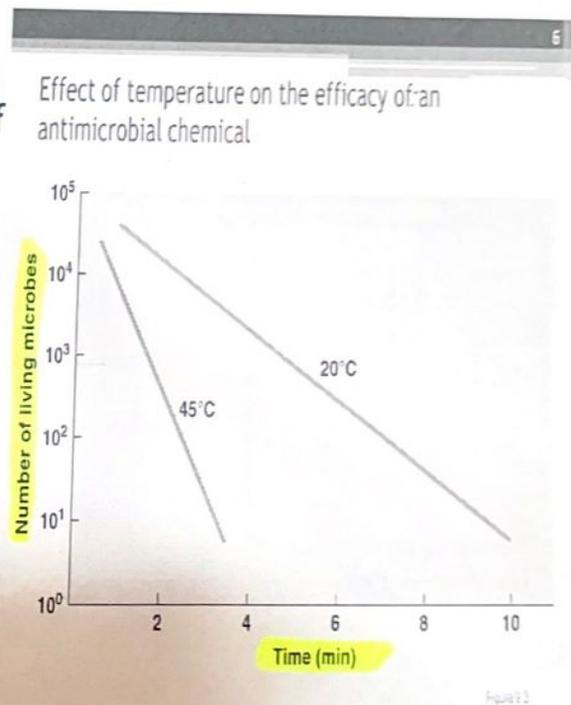


Factors influencing the activity of biocidal agents

- ▶ Temperature:
- ▶ Concentration
- ▶ pH
- ▶ Solubility
- ▶ Interaction with excipients and packaging materials

Factors influencing the activity of biocidal agents

- ▶ Temperature
 - Temperature coefficient (Q_{10}): describes the change in rate of kill for a 10°C change in temperature
 - Example:
 - Phenols have a Q_{10} of around 4
 - Means: their rate of kill increases by a factor of 4 for every 10°C rise in temperature (limits: above 40°C → temperature have harmful effects on the cell)



Subject _____ Day _____ Date _____

مبعثاً في لنا limit لتأثير درجة الحرارة على
biocidal activity for killing
الحرارة أكثر من حيث يبطل أفعى
Chemical biocidal on M.O
بغير أفعى الحرارة نفسها (يعني القتل بغير
بدون Chemical biocide من خلال الحرارة نفسها)
بغير هو وقتاً واهل

increases activity by 10%.

$$Q_{10} = \frac{\text{Time to kill at } T^{\circ}}{\text{Time to kill at } (T + 10)^{\circ}}$$

The value of the temperature coefficient (Q_{10}) may vary with preservative, type of organism, and temperature range (Hugo and Russell, 1987).

Thus, if the value of θ for an antimicrobial agent is 3, the increase in activity for a 3°C rise in temperature is 3³ or 27-fold. On the other hand, if the value of Q_{10} for phenol is 5, a drop in temperature from 30° to 20°C can result in a 5-fold reduction in the killing rate of the antimicrobial agent. The temperature effect is highly important when evaluating preservative action in challenge-testing procedures.

سلايد ١١

$$Q_{10} = \frac{\text{time to kill at } T \text{ (الاولى)}}{\text{time to kill at } (T+10)}$$

ع ب جيب ١٠.٥ لتفرض E-coli مرة بفرص E-coli
للفينول على درجة حرارة 20°C ومرة على 30°C
(مبعثاً نفس التركيز من الفينول + نفس ال ١٠.٥)

و بنوف ستوار time to Kill

٢ Q_{10} هياناً الكتب بخطو Q_{10} بيل Q_{10} معناها
(OR Peta)

تأثير اكرارة كل 3 degree بيل 10°C
change

TABLE 1
Bactericidal efficiency of phenol against Staphylococcus aureus at 10° and 20°C.

DILUTION	DISINFECTION TIME		TEMPERATURE COEFFICIENTS Q₁₀
	10° <i>minutes</i>	20° <i>minutes</i>	
1-55	17.5	5	3.5
1-60	40	7.5	5.3
1-65	70	12.5	5.6
1-70	100	20	5.0
1-75	150	30	5.0
Average.....			4.9

Subject _____ Day _____ Date _____

سلاية [12]

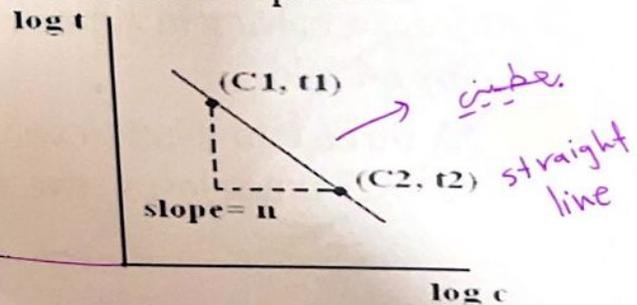
بوضع الجهد كيف حللوا Q_{10} يتبع العنبر
against Staphylococcus aureus

طبقاً لما أضحى Q_{10} لازم ارتباطها بـ M.O و
bioCidal agent و M.O كما أضحى
الهم susceptibility مختلفة لنفس ال
chemical bioCide
لذلك الهم Q_{10} مختلفة

استخدمنا تراكييز مختلفة وبنو average الهم

Factors influencing the activity of biocidal agents

- ▶ Concentration:
- ▶ Concentration exponent (n): describes the change in rate of kill with a change in concentration
- ▶ $n = \frac{\log t_2 - \log t_1}{\log C_1 - \log C_2}$
- ▶ C1 & C2 : concentration of the biocides required to kill a standard inoculum in times t1 & t 2
- ▶ n = slope of the line when log death time is plotted against log concentration



1. التركيز وتأثيره على antimicrobial activity ،
 يتذكروا علينا شرح من الجداول عن الفينول
 والكلورالدهم C_1 formulation issue انه الهم
 high concentration exponent

2. التركيز الاول C_1 يكون قويه كان time to kill والتركيز
 الثاني C_2 برضو يكون time to kill (لغفء المادة ونفسه م.٥٠)
 أكيد كل مزيه التركيز يقل time

Subject _____

Day _____

Date _____

Slop = n = Concentration exponent
Change in rate of Kill according
to the change in Concentration

Standard inoculum - يعني اننا عارفة شو ال M.O
ومبينة بنفس الرقم للتركيز
الاول والثاني

M.O 10000

مئة لفرغ

M.O مليون

(ما بيصر لازم اثبتت كل العوامل ما عدد العامل
بيو كم بدراسة 6 يعني لازم ابد بنفس العدد من M.O)

* من هنا بالكتب already كالمثل جداول للchemical biocides وال Concentration exponent
تعتبر

Table 16.2 Concentration exponents of commonly used biocides.

Antimicrobial agent	Concentration exponent
Hydrogen peroxide	0.5
Mercurials	0.03-3.0
Bronopol	0.7
Iodine	0.9
Acridines	0.7-1.9
Quaternary ammonium compounds	0.8-2.5
Polymeric biguanides	1.5-1.6
Chlorhexidine	2
Parabens	2.5
Sorbic and benzoic acids	2.6-3.2
Phenols	4.0-9.9
Aliphatic alcohols	6.0-12.7

← نوع من أنواع الكحول

← حسب نوعه
← مثل ايثانول،
كروبانول،
propyl alcohol

← يعتبر high

← يعتبر high

Factors influencing the activity of biocidal agents

- ▶ Agents with a concentration exponent around one →
 - doubling of their concentration will increase activity of kill by a power of one (2^1) which is 2.
 - A three fold dilution means the biocides activity will be reduced by a value 3^1 (a third of its original activity)
 - ▶ Agents with a concentration exponent of 6:
 - a doubling in concentration will increase the activity of $2^6=64$ -fold
 - And a halving in concentration will reduce their activity by 64-fold
 - A three fold dilution will mean a decrease in activity of 3^6 or 729 times less active than the original
-

سلايه 15

← اذا كان n لكارة قتل موالين (1) ، فاد

يعني doubling or tripling for n times

$$\text{doubling} = 2^{(n)} = 2^{(1)} \text{ Conc}$$

$$\text{tripling} = 3^{(n)} = 3^{(1)}$$

* ما عمل doubling للتركيز ، اع صرعنا ،
rate of kill

* اذا كانت 3 fold dilution يعني فقطت التركيز 3 مرات

كيف راع نيعكس على rate of kill ؟ راع قتل

(نفسه n Chemical biocide = 1) ، القيراي

مار للتركيز (3) ← to the power of n يعني $3^{(1)}$

* halting للتركيز ← نقصان ويسر زيادة في ال rate of kill

* نفرض $n = 6$

$2^{(6)}$ = doubling ← (التغير اضع بعين على rate of kill) بزيادة

$2^{(6)}$ = halving ← بقول

$3^{(6)}$ = 3 fold ← بقول dilution

← إذا لم يكن عندي Chemical biocid له high Concentration exponent (n)

معناه اي تغيير بسيط في التركيز ينعكس على تغيير كبير في قدرة هاد chemical biocides على قتل m.o.d
 ← وبت هاي تكون مشكلة في اذا انت مضى في تركيب ال preservative مثل كحول أو فينول n له عالية، لنفرض انه هاد الفينول بصير ل adsorption على polymer معين جوا تركيبك أو adsorption على package نفسه بالتالي بقل التركيز تبع الفينول، حتى لو كان التغيير في التركيز قليل التغيير في rate of kill، اضع يكون كبير لذلك تفشل التركيبة

Factors influencing the activity of biocidal agents

▶ pH:

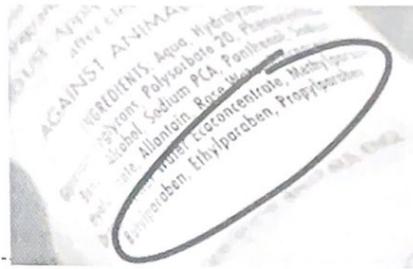
- pH of the formulation may have effect on the activity of some biocidal agent
- Benzoic acid
- Sorbic acid
- Both are active at low pH values, why?

* تتزكو هكينا عن (ما سمحت لاسم) بدها high pH (slightly alkaline) عشان تستغل مبيح، أو ما مثلا organic acid Sorbic / Benzoic بدهم pH أقل من (5) عشان بيظنهم (unionized)

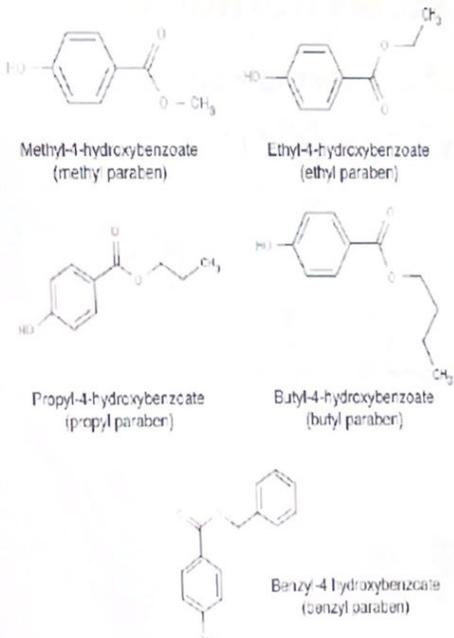
Factors influencing the activity of biocidal agents

► Solubility:

- An issue with classes of molecules having variable alkyl chain lengths as parabens
- As the alkyl chain length increases from methyl paraben to butyl paraben: activity inc. but aq. Sol. Dec. → this why parabens are usually used as mixture
- Care must be taken in multiphase products such as emulsion, what will happen?



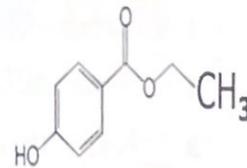
Medscape www.medscape.com



Methyl Paraben

Chemistry: It is the methyl ester of parahydroxybenzoic acid.

Structure:



Physical properties

Description: Colorless crystals or white powder.

Solubility: soluble in water, ethanol, slightly soluble in benzene and acetone.

Uses: It is used as preservative in pharmaceutical formulation to inhibit the growth of microorganisms.

Subject _____

Day _____

Date _____

18 +

Solubility 7

← اسئله طبيعي preservative بين بيبي استخدمه لازم
يكون ذائب في اكري ، احياناً فكينا بالجدول (بيبي قبل)
عن formulation issue انه بعض preservative ازالقت
جنبها oil بتروح بتسبب مالهها من اكري وبتروح
عس او ازي alkyl chain paraben , مثلاً methyl/propyl
paraben

لو اعتمدت في تركيبتك بين عس propyl paraben
preservatives وحفظت اكري والزيت (الكريم) في ال
propyl paraben ، هساعاقا ال propyl paraben في التحضير
بذوبه في اكري بين لما اُضيف اكري عس الزيت مكان
أعمل emulsion ، بتروح يصير بال propyl paraben
راح يحكي أنا ما جيب اكري كثير بما انه توفر وسط
أفربعبه اكثر راح يروح عليه (الزيت) ، كيف ماد
راح ينعكس عس التركيبة ؟ راح يبطل عندي preservative
في الوسط اعالي وبالتالي راح يبطل في مادة فعالة
للحفاظ عس قدم نحو الكثير يا بين مجرد ما تفتح
الكريم ، راح تهقل ٨٠٥ و صافي اشتر راح يمنعها من
عدم التكاثر ، لذلك مارح يعيش shelf life تايده
مثلاً اذا كانت سنت مجرد ما افتحه ، راح تنهو الكثير يا
عليه اسبوعين زمن بغير

Subject _____ Day _____ Date _____

میب سواکل پارا پین مثلاً؟ این استعمال mixture
مثلاً methyl/propyl paraben بحيث لو انه propyl paraben
سحب مال و راجع عن الازہ بصل عندی بالwater phase
المethyl paraben ← جب یزوں میں اکثر من propyl
لانه عنده كربونات و صفة فقط

کے بالمال ہون مستخدمین mixture

Factors influencing the activity of biocidal agents

- ▶ Interaction with excipients and packaging materials:
 - Charged biocidal agents → interacts with oppositely charged excipients in the formulation: e.g. quaternary ammonium compounds bind to alginates
 - Adsorption to plastic or rubber components of the packaging
 - Partition into the non-aqueous phase
 - all of the above decrease biocidal activity especially with biocides with high concentration exponent, why?

Measurement of antibacterial activity:

- ▶ Evaluate the inhibitory effect of the formulation on live cultures:
 - 1. Broth-dilution methods
 - 2. Agar diffusion methods
 - 3. Kill curves

* باستعمال (٢) طرق :-

← من العوامل التي يتأثر أيضا عن فعاليتها chemical biocidal interaction with excipients and packaging material
 ما يكون من charged biocidal agent مثل benzyl chonium chloride

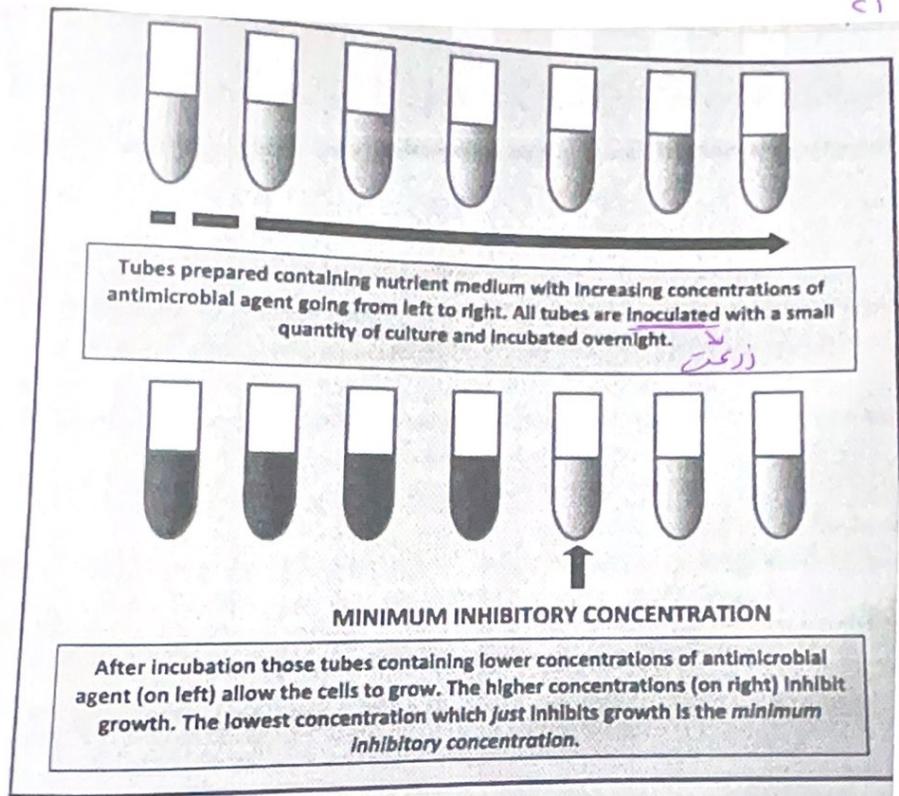
إذا كان بتركيز من اثنى إلى سالب واحد يعمل الراس مع الساب Complex ويخربها

← مثلا ال alginates تستخدمها البق وهي عبارة عن مواد تستخدم ك thickner agent من التركيبات السيلانية
 فإذا استقرت ال benzyl chonium chloride في تركيبة فيها

alginate، الراس يعبر عنها Complex والتين، الراس يخرب مواد
 thickner أو preservative

Subject _____ Day _____ Date _____

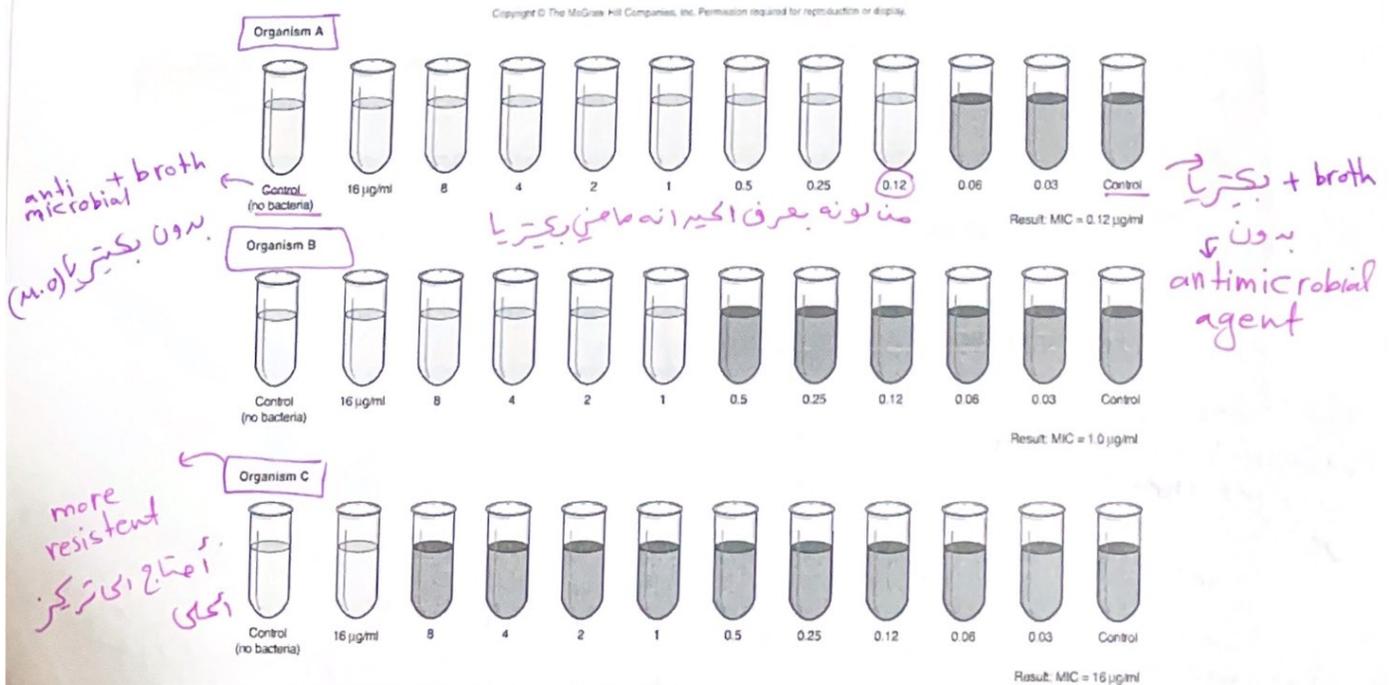
biocidal ← كدهاى السغلات ، اى تقال
activity
بالاخصه يى السهم high Conc
biocide التركيز تاغ exponent
راى نىكس على تغير
كبير فى الفعالية



Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of a biocide.

Measurement of antibacterial activity:

1. broth-dilution methods



سلايه [21]

broth dilution method : تعتمد على ما يلي، عن طريق tubes

تحتوي على nutrient media ، زرعنا نفس M.O

ونفس العدد في كل tubes ، تركيز ال antimicrobial

عن طريق (من اليسار لليمين) بعد ما يعمل agent

ويعتوق وينتظر عن طريق growth ووقت ما

growth inhibition

{ broth : liquid nutrient media
Agar : solid nutrient media }

بملاحظة بال lower concentrations عن طريق turbidity

عن طريق M.O قدرة على من لو عن طريق antimicrobial

أول tube يكون clear (ما فيه M.O) minimum

inhibitory concentration (MIC)

إذا عن طريق broth dilution method نقرر MIC

هو الله قبل كل حاسن بيلك
Subject _____ Day _____ Date _____

سلايد 22

← هون علينا chemical biocide علينا broth dilution method against organism A, B, C

طيب ليش علينا 2 controlled ؟

(1) الاول من اليمين M.O + broth

عشان يحكيلنا ان الظروف ممتازة عشان تعيش البكتيريا

(يعني عشان اذا هارنا Killing يعرف انه بيبي antimicrobial

وليس عشان انا موصوفة للبكتيريا البيئية المناسبة انها تعيش)

(2) الاول من اليسار broth + اعادة الفعالة

يعرف منه انه طما يكون في بكتيريا في tube هل

يكون اللون (مثل reference)

* which M.O is more susceptible to this biocidal agent? (A) ^{مقاوم اكثر}

0.12 = MIC for A

16 = MIC for C

so I need higher concentration of the same chemical biocide to kill the M.O in (C)

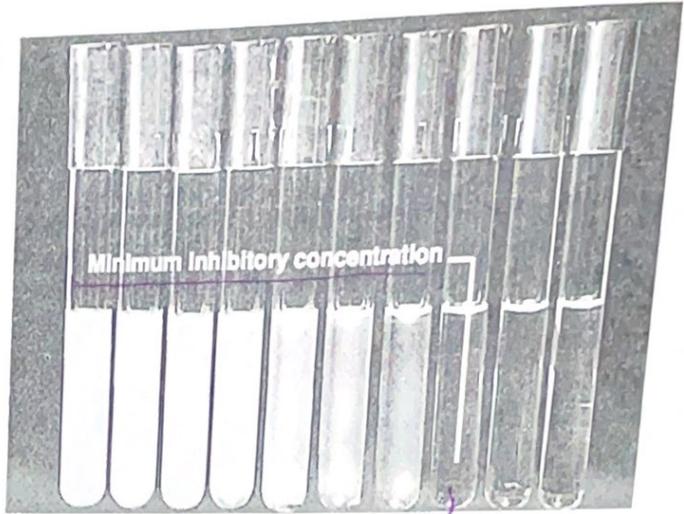
* which M.O is more resistant? (C)

مقاوم اكثر للchemical biocides

Measurement of antibacterial activity:

1. broth-dilution methods

٢٧



↓
 test tube
 فيه بكتريا
 clear
 اول

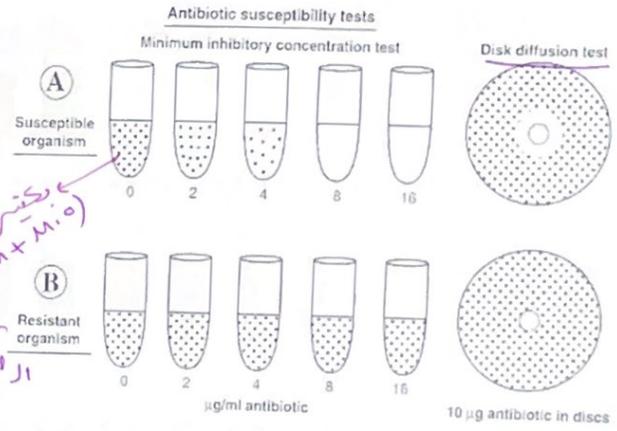
← اول test tube بكتريا يغير clear

* عناهون صورة لـ broth dilution method في المختبر

tubes فيه نفس البكتريا وتراكيز مختلفة من ال bioicidal agent
 وينشوف من بطل او turbid كذا tube ← اول test tube يكون clear ← (MIC)

broth-dilution methods

٢٤



← بكتريا عارضة (broth + M.I.C)
 ← بكتريا مقاومة لها
 ال chemical لا تقدر يقتلها ولا كيميائي
 bioicidal تركيز

* broth dilution method باسمك عن طريق ال MIC تعرف ال antibiotic susceptibility test

يعني نقدر نعرف انه هاي المادة الفعالة او المضاد الحيوي بقدر يقتل M.I.C هاد اول
 ← فيه antibiotic بين M.I.C مختلفة

← يبي عملنا هون بقدر برضو نخله على
 Agar diffusion test او disk diffusion test

Measurement of antibacterial activity:

2. Agar diffusion methods

► Used commonly to:

1. Assay activity of biocides *زراعة ، يعطى ازا واحد منه الهان بالدم أو البول بوضه و فزى منه*
2. Assay antibiotics *و بتوفو سؤ antibiotic سؤ يرمعنا يقتل هاي البكتريا و بزكوها*
3. Determine the sensitivity of clinical isolates to a particular antibiotic prior to treatment

← disk - به لاصط الحاده الفعالة في ال broth بقطها بوا disk
الحاده الفعالة زائجة في solution و بغير فيها ال (disk) بعين بقطه عن agar
مبعاً ال agar يكون مزروع عليه 1.0 م.م بي بي اسوف ال chemical biocides قادرة
تقتله اولاً بعين بجل agar plated incubation ، بعين بقلعه ال البكتريا
ضلت كايه لا فر طرف ال filter paper معناته هاي البكتريا لا تستر بار
antibiotic ماد اما اذا كان عندي منطقة فارغة من البكتريا مواليت ال disk
معناته هاد antibiotic عنده القدرة انه يقتل البكتريا هاي

Sara Jammain



Artery Academy