الفصل الرابع

طريقة عمل وديناميكية المطهرات

obeikandl.com

طريقة عمل المطهرات الكيماوية

إن المطهرات الكيماوية عند استخدامها في التطهير يحدث تفاعل كيماوى بينها وبين مكونات الميكروب مؤدية إلي قتله نتيجة لإحدى الطرق التالية:

١- التغيرات الأوزموزية (التناصحية) (osmotic changes)

إما بالأماهة أي بإندفاع الماء إلي داخل الخلية الميكروبية وإنفجارها (Hydration) بواسطة المحلول المخفف، أو بالانكاز سحب الماء من داخل خلية الميكروب مما يؤدى إلي انكماشه وتدميره (Dehydration) بواسطة المحلول الملحي المركز أو الكحول والتي ينتج من استخدامها سحب الماء من الخلية الجرثومية مما يؤدى إلي تخثر المادة البروتينة وعدم قدرتها على النمو والانقسام كما يحدث في حفظ الجلود بنقعها في محلول مركز من ملح الطعام أو حفظ الفاكهة بوضعها في محلول مركز من السكر.

٢- ترسيب أوتخثر أوتكسير محتويات الخلية الجرثومية من البروتين

(precipitation, disintegration or coagulation of protein granules of the germ cell)

كما يحدث عند استعمال كلوريد الزئبق (Mercuric chloride) أو مركبات الفينول (Phenol compounds) والكريزول ومشتقاته Compoun solution of cresol) ومشتقات الكحول والحوامض.

٣- التأثر التحللى على الخلية الجرثومية (Lytic action of the germ cell)

حيث تعمل المطهرات على إذابة الجدار الخارجي للخلية الجرثومية وعدم قدرتها على النمو والانقسام ومن المطهرات التي لها مثل هذا التأثير كل من القواعد المركزة (Concentrated Alkalies) مثل هيدروكسيد الصوديوم وكاربونات الصوديوم والأحماض المركزة.

٤- اكسدة المواد العضوية في الخلية الجرثومية

مثل ذلك محلول برمنجنات البوتاسيوم ومركبات الكلورين Chlorine Compounds وبيروكسيد الهيدروجين (Hydrogen peroxide) وكلها تؤكسد المواد العضوية في الخلية الجرثومية نتيجة تصاعد الأوكسجين الطرى أو الذرى (Nascent oxygen) والذي له قابلية قوية على تحطيم الجراثيم أو حرقها.

٥- انتشار المطهرات في الماء " الاليكتروليات" (Electrolytes)

الاليكتوليات عبارة عن مواد كيماوية تنقسم في المحلول المائي إلي جزئين الجزء الموجب كهربائياً (Electrically positive fraction) والجزء السالب كهربائياً (Electrically negative fraction) وأي عدد من هذه الأيونات- أو بمعني آخر درجة انتشارها- هي التي تحدد تأثير المطهر حيث يتحد كل جزء من المطهر مع جزء آخر داخل الخلية الجرثومية وينتج من مثل هذا الاتحاد تحلل البروتين البروتوبلازمي في الخلية.

إن كل التأثيرات التي تتدخل في هذا الانتشار تعمل على تأخير التأثير التطهيرى وبلاحظ هذا عند إذابة اليكتروليتي كهيدروكسيد الصوديوم في مذيب آخر غير الماء كالزيت والذي يكون فيه الانتشار أقل نشاطاً مما هو عليه في الماء مما يجعله أقل كفاءة كمطهر وكذلك عند إذابة الفينول في الماء يكون من المطهرات القوية بينما يكون في الزيت أو الجلسرين (Glycerine) ذا تأثير ضعيف أو عديم التأثير. وهذا يوضح كون المحاليل الزيتية أو الكحولية للمطهرات الألكتروليتية أقل تاثيراً كمطهرات من المحاليل المائية لنفس المطهرات.

إن التركيب الذرى لجزيئات المطهر تؤثر تأثيراً واضحاً على صفاته فمن حيث عدد ذرات الكربون نجد أن الكحول الأميلي $C_5H_{11}OH$ يكون أكثر تأثيراً كمطهر عند الكحول الأثيلي C_5H_5OH والذي يكون أكثر تأثيراً كمطهر من الكحول المثيلى CH_3OH.

ومن حيث ترتيب ذرات الكربون نجد أن هناك ثلاث ايزميرات (Isomers) من الكريزول نسبة إلي ترتيب مجموعة CH_3 وهي باراكريزول (Paracresol) والذي له قوة تطهيرية أكثر من الميتاكريزول (Metacresol).

العوامل التي تؤثر على ديناميكية التطهير

١- سرعة التفاعل Reaction Velocity

في التفاعلات الأحادية يكون أحد المواد المتفاعلة هو المتغير، ومعدل هذا التغير الحادث يتناسب مع تركيزه، وسرع هذا التغير يخضع لقانون الكتلة الفعالة " Law of mass action " وهو يعتمد على تركيز المادة المتغيرة في أي زمن من زمن التفاعل ودرجة الحرارة مع ثبات الظروف الأخرى.

فلو فرض أن (أ) يرمز للكمية الأصلية لهذه المادة المتغيرة في زمن قدره ت وأن السرعة (س)، ك تمثل التغير في كتلة المادة المتغيرة.

فإن المادة المتبقية تكون = أ – ك بعد زمن قدره ت

ومعادلة التفاعل هي:

سرعة التفاعل (س) = $\frac{١}{ت}$ لو $\frac{\quad}{ا - ك}$

٢- تركيز المطهر

العلاقة بين تركيز المطهر والزمن المطلوب للتطهير علاقة مركبة وهي "exponemtial" تصاعدية وهي تختلف من مطهر لآخر. بمعني أن ضعف التركيز لا ينقص الزمن المطلوب للتطهير إلي النصف كما يتبادر إلي الذهن ولكنه يخضع للمعادلة الآتية:

$ر^{ن}$ ت = ثابت

حيث ر: التركيز.

ن: ثابت (وهو يختلف من مطهر لآخر)

ت: الزمن المطلوب للتطهير (زمن التفاعل)

ن لو ر + لو ت = ثابت.

ولتعيين " ن " يجب قياس الآتي:

- يجب تعيين الزمن الذي عنده يحدث تغيير في معدل موت البكتريا القياسية عند مستويين مختلفين من التركيز للمطهر المختبر.

obeikandl.com

فلـو فـرض أن ر١، ر٢ يمـثلان تركيـزين مختلفـين، ت ١، ت٢ يمـثلان الـزمن الـلازم لتساوى عدد البكتريا في التركيزين.

بمعني رن١ ت١ = رن٢ ت٢

فإن معامل التخفيف " ن " dilution coefficient.

يمكن حسابه كالآتي:

$$ن = \frac{لوت_{١} - لوت_{٢}}{لو ر_{١} - لو ر_{٢}}$$

والجدول التالي يوضح معامل التخفيف للمطهرات المختلفة.

المطهر	قيمة ن	الزمن المطلوب × عندما يتناقص التركيز إلي:	
		النصف	الثلث
الفينول	٦	٢ ٦ (× ٦٤)	٣ ٦ (× ٧٢٩)
كلورهيكسيدين	٢	×٤	×٩
مركبات الزئبق	١	× ٢	× ٣
الأمونيا الرباعية	١	× ٢	× ٣
فورمالدهيد	١	× ٢	× ٣
الكحول	١٠	٢٠ ١٠ (× ١٠٢٤)	٣ ١٠ (×٥٩٠٠٠)

obeikandl.com

درجة الحرارة

يزداد نشاط وفاعلية المطهر عندما تزداد درجة الحرارة ولكل مطهر معامل حرارة معين Temperature Cofficent أي إن عند زيادة درجة الحرارة بمتوالية عددية تزداد سرعة التفاعل متوالية هندسية.

معامل الحرارة Q

k2 = (ت٢ – ت١) Q

زمن١

أو Q (ت ٢ – ت١) = ـ

زمن٢

بمعني أن K1، k2 معدل السرعة في التفاعل وهو معدل ثابت عند درجة حرارة ت٢، ت١ وهو الزمن الذي يحدث عنده قتل لكل البكتريا عند درجة حرارة ت٢، ت١.

تعريف معامل الحرارة Q

تأثير الحرارة عند زيادتها ١٠ درجات مئوية وقيمته غالباً تنحصر بين ١، ١/٢ ٢ ويمكن كتابته بصورتين:

- Q^{10}
- Q_{10}

وهو يعبر عن التغير في نشاط المطهر لكل ١٠ درجات مئوية زيادة في درجة حرارة التفاعل.

obeikandi.com

المطهر	قيمة معامل الحرارة Q^{10} (مقدار الزيادة في النشاط)
الفينول	٣ – ٥ مرات
الفورمالدهيد	١.٥ مرات
الكحول	٣٠ – ٤٠ مرات

بمعني أنه عند رفع درجة حرارة التفاعل عندما يستخدم الفينول في التطهير ١٠ درجات مئوية يزداد نشاطه بمقدار ٣ – ٥ مرات.

obeikandl.com

كيفية تقييم كفاءة المطهر

الاختبارات التي تستخدم لتقدير كفاءة المطهر يمكن أن تقسم بعدة طرق مثل:

(أ) حسب نوع الميكروب المستخدم لتقدير كفاءة المطهر.

(ب) حسب الهدف أو فكرة التقدير (جـ) طريقة ومكونات الاختبار.

فالاختبارات التي تجرى لتقدير الكفاءة ضد الفيروسات (كمطهر فيروسي) تسمي اختبارات المطهرات المبيدة للفيروسات "Virucidal test "

كذلك طريقة تقسيمها حسب الطريقة ومكونات الاختبار. فإذا كان الميكروب يستخدم بهدف تقدير كفاءة المطهر– يوضع في بيئة مائية أو معلق " Suspensiontest" أما إذا تم تجفيفه على حامل (مثل غطاء شريحة زجاجية) carrier فيسمي اختبار باستخدام حامل " carrier test" أما إذا كان الاختبار يعتمد على مدى قدرة المطهر لقتل أعداد من الميكروب فيسمي سعة المطهر (capacity test) (قدرته على عدم التأثر بالأعداد الكبيرة من الميكروبات).

أما إذا اختبر المطهي في الحقل (بأخذ عينات لمحاولة عزل الميكروبات المرضية بعد التطهير) فتسمي "in- use test " (للتقدير أو الاختبار عند الاستعمال (أو اختبار الاستعمال في موضعه).

معامل الفينول

يستخدم معامل الفينول لتقدير كفاءة الفينول ومشتقاته

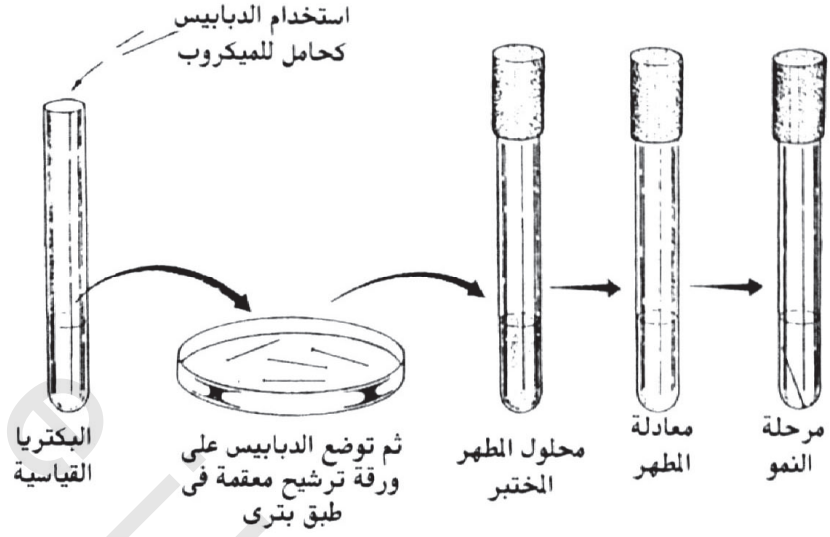
أما المركبات غير الفينولية فيستخدم اختيار " لاستعمال Use- dilution test"

اختبار تشيك مارتن Chick-Martin

ادخل هذا الاختيار عام ١٩٨٠ بواسطة تشيك ومارتن Chick-Martinبعد تعديل اختيار معامل الفنيول في وجهتين هما:

- استخدام مادة عضوية في الاختبار وهي ٣% براز آدمي جاف أو ٥% خميرة جافة (أنظر صفحة ٤٦).
- زمن تعرض ميكروب الاختبار (Salm typhi) لأثر المطهر ازداد إلي ٣٠ دقيقة وهي أكثر دقة عن اختيار معالم الفينول ويستخدم هذا الاختبار أيضاً للفينول ومشتقاته.

اختبار الاستعمال (The use- dilution method)



شكل (١٥) اختبار الاستعمال

ويستخدم في هذا الاختبار مراود زجاجية صغيرة. أو دبابيس ثم تبلل بالمحلول القياسي الذي يحتوى على ميكروب الاختبار ثم تجفف بطريقة خاصة لمدة ٣٠ دقيقة.

ثم تعرض هذه المراود على محاليل المطهر (عدة تركيزات) عند درجة ٢٠ْ م لمدد ١، ٥، ١٠ و ٣٠ دقيقة ثم تزال من المحلول المطهر. يشطف بالماء المقطر المعقم ثم ينقل إلي بيئات سائلة معقمة.

وتحضن في الحضانة عند درجة ٣٧ْ م لمدة ٤٨ ساعة ثم تفحص لتسجيل نمو الميكروب في البيئة ويسجل أقل تركيز من المحلول المطهر الذي له القدرة على قتل ميكروب الاختبار بعد ١٠ دقائق من التعرض للمطهر.

معامل الفينول لتقدير كفاءة المطهرات Phenol-coefficient

إن كفاءة المطهرات وقدرتها على قتل الميكروبات يعبر عنها بما يسمي بمعامل الفينول، وهو ما يدل على قوة المطهر في قتل الميكروبات مقارنة بقوة الفينول النقى على قتل نفس الميكروبات.

وهناك عدة تجارة مختبرية لتعيين معامل الفينول للمطهرات الكيماوية من أهمها وأكثرها استخداما اختبار ريديال ووكر (Rideal-walker) لتقدير كفاءة المطهرات الفينولية (Phenolic disinfectants) وقد يستخدم أيضا لتقدير كفاءة الأنواع الأخرى من المطهرات.

openkanal.com

لإجراء الاختبار يجب أن تتم عملية المقارنة تحت ظروف واحدة ويقرر معامل الفينول للمطهر المستخدم بعد إجراء التجربة أكثر من مرة للتأكيد.

(أ) المواد المستخدمة في التجربة

* عروة بلاتين عيارية (Standard platinum loop) ذات قطر داخلي ٠.٤ ملم.

* ماصة مدرجة عيارية (Standard dropping pipette) ذات سعة ١ سم٣.

* حمام مائي درجة حرارته ١٨ – ٢٠م.

* مرق غذائي معقم (Sterilized nutrient broth) يوزع في أنابيب اختبار تحوى كل منها ٥سم٣ ويعاد تعقيمه بالأنابيب مرة أخرى وتوزع الأنابيب في ٨ مجموعات تحتوى كل منها على م أنابيب.

* ميكروب سالمونيلا تيفوذا (Culture of Salmonella typhosa) والمخض لمدة ٢٤ ساعة فقط وعند درجة حرارة ٣٧م.

* فينول نقى (Pure phenol) يحضر من محلول ٥% (W/V) أي ٥ جرام في ٩٥سم٣ ماء مقطر ويحضر منه التركيزات التالية في الماء المقطر ١: ٩٠، ١: ٩٥، ١: ١٠٠، ١: ١٠٥، أ: ١١٠.

* المطهر المراد تقدير كفاءته التطهيرية (Unknown disinfectant) ويحضر من خمس تركيزات تسلسلية serial dilution ١: ١٠٠، ١: ٢٠٠، ١: ٣٠٠، ١: ٤٠٠، ١:٥٠٠ وذلك بعد رجه جيدا لضمان مزجه.

(ب) الطريقة (شكل ١٦)

١- يضاف إلي أنابيب الاختبار المحتوى كل منها على ٥سم٣ من التركيزات المختلفة للمطهر ٠.٢ سم من مستحلب المستعمرات النقية لميكروب السالمونيلا تيفوذا والمحضنة لمدة ٢٤ ساعة فقط على درجة ٣٧م على أن يتم حقن كل تركيز من المطهر بعد ٢/١ دقيقة من حقن التركيز السابق له وتوضع كل الأنابيب المحتوية على المطهر والميكروب في حمام مائي درجة حرارته ١٨ – ٢٠م.

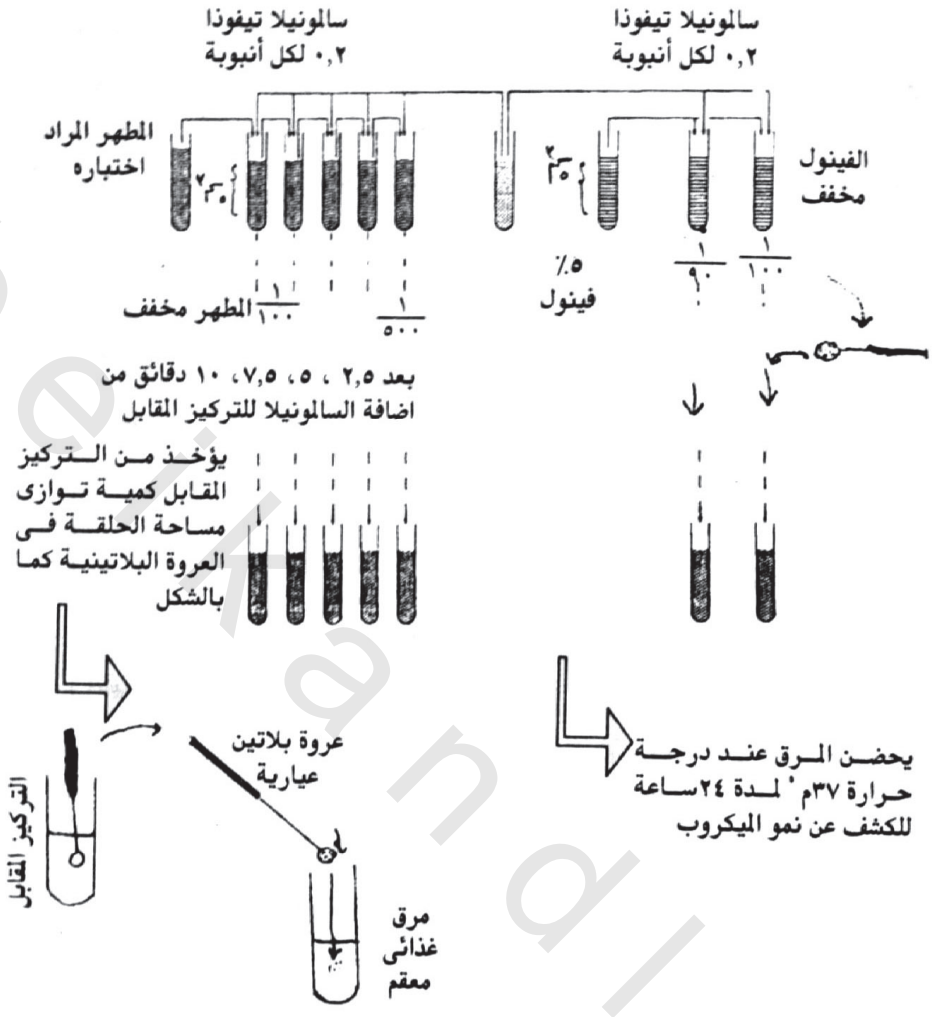
٢- بعد ٢/١ ٢ دقيقة من إضافة الميكروب إلي أول تركيز للمطهر (أي بعد ٢/١ دقيقة من إضافة الميكروب إلي آخر تركيز للمطهر) يتم حقن أنابيب الاختبار المحتوية على المرق الغذائي المعقم (المجموعة الأولي) كل منها من التركيز المقابل لها من المطهر المحقون بالميكروب أي يتم حقن كل أنابيب المرق الغذائي في هذه المجموعة بعد ٢ دقيقة ونصف دقيقة من إضافة الميكروب للتركيز المقابل من المطهر.

- تكرر نفس العملية بعد ٥ دقائق من إضافة الميكروب إلي أول تركيز للمطهر مع أنابيب الاختبار المحتوية على المرق الغذائي المعقم في المجموعة الثانية أي يتم حقن الأنابيب لهذه المجموعة بعد ٥ دقائق من إضافة الميكروب للتركيز المقابل للمطهر.
- تكرر نفس العملية السابقة مع أنابيب الاختبار المحتوية على المرق الغذائي المعقم في المجموعة الثالثة والرابعة أي يتم حقن أنابيب المجموعة الثالثة بعد ٧ دقائق ونصف من إضافة الميكروب للتركيز المقابل من المطهر وأنابيب المجموعة الرابعة بعد ١٠ دقائق من إضافة الميكروب إلي التركيز المقابل من المطهر.

٣- تكرر الخطوات السابقة (١،٢) مع التركيزات المستخدمة من الفينول النقى بدلا من المطهر وتحت نفس الظروف السابقة.

٤- تحضن جميع أنابيب الاختبار المحتوية على المرق الغذائي والمحقونة مع خليط المطهر مع الميكروب أو الفينول مع الميكروب لمدة ٢٤ ساعة وفي درجة حرارة ٣٧م.

obeikandi.com



شكل (١٦)
طريقة اجراء معامل الفينول
لمقارنة المطهر المراد معرفة قوته التطهرية
بالمقارنة بالفينول

٥- لتعيين معامل الفينول للمطهر المستخدم يقارن تركيز المطهر الذي أعطي نتائج إيجابية " نمو الميكروب " في ٢ ونصف، ٥ دقيقة ونتائج سلبي (عدم نمو الميكروب في ٧ ونصف دقيقة مع تركيز الفينول الذي أعطي نفس النتائج الإيجابية في ٧ ونصف، ١٠ دقيقة مع تركيز الفينول الذي أعطي نفس النتائج الإيجابية في ٢ ونصف، ٥ دقيقة ونتائج سلبية في ٧ ونصف، ١٠ دقيقة كما هو مبين بالجدول التالي:

جدول يوضح كيفية تعيين معامل الفينول لمطهر ما

التركيزات		الوقت بالدقيقة			
المطهر		٢	٢/١ ٥	٢/١ ٧	١٠
	١: ١٠٠	-	-	-	-
	١: ٢٠٠	+	-	-	-
	١: ٣٠٠	+	+	-	-
	١: ٤٠٠	+	+	+	-
	١: ٥٠٠	+	+	+	+
الفينول	١: ٩٠	-	-	-	-
	١: ١٠٠	+	-	-	-
	١: ١٠٥	+	+	-	-
	١: ١١٠	+	+	+	-
	١: ١١٥	+	+	+	+

- عدم نمو الميكروبات + نمو الميكروب

obeikandl.com

(حـ) النتيجة

تركيز المطهر الذي أعطي نتائج إيجابية في ١/٢ ٢، ٥ دقيقة ونتائج سلبية في ١/٢ ٧، ١٠ دقيقة هو ١: ٣٠٠.

وتركيز الفينول الذي أعطي نتائج إيجابية في ١/٢ ٢، ٥ دقيقة ونتائج سلبية في ١/٢ ٧، ١٠ دقيقة هو ١: ١٠٠.

أي أن كفاءة المطهر تساوى ٣ أضعاف كفاءة الفنيول النقي كمطهر ولاستخدام هذا المطهر بكفاءة في التطهير يضرب الرقم الناتج في معامل التخفيف ٢٠ (Dilution use factor) أي أن يستخدم المطهر بتركيز ١: ٦٠ لضمان قتل جميع الميكروبات وأبواغها.

تقدير كفاءة عملية التطهير

يعتبر تقدير كفاءة التطهير بعد تطبيق برنامجه تحت الظروف العملية من أهم المؤشرات التي يمكن الاعتماد عليها. وعند إجراء اختبار كفاءة العملية التطهيرية يلزم:

١- أخذ عينات من الهواء في أماكن التطهير كالآتي:

- عينات من الهواء
- عينات من المعدات
- عينات من سطح الجدران والأرضية.

وذلك لمحاولة عزل الميكروبات المرضية التي من أجلها تمت عملية التطهير فإذا كانت النتائج سلبية فإن عملية التطهير قد تمت بنجاح أما إذا كانت إيجابية (عزل الميكروبات) فيجب إعادة عملية التطهير. وتسمي هذه الطريقة In- use tests " اختبار الاستعمال في موضعه".

٢- أو يمكن استخدام " Mark organisms" بكتريا دالة وهي طريقة قيمة لتقدير مدى كفاءة عملية التطهير وخاصة عند استخدام بكتريا أو فيروسات مقاومة لعمليات التطهير.

فيمكن استخدام أنواع بكتريا باسيلس نوع نيجرى أو نوع جلو بيجرى

(Balcillus subtitles var nigri or varglobighvi)

وخاصة عند استزراعه على بيئات الآجار حيث يعطي صبغة بنية اللون فيمكن الاستدلال عليه بسهولة وتوضع هذه المستعمرات البكترية في شرائح ورق الألمنيوم aluminum foil بمساحة ١ سم٢ وتوضع في أركان وأماكن مختلفة في المبني أو العنبر المراد اختيار كفاءة تطهيره.

وبعد عملية التطهير تؤخذ هذه العينات وتزرع على بيئة آجار لمعرفة مدى تأثر هذه البكتريا فإذا أعطت نتائج سلبية عند عزلها (قتلت) فإن ذلك يدل على كفاءة التطهير.

٣- يمكن استخدام = Sentinel animals وهي حيوانات معملية في حالة تطهير الأماكن الخاصة بالإنسان، لها قابلية العدوى بالميكروبات المراد التخلص منها بعملية التطهير، أو حيوانات المزرعة التى لها قابلية للإصابة بها بمسببات العدوى المراد التخلص منها بالتطهير، وتوضع هذه الحيوانات في الأماكن أو العنابر التي تم تطهيرها وتبقي مدة معنية حسب مدة حضانة الميكروب فإذا لم يظهر عليها أعراض المرض الخاص بالميكروب فيدل ذلك على كفاءة التطهير.

obeikandl.com