طرائق التعقيم

Sterilization methods

يتطلب العمل في مختبرات الاحياء المجهرية ان يكون كل شيء يتعامل معه او يستخدمه العاملون معقماً اي خال من أي شكل من اشكال الحياة كافة . ونظرا لتنوع الادوات التي تستخدم في مثل هذه المختبرات فقد تنوعت طرائق التعقيم هي الاخرى وهناك اسلوبان للتخلص من اشكال الحياة هما :-

1- القتل أو الإبادة Killing

يستخدم فيها أساليب او طرائق تؤدي الى قتل الكائنات الحية او ابادتها مع بقائها في المادة المعقمة .

2- الفصل او الازالة Separation

يستخدم فيها اساليب وطرائق تعمل على إزالة الكائنات الحية او ازاحتها من المواد قيد التعقيم .

طرائق التعقيم بالإبادة :-

اولاً:- الحرارة Heat وهذه على انواع :-

أ- الحرارة الرطبة moist heat ومن الامثلة عليها الطرائق الاتية :-

- جهاز التعقيم البخاري Autoclave

يستخدم هذا الجهاز لتعقيم الاوساط والمحاليل المتحملة للحرارة العالية في درجة 121 مْ لمدة 15-20 دقيقة تحت ضغط 15 باوند/ انج^2 .

- طريقة آرنولد (التعقيم المتقطع) Arnold method

وهي طريقة ابتكرها Tyndal التي تعرف بالتندلة Tyndaliztion بعد ان ادرك الباحث بان بعض البكتريا توجد بشكلين وهما الخلايا الخضرية والابواغ او السبورات . وتتميز السبورات بمقاومتها للحرارة .

تتلخص هذه الطريقة بمعاملة المادة قيد التعقيم في 100مْ مدة 15 دقيقة في جهاز ارنولد وبالحرارة الرطبة (بخار) ثم تبريد الأنموذج وحضنة لمدة 24 ساعة في 37 مْ واعادة معاملتها في 100 مْ مدة 15 دقيقة مرة اخرى وحضنة تحت نفس الظروف ومعاملتها للمرة الثالثة. بعد هذه المعاملات الثلاثة تكون المادة معقمة وخالية من الخلايا الخضرية ومن الابواغ . ويتلخص المبدأ الاساس في ابادة الاحياء المجهرية ولاسيما البكتريا وابواغها بهذه الطريقة بما يأتي :- في اليوم اول تقضي المعاملة الحرارية الاولى على الخلايا الخضرية وحدها . وفي اثناء مدة الحضن الاولى تنمو الأبواغ وتتحول الى خلايا خضرية . وفي اليوم الثاني تقضي المعاملة الحرارة الثانية على الخلايا الخضرية (الناشئة عن الابواغ) . وعند الحضن بعد المعاملة الثانية تنمو ما يحتمل بقاؤها من الابواغ الى الخلايا الخضرية والتي يتم القضاء عليها في المرحلة الثالثة من المعاملة الحرارية .

تستخدم طريقة ارنولد في تعقيم المحاليل التي لا تتحمل حرارة اكثر من 100 مْ . ويمكن خفض حرارة المعاملة مع اطالة زمنها .

ب- الحرارة الجافة Dry Heat

علب تعقيم الماصات

- الفرن Oven :-

يستخدم لتعقيم الزجاجيات نحو اطباق بتري Petri dish والماصات ، اذا توضع في علب خاصة بهما، وفي درجة 160 مْ لمدة 3 ساعات او 180 مْ لمدة 1.5 ساعة، وقد تسمى بطريقة الهواء الحار Hot air .

- اللهب Flame أو الحرق Incineration :-

وفي هذه الحالة تعرض المواد قيد التعقيم الى لهب بنزين مباشرة مثل Needle و Loop أو الملقط اوفوهات انابيب الاختبار. ويذكر ان المنطقة المحيطة باللهب وبمحيط قدرة 25-30 سم تشكل منطقة معقمه بحكم عاملين هما حرارة اللهب وحركة اللهب . لذلك نجد ان العاملين في حقل الاحياء المجهرية غالبا ما يعملون حول لهب بنزن عند تلقيح الاحياء المجهرية او زرع الاوساط وغيرها وفي غرف او كابينات خالية من تيارات الهواء .

ثانيا :- الكيمياويات Chemicals

مثل الكحوليات ولاسيما الكحول الأثيلي، ويستخدم بتركيز 70% كمبيد للخلايا الخضرية وليس له تأثير على الابواغ . وتتلخص تأثيراته في مسخ البروتينات الخلوية وازاله المواد الدهنية واذابتها لاسيما من الغشاء السايتوبلازمي وسحب الماء من الخلية وتجفيفها ، كما انه يقلل من الشد السطحي ويزيل خلايا الاحياء المجهرية من الاسطح الملساء الياً .

الهالوجينات وهي تعد من الكيمياويات المعقمة مثل الكلور الذي يستخدم في تعقيم مياه الشرب وبتركيز 0.2 – 2 جزء بالمليون (ppm) واليود الذي يستخدم في تعقيم الجروح .

اما في مختبرات الاحياء المجهرية فتستخدم المنظفات الكيميائية التي تباع تحت تسميات تجارية محتلفة مثل السيبتول Septol والديتول Detol في تعقيم الارضية والاسطح الملساء كما تستخدم مركبات الفينول مثل الفينول Phenol و Cresol و Lysol وبتركيز 15% لتعقيم الادوات الجراحية .

ثالثاً : الاشعاع Radiation

من اكثر الاشعاعات استخداماً الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet (U.V.) وبطول موجي 350 ناناومتر في تعقيم اجواء المختبرات والمطاعم . ويتخلص تأثير هذه الاشعة في إحداث طفرات وراثية من خلال تكوين ما يعرف بـ Thymine dimmers بين اثنتين من الثايمنيات المتجاورة على اشرطة DNA

وتستخدم الاشعة المرئية X-Ray او ما يعرف بالأشعة السينية واشعة كاما والأشعة الكونية Cosmic في عمليات التعقيم ايضا مع اخذ الحيطة والحذر عند استخدام هذه الاشعاعات لكونها تالفة للأنسجة وتسبب اضراراً للإنسان مثلما تسبب أضراراً للأحياء المجهرية .

طرائق التعقيم بالإزالة

تستخدم في هذه الطرائق انواع مختلفة من المرشحات التي تمرر من خلالها السوائل او المحاليل المراد ترشيحها فتعمل المرشحات على احتجاز الاحياء المجهرية وبحسب نوع اوراق او اغشية الترشيح المستخدمة وحجم

ثقوبها ، وتسمح السوائل او المحاليل بالمرور خالية من الاحياء المجهرية. ومن اهم الاغشية المستخدمة لهذا الغرض المرشحات الغشائية Membrane Filtersويقدر حجم ثقوبها بحوالي 0.45 مايكرومتر وهي كافية لاحتجاز جميع انواع الاحياء المجهرية ومنها البكتريا (باستثناء الفايروسات) وهي مرشحات مصنوعه من خلات السيليلوز . ومن اجهزة الترشيح المستخدمة في مختبرات الاحياء المجهرية :- Seitz Filter و Berkrfeld Filter و Chamberlain Filter

Berkrfeld Filter

المصادر :

1- قازانجي ، محمد عمر محي الدين (2017) . التجارب العملية في علم الاحياء المجهرية . كلية الزراعة- جامعة بغداد . العراق .

2- الدليمي، خلف صوفي داود (1988) . علم الاحياء المجهرية للأغذية – الجزء العملي. جامعة بغداد . العراق .

3- الشريفي ، حسن رحيم وسالم حسين محمد (1992). مايكروبايولوجيا الالبان العملي . مطبعة دار الحكمة – جامعة البصرة .