تأثير بعض أنواع المطهرات على نمو بكتريا Nocardia asteroides المعزولة من التربة

رمزية حسن عبد الرحمن

شعبة الأحياء الطبية ، فرع التشريح ، كلية طب الموصل ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

(تاريخ الاستلام: ٢٨ / ٣ / ٢٠١١ ---- **تاريخ القبول:** ٢٦ / ١٠ / ٢٠١١)

الملخص:

تم دراسة تأثير مطهرات الايثانول ، والفورمالين ، والفينول ولفترات زمنية مختلفة على نمو بكتريا Nocardia asteroides المعزولة من التربة أظهرت الدراسة أن لمطهر الايثانول فعالية جيدة ضد هذه البكتريا مقارنة مع مطهري الفورمالين والفينول حيث اظهر المطهر وبالتراكيز (10 -70) % فعالية عالية ضد هذه البكتريا ولفترات زمنية مختلفة من المعاملة ، أما فيما يخص مطهر الفورمالين فقد بينت الدراسة انه لم يظهر تأثيرا تثبيطيا بعد مرور (15 , 30) دقيقة من المعاملة وان التركيز (30) % كان له تأثيرا محددا على نمو هذه البكتريا بعد مرور (45) دقيقة من المعاملة وان باقي التراكيز من المطهر كان لها تأثير تثبيطي على البكتريا باستخدام فترات زمنية أطول . أما بالنسبة لمطهر الفينول فقد أثبتت الدراسة إن استخدام التراكيز (2 ,4 ,6) % وخلال الفترات الزمنية (15 ,30 ,45) دقيقة لم يكن له تأثيرا تثبيطيا على نمو البكتريا حيث حصل نمو للبكتريا خلال (15 ,30 ,45) دقيقة أما بقية التراكيز (8 , 10) % فلوحظ بان لها تأثيرا تثبيطيا خلال (60 ,90 ,120) دقيقة من المعاملة مع المطهر ، كما بينت الدراسة إن حساسية بكتريا Nocardia asteroides للمطهرات تزداد بازدياد تركيز المطهر وزمن المعاملة .

الكلمات الدالة:–المطهرات، التطهير ، حساسية البكتريا للمطهرات، المطهرات الكيمائية.

المقدمة:

ظلَّ الناس يستعملون الخل والنبيذ كمطهرات طبية منذ 2500 عام، لفترات طويلة قبل اكتشاف الجراثيم التي تُسبِّب الأمراض. ولاحظ الجرّاحون منذ قرون عديدة ما يطرأ على مواضع العمليات الجراحية وجروح المحاربين غير المُضَمَّدة من فساد يجعل رائحتها كرائحة الأسماك المتعفِّنة. ولكي يمنعوا تلك الروائح الكريهة أخذوا يعالجون الأغشية المتقيِّحة بالعديد من المواد التي عُرِفت فيما بعد بالمطهرات الطبية [1] . كان للعلماء العرب فضل اكتشاف مادة الكحول ، ومن المعروف أن الرازي كان أول من أدخل استخدام الزئبق في تركيب المراهم التي تستخدم في تطهير الجروح، كما كان له الفضل في ابتكار طريقة لتحضير الكحول من المواد النشوية والسكرية المتخمرة واستخدمه في تطهير الجروح. بعد ذلك شاع استعمال الكحول، والزئبق والقطران وزيت التربنتين. وقد اتسمت بعض هذه السوائل بقدرته الفائقة على قتل الجراثيم، وإن تركت آثارها السيئة على الأنسجة. ونتيجة لذلك كان كثير من المرضى ينجون من العدوى، ولكن كان بعضهم يموتون من العلاج بتلك المطهرات، [2]. وفي منتصف القرن التاسع عشر الميلادي نجح طبيب مجري يُدعى إجناز فيليب سِيمّيلْويس في تركيب مطهر طبي عبارة عن محلول متوسط التركيز من كلوريد الجير، لمنع العدوى أثناء عمليات الولادة. واستعمل الأطباء هذا المحلول فيما بعد لغسل أيديهم قبل العمليات منعًا لتلوث مرضاهم بالجراثيم المعدية. وفي منتصف الستينيات من القرن التاسع عشر الميلادي كان الجراح الإنجليزي السير جوزيف ليستر أول من استعمل المطهرات الطبية في الجراحة، إذ قام باستعمال حمض الكربوليك لتطهير موضع الجراحة. وهكذا أصبح جهد الطبيبين سيميلويس وليستر نموذجًا تم على هديه تركيب العديد من المطهرات الطبية خفيفة التركيز قوية التأثير. وبعض هذه المطهرات كصبغة اليود والكحول، مازال شائع الاستعمال إلى الآن[3]. التطهير هو إبادة الأحياء الدقيقة والمؤذية أو تقليل عددها دون التأثير على الأبواغ الجرثومية عادة والمطهرات (باليونانية αντί ("putrefactive ،septikos – σηπτικός + "against" ،anti –) ، والمطهرات هي مواد تقتل الجراثيم أو تُوقِف نموها على الأغشية الحية. وتوضع على الجلد أو الأغشية المخاطية؛ لتساعد في منع الإصابة بالعدوى. ويجب أن تكون المُطَهِّرات الطبية على قدر من القوة، لقتل الجراثيم مع درجة من الاعتدال بحيث لا تتأذى بها الأغشية الحسّاسة. وتختلف المُطهِّرات الطبية عن المُعقمات والمضادات الحيوية [4]. والمطهرات الكيماوية :هي مواد كيماوية قاتلة للجراثيم معدة للاستعمال الخارجي ولا يمكن استعمالها داخلياً بسبب سميتها وعدم فعاليتها في الأنسجة.وهناك عدة عوامل تؤثر في فعالية هذه المواد منها :نوع الكائنات الدقيقة , وعددها , قابليتها للموت, تركيز المواد المطهرة, زمن تماسها مع عض الكائنات الدقيقة, درجة الحرارة المثالية في التأثير,درجة الحموضة أو القلوية لعمل المادة المطهرة, الاتصال المباشر ما بين كل سطوح الجسم والعامل المطهر، وإن وجود فقاعات الهواء في الأنابيب الزجاجية مثلاً يحمي الأحياء الدقيقة من المواد المطهرة، [6,5]. اكتسبت الجراثيم بمرور الزمن المقاومة لمطهرات بمختلف أنواعها ولازالت هذه المقاومة في تزايد مستمر رغم تزايد أنواع المطهرات وشدة فعاليتها [7] . مما يشكل احد الصعوبات التي تواجه عمليات التطهير في المستشفيات وغيرها من الأماكن الصحية [9,8] . يعد الكحول الاثيلي أو الايثانول من المطهرات التي تستخدم بكثرة لأغراض التطهير السطحي [10] .ويعود الايثانول إلى مجموعة الكحولات Alcohol وهي من المركبات غير الأيونية التي تقع ضمن مجموعة العوامل الفعالة سطحيا Active agaents surface [11]. والفورمالين ويسمى أيضا فورمالدهيد ، فورمول ، الدهيد النمل هو غاز عديم اللون في درجة الحرارة العادية ومذاب في الماء بنسبة 40 % وقابل للاشتعال وهو مركب عضوي من فصيلة

الالدهيدات ذو الصيغة الكيماوية CH2O ويستعمل الفورمالين خاصة في المجال الطبي والبيولوجي بحيث انه يفقد البكتريا فدرتها الممرضة ، [13,12] . أما الفينول أو ما يسمى بحامض الكاربوليك (C6H5-OH) فيستعمل بكثرة في المختبرات والمستشفيات لأغراض التطهير ويتم الحصول على مطهرات الفينول(ويشمل الفينول نفسه وكر يسول وزايلنيول) من قطران الفحم [14]

المواد وطرائق العمل : العزلات الجرثومية

عزلت بكتريا Nocardia asteroides من (75) عينة تربة جمعت من مناطق مختلفة من مدينة الموصل وتم الحصول على 12 عزلة ، أجريت الاختبارات الشكلية والكيمياحيوية على جميع العزلات ، أثبتت النتائج عزلها بنسبة 16 % من عينات التربة وان جميع العزلات تعود إلى النوع Nocardia asteroides ثم حفظت على موائل الاكار المغذي [15]. تم الحصول على مطهر الايثانول (96) % والفورمالين بتركيز (40) % من مخازن كلية طب الموصل واعتبرت كمحاليل خزينة Stock Solution، حضرت تراكيز متدرجة من المطهرات في المرق المغذي بحجم نهائي (3) سم^3 حيث حضرت تراكيز (10 ,30 ,50 ,70 ,90) % من الايثانول والفورمالين ، أما الفينول فاستخدم بتراكيز (2,4 ,6 ,8 ,10) % اختبار المقاومة للمطهرات تم زراعة العزلات الجرثومية على وسط الاكار المغذي وحضنت بدرجة حرارة (37)م°ولمدة (24-72) ساعة أخذت (2-3) مستعمرات وعلقت في المرق المغذي ، تم احتساب عدد البكتريا في الطور اللوغارتمي أي بعد مرور (24) ساعة من لحظة البدء بالزرع باستخدام شريحة الهيموسايتوميتر (hemocytometer) بوضع (o.1) مل من الوسط الزرعي على الشريحة ، حضن الوسط في حاضنة بدرجة (37) م° وتم احتساب أعداد البكتريا للحصول على العدد(3×10^2) خلية جرثومية / سم^3 تم إضافة (0.1) سم^3 من المعلق الجرثومي إلى كل تركيز من تراكيز المطهرات، كما تم عمل أنبوب سيطرة موجب وذلك بإضافة (0.1) سم^3 من المعلق البكتيري إلى الأنبوب الحاوي على (3) سم^3 من المرق المغذي فقط وأنبوب سيطرة سالب وذلك بإضافة (0.1) سم^3 من المرق المغذي إلى (3) سم^3 من كل تركيز من المطهر، تم اخذ عينات من جميع التراكيز وكذلك من أنبوب السيطرة وزرعت على وسط الاكار المغذي خلال فترات زمنية مختلفة حيث أخذت العينات بعد (15, 30, 45, 60, 90, 120 دقيقة من المعاملة مع المطهر ، حضنت الأطباق في درجة حرارة (37) م ° لمدة (72) ساعة وتم حساب أعداد البكتريا لكل تركيز في الفترات الزمنية المدروسة بطريقة العد بالأطباق لتحديد التركيز القاتل من المطهر والزمن الأمثل للمعاملة [16].

النتائج والمناقشة

بينت نتائج الدراسة إن لمطهري الايثانول والفورمالين تأثير تثبيطي أفضل على بكتريا ***Nocardia asteroides*** المعزولة من التربة مقارنة مع مطهر الفينول ، فمن الجدول (1).

دول (1) حساسية بكتريا *Nocardia asteroides* لتراكيز مختلفة من مطهر الكحول الاثيلي لفترات زمنية مختلفة من المعاملة مع المطهر .

التراكيز %	أعداد بكتريا *Nocardia asteroides* المعاملة مع مطهر الكحول الاثيلي في فترات زمنية مختلفة× (3×10^2)					
	15 دقيقة	30 دقيقة	45 دقيقة	60 دقيقة	90 دقيقة	120 دقيقة
10	385	379	320	307	292	274
30	270	260	241	210	207	180
50	49	39	35	31	25	20
70	11	7	4	0	0	0
90	385	382	376	317	315	301
سيطرة موجبة	395					
سيطرة سالبة	0					

اتضح إن الايثانول بالتراكيز (10, 30, 50, 70) % كان ذو فعالية مطلقة في تثبيط نمو بكتريا Nocardia asteroides خلال فترة (15) دقيقة من المعاملة ، حيث يمتاز الكحول بقدرته على التأثير على البكتريا الموجبة لصبغة كرام والتي لاتكون حويصلات والسالبة للصبغة إذ يمتاز الكحول الاثيلي بقدرته على سحب الماء من الخلية وتجفيفها أو النفاذ إلى داخل الخلية والعمل على تخثير ومسخ البروتين وترسيب الدهون وبما إن الماء مهم لعملية التطهير فان الايثانول في تركيز (60-75) % يكون شديد الفعالية ويكون الايثانول المطلق (100) % مطهر ضعيف بسبب كونه يعمل على سحب كميات كبيرة من الماء من الخلية بحيث لم يتمكن الكحول من النفاذ إلى داخل والعمل على تخثير البروتين الوسط [17] ، ويمتاز الكحول الاثيلي بأنه فعال جدا عند تخفيفه إلى (60-80) % وله سمية منخفضة ويستخدم في تطهير الجلد ويمكن الاستنتاج بان التأثير القاتل للكحول الاثيلي يزداد بازدياد زمن المعاملة ويعزى التأثير القاتل له إلى عدة آليات فهو يوثر على طبقة الدهن الثنائية المكونة للغشاء الخلوي ، كما انه يعمل على تخثير البروتين الخلوي إضافة إلى كونه من العوامل المجففةDehydrating agents [11] ، وعمليا تؤثر مواد عديدة على فعالية المطهر إذ إن وجود المواد العضوية هي واحدة من العوامل البيئية الهامة المؤثرة على نشاط المواد المطهرة كما إن المواد المستخرجة من الجسم كالدم والقيح والبراز والمواد البيئية كالتربة وبقايا الطعام تتفاعل مع المطهرات وتقلل من الكمية المتوفرة لإحداث التطهير لذا يتوجب التنظيف الجيد قبل التطهير خاصة إزالة الجزء

الخارجي الجاف للمواد العضوية وهذا يزيد من فرص التطهير الناجح [6]، فمثلا تغير الأس الهيدروجيني وطبيعة سطح الخلية الذي يوضع عليه المطهر قد يغير من نشاط المادة الكيمائية المطهرة ونسبة الفصل في المكونات النشطة بين الخلية الجرثومية[19,18]، تتفق هذه الدراسة مع دراسة الحسو (2002) حول حساسية جرثومة Psendomonas aeruginosa لمطهر الايثانول إذ بينت إن الايثانول بالتركيزين (70 , 80) % كان ذا فعالية مطلقة على جميع عزلات الجرثومة خلال (5) دقائق [20]. أما بالنسبة لمطهر الفورمالين فيلاحظ من الجدول (2) أنه لم يظهر تأثيرا تثبيطيا بعد (15 , 30) دقيقة من المعاملة وبعد مرور (45) دقيقة من المعاملة اظهر التركيز (30) % تأثيرا محددا على نمو بكتريا Nocardia asteroides أما باقي التراكيز فكان لها تأثير تثبيطي على نمو البكتريا.

جدول (2) حساسية بكتريا Nocardia asteroides لتراكيز مختلفة من مطهر الفورمالين لفترات زمنية مختلفة من المعاملة مع المطهر .

التراكيز %	أعداد بكتريا Nocardia asteroides المعاملة مع مطهر الفورمالين في فترات زمنية مختلفة× (3×10^2)					
	15 دقيقة	30 دقيقة	45 دقيقة	60 دقيقة	90 دقيقة	120 دقيقة
10	385	380	320	307	292	285
30	277	281	99	95	91	86
50	50	49	41	37	35	30
70	27	21	18	10	7	4
90	2	0	0	0	0	0
سيطرة موجبة	395					
سيطرة سالبة	0					

إن هذا يشير إلى شدة مقاومة هذه الجرثومة لهذا المطهر الذي غالبا ما يستخدم في تطهير الأجهزة الطبية وغرف العمليات وربما يحتاج هذا المطهر إلى زمن اكبر لإظهار تأثيره حيث أشارت بعض الدراسات إلى أن للفورمالين تأثير كبير في قتل البكتريا والفايروسات والفطريات وكذلك السبورات والتي هي ذات مناعة للفينول والكحول والأصباغ وبقية المعقمات ولكن المدة اللازمة لقتل السبورات عن طريق الفورمالين طويلة نسبيا إذ قد تحتاج لعدة أيام لقتل سبورات الكزاز وفايروسات شلل الأطفال [14,7]. أما بالنسبة لمطهر الفينول فيلاحظ من الجدول (3) نمو البكتريا باستخدام التراكيز المختلفة من هذا المطهر ، حيث تتبين أن التراكيز (6,4,2) % حصل فيها نمو للبكتريا خلال (15 45,30) دقيقة من إضافة المطهر إلى الوسط الزرعي لنمو البكتريا ، أما بقية التراكيز (10,8) % فلوحظ عدم حصول أي نمو للبكتريا خلال(120,90,60) دقيقة من المعاملة مع المطهر.

جدول (3) حساسية بكتريا Nocardia asteroides لتراكيز مختلفة من مطهر الفينول لفترات زمنية مختلفة من المعاملة مع المطهر .

التراكيز %	أعداد بكتريا Nocardia asteroides المعاملة مع مطهر الفينول في فترات زمنية مختلفة× (3×10^2)					
	15 دقيقة	30 دقيقة	45 دقيقة	60 دقيقة	90 دقيقة	120 دقيقة
2	365	350	341	311	309	301
4	312	310	301	279	251	0
6	170	75	59	15	0	0
8	70	37	1	0	0	0
10	42	36	4	0	0	0
سيطرة موجبة	395					
سيطرة سالبة	0					

إن فعالية الفينول لاتتأثر بزيادة تركيز البكتريا ولاتتأثر بوجود مواد عضوية مع البكتريا المراد قتلها كالقبح أو الغائط ولغرض جعل هذه المادة أكثر فعالية في التعقيم بتقليل ذوبانها في الماء فقد اشتقت منها مزاد عديدة أهمها(Hexy resorcinol, Lysol) أوقد بدخل الكلور مع الفينول في مادة (Hexachlorophene) المعقمة والممزوجة مع الصابون [14]. يتحصل على مطهرات الفينول ويشمل ذلك (الفينول نفسه وكريسول وزيلينول) من قطران الفحم تقوم هذه المركبات بتغيير نفوذية جدار الخلية وتمسخ البروتين بالتالي تثبط عمل الإنزيمات ولهذه المجموعة القدرة على قتل الجراثيم الموجب والسالب لصبغة كرام وهي فعالة ضد الخميرة والفطر، تختلف الفايروسات فيما بينها في استعدادها للتاثر بالفينول .لا بد من أن يتعامل الشخص مع مطهرات الفينول بحذر لأنها تمتص بسرعة من الجلد ويمكن أن تسبب حروقا شديدة وابتلاع هذه المركبات قد يكون قاتلا [13 , 21] . أجريت هذه الدراسة والتي تعتبر الأولى في استخدام المطهرات الكيمياوية على هذا النوع

من البكتريا وذلك لأهمية هذه البكتريا واتي تشخص بالخطأ على أنها بكتريا Mycobacterium tuberculosis المسببة للسل الرئوي وذلك بسبب التشابه الكبير في الصفات الشكلية والمجهرية بين الاثنين ، إضافة إلى التشابه في الأعراض المرضية ولكون بكتريا Nocardia asteroides لها القدرة على الانتقال من الحيوان أو الماء أو الغبار أو الخضراوات إلى الإنسان فقد أجريت مثل هذه الدراسة لمعرفة مدى مقاومة هذه البكتريا لأنواع المطهرات المستخدمة في الدراسة وإمكانية استخدام هذه المطهرات في تطهير وتعقيم الأيدي والأسطح والأدوات للحد من الإصابة بهذه البكتريا وإمكانية إجراء دراسات مستقبلية باستخدام مطهرات أخرى ذات تأثير افوى على هذه البكتريا .

References:

1. R.M. Marianne, and H.B. Jeffery. Disinfectants and disinfection Products. Water quality products 2006) 11(7).

2. فياض، منار، المطهرات البديلة و المؤكسدات. منظمة الصحة العالمية، المكتب الإقليمي للشرق المتوسط، المركز الإقليمي لأنشطة صحة البيئة، عمان–الأردن، (2005) 1-10.

3. Z.A. Abdullah , S.A. Yaseen , and R.Y. Ali. Practical Bacteriology ,Mycology, Immunology and Virology. Department of Microbiology college of Musol , (1987) .

4 . G. Drarak J. , Roth , and S. Amass . Disinfection The center for food security and public health Veterinary medicine .(2008).

5. L. Joseph . "The evolution of chemical disinfectants" , Omid-baksh (2007).

6 . H. Jeffery, K. Patrick, B. Dale, O. Stephen, and A. B. ,Lillian. Disinfection and Sterilization in Health care facilities.Centers for disease control and prevention , Health infection control practices advisory committee (HICPAC) (2008) .

7. W. A . Rutala , M. M. Stiegel , F. A. Sarubbi.,and D. J. Weber. Susceptibility of antibiotic susceptible and antibiotic resistant hospital bacteria to disinfectants . Infect. Cont. Hosp. Epidermiol, (1997) 18: 417-421.

8. , J.F. Gardne , and M.M . Peel. Introduction to Sterilization and Disinfection Malformed, Churchill . Livingstone, Engaland.(1986) .

9. J.C. Hoff, and E.W Akin. Microbial resistance to disinfectants : Mechanisms and significance, J. of Environ Health Prespect . (1986)69: 7-13.

10. A.D. Russell, W.B. Hugo, and G.A.T. Ayliffe. "Principles and Practice of disinfectant preservation and sterilization". Oxford,Black Well Scientific publications, England,(1982).

11. M.G. Schmid . Disinfection and Sterilization. In: Virella , G(ed) Microbiology and infectious diseases. (1997) 3 rd . ed., Williams and Wilkins Co. USA.

12. J. Read . Tex book of Organic Chemistry. Ion .G. Bell and Sons (1935).

13.الهاشمي، بدر الدين حامد،. المطهرات ، قسم الطب البيطري ، جامعة القصيم ، السعودية، (2010).

14.السماك، مهدي، الأحياء المجهرية الطبية، جمهورية العراق، وزارة الصحة، الهيئة العامة للتعليم والتدريب الصحي (1983).

15. E.W. ,Koneman, S.D., Allen, ,W.M., Janda P.C., Schreckenberger, and W.C., Winn . Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5th ed.Lippincott-Raven Publishers , Philadelphia , USA.(1997).

16. R.., Gruickshank, J.P., Duguid, B.P., Marmion ,and R.H.A., Swain. Medical microbiology, vol.2, "The practice of medical microbiology" (1975)12 th ed. Churchill Livingstone, England.

17. M.W., LeChevallier . "Inactivation of biofilm bacteria," *Applied and Environmental Microbiology*, (1998) 54(10): 2492-2499.

18. T., Johnson and C. Case . "Laboratory Experiments in Microbiology, Brief Edition" ,(1995) 4th ed., Red Wood city, CA Benjamin- ammings publishing coy.

19. R.H., Taylor . "Chlorine, chloramine, chlorine dioxide, and ozone susceptibility of Mycobacterium avium," Applied and Environmental Microbiology, (2000) 66(4):1702-1705.

20. M.Z. Al-Hasso. Study on sensitivity of ***Psendomonas aeruginosa*** to Ethanol and Septol. J.Raf..Sci. , (2002)13(1),169-157.

21. B.H . Keswick . "Inactivation of Norwalk virus in drinking water by chlorine," Applied and Environmental Microbiology. (1985)

The Effect of some disinfectants on the growth of the Nocardia asteroides bacteria isolated from soil .

Ramzia Hassan Abdul Rahman
Class of Medical Biology, Anatomy Department , College of Medicine , University of Mosul , Mosul , Iraq
(**Received:** 28 / 3 / 2011 ---- **Accepted:** 26 / 10 / 2011)

Abstract:
The effect of ethanol , formalin , and phenol with different time was studied against Nocardia asteroides bacteria isolated from soil .The study showed that Ethanol disinfectant has good activity against this bacteria which has ability to inhibit the growth of bacteria at concentrations of (10 , 30 , 50 , 70) %in different time intervals. The study also showed that formalin disinfectant has no ability to inhibit the growth of bacteria after (15, 30) minutes of intervals while the concentration (30) % of the disinfectant was with limited effect the growth of bacteria after (45) minutes of intervals , and the other concentrations of formalin were have the ability to inhibit the growth of this bacteria with increase in treatment time.The study proved that the (2, 4, 6) % concentration of phenol disinfectant with (15, 30, 45) minutes had no effect on the growth of bacteria while the other concentrations (8, 10) % of phenol had ability to inhibition the growth of bacteria during (60, 90, 120) minutes of intervals. The study showed that sensitivity of bacteria to the disinfectant increases with increase of disinfectant concentration and treatment time.