

به نام خدائی که در این نزدیکیست



اثر عوامل فیزیکی و شیمیائی بر باکتریها

دانشکده پزشکی

گروه میکروب شناسی

اثر عوامل فیزیکی و شیمیایی بر روی باکتریها:

در میکروب شناسی پزشکی کنترل باکتری های ایجاد کننده عفونت بسیار مهم می باشد. جهت کنترل باکتریها، فرآیندهایی وجود دارند که در اینجا مطالعه می کنیم.

استریلیزاسیون Sterilization: فرآیند فیزیکی یا شیمیایی که تمام اشکال میکروبی از جمله اسپورها را از بین می برد. مایکوباکتریومها، ویروس های بدون پوشش (Nonenveloped viruses) و قارچها توسط استریلیزاسیون از بین می روند. استریلیزاسیون می تواند با استفاده از عوامل فیزیکی، بخار گازها یا با استفاده از مواد شیمیایی انجام گیرد. استریل کننده های فیزیکی مانند حرارت مرطوب و خشک شایع ترین روشهای مورد استفاده برای استریلیزاسیون بسیاری از وسایل در بیمارستانها هستند. مواد حساس به حرارت، مواد شیمیایی فرار و مواد سمی را با این روشها نمی توان استریل کرد.

پاستوریزاسیون Pasteurization: فرایندی که با استفاده از حرارت در بازه های زمانی مشخص باعث کشتن باکتری های بیماری زا می شود و بیشتر برای شیر و پنیر کاربرد دارد.

سپتیک Septic یا عفونی: به حضور میکروب های بیماریزا بر روی پوست یا درون بافتهای زنده سپتیک می گویند.

آسپتیک Aseptic: نبود میکروارگانیسم ها یا استفاده از روش هایی در جهت جلوگیری از حضور میکروبها. به عنوان مثال: گفته می شود کاتتر در شرایط آسپتیک تعبیه شود. به معنی این است که با استفاده از دستکش استریل و ماده ضد عفونی طوری تعبیه شود که میکروبها آن را آلوده نکنند.

آنتی سپتیک Antiseptic یا همان ضد عفونی کننده: مواد شیمیایی که برای کشتن یا مهار کردن میکروبها بر روی پوست یا بافتهای زنده استفاده می شود. این مواد فعالیت اسپور کشی ندارند و یا Sporicidal نیستند.

ضد عفونی یا گندزدایی Disinfection: استفاده از روشهای فیزیکی یا مواد شیمیایی برای از بین بردن میکروارگانیسم های بیماریزا از اشیاء یا محیط. به ماده ای که برای گند زدایی استفاده می شود Disinfectant می گویند. برای انسان کاربرد ندارد.

نگهداری یا Preservation: جلوگیری از فعالیت باکتریها یا تغییرات شیمیایی محصولات غذایی و مواد آلی. معمولا برای نگهداری، یک ماده ی شیمیایی را به محصولات غذایی اضافه می کنند که به آن نگهدارنده یا Preservative می گویند مثل اسید سیتریک.

باکتریواستاتیک Bacteriostatic: ماده ای که باعث توقف رشد باکتریها می شود.

باکتریسیدال Bactericidal: ماده ای که باعث کشتن باکتریها می شود.

میکروب ها اغلب متعاقب ضد عفونی نمودن از بین می روند. اگر چه بیشتر ارگانسیم های مقاوم می توانند زنده بمانند متاسفانه اصطلاح استریلیزاسیون و ضد عفونی تصادفاً به جای هم استفاده می شوند که موجب بعضی از اشتباهات می شود. مواد ضد عفونی کننده در سه سطح بالا، متوسط و پائین طبقه بندی می شوند. مواد ضد عفونی کننده سطح بالا می توانند به اندازه استریلیزاسیون موثر باشند. البته در حضور مواد ضد عفونی کننده سطح متوسط اشکال اس-۳ و اس-۴ باقی می ماند. تعداد زیادی از میکروب ها می توانند در حضور مواد ضد عفونی کننده سطح پایین زنده بمانند.

مواد ضد عفونی کننده سطح بالا:

برای مواردی استفاده می شود که روند استریلیزاسیون را نمی توانند تحمل کنند (مثلاً موادی که تحمل دمای اتوکلاو را ندارند). ضد عفونی این وسایل زمانی به بهترین نحو صورت می گیرد که قبل از ضد عفونی نمودن، سطوح وسایل از مواد آلی پاکسازی شوند. مواد شیمیایی مانند گلو تار آل دئید، پراکسید هیدروژن و ترکیبات کلرین نمونه هایی از مواد ضد عفونی کننده سطح بالا هستند.

مواد ضد عفونی کننده سطح متوسط:

این مواد مانند الکل ها، ترکیبات یدوفور و ترکیبات فنل برای پاک کردن سطوح و وسایلی استفاده می شود که احتمال آلودگی آنها با اسپور باکتری ها و و دیگر ارگانسیم های مقاوم مطرح نمی باشد.

مواد ضد عفونی کننده سطح پایین:

مانند ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم که برای وسایلی از قبیل دستگاه فشار خون، الکترودهای الکتروکاردیوگرام و گوشی های پزشکی استفاده می شود. اگر چه این وسایل در تماس با بیمار هستند ولی به داخل مخاط و یا بافت های استریل وارد نمی شوند.

روشهای فیزیکی:

حرارت:

استریل کننده های فیزیکی همچون، حرارت مرطوب و حرارت خشک شایع ترین روش های استریلیزاسیون مورد استفاده در بیمارستانها بوده و برای اکثر مواد و وسایل (به جزء مواد حساس به حرارت، مواد شیمیایی فرار و سمی) کاربرد دارند. حرارت ۱۰۰ درجه سانتیگراد تمامی باکتری ها بجز اسپورها را در عرض ۲ تا ۳ دقیقه می کشد. جوشاندن، باکتریهای رویشی را از بین می برد ولی اسپورها زنده می مانند. برای از بین بردن اسپورها از بخار آب تحت فشار استفاده می شود که روش بسیار کارآمدی برای استریلیزاسیون می باشد. برای ایجاد بخار تحت فشار از دستگاه اتوکلاو (Autoclave) استفاده می شود. (زودپز خانگی هم یک نوع اتوکلاو محسوب می شود). در اتوکلاو دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه سبب کشته شدن اسپورها و استریل کردن می شود. مشخص شده است که باکتری ها زمانی که مرطوب هستند سریع تر کشته می

شوند و همچنان بخار باعث انتقال حرارت در تمامی قسمت‌های اتوکلاو می‌شود. کشتن ارگانیسم در اتوکلاو سریع است ولی تحت تاثیر عواملی مانند دما، مدت زمان اتوکلاو، اندازه اتوکلاو، میزان جریان بخار، اندازه و تراکم مواد و وسایل و جایگاه آنها در اتوکلاو است. از اسپور باکتری باسیلوس استئاروترموفیلوس به صورت آماده و تجاری برای کنترل عملکرد استریلیزاسیون اتوکلاو استفاده می‌شود. یک سرنگ از این اسپورها را در مرکز بسته های مواد یا وسایل اتوکلاو قرار می‌دهند و بعد از اتمام فرآیند اتوکلاو آن را خارج نموده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد (دمای مناسب جهت رشد باکتری) انکوبه می‌نمایند. اگر فرآیند استریلیزاسیون موفقیت آمیز باشد اسپور این ارگانیسم از بین رفته و رشد نمی‌کند.

برای استریل کردن مواد و وسایلی که باید خشک نگه داشته شوند نمی‌توان از اتوکلاو استفاده کرد و به جای آن از دستگاه فور یا آون Oven استفاده می‌شود که در آن از هوای داغ استفاده می‌شود. معمولاً از حرارت ۱۶۰ یا ۱۷۰ درجه برای مدت ۱ ساعت یا بیشتر استفاده می‌شود. بیشتر برای ظروف شیشه ای استفاده می‌شود. استفاده از حرارت خشک به اندازه استفاده از هوای مرطوب موثر نیست زیرا نفوذ و گسترش حرارت آهسته است. کنترل عملکرد با استفاده از اسپور باسیلوس سوبتیلیس که نسبت به هوای خشک مقاوم است انجام می‌شود.

تحت شرایطی که در بالا توصیف شد (یعنی حرارت های زیاد برای دوره های طولانی به کار برده می‌شوند) حرارت با دنا توره کردن (تخریب) پروتئین های سلولی و اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاهای سلولی باعث تخریب باکتری ها می‌شوند.

فیلتراسیون:

فیلتراسیون یک روش مفید برای حذف باکتریها و قارچها از هوا می‌باشد. البته برخی از ویروسها و باکتریهای خیلی ریز ممکن است توسط فیلتراسیون گرفته نشوند. فیلتراسیون همچنین یک روش برای استریل کردن محلولهای قندی و آنتی بیوتیک هاست.

اشعه دهی:

استریلیزاسیون توسط اشعه غیر یونیزان [اشعه ماوراء بنفش (UV)] و اشعه های یونیزان (اشعه گاما) رایج می‌باشد. اشعه های یونیزه کننده در مقایسه با UV در اجسام نفوذ بیشتری دارند و قادر به از بین بردن اسپور باکتریها هستند ولی بر علیه ویروسها کارآیی ندارند.

الف) اشعه فرابنفش یا همان UV (Ultra Violet): با ایجاد دایمرهای تیمین باعث کشتن باکتری ها می‌شود اما اسپورکش نیست. معمولاً برای استریل کردن محیط آزمایشگاه، اطاق عمل، وسایل جراحی، پلیت های میکروب شناسی از لامپ های UV استفاده می‌کنند. اگرچه اشعه ی فرابنفش در طبقه بندی جز استریل کننده ها در نظر گرفته شده ولی چون عملاً فعالیت اسپورکشی ندارد استریل کننده نمی‌باشد.

ب) اشعه های یونیزه کننده مثل اشعه ی گاما و X: هم باکتری کش و هم اسپورکش هستند.

مواد شیمیائی:

الکل ها:

الکل ها فعالیت بسیار بالایی علیه تمامی ارگانیسم ها بجز اسپورها دارند. اتانول و ایزوپروپانول فعالیت ضد میکروبی سریع و وسیع الطیفی بر علیه باکتری های رویشی، مایکوباکتریومها، ویروس های حاوی لیپید و بعضی از قارچها دارند. الکل ها متاسفانه هیچ تاثیری روی اسپورهای باکتریایی ندارند و فعالیت ضعیفی بر علیه بعضی از قارچها و ویروس های فاقد لیپید دارند. فعالیت الکل ها در حضور آب افزایش می یابد به طوری که الکل ۷۰ درصد فعال تر از الکل ۹۵ درصد است. بهترین غلظت اتانول برای ضد عفونی پوست ۷۰ درصد است. الکل یک ضد عفونی کننده ی رایج برای سطوح پوست است و هنگامی که با بتادین استفاده می شود بسیار موثرتر خواهد بود. متانول پائین ترین فعالیت ضد باکتریایی را دارد و برای انسان سمی است.

آلدئید ها:

گلو تارآلدئید و فرمالدئید دو تا از آلدئید های معروف هستند. که برای گندزدائی و استریل کردن دستگاهها، اندوسکوپ ها و لوازم جراحی استفاده می شوند. این مواد در غلظت ۲ درصد فعالیت اسپور کشی دارند. به گلو تارآلدئید ۲ درصد استریل کننده ی سرد هم گفته می شود. گاز فرمالدئید می تواند در آب تا غلظت ۳۷ درصد به صورت محلول (فرمالین) درآید. فرمالین در غلظت کم باکتریواستاتیک بوده و در غلظت های بالا (۲۰ درصد) می تواند تمامی ارگانیسم ها را از بین ببرد. ترکیب فرمالدئید با الکل (۲۰ درصد فرمالین در ۷۰ درصد الکل) می تواند میزان فعالیت باکتریسیدالی آن را افزایش دهد. گلو تارآلدئید فعالیت بیشتری در PH قلیایی دارد (گلو تارآلدئید بوسیله هیدرکسید سدیم فعال می شود) اما در این حالت پایداری کمتری دارد. گلو تارآلدئید فعالیت خود را در حضور مواد آلی از دست می دهد. بنابراین تجهیزات باید قبل از مواجهه با گلو تارآلدئید حتما تمیز و پاکسازی شوند. این مواد برای بدن انسان سمیت دارند و برای پوست استفاده نمی شوند. تماس پوست یا غشاهای مخاطی با فرمالدئید می تواند منجر به مسمومیت گردد و گلو تارآلدئید هم می تواند موجب سوختگی پوست و غشاهای مخاطی شود.

عوامل آزاد کننده هالوژن:

هالوژن ها (ترکیبات ید و کلر) به صورت گسترده ای به عنوان یک ماده ضد عفونی کننده استفاده می شوند. ترکیبات ید دار موثرترین ترکیبات ضد عفونی کننده هالوژن دار بوده که موجب رسوب پروتئین ها و اکسیداسیون آنزیم های ضروری ارگانیسم می شود. ترکیبات ید دار خاصیت میکروبیوسیدی علیه تمام ارگانیسم ها (حتی در مورد اسپور باکتریها و مایکوباکتریوم ها) دارند. PH و غلظت محلول ید تاثیری در فعالیت باکتریسیدالی ید ندارد، البته کارایی محلول ید در غلظت های اسیدی افزایش می یابد، زیرا یدهای آزاد بیشتری ایجاد می شود. ید نسبت به سایر ترکیبات هالوژن دار و آمونیوم چهار ظرفیتی سریع تر عمل می کند. فعالیت ید در حضور عوامل آلی و غیر آلی مانند سرم، مدفوع، مایع آسیت، خلط، ادرار، تیوسولفات سدیم و آمونیاک کاهش می یابد.

عنصر ید می تواند در محلول یدید پتاسیم یا الکل حل شده یا می تواند با یک حامل، کمپلکس تشکیل دهد. ترکیب اخیر یدوفور نامیده می شود (یدو: ید، فور: حامل). استفاده از پایدان آیوداین Povidone Iodine (ترکیب ید با پلی وینیل پیرولیدون) شایع تر بوده و برای بافت و سطوح فلزی نسبتاً غیر سمی است. ید به سرعت باکتریوسید و اسپوروسید است بنابراین تمام اشکال باکتریائی را از بین می برد.

ترکیبات کلر دار مثل هیپوکلریت سدیم (همان وایتکس خانگی) موادی هستند که به عنوان گند زدای سطوح استفاده می شوند. فعالیت باکتری کشی دارند و در غلظت های بالا فعالیت اسپور کشی نیز دارند. کلر در آب معمولاً به سه فرم وجود دارد که عبارتند از: عنصر کلر (Cl_2 که اکسیدان قوی است)، اسید هیپوکلرو و یون هیپوکلریت.

کلر معمولاً با آمونیاک و دیگر ترکیبات نیتروژن دار ترکیب شده و بدین ترتیب کلرامین یا ترکیبات N- کلرو ایجاد می شود. مکانیسم عمل کلر، اکسیداسیون غیر قابل برگشت گروه های سولفیدریل در آنزیم های ضروری باکتری هاست. کارایی کلر با PH رابطه معکوس دارد. ترکیبات کلر دار در PH اسیدی فعالیت بیشتری دارند. این نکته با این مطلب که اسید هیپوکلرو فعالیت بالاتری نسبت به یون هیپوکلریت دارد هماهنگ می باشد، به عبارتی جزء فعال موجود که سبب از بین رفتن باکتری ها و ویروسها می شود، ترکیبات اسید هیپوکلرو می باشد.

فعالیت ترکیبات حاوی کلر با افزایش غلظت و دما افزایش می یابد. با دو برابر کردن غلظت، ترکیبات حاوی کلر ۳۰٪ از زمان مورد نیاز برای کشتن میکروب ها کاهش می یابد. با افزایش ۱۰ درجه سانتیگراد، زمان کشتن میکروب ها ۵۰ تا ۶۵٪ کاهش می یابد.

فنل ها :

ترکیبات حاوی فنل ندرتاً به عنوان یک محلول ضد عفونی کننده استفاده می شوند. از نظر تاریخی این ترکیبات قابل توجه بوده اند، زیرا از فنل به عنوان استاندارد جهت مقایسه فعالیت میکروبیوسیدالی دیگر ضد عفونی کننده استفاده می شد. نسبت فعالیت میکروبیوسیدالی ترکیبات مورد آزمایش به غلظت خاصی از فنل (که همان فعالیت را داشته باشد) را به عنوان ضریب فنل در نظر می گیرند. ضریب فنلی ۱ نشان دهنده فعالیت بیشتر ماده ضد عفونی کننده مجهول از فنل است. ترکیبات فنلی علیه مایکوباکتریوم ها نیز موثر است. زیرا در دیواره این باکتری ها غلظت بالایی از چربی مشاهده می شود و فنل موجب تخریب ترکیبات لیپیدی غشاء و موجب تراوش محتویات سلولی می شود.

مشتقات فلزات سنگین:

سولفادiazین نقره ترکیبی از دو عامل ضد باکتریائی نقره و سولفادiazین است. نقره فلز سنگین است که خاصیت ضد باکتریائی دارد و سولفادiazین هم یک آنتی بیوتیک است. این مواد باکتریها را از بین می برند ولی روی اسپورها تاثیر ندارند.

عوامل اکسیدان

از جمله عوامل اکسیدان می توان اوزن، پراستیک اسید و پراکسید هیدروژن را نام برد. پراکسید هیدروژن یا همان آب اکسیژنه (H_2O_2) دارای طیف فعالیت وسیعی علیه ویروس ها، باکتریها، مخمر ها و اسپورها دارد. در غلظت ۳ تا ۶ درصد بیشتر باکتری ها را از بین می برد و در غلظت های بالاتر حدود ۱۰ تا ۲۵ درصد تمامی ارگانیسم ها از جمله اسپورها را از بین می برد.

ترکیبات چهار تایی آمونیوم:

این ترکیبات دارای دو ناحیه در ساختار مولکولی خود می باشند، یک گروه آب گریز (هیدروفوب) و یک گروه آب دوست (هیدروفیل). بیشترین فعالیت، ناشی از گروه هایی با زنجیره های بلند ۸ تا ۱۸ کربنه در این ترکیبات است. کلریدبنزالکونیوم و کلرید ستیل پیریدینیوم نمونه ای از این ترکیبات می باشند، این ترکیبات باعث دنا توره کردن غشاء و آزاد کردن ترکیبات درون سلولی می شوند. ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی برای انواع مختلفی از اهداف کلینیکی (مانند ضد عفونی پوست غیر آسیب دیده) و تمیز نمودن سطوح سخت استفاده می شوند. این ترکیبات در غلظت پایین خاصیت باکتریواستاتیک داشته و در غلظت بالا خاصیت باکتریسیدال دارند. برخی از سویه های سودمونس به سرعت در محلول حاوی ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی رشد می کند، همچنین تمامی اسپور باکتریها و بسیاری از ویروس ها به آن مقاوم هستند.

استریل کننده های گازی:

ابزارهای پزشکی حساس به حرارت و اطاق های جراحی را می توان با استفاده از اتیلن اکساید یا اکسید اتیلن به طور موثر استریل نمود. اتیلن اکساید، گازی بی رنگ و محلول در آب می باشد. فرآیند استریلیزاسیون نسبتاً آهسته بوده و تحت تاثیر غلظت گاز، رطوبت نسبی، مقدار رطوبت وسیله مورد نظر، دما و مدت زمان مواجهه می باشد. از آن جایی که اتیلن اکساید باعث آسیب به بافت های زنده می شود وسایل استریل شده با این گاز باید عاری از آن باشند که به این منظور ۱۶ ساعت یا بیشتر بعد از استریل کردن توسط گاز، هوادهی شده و سپس استفاده می شوند تا اطمینان حاصل شود که گازی در وسیله مورد نظر باقی نمانده باشد. بیشترین تاثیر اکسیداتیلن در ۳۰ درصد رطوبت است و هر گونه کاهش یا افزایشی در این درصد رطوبت منجر به کاهش فعالیت آن می گردد.

از دیگر گازهایی که برای استریلیزاسیون استفاده می شود می توان به پراکسید هیدروژن و فرمالدئید اشاره کرد.

بخار پراکسید هیدروژن بواسطه خاصیت اکسید کنندگی به عنوان یک استریل کننده موثر مطرح است. بنابراین از گاز پراکسید هیدروژن برای استریل نمودن تجهیزات و وسایل استفاده می شود. در استریلیزاسیون به شیوه پلاسما گاز (Plasma gas) از بخار پراکسید هیدروژن استفاده می شود. از پلاسمای گازی به عنوان حالت چهارم ماده (به عنوان مثال مایعات، جامدات، گازها و پلاسمای گاز) یاد می شود. پلاسمای گاز در محفظه محصور و تحت خلا عمیق با استفاده از فرکانس رادیویی یا انرژی میکروویو تولید می شوند تا مولکول های گاز را تحریک کرده و ذرات باردار تولید کنند که بسیاری از آنها به صورت رادیکال

های آزاد هستند. رادیکال آزاد، اتمی با الکترون جفت نشده است و گونه ای بسیار واکنش پذیر است. مکانیسم عملکرد پیشنهادی این دستگاه تولید رادیکال های آزاد در یک میدان پلاسما است که قادر به تعامل با اجزای ضروری سلول ضروری هستند (به عنوان مثال، آنزیم ها، اسیدهای نوکلئیک) و در نتیجه متابولیسم میکروارگانیسم ها را مختل می کند.

اواخر دهه ۱۹۸۰ اولین سیستم پلاسمای گاز پراکسید هیدروژن برای استریلیزاسیون دستگاه های پزشکی و جراحی تحت آزمایش قرار گرفت. محفظه استریلیزاسیون تخلیه می شود و محلول پراکسید هیدروژن تزریق می شود و در محفظه استریل سازی بخار می شود. بخار پراکسید هیدروژن از طریق محفظه پخش می شود (۵۰ دقیقه) و تمام سطوح بار را در معرض ماده ضدعفونی کننده قرار می دهد و باعث غیرفعال شدن میکروارگانیسم ها می شود. یک میدان الکتریکی ایجاد شده توسط یک فرکانس رادیویی به محفظه اعمال می شود تا یک پلاسمای گازی ایجاد کند. رادیکال های آزاد میکروب کش پلاسما تولید می شوند. به هرحال این روش برای موادی که پراکسید هیدروژن را جذب نموده یا با آن واکنش می دهند کاربرد ندارد.

از جمله محدودیت های استریلیزاسیون با گاز فرمالدئید سرطانی آن است.

جدول شماره ۱: انواع مواد استریل کننده

استریل کننده های فیزیکی حرارت (خشک و مرطوب) فیلتراسیون اشعه ها
استریل کننده های گازی: اتیلن اکساید فرمالدئید پراکسید هیدروژن
استریل کننده های شیمیایی: پراستیک اسید گلو تار آلدئید فرمالدئید