الاحياء المجهرية

Microbiology

((الجزء العملي))

اعداد

المدرس المساعد

صفاء نعمت حسين

طرائق التعقيم
Sterilization Methods

يتطلب العمل في مختبرات الأحياء المجهرية أن يكون كل شي يتم التعامل معه أو يستخدمه العاملون في هذه المختبرات معقماً أي خالياً من كافة أشكال الحياة ونظراً لتنوع الأدوات التي تستخدم في مثل هذه المختبرات فقد تنوعت طراق التعقيم هي الاخرى وهناك أسلوبان للتخلص من أشكال الحياة وهما :

1- **القتل والإبادة Killing**
اذ تستخدم أساليب وطرائق تؤدي إلى قتل وإبادة الكائنات الحية مع بقائها في المادة المعقمة .

2- **الفصل أو الأزالة Separation**
وفيه تستخدم طرائق وأساليب من شأنها أن تعمل على إزالة او إزاحة الكائنات الحية من على المواد قيد التعقيم

التعقيم : وهو مصطلح يطلق على عملية التخلص والقتل الكامل للأحياء المجهرية الموجودة في الوسط بحالتها السبورية والخضرية Vegetative Spors

التطهير: هو مصطلح يطلق على عملية منع أو تثبيت الأحياء المجهرية المرضية والتي قد تسبب الإصابة المرضية بحالتها الخضرية دون السبورية .

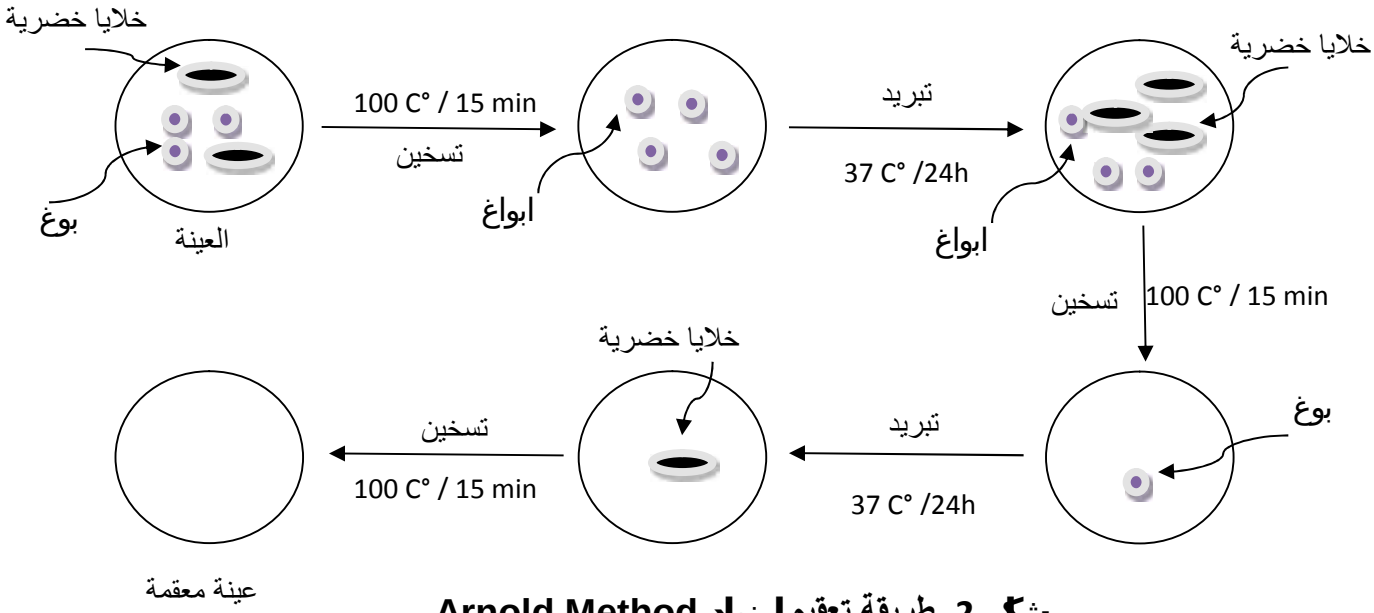
- **طرائق التعقيم بالإبادة :**

أولاً: الحرارة Heat وهذه على أنواع :

أ- الحرارة الرطبة Moist heat ومن الأمثلة عليها الطرائق التالية:

❖ جهاز التعقيم البخاري Autoclave ويستخدم لتعقيم الأوساط الغذائية والمحاليل المتحملة للحرارة العالية في درجة 121م لمدة 15-20 دقيقة وضغط 1.5 كغم/سم2 .

❖ طريقة ارنولد (التعقيم المنقطع) Arnold Method
وهي طريقة ابتكرها Tyndall لذلك تسمى أحيانا بالتندلة Tyndallization بعد أن أدرك هذا الباحث بأن بعض البكتريا تتواجد بشكلين هما : الخلايا الخضرية والابواغ (Spores) وان الأخيرة تتميز بمقاومتها للحرارة ، تتلخص طريقة التعقيم هذه بمعاملة المادة قيد التعقيم في 100 م° في جهاز ارنولد وبالحرارة الرطبة (بخار) ثم تبريد النموذج لمدة 24 ساعة في 37م° وتكرار هذه العملية بعدها مرتين بالتعاقب (شكل 2).
بعد هذه المعاملات الثلاثة تغدو المادة معقمةً خالية من الخلايا الخضرية ومن الابواغ ، يمكن تلخيص المبدأ الأساس في إبادة الأحياء المجهرية ولاسيما البكتريا وابواغها بما يأتي : في اليوم الأول أي المعاملة الحرارية الأولى يتم القضاء على الخلايا الخضرية وحدها وأثناء فترة الحضن الأولى تنمو الأبواغ وتتحول إلى الخلايا الخضرية وفي اليوم الثاني أي المعاملة الحرارية الثانية يتم القضاء على الخلايا الخضرية المتكونة من الابواغ وعند الحضن بعد المعاملة الثانية يتحول ما يحتمل بقائه من الابواغ إلى الخلايا الخضرية التي يتم القضاء عليها في المرحلة الثالثة من المعاملة الحرارية .



شكل 2. طريقة تعقيم ارنولد Arnold Method

وتستخدم طريقة ارنولد في تعقيم المحاليل التي لا تتحمل حرارة أكثر من 100 م° ويمكن خفض المعاملة في إطالة الفترة .

ب- الحرارة الجافة Dray Heat ومن الأمثلة عليها الطرائق التالية :

- ❖ الفرن Oven : ويستخدم لتعقيم الزجاجيات كأطباق بتري والماصات (حيث توضع في علب خاصة بالماصات) وفي درجة 160م ° لمدة 3 ساعات أو 180م° لمدة 1.5ساعة وقد تسمى بطريقة الهواء الحار Hot air .
- ❖ اللهب Flame أو الحرق Incineration وفي هذه الطريقة تعرض المواد قيد التعقيم إلى لهب بنزن مباشرة كالناقل الجرثومي (Loop) و الابرة (Needle) و الملقط و فوهات أنابيب الاختبار ويذكر إن المنطقة المحيطة باللهب وبمحيط قدره 25-30 سم يشكل اللهب عندها منطقة معقمة بحكم عاملين وهما حرارة اللهب وحزمة اللهب لذلك نجد أن العاملين في حقل الأحياء المجهرية غالباً ما يعملون حول لهب بنزن عند تلقيح الأحياء المجهرية أو زرع الأوساط أو غيرها أوفي كابينات مختبرية خاصة تدعى Flow Laminar .

يتم القتل بالحرارة الجافة للأسباب التالية:

1- مسخ البروتين Protein Denaturation
2- تلف تأكسدي Oxidation Damage

ثانياً : الكيمياويات Chemicals وهي على أنواع :

- الكحول Alcohol وخاصة الكحول الاثيلي ويستخدم بتركيز 70% كمبيد للخلايا الخضرية وليس له تأثير على الابواغ وتتلخص تأثيراته في مسخ البروتينات الخلوية وإزالة المواد الدهنية وإذابتها لاسيما من الغشاء السايتوبلازمي وسحب الماء من الخلية وتجفيفها كما انه يقلل من الشد السطحي ويزيل خلايا الأحياء المجهرية من على أسطح الماء ميكانيكياً .
- الهالوجينات Halogens : وهي الأخرى تعد من الكيمياويات المعقمة كالكلور الذي يستخدم في تعقيم مياه الشرب وبتركيز 0.5 - 2 ppm واليود الذي يستخدم في تعقيم الجروح.
- تستخدم العديد من المنظفات الكيمياوية التي تباع تحت تسميات تجارية مختلفة في تعقيم مختبرات الأحياء المجهرية مثل السيبتول Septol و ديتول Detol في تعقيم الأرضية والأسطح الملساء وكذلك الصابون والمظفات Soap and Detergent كما تستخدم مركبات الفينول مثل الفينول Phenol و Cresol وLysol وبتركيز 15% لتعقيم الأدوات الجراحية .
- الحوامض والقواعد Acids and Al kalines .

ثالثاً : الإشعاع Radiation

من أكثر الأشعة استخداماً الأشعة الفوق البنفسجية Ultra Violet (UV) وبطول موجي اقل من 350 نانومتر في تعقيم أجواء المختبرات والمطاعم ويتلخص تأثير هذه الأشعة في إحداث طفرات وراثية من خلال تكوين ما يعرف بـ Thymine Dimers بين اثنتين من الثايمينات المتجاورة على أشرطة DNA وتستخدم الإشعاعات المرئية مثل X-Ray أو يعرف بالأشعة السينية وأشعة كاما والأشعة الكونية Osnic في عملية التعقيم أيضا مع ضرورة اخذ الحيطة والحذر عند استخدام هذه الإشعاعات لكونها تالفة للأنسجة وتسبب أضرار للإنسان مثل ما تسبب أضرار للأحياء المجهرية .

رابعاً: طرائق التعقيم بالإزالة

تستخدم في هذه الطرائق أنواع مختلفة من المرشحات التي تمرر من خلالها سوائل أو المحاليل المراد ترشيحها فتعمل المرشحات على احتجاز الأحياء المجهرية حسب نوع أوراق أو أغشية الترشيح المستخدمة وحجم ثقوبها وتسمح للسوائل أو المحاليل للمرور خالية من الأحياء المجهرية ومن أهم الأغشية المستخدمة لهذا الغرض هي Membrane Filter ويقدر حجم ثقوبها بحوالي 0.45 مايكرومتر وهي كافية لاحتجاز جميع أنواع الأحياء المجهرية من البكتريا (باستثناء الفيروسات) وهي مرشحات مصنعة من خلات السليلوز ومن أجهزة الترشيح المستخدمة في مختبرات الأحياء المجهرية Seitz Filter ، Berkefild Filter ، Chamberlan Filter .