السيطرة على الاحياء المجهرية **د.خالد حسك عبد الحسن**

Control of Microbial Growth

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 .

العوامل المؤثرة في عملية السيطرة على الميكروبات

1. نوع الاحياء المجهرية وعددها : تتباين حساسية الاحياء المجهرية تجاه عوامل السيطرة تكون السبورات اكثر مقاومة من الخلايا الخضرية.

2 – الحالة الفسيولوجية للخلايا :يؤثر الوضع الفسلجي في مقاومة الاحياء المجهرية لعوامل السيطرة المختلفة فأن الخلايا الفتية اكثر حساسية من الخلايا البالغة

3– العوامل البيئية المحيطة :يؤثر الوسط التي تنمو فيه الاحياء المجهرية على سرعة هلاكها فوجد ان تأثير الحرارة العالية في الوسط الحامضي اكثر من الوسط المتعادل وكذلك وجود التراكيز العالية من الكاربوهيدرات او البروتينات او الدهون يزيد من مقاومة الاحياء المجهرية تجاه عوامل السيطرة .

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:

1– احداث خلل او ضرر او تلف جدار الخلية

2– خلل في نفاذية الغشاءالسايتوبلازمي للخلية

3– تدمير البروتين والأحماض النووية

4–التأثير على الانزيمات

4–منع تخليق البروتينات والاحماض النووية

الطرق الفيزيائية للسيطرة على الميكروبات

Microbial Control by Physical Methods

أولا: الحرارة Heat

تُعتبر الحرارة من أكثر الطرق استعمالا لقتل الاحياء المجهرية 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.

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

استخدام الحرارة الجافة Dry heat

- 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.

- استخدام الهواء الجاف الساخن:

حيث توضع الأدوات المراد تعقيمها في جهاز الفرن Oven عند درجة حرارة 170° 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.

استخدام الحرارة الرطبة Moist heat

1- 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. وتسخدم فيها درجات اقل من 100° م. والهدف منها القضاء على البكتيريا المرضية وان المواد المبسترة لايمكن حفظها مدة طويلة مالم تحفظ في درجات حرارة واطئة

2-درجة حرارة الغليان : وتهدف للتخلص من كافة الخلايا الخضرية وبعض سبوراتها والاعفان والخمائر والفيروسات ولكن لاتقضي على بعض سبورات البكتريا وتستخدم مع الاغذية ذات الحموضة العالية او الاغذية التي تحتوي تراكيز عالية من الاملاح او السكريات . الغلي هو أحدى طرق التعقيم بالحرارة الرطبة الا أن الغليان لا يمكن اعتباره طريقة تعقيمية يعتمد عليها .

3-درجة حرارة البخار 100 ْم :

تسمى هذه المعاملة بالتعقيم المجزأ tyndalization يستخدم بخار الماء لتعقيم بعض الاوساط الزرعية والكيميائية والاغذية التي يتغير تركيبها عند تعريضها لحرارة اكثر من 100 ْم في هذه الطريقة يتم تعريض هذه الموادعلى درجة حرارة 100 ْم لمدد معينة يوميا ولمدة ثلاثة ايام ويتخلل هذه المعاملات مدة حضن بواسطتها يسمح لنمو سبورات البكتريا المقاومة للحرارة الى خلايا خضرية حيث تهلك هذه الخلايا اثناء معاملة الحرارة التالية وهكذا .

4-التعقيم Sterilization

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 أتوكلاف 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 الأوتوكلاف Autoclaves فإن البخار تحت ضغط 15 باوند/البوصة المربعة تصل درجة حرارته إلى 121 ْم، وهذه كافية لقتل جميع صور الحياة الميكروبية بما فيها السبورات في مدة 15 دقيقة أو أكثر بقليل حسب كمية المادة المراد تعقيمها. وتستخدم طريقة التعقيم هذه Autoclaving لتعقيم البيئات المغذية، الأدوات، القطن،... إلخ، وكل ما يستطيع تحمل درجة الحرارة والضغط العالي.

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 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 freeze drying .

رابعا: الضغط الأوزموزى 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 تؤدي إلى سحب الماء من داخل الخلية الميكروبية. وهذه الطريقة تشبه إلى حد كبير طريقه التجفيف 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. 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 ... 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.

سادسا: التبريد والتجميد

تعمل درجات الحرارة المنخفضة على تثبيط نمو الاحياء المجهرية من خلال تثبيط الفعاليات الايضية واذا استمر الانخفاض في درجة الحرارة والوصول الى درجة الصفر م يؤدي الى توقف النمو تماما اذ لايمكن اعتبار درجات الحرارة الواطئة وسيلة تعقيم ولكنها تعد طريقة لحفظ الاغذية والمزارع البكتيرية.

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:

1. سرعة التأثير.
2. ذات مدى تأثير واسع على الميكروبات.
3. القدرة على التخلل داخل الجسم المعامل.
4. قابليتها للخلط مع الماء لتكوين محلول أو مستحلب ثابت.
5. لا تتأثر بالمواد العضوية التي قد تكون موجودة على المادة المراد معاملتها.
6. لا تتحلل وتفقد فعاليتها عند تعرضها للضوء، أو الحرارة، أو الظروف غير المناسبة.
7. لا تؤثر في المادة المعاملة بالصبغ أو التدمير،...إلخ.
8. ليس لها تأثير ضار على الإنسان أو الحيوان إذا كانت ستستخدم كمطهر للجروح.
9. يستحسن أن تكون لها رائحة مقبولة واقتصادية في السعر وسهلة النقل.

قليل من المواد الكيميائية تستخدم في التعقيم (Sterilization) وهذه يكون لها تاثير قاتل وتسمى ومنها بعض الغازات مثل الفورمالين Formalin

بعض المواد الكيميائية تستخدم في التطهير Disinfection والتي قد يكون لها تاثير مثبط على نمو الاحياء الدقيقة كما قد يكون لها تاثير قاتل

المواد الكيميائية التي تستخدم لقتل الاحياء الدقيقة على الاجسام الغير حية تسمى Disinfectants chemical

المواد الكيميائية التي تستخدم لقتل او تقليل الاحياء الدقيقة على الاجسام الحية تسمى Antiseptic chemical

موقع تاثير المواد الكيميائية قد يكون الجدار الخلوي او بناء البروتين او DNA او تتداخل مع العمليات الايضية للكائن الدقيق

الكحول الايثيلي Ethyl alcohol عند تركيز 70% يعمل على قتل الكائن الدقيق نظرا لقدرة هذا التركيز من الكحول على تخثير Coagulation البروتين واذابة الدهون Dissolves وهذا تاثير قاتل، في حين ان التركيز 100% يعمل على تجفيف Dehydration الخلايا دون قتلها وهذا تاثير مثبط بناء على ذلك فان درجة تاثير المادة الكيميائية على الكائن الدقيق لايرتبط بالتركيز العالي للمادة الكيميائية

الالدهيدات Aldehydes منها الفورمالدهيد Formaldehyde وله تاثير كبير على تثبيط البروتينات

الهالوجينات Halogenes

- **الايودين Iodine** يعمل على قتل الميكروبات عن طريق التاثير المباشر على الانزيمات والبروتينات الخلوية حيث يرتبط مع الحامض الاميني التيروسين Tyrosine

-**الكلورين Chlorine** يعمل على تقليل عدد الاحياء الدقيقة في المياه حيث انه يكون حمض فوق اكسيد الكلورين Hypochlorous acid عندما يضاف للماء، كما يمكن ان يستخدم على هيئة غاز Cl_2 او على هيئة مركبات مثل sodium hypochlorite

المعادن الثقيلة heavy metals

الفضة تعتبر Antiseptic

الزئبق يستخدم Antiseptic لجروح الجلد

النحاس يستخدم في المسابح للتحكم في نمو السيانوبكتيريا Cyanobacteria

الفينول Phenol بعض مشتقات الفينول مطهرات قوية مثل مشتقات الديتول التي تستخدم لتعقيم الارضيات واسطح المناضد التي يجرى عليها عمليات العزل ويعتبر المادة الاولى المستخدمة لغرض تحطيم الاحياء الدقيقة

اكسيد الايثلين Ethylene oxide يستخدم لتعقيم الورق والجلود والجروح.

الطرق الفيزيائية المستخدمة للسيطرة على نمو الميكروبات

أولا: طرق التعقيم بالحرارة

الطريقة	ميكانيكية التأثير	المواد . الأدوات	ملاحظات
التعقيم بالحرارة الرطبة:			
الغليان أو تيار البخار	تغيير طبيعة الميكروب	أطباق بتري، الأحواض الزجاجية، مختلف الأجهزة.	قتل البكتريا السالبة والفطريات الممرضة والعديد من الفيروسات خلال 10 دقائق.أقل تأثيراً على السبورات
التعقيم بالأتوكلاف	تغيير طبيعة الميكروب	البيئات الميكروبية، المحاليل، الأدوات، الملابس، الأجهزة، وأي أدوات تتحمل درجات الحرارة المرتفعة مع الضغط.	طريقة فعالة جداً للتعقيم، ويكون على 121° م تحت ضغط 15 رطل / بوصة^2. وفيها تُقتل جميع الخلايا الخضرية والسبورات خلال حوالى 15 دقيقة.
التعقيم بالحرارة الجافة			

اللهب المباشر	الاحتراق الكامل والتحويل إلى رماد.	إبر التلقيح والمشارط والملاقط	طريقة فعالة جداً للتعقيم التام
الحرق	الاحتراق الكامل والتحويل إلى رماد.	الأكواب الورقية، الملابس، الأكياس، المناشف الورقية.	طريقة فعالة جداً للتعقيم التام
التعقيم بالهواء الساخن	تغيير طبيعة الميكروب	الزجاجات الفارغة، الماصات، السرنجات..	طريقة فعالة جداً ولكن تحتاج إلى درجة حرارة 170° م لمدة ساعتين تقريباً.
البسترة	تغيير طبيعة الميكروب	اللبن، الكريم، بعض المشروبات الروحية.	معاملة اللبن على درجة حرارة 72م لمدة حوإلى 15ثانية مما يؤدى إلى قتل كل البكتريا الممرضة وبعض غير الممرضة.
الحرارة المنخفضة: التبريد	يؤدى إلى قلة التفاعلات الكيميائية	الأغذية، الأدوية، حفظ المزارع الميكروبية.	لها تأثير موقف لنمو البكتريا
التجميد	يؤدى إلى قلة التفاعلات الكيميائية	الأغذية، الأدوية، حفظ المزارع الميكروبية.	طريقة فعالة لحفظ المزارع الميكروبية ما بين – 5 و – 95° م.

ثانيا طرق التعقيم الأخرى

الضغط الأسموزي	بلزمة الخلايا الميكروبية	حفظ الأغذية	من نتيجتها أن تفقد الخلايا الميكروبية الماء الموجود داخلها.
الإشعاع			

1.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 المعتاد.
2.الغير متأين	إحداث أضرار للـ DNA بواسطة الأشعة فوق البنفسجية.	تُطبق عملياً باستخدام مصدر للأشعة فوق البنفسجية.	الإشعاع ليست لديه قدرة كبيرة على النفاذية.