دانشگاه اصفهان
دانشکده علوم و فناوری های زیستی، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی،
آزمایشگاه میکروبیولوژی

آزمایشگاه میکروب ۲

بررسی اثر عوامل فیزیکی و شیمیایی بر روی رشد باکتری ها
(الکل ، ساولون و حرارت)

تهیه کننده : سهیلا عباسی

- اگرچه سیستم ایمنی معمولا وظیفه از بین بردن و دور نگه داشتن میکروب ها را از بدن ایفا می کنند ولی کنترل میکروب ها در خارج از بدن هم با عوامل مختلف می تواند بر علیه عوامل بیماریزا بسیار موثر باشد.
- کنترل موثر میکروب های مولد بیماری نیازمند اطلاعات درستی از روشها و عوامل در دسترس از جمله روشهای فیزیکی و شیمیایی برای محدود نمودن رشد آنها با از بین بردن آنها است.
- استریلیزاسیون شامل از بین بردن یا حذف تمام اشکال حیات از جمله فرمهای رویشی ، اسپورهای باکتریها و همچنین ویروسها می باشد. برای مثال در اعمال جراحی، جراح از وسایلی که قبلا به روشهای مختلف استریل شده است استفاده می نماید.
- عواملی که میکروبها را می کشند، microbicidal (ساید ال = کشتن) و بطور عمومی تر germicides نامیده می شوند. این مواد اگر اختصاصا باکتریها را بکشند ، bactericidal و اگر قارچها را بکشند ، fungicidal نامیده می شوند.

- متدهای فیزیکی و عوامل شیمیایی مختلفی هستند که قادر به تخریب میکروب ها بر روی مواد غیر زنده و یا پوست بدن می باشند.
- اگرچه ، وقتی اشیا استریل دوباره تنها یکبار در مجاورت هوا قرار گیرند، به میکروبهای موجود در هوا و محیط اطراف آلوده می شوند. اغلب در تجربیات روزانه به موادی برخورد می کنیم که با جمعیت میکروبی آنها کاهش یافته است یا رشدشان مهار شده است .
- Sanitization یا پاکسازی و مطابق با اصول بهداشتی عمل کردن ، شامل روشهایی است تعداد میکروبهای پاتوژن را کم می کند یا از رشد آنها ممانعت می نماید. اگر به این پاتوژنها زمان کافی و شرایط مناسب داده شود دوباره رشد کرده و باعث فساد و ایجاد بیماری می شوند. بسیاری از عوامل شیمیایی هستند که اینکار را انجام می دهند و به نام Microbiostatic نامیده می شوند که اگر این اثر را روی باکتریها انجام دهند، Bacteriostatic و اگر روی قارچها اثر کند، Fungistatic نامیده می شوند. بطور کلی عوامل فیزیکی و شیمیایی مختلفی در این رابطه مورد استفاده هستند که در اینجا برخی از آنها آورده شده است.

اثر عوامل شیمیایی مواد ضد عفونی کننده بر روی رشد میکروبها

- عوامل فیزیکی برای کنترل میکروبها بیشتر برای استریلیزاسیون مورد توجه هستند. در مقابل، عوامل شیمیایی، به ندرت باعث استریلیزاسیون می شوند. در عوض آنها باعث از بین بردن پاتوژنها می شوند.
- فرآیند از بین بردن و تخریب پاتوژنها عمل ضدعفونی کردن (Disinfection) نامیده می شود. اگر چیزی که ضدعفونی می شود جاندار نباشد، عامل شیمیایی بکار رفته برای این منظور Disinfectant، و اگر مورد ضد عفونی شده جاندار مثل بافت با بدن انسان باشد ، این عامل به نام Antiseptic نامیده می شود.
- اگر چه ممکن است یک عامل شیمیایی هم بعنوان antiseptic هم بعنوان disinfectant استفاده شود، ولی فرمول شیمیایی آن در این دو نوع محصول و توانایی کشندگی یا غیر فعالسازی آنها نیز متفاوت است.

- . Antiseptic و disinfectantو microbicidal ها معمولا کشنده میکروبها هستند اکثر آنزیمهای اورگانیسم را غیر فعال کرده و در متابولیسم آن دخالت کرده و نهایتا آن را می کشند.

- عوامل شیمیایی می توانند microbiostatic (متوقف کننده رشد میکروب) نیز باشند که باعث تخریب واکنشهای شیمیایی کمتری می شوند و متابولیسم را کند می کنند که باعث افزایش زمان بین تقسیمهای سلولی می شود.

- واژه دیگر sepsis است که اشاره به شرایطی دارد که در آن میکروبها یا سموم آنها در بافت با خون وجود دارند. بنابراین فرد دارای سپتی سمی یعنی اینکه این شخص دارای عفونت میکروبی خون می باشد و آنتی سپتیک یعنی بر علیه عفونت. این ریشه لغت asepsis به معنی خالی از میکروبهای بیماریزا نیز می باشد.

- واژه دیگر در این مقوله sanitize کردن است که کاهش جمعیت میکروبی به سطح استانداردی که توسط استانداردهای سلامت عمومی تعیین شده است می باشد. برای مثال در صنایع لبنیات و غذا، دستگاهها تحت فرایند sanitization قرار می گیرند.

- برای اینکه یک عامل شیمیایی antiseptic با disinfectant خوبی باشد باید خصوصبانی داشته باشد از جمله :

بتواند میکروارگانیسم مورد نظر را بکشد یا رشد آن را کند کند.

برای انسان با حیوان سمی نباشد ، بخصوص اگر بعنوان آنتی سپتیک استفاده می شود.

محلول در آب بوده و عمر مفید یا ماندگاری خوبی نیز داشته باشد که در فعالیت خود را نیز حفظ کند.

در فرم خیلی رقیق هم مفید باشد و در زمان نسبتا کوتاهی بتواند اثر خود را اعمال نماید.

- خصوصیات دیگری نیز برای این مواد در نظر گرفته می شود از جمله : باعث خوردگی در وسابل نشود، پایدار باشد و به خوبی نفوذ کند. علاوه بر این بهتر است قابل دسترس و ارزان قیمت باشد.

- از آنجاییکه ضد عفونی کردن عملی شیمیایی است ، چندین پارامتر شیمیایی نیز در هنگام انتخاب یک ماده ضدعفونی کننده یا آنتی سپتیک از جمله دما و pH باید در نظر گرفته شوند.
- مورد دیگر نوع میکروارگانیسمی است که قرار است حذف شود و سطحی که باید مورد تیمار قرار بگیرد. برای مثال ، حذف اسپورهای باکتریایی نسبت به فرم رویشی تیمار قویتری نیاز دارد.
- همچنین موادی که برای ضدعفونی کردن میزهای آزمایشگاه بکار می رود با آنچه بر روی یک زخم یا استریل کردن یک جسم استفاده می شود متفاوت است. بنابراین تشخیص طبیعت antiseptic یا disinfectan بودن یک ماده شیمیایی قبل از بکار بردن آن لازم می باشد.
- عوامل شیمیایی که بعنوان disinfectant در نظر گرفته می شوند بوسیله آژانس حفاظت محیطی آمریکا (EPA) و فرمول مواد آنتی سپیک توسط وزارت دارو و درمان آمریکا تنظیم و مشخص شده اند.

- در حال حاضر بیش از ۸۰۰۰ ماده ضد عفونی کننده برای مصارف بیمارستانی یا عمومی وجود دارند.
- تعیین کارایی و ارزیابی این عوامل بسیار سخت و خسته کننده است بعلت گستردگی تنوع شرایطی که در آن مورد مصرف قرار می گیرند . یکی از روشهای سنجش کارایی یک ماده شیمیایی تعیین ضریب فنلی می باشد phenol coefficient (PC) که در حقیقت عددی است که نشانگر توانایی یک ماده antiseptic با disinfectantدر مقایسه با فنل تحت شرایط یکسان می باشد.
- وقتی این عدد بیشتر از یک باشد نشاندهنده این است که ماده شیمیایی مورد نظر قویتر از فنل است و اگر این عدد کمتر از یک باشد توانایی ضدعفونی کردن آن کمتر از فنول است.
- ضریب فنولی با یک آزمایش که در آن رقتهای فنل و مواد شیمیایی مورد آزمایش با گونه های باکتریایی استاندارد شده مثل *استافیلوکوکوس آرئوس* و *سالمونلا تیفی* با گونه های دیگر مخلوط می شوند و سپس تکنسین آزمایشگاه تعیین می کند که کدام رقت بعد از ۱۰ دقیقه مجاورسازی قادر به کشتن میکروب بوده ولی بعد از ۵ دقیقه قادر به این کار نمی باشد.

Savlon
Antiseptic Liquid

اثر الکل :

- برای استفاده های عملی الکل اتیلیک یا اتانول ترجیح داده می شود که بر علیه سلولهای باکتریایی رویشی فعال است ولی بر روی اسپورها تاثیری ندارد.
- الکل پروتئینها را دناتوره می کند و لیپیدها را حل می نماید که در نهایت باعث از بین رفتن غشاء سلولی می شود. اتانول همچنین یک عامل قوی دهیدراسیون به شمار می آید.

مواد و وسایل لازم:

- الکل با رقتهای مختلف
- محیط نوترینت براث یا TSB
- پیپت یا سمپلر
- کشت میکروبی ۲۴ ساعته در محیط مایع

روش کار:

- به هر کدام از رقتهای الکلی (۹۶، ۷۰، ۵۰ درجه)، ۱۰۰ میکرولیتر از کشت میکروبی تلقیح می کنیم
- پس از ۱۰ دقیقه ، ۱۰۰ میکرولیتر از هر لوله برداشته و به محیط نوترینت براث منتقل می کنیم و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه می کنیم.
- برای تهیه شاهد نیز ابتدا ۱۰۰ میکرولیت از باکتری را درون ۳ سی سی محیط TSB تلقیح می کنیم و بعد از این محیط ۱۰۰ میکرولیتر باکتری را به محیط نوترینت آگار انتقال داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه می کنیم.
- بعد از این زمان کدورت محلول داخل لوله ها را بررسی کرده و از ۱+ تا ۴+ گزارش می شود.

از حسن توجه شما سپاسگزارم

تهیه کننده : سهیلا عباسی