التعقيم Sterilization

هي عملية قتل جميع الاحياء المجهرية سواء كانت بكتريا وأبواغها وفطريات وطفيليات وبيوضها او فيروسات التي يمكن ان تكون على الادوات والاجهزة والاوساط الزرعية المستعملة أو من على سطح اي شيء معين .

التطهير Disinfection

هي عملية ازالة اوتقليل العددالكلي للجراثيم الملوثة بقتل الخلايا الخضرية دون قتل الابواغ وخاصة الاحياء المجهرية المرضية بالطور الخضري Vegetative pathogens .يستعمل مصطلح المطهر disinfectant للأشارة الى العوامل الكيمياوية المستخدمة في تطهير الاشياء الغير حية .

***الية التعقيم**

تختلف الية التعقيم بأختلاف الطريقة المستعملة لكنها بصورة عامة تؤدي الى تثبيط الانزيمات الموجودة في الخلية ممايؤدي الى وقف عمليات الايض الخلوي , ومن ثم توقف قدرة الاحياء على النمو والتكاثر .

***طرق التعقيم Sterilization methods**

1- الطرق الفيزيائية Physical methods

*الحرارة Heat

*الترشيح Filtration

*الاشعاع Radiation

2- الطرق الكيميائية Chemical methods

*الكحول Alcohol

*الفينول Phenol

*الهالوجينات Halogens

*المعادن الثقيلة Heavy metals

Scanned with CamScanner

* العوامل الغازية Gaseous agants

*الصوابين والمنظفات Soap and detergents

1- التعقيم بالحرارة

للحرارة المرتفعة تأثير قاتل على الاحياء الدقيقة وذلك لتأثر مكونات الخلية فيها مثل تخثر البروتينات وصهر الدهون ممايؤدي الى تعطيل الوظائف الحيوية التي تقوم بها وبالتالي الموت . أما الحرارة المنخفضة فهي تؤدي لتثبيط حيوية الاحياء الدقيقة لفترة من الزمن . ويقسم التعقيم بالحرارة الى قسمين :

A- التعقيم بالحرارة الجافة Dry heat

تقوم الحرارة الجافة بأكسدة المركبات الكيميائية للخلية , وكثيرا مانستعمل احدى الطريقتين الاتيتين:

1- التعقيم باللهب Flame

وتستعمل هذه الطريقة لتعقيم الادوات المعدنية التي لاتتغير اذا سخنت حتى الاحمرار وذلك بتعريضها الى لهب بنزن مباشرة مثل اطراف الممصات والقضبان الزجاجية وفوهات الانابيب والدوارق . كما يتم تعقيم المشارط المعدنية والملاقط وابر التلقيح الناشر الزجاجي بغمرها بالكحول اولا ثم تعريضها الى اللهب .

2- التعقيم بافران الهواء الساخن Hot air ovens

يستند مبدا هذه الطريقة الى رفع درجة حرارة الهواء الموجود داخل الافران وضبط هذه الحرارة بالمنظم الحراري (الثرموستات) على ان تبقى ثابتة طيلة مدة التعقيم .

تعقم بهذه الطريقة جميع الادوات المعدنية والزجاجية بعد لفها برقائق الالمنيوم لمنع تلوثها او وضعها في علب معدنية , ودرجة الحرارة المستعملة في تعقيم هذه الادوات هي 180م° لمدة نصف ساعة , أما الادوات المغطاة بسدادت قطنية كالماصات والدوارق فتستخدم درجة حرارة 160م° لمدة ساعة حتى لايحترق القطن , الحرارة الاكثر استخداما تكون بين 160-190 م° .

Scanned with CamScanner

B- التعقيم بالحرارة الرطبة Moist heat

ان الحرارة المصحوبة بالرطوبة أكثر كفاءة في التعقيم من الحرارة الجافة وذلك بسبب فرق الناقلية للحرارة بين الماء والهواء وطبيعة تخثر اومسخ البروتين حيث تقوم الحرارة الرطبة بتخثر او مسخ سريع للبروتينات الخلية ويمكن اجراء التعقيم بالحرارة الرطبة بعدة طرق :

1- التعقيم بالبخار تحت ضغط

يعتمد مبدأ هذه الطريقة على التسخين في جو مشبع ببخار الماء تحت ضغط مناسب وكما هو معروف فأن درجة غليان الماء ترتفع كلما ارتفع الضغط فوق سطحه فالماء يغلي عند درجة حرارة 100م° تحت الضغط الجوي العادي 1جو . وهناك تناسب طردي بين زيادة الضغط وارتفاع درجة حرارة غليان الماء , هذه الطريقة من أفضل طرق التعقيم وأكثرها استخداما كما تمتاز بميزيتين الاولى التسخين السريع والثانية وفرة الرطوبة مما يسهل عملية تخثر البروتينات الخلوية بزمن قصير .

تستخدم هذه الطريقة لتعقيم الاوساط الغذائية الزرعية التي لاتتلف بدرجة حرارة 121م° كذلك تعقم فيه الادوات الزجاجية والمعدنية والموادالغذائية التي لاتتلف بتلك الدرجة من الحرارة ويستعمل لهذا الغرض جهاز Autoclave او مايسمى المؤصدة حيث يتم التعقيم في هذا الجهاز بدرجة حرارة 121م°وضغط 15 باوند /انج^2 لمدة 15-30 دقيقة .

2- التعقيم بالبخار المتقطع بدرجة حرارة 100م° او التندلة Tyndalization

هي طريقة ابتكرها جون تيندال Tyndall لذلك تسمى بالتندلة بعد ان ادرك هذا الباحث بأن بعض البكتريا تتواجد بشكلين هما الخلايا الخضرية والابواغ او السبورات وان الاخيرة تتميز بمقاومتها للحرارة . وتستخدم هذه الطريقة لتعقيم المواد التي لاتتغير خواصها الطبيعية أو الكيميائية وتتلف بالحرارة العالية مثل وسط الجيلاتين ووسط السكريات . تتم هذه الطريقة بجهاز خاص يسمى جهاز ارنولد Arnold وهو نوع من المؤصدة يحتوي على منفذ للبخار يبقى مفتوحا بشكل لايسمح بتجاوز درجة الحرارة 100 م° ويمكن استخدام المؤصدة Autoclave عند عدم توفر هذا الجهاز وذلك بعد فتح منفذ البخار .

تتخلص هذه الطريقة بمعاملة المادة المراد تعقيمها في درجة 100م° لمدة 15 دقيقة ثم تبريدها لمدة 24 ساعة وذلك بوضعها في الحاضنة بدرجة 37م° حيث انه بالمعاملة الحرارية يتم القضاء على الخلايا الخضرية وحدها واثناء فترة الحضن الاولى تنمو الابواغ وتتحول الى خلايا خضرية وفي اليوم الثاني تتم اعادة نفس الطريقة

Scanned with CamScanner

المعاملة الحرارية ثم التحضين لمدة 24 ساعة حيث يتم القضاء على الخلايا الخضرية (المتكونة من الابواغ) وعند الحضن بعد المعاملة الثانية تتحول مايحتمل بقائها من الابواغ الى الخلايا الخضرية وفي اليوم الثالث δδوبعد المعاملة الحرارية يتم القضاء على الخلايا الخضرية المتبقة فتصبح المادة معقمة بالكامل .

3- التعقيم بالتسخين لامتقطع بدرجة حرارة أقل من 100م° أو البسترة Pasteurization

تستعمل هذه الطريقة في تعقيم المواد التي تفسد او تتلف بالحرارة العالية مثل مصل الدم والحليب والالبان والعصائر وغيرها ,حيث ان مصل الدم يتخثر بدرجة حرارة اعلى من 65مo . يمكن ان تتم عملية البسترة لمرة واحدة أو لعدة مرات 3-8 مرات يفصل بين كل مرة مدة 24 ساعة من الحضن وذلك حسب المادة المراد تعقيمها ,مثلا مصل الدم يسخن لدرجة حرارة 56مo ويعاد تسخينه 7 مرات بفاص يوم كامل من الحضن بين المرة والاخرى .اما المواد الغذائية مثل الحليب والالبان والعصائر والمراد حفضها لمدة مؤقتة فتعقم بدرجة حرارة 75-85 مo لمرة واحدة . يفضل اجراء عملية تبريد مفاجئ للمواد الغذائية المعقمة بالبسترة لمرة واحدة بعد التسخين المباشر فهذا من شأنه احداث صدمة للأبواغ ومن ثم يقتل منها قسما لابأس به . من اهم الجراثيم الممرضة التي يتم القضاء عليها بالبسترة عصيات السل *Mycobacterium tuberculosis* و Salmonella و Brucella .

2- التعقيم بالاشعاع Radiation

1- الاشعة ذات الامواج القصيرة

وهي اشعة مؤينة Ionization لبعض مكونات الخلية بسبب قصر امواجها مثل الاشعة السينية X-rays من 1-100 A^{O} واشعة گاما δ من 0.01-1 A^{O} ,ان احتواء هذه الاشعة على طاقة عالية يؤدي الى نفوذها الشديد داخل الخلية الجرثومية فتتلف DNA وتسبب تراكم RNA في السايتوبوبلازم وتوقف الانقسام الخلوي فهي اكثر الاشعة فتكاً بالاحياء . تعد بكتريا Pseudomonas اكثر الانواع البكتيرية تأثرأبهذه الاشعة , بينما تعد Clostridium اقلها تأثرا اما بالنسبة للابواغ والفيروسات فأنها تتأثر ايضا على ان تكون كمية الاشعة التي تتعرض لها كبيرة .

2- الاشعة فوق البنفسجية Ultra Violet (UV)

تستعمل هذه الاشعة بشكل خاص في تعقيم المياه والهواء بسبب عدم قدرتها على النفوذ داخل الاجسام الصلبة , أن الطول الموجي لهذه الاشعة يتراوح بين 2400-2800 A^{o} ويعد ذلك كافيا لقتل الجراثيم يتلخص

Scanned with CamScanner

تأثير هذه الاشعة في احداث طفرات وراثية تسبب الضرر الدائم للاحماض النووية بالاضافة الى انها تسبب تأين ماء الخلية وتكوين جذور حرة هيدروكسيلية (H2O2,HO2,HO) والتي تعتبر عوامل مؤكسدة قوية تؤثر بدورها على الحامض النووي DNA .

3- الاشعة تحت الحمراء (IR) Infra Red

تستعمل الحرارة الصادرة عن هذه الاشعة في تعقيم الادوات الصغية مثل الماصات وابر التلقيح حيث يتم ضبط الجهاز على درجة حرارة 180مo لمدة 15-20 دقيقة .

4- الامواج القصيرة Micro waves

تستعمل الامواج التي تقع بين 1000-2500 ميغاهيرتز للتعقيم والبسترة والتجفيف ,تكمن اهمية هذه الامواج بسرعة تسخينها للوسط فهي تحمل الحرارة بسرعة الى جميع اجزاء المادة المراد تعقيمها خلال زمن قصير بحيث يقصر زمن التعقيم بالمقارنة مع الزمن اللازم لوسائل التعقيم الاخرى .

3- التعقيم بالترشيح Filtration

تستعمل في هذه الطرق من التعقيم انواع مختلفة من المرشحات التي تمرر من خلالها السوائل أو المحاليل المراد ترشيحها فتعمل المرشحات على احتجاز الاحياء الدقيقة وحسب نوع اغشية الترشيح المستخدمة وحجم ثقوبها ومن اهم الاغشية المستخدمة لهذا الغرض Milipore filters ويقدر حجم ثقوبها بحوالي 0.22 مايكروميتر وهي كافية لاحتجاز اغلب انواع الاحياء الدقيقة ومنها البكتريا بأستثناء الفيروسات . وهي مرشحات مصنعة من خلات السيليلوز . ومن اجهزة الترشيح المستخدمة في مختبرات الاحياء الدقيقة, Seitz Filter Chamberland Filter.ويتم تعقيم الفيتامينات ومصل الدم ومحاليل السكريات والمضادات الحيوية بهذه الطريقة .

***الطرق الكيميائية للتطهير**

***التعقيم بالعوامل الغازية Gaseous agents**

يطلق على التعقيم بالغازات اسم التعقيم بالبرودة وكثيرا مايستعمل لتعقيم المواد التي لاتتحمل درجات حرارة عالية ولاتقبل الترشيح ومن اهم الغازات المستعملة في التعقيم اوكسيد الاثيلين C_2HO واوكسيد البروبلين , الفورمالديهايد Formaldehyde, الاوزون O3 , بيتا بروبيولاكتون β-Propiolactone.

Scanned with CamScanner

***الكحول Alcohol**

هي مواد كيميائية مفيدة عندما تستخدم ضد الجراثيم والفطريات لكنها لاتؤثر على الابواغ الجرثومية تعتمد الية عملها على مسخ البروتينات والنوع الاكثر استخداما هو الكحول الاثيلي Ethyl alcohol بتركيز 70% .يمكن جعل الكحول قاتلا للأبواغ بأضافة 1% من حامض الكبريتيك او هيدروكسيد الصوديوم الى محلول الكحول 70% .

***الفينول Phenol**

الفينول من اوائل المواد الكيمانية التي استخدمت للتطهير فهو يعمل على تلف اغشية الخلية ويسبب مسخ للبروتينات وعطل الانزيمات . وتضم المطهرات الفينولية Cresols و Dettol و hexachiorophene اضافة الى المواد الكيميائية التي تشبه الفينولات في فعاليتها مثل Chlorhexidine والتي تستخدم لتطهير الجلد ضد الجراثيم .

***الهالوجينات Halogens**

تشمل الكلور واليود بشكل رئيسي وتتمثل الية عمل هذه المواد بأكسدة بروتينات الخلية الجرثومية . يستخدم الكلور بشكل مركبات مثل هايبوكلوريت الصوديوم و هايبوكلوريت الكالسيوم كمطهر للحفاظ على عدد جرثومي منخفض في مياه الشرب ولتطهير الادوات والمعدات في مصانع الالبان والمطاعم ومجازر اللحوم وغيرها . كما يستخدم اليود مع جزيئات عضوية تطلق اليود مثل البوفيدون Povidone .

***المعادن الثقيلة Heavy metals**

ان معظم مطهرات المعادن الثقيلة تحتوي على الزئبق والفضة وتشمل المركبات العضوية وغير العضوية لهذه المعادن .المثال الشائع هو المركب التجاري Mercurochrome المستخدم في تطهير الجروح ,تستخدم مركبات الزئبق في الوقت الحاضر كمواد حافظة تثبط الجراثيم وتمنع نمو الفطريات .

***الصوابين والمنظفات Soap and detergents**

هي مواد تقلل الشد السطحي وتمتاز بكونها قابلة للذوبان في الماء ومن اهم هذه المركبات هي مركبات الامونيوم الرباعية والتي تعمل على مهاجمة الغشاء الخلوي للجراثيم باعتباره يحتوي على الدهون بالاضافة الى تثبيط الخمائر وعادة ماتكون المنظفات مواد غير سامة وثابتة ورخيصة الثم

Scanned with CamScanner