم من ذلك تستطيع بعض الجراثيم أن تصمد ضمن الهواء لعدة أيام:
  - بالشكل الإعاشي: مثل الزوائف Pseudomonas والمتفطرات Mycobacterium.
  - بالأشكال المقاومة: الجراثيم المشكلة للأبواغ مثل العصويات Bacillus.

  الفطور الحاملة للأبواغ مثل الرشاشيات Aspergillus.
- ❑ تترسب الميكروبات المعلقة في الهواء بتأثير ثقلها ببطء على السطوح المختلفة.
- ❑ يتوقف معدل الترسب على:
  - ❖ التيارات الهوائية الناتجة عن التهوية.

- ❖ أنظمة إخراج الهواء.
- ❖ تيارات الحمل الحراري فوق منابع الحرارة.
- ❖ النشاط والحركة الموجودة في الغرفة.

- ❑ الميكروفلورا الموجودة على جلد العمال أهم مصدر للتلوث.
- ❑ وجود خلل في المراشح التي يمر من خلالها الهواء من خارج المعمل.




## طرق تنقية الهواء في معمل الأدوية:

### A. التعقيم بغسل الهواء بمحلول مطهر:

- ❖ تمرير تيار الهواء الداخل إلى منطقة العمل على محلول يحوي مادة مطهرة حيث يتم التخلص من Micro-Organisms (M.Os) وجميع العوالق.
- ❖ يتم استخدام رذاذ البروبيلين غليكول (0.02 – 0.05 mg/L) أو استخدام مركبات الأمونيوم الرباعية بتركيز 0.075%.
- ❖ طريقة غير عملية بسبب احتواء الهواء الناتج على نسبة عالية من الرطوبة والكلفة العالية للتخلص منها.

### B. التعقيم بالأشعة فوق البنفسجية:

- ❖ تستخدم أشعة UV (240 – 280 nm) في التعقيم ولكن غير كافية للقضاء على جميع الأحياء الدقيقة.
- ❖ تؤمن تطهير السطوح التي توجه عليها مباشرة. تستطيع اختراق الماء والهواء وبعض أنواع الزجاج.

❖ لمبات UV:

- اشعاع مباشر: يطبق في المناطق العقيمة خارج أوقات الدوام لتفادي خطر الأشعة على العمال، يساعد في إزالة الجراثيم عن طاولات العمل والأرضيات، الحفاظ على عقامة المناطق خارج أوقات الإنتاج.
- اشعاع غير مباشر: تأثيرها مقتصر على تخليص تيار الهواء من الجراثيم في منطقة العمل.

### C. التعقيم بالترشيح:

❖ أهم وأكثر الطرق المستخدمة في الصناعة الصيدلانية لتقليل الحمل البيولوجي للهواء.

❖ طريقة ميكانيكية تعتمد على إيقاف المتعضيات الدقيقة دون حدوث أي تغيرات كيميائية للجو المحيط.

❖ يمر الهواء على مراشح متعددة توضع ضمن جهاز تدفق الهواء الصفائحي Laminar Air Flow (LAF) وفق المرحل التالية:

a) **عملية ما قبل الترشيح Prefiltration:**

- يمرر الهواء على مراشح بدئية prefilter مصنوعة غالباً من الصوف الزجاجي (نسيج ألياف زجاجية دقيقة) أو القماش أو نسيج بلاستيكي.
- تخليص الهواء من العوالق والجزيئات الكبيرة (قش، غبار، ألياف، حشرات،.....).

b) **مرسب كهربائي Electrostatic preciptor:**

- تمرير الهواء على فرق كمون مما يكسب الأجزاء القابلة للشحن شحنة ما.
- تمرير الهواء على ألواح تحوي أقطاب موجبة وأقطاب سالبة لجذب الجزيئات المشحونة بشكل معاكس.

c) **HEPA filter (High Efficiency Particular Air filter):**

- تمرير الهواء عبر HEPA filter بسرعة 0.45 m\sec.
- التخلص من 99.97% من العوالق التي يزيد حجمها عن 0.3 ميكرون.

### مراشح الـ HEPA (High Efficiency Particular Air filter):

❑ مراشح جافة قابلة للتبديل توضع ضمن إطار صلب.

❑ يبلغ قطر مسام هذه المراشح 0.22 ميكرون.

❑ تلتصق الجزيئات على ألياف المراشح حسب الآليات التالية:

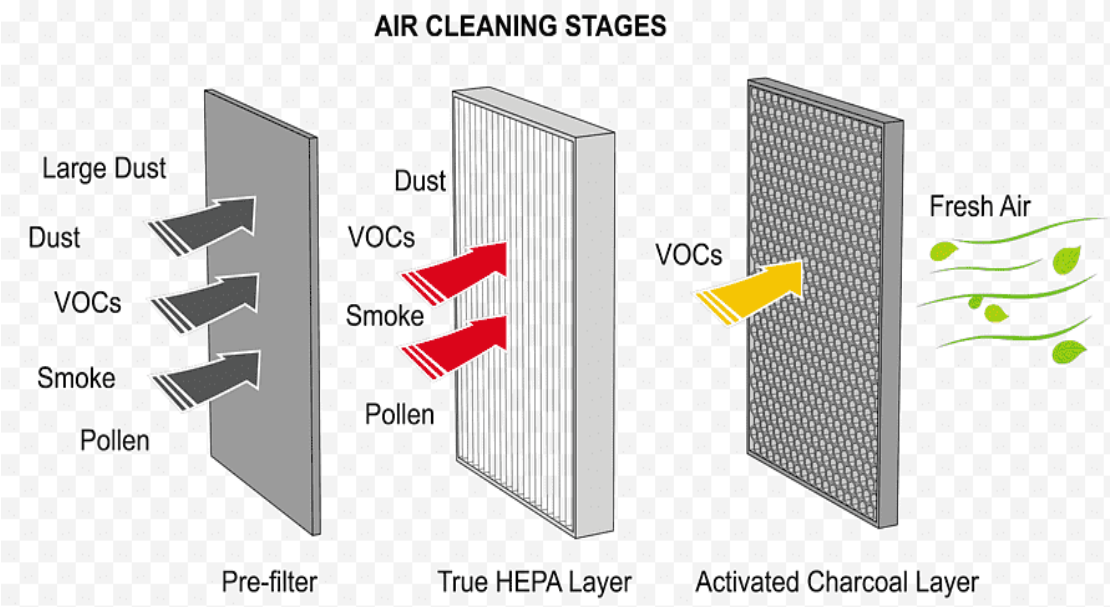
❖ الأبعاد حيث الجزيئات ذات الأبعاد الكبيرة لا تمر من الثقوب بين ألياف المرشحة.

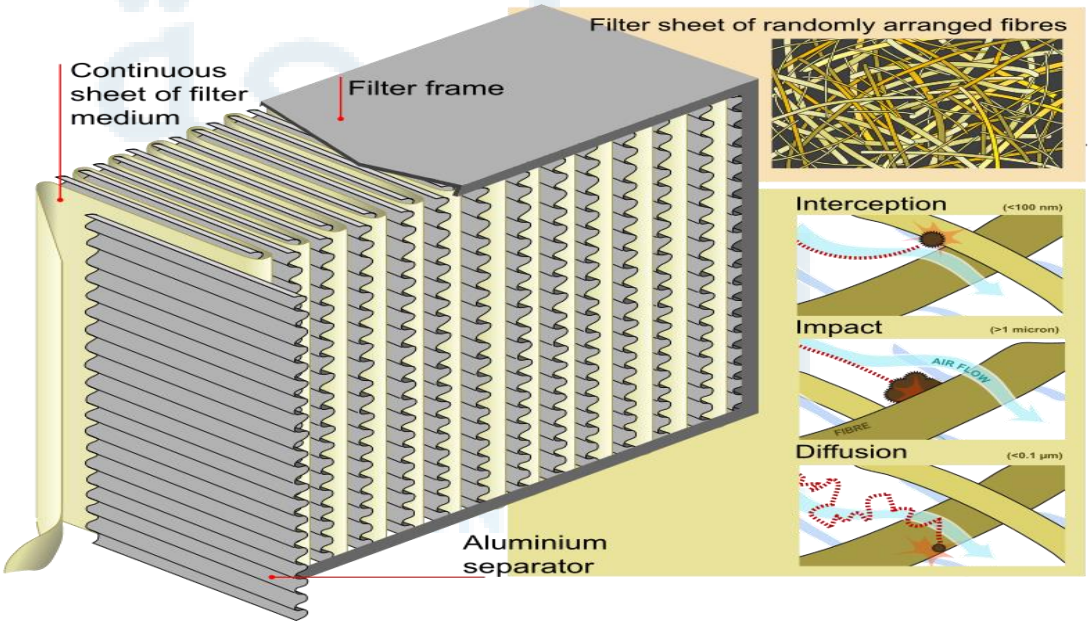
❖ اعتراض ألياف المرشحة للجزيئات التي تمر بسرعة محددة باتجاه واحد.

❖ تداخل وانحباس الجزيئات الكبيرة في ثنايا ألياف المراشح.

- ❖ وجود الجزيئات الأكبر يشكل عائقاً أمام الجزيئات الأصغر حجماً.
- ❖ لا تسمح هذه المراشح بمرور الجزيئات والميكروبات بحجم أكبر من 0.3 ميكرون وبفعالية 99.997% .

- ❑ تعد المناطق التي تعقم بهذه المراشح مناطق من الرتبة 100 (يجب ألا يزيد عدد الجزيئات في الجو المنقى بهذه المراشح عن 100 جزيئة في حجم معين من الهواء).
- ❑ يجب أن يتناسب حجم المرشحة مع حجم الغرفة المنقاة ليحقق النسبة المسموحة.

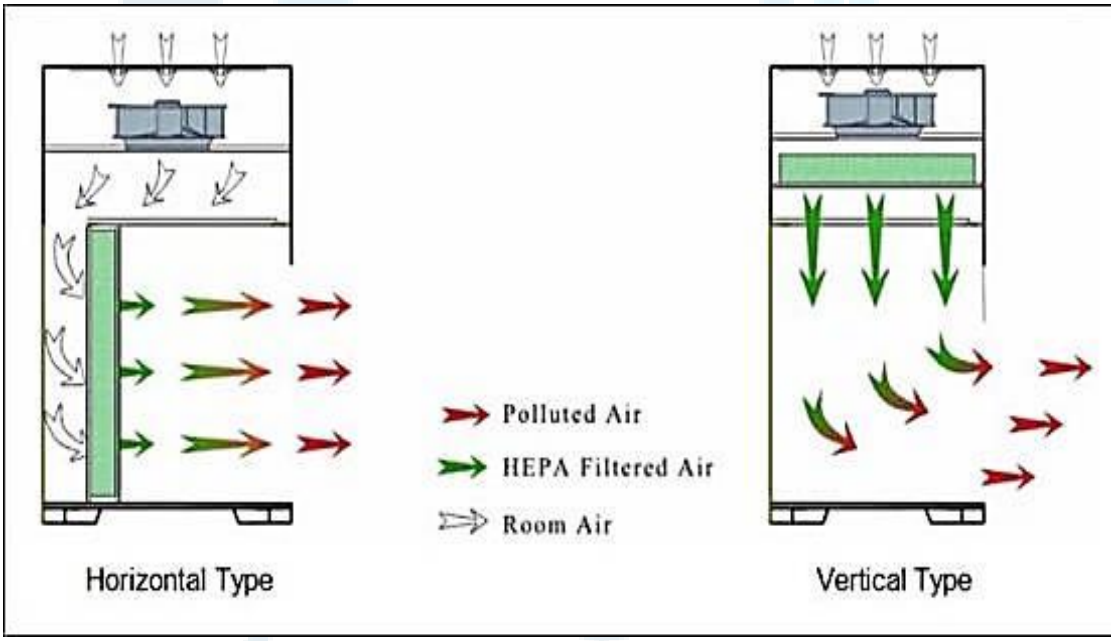


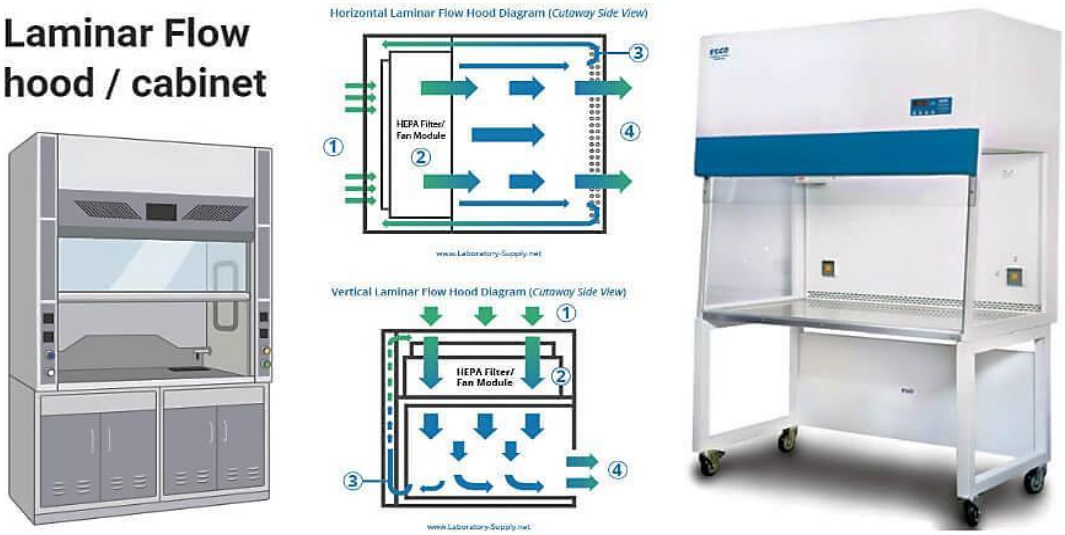



**أنواع الـ Laminar Air Flow (LAF):**

- يـتم اختيـار نـوع الجهـاز حسـب اتجـاه جريـان الهـواء المناسـب للغرفـة المنقـاة وذلـك تبعـاً للأشـكال الصيدلانية المصنعة والمواد الأولية المستخدمة ونوع العمل المنجز في المنطقة.
- هناك نوعان:
  A. الجهاز ذو الجريان الأفقي.
  B. الجهاز ذو الجريان العمودي.
- العمل في الجهاز الأفقي دقيق وحرج خاصة عند التعامل مع مواد ملوثة أو حساسة حيث يتم نثر المواد في وجه العمال.
- ينظف الجو في أقسام تصنيع المواد والأشكال الصيدلانية الحشوية وخطوط التعبئة باستعمال الجهاز العمودي.

اختبار الـ DOP (Dispersed Oil Particulate): اختبار لفعالية مراشح الـ HEPA ويتم باستعمال جزيئات ذات أبعاد دقيقة ومعلومة من NaCl أو DOP دي أوكتيل فتالات (وهو غاز آمن وليس سام ولا يؤثر على طبيعة المراشح)، تذر في الهواء ومن ثم يكشف عن وجود هذه الجزيئات في الهواء الخارج من المرشحة أو مرور جزيئات دخان دي أوكتيل فتالات من المرشحة.






## ملاحظات هامة:

- ❑ لا يمكن استخدام لمبات الـ UV في نفس الوقت أثناء التعقيم بمراشح الـ HEPA وذلك لأن:
  - سرعة الهواء الداخل عبر المراشح كبيرة فهو يكنس كل الملوثات عن السطوح التي يصادفها ولا يسمح للمتعضيات البقاء ساكنة فترة كافية لتعقيمها بـ UV .
  - أشعة الـ UV تنتقل وفق خطوط مستقيمة لذا وجود أي عائق في طريقها يترك خلفه منطقة ظليلة دون تعقيم، وبوجود تيار هواء متدفق من المراشح قد يؤدي إلى انتشار الجزيئات والدقائق في الجو مما يمنع من بقاء الأشعة وفق خطوطها المستقيمة.
  - سرعة الهواء المتدفق من هذه المراشح عالية مقارنة مع التأثير القاتل أو المثبط لأشعة الـ UV للجراثيم الموجودة داخل الهواء.

### D. التعقيم بالغاز:

- ❑ يتم تعقيم جو المعمل أحياناً باستخدام الغاز (أكسيد الإيتلين، الفورم ألدهيد، غاز الأوزون).
- ❑ تؤثر هذه الغازات على الـ M.Os بألكلة المجموعات السلفادريلية والأمين والهيدروكسيل على البروتينات وكذلك على مجموعة الأمينو للحموض النووية (تفاعلات ألكلة).
- ❑ استخدام الغاز في التعقيم يبقى محدود للأسباب التالية:
  - يحتاج التعقيم بالغاز لفترة زمنية طويلة للحصول على نتائج جيدة.
  - إمكانية إحداث الطفرات عند الأشخاص العاملين وحدوث السرطانات.
  - أعراض سمية تنتج من تخريش الجلد والأغشية المخاطية والملتحمة.
  - تحتاج تدابير صارمة لمراقبة تراكيز الغاز في الجو مع اتخاذ إجراءات الحماية للأشخاص والعمال المتواجدين في المكان.

**ملاحظة هامة:**

**بعد تعقيم الهواء داخل المنطقة للحفاظ على عقامته يطبق ضغط مرتفع بحيث يمنع دخول هواء من خارج المنطقة إلى داخلها خلال عمليات فتح الأبواب والمنافذ الأخرى.**

## تصنيف الهواء الناتج عن عملية الفلترة:

- يصنف الهواء إلى أربع درجات وتختلف طريقة التسمية بين البلدان:

| | | | |
|---|---|---|---|
| الدرجة الأولى | Class A | Class 100 | ISO 5 |
| الدرجة الثانية | Class B | Class 1000 | ISO 6 |
| الدرجة الثالثة | Class C | Class 10000 | ISO 7 |
| الدرجة الرابعة | Class D | Class 100000 | ISO 8 |

## الحدود الدستورية المسموح بها لتواجد الجزيئات والميكروبات في الهواء:

| الدرجة | عدد الجزيئات / $m^3$ وأبعادها أقل من 0.5 ميكرون (Purity) | الحدود الجرثومية $CFU/m^3$ (Sterility) |
|---|---|---|
| Class A = 100 | 3520 | <1 |
| Class B = 1000 | 35,200 | 10 |
| Class C = 10000 | 352,000 | 100 |
| Class D = 100000 | 3,520,000 | 200 |

## أهم الميكروبات المحمولة في الهواء:

- ❑ *Bacillus spp.*
- ❑ *Micrococcus spp.*
- ❑ *Staphylococcus spp.*
- ❑ *Aspergillus spp.*
- ❑ *Penicillin spp.*
- ❑ *Corynebacterium spp.*

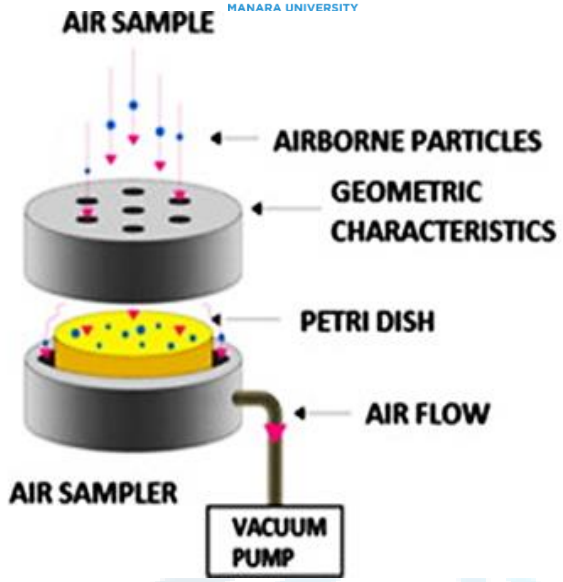
## مراقبة المحتوى الجرثومي للهواء أو جو العمل:

### I. الطرق الكيفية:

- ❑ تعطي فكرة عن الكتلة الحيوية الملوثة للجو المحيط.
- ❑ أهم الطرق المستخدمة هي **أطباق الترقيد Settling plates**:
  - تتم بتعريض عدد من أطباق البتري الحاوية على وسط مغذ للهواء لفترة محددة من الزمن بعيداً عن تيارات الهواء.
  - استخدام أوساط مغذية عامة للجراثيم الهوائية واللاهوائية والفطور.
  - درجة حرارة الحضن للجراثيم 30 أو 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة وللفطور 20 ± 2.5 درجة حتى 7 أيام.
  - قراءة النتائج تعتمد على قياس تبدل المحتوى الجرثومي على عدة أيام.
- ❑ ميزاتها: سهلة التطبيق وسريعة وقليلة التكلفة.
- ❑ عيوبها: تكشف فقط الجراثيم التي ترقد على السطح في حين تبقى العالقة مجهولة، كما أن تيار الهواء السريع الناتج عن مراشح HEPA قد لا يسمح للجراثيم أن ترقد على السطح وقد تؤدي إلى جفافها.

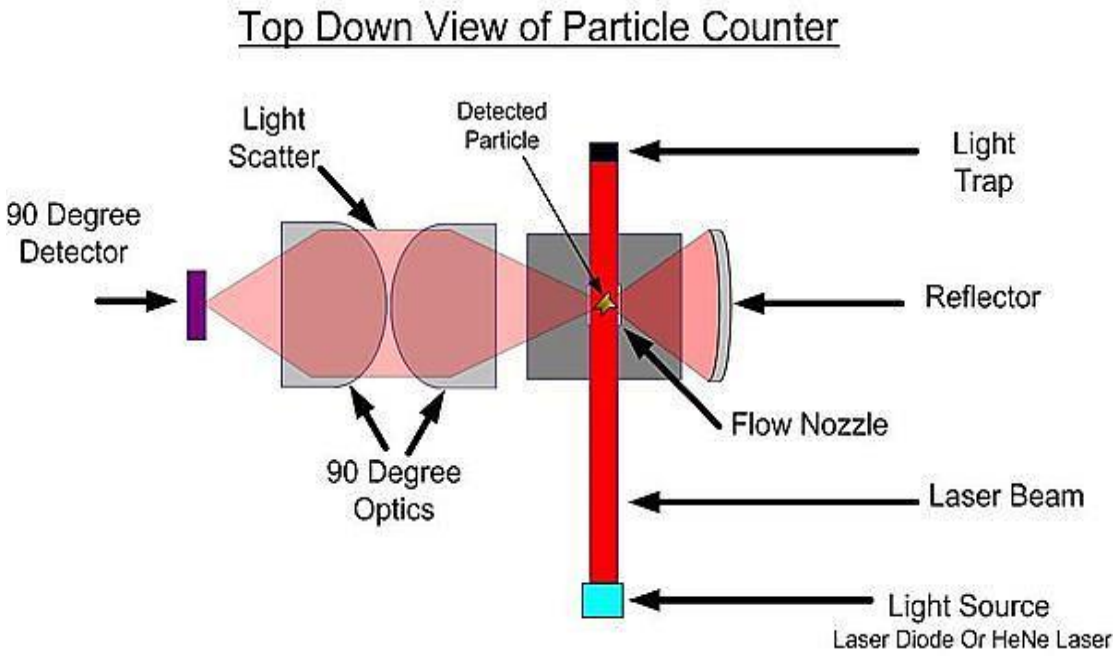
### II. الطرق الكمية:

- ❑ طرق لقياس التعداد الجرثومي في حجم محدد من الهواء (أكثر من متر مكعب) باستخدام مخلية هواء Air sampling machine.
- ❑ تسمح دساتير الأدوية والقوانين الناظمة لعملية التصنيع النظيف (غير العقيم) بوجود حد أعظمي من الجراثيم يختلف باختلاف المنطقة أو القسم من المعمل الدوائي.
- ❑ من أهم الطرق الكمية المستخدمة:
  - ❖ عدد الجزيئات الإلكتروني Electronic particle counter.
  - ❖ جهاز STA (Slit-to-agar).
  - ❖ جهاز الطرد المركزي Centrifugal sampler.
  - ❖ جهاز Open-faced filter holder.
  - ❖ طريقة غسل عينة الهواء.




❖ **عدد الجزيئات الإلكتروني Electronic particle counter:**

- يعتمد في مبدئه على قياس شدة الضوء المبعثر أو المنتشر جراء اصطدام شعاع ضوئي بالجزيئات الموجودة في الهواء.
- تمتاز بالسرعة في معرفة عدد الجزيئات وحجمها مباشرة.
- لا تميز بين الجزيئات الحية وغير الحية والدقائق الموجودة في الهواء وبالتالي غير كافية ودقيقة لتحديد المحتوى الجرثومي للهواء أو الجو المحيط.
- تستخدم في مراقبة الجو في المناطق المعقمة بـ LAF.



❖ **جهاز STA (Slit-to-agar):**

- يقيس عدد الجراثيم الحية الموجودة في عينة معلومة الحجم من الهواء.
- يتم شفط عينة هواء معلومة الحجم بمخلية بحيث تمر خلال عبورها من فتحة ضيقة على سطح وسط من الأغار المغذي(يتحرك حركة دائرية منتظمة) الذي يلتقط كل الجراثيم والجزيئات العالقة الموجودة في عينة الهواء.
- تنمو الجراثيم الملوثة بعد الحضن بشروط مناسبة مشكلة مستعمرات ترى بالعين المجردة (قابلة للعد).

❖ **جهاز الطرد المركزي Centrifugal sampler:**

- يتم دفع عينة من الهواء بمروحة تقذف الملوثات الموجودة في عينة معلومة الحجم من الهواء بفعل الطرد المركزي على شريط من الآغار المغذي الثابت حيث تلتصق عليه هذه المتعضيات الدقيقة حيث تشكل بعد الحضن مستعمرات يمكن عدها.
- يتميز هذا الجهاز بسهولة التنظيف والتعقيم وقابلية الحمل وإمكانية العمل يدوياً إن دعت الحاجة.
- طريقة كمية بحتة.

❖ جهاز Open-faced filter holder:

- يقيس هذا الجهاز الجزيئات الملوثة الحية وغير الحية.
- تمرر عينة الهواء بواسطة مخلية على مرشحة ثم يوضع محتوى المرشحة على صفيحة وفحصها تحت المجهر معرفة عدد الجزيئات الملوثة بشكل عام.
- لمعرفة عدد الجزيئات الحية يتم زرع محتوى المرشحة على وسط مغذي وعد المستعمرات بعد الزرع.

❖ طريقة غسل عينة الهواء:

- تعتمد على غسل حجم معين من الهواء وتخليصه من الجزيئات العالقة من خلال تمريره بواسطة مخلية عبر وسط سائل من المرق المغذي أو المصل الفيزيولوجي.
- يرشح الوسط السائل عبر غشاء الترشيح ثم يزرع الغشاء على وسط صلب حتى تعد المستعمرات الجرثومية.

## شروط أخذ عينة الهواء المدروسة

### I. مكان أخذ العينة:

- ❑ موضع التعبئة.
- ❑ مناطق تبديل ملابس العمال.
- ❑ منطقة دخول وخروج العمال إلى قسم التعبئة.
- ❑ جميع المنافذ الداخلة والخارجة من المنطقة العقيمة عبر الجدران.
- ❑ قرب أجهزة التهوية أو أي منطقة ذات خطورة عالية للتلوث بالمتعضيات الدقيقة.

### II. حجم العينة:

- ❑ يجب أن يكون حجم العينة كبير وكاف بحيث يعطي فكرة عن عدد الجزيئات القابلة للكشف وخاصة في المناطق التي يتوقع عدد الملوثات فيها قليل كما في المناطق ذات الرتبة 100 يجب ألا يقل حجم العينة عن 30 قدم مكعب وربما اكثر.
- ❑ كلما كان مكان أخذ العينة أكثر خطورة يزداد حجم العينة المأخوذة وكذلك تزداد تكرارية القياس.

## تلوث سطوح العمل

تعتبر السطوح مصدر من مصادر التلوث في المعامل الدوائية. ولمراقبة السطوح وقياس المحتوى الجرثومي لها هناك طريقتان:

I. **طرق كيفية:**

- ❑ تتم بأخذ عينة من السطوح بدون تحديد مساحة معينة بواسطة ماسحة قطنية swab ومن ثم زراعتها على وسط ملائم.
- ❑ تعتبر النتيجة إيجابية في حال ظهور أي نمو جرثومي.

II. **طرق كمية:**

A. استعمال ماسحة قطنية حيث تؤخذ من مساحة محددة ومن ثم تغسل بوسط سائل عقيم أو مصل فيزيولوجي عقيم بهدف تفريغ كامل محتواها من الجراثيم ومن ثم ترشيح الوسط وزراعة المرشحة على وسط صلب مغذي ملائم.

B. استعمال وسط صلب مغذي لدن محدب أو ما يدعى Rodac plates حيث يتم التقاط الجراثيم الموجودة على السطوح المختلفة بواسطة الطبق مباشرة.

نهاية المحاضرة الثانية



https://manara.edu.sy/