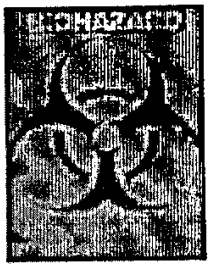
فهرست

- مقدمه ۲
- تعاریف ۲
- روشهاي استريليزاسيون ۳
- روش فيزيكي ۳
- حرارت خشك ۳
- دستگاه فور ۴
- روش كنترل فور ۵
- حرارت مرطوب ۵
- اتو كلاو ۶
- اشعه ۷
- فيلتراسيون ۸
- روش شيميايي ۹
- مكانيسم اثر مواد شيميائی ۱۰
- مواد ضد عفوني كننده ۱۱
- مواد بهداشتي ۱۱
- مواد شيميايي ۱۱
- روشهای نوین استریلیزاسیون. (برای مطالعه) ۱۶
- روش پلاسما ۱۷
- منابع ۱۹



مقدمه

آزمایشگاه یکی از بخش هایی است که افراد حاضر در آن، در سطح گسترده ای در معرض انواع نمونه های آلوده و عفونی قرار دارند. عدم رعایت اصول و دستورالعمل های خاص در این محل می تواند به گسترش عوامل عفونی در سطح یک مرکز درمانی و حتی یک شهر منجر شود. پرسنل آزمایشگاه حتما باید فضای آزمایشگاه را تحت عناوین تمیز، نیمه تمیز و آلوده تقسیم بندی و تعریف نموده و نحوه عمل نمودن در هریک از این فضا ها را مشخص نمایند.

در بخش های مختلف یک آزمایشگاه ، همواره نیاز به از بین بردن آلودگی های بیولوژیکی به منظور های مختلف می باشیم. مثلا هنگام نمونه برداری از بیماران باید تمام اقدامات لازم را جهت محافظت بیماران از آلوده شدن حین نمونه گیری بکار ببندیم، در عین حال دستورالعمل هایی را بکار گیریم تا از آلودگی خودمان و نیز سایر کادر آزمایشگاه، بوسیله نمونه های اخذ شده از بیماران، جلوگیری گردد.

در بخش های مختلف آزمایشگاه نیز همواره نیازمند استریل یا ضدعفونی نمودن پاره ای از وسایل ومواد هستیم تا در روند آزمایش خطا یا اشتباه روی ندهد و نتیجه آزمایش با صحت لازم گزارش شود. علاوه بر این با توجه به اینکه در بخش های مختلف آزمایشگاه بطور وسیعی با نمونه های بیولوژیک اخذ شده از بیماران سر و کار داریم، رعایت دستورالعمل های خاص در برخورد با آن نمونه ها و نیز تمیز نمودن یا ضدعفونی نمودن و استریل نمودن سطوح، وسایل ، ابزار ها و بخش هایی از بدنمان که با مواد عفونی آلوده شده اند در حفظ سلامتی خودمان و نیز مراجعه کنندگان به آزمایشگاه و حصول به یک جواب آزمایش صحیح و ارائه خدمت آزمایشگاهی صحیح و دقیق تاثیر بسزا خواهد داشت.

این سوال که" آلودگی بیولوژیکی را به چه میزان باید مرتفع ساخته و از بین ببریم؟ " کاملا بستگی به نوع کار دارد و بر اساس ملزومات فعالیت آزمایشگاهی که قرار است انجام گیرد تعیین میگردد.

برای ورود به بحث اصلی ابتدا به برخی تعاریف که در این زمینه وجود دارد اشاره می گردد.این تعاریف اکثرا بر اساس میزان برطرف شدن عوامل میکروبی از سطح وسایل و محلولها و...، به کار میرود .

تعاریف

استریلیزاسیون sterilization

به از بین بردن (تخریب یا زدودن) کلیه اشکال حیاتي میکروارگانیسم ها شامل ویروسها ، قارچها، باکتریها **وحتی اسپور باکتریها** از یك شيء یا ماده مورد استریل گفته می شود.

ضد عفوني كردن یا گندزدایي Disinfection

به از بین بردن تمام یا اکثر میکروارگانیسمهاي بیماریزا (به استثناء اسپور باکتریها) که موجب تولید عفونت مي شوند از سطوح غیر زنده، ضد عفونی کردن گفته می شود . همانطور که در تعریف اشاره شد، ضدعفوني كردن بر روی سطوح و وسایل غیر زنده انجام می گیرد و در آن اسپور باکتریها از بین نمي روند.

دزانفکتان Disinfectant

موادي هستند که اکثرمیکروبهاي بیماریزا، به استثناء اسپور باکتریها را از بین مي برند ، این مواد به پوست و مخاط و بافتهاي زنده آسیب مي رسانند .

آنتي سپسیس Antisepsis

عبارت است از جلوگیري کردن از عفونت از طریق از بین بردن باکتریهاي بیماریزا (بجز اسپور باکتریها) در بافتهاي زنده .

آنتي سپتيك Antiseptic

موادي هستند که باعث مرگ و یا جلوگیري از رشد میکروارگانیسم ها(بجز اسپور باکتریها) مي شوند . ولي به پوست ، مخاط و بافتهاي زنده صدمه نمي رسانند .

جرمیساید Germicide

عواملی که میتوانند میکروارگانیسم ها (خصوصا میکروارگانیسم های بیماریزا اعم از باکتری و ویروس و قارچ بجز اسپور باکتریها) را بکشند. این عوامل شامل آنتی سپستیک ها و دیسانفکتنت ها می شوند و اثر آنها غیر قابل بازگشت است .

باکتري ساید Bactericide

عواملی هستند که باکتریها (خصوصا باکتریهای بیماریزا بجز اسپور باکتریها) را از بین مي برند و اثر آنها غیر قابل بازگشت است .

باکتریواستاتیك Bacteriostatic

به موادي اطلاق مي شود که از تکثیر باکتریها جلوگیري مي کند . یعني پس از اثر مواد مزبور اگر مواد را از محیط خارج کنیم، دوباره باکتریها تکثیر خواهند نمود . یك ماده شیمیایي هم مي تواند باکتري ساید و هم باکتریواستاتیك باشد ، و آن بستگي دارد به غلظت ماده شیمیایي، که در غلظت بالا باکتري ساید و در غلظت کم باکتریواستاتیك مي باشد.

عواملي که بر فعالیت ضد میکروبي یک ماده اثر مي گذارند عبارتند از :

۱. حساسیت میکروارگانیسم ها ۲. غلظت و یا دُز ماده ضد میکروبي ۳. مدت زمان
۴. تعداد میکروارگانیسم

روشهاي ميكروب زدائی و / يا استريليزاسيون عبارتند از : الف) روش فيزيكي ب) روش شيميايي

روش فيزيكي

متداولترين آنها شامل : نور خورشيد - خشك كردن – حرارت (خشك - مرطوب) – فيلتر كردن – اشعه – اولتراسونيك .

نور خورشيد :

استفاده از نور آفتاب به عنوان یک ضد عفونی کننده و میکروب کش برای اولین بار در سال ۱۸۸۷ توسط " رو Emil Roux " همکار پاستور عنوان شد و در کنگره برلین در سال ۱۸۹۰ روبرت کخ گزارش داد که میکروب سل در مقابل نور مستقیم خورشید به سرعت میمیرد.

بارنارد و مورگان در ۱۹۰۳ ثابت کردند که اثر میکروب کشی نورخورشید به خاطر داشتن اشعه ماوراء بنفش با طول موج ۳۰۰ میلی میکرون یا کوتاهتر مربوط میشود.

نور خورشید عامل ضدعفونی شدن خودبخودی در شرایط طبیعی می باشد. در مناطق گرمسیری نور خورشید به دلیل همراه شدن اشعه ماورای بنفش خورشید با حرارت تاثیر بیشتری در کشتن میکروب ها دارد. نور خورشید به دلیل عدم تاثیر بر روی اسپور باکتریها استریل کننده نیست.

خشك كردن :

رطوبت براي رشد باكتريها ضروري است . از آنجايي كه بيش از ۸۰ درصد وزن باكتريها را آب تشكيل ميدهد. خشكي روي باكتريها اثر گذاشته و رشد آنها را مختل ميكند ولي اسپورها به خشكي مقاومند.

حرارت :

متداولترين روش فيزيكي براي استريليزاسيون و ضد عفونی کردن اجسامی که در برابر حرارت مقاوم هستند، می باشد. مکانیسم اثر حرارت از طریق اکسیداسیون و نیز دناتوراسیون و کواگولاسیون پروتئین های میکروب ها می باشد. در صورتی که اجسام و وسایل در برابر حرارت مقاوم نباشند، طول زمان مواجهه آنها با حرارت را افزایش و دما را کاهش میدهند. حرارت مرطوب نسبت به حرارت خشک ارجهیت دارد و دارای تاثیر بیشتری می باشد.

سوزاندن :

اين روش در كوره هاي مخصوص انجام مي گيرد و براي بعضي از ميكروواركانيسمهاي موجود در لاشه حيوانات و از بين بردن آنها و مواد آلوده مانند لباس ، پنبه ، گاز زخم ، و نمونه هاي پاتولوژيكي و خلاصه كليه وسايل غير قابل مصرف را در اين كوره ها سوزانده و خاكستر مي كنند.

عبور دادن از روی شعله

از این روش براي استريل كردن سوزن ، لوپ ، اسكالپل ، سربطريها و دهانه لوله هاي كشت استفاده ميكنند. در مورد استفاده از این روش برای وسائلی مانند سوزن ، لوپ ، اسکالپل، جسم مورد نظر را چندین بار از روي شعله عبور ميدهيم تا سرخ شوند. این عمل اسپور باکتریها را از بین می برد .

در مورد استفاده از این روش برای سربطریها و دهانه لوله هاي كشت، جسم مورد نظر را چندین بار از روي شعله عبور ميدهيم بدون اينكه سرخ شوند، باید توجه داشته باشیم که این عمل اسپور باکتریها را از بین نمي برد .

حرارت خشك(Dry Heat) :

این روش توسط لوئی پاستور معرفی شد. در این روش از دستگاهي بنام فور (**oven**) استفاده مي شود. وسايل و موادي كه حرارت بالا را تحمل ميكنند بوسيله اين روش استريل ميشوند. مانند : ظروف شيشه اي ،پتري ديش ،لوله هاي آزمايش ،پيپت و سرنگهاي شيشه اي ، پنس ، اسكالپل ، قيچي و ...

وسايلي كه بدين طريق استريل مي شوند ابتدا بايد كاملا تميز ، سپس خوب خشك شوند . بطوريكه كوچكترين رطوبت سطحي نداشته باشند و بهتر است که دور آنها را با کاغذ فویل پیچیده سپس در دستگاه قرار داده شوند. فاصله مناسب بین وسایلی که برای استریل شدن داخل فور چیده می شوند باید حفظ شود تا هوا بتواند آزادانه در بین آنها جریان داشته باشد.دهانه ارلن، لوله های آزمایش و سایر ظروف شیشه ای باید بوسیله پنبه مسدود شود. پیپت ها و پتری دیش ها نیز در داخل ظروف فلزی مناسب خود قرار داده شوند. سایر وسایل نیز میتوانند در داخل کاغذ های بسته بندی یا ورقه های آلومینیمی پیچیده شوند. از آنجائیکه هوا رسانای خوبی برای حرارت نیست، برای نفوذ یکنواخت حرارت در بخش های مختلف فور بهتر است از انواع فن دار استفاده نمود.

مدت زمان لازم جهت استریل شدن بر اساس درجه حرارتهاي مختلف متفاوت میباشد. دستور العمل های استریلیزاسیون و ضدعفونی از سوی مراکز علمی معتبر همواره تحت بررسی و اصلاح قرار میگیرد. مثلا در دستور العمل های قبلی برای فور ، زمان ۶۰ دقیقه برای دمای ۱۶۰ درجه سانتیگراد را جهت استریلیزاسیون کافی می دانستند در حالی که در دستورالعمل استریلیزاسیون و ضدعفونی که در سال ۲۰۰۸ از سوی مرکز کنترل بیماریهای امریکا (CDC= center of diseases control) و HICPAC منتشر شده، این مقادیر بر اساس جدول زیر افزایش یافته است.

ردیف	درجه حرارت (سانتیگراد)	زمان لازم براي استريل شدن
۱	۱۷۰	۱ ساعت
۲	۱۶۰	۱۲۰ دقیقه
۳	۱۵۰	۱۵۰ دقیقه

باید توجه داشت که زمان استریلیزاسیون از موقعی محاسبه می شودکه درجه حرارت به دمای مورد نظر رسیده باشد ، دستگاه نباید بیش از اندازه پر شود و وجود فضا در بین اجسام استریل شونده براي عبور هوا از خلال آنها الزامي مي باشد. بعد از استریل شدن و اتمام کار، درب فور را نباید سریع باز کرد زیرا بعلت سرد شدن ناگهاني وسایل شیشه اي مي شکنند . لذا تا رسیدن دما به ۶۰-۴۰ درجه سانتیگراد از باز نمودن درب فور خودداری می کنیم.

روشهای کنترل استریلیزاسیون فور

الف. روشهای فیزیکی: استفاده از ترموکوپل و ترمومتر و نشانگر های دما که بر روی فور نصب شده اند.

ب. روشهای شیمیائی: استفاده از مواد شیمیائی که در دمای بخصوص تغییر رنگ می دهند.

ج. روشهای بیولوژیک: استفاده از آمپولهای اسپور Bacillus stearothermophilus : این آمپولها با محیط کشت شان بصورت تجاری در دسترس هستند و دقیقترین وسیله نوع کنترل فور می باشند. ایراد آنها در گرانی و پاسخ دیر هنگام آنها (بعد از پنج الی هفت روز) در مشخص شدن نتیجه استریلیزاسیون می باشد. البته بهتر است در کنترل کیفی فور بجایBacillus stearothermophilus از اسپور های Bacillus atrophaeus استفاده کنیم چرا که Bacillus atrophaeus به حرارت خشک مقاوم تر می باشد.

روش استفاده از آمپول اسپور باسیل استئاروترموفیلوس بدین شکل است که آمپول یا نوار محتوی اسپور باکتری را به همراه مواد مورد استریل در فور قرار می دهیم. بعد از اتمام کار فور، آمپول را شکسته و در محیط کشت مخصوص خود کشت داده و در ۵۵ درجه قرار میدهیم. اگر بعد از ۷-۵ روز، باکتری رشد ننمود و تغییر رنگ در محیط کشت مربوطه ایجاد نشود، فور درست کار میکند و استریلیزاسیون بدون اشکال است.

در صورت نبودن موارد بالا جهت کنترل استریلیزاسیون فور از روش زیر میتوان استفاده نمود:

۱. در یک لوله آزمایش مقداری اسید سالسیلیک با دمای ذوب ۱۵۷ درجه سانتیگراد + ۰.۰۱ گرم پودر سافرانین ریخته، درب آنرا بسته و در داخل فور قرار می دهیم. در صورتی که دمای فور به بالای ۱۵۷ درجه برسد، اسید سالسیلیک ذوب شده و با رنگ مخلوط خواهد شد

حرارت مرطوب :

الف) دماي ۱۰۰ درجه سانتیگراد

ب) دماي زیر ۱۰۰ درجه سانتیگراد

ج) دماي بالاي ۱۰۰ درجه سانتیگراد

حرارت مرطوب در ۱۰۰ درجه سانتیگراد :

باکتریهاي بدون اسپور در مدت ۱۰ – ۵ دقیقه در دماي ۱۰۰ درجه از بین میروند و براي از بین بردن اسپورها ۳ تا ۵ ساعت متوالي وقت لازم است . از این روش میتوان براي استریل کردن لوله هاي آزمایش ،

پیپتها ، اسکالپل ، پنس ، قیچي ، سرنگهاي شیشه اي یا فلزي که در درجه حرارت بالا مقاومتي ندارند به کار برد.

حرارت مرطوب در دماي زیر ۱۰۰ درجه سانتیگراد :

تندالیزاسیون : از این روش براي استریل کردن محیط هاي کشت حاوي سرم و غیره که نسبت به حرارت بالا حساسند استفاده میشود . در این روش مواد را در دماي ۷۵ درجه به مدت ۳۰ دقیقه و در چهار روز متوالي حرارت مي دهند . البته باید هر بار بعد از حرارت ۷۵ درجه، نمونه را در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داد تا فرمهای اسپور به شکل وجیتیتیو تبدیل شوند. فرم وژتاتیو باکتریها در حرارت ۷۵ درجه کشته مي شوند اما فرمهاي اسپور باقي مي مانند در شرایط مناسب و در فاصله ۴۸ – ۲۴ ساعت این فرمهاي اسپور به اشکال وژتاتیو تبدیل شده و در مرحله دوم، سوم و یا چهارم تخریب خواهند شد .

پاستوریزاسیون : از این روش جهت نگهداري موادي مثل شیر و ... استفاده میشود . که حرارت کمتر از ۱۰۰ درجه را به کار میبرند و سپس آنرا فوراً سرد کرده و درجه حرارت را پایین نگه میدارند . فقط در صورتي میتوان ماده مورد نظر را زیاد نگه داشت که فاقد اسپور باشد مثلاً شیر را به مدت ۲۵ دقیقه حرارت ۷۵ درجه سانتیگراد میدهند سپس بلافاصله دما را تا ۳۰ درجه سانتیگراد کم مي کنند. یا ۳۰ ثانیه در ۹۰ درجه سانتیگراد حرارت میدهند و سپس بلافاصله تا ۱۰ درجه سرد مي کنند و.....

حرارت مرطوب بالاي ۱۰۰ درجه سانتیگراد :

معمولي ترین و مفیدترین روش براي استریل کردن لباس ، وسایل لاستیکي ، اکثر محیط هاي کشت مورد استفاده در باکتریولوژي ، استفاده از فشار بخار و حرارت مرطوب است . دستگاه مورد استفاده براي این کار **Autoclave** میباشد. حرارت و فشار اتوکلاو قابل تنظیم است ، فشار ، دما و زمان رایج و مورد استفاده در اتوکلاو ها، فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع و حرارت ۱۲۱ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ – ۱۵ دقیقه می باشد، کلیه میکرو ارگانیسم ها حتي اسپور باکتریهاي اسپور دار در این شرایط از بین میروند و جسم استریل مي شود .

با تغییر دماي اتوکلاو زمان لازم جهت استریلیزاسیون تغییر خواهد نمود برای اطلاعات بیشتر به جدول زیر مراجعه فرمائید.

دما	حداقل زمان لازم برای استریلیزاسیون
سانتیگراد	دقیقه
134-138	3
126-129	10
121-124	15
115-118	30

در موقع استفاده از حرارت مرطوب (اتوکلاو) برای استریلیزاسیون، باید توجه شود که محیط (داخل اتوکلاو) از بخار آب اشباع باشد، زیرا درجه حرارت داخل دستگاه در صورتی که بخار آب با هوا مخلوط باشد، در مقایسه با حالت اشباع ، کمتر است. علاوه بر این، وجود هوا مانع نفوذ بخار به داخل مواد و

وسائلی که داخل اتوکلاو قرار گرفته اند، می شود. به همین علت در موقع استفاده از اتوکلاو، حتما باید هوای داخل محفظه خارج شود.

طریقه اتو کلاو کردن :

براي كار كردن با اتو كلاو بطور صحيح بايد اعمال زير بترتيب انجام شود :

۱. اتوکلاو به اندازه کافی از آب مقطر پر شده باشد
۲. بر روی مواد و وسایلی که قرار است اتو کلاو شوند، چسب کنترل اتوکلاو زده شود.
۳. بهتر است موادی که اتو کلاو می شوند در یک کاغذ یا پارچه پیچیده شوند.
۴. اگر بطری یا ظروف درب دار را اتوکلاو میکنیم، حتما درب بطری ها را نیمه باز بگذاریم.
۵. مواد یا وسایلي كه بايد استريل گردد در محفظه مخصوص اتو كلاو قرار داده شود .
۶. درب اتوکلاو را بسته و پیچ های مربوطه را محکم نمائیم. پیچهاي تخليه بخار باز گردد .
۷. دستگاه را روشن کرده و پس از خروج بخار ممتد (دم روباهی) پیچ تخلیه بخار بسته شود.
۸. با بالا رفتن درجه حرارت ، فشار داخل دستگاه نیز افزایش می یابد وقتي عمل استريل كردن آغاز میشود که حرارت دستگاه ۱۲۱ درجه و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع رسیده باشد و از همین لحظه ، زمان استریل کردن تعیین میشود . (اگر فشار دستگاه بیش از اندازه زیاد گردد معمولا شیراطمینان عمل کرده و باز میشود تا مقداري از بخار دستگاه خارج گردد.)
۹. پس از ۲۰ – ۱۵ دقیقه اتوکلاو را خاموش کرده و باید منتظر ماند تا تمام بخار موجود در آن خارج شود و درجه فشار روي صفر قرار گيرد .
۱۰. پس از اطمینان از خارج شدن کامل جریان بخار داخل دستگاه با احتیاط درب آنرا باز کرده و محتویات آن بیرون آورده شود .

روشهای اطمینان از صحت استریلیزاسیون در اتوکلاو:

الف. روشهای فیزیکی: استفاده از ترموکوپل و ترمومتر و نشانگر های دما که بر روی اتوکلاو نصب شده اند.

ب. روشهای شیمیائی: استفاده از مواد شیمیائی که در دمای بخصوص تغییر رنگ می دهند. تغییر رنگ چسب اندیکاتور (که معمولا به رنگ قهوه ای یا مشکی تغییر رنگ می دهند)

ج. روشهای بیولوژیک: استفاده از آمپولهای اسپور Bacillus stearothermophilus : این آمپولها با محیط کشت شان بصورت تجاری در دسترس هستند و دقیقترین وسیله نوع کنترل اتوکلاو می باشند. ایراد آنها در گرانی و پاسخ دیر هنگام آنها (بعد از پنج الی هفت روز) در مشخص شدن نتیجه استریلیزاسیون می باشد.

روش استفاده از آمپول اسپور باسیل استئاروترموفیلوس بدین شکل است که آمپول یا نوار محتوی اسپور باکتری را به همراه مواد مورد استریل در اتوکلاو قرار می دهیم. بعد از اتمام کار اتوکلاو ، آمپول را شکسته و در محیط کشت مخصوص خود کشت داده و در ۵۵ درجه قرار میدهیم. اگر بعد از ۷-۵ روز ، باکتری رشد ننمود و تغییر رنگ در محیط کشت مربوطه ایجاد نشود، اتوکلاو درست کار میکند و استریلیزاسیون بدون اشکال است.

نکات قابل توجه:

در هر سری اتوکلاو نمودن، مواد تمیز (که جهت استفاده به عنوان مواد و وسایل استریل در آزمایشگاه بکار خواهند رفت) را با مواد کثیف (که قرار است بعد از اتوکلاو شسته شده و تمیز گردند مانند محیط های کشت استفاده شده، مواد آلوده، و...) بطور همزمان اتوکلاو نکنید.

درب بطری ها نیمه باز گذاشته شود

اگر بطری یا هر نوع فلاسک محتوی مایع اتوکلاو می شود، در نظر داشته باشید که مقداری از بطری خالی باشد و بطری را کاملا از مایع پر ننمائید.

تاریخ و نام محلولی که استریل میشود و نیز نام فرد استریل کننده بر روی مواد ثبت گردد.

استریل کردن بوسیله اشعه :

براي استريل كردن محيط آزمايشگاه و فضاهاي آلوده و برخي از وسايل كه نميتوان با هيچ يك از روشهاي قبلي آنها را استريل كرد ، از روش تاباندن اشعه استفاده ميگردد . اشعه هاي با طول موج كوتاه انرژي بيشتري داشته و كشنده ترند. دو نوع اشعه در اين امر به كار ميرود : يون زا و غير يون زا .

الف) اشعه هاي يون زا :

اين اشعه ها داراي انرژي زيادي بوده و باعث بوجود آمدن مولكولهاي بيولوژيكي يونيزه شده ميشوند و قدرت نفوذ بيشتری دارند. اين قبيل اشعه هاي پر انرژي ، استريل كننده قوي هستند و براي استريل كردن پتري ديشها و سرنگهاي پلاستيكي و ساير اشياء حساس به حرارت بكار ميرود.

از جمله اين اشعه ها اشعه گاما را می توان نام برد. اشعه گاما قدرت نفوذ بيشتري دارد و براي استريل كردن اشياء حجيم مساعد است .

ب) اشعه هاي غير يون زا :

اشعه های با طول موج بالاتر از نور مرئی غير يون زا می باشند. از جمله اشعه هاي غير يون زا كه كاربرد فراواني دارد اشعه **UV (Ultra-violet Radiation)** است . **DNA** ی سلول اشعه ماوراء بنفش را در طول موج ۲۸۰ – ۲۰۰ نانومتر جذب كرده و باعث تشكيل پيوند بين نوكلئوتيدهاي تيمني مجاور ميگردد. **(Thymine dimmer)** .ميزان تاثير در ۲۶۰ نانومتر در حد ماكزيمم است. اين عمل باعث آسيب رساندن به همانندسازي و ترجمه **DNA** ميگرددكه در نتيجه باعث اختلال در پروتنين سازي ميگردد. تيمين دايمر اگر در ژنهايي اتفاق بيفتد كه عمل آنها براي سلول حياتي است، كشنده خواهد بود.

طول موجهای ۳۰۲ تا ۳۱۳ نانومتر اثر باکتریو استاتیک و طول موجهای کمتر از ۲۶۰ نانومتر خاصیت باکتریو سایدی دارند.

از زمانی که قدرت میکروب کشی اشعه ماوراء بنفش مشخص گردید، استفاده از آن در کارهای روز مره آزمایشگاه برای ضدعفونی هوای اتاقها و مخصوصا کابینت های بیولوژیک (هود های آزمایشگاهی) رایج شده است. همچنین از آن برای ضد عفونی سطوح نیز میتوان استفاده نمود ولی باید در نظر داشت که این اشعه دارای قدرت نفوذ در عمق را ندارد و حتي يک ور قه نا زک شيشه اي مقدار زيادي از آن جذب مي كند . بنا

براین میکرو ار گا نیسم ها یي که در سطح قرار دارند و به طور مستقیم در معرض این اشعه هستند از بین مي روند. معمولا در هود ها از لامپ های اولترا ویوله در محدوده طول موج ۲۵۳ نانومتر استفاده میکنند. قدرت تابش آن معمولا بر اسا س ارگ/ثانیه/سانتیمتر مربع محاسبه می شود. لامپ ۱۵ واتی برای آزمایشگاه مناسب بوده و میزان اشعه معادل ۴۰۰ ارگ/ثانیه / سانتیمتر مربع در فاصله ۹۱.۵ سانتیمتری(۳ فوت) بدست میدهد. طول عمر این لامپ ها معمولا یکصد ساعت بوده و قدرت آنها پس از این زمان به شدت کاهش پیدا میکند. برای افزایش قدرت لامپ ها، باید هر هفته یک بار با حوله آغشته به الکل اتیلیک آن را تمیز نمود و گرد و غبار آنرا گرفت. همچنین بهتر است هر ۳ ماه یک بار، قدرت چراغ را با دستگاه UV intensity meter اندازه گیری نمود و اگر قدرت لامپ کمتر از ۷۰% قدرت اولیه باشد، آنرا تعویض کرد.

میکروب کشي اشعه ماوراءبنفش بستگي به دز اشعه و مدت زمان تابش اشعه دارد. اندوسپور بعضي از باکتریها بعلت وجود مواد خاص بنام سیستئین در مقابل اشعه اولتراویوله محافظت میشود. بنابراین اشعه اولتراویوله استریل کننده نیست ، ولي ضد عفوني کننده است. میکروارگانیسم ها در عرض چند ثانیه بعد از قرار گرفتن در معرض اشعه موثر اولتراویوله ، غیر فعال می شوند.

محدودیت اصلي اشعه اولتراویوله بخاطر قدرت کم نفوذ آن است و قادر به عبور از شیشه معمولي ، بسیاري از پلاستیك ها ، محلولهاي کدر و ورقه هاي نازك و مواد روغني نیست. حرکت اشعه ماوراء بنفش در مسیر نستقیم و خطی بوده لذا این اشعه نمیتواند در شکاف های پنهان و زوایای اتاق اثر نماید. همچنین بعضي از باکتریها دارای آنزیمهایی برای ترمیم DNAی خود می باشند. در این صورت این باکتریها میتوانند دوباره آسیب های ایجاد شده بوسیله اشعه ماورای بنفش را ترمیم نمایند

تابش مداوم آن به شبکیه صدمه زده و بر روی پوست اثر سرطان زایي دارد.

فیلتراسیون : (Filtration)

ساختمان شیمیایي بعضي از مواد مثل ویتامینها ، آنتي بیوتیکها در اثر حرارت تغییر مي یابند بنابراین از این روش براي ضدعفونی محلولها استفاده میشود. در روش فیلتر ، محلول یا مایع مورد نظر را از روي داراي منافذ بسیار کوچك عبور میدهند. چون باکتریها از منافذ صافي بزرگترند، در روي صافي باقي مي مانند و از مایع جدا میگردند.

فیلترهاي غشائی که در باکتریولوژي مورد استفاده قرار مي گیرند از جنس پلاستیك یا سلولز بوده که در آن سوراخهاي بسیار ریزي در حدود **0.4 – 0.2 میکرون** تعبیه شده است . وجود سوراخهاي بسیار ریز مانع عبور باکتریها از فیلتر مي گردد ولي مایکوپلاسما و ویروسها از آن عبور مي کنند و این عمل تضمین کننده استریلیزاسیون نمي باشد. محلولهایي از قبیل سرم خون و مواد قندي به این روش ضدعفونی میشوند.

روش شیمیایي

براي استریل کردن اشیایي که ضد عفوني آنها با حرارت مشکل یا غیرممکن است معمولاً از مواد شیمیایي استفاده میشود. تعداد بیشماري از مواد شیمیایي در غلظتهاي مناسب قادر به کشتن و یا متوقف کردن میکروارگانیسم میباشند .

عواملي که در موثر بودن مواد ضد عفوني کننده دخالت دارند عبارتند از :

۱. غلظت ماده ضد عفوني كننده

۲. مدت زماني كه ماده ضد عفوني كننده در برابر باكتري يا اشياي آلوده قرار مي گيرد.

۳. تعداد و نوع باكتري

۴. ساختمان شيميايي ماده ضد عفوني كننده

مواد شيميايي ممكن است داراي خاصيت غذايي ، عامل متوقف كننده رشد يا عامل باكتري كش باشند . ضمناً بعضي از مواد ممكن است براي يك نوع باكتري داراي خاصيت غذايي و براي باكتري ديگر متوقف كننده رشد باشند. علاوه براين ، در مورد يك نوع باكتري ممكن است يك ماده با غلظت كم مغذي، با غلظت متوسط متوقف كننده رشد و با غلظت زياد كشنده باشد. براي مثال ، ساكارز با غلظت يك درصد براي اكثر باكتريها داراي خاصيت غذايي، با غلظت ۱۵ تا ۴۰ درصد متوقف كننده رشد ، و با غلظت بالاي ۴۰ درصد اثر كشندگي دارد .

اختصاصاتي كه يك ماده ضد عفوني كننده خوب بايد دارا باشد عبارتند از:

۱. ماده ضد عفوني كننده خوب بايد از نظر شيميايي باثبات باشد و موجب زنگ زدگي و فرسودگي وسايل جراحي يا خراب شدن ساير وسايل نگردد.

۲. قدرت ميكروب كشي سريع و قوي داشته باشد.

۳. داراي بوي مناسب و قيمت ارزان باشد.

۴. روي انواع زيادي از ميكروارگانيسم ها موثر باشد.

۵. قدرت ميكروب كشي خود را در حضور سرم ، خون ، خلط و... حفظ كند.

۶. در حضور ساير مواد شيميايي نيز اثر خود را نشان دهد.

۷. خاصيت سمي انتخابي داشته باشد.

۸. ميل تركيبي با مواد آلي اضافي موجود در محيط را نداشته باشد.

۹. قابليت نفوذ پذيري داشته باشد .

۱۰. پايداري

۱۱. داراي فعاليت ضد ميكروبي در حرارت اتاق و بدن باشد.

۱۲. با محيط زيست سازگار باشد.

مكانيسم اثر مواد شيميايي بر ميكروارگانيسمها:

۱. **اثر بر غشاء سلولي :** اگر غشاء سلولي باكتريها آسيب ببيند ، يونهاي اصلي ضروري ، نوكلئوتيدها ، كوآنزيمها ، اسيدهاي آمينه از سلول خارج مي شوند.از طرف ديگر آسيب به غشاي سيتوپلاسمي ، عبور مواد را به داخل سلول باكتري مختل مي سازد. بنابراين هر ماده شيميايي كه بتواند در اين غشاء اختلال ايجاد كند باعث مرگ باكتري خواهد شد . در ساختمان غشاء سلولي ، پروتئين و چربي بكار رفته است، موادي كه بتوانند كشش سطحي را كاهش دهند نظير صابون ، دترجنت ها ، شامپو روي اين غشاء اثر سوء مي گذارند.

۲. **اثر بر دیواره سلولي :** ديواره سلولي در مقابل فشار اسمزي درون سيتوپلاسمي نقش حفاظتي دارد و از ليز و متلاشي شدن سلول جلوگيري مي كند . با از بين رفتن ديواره سلولي يا عدم سنتز آن ، مرگ سلول رخ ميدهد. پني سيلين از سنتز ديواره سلولي جلوگيري مي كند و ليزوزيم موجب تخريب ديواره سلولي ميشود.

۳. **اثر بر مواد پروتئيني :** سنتز پروتئينها در باكتريها نتيجه دو پديده اصلي است ۱- **Transcreption** ۲- **Translation** مواد شيميايي كه قادرند روي سيستم آنزيمي اثر كنند و پروتئين سازي را مختل كنند موجب مرگ باكتري خواهند شد.

۴. آسيب به **DNA** : تعدادي از عوامل ضد ميكروبي مانند تشعشعات يوني ، اشعه ماورای بنفش به **DNA** آسيب ميرسانند. تشعشعات به چند روش بر **DNA** اثر مي گذارند، براي مثال اشعه ماورای بنفش موجب تشكيل پيوند بين نوكلئوتيدهاي تيمني مجاور در **DNA** ميگردد ، يا رنگهاي بازي نظير كريستال ويوله به شدت با اسيدهاي نوكلئيك و نوكلئوپروتئينها واكنش نشان داده و باعث تشكيل نمك ميشود.

مواد ضد عفوني كننده :

ضد عفوني كننده ها براي ضد عفوني كردن اشياء بكار مي روند.اين مواد علاوه بر اينكه براي ميكروارگانيسم سمي هستند، بعداز مصرف بايستي از جسم استريل شده حذف گردند. مواد ضد عفوني كننده به دو دسته عمده تقسيم مي شوند: الف) مواد بهداشتي ب) مواد شيميايي

الف) مواد بهداشتي

دترجنت ها

دترجنتها عوامل فعال سطحي (**Surface active agents**) بوده و از دو قسمت تشكيل شده اند : يك زنجيره بلند محلول در چربي كه آب گريز است و يك گروه آبدوست قطبي كه ميتواند يك كاتيون ، يك آنيون، و يا يك گروه غير يوني باشد . اين عوامل فعال سطحي ، از طريق زنجيره آب گريز خود با ليپيدهاي غشاء سلولي باكتريها و از طريق گروه قطبي يا آبدوست خود با آب محيط اطراف واكنش برقرار نموده و بدين ترتيب غشاء سلولي را تخريب مي كنند. از دترجنت های آنيونی ميتوان به مانند صابونها و نمكهای صفراوی اشاره نمود. دترجنتهاي آنيونيك داراي قدرت زياد پاک كنندگی مي‌باشند

تركيبات چهارتاني ، مثل كلريد بنزوالكونيوم و سترميد از دترجنتهاي كاتيونيك هستند كه در آنتي سپتيك هاي پوستي به وفور مورد استفاده قرار ميگيرند. دترجنتهاي كاتيونيك داراي قدرت زياد باكتري كشي مي‌باشند. معروف ترين تركيبات كاتيونی از گروه آمونيوم كواترنری عبارتند از: ساولن ، سيپرين ، ستاولن و دارای خاصيت های زير هستند:

خاصیت قارچ کشی دارند ، در شرایط قلیائی دارای حداکثر باکتری کشی هستند ، سمیت ندارند ، تحریک کننده نیستند و پایداری خوبی دارند. قدرت میکروب کشی این ترکیبات توسط ترکیبات آلی کاهش یافته و با دترجنت های آنیونی و برخی عوامل غیر یونی و فسفولیپید ها خنثی می شوند.

صابون ها

از دترجنتهاي آنيوني ، صابون ها هستند كه تجزيه شده و يون منفي بوجود مي آورند. بر عليه ارگانيسم هاي گرم مثبت موثر مي باشند ولي بر ضد گونه هاي گرم منفي (به علت نداشتن لیپو پلي ساكارید غشاي خارجي) تاثير كمي دارند. توسط آميختن يك عامل آنيوني با اسيد ، حساس كننده هاي بسيار موثر اسيد – آنيوني ساخته ميشوند كه سينرژيك هستند و عمل باكتريسيدي بسيار سريعي را (در مدت ۳۰ ثانيه) نشان مي دهند.

دترجنتهاي آنيوني ، موجب متلاشي شدن وسيع شبكه ليپوپروتئيني غشاي سلول ميشوند. اولين آسيب نمك هاي صفراوي (كه مدتها توسط ميكروبيولوژيستها براي ليز پنوموكوك ها مورد استفاده قرار مي گرفت) از هم گسيختن غشاي سلول است كه به آنزيم هاي اتوليتيك اجازه ميدهد تا بر روي سوبستراهايي كه در سلول محدود شده اند عمل نمايند . هنگامي كه دترجنتهاي كاتيوني و آنيوني بطور همزمان استفاده شوند، يكديگر را خنثي ميكنند.

ب) مواد شيميايي

فنل ها

جوزف لیستر این ترکیب را برای پیشگیری از عفونت زخم در جراحی مورد استفاده قرار داد. در ترکیبات فنلي واحدهاي هالوژن يا الكيل بر روي هسته فنل جايگزين شده اند و قطبي شدن مولكول را افزايش داده اند لذا قدرت محلول كردن چربي ها و تخريب غشاي سلول باكتري افزايش يافته است . از ترکیبات فنلي مي توان فنل ۵%، ليزول، دتول، هگزاكلروفن ، تري كرزول و كلرهگزيدين را نام برد. تري كرزول ها در ترکیب با صابون ها به صورت ضد عفوني كننده هاي موثري استفاده مي شوند. آنها در غلظت بالا به عنوان ضد عفونی کننده (DISINFECTATNT) و در غلظت های پائین به عنوان آنتی سپتیک (Antiseptic) مورد استفاده قرار میگیرند. آنها بر روی باکتریها، قارچها و مایکوباکتریها موثر بوده ولی بر روی اسپور باکتریها و بیشتر ویروسها تاثیر ندارند. آنها به راحتی در اثر مواد آلی غیر فعال نمی شوند. در آزمایشگاه برای دور ریختن وسائل یک بارمصرف آلوده (مانند سرسمپلر و سواب ها، لام و لاملهای مصرف شده و..) ابتدا آنها را در ظرفی محتوی این ترکیبات ریخته و بعدا دفع می کنند. همچنین این ترکیبات برای ضد عفونی کف زمین در بخش های مختلف بیمارستان و آزمایشگاه بکار می رود.

همچنین کلرهگزیدین گلوکونات را با ترکیبات آمونیم چهار ظرفیتی (مانند ستریمید Cetrimide) ترکیب نموده و موجب افزایش اثر ضد میکروبی بیشتر و وسیع الطیف تر آن می گردند (مثلا ساولن)

مکانیسم اثر: همانطور که اشاره شد مکانیسم اثر فنل ها از طریق شکستن غشاء، پرسیپیتاسیون پروتئین ها و غیر فعال نمودن آنزیم های میکرو ارگانیسم ها می باشد.

الکل ها

مکانیسم اثر: الکل ها در ساختمان ليپيدي غشاي سلول باکتري نفوذ و آن را تخريب مي کنند. علاوه بر اين ، موجب دناتوره شدن پروتئينهاي سلول مي شوند . الکلها توانايي برداشتن مولکولهاي چربي يا ليپيدي سطح پوست را دارند. الکلهايي که زنجيره کوتاهتري دارند تاثيرات شديدتري را نشان ميدهند. الکلها زود تبخير می شوند لذا بايد آنها را در ظروف سر بسته نگاه داشت و فقط در حين استفاده درب آنها را باز کرد در غير اينصورت الکل تبخير شده و درجه الکلی آنچه باقی ميماند بسيار کاهش می يابد و تاثير آن نيز کاهش خواهد يافت. الکلها توانايي کشتن اسپورها را ندارند بنابراين نبايد براي امور استريليزاسيون از آنها استفاده شود.

اتانول : بر ضد ميکروارگانيسم هاي گرم مثبت ، گرم منفي و اسيد فاست فعال است و در غلظت ۷۰ درصد بيشترين تاثير را دارد . به طور وسيعي براي ضد عفوني کردن پوست در قبل از تزريقات جلدي و ضد عفوني کردن دماسنج هاي طبي استفاده ميشود.

ايزوپروپانول: فعاليت باکتريسيدي آن نسبت به اتانول شديدتر است و در غلظت ۷۰ درصد بيشترين تاثير را دارد

متيل الکل: بسيار سمی است و جذب پوستی نيز دارد لذا به هيچ وجه نبايد بر روی پوست يا بافت زنده استفاده شود. اما توانائی کشتن اسپور قارچها را دارد لذا ميتوان در صورت نياز برای ضد عفونی داخل هود استفاده نمود.(البته اين کار از نظر اقتصادی به صرفه نمی باشد.)

آلدئيد ها (آلکيله کننده ها)

مکانيسم اثر: آلدئيد ها از طريق آلکيله نمودن گروه های آمينو، کربوکسيل يا هيدروکسيل و احتمالا از طريق آسيب رساندن به نوکلئيک اسيد ميکروارگانيسم ها ، آنها را از بين ميبرد. . آلدئيد ها بر تمام ميکروارگانيسم ها از جمله برضد اسپور باکتريها اثر می کنند.

فرمالدئيد: فرمالدئيد يکي از عوامل انتخابي بر روي پروتئين ها است که در شکلهاي متفاوتي استفاده مي شود .

۱. **فرمالين** : محلولي حاوي ۳۷ درصد فرمالدئيد است و به شکل ۳۷% در بازار موجود است و در اين شکل دارای يک فاز جامد در حال تعادل با فاز مايع است و نيازی به هم زدن و مخلوط کردن آن نيست، بلکه به تناسب استفاده از فاز مايع، از فاز جامد کاسته می شود. از فرمالين براي نگهداري بافتهاي تازه (در پاتولوژي) استفاده مي شود و در غلظتهاي پايين ۰/۴ – ۰/۲ درصد براي غير فعال کردن ويروسها و تهيه واکسن کاربرد دارد. در غلظت ۵% فرم کيستی تک ياخته ها و در غلظت ۱۰% تخم کرم ها را نيز از بين ميبرد. برای تهيه فرمالين ۱۰% ، مقدار ۱۰ ميلی ليتر از فرمالين ۳۷% را به ۹۰ ميلی ليتر آب اضافه ميکنيم.

برای تاثير فرمالدئيد ۲% در دمای ۴۰ درجه سانتيگراد ، حدود ۲۰ دقيقه زمان نياز می باشد.

۲. **گاز فرمالين** : فرمالدئيد در شکل گاز براي رفع آلودگي اتاقهاي جراحي ، منازل ، ساختمانها، محصولات پارچه و دستگاهها استفاده مي شود. تنفس اين گاز بسيار خطرناک بوده و تحت شرايط خاص بايد استفاده شود.

گلوتارآلدئید: در حدود ۱۰ برابر قویتر از فرمالدئید است و سمیت کمتري دارد. موثرترین ماده استریل کننده شیمیایي است که به عنوان استریل کننده سرد پذیرفته شده است .از گلوتار آلدئید براي استریل کردن وسایل جراحي ، اندوسکوپي و دستگاههاي احیاي سیستم تنفسي استفاده میشود. این ماده به صورت محلول ۲% وجود دارد و قبل از استفاده باید آنرا فعال نمود، بدین ترتیب که یک پودر یا بافر قلیائی را باید به آن اضافه کرد. به عبارت دیگر گلوتار آلدئید در PH قلیائی اثر می کند و حد اقل ۳ ساعت برای تاثیر آن زمان نیاز هست.

عوامل اکسید کننده

این عوامل ، گروههاي سولفیدریل را در مولکول هاي پروتئین ، اکسیده مي کنند. بنابراین گروههاي فونکسیونل پروتئین (از جمله آنزیمها) را غیر فعال مي سازند.

هالوژن ها: در میان ضد عفوني کننده ها ، به طور انحصاري کشنده باکتري یا باکتریسیدال هستند و فرمهاي اسپور را نیز نابود مي کنند. بنابراین ضد عفوني کننده هاي مفیدي هستند.

۱. ۰ **ترکیبات حاوي کلر** : این ترکیبات در مجاورت با آب ، کلر را آزاد کرده و در ترکیب با مولکول هاي آب اسید هیپوکلرو را بوجود مي آورند که یك عامل اکسید کننده قوي و میکروب کش است.

الف) هیپوکلریت ها : هیپوکلریت ها از بقیه ترکیبات حاوي کلر مفیدتر هستند و به شکل مایع یا پودر نمکهاي کلسیم ،لیتیم و سدیم وجود دارند. از آنها براي ضد عفوني کردن وسایل و ظروف تهیه مواد غذایي و صنایع لبني استفاده میشود.علاوه بر این به عنوان سفید کننده یا وایتکس براي امور بهداشتي و نظافت در منازل کاربرد دارند.

هیپو کلریت ها به سرعت توسط ذراتی نظیر غبار و مواد آلی غیر فعال می شوند. محلول کاری هیپو کلریت باید هر روزه از محلول ذخیره تهیه شود. هیپوکلریت کلسیم به صورت جامد(پودر و گرانول) وجود دارد. سرعت تخریب این ماده کمتر از هیپوکلریت سدیم می باشد. محلول یک درصد کلرین با حل کردن ۶ گرم پودر هیپوکلریت کلسیم در یک لیتر آب به دست می آید.

همچنین از هیپوکلریت سدیم ۵.۰% در بخش سرولوژی و ویروس شناسی استفاده مینمایند.

برای ضد عفونی سطوح میتوان از ۱۵ گرم پودر یا گرانول هیپوکلریت سدیم در ۱۰ لیتر آب استفاده نمود و پس از ۱۵ الی ۲۰ دقیقه سطح را با آب پاک نمود.

همچنین از محلول وایتکس که معمولا دارای ۵% کلر فعال می باشد پس از رقیق نمودن به نسبت ۱ به ۱۰ (و حصول غلظت کلر ۵.۰%) برای ضد عفونی سطوح میتوان استفاده نمود.

ب) گاز کلر : گاز کلر ماده ضد عفوني کننده قابل قبول با عملکرد سریع براي ضدعفوني کردن آب آشامیدني و استخرهاي شنا است. از آنجایي که فعالیت کلر تحت تاثیر حضور مواد آلي قرار مي گیرد بنابراین بایستي مقادیري در حدود ۳-۱ پیکوگرم در متر مربع به مخازن آب یا استخرهاي شنا افزوده شود تا نیاز به کلر تامین گردد.

۲. ترکیبات حاوي يد : يد به طور غير قابل برگشت به اسيد آمينه هاي تيروزين در مولكول هاي پروتئين متصل و آنها را اكسيده مي كند.

الف) تنتورید: تنتورید، محلولي شامل ۲ درصد يد و ۲ درصد يدور سديم در الكل ۷۰% مي باشد. آنتي سپتيك قابل اعتمادي براي پوست در زخمهاي سطحي است اما تاثير دردناك و تخريب كننده اي بر روي بافتهاي برهنه دارد.

ب) بتادین : يد به طور خودبخودي با پاك كننده هايا عوامل دترجنت تشكيل كمپلكس ميدهد و تركيبات يدوفور را به وجود مي آورد . يكي از اين تركيبات فرآورده اي به نام پوويدون آيودين با نام تجارتي بتادين است كه در شكل محلول براي شستشو يا ضد عفوني نمودن پوست و پانسمان زخمها كاربرد دارد. اين ماده عليه قارچها ،ويروسها ، انگلها و مخمر ها و اسپورها و همچنين بر مايكو باكتريوم تو بر كو لو زيس مو ثر است . درصد هاي مو ثر آن به صورت محلول ۱ در صد ، محلول ۷/۵ در صد و ۱۰ در صد مي باشد .بايد دقت كنيد كه در مورد سوختگي ها پس از ضد عفوني كردن با بتادين حتما نا حيه سو ختگي را با سرم فيزيو لوژي استريل كنيد تا بتا دين روي ناحيه سو ختگي با قي نماندزيرا بتا دين اگر باقي بماند باعث خشكي و ترک خوردن پوست مي شود.

پراکسید نیدروژن

پراكسيد نيدروژن ، راديكال آزاد هيدروكسيل توليد مي كند كه مسئول اكسيد كنندگي آن است و مولكول DNA و پروتئين را تخريب مبكند.

محلول ۶% آن برای ضدعفونی ابزار و وسایل و محلول ۳% آن برای ضد عفونی زخم استفاده می شود. در اثر نور تخریب شده و در تماس با مواد پروتئینی اثرش کاهش می یابد.

فلزات سنگین

فلزات سنگين با گروههاي سولفيدريل مولكول هاي پروتئين تركيب شده و مركاپتيدها را بوجود مي آورد. به اين ترتيب پروتئين ها را غيرفعال مي كنند. مثل:نيترات نقره ، سولفات مس، نمک های آلی جيوه (مركوركروم)

نیترات نقره: قدرت باكتريسيدال موثري بر روي گونوكوكها دارد و به صورت محلول ۱ درصد براي پيشگيري از عفونتهاي چشمي نوزادان استفاده ميشود. علاوه بر اين ، به شكل محلول ۱۰ درصد در بيماريهاي پوستي مثل زرد زخم كاربرد دارد.

سیلور سولفادیازین بصورت پماد برای جلوگیری از کلونیزاسیون باکتری ها و عفونت در سوختگی های پوست بکار می رود.

نمك

باكتريها از نظر حساسيت در برابر غلظتهاي مختلف نمك ، متفاوت هستند اما اغلب آنها در غلظتهاي بالاتر از ۶/۵ درصد نمك ، مهار ميشوند. قرنها است كه از نمك طعام براي نگهداري گوشت ، ماهي و برخي از سبزيجات و ميوه جات استفاده ميشود.

رنگها

رنگها به گروههاي فسفات مولكول هاي نوكلئوپروتئين متصل شده و تاثير مهاركنندگي خود را اعمال مي كنند.علاوه بر اين برخي از رنگها يونيزه ميشوند و تركيبات قليايي كاذبي را بوجود مي آورند كه حلال در چربي هستند و در غشاي سلول ها وارد ميشوند.

رنگهاي تري فنيل متان: در اين گروه رنگهايي مثل مالاشيت گرين ، بريليانت گرين و كريستال ويوله قرار دارند كه به طور انتخابي از رشد باكتريهاي گرم مثبت ممانعت بعمل مي آورند بنابراين براي ساختن محيطهاي كشت ميكروب شناسي نيز استفاده ميشوند.

كاربرد برخي از روشها براي از بين بردن ميكروبها

نوع روش	نوع ماده و دستور كار	طريقه عمل
A : عوامل فيزيكي حرارت راديياسيون	۱۰۰ درجه حرارت به مدت ۳ ـ ۲ دقيقه جهت كشتن باكتريها ۱۲۱ درجه به مدت ۱۵ دقيقه جهت كشتن اسپور	دناتوره كردن Pro سلولي واسيد نوكلئيك و پاره كردن غشاي سلول
	اشعه UV وساير اشعه هاي يونيزان	تخريب DNA سلول
B : عوامل شيميايي الكل ها	محلول ۷۰ درصد آبي اتيل الكل يا ايزوپروپيل	بازدارنده فعاليت آنزيم ها يا دناتوره كردن Pro
فنل ها	فنل، كروزل ، ليزول ... غلظتهاي بالاي ۲-۱ درصد محلول آبي	پايين آورنده كشش سطحي، دناتوره كردن Pro
يونهاي فلزات سنگين	تركيبات جيوه مثل مركوركروم با غلظتهاي پايين	اتصال و حذف گروههاي سولفيدريل آنزيمها و كوآنزيمها و پروتئين را راسب مي كند.
عوامل اكسيدان	آب اكسيژنه، هالوژن ها(يد،آب ژوال..)	اكسيده كردن گروه سولفيدريل
عوامل الكيله كننده	فرمالدئيد (محلول آبي ۳۷ درصد فرمالين)	جايگزيني گروه آلكيل با هيدروژن آزاد
دترجنت ها	انواع شوينده و پاك كننده	تخريب غشاي سلولي
صابون ها	املاح سديم و پتاسيم اسيدهاي چرب با زنجيره بلند	اختلال در عمل غشا سلول و افزايش تراوايي
عوامل شيمي درماني	آنتي بيوتيكهاي باكتريوسيد يا باكتريو استاتيك	مكانيسم عمل متفاوتي دارند.

روشهای نوین استریلیزاسیون (فقط برای مطالعه)

امروزه با توجه به پیشرفت تکنولوژی و ظهور ابزار و وسایل جدید مانند: آرتروسکوپ‌ها، لاپاروسکوپها، آندوسکوپهای سخت، فیبرهای نوری و...، نیاز به استریلیزاسیون در درجه حرارت و رطوبت پایین روز به روز در حال افزایش است.

استاندارد طلایی برای ابزار و وسایل جراحی در استریل بودن بسته‌بندی آنها است و برای کسب این مهم بهترین حالت برای استریل کردن وسایل حساس به حرارت، استفاده از روشی است که دارای مشخصات زیر باشد:

۱. استریلیزاسیون در درجه حرارت پائین
۲. عملکرد ایمن و بی خطر
۳. سیکل زمانی کوتاه
۴. اثربخشی بالا
۵. عدم ایجاد خطر برای محیط زیست
۶. عدم بروز اشکال به دلیل رطوبت وسایل
۷. قابلیت بسته بندی و نگهداری وسایل استریل

اتیلن اکساید یکی از روشهای استریلیزاسیون به شیوه مذکور است، که بیش از نیم قرن از عمر آن می‌گذرد. این روش در طول سالیان اخیر به دلیل عدم وجود جایگزین مناسب تنها روش استریلیزاسون در دما و رطوبت پائین بوده، حال آنکه علاوه بر سمی و کارسینوژن بودن و قابلیت اشتعال و انفجاراتیلن اکساید،در انتهای روند استریلیزاسیون انواعی از گازهای مهلک و سمی تولید می‌شود، که نیاز به روش‌ها و شرایط متعدد، پیچیده و هزینه سازی جهت کنترل دارد، که از آن جمله می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد:

۱. نیاز وجود یک سیستم تهویه خاص شامل یک دودکش هشت متری در بالای ساختمان
۲. نیاز به یک سیستم مانیتورینگ قوی جهت اندازه گیری میزان این گازها در محیط کار تا در صورت افزایش غلظت و برای جلوگیری از آسیبهای جدی به پرسنل اعلام خطر کند.
۳. به علت تولید مواد سمی، کلیه ستهای استریل شده نیاز به aeration کامل (قراردادن ستها در معرض هوا) و با دقت بالا دارند، که بر اساس استانداردهای جهانی به زمانی حدود ۱۴ ساعت یا در پاره ای موارد بیشتر مورد نیاز است. که نتیجه آن استفاده از این ابزارها در فواصل ۲۴ ساعته است که خود این مسأله راندمان استفاده از این ابزارهای گران قیمت را کاهش خواهد داد.
۴. همچنین نیاز به یک گاز کاتالیزور انتهایی یا اصطلاحا برنر دارد، تا مواد نهایی را تا حدی بی خطر کند.

اما اکنون روش استریلیزاسیون پلاسما که یک روش استریلیزاسیون در درجه حرارت و رطوبت پایین است به عنوان مناسب‌ترین جایگزین جهت روش اتیلن اکساید مطرح بوده و به اندازه‌ای سریع است، که می‌تواند راندمان استفاده از این ابزارهای گران قیمت را افزایش دهد. بدین معنا که نیاز به داشتن ستهای گران قیمت متعدد وجود ندارد و سیکل زمانی برگشت وسایل به اتاق عمل کاهش می‌یابد.

همچنین علاوه بر این که ماده اولیه آن (پراکسید هیدروژن) سمی نیست، پسماندهای دستگاه نیز سمی نبوده و در انتهای کار تنها آب و اکسیژن تولید خواهد شد. به همین دلیل نیازی بهAeration نداشته و در نتیجه در این تکنولوژی زمان استریلیزاسیون حداکثر به ۹۰ دقیقه کاهش یافته است.

روش پلاسما (برای مطالعه)

استریلیزاسیون پلاسما به عنوان یک روش استریلیزاسیون در درجه حرارت و رطوبت پایین و با حداکثر دمای ۳۵ درجه سانتیگراد در تمام دنیا تأیید و مورد استفاده واقع شده است. از آنجایی که استریلیزاسیون در این تکنولوژی به روش فیزیکی انجام می‌شود، زمان استریلیزاسیون کاهش یافته و تولید مواد سمی متوقف شده و عمر ستها نیز افزایش یافته است.

●روش کار

ستهای بسته بندی شده درون دستگاه اتوکلاوپلاسما قرار می‌گیرند و پمپ وکیوم شروع به کار کرده و هوا را از سیستم خارج می‌کند. در تکنولوژیهای جدید با وجود پمپهای وکیوم، بسیار قوی روغنی درکنار پمپهای وکیوم آبی، حتی در صورت نمناک بودن ستها (نه کاملا خیس)، سیکل ادامه می‌یابد و مولکولهای آب از هم می‌پاشند.

پس از رسیدن به مرحله‌ای نزدیک به خلأ کامل و خروج تمام گازهای موجود در محفظه (هرچه وکیوم قوی‌تر باشد، این خروج کامل تر خواهد بود.) پراکسیدهیدروژن به داخل محفظه تزریق می‌شود و در محیط خلا بخار شده و به تمام قسمت‌های محفظه نفوذ می‌کند، در این حالت پراکسید هیدروژن خاصیت کشندگی میکرو ارگانیسمها را دارد، ولی هنوز مرحله پلاسما آغاز نشده است. مرحله قرار گیری وسایل در معرض پراکسید هیدروژن حدود ۵ دقیقه به طول می‌انجامد و این مرحله اهمیت فراوانی برای بهتر اجرا شدن مراحل بعد دارد.

در مرحله بعد در دمای زیر ۴۵ درجه سانتی گراد، یک میدان رادیوفرکانسی در محیط محفظه ایجاد می‌شود، که پراکسیدهیدروژن را وارد مرحله پلاسمای گازی می‌کند. به این صورت که مولکول پراکسید هیدروژن را می‌شکند و به رادیکالهای آزاد غیر سمی تبدیل می‌کند .

به طور خلاصه تحت تاثیر این میدان، آخرین الکترون مداری مولکول پراکسید هیدروژن کنده شده و با شتاب به سمت ستها پرتاب می‌شود و سبب بمباران الکترونی(اصلی‌ترین قسمت استریلیزاسیون) ستها در داخل محفظه می‌شود. در طی این فعل و انفعالات موج ماورای بنفش ایجاد می‌شود. همچنین تعدادی اتم و مولکول با انرژی جنبشی تحریک شده توسط این میدان تولید می‌شود. در انتها تنها مواد باقیمانده، آب و اکسیژن هستند.

البته این بمباران الکترونی و میدان رادیوفرکانسی هیچ مانعی برای استریل کردن پیس میکرهای قلبی یا وسایل الکترونی ایجاد نمی‌کند و این وسایل به راحتی و بدون محدودیت داخل این سیستم استریل می‌شوند.

درجه حرارت داخل سیستم نهایتا به ۳۵ درجه سانتی گراد می‌رسد، که تمامی ابزارها و وسایل پزشکی این حرارت را به راحتی تحمل می‌کنند.

این روش در مطالعات متعدد قابلیت نابود سازی تمام ویروسهای انسانی ازجمله
human immunodeficiency virus type 1 (HIV-۱);
(Hepatitis A virus (HAV)
respiratory syncytial virus (RSV) ,
herpes simplex virus type 1(HSV-۱)
vaccinia and poliovirus type 2
و نیز پریون (عامل جنون گاوی) و همچنین تمام ارگانیسمهای باکتریال را دارد.

در روش پلاسما، استریلیزاسیون بیشتر به صورت فیزیکی انجام می‌شود. انتخاب نام پلاسما برای این روش به این دلیل است، که شامل فرم چهارم ماده یا به عبارتی حالتی بین ماده و انرژی است.

پروسه بالا بسته به قطر وسایل و نوع سیکل انتخابی تکرار می‌شود و در نهایت پمپ وکیوم همه مواد را وکیوم کرده و بعد از آن فشار محفظه به فشار محیط رسیده و به مجرد باز شدن دربها ستها قابل استفاده هستند.

برای نصب سیستم نیازی به اتاقی مجزا نیست و بهترین محل نصب در بخش استریلیزاسیون مرکزی کنار اتوکلاوهای بخار است، تا جنبه استریلیتی وسایل نیز تسهیل شود و پرسنل نیز با راندمان بیشتر و تعداد کمتر مورد استفاده قرار گیرند.

این زوش در مقایسه با روش اتوکلاوهای فرمالدنید نیز قابل رقابت است، چرا که در روش فرمالدئید درجه حرارت به ۶۰ درجه نیز می‌رسد، که برخی از این وسایل این دما را نیز تحمل نمی کنند.

در مورد فشار داخل سیستم پلاسما می‌توان گفت، که فشار اهمیت بسیار زیادی را از بعد میزان نفوذپذیری کیفیت پلاسمای ایجاد شده دارد. در مطالعات متعدد بهترین رنج فشار داخل سیستم بین ۰/۵۰ تا ۲ میلی بار ذکر شده که البته تولید چنین فشاری نیاز به پمپهای وکیوم بسیار قوی و البته گران قیمت دارد.

مسأله دیگر آب اکسیژنه باقیمانده در محفظه است، که به پلاسما تبدیل نشده و در برخی موارد ایجاد سوختگی‌های سطحی روی پوست پرسنل کرده است. البته در سیستمهای جدید با ایجاد وکیوم متناوب که اصطلاحا WASHING نام دارد، کل آب اکسیژنه باقیمانده از سیستم حذف می‌شود.

این روش کاربردهای فراوانی در زمینه صنایع غذایی و دارویی در جهان داشته و توسط گازهای مختلفی قابلیت اجرایی دارد، به غیر از موارد پزشکی که با پراکسید اکسیژن پلاسما تولید می‌شود.

این گاز می‌تواند توسط موادی مانند: آرگون، نیتروژن، اکسیژن،گازهای مشتق از فلور، هیدروژن نیز تولید شود.

منابع :

- ☒ مبانی تضمین کیفیت در آزمایشگاههای محیطی وحد واسط،سازمان جهانی بهداشت، دفتر منطقه ای شرق مدیترانه، ترجمه زهرا خاتمی،
- ☒ اصول حفاظت و ایمنی در آزمایشگاهها، بیمارستانها و مراکز پزشکی، تالیف دکتر ابوالحسن ضیاءظریفی
- ☒ محمد مهدي آل محمد ۱۳۶۵ ميكروب شناسي عملي . انتشارات دانشگاه تهران.
- ☒ تاجبخش ، حسن . ۱۳۶۷ باكتري شناسي عمومي . انتشارات دانشگاه تهران .
- ☒ روشهای نوین آزمایشگاهی میکروبیولوژی عملی پزشکی جلد ۲، پروفسور رضا رضائی
- ☒ راهنمای کاربردی در باکتری شناسی بالینی، ترجمه دکتر عبدالناصر رفیع
- ☒