

تأثیر مواد ضد عفونی کننده بر روی باکتریهای

بیماری زای روده‌ای

دکتر ابوالحسن ظریفی - دکتر منصور شفیع - دکتر توران زیركزاده *

خلاصه :

تأثیر عده‌ای از مواد ، که بعنوان ضد عفونی کننده در بازار موجود و یادرنازل بکار برده میشود شامل : کلسیم هیپوکلریت^۱ و سدیم - پ - تولوئن سولفون کلرامید^۲ و بنزالکونیوم کلرید^۳ - پرمنگنات پتاسیم - صابون سوبلیمه - پودر رختشویی - پودر صابون دستشویی و نمک طعام بر روی باکتریهای بیماریزا در آزمایشگاه رفرانس مورد بررسی قرار گرفت و اثر باکتری کشی غلظت‌های مختلف آنها بر روی باکتری‌های مختلف (سالمونلا تاینوزا - شیگلافلکسری تیپ ۲ - اشیرشیا کلی سروتیپ^۴ ۱۷ ب ۱۲۴ . ویریو کلرایوتیپ التور ، سروتیپ اینابا) ارزشیابی گردید .

طی این بررسیها ملاحظه گردید که محلول (هزار قسمت در یک میلیون قسمت) کلسیم هیپوکلریت و سدیم - پ - تولوئن سولفون کلرامید و بنزالکونیوم کلرید در مدت ۱۰ دقیقه کلیه باکتریهای فوق را (حتی در غلظتهای زیاد باکتری) میکشد و بین آنها سدیم - پ - تولوئن سولفون کلرامید و بنزالکونیوم کلرید، بعلاوه اثر طولانی تر و سمیت کمتر بر کلسیم هیپوکلریت ارجحیت دارد . صابون سوبلیمه و پرمنگنات دوپتاسیم با غلظت یکصدم در مدت ۵ دقیقه بر روی باکتریهای فوق مؤثر است ولی با این غلظت به علت تغییر رنگی که به مواد غذایی میدهد نتیجه ظاهری رضایت بخشی ندارد . دترجنتها و نمک طعام در شرایط آزمایشگاهی عملاً هیچگونه اثر باکتری کش نشان نمیدهد .

* - آزمایشگاه رفرانس وزارت بهداشتی .

- 1- Calcium hypochlorite
- 2- sodium - P_toluensulfonchloramide
- 3- benzalkonium chloride
- 4- 0124B 17

استفاده از مواد ضد عفونی کننده برای حفظ بهداشت فردی و محیط همواره توصیه شده است . هر چه ماده مورد استفاده (که بدیهی است قبل از عرضه به بازار درباره عدم یا کمی سمیت و بی خطر بودن آن اطمینان حاصل شده است) مؤثرتر و ارزاتر و مصرف آن راحت تر باشد مورد قبول بیشتری از مردم قرار میگیرد .

در طی سالیان متمادی استفاده از موادی مانند صابون - الکل - ید - پرمنگنات پتاسیم - سولفات مس و ترکیبات آهکی برای ضد عفونی کردن سبزی - میوه ، آب و نظایر آن مرسوم بوده و محققین مختلفی چون جولز^۵ ، موریلو^۶ ، بایز^۷ ، وان ارنجن^۸ ، بوجوید^۹ ، غوش پانجا^{۱۰} ، لیوریوس^{۱۱} درباره تأثیر میکرب کشی این مواد مطالعه کرده اند - ترس از همه گیری وبا که سالیان دراز بر تمدن بشری سایه افکنده بود بانجام چنین مطالعاتی کمک کرده است .

در سالهای اخیر نیز کارخانجات شیمیائی داروسازی محصولاتی را به عنوان مواد ضد عفونی کننده قوی معرفی کرده و بوسیله تبلیغات وسیع مصرف آنرا به مردم توصیه مینمایند .

مطالعه چنین مواد و تأثیر آن بر روی میکربهای بیماری زای روده یکی از مهمترین وظایف آزمایشگاههای بهداشتی است ، بهمین جهت آزمایشگاه رفانس وزارت بهداشتی بر آن شد که تأثیر چند نمونه از این مواد را که در زندگی روزانه مورد استفاده مردم قرار میگیرد بررسی نموده و اثر میکرب کشی آنها را بر روی میکربهای مانند سالمونلا - شیگلا ، اشریشیاکلی بیماریزا و ویبریون کلرا تعیین کند .

در ایران طی دوران همه گیریهای مختلف ناشی از سالمونلا و شیگلا وهمچنین در همه گیری وبای التور در سال ۱۳۴۴ استفاده از موادی مانند کلسیم هیپوکلریت و سدیم پ تولوئن سولفون کلرامید و نزالکونیوم کلرید - پرمنگنات پتاسیم و صابونهای مختلف از طرف مقامهای بهداشتی ب مردم توصیه شده و این مواد بمقدار وسیع مورد استفاده همگانی قرار گرفته و بهمین دلیل تعدادی از این مواد از نظر تأثیر میکرب کشی مطالعه شده است که بشرح آن میپردازیم .

روش آزمایش

۱- رقیق کردن :

از مواد ضد عفونی کننده^{۱۲} و دیترجنت های^{۱۳} مورد مطالعه ، محلولهایی به

- | | | | |
|---------------|-----------------|--------------|-------------------|
| 5- Jolles | 6- Murillo | 7- Babes | 8- Van - Ermengen |
| 9- Bujwid | 10- Ghosh-Panja | 11- Liborius | |
| 12- germicide | 13- detergents | | |

رقت‌های مختلف (از 10^{-2} تا 10^{-7}) تهیه‌گردیده و به این ترتیب که يك گرم از هر يك از مواد مورد آزمایش را به دقت وزن کرده در بالنهای ژوژه صدسانتی‌مترمکعبی ریخته و حجم هر يك را بوسیله آب لوله‌کشی شهر تهران به ۱۰۰ رساندیم بدین ترتیب محلول يك صدم (10^{-2}) آماده شد، سپس از این محلول یکمدم محلول‌های رقیق‌تر تا يك به ده میلیون (10^{-7}) تهیه گردید.

۲- تهیه کشت باکتری :

از هر يك از نمونه‌های میکربی مورد آزمایش شامل سالمونلا تایفوزا - شیگلا فلکسنری تیپ ۲ و اشیریشیاکلی سروتیپ ۱۷ ب ۱۲۴ کشت تازه ۲۴ ساعته درنوتریون برات، از ویبریون کلرایوتیپ التور، سروتیپ اینابا کشت تازه ۲۴ ساعته در آب پپتونه قلیائی، تهیه گردید، (غلظت تقریبی ۴ میلیارد در يك سانتیمتر) .

۳- مجاورت باکتری با محلولهای مورد آزمایش :

مرحله ۱- يك سانتی‌متر مکعب از کشت تازه باکتری مورد آزمایش را به لوله شماره يك محتوی ۹ سانتیمتر مکعب محلول یکمدم ماده مورد آزمایش ریخته بلافاصله زمان یادداشت گردید و محتوی لوله با چند حرکت دورانی بهم آمیخته شد . پس از ۳۰ ثانیه يك سانتی متر مکعب از همان کشت به لوله شماره ۲ با غلظت یکهزیم از ماده ریخته و به همین ترتیب با در نظر گرفتن ۳۰ ثانیه فاصله زمان تا آخرین لوله این کار ادامه یافت، ده دقیقه پس از شروع آزمایش از لوله شماره يك، نیم سانتیمتر مکعب روی سطح کشت نوتریون اگر داخل پلیت کشت نموده بفاصله ۳۰ ثانیه از لوله دوم نیم‌سانتیمتر مکعب برداشته به پلیت نوتریون اگر شماره ۲ ریخته و بهمین ترتیب با فواصل زمانی ۳۰ ثانیه کار کشت تا آخرین لوله ادامه یافت .

مرحله ۲- ده دقیقه پس از شروع آزمایش (مجاورت باکتری با مواد ضد عفونی‌کننده) به ترتیبی که در مرحله يك بیان گردید و با توجه بفواصل زمانی ۳۰ ثانیه کار انجام کشت در يك سری دیگر پلیت‌های محتوی نوتریون اگر جداگانه پایان یافت و عمل فوق ۱۵ دقیقه و ۲۰ دقیقه پس از تماس باکتری و مواد مورد آزمایش نیز تکرار گردید .

کلید پلیت‌های کشت شده همراه برجسی با ذکر مشخصات کشت از نظر رقت مواد و زمان مجاورت باکتری با مواد مورد آزمایش در گرمخانه ۳۷ درجه قرار گرفت و پس از ۲۴ الی ۴۸ ساعت نتایج شرح زیر خوانده شد .

بطوریکه در جدول شماره يك ملاحظه می‌گردد، محلول کلسیم هیپوکلریت با رقت ۱۰۰ قسمت در يك میلیون قسمت در مدت ۱۰ دقیقه ویبریون کلرا التور و اشیریشاکلی ۱۷ ب ۱۲۴ را میکشد و برای انهدام سالمونلا تایفوزا در همین غلظت ۱۵ دقیقه وقت لازم است درحالی‌که چنین غلظتی حتی در مدت ۲۰ دقیقه هم بر شیگلا فلکسنری تیپ ۲ بی‌اثر است . ولی محلول يك در هزار کلسیم هیپوکلریت در مدت ۱۰ دقیقه بر هر چهار نوع باکتری مورد آزمایش مؤثر بوده و اثر باکتری‌کش خود را به شایستگی ظاهر می‌سازد.

چنانچه در جدول شماره ۲ ملاحظه میگردد فقط ویربیوکلرا التور در مقابل محلول صدقسمت در میلیون سدیم پ تولوئن سولفون کلرامید ، حساس بوده و در مدت ۵ دقیقه حیات خود را از دست میدهد ، درحالیکه در این غلظت حتی در ۲۰ دقیقه هم هیچکدام از سه نوع باکتری دیگر (سالمونلا ، شیگلا ، اشیریشیا کلی) حساسیت نشان نمیدهند و فقط محلول هزار قسمت در میلیون سدیم پ تولوئن سولفون کلرامید است که تمام چهارنوع باکتری را در ۵ دقیقه منهدم میسازد .

جدول شماره ۳ شاخص اثر بنزالکونیوم کلرید است و محلول یکصد قسمتی در میلیون آن شیگلا فلکسنری و ویربیوکلرا التور رادرمدت ۵ دقیقه و سالمونلا تاینفوزا را در ۲۰ دقیقه میکشد . درحالیکه با این غلظت و زمان ۲۰ دقیقه اشیریشیا کلی کاملاً مقاوم است .

بنابراین غلظت ایده‌آل و رضایتبخش بنزالکونیوم کلرید نیز هزار قسمت در میلیون است که این محلول در مدت ۵ دقیقه بر هر چهار نوع باکتری مؤثر است .

پرمنگنات پتاسیم که شناخته شده همه مردم است و از دیرزمان بمنظور ضد عفونی کردن سبزیها پکار میرفته ویربیوکلرا التور و اشیریشیا کلی را با غلظت یکصد قسمت در میلیون در مدت ۱۰ دقیقه میکشد و شیگلا فلکسنری تیپ ۲ را با غلظت هزار قسمت در میلیون و سالمونلا تاینفوزا را با غلظت ده هزار قسمت در میلیون در مدت ۵ دقیقه نابود میسازد .

باین ترتیب محلول هزار قسمت در میلیون پرمنگنات پتاسیم برویربیوکلرا التور- شیگلا و اشیریشیا کلی ، اثر باکتری کشی داشته و بر سالمونلا تاینفوزا بی اثر است . محلول یکصد صابون سونبیمه در ۱۰ دقیقه اثر باکتری سید دارد و محلولهای رقیقتر آن بر چهارنوع باکتری بی اثر است .

دیترجنت‌های معمولی مثل پودرهای رختشویی و پودر صابون دستشویی با غلظت یکصد هم در ۲۰ دقیقه بر هیچکدام از باکتریهای مورد آزمایش اثر باکتری سید ندارد .

نمک طعام معمولی در بسیاری از منازل و خانواده‌ها برای شستشو و ضد عفونی سبزی و میوه مورد استفاده قرار میگیرد ، از این ماده محلولهایی به غلظت یک درصد و دو درصد و پنج درصد و ده درصد و بیست درصد (حد اشاع) تهیه نموده و ۹ سانتیمتر مکعب از این محلولها را با یک سانتیمتر مکعب از کشت تازه ویربیوکلرا التور ، سالمونلا تاینفوزا ، شیگلا فلکسنری تیپ ۲ و اشیریشیا کلی ۱۷ ب ۱۲۴ . مجاور ساخته و پس از ۵ و ۱۰ و ۲۰ و ۳۰ و ۴۰ دقیقه مجاورت روی پلیت ت ت ب اس^{۱۴} تغییر یافته و جدید آزمایشگاه فرانس (۸) و محیط‌های اختصاصی سالمونلا ، شیگلا و اشیریشیا کلی یعنی ب - ام - ای - اس^{۱۵} آگار و مک کونکی آگار کشت و به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه قرار داده شد ، تمام پلیت‌ها پس از مدت مذکور آزمایش شد و رشد کامل باکتری که نشانه مقاومت آن در مقابل نمک طعام است مشاهده گردید .

نتیجه :

محلول یکهزار قسمت در میلیون سدیم پ تولوئن سولفون کلرامید و بنزالکونیوم کلرید و کلسیم هیپوکلریت باکتریهای بیماریزای روده مانند ویبریون کلرالنتور عامل بیماری وبا و سالمونلا تیفوزا عامل تب حصبه و شیگلایفلکسنری مسبب اسهال خونی باسیلی و اشیریشیاکلی بیماریزا عامل مهم اسهال و استفراغهای تابستانی اطفال را حتی در غلظت زیاد باکتری (۴۰۰ میلیون در یک سانتیمتر مکعب) بمدت ۱۰ دقیقه میکشد . اثر باکتری کشی سدیم پ تولوئن سولفون کلرامید و بنزالکونیوم کلرید تقریباً برابر با کلسیم هیپوکلریت است ، با این اختلاف که اثری مداوم تر و طولانی تر داشته و ضمناً سمیت آنها کمتر است .

پرمنگنات پتاسیم و صابون سولیمه یک درصد در مدت ۵ دقیقه بر چهار نوع باکتری مورد آزمایش اثر باکتریسید دارد ، اما چون محلول یک درصد پرمنگنات پتاسیم محلول غلیظ و کاملاً تیره است و باعث تغییر رنگ سبزی و میوه میشود لذا بکار بردن پرمنگنات پتاسیم بمنظور ضد عفونی جز در مواقع اجباری چندان رضایتبخش نیست . دیترجنتهایی مثل پودرهای رختشویی و صابونهای دستشوئی معمولی که مصرف خانگی دارد عملاً هیچگونه اثر باکتری کش در لوله نشان نمیدهد .

نمک طعام در هیچ غلظتی حتی در حد اشباع اثر باکتری کش قابل توجهی ندارد . از این نظر توصیه میشود : در درجه اول سدیم پ تولوئن سولفون کلرامید یا یکی از کلرامینهای آلی و یا بنزالکونیوم کلرید و در درجه دوم از کلسیم هیپوکلریت و در موارد اجباری که هیچکدام از مواد مذکور در دسترس نباشد از پرمنگنات دوپتاسیم برای ضد عفونی کردن سبزی و میوه استفاده شود .

تشرحات :

نویسندگان از راهنماییهای ارزنده آقای دکتر یداله ظفری و همکاریهای ذیقیمت خانم دکتر رحمانزاده - خانم مهین تعلیمی - آقای محمدعلی بهاور و آقای تیمور مرادی و خانم هما شایان و آقای هوشنگ دلاوریان که در اجراء این برنامهها مساعدت لازم را میدول فرمودند سپاسگزاری مینمایند .

جدول شماره ۱ - اثر برومید کلسیم Calcium hypochlorite بر ویروس کرونا التور ، سرو تیپ اینابا ،

0124 B17 سالمونلا تایفوزا ، شیگلا فلکسنری تیپ ۲ و اشیریشیا کلی

مدت زمان	۵ دقیقه					۱۰ دقیقه					۱۵ دقیقه					۲۰ دقیقه										
	درجه غلظت					درجه غلظت					درجه غلظت					درجه غلظت										
نوع باکتری	م	کمتر از ۱	۱	۲	۳	م	کمتر از ۱	۱	۲	۳	م	کمتر از ۱	۱	۲	۳	م	کمتر از ۱	۱	۲	۳	م	کمتر از ۱	۱	۲	۳	
	ویروس کرونا التور	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+
سالمونلا تایفوزا	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
شیگلا فلکسنری تیپ ۲	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+
اشیریشیا کلی 0124 B ¹⁷	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+

+ : رشد باکتری (نشانه مقاومت در مقابل مواد باکتری کش) - : عدم رشد (حساسیت و انهدام باکتری)

جدول شماره ۲ - اثر
 سالمونلا تايفوزا ، شبيگلا فلکسنزى تيب ۲ و اشيريشياکل 0124 B17 Sodium p-toluensulfonchloramide بروبيروکلرا التور سروتيب اينيا ،

مدت زمان	۵ دقیقه				۱۰ دقیقه				۱۵ دقیقه				۲۰ دقیقه					
	درجه غلظت				درجه غلظت				درجه غلظت				درجه غلظت					
نوع باکتری	یکصد م	یکهزارم	یکده هزارم	یکصد هزارم	یکمیلیونیم	یکده میلیونیم	یکصد م	یکهزارم	یکده هزارم	یکصد هزارم	یکمیلیونیم	یکده میلیونیم	یکصد م	یکهزارم	یکده هزارم	یکصد هزارم	یکمیلیونیم	یکده میلیونیم
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ويبريوکلرا بيوتيب التور	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
سالمونلا تايفوزا	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
شبيگلا فلکسنزى تيب ۲	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
اشيريشياکل 0124 B17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

علامت + : رشد باکتری (مقاومت باکتریها در مقابل مواد باکتری کش) — : عدم رشد (حساسیت وانهد ام باکتری)

جدول شماره ۳ اثر برومپرولولام بنزوات Benzalkonium chloride

0124B17 شیکلا فلکسنری تیپ ۲ واشیریشیا کلی سالمونلا تایفوزا ،

مدت زمان / نوع باکتری	۵ دقیقه				۱۰ دقیقه				۱۵ دقیقه				۲۰ دقیقه			
	درجه غلظت				درجه غلظت				درجه غلظت				درجه غلظت			
لو بیروپولکرا بیوتیپ التور	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
سالمونلا تایفوزا	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
شیکلا فلکسنری تیپ ۲	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0124B17 اشیریشیا کلی	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴	۱	۲	۳	۴
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

توضیح علامت + : رشد باکتری (مقاومت باکتری در مقابل مواد باکتریسید - : حساسیت وانهدام باکتری)

جدول شماره ۴- اثر پرمگانگات پطاسیم بر ویبروکلا التورسروتیپ اینا با ، سالمونلا تایفوزا شیگلا فلکسنری

تیپ ۲ واشیریشیاکلی 0124 B17

مدت زمان	۵ دقیقه				۱۰ دقیقه				۱۵ دقیقه				۲۰ دقیقه			
	درجه غلظت				درجه غلظت				درجه غلظت				درجه غلظت			
نوع باکتری	یکصد م	یکهزارم	یکده هزارم	یکمیلیونیم	یکده میلیونیم	یکصد م	یکهزارم	یکده هزارم	یکمیلیونیم	یکده میلیونیم	یکصد م	یکهزارم	یکده هزارم	یکمیلیونیم	یکده میلیونیم	
	ویبروکلا التور	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	
سالمونلا تایفوزا	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
شیگلا فلکسنری تایپ ۲	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	
اشیریشیا کلوم BI7 0124	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	

بوضیح علامت + : رشد باکتری (مقاومت باکتری در مقابل مواد باکتریسیده . - : عدم رشد (حساسیت وانهد ام باکتری)

REFERENCES

- (1) Jolles, M. (1893) Uber die Desinfectionsfahigkeit von Seifenlosungen gegen cholorakeime. Z. Hyg. Infektkr. 15, 460.
- (2) Murillo, F. (1912) Estudio experimental de desinfection anticolerica con aplicacion a la practica. Bol. Inst. nac. Hig. (Madr.) 8,123.
- (3) Babes, V. (1885) Untersuchungen uber koch, E. Kommabacillus. Virchows Arch. path. Anat. 99,148.
- (4) Ermengem, van (1885) Recherches sur le microbe du cholera asiatique, Paris, Bruxeiles (Quoted by Sticker, 1912).
- (5) Bujwid, O. (1892) Eine neue biologische Reaktion fur die cholera bakterien. Zbl. Bakt. 12,595.
- (6) Panja, G. & Ghosh, S.K. (1843 h) Lethal action of Potassium permanganate on vibrios. Indian med. Gaz 78, 288.
- (7) Politzer R. (1959) Cholera, Geneva W.H.O. monograph Series No. 43.
- (8) Zafari, Y. Zarifi, A. and Zomorodi, F. (1968). A comperative study of Sea salt water and Cary-Blair media for Transportation of stool specimen, J. Trop. Med. and Hyg. 71, 178-179.
- (9) Archana Datta and S.P. De, (1969) Survival of Vibrio Cholera in Some of the Waters of Calcutta journal Med. Res.
- (10) WHO Public Health Papers No. 40 Principles and Practice of Cholera Control 1970.