المحاضرة االثالثة عشر

السيطرة على الاحياء المجهرية Control of Microorganisms by physical and chemical agents :

تعني السيطرة على االاحياء المجهرية خفض اعدادها او شل نشاطها ونموها ، ثم القضاء عليها او ازالتها كليا او جزئيا وتتم هذه السيطرة باستخدام أساليب فيزياوية وعوامل كيمياوية متعددة . ان ألاهداف الرئيسية للسيطرة هي :

١-منع انتشار االامراض والعدوى . ٢ .منع التلوث ونمو االاحياء المجهرية غير المرغوب فيها .

٣ -منع تلف المواد بوساطة الاحياء المجهرية وغيرها

. تهلك الاحياء المجهرية او يمنع نموها بالتاثيرات التالية-

1-ضرر لجدار الخلية او منع تكوين الجدار الخلوي . ٢ . خلل في نفاذية الاغشية السايتوبلازمية للخلية .

٣.-خلل في التركيب الفيزياوي والكيمياوي للبروتين والحوامض النووية في الخلية

٤-خلل في النشاط االنزيمي الخلوي والتفاعلات الايضية. ٥ . منع تصنيع البروتينات والحوامض النووية

التعقيم sterilization وهي عملية تخليص الجسم او المادة المراد تعقيمها من كافة اشكال الحياة وهي عملية مطلقة 100 % وليست نسبية

التطهير Disinfection وهي عملية قتل او التخلص من الاحياء المجهرية القادرة على احداث الاصابة المرضية والمادة التي تحقق العملية تدعى Disinfection اما مصطلح Antiseptic فهي المادة المطهرة المستخدمة في تطهير الاجسام الحية بينما Disinfectant تستخدم للمواد المطهرة المستخدم لتطهير الاجسام غير الحية

اما المصطلحات Microbicidal , Germicidal : فهي المادة التي لها القدرة على قتل الاحياء المجهرية الحية عموما وانواعها Bactericidal للبكتريا و Fungicidal للفطريات و Viricidal للفايروسات

اما مصطلح Micro biostatic : فهو العامل الموقف لنمو الجراثيم عموما دون قتلها ومنها Bacteriostaticللبكتريا و Fungistatic للفطريات

. العوامل التي تؤثر في فعالية أساليب السيطرة على الاحياء المجهرية :

1. -طبيعة المادة المراد تعقيمها او تطهيرها : تؤثر الخصائص الفيزياوية والكيمياوية للمادة او الجسم الذي يحتوي على الاحياء المجهرية على معدل وكفاءة عملية القتل ، ولقد وجد ان تاثير الحرارة العالية المميتة للاحياء المجهرية في الوسط الحامضي اكثر من الوسط القاعدي وكلما كان الوسط متجانس كانت نفاذية عوامل السيطرة اكثر وبالتالي يكون هلاكها اسرع

كما ان تركيز المركبات الكاربوهيدراتية والبروتينية والدهنية في الوسط الزرعي يزيد من مقاومة الاحياء المجهرية وبذلك فان وجود كميات كبيرة من المواد العضوية الملوثة في الجسم المراد تطهيره تقلل كثيرا من كفاءة العملية .

2-نوع الاحياء المجهرية :تتباين حساسية أنواع الاحياء المجهرية المختلفة تباينا كبيرا تجاه عوامل السيطرة الفيزياوية والكيمياوية المختلفة فمثال سبورات البكتريا اكثر مقاومة من الخلايا الخضرية كما تباين مقاومة أنواع السبورات وأنواع الخلايا الخضرية تجاه وسائل السيطرة المختلفة .

3-الحالة الفسلجية للخلايا الميكروبية : ان الوضع الفسلجي لخلايا الاحياء المجهرية يؤثر في مقاومتها لعوامل السيطرة فالخلايا الفتية اكثر حساسية من الخلايا القديمة والخلايا في طور الركود اقل حساسية من الخلايا في المرحلة اللوغارتيمية وهذه اكثر حساسية من التي في طور الثبوت.

4- درجة الحرارة : تزداد فاعلية السيطرة كلما ازدادت درجة الحرارة وتكون العالقة عكسية بين درجة الحرارة والوقت اللازم للقتل .

5-التركيز : تتناسب فاعلية المواد المطهرة طرديا مع تركيزها وهذه العالقة ليست مطلقة وانما محصورة ضمن حدود معينة من التركيز .

6- الماء : يعمل الماء على تخثير البروتينات بواسطة الحرارة وينطبق هذا على تخثر البروتين بواسطة العوامل الكيمياوية ويعزى مقاومة السبورات البكتيرية للحرارة والعوامل الكيمياوية الى جفاف السبورات

<u>عوامل السيطرة على الاحياء المجهرية بالوسائل الفيزياوية</u>

من اهم المعاملات الفيزياوية في السيطرة هي درجات الحرارة العالية والواطئة والتجفيف والضغط الازموزي والاشعاع والترشيح والصوت

. أولا. درجات الحرارة العالية : تقسم الاحياء المجهرية تبعا لمدى درجات الحرارة التي تنمو فيها على ثلاث مجموعات

١ -.المجموعة التي تنمو بدرجات حرارة واطئة (صفر – ١٥) م.Psychrophiles

٢ -المجموعة التي تنمو بدرجات حرارة اعتيادية (٢٠ – ٤٠) م .Mesophiles معظم البكتريا المرضية تنمو ضمن هذا المدى الحراري .

٣-المجموعة التي تنمو بدرجات حرارة عالية (٤٥- ٧٠) م.Thermophiles

كل مجموعة من هذه المجموعات الثلاث لها درجة حرارة نمو مثلى ودنيا وعليا وان ارتفاع درجة الحرارة اكثر من العليا تسبب هالكها وانخفاض درجة الحرارة اوطا من الدنيا تسبب توقف نموها

. تاثير الحرارة الرطبة والجافة في هلاك الاحياء المجهرية

تؤثر نسبة الرطوبة تاثيرا كبيرا في مقاومة او هلاك الاحياء المجهرية تحت درجة الحرارة المختلفة حيث تؤدي الحرارة العالية الرطبة الى تغيير طبيعة البروتين للخلايا اما تاثير الحرارة الجافة فيكون عن طريق اكسدة المكونات الكيمياوية للخلايا والحرارة الرطبة اكثر فعالية من الحرارة الجافة فقد وجد ان درجة حرارة رطبة ١٢٠ م تقضي على سبورات البكتريا بحدود (١٥-٢٠) دقيقة في حين يتطلب القضاء على هذه السبورات ساعتين عند استخدام الحرارة الجافة كما ان السبورات مقاومة للحرارة اكثر من الخلايا الخضرية وذلك لقلة النشاط المائي (aw) في السبورات .

-استخدامات درجات الحرارة الرطبة :

-درجة حرارة اقل (١٠٠) م وتسمى هذه المعاملة بالبسترة Pasteurization تبعا لباستور التي استنبطها وفيها تعرض بعض المواد الغذائية كالحليب والمشروبات الكحولية والبيرة والعصائر الى درجة حرارة (٦٣-٦٥) م ولمدة نصف ساعة للقضاء على الاحياء المجهرية الخضرية وخاصة البكتريا الممرضة لا تعد المواد المبسترة معقمة لذا تحفظ في مكان بارد لتفادي تلفها . وهناك بسترة سريعة وتكون على ٧٢ م لمدة ١٥ ثانية .

-درجة حرارة غليان الماء ١٠٠ م تستخدم درجة حرارة الغليان للتخلص من كافة الخلايا البكتيريا الخضرية وسبورات الاعفان والخمائر والفايروسات والطفيليات ولكنها لا تقضي على بعض سبورات البكتريا المقاومة للحرارة . تستخدم هذه الطريقة في حفظ الاغذية ذات الحموضة العالية والحاوية على نسب عالية من الاملاح او السكريات .

-درجة حرارة بخار الماء ١٠٠ م تسمى هذه المعاملة بالتعقيم المجزا او التندلة Tyndallizationتبعا للعالم تندل التي ابتكرها حيث يستخدم بخار الماء بدرجة حرارة ١٠٠ م لتعقيم بعض ألاوساط الزرعية المايكروبية والمواد الكيمياوية والبايلوجية والتي يتغير تركيبها عند تعريضها لدرجة حرارة اكثر من١٠٠ م وفيها تعرض المواد للبخار على درجة حرارة ١٠٠ م لمدة معينة يوميا ولمدة ثلاثة أيام ويتخلل هذه المعاملات مدة حضن بواسطتها يسمح لنمو سبورات البكتريا المقاومة للحرارة الى خاليا خضرية حيث ما تلبث هذه الخلايا ان تهلك اثناء معاملة الحرارة التالية وهكذا يتم التخلص من جميع اشكال الخلايا.

.- درجة حرارة اعلى من١٠٠م : تستخدم هذه المعاملة الحرارية بوساطة بخار الماء المضغوط وان ارتفاع الضغط يسبب ارتفاع درجة الحرارة وذلك باستخدام أجهزة الموصدة autoclave وتعد هذه المعاملة افضل وسيلة واكثر المعاملات الحرارية كفاءة للتعقيم وتستخدم المعاملة الحرارية بدرجة 121 م وضغط 1 جو (١٥ باوند / انج) ولمدة ١٥-٢٠ دقيقة لضمان القضاء على سبورات البكتيريا المقاومة للحرارة

استخدامات الحرارة الجافة :

-التعقيم بالهواء الساخن : يستخدم لهذا الغرض أجهزة او افران كهربائية Oven ويتطلب درجة حرارة ووقت اكثر في تعقيم المواد مقارنة بالحرارة الرطبة حيث يتطلب درجة حرارة ١٦٠ م ولمدة ساعتين لتعقيم الزجاجيات المختبرية والمعدات الجراحية .

-الحرق باللهب : وفيها تعرض المواد مباشرة للهب ويتم تعقيم الناقل Loop او الملقط والمشروط لغرض التعقيم . <u>تاثير الحرارة في هلاك الاحياء المجهرية :-</u>

ان المعاملة الحرارية التي تعبر عن عالقة الوقت والحارة والتي تستهدف القضاء على عدد معين من الاحياء المجهرية تحت ظروف تجريبية معينة يعبر عنها ببيانات وقت الهلاك الحراري Thermal death time (TDT)أي الوقت االلازم لهلاك عدد معين من خلايا البكتيريا الحية او سبوراتها تحت درجة حرارة معينة وظروف أخرى ثابتة وهذه لها أهمية تطبيقية في تعقيم ألاغذية المعلبة والاوساط الزرعية المختبرية

-درجات الحرارة الواطئة : تعمل درجات الحرارة الواطئة دون درجات الحرارة المثلى للاحياء المجهرية على تثبيط الاعمال الايضية في الخلايا لذا فان درجات الحرارة الواطئة تستخدم في حفظ مزارع الاحياء المجهرية لذا لا يمكن اعتبار درجات الحرارة الواطئة وسيلة تعقيم ولكنها وسيلة لوقف النشاط الايضي للاحياء المجهرية وذلك بسبب الجفاف الذي ينتج عن طريق تجمد الماء الحر وعدم توفر الرطوبة الضرورية لحيوية الاحياء المجهرية في حين تستخدم درجات الحرارة العالية وسيلة للقضاء على الاحياء المجهرية وكلا الوسيلتين تستخدمان في حفظ الاغذية

- التجفيف : Drying بما ان الفعاليات الحيوية التي تقوم بها خلايا الاحياء المجهرية لا يمكن ان تجري الا بوجود الماء لذا فان التخلص من الماء بواسطة التجفيف يكون له لاثر الكبير في الحد من الفعاليات الحيوية ومن ثم موت الخلايا وقد وجد ان بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام مثل بكتريا السيلان تكون حساسة جدا للتجفيف حيث تموت بعد تجفيفها بساعات بينما بكتيريا السل تقاوم الجفاف لعدة اسابيع اما سبورات البكتيريا فتبقى حية الى ما النهاية بعد تجفيفها لهذا فان هذه الطريقة تستخدم في حفظ الاغذية . اما في حالة عملية التجفيد Lyophilization المستخدمة في حفظ المزارع المايكروبية اذ تتعرض الى تجفيف كبير وهي في الحالة المجمدة ثم تقفل الانبوبة تحت التفريغ . والمزارع المجفدة تبقى تحت هذه الظروف محافظة على حيويتها لعدة سنين والتجفيف يحصل هنا بوساطة ظاهر التسامي وليس بتاثير الحرارة العالية لازالة الرطوبة

- الاشعاع : هنالك نوعان من الاشعة :

. الاشعة ذات الموجات القصيرة مثل اشعة اكس وكاما وتدعى بالاشعة المؤينة وهذه الاشعة عندما تصطدم بالماء تتحرر الجذور الحرة OH,H وتتحد بسرعة مع البروتين والـ DNA مؤدية بذلك الى موت الخلية وتعتبر السبورات مقاومة للقتل بالاشعة مقارنة بالخلايا الخضرية وذلك لاحتوائها على كمية قليلة من الماء وتستعمل اشعة اكس في السيطرة على التلوث المايكروبي في الغذاء والمضادات الحيوية والادوات البلاستيكية والادوات الجراحية التي لا يمكن تعقيمها بالحرارة

- الاشعة فوق البنفسجية : violet Ultra وهذه تعتبر قاتلة ايضا للمايكروبات حيث انها تمتص من قبل البروتين والـ DNA وتؤدي الى تحطيمها بسهولة تستخدم هذه الاشعة في تعقيم غرف العمليات والمختبرات المايكروبايلوجية كما انها لا تنفد من الزجاج والبلاستك . افضل طول موجي لقتل البكتريا هو تقريبا ٢٦٠نانو متر وهي اشعة غير مؤينة

- الصوت . Sound يمكن استخدام الموجات فوق الصوتية والتي لا يمكن سماعها من قبل الانسان لغرض القضاء على الاحياء المجهرية وذلك للتاثير المباشر في تخثير بروتينات الخلية اضافة الى تحطيم الخلية نفسها واستعملها الباحثون لغرض الحصول على المكونات الداخلية بعد ان تعرض للموجات فوق الصوتية لغرض تحطيمها

- الضغط االزموزي :pressure Osmotic وهو عملية الانتشار التي تجري خلال غشاء شبه ناضج يفصل بين محلولين يحتويان على مذاب بتركيزين مختلفين حيث يحاول هذان المحلولان ان يتساويا بالتركيز على جهتي الغشاء الفاصل . ان تغيير الضغط االزموزي داخل الخلية وفي حالة وضعها في وسط اقل تركيز حيث ينفذ الماء اليها وتمتليء ويتكون ضغط ازموزي داخل الخلية وقد يحدث انكماش plasmolysisعند وضعها في تركز اعلى وهو عكس الحالة الاولى نتيجة لخروج الماء من الخلية وهاتين الحالتين تؤديان الى تثبيط العمليات الايضية ويمكن الاستفادة منها في حفظ الأغذية

- شدة التوتر السطحي :Tension Surface ان السطح البيني او الحدود الفاصلة بين سائل وغاز تتميز بتجاذب الجزيئات على سطح السائل وفوقها الهواء وتسحبها قوة الى داخل السائل اسفلها في حين تتجاذب الجزيئات الاخرى في داخل السائل فيما بينها قوة متساوية من كافة الاتجاهات تسمى هذه الظاهرة بالشد السطحي كما تحدث قوة شد سطحي بين المواد الصلبة والسائل او بين سائلين لا يمتزجان ، ان التغيرات التي تحدث في الشد السطحي تعمل على تغيير نفاذية الاغشية السايتوبلازمية في الخلايا مما يسبب تحطيم الخلية

- الترشيح .Filtration استخدمت المرشحات لغرض ترشيح انواع السوائل والغازات بهدف ازالة الاحياء المجهرية منها ووسيلة للتعقيم عندما لا يمكن استخدام وسائل تعقيم اخرى والتي قد تسبب تلف هذه السوائل كالحرارة مثال ، وان معدل قطر الثقوب للمرشحات البكتريولوجية ما بين (١ -٠,٤٥) مايكرون ومن انواعها :

-اقراص االسبتوس التي تستعمل في مرشحات .Seitze

-اقراص الزجاج الملبد . sintered glass

. -مرشحات غشاء الترشيح membrane filter

-مرشحات الهواء ذات الكفاءة لغرض الحصول على هواء نقي خالي من الغبار والبكتيريا في المختبرات والعمليات الجراحية