السيطرة على الكائنات الحية الدقيقة Control of Microbial Growth

- بداء التفكير العلمي في السيطرة على الميكروبات من قبل ١٠٠عام تقريبا
- لان هذه الكائنات كانت غير معروف طرق مكافحتها فكانت تفتك باللاف البشر
- كانت حوالي ٢٥%من الامهات يمتن بعد الولادة في المستشفيات بسبب العدو من الادوات والايدي غير المعقمة
- حتى اتي العالم المجري Ignatz Semmelweis عام (١٨١٦-١٨٦٥) والانجليزي Joseph Listerعام (١٨٢٧-١٩١٢) عملا على تطبيق بعض الاجرائات الوقائية التي تحد من التلوث الميكروبي
- نلجأ عادة إلى السيطرة على الميكروبات إما لمنع انتقال العدوى أو منع التلوث أو لمنع الفساد الغذائي. وللسيطرة على الميكروبات يلاحظ أنه ليس من الضروري قتل جميع الميكروبات الموجودة، بل يلُجأ أحيانا إلى وقف نموها ونشاطها أو إزالتها من الجسم المراد تعقيمه. وتستخدم عديد من الوسائل والمواد كل منها له مدى معين، وحالات خاصة يُستخدم فيها .

المصطلحات العلمية المرتبطة بوسائل السيطرة على النمو الميكروبي

المصطلح	التعريف
التعقيم **Sterilization**	هو القضاء على جميع أشكال الحياة الميكروبية على الجسم أو المادة المراد تعقيمه ... بما فيها تدمير الجراثيم الداخلية حيث إنها أكثر أشكال الحياة الميكروبية مقاومة. والتعقيم يكون مطلقاً، أي لا توجد له درجة.
التطهير **Disinfection**	هو القضاء على الخلايا الخضرية الممرضة دون الجراثيم الداخلية أو الفيروسات. وتكون المادة المطهرة عادة مادة كيميائية تضاف إلى الجسم المراد تطهيره، مما يؤدي إلى تقليل عدد الميكروبات أو تثبيط نموها. ولا يؤدي التطهير إلى التعقيم الكامل.
المطهرات **Antisepsis**	هي الكيماويات المستخدمة في إبادة الميكروبات من على جلد الكائن الحي، أو الأعضاء المخاطية، أو أي أنسجة حية.
قاتلات الجراثيم **Germicide** (cide= قاتل)	هي المركبات الكيميائية التي تقتل الميكروبات سريعاً أي تقتل البروتوبلازم. ومن أمثلتها: Bactericide قاتلات البكتريا Sporicide قاتلات الجراثيم Fungicide قاتلات الفطريات Viricide قاتلات الفيروسات Amoebicide قاتلات الأميبا والبروتوزوا
موقفات النمو البكتيري **Bacteriostatic**	فيها يتم تثبيط النمو البكتيري وإيقاف التكاثر مع عدم قتل البكتريا، وبالتالي إذا أزيلت هذه المواد يمكن للبكتريا معاودة نشاطها وتكاثرها. وتوجد أيضاً موقفات للنمو الفطري والتي توقف النمو الفطري وتكاثره.
الخلو من الميكروبات **Asepsis** (**asepsis** = بدون ميكروبات)	هو غياب الميكروبات الممرضة من على شيء ما أو مساحة محددة. وتضمن تقنية الإخلاء من الميكروبات لمنع دخولها إلى داخل جسم أو مساحة ما. ومثالها إجراء العمليات الجراحية تحت ظروف خالية تماماً من الميكروبات.
إزالة الجراثيم	هو إزالة الميكروبات من على جلد كائن حي بالتنظيف الميكانيكي أو باستخدام المطهرات.

- العوامل المؤثرة في عملية السيطرة على الميكروبات

- درجة الحرارة Temperature وتركيز أيون الهيدروجين pH
- نوع الميكروبات وعددها Population size and composition of microorganisms
- الحالة الفسيولوجية للميكروب Physiological state of microbe
- العوامل البيئية المحيطة Surrounding enviromental factors
- تركيز العامل المستخدم Concentration and intensity of used factor
- ميكانيكية تأثير العوامل المستخدمة في السيطرة على الميكروبات

تتفاوت الميكانيكية التي تعمل بها مختلف الكيماويات والعوامل الفيزيائية في تأثيرها في الميكروبات، والذي يؤدي في النهاية إلي قتلها أو تثبيط فاعليتها. ويمكن إيجاز ميكانيكية تأثير هذه العوامل في:

١- تغيير نفاذية الغشاء الخلوي Altration of membrane permeability

٢- تدمير البروتين والأحماض النووية Destruction of protein and nucleic acids

الطرق الفيزيائية للسيطرة على الميكروبات

Microbial Control by Physical Methods

أولا: الحرارة Heat

تُعتبر الحرارة من أكثر الطرق استعمالا لقتل الميكروبات وبالذات في مجال حفظ الأغذية، وتعقيم أدوات المختبرات والمستشفيات. وتعتبر الحرارة من أكثر طرق التعقيم استعمالا نظراً لتكلفتها الاقتصادية وسهولة السيطرة عليها. وتقتل الحرارة الخلايا الميكروبية عن طريق إتلاف النظام الإنزيمي للخلايا وتدميره.

وعند استخدام عمليات التعقيم بالحرارة يجب أن يؤخذ في الاعتبار عدة عوامل منها:

Thermal Death Point (TDP)

ويقصد بها أقل درجة حرارة تكفي لقتل جميع الخلايا الميكروبية الموجودة في المادة السائلة في مدة ١٠ دقائق. ذلك أن قدرة الخلايا على تحمل الحرارة تتفاوت بين ميكروب وآخر.

Thermal Death Time (TDT)

ويقصد به أقصر فترة تكفي لقتل ٩٠ % من الميكروبات الموجودة في بيئة سائلة عند درجة حرارة ثابتة.

وتعتبر كل من TDP، TDT على درجة كبيرة من الأهمية لتحديد كمية الحرارة التي نستخدمها في التعقيم لقتل الميكروبات الموجودة في المادة.

Decimal Reduction Time

ويقصد به الوقت بالدقائق الكافي لقتل ٩٠ % من خلايا البكتيريا عند درجة حرارة ثابتة. ويعتبر هذا العامل مهمًا جدًا، وبالذات في صناعة التعليب.

وتستخدم الحرارة في عمليات التعقيم إما في صورة جافة Dry heat أو في صورة رطبة Moist heat. فالحرارة الجافة تقتل الميكروبات بفعل عامل الأكسدة Oxidation بينما الحرارة الرطبة تقتل الميكروبات بفعل وجود الرطوبة التي تساعد على سرعة تكسير روابط الهيدروجين التي تربط جزيئات البروتين في صورتها الثلاثية الأبعاد Three dimensional structure .

١. Thermal Death Point (TDP)

ويقصد بها أقل درجة حرارة تكفي لقتل جميع الخلايا الميكروبية

١. Thermal Death Time (TDT)

ويقصد به أقصر فترة تكفي لقتل ٩٠ % من الميكروبات الموجودة في بيئة سائلة عند درجة حرارة ثابتة.

Decimal Reduction Time

ويقصد به الوقت بالدقائق الكافي لقتل ٩٠ % من خلايا البكتيريا عند درجة حرارة ثابتة. ويعتبر هذا العامل مهمًا جدًا، وبالذات في صناعة التعليب.

١- التعقيم بالحرارة الجافة Dry heat sterilization

أ-استخدام اللهب المباشر : يعتبر من أبسط صور التعقيم باستخدام الحرارة الجافة، وتستخدم هذه الطريقة في المختبرات لتعقيم إبر التلقيح حيث تعرض هذه الإبر للهب المباشر حتى تصل إلى درجة الاحمرار، وبهذه الطريقة يمكن القضاء على جميع صور الحياة الميكروبية على الإبرة.

ب-استخدام الهواء الجاف الساخن: حيث توضع الأدوات المراد تعقيمها في جهاز يشبه الفرن عند درجة حرارة ١٧٠ م لمدة ساعتين. وفي هذه الطريقة كلما ارتفعت درجة الحرارة وطالت مدة التعريض حصلنا على نتائج أفضل، نظرا لبطء توصيل الحرارة الجافة، مقارنة بالحرارة الرطبة.

٢- التعقيم بالحرارة الرطبة Moist heat sterilization

الغلي هو أحدى طرق التعقيم بالحرارة الرطبة الا أن الغليان لا يمكن اعتباره طريقة تعقيميه يعتمد عليها في كل الأحوال. وللحصول على وسيلة تعقيم آمنة ومضمونة باستعمال الحرارة الرطبة، فإنه من الضروري الوصول بدرجة الحرارة إلى أعلى من درجة الغليان وذلك باستعمال البخار تحت ضغط داخل الجهاز المعروف باسم ألاوتوكليف Autoclave.

وتستخدم في الحالات التي لا تتأثر فيها المواد المراد تعقيمها بالحرارة أو الرطوبة تحت الضغط. ويلاحظ أنه كلما ارتفع الضغط المستعمل زادت درجة الحرارة. وكلما زاد الضغط زادت درجة الحرارة. وفي أجهزة الأوتوكليف Autoclaves فإن البخار تحت ضغط ١٥ باوند/البوصة المربعة تصل درجة حرارته إلى ˚121م، وهذه كافية لقتل جميع صور الحياة الميكروبية بما فيها الجراثيم في مدة ١٥ دقيقة أو أكثر بقليل حسب كمية المادة المراد تعقيمها. وتستخدم طريقة التعقيم هذه Autoclaving لتعقيم البيئات المغذية، الأدوات، القطن،... إلخ،

٣- البسترة Pasteurization

العالم لويس باستير في بداية نشأة علم الميكروبيولوجي طور هذه الطريقة للقضاء على الميكروبات التي كانت تسبب فساد النبيذ في فرنسا، وسميت هذة الطريقة باسمة.

ثانيا: الترشيح Filtration

يُعرف الترشيح بأنه مرور أي مادة سائلة أو غازية خلال سطح يحتوي على ثقوب صغيرة جدا لدرجة تكفي لمنع مرور الأحياء الدقيقة خلالها.. وتستخدم هذه الطريقة لتعقيم المواد الحساسة للحرارة (أي التي تتأثر عند تعقيمها بالحرارة)، مثل المضادات الحيوية، بعض البيئات المغذية، الإنزيمات، اللقاحات.

ثالثا: التجفيف Dessication

يعتبر وجود الماء ضروريا لنمو الأحياء الدقيقة وتكاثرها. وفي حالة سحب الماء من المادة تنشأ لدينا حالة الجفاف Dessication حيث لا تستطيع فيها الأحياء الدقيقة النمو أو التكاثر، ولكنها تستطيع أن تعيش كامنة لعدة سنين. وعند إعادة الماء بوسيلة أو بأخرى إلى هذه المادة تستعيد الميكروبات نشاطها المتمثل في النمو والتكاثر. ويُعتمد على هذا المبدأ في عمليات حفظ المزارع الميكروبية في المختبرات بطريقة التجفيد

رابعا: الضغط الأسموزى Osmotic pressure

يعتمد استخدام الأملاح والسكريات لحفظ الأطعمة وحمايتها من الفساد الميكروبي على تأثير الضغط الأسموزى Osmotic pressure، ذلك أن زيادة تركيز هذه المواد (سكريات، أملاح) في الوسط الخارجي يؤدى إلى خلق ظروف بيئة مرتفعة التركيز Hypertonic تؤدي إلى سحب الماء من داخل الخلية الميكروبية. وهذه الطريقة تشبه إلى حد كبير طريقه التجفيف Dessication المذكورة أعلاه من حيث اعتماد كلتا الطريقتين على مبدأ سحب الماء من الخلية، وبالتإلى وقف نشاطها الحيوي مع أن كلتا الطريقتين لا تؤديان إلى موت الخلية مباشرة. ويلاحظ أنه بمجرد سحب الماء من الخلية ينكمش الغشاء البلازمي ويبتعد عن جدار الخلية، وتسمى هذه العملية البلزمةPlasmolyses، ويقف النمو والتكاثر.

وتستخدم هذه الطريقة في حفظ الأطعمة ومنع الفساد الميكروبي فيها وذلك باستخدام التمليح في حالة اللحوم والتسكير في حالة الفواكه وغيرها.

غير أنه يلاحظ أن قدرة الفطريات (عفن وخمائر) على تحمل الضغط الأسموزى العإلى، والجفاف، إضافة إلى قدرتها على النمو في الوسط الحمضي مقارنة بالبكتيريا، يجعلها أكثر قدرة على إفساد الفواكه وبعض المواد الغذائية حتى المعاملة منها بالسكريات أو الأملاح.

خامسا: الإشعاع Radiation

يعتمد تأثير الإشعاع في الميكروبات على طول موجة الأشعة، كثافتها، وطول مدة التعرض لها. ويستعمل لهذا الغرض نوعان من الإشعاعات هما:

الأشعة المؤينة Ionizing radiation: مثل أشعة إكس وأشعة جاما

الأشعة غير المؤينة *Non ionizing radiation*

وهي أشعة ذات موجات أقصر من تلك التي تميز الإشعاعات المؤينة، ومن أمثلتها إشعاعات الضوء فوق البنفسجي Ultra violet light. ومن المجالات التي تستخدم فيها هذه الإشعاعات: تعقيم الهواء في المستشفيات، والمطاعم،.. إلخ، وتستخدم في تعقيم الأمصال واللقاحات والسموم... إلخ. ومن سلبيات هذه الإشعاعات احتمال تأثيرها في العين، وطول التعرض لها يؤدي إلى إحداث حروق بالجلد، والإصابة بسرطان الجلد. كما أن عدم قدرتها على الاختراق يحتم تعريض الميكروبات لها بطريقة مباشرة إذا أريد الحصول على نتائج فعالة من استخدامها، ذلك أن وجود أي حاجز مثل الأوراق والأقمشة،... إلخ، يمنع وصولها إلى الميكروبات.

الطرق الفيزيائية المستخدمة للسيطرة على نمو الميكروبات

أولا: طرق التعقيم بالحرارة

الطريقة	ميكانيكية التأثير	المواد . الأدوات	ملاحظات
التعقيم بالحرارة الرطبة:			
الغليان أو تيار البخار	تغير طبيعة الميكروب	أطباق بترى، الأحواض الزجاجية، مختلف الأجهزة.	تقل البكتريا الهوائية والفطريات المرضة والعديد من الفيروسات خلال ١٠ دقائق.أقل تأثيراً على الجراثيم الداخلية.
التعقيم بالأوتوكلاف	تغير طبيعة الميكروب	البيئات الميكروبية، المحاليل، الأدوات، الملابس، الأجهزة، وأي أدوات تتحمل درجات الحرارة المرتفعة مع الضغط.	طريقة فعالة جداً للتعقيم، ويكون على ١٢١ م تحت ضغط ١ رطل / بوصة^2. وفيها تُقتل جميع الخلايا الخضرية والجراثيم الداخلية خلال حوالي ١ دقيقة.
التعقيم بالحرارة الجافة			
اللهب المباشر	الاحتراق الكامل والتحويل إلى رماد.	إبر التلقيح والشرائح واللاقط	طريقة فعالة جداً للتعقيم التام

الحرق	الاحتراق الكامل والتحويل إلى رماد.	الأكسواب الورقية، الملابس، الأكياس، المناشف الورقية.	طريقة فعالة جداً للتعقيم التام
التعقيم بالهواء الساخن	تغير طبيعة الميكروب	الزجاجات الفارغة، الماصات، المرشحات..	طريقة فعالة جداً ولكن تحتاج إلى درجة حرارة ١٧٠ م لمدة ساعتين تقريباً.
البسترة	تغير طبيعة الميكروب	اللبن، الكوز، بعض المشروبات الروحية.	معاملة اللبن على درجة حرارة ٧٢م لمدة حوالي ٢٠ ثانية مما يؤدي إلى قتل كل البكتريا المرضة وبعض غير المرضة.
الحرارة المنخفضة: التبريد	يؤدي إلى قلة التفاعلات الكيميائية والتغيرات الممكنة في البروتينات.	الأغذية، الأدوية، حفظ المزارع البكتيرية.	لا تأثير موقف لنمو البكتريا
التجميد	يؤدي إلى قلة التفاعلات الكيميائية والتغيرات الممكنة في البروتينات.	الأغذية، الأدوية، حفظ المزارع البكتيرية.	طريقة فعالة لحفظ المزارع البكتيرية ما بين – ٥ و – ٩٥ م.

ثانيا طرق التعقيم الأخرى

الضغط الأسموزي	بلزمة الخلايا البكترية	حفظ الأغذية	من تيجتها أن تفقد الخلايا البكترية الماء الموجود داخلها.
الإشعاع			
١. المتأين	تدمير الـ DNA باستخدام أشعة X وجاما وكذلك حزم إلكترونية عالية الطاقة.	تستخدم في تعقيم المركبات الدوائية، المكونات الطبية، وكذلك الخاصة بالأسنان.	ليس شائع الاستخدام في التعقيم المنزلي.
٢. الغير متأين	إحداث أضرار للـ DNA بواسطة الأشعة فوق البنفسجية.	تطبق عملياً باستخدام مصدر للأشعة فوق البنفسجية.	الإشعاع ليست لديه قدرة كبيرة على النفاذية.

الطرق الكيميائية للسيطرة على الميكروبات

Chemical Methods of Microbial Control

تستخدم الكيماويات في مقاومة الميكروبات على الأنسجة الحية وبعض الأدوات والسطوح. ويجب أن تتوفر في المادة الكيمائية المستخدمة كمطهر لمقاومة الميكروبات التالي:

١- سرعة التأثير.

٢- ذات مدى تأثير واسع على الميكروبات.

٣- القدرة على التخلل داخل الجسم المعامل.

٤- قابليتها للخلط مع الماء لتكوين محلول أو مستحلب ثابت.

٥- لا تتأثر بالمواد العضوية التي قد تكون موجودة على المادة المراد معاملتها.

٦- لا تتحلل وتفقد فعاليتها عند تعرضها للضوء، أو الحرارة، أو الظروف غير المناسبة.

٧- لا تؤثر في المادة المعاملة بالصبغ أو التدمير،...إلخ.

٨- ليس لها تأثير ضار على الإنسان أو الحيوان إذا كانت ستستخدم كمطهر للجروح.

٩- يستحسن أن تكون لها رائحة مقبولة واقتصادية في السعر وسهلة النقل.

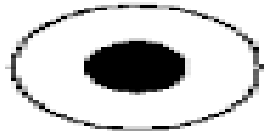
اسس عمل المواد المطهرة: قبل استخدام أي مطهر لابد من معرفة طريقة عمل هذه المادة هل هي مثبطة للنمو او قاتلة للميكروبات

المعامل الفينولي: عرف الفينول في السابق ولمدة طويلة كأحد المطهرات الشائعة الاستعمال ومن هذا المنطلق فأنها تستخدم كمقياس للمقارنة بين كفاءة المطهرات والمعقمات الميكروبية

طريقة ورق الترشيح :تستعمل في معامل التدريس لتوضيح مدى كفاءة المطهرات الكيميائية ،وذلك بغمس قطعة دائرية من ورق الترشيح في المادة الكيميائية ووضعها على طبق بتري فية مزرعة بكتيرية ونحضنها لمدة ٢٤ساعة ونشوف مدي منع النمو حول الورقة وهذه المنطقة تسمى Inhibition zone

Amikacin 30 µg

Ampicillin 10 µg
Enterobacteriaceae



Ampicillin 10 µg
Enterococcus faecalis

Ceftriaxone 30 µg

Cefuroxime 30 µg

Cefalotin 30 µg

Chloramphenicol 30 µg

Clindamycin 2 µg

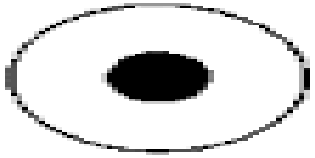
Co-trimoxazole 25 µg

Erythromycin 15 µg

Gentamicin 10 µg

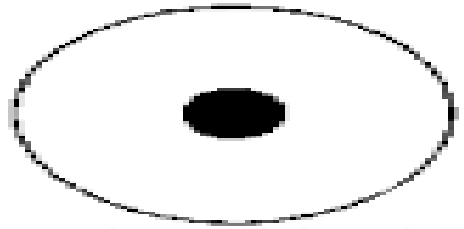
Nalidixic acid 30 µg

Nitrofurantoin 300 µg



Oxacillin 1µg
Pneumococci

Oxacillin 1µg
Staphylococci



Benzylpenicillin 10 IU

Piperacillin 100 µg
Enterobacteriaceae

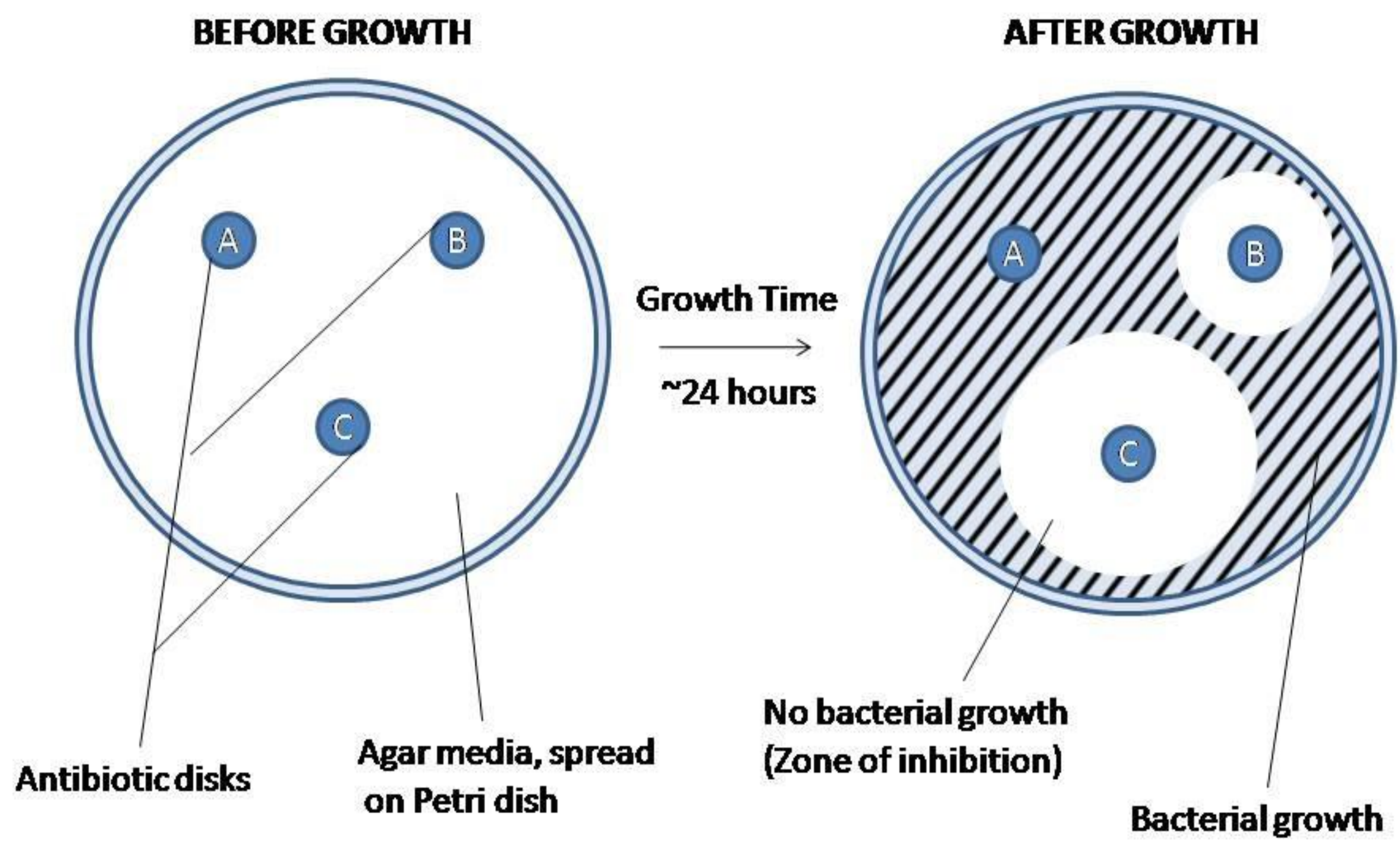
Piperacillin 100 µg
Pseudomonas

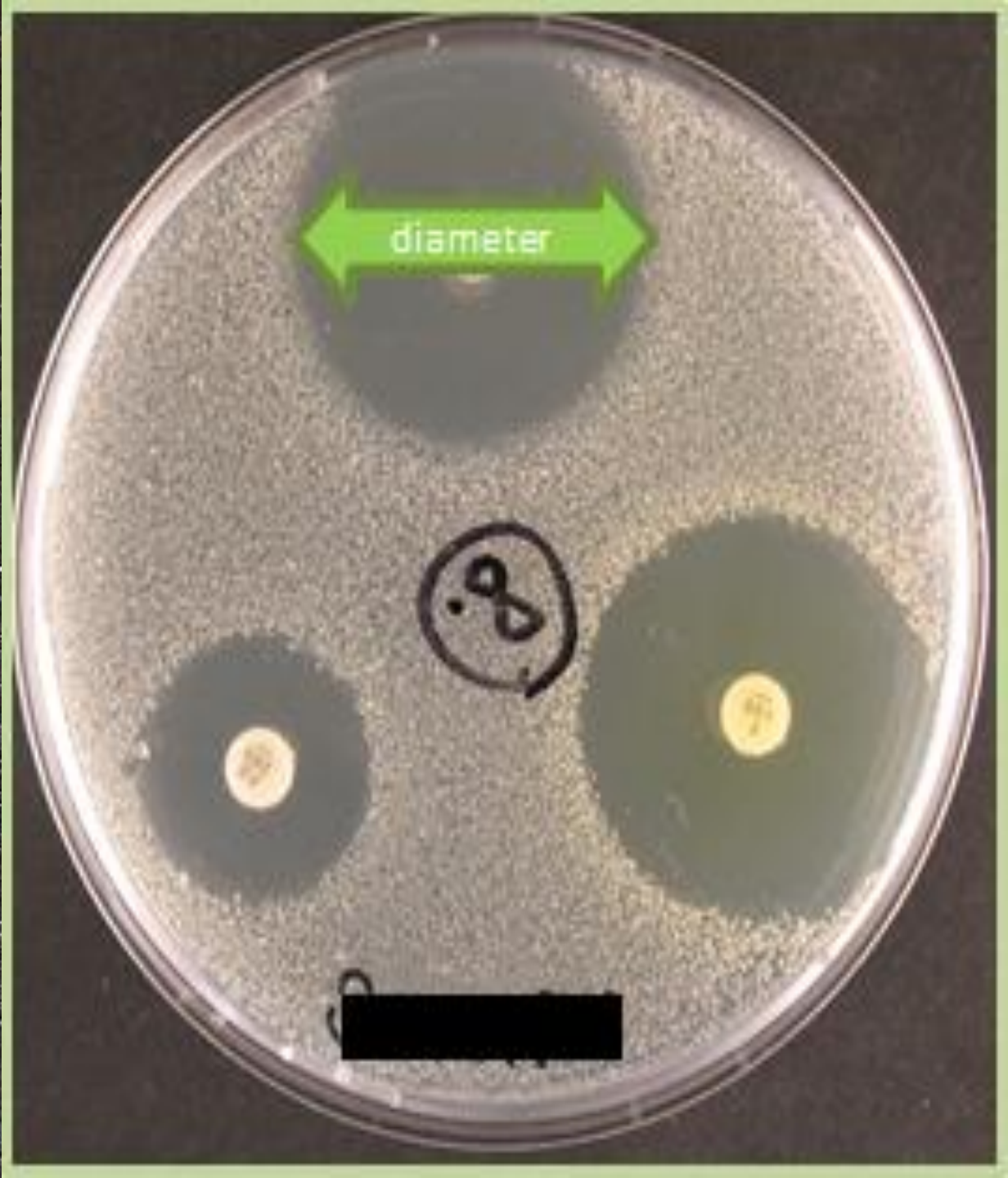
Sulfonamides 300 µg

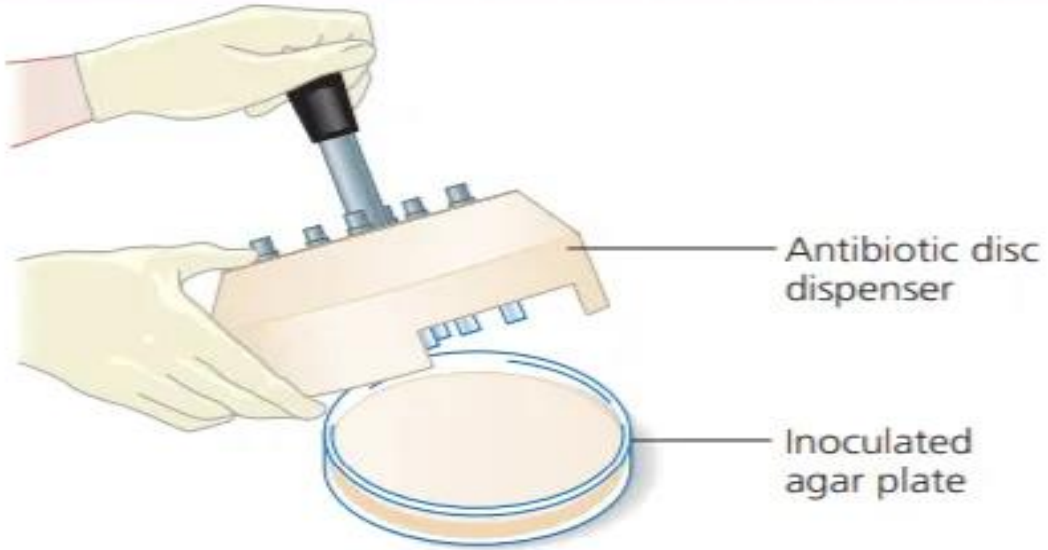
Tetracycline 30 µg

Tobramycin 10 µg

Trimethoprim 5 µg

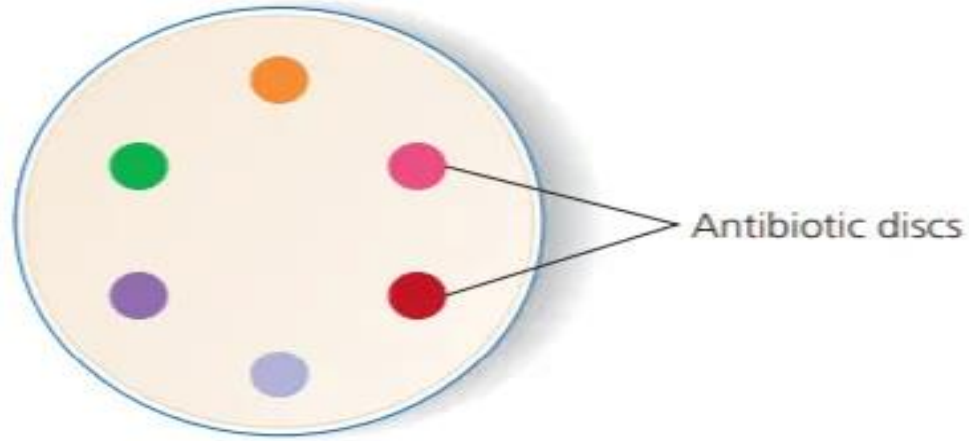

BEFORE GROWTH
AFTER GROWTH
A
B
C
Growth Time
~24 hours
Antibiotic disks
Agar media, spread on Petri dish
No bacterial growth (Zone of inhibition)
Bacterial growth


diameter



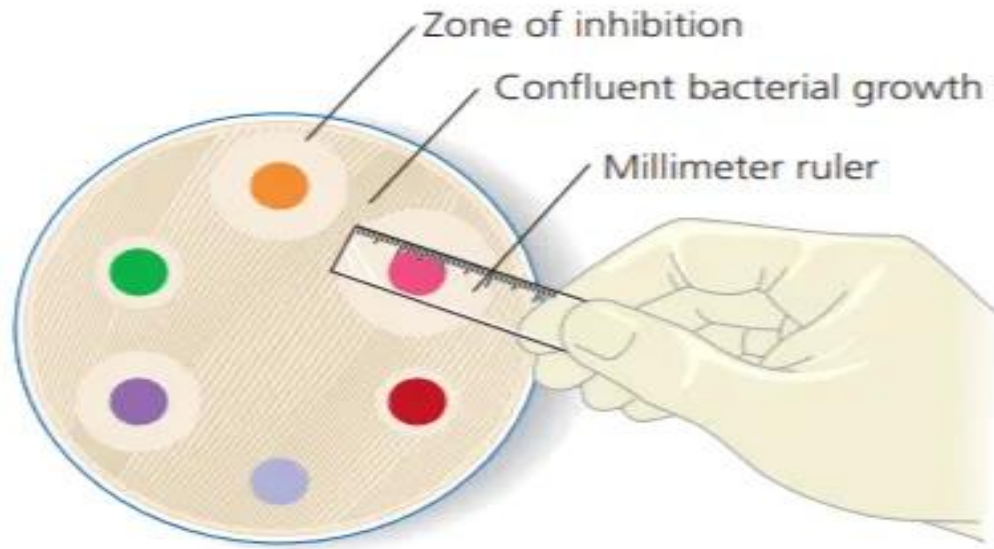
1a Dispense antibiotic discs with the dispenser.

OR



1b Space antibiotic discs equidistant from each other on the inoculated plate with a sterile forceps.

2 Gently touch each disc with a sterile applicator or forceps.



3 Following incubation, measure the diameter of each zone of inhibition with a millimeter ruler.