جامعة البصرة كلية الزراعة

محاضرة الثانية/

### طرق التعقييم: Sterilization methods

معظم الدراسات المايكروبايلوجية تعتمد على المزارع النقية اي المشتملة على نوع واحد من الكائنات الحية المجهرية وهذه تتطلب لنموها بيئات غذائية معقمة.

#### Sterilization: التعقييم

هو عبارة عن العمليات التي من شأنها قتل أو أزالة كل الكائنات الحية الدقيقة من الوسط المراد تعقيمه سواء كان هذا الوسط بيئة غذائية أو محاليل مختلفة أو أماكن أو مسطحات محددة في أبعادها وأحجامها.

والاشياء المعقمة يمكن الاحتفاظ بها على صورة معقمة طالما أمكن المحافظة عليها من التلوثات الخارجية .

## طرق التعقييم:

- 1) طرق فیزیائیة Physical method
- 2) طرق کیمیائیة Chemical method
- 3) طرق میکانیکیة (الترشیح) Filtration method

# 1- طرق الفيزيائية:

وتشمل الحرارة المرتفعة وكذلك بعض الاشعاعات ولكن اهم هذه الطرق هي :-

أولا:- الحرارة:

- أ) التعقيم بالحرارة الجافة Dryheat sterilization
  - 1- أفران الهواء الساخن Hot air ovens

(كما في المحاضرة السابقة 180 م $^{0}$  لمدة 3 ساعات)

## 2- اللهب المباشر Incineration heat

عادة يستخدم اللهب المباشر من مصباح بنزن في تعقيم أبر التلقيح المستقيمة أو ذات العقدة وذلك بتسخينها حتى درجة الاحمرار وتصنع هذه الابر عادة من أسلاك تسخن بسرعة وتبرد بسرعة فعندما تسخن الى درجة الاحمرار يهلك كل مايلوثها من الكائنات الحية وتترك لتبرد لفترة ثواني قليلة ثم تستخدم في التلقيح.

#### 3- التلهيب الكحولي Alcohol flaming

يمكن تعقيم بعض الادوات كالمشرط او الملقط او المقص وذلك يغمر الجسم المراد تعقيمية في الكحول (كحول الايثانول)ثم يعرض للهب فيشتعل ما يعلق به من كحول ويعمل على قتل الكائنات الدقيقة .

# ب)التعقيم بالحرارة الرطبة: (moist heat ):

ويقصد بها استغلال بخار الماء في اجزاء التعقيم بدلا من استخدام الهواء الساخن وقد يشغل البخار مباشر او أن الضغط حتى ترتفع درجة الحرارة البخار تحت الضغط المرتفع ولان الحرارة الرطبة هي اكثر كفاءة من الحرارة الجافة في قتل الاحياء المجهرية وذلك لان لها القدرة على التغلغل داخل الخلايا كما ان لها القدرة الاكبر على تخثير البروتين فهي بذلك تفسد الطبيعة الغروية للبروتوبلازم.

# 1)جهاز آرنولد(التعقيم الجهاز العادي): (Arnold)

فيستخدم لتعقيم الاوساط الغذائية والمحاليل التي لا تتحتمل التعرض لدرجات حرارية اعلى من (100) درجة مئوية وتغير خواصها الطبيعية والكيميائية حيث تتعرض هذه المواد في الجهاز آرنولد الى بخار في درجة حرارة (100) درجة مئوية ولمدة نصف ساعة و (3) ايام متوالية.

والغاية من ذلك هو في اليوم الاول تقتل الخلايا الخضرية وفي نفس اليوم خلال فترة الحضن تنبت السبورات المقاومة للحرارة وتكون خلايا خضرية وهذه تقتل في اليوم الثاني وفي هذا اليوم ينبت ماتبقى من السبورات خلال فترة الحضن والتي لم يتيح لها الانبات باليوم الاول وفي اليوم الثالث هو تقتل لضمان عملية التعقيم.

# 2)البخار تحت الضغط: (الاوتوكليف):

يوجد في المحاضرة السابقة.

## ثانيا) الاشعاع:

تتكون اشعة الشمس من اشعاعات ذات اطوال موجة مختلفة هي الاشعة المرئية والاشعة تحت الحمراء والاشعة فوق البنفسجية وهذه تعمل حالة اضطراب في الخلية حيث تؤثر على البروتوبلازم وتستخدم مصابيح خاصة تشع الاشعة فوق البنفسجية لتعقيم الهواء غرفة العمليات وهواء غرفة العزل وتنقية الاحياء المجهرية وتعقيم بعض السوائل والمواد الغذائية.

## الطرق الكيميائية:

هناك العديد من المواد الكيميائيه تستخدم كمعقيمات في تراكيز معينه تؤثر على الكائنات الدقيقه وتقتلها ولكن هذه لا تستخدم في تعقيم الادوات البكتريولوجيه التي تتمي بها كائنات حيه وتستخدم في تعقيم مناضد العمل بغسل الايدي والتعقيم السطحي لبعض الامور التي لا يمكن تعقيمها بالحراره .

## 1. الفينول والكريسول:

تستخدم في قتل الاحياء المجهرية حيث يعتبر الفينول قياسي تقارن به كل المعقمات يستخدم في المائيه بتركيز 5% ويستخدم في ترشيحات المرض والبول والغائط وهو يقتل الاحياء طريق تكفير البروتينات وهناك مشتاقات من الفينول هي اقوى من الفينول وهي هكساكلوروفين والكريسول .

#### 2.الكحول

يكون تاثيره كمعقم اذا استخدم بتركيز (50-70)% والفكره الاساسيه الفعل السام للكحول لانه يعمل علي تجفيف الخليه (Dehydrating agent) حيث يسحب الماء من الخليه وايضا يجفف البروتين الخلوي عندما يدخل الى داخل الخليه .

تقل الكفاءه التعقيمية للتراكيز الكحوليه اللتي تزيد عن70% وكذلك الكحول المطلق يرجع لفعلها بدرجه تعيق دخول الكحول الى داخل الخليه التراكيز العاليه توقف النمو و لا تقتل الكائنات الحيه.

## 3. اليود ومركباته

استخدامه شائع كمعقم جلدي يستخدم عادة بصوره صبغه اليود بتركيز 2% واليود سام آذا استخدم عن طريق الجهاز الهضمي.

#### 4. الفلزات الثقيلة وإملاحها:

ومنها مركبات الزئبق والاكثر كلوريد الزئبق بتركيز 0.1% ويتميز بفعالية كبيرة كمعقم وكذلك سترات ونترات الفضة ومحلول مخفف من كبريتات النحاس الذي يستخدم للقضاء على الطحالب في خزانات المياة وبرادات المياة والبحيرات .

#### 5. الصبغات:

الصبغات القاعدية لها القابلية على الاتحاد مع المركبات الحامضية الموجودة داخل الخلية والصبغات الحامضية تتحد مع المركبات القاعدية داخل الخلية وهذا الاتحاد يمنع (يخل) بالتحول الغذائي للخلية وبذلك يمنع نموها.اصباغ الكريستل فايوليت بتراكيز المعنية تقضي على نحو بعض البكتيريا ويمكن استخدام هذه الخاصية للقضاء على انواع معينة من البكتيريا و الاحتفاظ بالانواع الاخرى

## 6.الكلور ومركباته الكلورونية :.

حيث يميل الكلور ومركباته مكان الصدارة من المواد المستعملة كمعقمات فغاز الكلور يضاف الى الماء والمعدلات التالية توصف عملية التعقيم بالكلور ويعتبر الاوكسجين مؤكسد قوي يقتل الاحياء عن طريق الاكسدة او الاتحاد المباشر مع بروتين الخلايا.

\*ملاحظة اضافة مواد اخرى تستخدم مثل مضادات الحياة الاحماض والقواعد و مركبات السلفا و الفورمولديهايد .

# 7. الطرق الميكانيكية (الترشيح):.

وتستخدم لتعقيم السوائل التي لا تتحمل لتعرض لدرجة حرارة مثل السيروم الدم ومضادات الحياة ومحاليل السكريات وفيها تمر السوائل المراد تعقيمها خلال مرشحات لا تسمح بمرور خلاياه احياء ويشترط بالمحاليل خلوها من المواد المعلقة الغرويات التي تسد الثقوب المرشح

# انواع مرشحات:.

- 1. مرشح الزايتس Seitzs filter
- 2. بيركفيلد Berkefeld filter
- 3. شمبرلاند Chemberland filter
- 4. سنترد کلاسSintered glass filter

\*ويجب تعقيم المرشح و اواني الجمع مثل ترشيح في جهاز الاوتوكليف.