التعقيم Sterilization / التطهير Disinfection

التعقيم Sterilization :

هي عملية قتل جميع الاحياء المجهرية سواء كانت بكتريا وأبواغها وفطريات وطفيليات وبيوضها او فيروسات (قتل الميكروبات بصورتها الخضرية او السبورية) والتي يمكن ان تكون على الأدوات والاجهزة والاوساط الزرعية المستعملة أو من على سطح اي شيء معين. والتعقيم يكون مطلق لا توجد له درجات.

التطهير Disinfection :

هي عملية ازالة او تقليل العدد الكلي للجراثيم الملوثة بقتل الخلايا الخضرية دون قتل الابواغ وخاصة الاحياء المجهرية الممرضة بالطور الخضري Vegetative pathogens يستعمل مصطلح المطهر disinfectantللإشارة الى العوامل الكيمياوية المستخدمة في تطهير الاشياء الغير حية. والتطهير يكون نسبي فمن الممكن استخدام بعض المطهرات الأقل تأثيرا لتطهير الجلد كما ان هنالك مطهرات اشد تأثيرا لمناطق أخرى.

- **اليـة التعقيم Sterilization mechanism :**

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

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 agents
   - ❖ العوامل الغازية Gaseous agents
   - ❖ الصوابين والمنظفات Soap and Detergents

الطرق الفيزيائية :

- **التعقيم بالحرارة Heat sterilization**

للحرارة المرتفعة تأثير قاتل على الاحياء الدقيقة وذلك لتأثر مكونات الخلية فيها مثل تخثر البروتينات وصهر الدهون مما يؤدي 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:**

أ. **الحرارة الجافة Dry heat :**

تقوم الحرارة الجافة بأكسدة المركبات الكيميائية للخلية، وكثيرا ما نستعمل 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 بفرن 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 180 م° لمدة نصف ساعة، أما الادوات المغطاة بسدادت قطنية كالماصات والدوارق فتستخدم درجة حرارة 160 م° لمدة ساعة حتى لا يحترق القطن، الحرارة الاكثر استخداما تكون بين 190 - 160 م°

ب. **الحرارة الرطبة Moist heat :**

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

1. **التعقيم بالبخار تحت الضغط :**

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 100 م° تحت الضغط الجوي العادي 1 جو . وهناك تناسب طردي بين زيادة الضغط وارتفاع درجة حرارة غليان الماء , هذه الطريقة من أفضل طرق التعقيم وأكثرها استخداما كما تمتاز بميزتين الاولى التسخين السريع والثانية وفرة الرطوبة مما يسهل عملية تخثر البروتينات الخلوية بزمن قصير.

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

2. التعقيم بالبخار المتقطع بدرجة حرارة 100م° (التندلة Tyndallization) :

هي طريقة ابتكرها العالم 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 لا تتغير 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 لا يسمح بتجاوز درجة الحرارة 100 م° ويمكن استخدام المؤصدة Autoclaveعند عدم توفر هذا الجهاز وذلك بعد فتح منفذ البخار. تتخلص هذه الطريقة بمعاملة المادة المراد تعقيمها في درجة 100 م° لمدة 15 دقيقة ثم تبريدها لمدة 24 ساعة وذلك بوضعها في الحاضنة بدرجة 37 م° 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 المعاملة الحرارية ثم التحضين لمدة 24 ساعة حيث يتم القضاء على الخلايا الخضرية(المتكونة من الابواغ) وعند الحضن بعد المعاملة الثانية تتحول ما يحتمل بقائها من الابواغ الى الخلايا الخضرية وفي اليوم الثالث وبعد المعاملة الحرارية يتم القضاء على الخلايا الخضرية المتبقة فتصبح المادة معقمة بالكامل.

3. التعقيم بالتسخين المتقطع بدرجة حرارة اقل من 100م° (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 65م° . 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 56 م° ويعاد

تسخينه 7 مرات بفاصل يوم كامل من الحضن بين المرة والأخرى. اما المواد الغذائية مثل الحليب والالبان والعصائر والمراد حفضها لمدة مؤقتة فتعقم بدرجة حرارة 75 - 85 م° 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** .

- **التعقيم بالإشعاع Radiation sterilization**

1. **الاشعة ذات الأمواج القصيرة :**

وهي اشعة مؤينة Ionization لبعض مكونات الخلية بسبب قصر امواجها مثل الاشعة السينية X-rays من (1-100 A°) واشعة گاما δ (0.01-1 A°) 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 فتكًا بالأحياء. تعد بكتريا Pseudomonas اكثر الانواع البكتيرية تأثراً بهذه الاشعة، بينما تعد Clostridium اقلها تأثرا اما بالنسبة للأبواغ 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°) ويعد ذلك كافيا لقتل الجراثيم يتلخص تأثير هذه الاشعة في احداث طفرات وراثية تسبب الضرر الدائم للأحماض النووية بالإضافة 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 Infra Red (IR) :**

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

4. **الأمواج القصيرة Micro waves :**

تستعمل الامواج التي تقع بين 1000 - 2500 ميغاهيرتز للتعقيم والبسترة والتجفيف، تكمن اهمية هذه الأمواج 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 .

- **التعقيم بالترشيح Filtration sterilization**

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 باستثناء 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 :

- **التعقيم بالعوامل الغازية Gaseous agents**

يطلق على التعقيم بالغازات اسم التعقيم بالبرودة وكثيرا ما يستعمل لتعقيم المواد التي لا تتحمل درجات حرارة عالية ولا تقبل الترشيح ومن اهم الغازات المستعملة في التعقيم اوكسيد الاثيلين C_2HO واوكسيد البروبلين، الفورمالديهايد Formaldehyde ، الاوزون O3، بيتا بروبيولاكتون β-Propiolactone

- **الكحول Alcohol**

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

- **الفينول Phenol**

الفينول من اوائل المواد الكيمائية 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**

تشـمل الكلـور واليـود بشـكل رئيسـي وتتمثـل اليـة عمـل هـذه المـواد بأكسـدة بروتينـات الخليـة الجرثوميـة. يسـتخدم الكلـور بشـكل مركبـات مثـل هايبوكلوريـت الصـوديوم وهايبوكلوريـت الكالسـيوم كمطهر للحفاظ على عدد جرثومي منخفض في مياه الشرب ولتطهير الادوات والمعدات في مصـانع الالبان والمطاعم ومجـازر اللحـوم وغيرهـا. كمـا يسـتخدم اليـود مـع جزيئـات عضـوية تطلـق اليـود مثـل البوفيدون Povidone .

- **المعادن الثقيلة Heavy metals**

ان معظم مطهرات المعادن الثقيلة تحتوي على الزئبـق والفضـة وتشـمل المركبـات العضـوية وغيـر العضوية لهذه المعادن. المثال الشائع هو المركب التجـاري Mercurochrome المسـتخدم فـي تطهيـر الجروح، تستخدم مركبات الزئبق في الوقت الحاضر كمواد حافظة تثبط الجراثيم وتمنع نمو الفطريات.

- **الصوابين والمنظفات Soap and detergents**

هي مواد تقلل الشد السطحي وتمتـاز بكونهـا قابلـة للـذوبان فـي المـاء ومـن اهـم هـذه المركبـات هـي مركبات الامونيوم الرباعية والتي تعمـل علـى مهاجمـة الغشـاء الخلـوي للجـراثيم باعتبـاره يحتـوي علـى الدهون بالإضافة الى تثبيط الخمائر وعادة ما تكون المنظفات مواد غير سامة وثابتة ورخيصة الثمن.