كلية : التربية الاساسية حديثة

القسم او الفرع : العلوم العامة – فرع علوم الحياة

المرحلة: الثانية

أستاذ المادة : لما دلي ابراهيم

اسم المادة باللغة العربية : احياء مجهرية – الجزء العملي

اسم المادة باللغة الإنكليزية : Microbiology

اسم المحاضرة الثانية باللغة العربية: التعقيم

اسم المحاضرة الثانية باللغة الإنكليزية : Sterilization

التعقيم والمعقمات

التعقيم Sterilization:

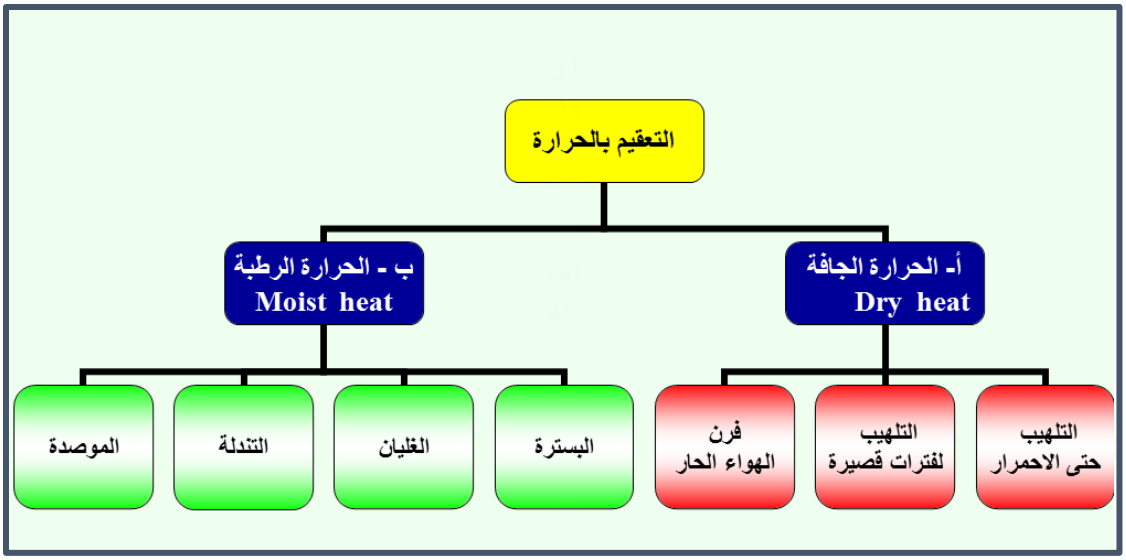
هي عملية إزالة أو قتل جميع الاحياء المجهرية متضمنة الجراثيم البكتيرية bacterial spores من على سطح شيء معين أو مادة ما ولا توجد درجات للتعقيم بمعنى التعقيم مطلق أي أنه لا وجود لشيء معقم جزئيا بمعنى أن الأشياء أما ان تكون المادة معقمة sterile او غير معقمة not sterile , التعقيم هو العملية التي تؤدي إلى قتل أو إزالة جميع الكائنات الحية الدقيقة.. أيضا يمكن تعريف التعقيم بأنه إزالة عوامل النقل (مثل البكتيريا والفيروسات) من الأسطح والمعدات والغذاء ومن الأوساط الغذائية (biological culture medium). ويمكن تحقيق التعقيم بالطرق الطبيعية أو الكيميائية القاتلة للأحياء الدقيقة أو بالترشيح في حالة السوائل تقسم طرق

التعقيم الى قسمين رئيسين هما:

1- **الطرق الفيزيائية (Physical methods):** وتشمل كل من:

الحرارة _ **التعقيم بالحرارة (Sterilization by Heat):** يعتبر التعقيم بالحرارة من أكثر الطرق استخداما للسيطرة على الاحياء المجهرية وتعتبر المعاملة الحرارية هي أكثر المعاملات القاتلة المستخدمة لغرض التعقيم ويمكن أن يتم التعقيم بالحرارة الجافة Dry heat حيث يتم ذلك باستخدام أفران تحت الضغط الجوي العادي أو بالحرارة الرطبة Moist heat التي يتم الحصول عليها بالبخار الرطب Wet steam.

1- ويمكن توضيح اقسام التعقيم بالحرارة بالمخطط الاتي:



التعقيم بالحرارة الجافة:

تتطلب عملية التعقيم بالحرارة الجافة وقت أطول ودرجة حرارة أعلى منها في حالة التعقيم الرطب وذلك لأن التوصيل الحراري بالهواء أقل كفاءة من البخار الرطب. إضافة إلى أن الخلايا الخضرية للبكتيريا تقاوم الحرارة العالية تحت ظروف الجفاف التام. لذلك فمعدل الموت للخلايا الجافة أقل كثيرا من معدل الموت للخلايا الرطبة . وتستخدم الحرارة الجافة أساسا لتعقيم الأدوات الزجاجية والمواد الصلبة التي تتحمل الحرارة المرتفعة وتتأثر عكسيا بالبخار وذلك بعد لفها في ورق أو وضعها في عبوات تمنع إعادة التلوث بعد التعقيم كما هو الحال عند تعقيم أطباق بتري والماصات الزجاجية المستخدمة في معامل الأحياء الدقيقة وتعقم الأدوات بهذه الطريقة بوضعها في معقم الهواء الساخن Hot-air sterilizer على درجة حرارة من 160 – 180° م لمدة 1- 3 ساعات .

1- التلهيب حتى الاحمرار (Flaming):

وتستعمل مع الناقلة الجرثومية bacteriological loop needle، نهايات الملقط forceps والمقصات scissors والشفرة الجراحية blade حيث تمرر الأدوات السابقة الذكر خلال اللهب الى درجة الاحمرار ومن ثم تستخدم بعد تبريدها.

2 - التلهيب لفترات قصيرة (short time flaming):

تستخدم هذه الطريقة لتلهيب فتحات الانابيب والقناني المختبرية وكذلك الماصات لمنع التلوث الجرثومي عند فتحها، حيث يتم التلهيب لفترة قصيرة دون الوصول الى درجة الاحمرار.

3- فرن الهواء الحار (Hot air oven):

يستخدم فرن الهواء الحار لتعقيم المواد الزجاجية مثل أنابيب الاختبار وأطباق بتري والماصات...الخ، بالإضافة الى المواد المعدنية التي لا تتأثر بالحرارة الجافة ويستخدم لهذا الغرض فرن يعتمد على تدوير الهواء الساخن من خلال مراوح خاصة حيث تتراوح درجة الحرارة المستخدمة من(160 – 180 ْم) ولمدة ساعة واحدة

الحرارة الرطبة: يستخدم التعقيم بالبخار الرطب Steam-under-pressure sterilization لتعقيم المحاليل المائية والمواد الأخرى التي تتلف بالحرارة وتقسم تصاعدياً حسب درجة غليان الماء الى:

1- البسترة Pasteurization:

سميت نسبة الى العالم لويس باستور، وتجري البسترة بدرجة حرارة 62.9°م لمدة 30 دقيقة وتدعى بطريقة المسك holding method او بدرجة 71.6°م لمدة 15 ثانية وتدعى بطريقة الوميض flash method وتستخدم البسترة للقضاء على أغلب الجراثيم الممرضة وخصوصاً عصبيات السل وبروسيلا الإجهاض وجراثيم السالمونيلا.

2- الغليان Boiling:

ان التسخين الى درجة غليان الماء 100°م لمدة 5 – 10 دقائق كافية لقتل الجراثيم الخضرية وقسم من الجراثيم المكونة للابواغ حيث تستخدم الغلايات Boilers لهذا الغرض ومن عيوب هذه الطريقة ان هذه المواد تفقد بريقها وتتعرض للتآكل والصدأ بالإضافة الى سرعة تلوثها بسهولة.

3- التندلة Tyndallization **:**

وتسمى أيضا (Tyndallization) على اسم John Tyndall. ويقصد بها التعقيم باستخدام الحرارة المتقطعة خلال فترة زمنية طويلة حيث يتم تسخين المواد الى درجة 100°م باستخدام الحمام المائي أو البخار ولمدة 30 دقيقة ومن ثم تحضن هذه المواد بدرجة 37°م لمدة 24 ساعة وتكرر هذه العملية على مدى 3 أيام متتالية وتستخدم هذه الطريقة لتعقيم لمواد والمحاليل التي تحتوي على السكريات التي تتأثر عند تعقيمها بالمؤصدة. وقد استعمل في الماضي طريقة أخرى مشابهة تعتمد على نفس الأساس لتعقيم سيرم الدم والذي لا يتحمل درجات غليان الماء . فتستخدم درجات حرارة 57°م لمدة ساعة يوميا وتكرر المعاملة لمدة ثمانية أيام متتالية . وهذه الطريقة غير شائعة الاستخدام الآن وتستخدم طرق أخرى أكثر دقة وفاعلية.

4- التعقيم بالمؤصدة Autoclaving:

يعتمد التعقيم بالمؤصدة على مبدأ استخدام الحرارة الرطبة (البخار) مع الضغط حيث توضع المواد المرد تعقيمها داخل جهاز المؤصدة autoclaving (وهو عبارة عن قدر للضغط يتم التحكم فيه بالحرارة والضغط والزمن اللازم للتعقيم) وتضبط الحرارة على درجة 121°م وضغط 15 باوند / انج^2 ولمدة تتراوح بين 15 – 30 دقيقة وتستخدم هذه الطريقة لتعقيم معظم أنواع الأوساط الزرعية والملابس والمواد المطاطية التي تتلف باستخدام الحرارة الجافة.

5- معقم ارنولد Arnold sterizer:

عبارة عن إناء يوضع فيه ماء وبداخله أرفف لوضع البيئات والمحاليل المراد تعقيمها ويلحق بالجهاز ثيرمومتر ويستعمل في تعقيم البيئات التي تفسد عند استعمال الحرارة العالية (أكثر من 100م) مثل البيئات التي يدخل في

تركيبها الجيلاتين أو اللبن أو السكريات والتي يخشى من تحللها بالحرارة العالية ويتم التعقيم في هذا النوع من الاجهزه على ثلاث فترات في ثلاثة أيام متتالية ويسمى ايضا بالتعقيم المتقطع.

2- الترشيح Filtration:

تستعمل المرشحات في تعقيم الأوساط والمحاليل التي تتأثر بالحرارة مثل الأمصال المضادة ومحاليل السكريات والمضادات الحياتية حيث تعتمد على مبدأ الفصل بالترشيح اما من خلال الثقوب الصغيرة او من خلال الالتصاق على أسطح المرشحات, ان فعالية المرشحات الجرثومية تتغير مع حجم ثقوبها كذلك مع الطبيعة الكيميائية للمادة ومقدار الضغط المستخدم عبر الترشيح.

3- الاشعاع Radiatio:

ينقسم التعقيم بالإشعاع الى نوعين أساسيين هما:

أ- **التعقيم بالأشعة المؤينة ionizing radiation**:

وهي أشعة كهرومغناطيسية electromagnetic rays ذات أطوال متناهية في القصر مثل الاشعة السينية X-rays وأشعة كاما Gamma rays.

ان آلية عمل أشعة كاما غير معروفة بشكل كامل ولكن يعتقد بأنها تسبب الضرر الدائم للحامض النووي DNA بالإضافة الى تأين ماء الخلية وتكوين جذور الهيدروكسيل الحر (H_2O_2, HO_2, HO) الذي يعتبر عامل مؤكسد قوي والتي تؤثر بدورها على الحامض النووي DNA وتستخدم أشعة كاما في تعقيم المواد التي تستخدم لمرة واحدة disposable medical supplies مثل الحقن البلاستيكية plastic syringes وكذلك الكفوف الجراحية والمواد الصيدلانية التي تتأثر بالحرارة.

ب- **التعقيم بالأشعة فوق البنفسجية U.V light:**

وهي الأشعة ذات الطول الموجي (الأشعة فوق البنفسجية ذات أهمية خاصة في التعقيم نظرا لتأثيرها القاتل على الكائنات الدقيقة . ورغم أن الشمس تشع كميات كبيرة من الأشعة فوق البنفسجية بأطوالها الموجية المختلفة إلا أن معظم هذه الأشعة ذات الطول الموجي القصير وهي ذات التأثير الأقوى في التعقيم

تمتص قواعد البيورين والبيريميدين الموجودة في الأحماض النووية للخلية الأشعة فوق البنفسجية بشدة وأقصى امتصاص لهذه الأشعة هو عند طول موجي 260 نانوميتر .. وقد ثبت أن التأثير القاتل للأشعة فوق البنفسجية إنما يعزى أساسا لتكوين ازدواج الثايمين Thymine Dimers فترتبط قاعدتي ثايمين متجاورتين ببعضهما ارتباطا كيميائيا لينفصلا بذلك عن القاعدتين المقابلتين (أدينين- أدينين) في السلسلة الثانية من الحمض النووي DNA وتستغل الأشعة فوق البنفسجية في تعقيم أماكن خاصة مثل غرف العمليات الجراحية لتقليل فرص تلوث الجروح وكذلك في مختبرات مزارع الأنسجة ومعامل تعبئة الأدوية والعقاقير المعقمة وغرف التلقيح الملحقة بمختبرات

الأحياء الدقيقة. من مكان لأخر . كما تستخدم لمبات الأشعة فوق البنفسجية لتعقيم الأسطح التي يخشى تعرضها للحرارة مثل الأسطح البلاستيكية المراد تعقيمها وغيرها كأسطح المناضد (البنجات) في معامل الأحياء الدقيقة. والأشعة فوق البنفسجية ذات قدرة محدودة على الاختراق أو التغلغل داخل الأشياء لذلك ففعلها التعقيمي يكون سطحيا لدرجة أن طبقة رقيقة من الزجاج تحجز نسبة كبيرة منها ولذلك لا تستخدم في تعقيم المواد في الأوعية الزجاجية

ثانيا: الطرق الكيمياوية Chemical methods:

تستعمل بعض الكيمياويات في أغراض التعقيم وذلك لفعلها المميت وهذه المواد تسمى مبيدات الميكروبات أو مبيدات الأحياء الدقيقة Germicides وهي تستخدم على نطاق واسع عندما لا يمكن استعمال الحرارة أو الأشعة في التعقيم ، فالمستشفيات تجد من الضروري استعمال الطرق الكيميائية لتعقيم الأشياء التي تتأثر بالحرارة مثل معدات الجراحة أو مقاييس درجة الحرارة أو المعدات البصرية أو أنابيب البولي اثيلين ومعدات التخدير . كما أن مصانع الأغذية تستخدم الطرق الكيميائية لتطهير أسطح المعدات التي تلامس الأغذية وكذلك أسطح الأرضيات والجدران . ويجب الإشارة إلى أن الكثير من الكيمياويات يجب أن تستخدم بحذر شديد ليس فقط لما قد تسببه من تأثير ضار للغذاء أو الأشياء التي تستخدم لتطهيرها ، بل أيضا لأن كثير من مبيدات الأحياء الدقيقة تكون في الغالب ذات تأثير قاتل للخلايا الخضرية فقط بينما تأثيرها يكون بسيط في قتل الجراثيم الداخلية للبكتيريا. (بكتريا السل Mycobacterium tuberculosis تكون مقاومة لكثير من مبيدات الأحياء الدقيقة وهو في حالته الخضرية)

ان تأثير العوامل الكيمياوية chemical agents اما ان يكون قاتلاً للجراثيم bactericidal حيث يؤدي الى قتل الجراثيم أو ان يكون مثبطاً لنموها bacteriostatic حيث يعمل فقط على إيقاف نمو الجراثيم ومنع تكاثرها, ان تركيز المطهر والفترة الزمنية التي تتعرض فيها الجراثيم للمعقم

المصدر /... **اساسيات الاحياء المجهرية / د. عثمان خليل احمد**