السيطرة على نمو الاحياء المجهرية

التطهير و التعقيم Disinfection & Sterilization

السيطرة على نمو الاحياء المجهرية هو منعها من التكاثر. وممكن تحقيق ذلك اما بقتل الخلايا أو خلق ظروف بيئية تمنعها من التكاثر. كلا الحالتين ضرورية من اجل غذاء صحي وخالي من الميكروبات، كما انها مفتاح للتطبب الاصح ..... الخ قبل الدخول في هذا المجال، يجب التذكير ببعض المصطلحات المهمة مثل:

* **التعقيم sterilization**: هو ازالة أو تحطيم كل انواع الحياة مثل البكتريا (الخلايا الخضرية والسبورات، الفيروسات، الفطريات، ... بطرق فيزيائية وكيماوية. عندما يقال ان مادة ما معقمة فذلك يعني انها خالية من أي كائن حي.

* **التطهير disinfection** : هو ازالة جميع أو معظم الاحياء المجهرية الممرضة. أي على عكس التعقيم، فان التطهير قد يبقى بعض الميكروبات غير الممرضة أو اعداد قليلة من الاحياء الممرضة غير كافية لإحداث المرض أو لاحداث الاصابة، المواد المطهرة (disinfectants) عادة تكون biocides أي قاتلة للحياة ولكن تستخدم بتراكيز كافية تقتل الاحياء اينما تكون سواء على المناضد أو الارضيات ... وغيرها من الاسطح غير الحية عند ذلك تدعى المطهرات germicides . اما إذا استخدمت على خلايا حية مثل الجلد، تدعى antiseptic.

* **Decontamination**: هو تقليل أو تقليص اعداد الميكروبات الممرضة، وذلك باستخدام التغسيل أو استخدام الحرارة أو المطهرات. ان عمليات الغسل والجلي باستخدام الصابون والمنظفات تحقق لنا السيطرة على الميكروبات غير المرغوبة والفيروسات، وهي من اهم العمليات اليومية لمنع انتشار الامراض.

تقسم طرق التعقيم إلى:

اولا: الطرق الفيزيائية physical methods والتي تشمل:

أ- **الحرارة Heat**: وتقسم الى

1- الحرارة الجافة:

2- الحرارة الرطبة وتشمل:

أ) البسترة pasteurization

ب) التندلة Tyndalization

ج) الغليان boiling

د) الموصدة autoclave

ب- الاشعاع radiation :

1- Ionizing Radiation
2- UV radiation
3- Microwave

ثانيا- الطرق الكيمياوية chemical methods

ثالثا- الطرق الميكانيكية mechanical methods

أولاً: الطرق الفيزياوية

أ- **الحرارة :Heat**

1- الحرارة الجافة:Dry Heat

وهي الطرق التي تستخدم الحرارة الجافة بدرجات تتراوح بين 160- 6500 م°. يستخدم اللهب المباشر أو هيترات كهربائية. هذه الطريقة تؤدي إلى

1- سحب من الخلايا Dehydration

2- اكسدة الخلايا إلى رماد

3- تغير معالم جزيئات البروتين تغير غير رجعي Denaturation

من مزايا هذه الطريقة هي امكانية استخدامها لتعقيم المواد الجافة (Powders) والزيوت بالإضافة إلى الزجاجيات. اما مساوئها فان الحرارة الجافة تحتاج وقت اطول لقتل الاحياء

المجهرية فمثلا التعقيم خلال ساعة ونصف بدرجة حرارة 200 م° يعادل 15 دقيقة حرارة رطبة بدرجة °121م وذلك لان تغلغل الحرارة الرطبة اسرع من الحرارة الجافة.

من اهم الطرق التي تستخدم الحرارة الجافة:

1- التلهيب المباشرة لتعقيم الـ loop علما ان لهب بنزين Bunsen burner قد يصل إلى 1870 م° في بعض المناطق.

2- الحرق Incineration لحرق الجثث، السرنجات، اللفافات، الملابس الملوثة وتستخدم لهذا الغرض افران غازية أو كهربائية بدرجة 800- 6500 م°.

3- الافران: بدرجة 150 180 م° لمدة 4-2 ساعة لضمان قتل السبورات تستخدم الافران في المختبرات لتعقيم الادوات المقاومة للحرارة والمواد التي لا يجوز تعقيمها بالحرارة الرطبة مثل الادوات المعدنية التي تصدأ بالبخار، الزيوت (التي يصعب تغلغل البخار إلى داخلها، المساحيق (التي لا يجوز ان تترطب). كما يمكن استخدامه لتعقيم الزجاجيات. لا يجوز تعقيم مواد بلاستيكية، قطن، خشب، ورق، أو سوائل تتبخر في الدرجات العالية.

2- الحرارة الرطبة Moist heat:

ان وجود الرطوبة يزيد من التأثير القاتل للحرارة على الخلايا الحية. فالحرارة الرطبة لها قدرة اختراق عالية وبالتالي تتخثر البروتينات بدرجات حرارة اقل من الحرارة الجافة. وكما ذكر سابقا، فان الحرارة الجافة تؤدي إلى سحب الماء من الخلايا مما يتطلب درجات حرارة اعلى لتخثير البروتينات. من اهم طرق التعقيم بالحرارة الرطبة هي:

أ- البسترة pasterurization:

وهي عملية تعريض المشروبات مثل الخل والحليب والعصائر إلى درجة حرارة 62م° لمدة نصف ساعة للقضاء على الاحياء المجهرية الممرضة والفعالة في فساد هذه الاغذية وبنفس الوقت الحفاظ على الطعم والقيمة الغذائية له. عملية البسترة تزيد من عمر الخزن للمادة الغذائية وتحمي المستهلك من الامراض مثل السل الذي تسببه البكتريا *Mycobacterium tuberculos* التيفويد *Salmonella typhi* ، وحمى مالطا *Brucella abortus*. اما الطرق الحديثة للبسترة تستخدم High flash pasteurization Temperature Short Time (HTST) حيث تعرض المادة الغذائية لدرجة حرارة 27 درجة

لمدة 15ثانية. هذه الطريقة تثبط فعالية 97- 99% من الخلايا الخضرية. السبورات تقاوم هذه العملية أي ان الحليب المبستر هو غير المعقم بل قد يحتوي بحدود 20000 خلية / مل ولهذا يتلف الحليب المبستر عند الخزن لفترة طويلة. ظهر حديثا في الاسواق حليب مبستر ومعقم ممكن خزنه لمدة 3 اشهر وذلك بتعريضه إلى درجة Temperature Ultra High أي بدرجة 140 150 درجة لعدة ثواني ثم تبريده بسرعة، واخيرا من السهل ايضا بسترة الاقمشة والمواد المطاطة مثل اقنعة التخدير وذلك بتنظيم درجة حرارة ماء الغسيل إلى80 م° لمدة ربع ساعة.

* ملاحظة:- ان عملية البسترة وكما ذكرنا سابقا تقتل كافة الخلايا الخضرية ومعظم البكتريا الرمية saprophytes ولا تقتل السبورات. بعض البكتريا الرمية قد تقاوم البسترة والتي تدعى thermoduric أي المحتملة لدرجات الحرارة العالية. البعض منها thermophilic أي محبة للحرارة.

ب- التندلة Tyndalization :

هي احدى طرق التعقيم وهي تستغرق ثلاثة ايام، تستخدم لتعقيم الاوساط التي تتلف بالحرارة العالية. يتم تعريض الوسط في اليوم الاول إلى بخار متدفق بدرجة حرارة 100م° لمدة 30-60 دقيقة وذلك لقتل الخلايا الخضرية، اما السبورات فهي تقاوم هذ الدرجة، لذلك يوضع الوسط في الحاضنة إلى اليوم التالي للسماح لعملية انبات السبورات إلى خلايا خضرية. تعاد العملية في اليوم الثاني (التعريض لبخار الماء ثم التحضين) وذلك لقتل ما تبقى من الخلايا الخضرية والسبورات. مرة اخرى تكرر العملية في اليوم الثالث لضمان قتل جميع الاحياء المجهرية.

ج- الغليان Boiling:

طريقة تقليدية تستخدم بشكل واسع في المستشفيات والبيوت. وهي من طرق التطهير اكثر من التعقيم، حيث يتم الغليان لمدة نصف ساعة، تقتل فيها البكتريا الخضرية غير المكونة للسبورات مثل بكتريا السل والعنقوديات تستخدم لتعقيم بعض الاغذية والمفروشات والالبسة الخاصة بالمرض. من مساوئها هو اعادة تلوث المادة بعد ازالتها من الغليان.

د- الموصدة Autoclave :

وهو جهاز يشبه وعاء الضغط الذي يستخدم للطب في اساس عمله في هذا الجهاز يتم تسخين الماء في وعاء محكم السد للحصول على درجة حرارة اعلى من100م°، عند تسخين الماء يتكون البخار وينحصر داخل الوعاء ليرتفع الضغط ويصبح اعلى من الضغط الجوي. ومن المعلوم ان بخار الماء تحت الضغط الجوي الاعتيادي لا تتعدى درجة حرارته ال100م°، وكلما استطعنا رفع الضغط إلى اعلى من الضغط الجوي في وعاء الموصد المحكم السد سنحصل على درجات حرارة اعلى.

عند تشغيل الجهاز يجب فتح صمام خاص يتواجد على الجهاز لطرد الهواء الموجود داخل الجهاز ليحل محله بخار نقي وذلك لان درجة حرارة البخار النقي اعلى من درجة حرارة البخار المخلوط مع الهواء. ثم يغلق الصمام ليرتفع الضغط داخل الوعاء وترتفع درجة الحرارة إلى الدرجة المطلوبة (121درجة) وبضغط 15 PSI دور الضغط في هذا الجهاز هو لرفع درجة الحرارة فقط. التعقيم بالمؤصدة هو من اهم الطرق للقضاء على السبورات بسبب القدرة العالية لهذه الدرجة الحرارية لاختراق الخلايا. تستخدم هذ الطريقة في التعقيم للأوساط الزرعية (ما عدا الاوساط التي تتأثر بالدرجات الحرارية العالية)، الزجاجيات، اتلاف الاوساط المزروعة بالبكتريا، ..... الخ .

ب – الاشعاع Radiation :

يعرف الاشعاع بانه الطاقة المتحررة من فعالية ذرية يمر من خلال المادة بسرعة فائقة. ومن المعروف ان الاشعاع يؤثر على جميع الخلايا الحية. سنذكر نوعين من هذه الاشعاعات:

1- **اشعاعات التاين: من امثلتها اشعة الفا، كاما X-rays**

صفاتها:

أ- طول موجي قصير جداً (100- 0.1) نانومتر.

ب- قدرة اختراق عالية جداً للأجسام الصلبة.

ج- مكلفة وتحتاج إلى اجهزة خاصة.

عند مرور هذه الاشعاعات خلال الخلايا، بعض الذرات تمتص الطاقة لتفقد الذرة الكتروناتها وتتحول إلى ايون موجب. الالكترون المتحرر يتحد مع ذرة متعادلة ويعطي الايون السالب. (أي ينتج زوج من الايونات موجب وسالب).

هذا التغير في التركيب يؤدي إلى تغيرات في الاواصر الكيمياوية وبالتالي يتغير التركيب الجزيئي للخلايا. واذا كانت جرعة التشعيع كافية قد تؤدي إلى قتل الخلايا. مثال عن هذا النوع من الاشعاعات هو اشعاع كاما الذي يؤدي الى اضرار بايولوجية بإنتاج جزيئات نشطة مثل OH superoxide- أو O− الحر عندما تنتقل الطاقة إلى الاحياء المجهرية. تستخدم لتعقيم المواد الحساسة للحرارة مثل الاجهزة الطبية والادوية كالبنسلين وتعتبر بديل للتعقيم بـ ethylene oxide. ممكن استخدامها لتعقيم الاجهزة بعد التغليف.

ممكن استخدام اشعاع كاما للتعقيم أو للبسترة اعتمادا على الجرعة المستخدمة. التعقيم قد يؤثر على طعم المنتوج لذلك للبسترة حيث يقتل الاحياء الممرضة مثل السالمونيلا في اللحوم دون تغير واضح في الطعم كذلك يستخدم الاشعاع في تعقيم التوابل وحتى الحبوب والخضراوات والفواكه للقضاء على الحشرات والاحياء الممرضة. ومن المفاهيم الخاطئة لدى الكثير ان الاطعمة المشعة قد تحتوي على الاشعاعات أو مواد مسرطنة carcinogen ، بينما تشير الدلائل العلمية على انها غير مضرة وصالحة للاستهلاك.

2- <u>الاشعة فوق البنفسجية U-V radiation</u>:

الطول الموجي للاشعة فوق البنفسجية 230−220 نانوميتر يؤثر على البيورينات والبيرميدينات (كلاهما موجود في الحوامض النووية DNA، RNA) حيث تمتص اشعاع ال U-Vعند الطول الموجي 260 نانوميتر. ونشير هنا إلى انه اطوال موجية قصيرة شديدة التاثير من هذا الاشعاع تصدر من الشمس ولكنها تمتص من قبل طبقة الاوزون في الغلاف الجوي قبل وصولها إلى الارض. الاطوال الموجية القصيرة هذ تعتبر قاتلة للاحياء المجهرية ومضرة للكائنات الحية الاخرى ولذلك كان هناك قلق بسبب تلف طبقة الاوزون. مثال على هذا النوع من الاشعاع الضوء القاتل للجراثيم Germicidal lamp والذي يصدر اطوال موجية قصيرة واشد ضررا. توضع في غرف مغلقة لتعقيم الهواء عند خلو الغرفة من الاشخاص. هذه الاطوال الموجية تحرق الجلد وتحدث اضرار في العيون .U.V لا يخترق

الزجاج، الماء، أو أي مادة غير الهواء. لهذا السبب يستخدم ال U.V فقط لتعقيم الاسطح والهواء. كما توجد وحدات U.V خاصة لمعالجة المياه ايضا.

3- Microwave:

هذا النوع من الاشعاع لا يقتل الميكروبات بصورة مباشرة وانما من خلال الحرارة التي تصدر عنه. بعض الاحياء المجهرية تقاوم هذا الاشعاع عند تسخين الغذاء بصورة غير متجانسة.

ثانياً- الطرق الكيماوية Chemical methods:

1- **الكحول (الايثانول والايزوبروبانول):** ان المحاليل المائية (المخففة) لهذه الكحولات وبتراكيز 60-80% تقتل الخلايا الخضرية للبكتريا والفطريات بينما ليس لها تاثير على السبورات وبعض الفيروسات. يعزى تأثيرها القاتل إلى تجلط الانزيمات وبعض البروتينات الضرورية، وذلك بسبب قابلية البروتينات على الذوبان والتلف في المحاليل المائية للكحولات (أي المخففة) اكثر من تلفها في الكحولات النقية. لذلك يكون تاثير الكحول قاتل في التراكيز 60-80% اما التراكيز العالية فتعمل على سحب الماء من الخلايا (أي يكون مثبط لنمو الخلايا) و يسبب الكحول ايضا تلف للأغشية الخلوية.

2- **الفينول(phenol carbolic acid)** : وهو من اول المطهرات التي استخدمت بتراكيز 2-5% لتعقيم الارضيات في المستشفيات والمختبرات، اما الان فاستخداماته اصبحت محدودة بسبب رائحته القوية وتاثير قاتل على الاحياء المجهرية. فالمطهر Lysol مثلا يحتوي على مركبات فينولية فعالة. تستخدم الاخيرة بتراكيز 5-19% حيث تقتل البكتريا الخضرية وحتى بكتريا السل بينما تقاومه بعض انواع الفيروسات.

3- **الكلور Chlorine** : قاتل لكل انواع الاحياء المجهرية والفيروسات. مهيج للجلد والاغشية المخاطية. تستخدم المركبات التي تحرر الكلور مثل Na-hypochlorite لتطهير مياه المسابح، وبتراكيز اقل لمياه الشرب. هذه المحاليل متوفرة وقليلة الكلفة. المحلول المطهر يحضر بتخفيف القاصر الاعتيادي (Na-hypochlorite 5.25%) بنسبة 1:100 بالماء وهذا يساوي (PPM500) كلور. لايحطم السبورات اما الاحياء المجهرية تقتل خلال ½ ساعة او اقل.

* ملاحظة: ان هذا التركيز يعادل مئات الاضعاف التركيز اللازم لقتل الاحياء المجهرية ولكنه ضروري لضمان تعقيم سريع وفعال. اضافة إلى ذلك فان وجود مواد عضوية (ملوثة) يتطلب استخدام نركيز1:10 بدلا من1:100 وذلك لان المواد العضوية والشوائب تتفاعل الكلور الحر وبالتالي تقلل من التاثير القاتل له يستخدم اما كغاز الكلورين أو (Na or Ca - hypochlorite) وهو سبب اكسدة مكونات الخلية وتحطم الخلايا الخضرية.

4- **الاوزون Ozone:** هو احد اشكال الاوكسجين (O3) غير المستقر، وهو عامل مؤكسد قوي وفعال، يتحلل بسرعة الكثير من البلدان تستخدمه في تطهير ميا الشرب بدلا من الكلور.

5- **الالديهايدات formaldehyde glutaradehyde و Orthophaladehyd (OPA):** يحطم الاحياء المجهرية والفيروسات وذلك نتيجة لايقاف نشاط البروتينات والحوامض النووية اكثر المحاليل استخداما هو% 2محلول قاعدي من مادة glutaraldehyde الذي يستخدم في تعقيم بعض المواد الطبية الحساسة للحرارة حيث تغمر لمدة10-12 ساعة للقضاء على كل اشكال الحياة بضمنها السبورات والفايروسات. هذه المادة سامة لذلك يتطلب غسل المواد المعقمة قبل الاستعمال اما مركب OPA فهو من المطهرات الجيدة. وهو قيد الدراسة كبديل لـ glutaraldehyde.

6- **formaldehyde:** يتوفر بشكل غاز أو محلول مائي 37% يدعى فورمالين. قاتل فعال لكل اشكال الحياة وخلال دقائق يستخدم لقتل البكتريا واضعاف الفيروسات في تحضير اللقاحات. استخداماته محدودة بسبب ابخرته المخرشة واحتمالية كونه مادة مسرطنة.

7- **Ethyleneoxide (Eto):** مادة معقمة فعالة يحطم كل انواع الاحياء المجهرية. بضمنها السبورات والفايروسات بتفاعله مع البروتين وهو غاز قابل لاختراق الاقمشة، الاجهزة الطبية بشكل جيد يستخدم لتعقيم الاطباق البلاستيكية الماصات والسرنجات..... يستخدم جهاز مغلق يشابه الموصدة للتعقيم بـ Eto اذ يخلط الغاز مع CO2 (لكونه قابل للانفجار) يستغرق3- 12 ساعة، وهو مادة مطفرة (مسرطنة).

ملاحظات عن التعقيم والتطهير:

1- تعبر محاليل الكلورين من المطهرات الفعالة للمنازل والمختبرات. ممكن تحضير من خلط 10 سم^3 من القاصر مع 7.8سم^3 من المنظفات في لتر من الماء للحصول على محلول مزيل للبكتريا والاوساخ .

2- الحرارة الرطبة تقتل الاحياء المجهرية من خلال تكسير الحوامض النووية وتغيير معالم البروتينات (denaturation) وتكسير الاغشية الخلوية cell membranes.

3- تعتبر المواد الكيمياوية في معظم الاحيان مطهرة لانها لا تقتل السبورات. وان تاثيرها المطهر معتمد على التركيز، الزمن، الحرارة ووجود مواد عضوية.

4- الالديهايدات مثل الفورمالديهايد و glutaraldehyde تعقم وتطهر لانها قاتلة للسبورات.

5- يخترق غاز Eto المواد البلاستيكية المغلفة وهو يحطم كل انواع الحياة بتفاعله مع البروتينات.