

أحياء التربة المجهرية العملي

الاستاذ المساعد سهيله جواد كاظم

قسم علوم التربة والموارد المائية

كلية الزراعة/ جامعة البصرة

العراق

suhailajowad@gmail.com

طرائق التعقيم : Sterilization Methods

معظم الدراسات الميكروبيولوجية تعتمد على المزارع النقية اي المشتملة على نوع واحد من الكائنات الحية المجهرية وهذه تتطلب لنموها بيئات غذائية معقمة ويعرف التعقيم Sterilization على انه عبارة عن العمليات التي من شأنها قتل او ازالة كل الكائنات الحية الدقيقة من الوسط المراد تعقيمه سواء كان هذا الوسط بيئة غذائية او محاليل مختلفة او اماكن او مسطحات محدودة في ابعادها واحجامها . ان الاشياء المعقمة يمكن الاحتفاظ بها على صورة معقمة طالما امكن الحفاظ عليها من التلوثات الخارجية .

طرق التعقيم

1- طرق فيزيائية

2 - طرق كيميائية

3 - طرق ميكانيكية

الطرق الفيزيائية physical methods :

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

أ- التعقيم بالحرارة الجافة : Dry heat sterilization وتشمل

1- افران الهواء الساخن Hot air ovens : حيث ترتفع درجة حرارة الهواء المحيط بالأدوات المراد تعقيمها حتى تصل من 160-180 °م ولمدة 2 - 3 ساعة . يتم قتل الكائنات الحية الدقيقة التي تلوث الادوات بالحرارة الجافة نتيجة التجفيف السريع الذي يطرأ على خلاياها وكذلك نتيجة لأكسدة محتويات الخلية . تستعمل هذه الطريقة في تعقيم الزجاجيات مثل انابيب الاختبار والماصات والدوارق الفارغة واطباق بتري ولكن لا تستعمل هذه الطريقة في تعقيم البيئات الغذائية والمحاليل وغيرها حيث يخشى عليها من الجفاف .

2- اللهب المباشر لدرجة الاحتراق : Incineration heat : يستعمل اللهب المباشر من مصباح بنزن في تعقيم الـ Needles والـ Loop وذلك بتسخينها حتى درجة الاحمرار ثم تترك لتبرد لفترة ثواني قبل ان تستعمل في تلقیح المزارع النقية .

ب - التعقيم بالحرارة الرطبة : Moist heat

وهو استغلال بخار الماء في التعقيم بدلا من الهواء الساخن . وتكون الحرارة الرطبة اكثر كفاءة من الحرارة الجافة في التعقيم لأنها اكثر قدرة على التغلغل داخل الخلايا كما انها ذات قدرة اسرع في تخثير البروتين الخلوي وهي بذلك تفسد الطبيعة الغروية لبروتوبلازم الخلايا الحية . وتشمل طرق التعقيم بالحرارة الرطبة ما يلي :

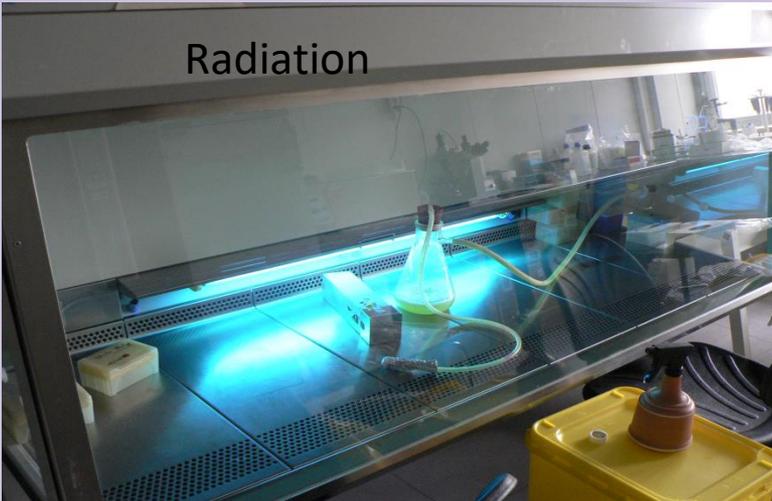
1 - معقم ارنولد : Arnold sterilizer : وفيه يتم التعقيم بالبخر العادي ويستعمل لتعقيم الاوساط الغذائية والمحاليل التي لا تتحمل التعرض لدرجات حرارية اعلى من 100°C بسبب تغير خواصها الطبيعية والكيميائية و يتم التعقيم في هذا النوع من الاجهزة على ثلاث فترات في ثلاثة ايام متتالية ويسمى التعقيم المتقطع او التندلة (Tyndallization) . ففي اليوم الاول تعرض المواد المراد تعقيمها الى البخر (100°C) لمدة نصف ساعة ثم تترك لتبرد وتوضع بالحاضنة على درجة 30°C او في درجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة وفي اليوم الثاني والثالث تكرر العمليات السابقة ثم تحفظ البيئات التي في اليوم الثالث بالحاضنة على درجة حرارة 30°C للتأكد من كفاءة التعقيم . ان الغاية من ذلك هو في اليوم الاول تقتل الخلايا الخضرية وفي نفس اليوم خلال فترة الحضانة تنبت السبورات المقاومة للحرارة وتكون خلايا خضرية وهذه تقتل في اليوم الثاني وفي هذا اليوم ينبت ما تبقى من سبورات خلال فترة الحضانة والتي لم يتح لها الانبات باليوم الاول وفي اليوم الثالث هو لضمان عملية التعقيم

2 - الاوتوكليف Autoclave : وفيه يكون التعقيم بالبخر تحت الضغط حيث يصل الضغط داخل الجهاز الى 15 باوند / انج² فيزيد من درجة حرارة التعقيم لتصل الى 121°C وعندما تصل درجة الحرارة والضغط الى هذه الدرجة يحسب وقت التعقيم ويختلف الوقت باختلاف طبيعة وحجم المواد المراد تعقيمها ويستعمل الاوتوكليف في تعقيم البيئات الغذائية الصلبة والسائلة ومحاليل السكريات والاملاح المختلفة وكذلك يستعمل في تعقيم المزارع القديمة قبا التخلص منها .

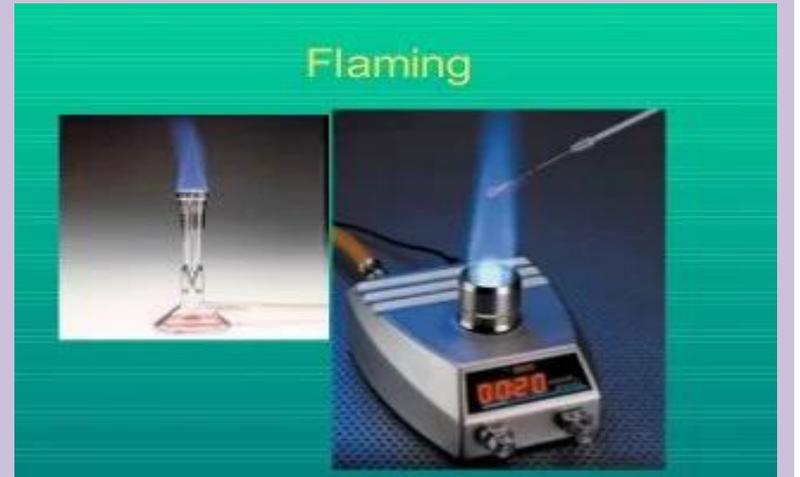
Oven



Radiation



Flaming



ثانيا : الاشعاع :

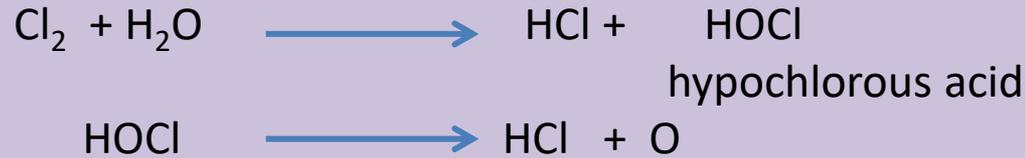
ان لبعض الاشعاعات تأثيرا ضارا على خلايا البكتريا والفطريات والفيروسات وتستهمل هذه الاشعاعات في تعقيم غرف العمليات الجراحية او في تعقيم غرف التلقيح الملحقة بالمختبرات الميكروبيولوجية او في تعقيم السطوح الكبيرة الملوثة او في محطات الحجر الزراعي . تستعمل الاشعة فوق البنفسجية Ultraviolet radiation في تعقيم اطباق بتري او الماصات المصنوعة من البلاستيك بعد تغليفها في اكياس من البولي اثيلين . كما يمكن استعمال اشعة كما Gamma radiation في تعقيم الاجهزة العلمية والمواد الطبية التي تستعمل مرة واحدة مثل القفازات والحقن الطبية . وتستهمل ايضا الاشعة السينية X-ray في التعقيم ويعزى التأثير المميت للأشعة الى الاكسدة الضوئية لـ DNA .

2- الطرق الكيميائية Chemical Methods :

هناك العديد من المواد الكيميائية تستعمل كمعقمات في تراكيز معينة تؤثر على الكائنات الدقيقة وتقتلها ولكن هذه المواد لا تستعمل في تعقيم الادوات البكتريولوجية التي تنمي بها كائنات حية وتستهمل في تعقيم مناضد العمل وغسل الايدي والتعقيم السطحي لبعض المواد التي لا يمكن تعقيمها بالحرارة وفيما يلي بعض هذه المواد :

أ - كحول الايثانول : يستعمل عادة كحول الايثانول بتركيز يتراوح بين 50- 70 % في تطهير الايدي او المناطق المخلفة في جسم الانسان وفعله السام بسبب انه يعمل على تجفيف الخلايا Dehydrating agent حيث يسحب الماء منها بالاضافة الى قدرته على تخثير البروتين الخلوي عندما يدخل الخلية وبذلك يؤدي الى موت الخلية . ان قلة الكفاءة التعقيمية للتركيزات التي تزيد عن 70 % قد يرجع الى زيادة الفعل المجفف للكحول اي زيادة كمية الماء المزالة من الخلايا بدرجة تعوق دخول الكحول الى الخلايا لذلك فان تأثير التركيزات المرتفعة يكون موقفا للنمو وليس مميتا .

- ب - الفينول : يستعمل بتركيز 2 - 5 % للتعقيم السطحي لأرضيات الغرف وفي تعقيم المناضد التي تجري عليها عمليات العزل والتنمية للكائنات الحية وبعض الأدوات والاجهزة وهو يقتل الكائنات عن طريق تخثير البروتين وهناك مشتقات من الفينول هي اقوى من الفينول وهي الكريسول والهكساكلوروفين .
- ج- اليود ومركباته : يستعمل اليود كمعقم جلدي بصورة صبغة اليود بتركيز 2 % ومن المحتمل ان يعمل اليود على تأخير تخليق البروتين الخلوي او يؤثر على DNA .
- ح- الفلزات الثقيلة واملاحها : ومنها مركبات الزئبق والاكثر استعمالا هو كلوريد الزئبق بتركيز 0.1 % ويتميز بفعاليتها الكبيرة كمعقم ويستعمل في تعقيم اسطح مناضد العمل كما يستعمل للتعقيم السطحي للأجزاء النباتية المصابة ويرجع الفعل السام الى ارتباط ايونات الزئبق بمجاميع السلفاهيدريل في البروتين الانزيمي فيتوقف نشاط الانزيمات او يؤدي الى تخثير البروتين الخلوي وهناك مركبات اخرى مثل سترات ونترات الفضة ومحلول مخفف من كبريتات النحاس .
- خ- الكلور ومركباته : يحتل الكلور ومركباته مكان الصدارة من المواد المستعملة كمعقمات فغاز الكلور يضاف الى الماء والمعادلات التالية توصف عملية التعقيم بالكلور .



يعتبر الاوكسجين الناتج من هذا التفاعل مؤكسد قوي يقتل الاحياء المجهرية عن طريق الاكسدة او الاتحاد المباشر مع بروتين الخلية .

3- طرق الترشيح (الطرق الميكانيكية) :

تستعمل لتعقيم السوائل التي لا تتحمل التعرض لدرجات الحرارة مثل سيرم الدم ومضادات الحياة ومحاليل السكريات وفيها تمرر السوائل المراد تعقيمها خلال مرشحات لا تسمح بمرور خلايا الاحياء المجهرية ويشترط بالمحاليل خلوها من المواد العالقة او الغرويات التي تسد ثقب المرشح . مثل

1 - مرشح زائتس Seitz filter

2- مرشح بيركفيلد Berkefeld

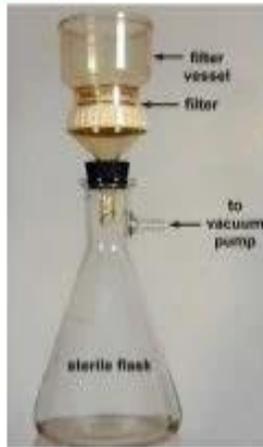
3 - مرشح شمبرلاند Chamberland

4- مرشح سنترد Sinterd glass filter

يجب تعقيم المرشح واواني الجمع قبل الترشيح في جهاز الاوتوكليف .

Filtration

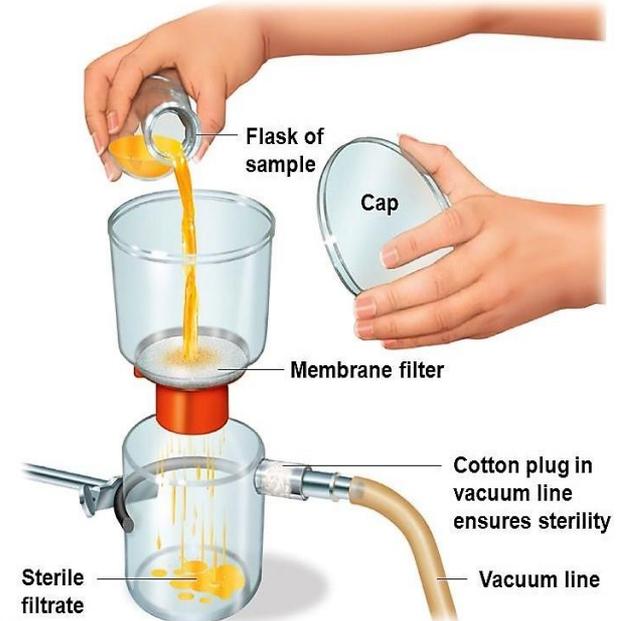
Sterilize solutions that may be damaged or denatured by high temperatures or chemical agents.



12/20012

Dr.T.WassMD

54



© 2013 Pearson Education, Inc.