



Ức chế vi sinh vật bằng các tác nhân vật lý và hóa học

Bởi:

Nguyễn Lâm Dũng

buivietha

Mặc dầu đa số vi sinh vật là có ích và cần thiết cho nhân loại, nhưng hoạt động của vi sinh vật cũng có thể gây nên nhiều tác hại cho con người. Chẳng hạn như việc gây nên các bệnh tật cho người, gia súc, gia cầm, việc làm hư hỏng thực phẩm, nguyên vật liệu... Vì vậy chúng ta phải nắm vững các phương pháp để tiêu diệt hoặc ức chế các vi sinh vật có hại, làm giảm bớt các thiệt hại do chúng gây nên. Chủ yếu là : (1) - Tiêu diệt các vi sinh vật gây bệnh và cản trở sự lan truyền của chúng. (2) - Giảm bớt hoặc hạn chế các vi sinh vật gây ô nhiễm nguồn nước, thực phẩm và phá hủy các nguyên vật liệu khác.

Trong một thời kỳ rất dài, từ khi chưa biết đến sự tồn tại của vi sinh vật thì tổ tiên chúng ta đã biết không ít các biện pháp để tiêu độc và diệt khuẩn. Người Cổ Ai Cập đã biết dùng lửa để diệt khuẩn, dùng các chất tiêu độc để xử lý các vật thối rữa. Người Cổ Hy Lạp đã biết cách xông sulfur để bảo quản các vật liệu kiến trúc. Người Hê-Bơ (Hebrews) đã có luật thiêu hủy toàn bộ quần áo của những người bị bệnh hủi. Hiện nay, việc nắm vững các kỹ thuật tiêu diệt vi sinh vật vẫn hết sức quan trọng, chẳng hạn như việc sử dụng kỹ thuật vô khuẩn trong nghiên cứu vi sinh vật, việc bảo quản lương thực, thực phẩm, việc phòng chống các bệnh truyền nhiễm...

Định nghĩa thuật ngữ

- Diệt khuẩn hay Khử trùng (sterilization): Từ gốc La Tinh sterilis là tuyệt dục, vô sinh. Có nghĩa là tiêu diệt tất cả vi sinh vật, bào tử, virus, viroid. Để diệt khuẩn có thể dùng các chất diệt khuẩn (sterilant) hoặc dùng các nhân tố vật lý khác.
- Tiêu độc hay Khử độc (disinfection) là tiêu diệt, ức chế hoặc loại trừ các vi sinh vật gây bệnh.. Mục tiêu chủ yếu là tiêu diệt mầm bệnh nhưng trên thực tế cũng là làm giảm số lượng chung của vi sinh vật. Để tiêu độc cần dùng các chất tiêu độc (disinfectant). Đó thường là các hóa chất và thường dùng để tiêu độc các vật liệu không phải là cơ thể người và động thực vật. Các chất tiêu độc không diệt được bào tử và một số vi sinh vật, vì vậy không thể dùng để diệt khuẩn.

- Tiêu độc vệ sinh (sanitization) có liên quan mật thiết với tiêu độc. Trong quá trình tiêu độc vệ sinh số lượng vi sinh vật giảm xuống tới từ mức an toàn trở xuống đối với sức khỏe công cộng, tức là đạt đến tiêu chuẩn vệ sinh. Các chất tiêu độc vệ sinh (sanitizer) thường được dùng để làm sạch môi trường và các vật dụng không phải cơ thể người và động thực vật.
- Phòng thối (antiseptis) là dùng hóa chất để khống chế vi sinh vật sự sinh trưởng của vi sinh vật trên các tổ chức sinh vật (các mô). Gốc Hy Lạp , anti là đối kháng, sepsis là nhiễm trùng máu. Chất phòng thối (antiseptic) nhiều người gọi là chất sát trùng là chưa chính xác, dễ nhầm với chất diệt khuẩn (sterilant). Sử dụng chất phòng thối để phòng nhiễm khuẩn, mưng mủ nhờ tiêu diệt hay ức chế vi sinh vật gây bệnh, ngăn ngừa sự sinh trưởng của vi sinh vật trên các mô của sinh vật, giảm thiểu tổng số vi sinh vật. Độ tính của chất phòng thối thấp hơn chất tiêu độc là vì cần tránh việc làm chết quá nhiều tế bào của các mô.
- Chất kháng vi sinh vật (antimicrobial agent) được chia thành nhiều loại. Chất diệt khuẩn (germicide), gốc La Tinh cide là giết chết, là chất có thể tiêu diệt các vi sinh vật gây bệnh (pathogenes). Như vậy tiếng Việt có hai chữ Chất diệt khuẩn để chỉ cả germicide lẫn sterilant. Thực chất các chất này cũng gần giống nhau, sterilant có phạm vi diệt khuẩn rộng hơn germicide. Các chất diệt nấm (fungicide), chất diệt tảo (algicide), chất diệt virus (viricide) để chỉ các chất tiêu diệt từng đối tượng riêng biệt.

Có những hóa chất không làm chết được vi sinh vật nhưng có thể ức chế sự sinh trưởng của chúng. Có thể thường gặp các chất ức chế vi khuẩn (bacteriostatic), chất ức chế nấm (fungistatic), theo gốc Hy Lạp thì statikos là đình chỉ.

Tất cả các chất nói trên thường định nghĩa dựa trên ảnh hưởng đối với các vi sinh vật gây hại. Có loại giết chết, có loại ức chế, nhưng trong hầu hết các trường hợp đều làm giảm tổng số vi sinh vật nói chung (không chỉ riêng đối với các vi sinh vật gây bệnh).

Các phương pháp tiêu diệt vi sinh vật

Dưới tác dụng của một số nhân tố gây chết quần thể vi sinh vật không chết ngay toàn bộ. Giống như sự sinh trưởng của quần thể , sự chết của quần thể vi sinh vật thường xảy ra theo phương thức chỉ số (exponential) hay phương thức logarit (logarithmic). Có nghĩa là quần thể vi sinh vật sẽ giảm xuống tương ứng với khoảng cách thời gian.

Thí nghiệm giết vi sinh vật bằng nhiệt theo lý thuyết.(Theo sách của Prescott, Harley và Klein)

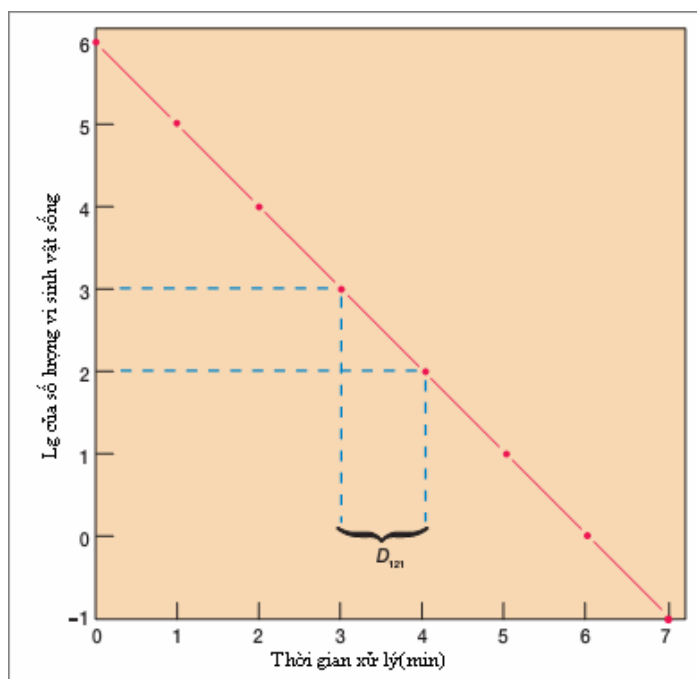
Phút	Số lượng vi sinh vật theo số phút	Số lượng vi sinh vật bị chết trong 1 phút	Log ₁₀ của số lượng vi sinh vật sống
1	10 ⁶	9 x 10 ⁵	5

Ước chế vi sinh vật bằng các tác nhân vật lý và hóa học

2	10^5	9×10^4	4
3	10^4	9×10^3	3
4	10^3	9×10^2	2
5	10^2	9×10	1
6	10^1	9	0
7	1	0,9	-1

Lấy thời gian gây chết là trục hoành ta có được đường biểu thị là một đường thẳng. Sau khi giảm đa số vi sinh vật sống thì tốc độ chết của vi sinh vật cũng giảm. Đó là vì tính đề kháng khá cao của các vi sinh vật sống sót.

Để nghiên cứu hiệu lực của nhân tố gây chết phải xác định khi nào thì vi sinh vật chết. Đó là chuyện rất khó, vì khó xác định được đối với từng tế bào. Sau khi đưa vi khuẩn vào môi trường nuôi cấy trong điều kiện có thể sinh trưởng bình thường mà thấy chúng không sinh trưởng được thì chứng tỏ là chúng đã chết. Với virus nếu không cảm nhiễm được nữa vào vật chủ bình thường thì cũng chứng tỏ là đã chết.



Phương thức chết của vi sinh vật. (Theo sách của Prescott, Harley và Klein). Xử lý ở 121°C , trong ví dụ D_{121} là trong 1 phút.

Các điều kiện ảnh hưởng đến hiệu quả của các nhân tố kháng vi sinh vật

Làm chết và ức chế sự sinh trưởng của vi sinh vật không đơn giản, bởi vì nhân tố kháng vi sinh vật (nhân tố làm chết hoặc ức chế sự sinh trưởng của vi sinh vật) là chịu ảnh hưởng của ít ra là 6 yếu tố sau đây:

- Số lượng quần thể vi sinh vật: Vì trong mỗi khoảng cách thời gian số lượng vi sinh vật chết theo một cấp số bằng nhau, cho nên thời gian làm chết một lượng lớn vi sinh vật sẽ dài hơn so với một lượng nhỏ vi sinh vật. Có thể tham khảo số liệu ở bảng 1 và hình 1. Cùng nguyên lý như vậy đối với các nhân tố hóa học kháng vi sinh vật.
- Thành phần quần thể vi sinh vật: các vi sinh vật khác nhau có tính miễn cảm khác nhau với một nhân tố gây chết: Vì vậy cùng một nhân tố gây chết trong các tình huống khác nhau, với các loài vi sinh vật khác nhau thì hiệu quả tác dụng cũng rất khác nhau. Ví dụ, bào tử của vi sinh vật có tính đề kháng cao hơn rõ rệt so với các tế bào dinh dưỡng và các tế bào non. Một số loài vi sinh vật có tính chống chịu cao hơn so với các ảnh hưởng bất lợi của các loài khác. Ví dụ vi khuẩn *Mycobacterium tuberculosis* gây bệnh lao có tính chống chịu với các nhân tố kháng vi sinh vật cao hơn so với các vi khuẩn khác.
- Nồng độ và cường độ của một nhân tố kháng vi sinh vật: Thông thường (không phải mọi trường hợp) nồng độ càng cao của một nhân tố hóa học hay cường độ càng cao của một nhân tố vật lý làm cho tốc độ vi sinh vật chết càng nhanh. Nhưng hiệu suất của các nhân tố không phụ thuộc trực tiếp vào nồng độ và cường độ. Trong một phạm vi tương đối nhỏ thì một sự tăng nhỏ về nồng độ và cường độ có thể làm tăng hiệu ứng gây chết của nhân tố kháng vi sinh vật. Vượt qua khoảng xa hơn thì tiếp tục nâng cao nồng độ và cường độ không làm tăng tốc độ gây chết vi sinh vật. Có lúc, ở nồng độ thấp hơn lại có hiệu quả cao hơn, ví dụ còn 70% có hiệu quả diệt khuẩn cao hơn còn 95%, bởi vì hoạt tính của chúng được nâng cao khi có mặt của nước. Có tài liệu cho rằng với nồng độ cồn cao phần protein bên ngoài tế bào vi khuẩn sẽ ngưng tụ lại làm thành một vỏ bọc che chở cho vi khuẩn.
- Thời gian tác dụng: Thời gian tác dụng của nhân tố kháng vi sinh vật càng dài thì số lượng vi sinh vật chết càng nhiều (*hình 1*). Để đạt đến mục đích diệt khuẩn thì thời gian tác dụng phải đủ để cho tỷ lệ sống sót chỉ còn 10^{-6} hoặc thấp hơn nữa.
- Nhiệt độ: Tăng nhiệt có thể làm tăng hiệu quả hoạt tính của hóa chất. Thông thường với một nồng độ thấp của chất tiêu độc (disinfectant) hay nhân tố diệt khuẩn cần xử lý ở nhiệt độ cao hơn.
- Môi trường bên ngoài vi sinh vật: Việc khống chế quần thể vi sinh vật không tách rời mà gắn với các nhân tố môi trường, hoặc làm tăng hay làm giảm tác động gây chết. Ví dụ trong điều kiện acid, nhiệt độ có hiệu quả diệt khuẩn cao hơn, do đó đối với các đồ uống có tính acid như nước quả, nước cà chua thì dễ diệt khuẩn theo kiểu Pasteur (pasteurise) hơn so với các thực phẩm có pH cao

hơn như là sữa chẳng hạn. Nhân tố môi trường quan trọng thứ hai là một số chất hữu cơ có thể bảo vệ vi sinh vật đề kháng với tác dụng của nhiệt độ hay của các chất tiêu độc hóa học. Màng sinh học (biofilm) là một ví dụ rất rõ. Các chất hữu cơ trên bề mặt của màng sinh học sẽ bảo vệ các vi sinh vật tạo thành màng sinh học, cho nên màng sinh học và các vi sinh vật trong đó rất khó trừ khử. Vì vậy trước khi diệt khuẩn hay tiêu độc một số vật phẩm trước hết cần rửa sạch. Đối với ống tiêm và các dụng cụ y khoa hay nha khoa trước khi diệt khuẩn cần phải rửa sạch để tránh sự có mặt quá nhiều chất hữu cơ giúp bảo vệ cho mầm bệnh và làm tăng nguy cơ nhiễm khuẩn. Khi chế tạo nước uống cũng cần chú ý là nguồn nước thành phố vẫn còn chứa khá nhiều chất hữu cơ cho nên cần dùng nhiều chlorine mới đủ sức tiêu độc

Sử dụng các phương pháp vật lý để khống chế vi sinh vật

Tăng nhiệt và việc dùng các phương pháp vật lý khác thường được dùng để diệt khuẩn. Các phòng thí nghiệm vi sinh vật đều dùng các nồi hấp áp suất cao (autoclave) để diệt khuẩn. Tăng nhiệt, qua lọc, chiếu tia tử ngoại, dùng bức xạ điện ly là 4 phương pháp vật lý thường được sử dụng.

Tăng nhiệt

Người Cổ Hy Lạp đã biết dùng lửa hay đun nước sôi để diệt khuẩn hay tiêu độc. Tăng nhiệt đến nay vẫn là phương pháp thường dùng nhất để diệt khuẩn. Chủ yếu có phương pháp dùng sức nóng ẩm và sức nóng khô.

Sức nóng ẩm dễ dàng gây chết virus, vi khuẩn và nấm (*bảng 2*). Trong nước sôi sau 10 phút có thể làm chết các tế bào dinh dưỡng và bào tử của các vi sinh vật có nhân thực. Nhưng nhiệt độ sôi (100°C) không đủ sức làm chết nội bào tử của vi khuẩn. Bào tử vi khuẩn có thể tồn tại vài giờ trong nước sôi. Do đó cách đun sôi chỉ dùng để đun nước uống hoặc để tiêu độc các vật phẩm không bị phá hủy trong nước sôi, không thể dùng để diệt khuẩn.

Vì tăng nhiệt là biện pháp rất quan trọng để khống chế vi sinh vật cho nên cần có một tiêu chuẩn chính xác đối với hiệu suất diệt khuẩn bằng sức nóng (heat-killing efficiency). Trước đây dùng điểm gây chết do nhiệt (thermal death point, TDP). Đó là nhiệt độ thấp nhất đủ để diệt hết vi sinh vật trong dịch huyền phù (suspention) sau 10 phút. Nhưng vì vi sinh vật chết theo phương thức logarit, cho nên trên lý thuyết không có thể tiêu diệt hoàn toàn vi sinh vật trong một mẫu vật, tức là phải kéo dài thời gian tăng nhiệt. Vì vậy có một phương thức biểu thị chính xác hơn và đã được tiếp nhận rộng rãi, đó là Thời gian giảm thiểu thập phân (decimal reduction time, D) hoặc gọi là Trị số D (D value). Trị số D là thời gian cần thiết để diệt hết 90% vi sinh vật hoặc bào tử trong một mẫu vật ở một nhiệt độ nhất định. Trên một đồ thị bán logarit (semilogarithmic plot) thấy rõ số lượng vi sinh vật biến đổi theo thời gian tăng nhiệt (*hình 2*)

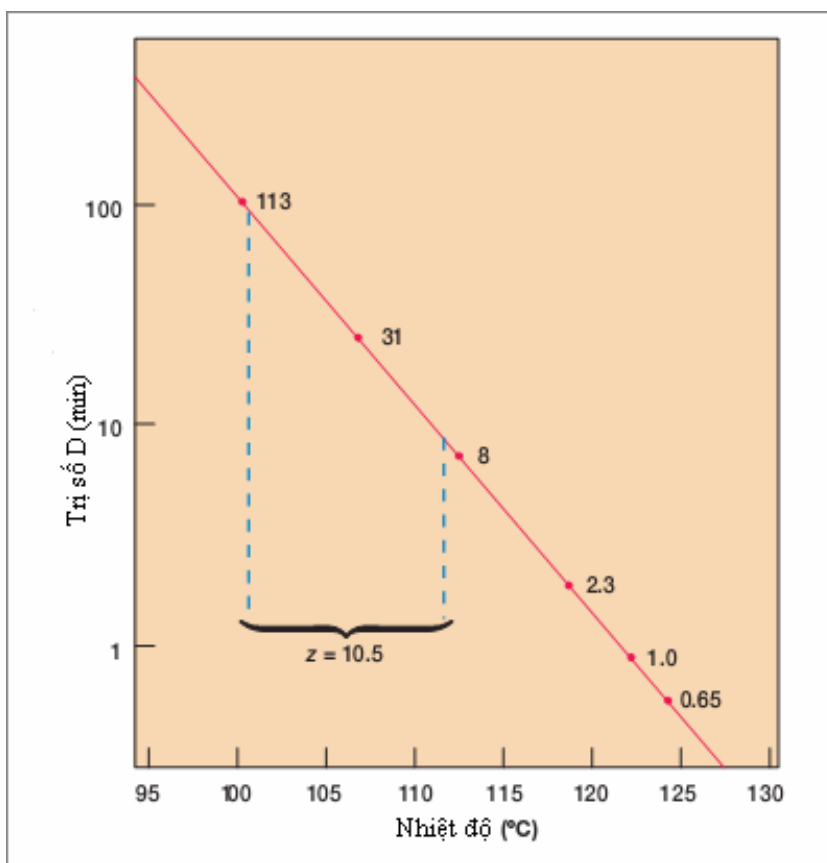
Bảng 2: Điều kiện ước chừng để diệt khuẩn bằng sức nóng ẩm . (Theo sách của Prescott,Harley và Klein)

Điều kiện ước chừng để diệt khuẩn bằng sức nóng ẩm.
(Theo sách của Prescott, Harley và Klein)

Vi sinh vật	Tế bào dinh dưỡng	Bào tử
Nấm men	5 min., 50-60 ⁰ C	5 min., 70-80 ⁰ C
Nấm sợi	30 min., 62 ⁰ C	30 min., 80 ⁰ C
Vi khuẩn	10 min., 60-70 ⁰ C	2-trên 800 min., 100 ⁰ C
Virus	30 min., 60 ⁰ C	0,5-12 min, 121 ⁰ C

Trị số D là thời gian cần thiết để số lượng vi sinh vật giảm 10 lần. Trị số D liên quan đến tính đề kháng của vi sinh vật đối với các nhiệt độ khác nhau. Từ trị số D mà tính ra trị số Z (Z value). Trị số Z là nhiệt độ tăng lên đủ để làm giảm 1/10 trị số D. Một cách biểu thị khác là trị số F (F value) đó là thời gian cần thiết (tính bằng min.) đủ để diệt hết một quần thể tế bào hoặc bào tử ở một nhiệt độ nhất định (thường là 121⁰C).

Trị số D và trị số Z được ứng dụng rộng rãi trong công nghiệp chế biến thực phẩm. Khi sản xuất đồ hộp cần xử lý nhiệt sau khi đưa thực phẩm vào hộp và hàn hộp lại. Cần xử lý nhiệt để đủ mức diệt được vi khuẩn gây ngộ độc thịt *Clostridium botulinum*. Vi khuẩn này gây ra độc tố botulism rất nguy hiểm. Xử lý nhiệt độ đủ dài để làm cho số lượng bào tử của vi khuẩn này nếu có từ 10¹² giảm xuống chỉ còn 1 bào tử (10⁰). Trị số D đối với bào tử vi khuẩn này ở 121⁰C là 0,204 min., vì vậy để tiêu diệt 10¹² bào tử xuống còn 1 bào tử cần 12D hay 2,5 phút. Trị số Z đối với *Clostridium botulinum* là 10⁰C - tức là tăng 10⁰C thì giảm được 10 lần trị số D. Nếu diệt khuẩn ở 111⁰C thì trị số D phải tăng 10 lần, tức là 2,04 phút và trị số 12D tăng lên đến 24,5 phút. *Bảng 3* nêu lên trị số D và trị số Z của một số vi khuẩn thường gặp trong thực phẩm.



Tính toán trị số Z. Căn cứ vào trị số D ở các nhiệt độ khác nhau để tính ra trị số Z. Trị số Z có thể dùng để tính toán mối quan hệ giữa nhiệt độ và thời gian sống sót của vi sinh vật. Trị số Z là số nhiệt độ tăng đủ để làm giảm 10% trị số D. Trong đồ thị này trị số Z là 10,5⁰C. Trị số D biểu thị bằng thang logarit. (Theo sách của Prescott, Harley và Klein).

Bảng 3: Trị số D và trị số Z của một số vi khuẩn gây bệnh gặp trong thực phẩm. (Theo sách của Prescott, Harley và Klein)

Trị số D và trị số Z của một số vi khuẩn gây bệnh gặp trong thực phẩm. (Theo sách của Prescott, Harley và Klein)

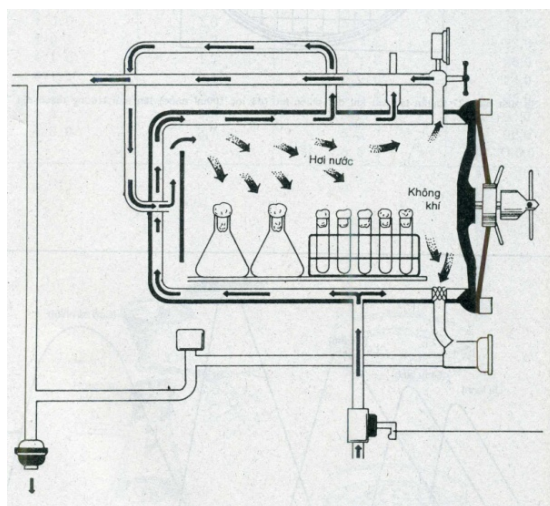
Vi sinh vật	Cơ chất	D(0 C),phút	Z (0 C)
Clostridium botulinum	Đệm phosphate	D ₁₂₁ =0,204	10
Cl.perfringenes (chủng kháng nhiệt)	MT nuôi cấy	D ₉₀ =3-5	6-8
Salmonella	Sản phẩm gà	D ₆₀ =0,39-0,40	4,9-5,1
<i>Staphylococcus aureus</i>			
Sản phẩm gà	D ₆₀ =5,17-	5,2-5,8	

Ức chế vi sinh vật bằng các tác nhân vật lý và hóa học

SP gà tây	5,37	6,8
Dung dịch NaCl 0,5%	$D_{60}=15,4$ $D_{60}=2,0-2,5$	5,6

Có 3 số liệu đối với tụ cầu vàng (*S.aureus*), cho thấy tốc độ làm chết vi khuẩn này thay đổi phụ thuộc vào môi trường và hiệu quả bảo vệ của chất hữu cơ.

Với sức nóng ẩm phải cần nhiệt độ cao hơn 100°C thì mới có thể diệt được nội bào tử (endospores) của vi khuẩn, và cần có áp suất cao trong điều kiện bão hòa hơi nước. Thiết bị diệt khuẩn thường dùng được gọi là autoclave (hình 3)



Hai loại autoclave nhỏ và lớn

Về cơ bản autoclave cũng tương tự như nồi hầm chịu áp lực vẫn thường dùng trong gia đình. Tùy yêu cầu mà có cái dùng lửa, có cái dùng điện, có cái dùng hơi nước chuyển vào, có cái nhỏ, có cái vừa, có cái lớn hoặc rất lớn. Autoclave do nhà khoa học Chamberland phát minh ra vào năm 1884 và phát minh này đã thúc đẩy sự phát triển của Vi sinh vật học. Autoclave phải có van để đẩy hết không khí ra và trong nồi chỉ còn có hơi nước bão hòa. Có thể đóng van ngay từ đầu đợi áp lực nâng lên một ít rồi mới mở van để loại hết không khí ra. Cũng có thể mở van ngay từ đầu, khi thấy hơi nước bay ra nhiều mới đóng van lại. Thường diệt khuẩn ở 121°C (áp suất 15 pounds) trong 15 phút. Có thể diệt hết mọi tế bào vi sinh vật và bào tử.

Diệt khuẩn bằng sức nóng ẩm thông qua việc phá hủy acid nucleic, làm biến tính enzyme và các protein khác, đồng thời còn có thể phá vỡ màng tế bào mà làm chết vi sinh vật.

Diệt khuẩn bằng sức nóng ẩm phải tiến hành triệt để mới có hiệu quả. Khi chưa loại bỏ hết không khí thì ở áp suất 15 pounds nhiệt độ không thể đạt đến 121°C . Các vật cần xử lý không nên xếp chặt quá cản trở việc tiếp xúc với hơi nước nóng. Lúc diệt khuẩn một bình có thể tích lớn thì phải giữ thời gian dài hơn, để làm cho toàn bộ dịch thể phải đạt

tới 121⁰C. Chẳng hạn khi diệt khuẩn ở bình 5 lít thì phải xử lý trong 70 phút. Để khắc phục các nhân tố nói trên người ta thường xếp kèm với sinh vật chỉ thị khi diệt khuẩn các vật phẩm. Khi đó dùng ống (ampule) chứa môi trường dinh dưỡng vô khuẩn có thêm mảnh giấy có tẩm bào tử vi khuẩn *Bacillus stearothermophilus* hay *Clostridium*. sp PA3679. Diệt khuẩn xong phá vỡ ống trong điều kiện vô khuẩn và nuôi cấy vài ngày. Nếu sinh vật chỉ thị không sinh trưởng thì là việc diệt khuẩn đã thành công.

Người ta thường xử lý nhiệt ở độ sôi đối với sữa và nhiều chất khác. Phương pháp này gọi là phương pháp khử trùng Pasteur (Pasteurization) để kỷ niệm phát minh này của ông. Vào thập kỷ 60 của thế kỷ 19 do rượu vang bị nhiễm khuẩn, gây khó khăn cho việc bảo quản và vận chuyển, gây khó khăn cho việc sản xuất rượu vang ở Pháp. Pasteur đã dùng kính hiển vi quan sát thấy các trong rượu bị ô nhiễm có mặt các vi khuẩn lên men lactic và acetic. Ông thấy xử lý ở nhiệt độ 55-60⁰C có thể làm chết các vi sinh vật này và có thể bảo quản tương đối lâu dài rượu vang. Năm 1886 hai nhà hóa học Đức là V.H.Soxhlet và F.Soxhlet sử dụng kỹ thuật này để bảo quản sữa và làm giảm việc sữa lây truyền mầm bệnh. Năm 1889 phương pháp tiêu độc Pasteur với sữa được nhập vào Hoa Kỳ và người ta đã dùng phương pháp này để xử lý sữa, bia, và nhiều loại đồ uống khác. Phương pháp tiêu độc Pasteur không đạt tới mục đích diệt khuẩn nhưng đủ làm chết các vi khuẩn gây bệnh, giảm mạnh các vi khuẩn không gây bệnh nhưng làm hư hỏng thực phẩm và làm chậm rõ rệt tốc độ biến chất của thực phẩm.

Có thể có hai phương pháp khử trùng sữa. Phương pháp tương đối cổ là xử lý ở 63⁰C trong 30 phút. Còn phương pháp hiện thường được sử dụng là phương pháp khử trùng ngắn (flash Pasteurization), còn gọi là phương pháp khử trùng ngắn ở nhiệt độ cao (high-temperature short-term, HTST), tức là xử lý ở 72⁰C chỉ trong 15 giây, sau đó nhanh chóng làm lạnh. Trong công nghiệp thực phẩm có lúc cũng còn dùng phương pháp khử trùng siêu nhiệt (ultrahigh temperature, UHT), tức là xử lý sữa và các sản phẩm sữa ở nhiệt độ 140-150⁰C chỉ trong 1-3 giây. Sữa xử lý siêu nhiệt không cần bảo quản lạnh, có thể bảo quản hai tháng an toàn ở nhiệt độ phòng. Các gói cà phê kem (coffee creamer) cung cấp ở khách sạn thường được diệt khuẩn theo phương pháp này.



Tủ sấy nhiệt độ khô

Nhiều vật phẩm có thể diệt khuẩn bằng sức nóng khô (dry heat sterilization). Đưa các vật phẩm này vào tủ sấy và giữ nhiệt độ $160-170^{\circ}\text{C}$ trong 2-3 giờ. Vi sinh vật bị chết do bị oxy hóa các thành phần tế bào, và làm biến tính protein. Mặc dầu diệt khuẩn bằng sức nóng khô không có hiệu quả cao như bằng sức nóng ẩm. Bào tử của vi khuẩn *Clostridium botulinum* bị chết ở 121°C sau 5 phút khi dùng sức nóng ẩm nhưng chỉ bị chết như vậy ở 160°C sau 2 giờ. Diệt khuẩn bằng sức nóng khô có những ưu thế riêng vì không làm ăn mòn các vật liệu thủy tinh và kim loại như sức nóng ẩm, có thể dùng để xử lý các dạng bột, dầu và các chất tương tự. Hầu hết các phòng thí nghiệm xử lý hộp Petri và các pipét bằng sức nóng khô. Không thích hợp sử dụng phương pháp này để xử lý các vật phẩm bằng chất dẻo và cao su.

Nhiệt độ thấp

Nhiệt độ thấp được sử dụng để ức chế sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật. Đây là phương pháp quan trọng ngành vi sinh vật học thực phẩm. Ở nhiệt độ -20°C hay thấp hơn, vật phẩm bị đông lạnh, vi sinh vật bị đình chỉ sinh trưởng. Một số vi sinh vật bị chết vì các tinh thể băng là phá vỡ màng tế bào, nhưng lạnh sâu không làm chết phần lớn các vi sinh vật nhiễm trên vật phẩm. Trên thực tế nhiều phòng thí nghiệm dùng các tủ lạnh sâu -30°C hay -70°C để bảo quản vi sinh vật. Vì thực phẩm đông lạnh có thể chứa nhiều vi sinh vật, cho nên khi làm tan băng phải xử lý ngay để tiêu thụ, tránh để tồn tại và để cho các vi sinh vật gây bệnh phát triển.

Bảo quản lạnh giúp làm chậm sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật, nhưng không đủ làm ngừng hẳn sự sinh trưởng. Đáng mừng là phần lớn các vi sinh vật gây bệnh là thuộc loại ưa ấm (mesophilic) và không sinh trưởng được ở nhiệt độ 4°C . Các vật giữ lạnh bị hư hỏng bởi các vi khuẩn ưa lạnh (psychrophilic) và chịu lạnh (psychrotrophic)

Ức chế vi sinh vật bằng các tác nhân vật lý và hóa học

nhất là khi có tồn tại nước, các tủ lạnh chỉ dùng để bảo quản ngắn hạn thực phẩm và các vật phẩm khác.

Qua lọc

Phương pháp qua lọc là phương pháp rất tốt để giảm thấp quần thể vi sinh vật đối với các vật liệu mẫn cảm với nhiệt độ và nhiều khi có thể dùng để diệt khuẩn các dung dịch. Qua lọc chỉ đơn giản là loại vi sinh vật khỏi dung dịch chứ không phải là diệt khuẩn. Có hai loại lọc vi sinh vật. Thiết bị qua lọc tầng sâu (depth filter): đó là loại thiết bị cấu tạo bởi sợi hay các vật chất dạng hạt, tạo thành một bản lọc khá dày với những lỗ rất nhỏ. Dưới sức hút chân không dung dịch sẽ được lọc qua còn vi sinh vật bị giữ lại hay bị hấp phụ (adsorption) trên bề mặt bản lọc. Nguyên liệu để làm ra bản lọc này thường là đất Tảo silic (diatomaceous earth) - đó là thiết bị lọc Berkefield. Còn có thể dùng một loại sứ (unglazed porcelain) - đó là thiết bị lọc Chamberlain. Hoặc còn có thể dùng thạch miên (asbestos) hay các nguyên liệu khác.

Gần đây người ta dùng thiết bị màng lọc (membrane filters) thay thế cho thiết bị qua lọc tầng sâu. Màng lọc hình tròn, dày khoảng 0,1mm và được chế tạo bởi acetate cellulose, nitrate cellulose, polyCarbonate, fluoride polyvinylidene hay các chất tổng hợp khác. Các màng lọc có lỗ với đường kính khoảng 0,2 μ m là có thể dùng để lọc bỏ phần lớn các tế bào dinh dưỡng của vi sinh vật, trừ virus. Dịch lọc thường chỉ từ 1ml đến vài lít. Màng lọc được lắp cố định trên một giá đặc biệt (hình 5)

Dưới áp lực của máy hút chân không dịch lọc được chuyển sang một bình vô khuẩn. Loại thiết bị màng lọc này được dùng trong ngành dược, lọc thuốc đau mắt, chuẩn bị các môi trường nuôi cấy, các loại dầu, chất kháng sinh và nhiều vật chất kém chịu nhiệt khác.



Thiết bị màng lọc: 1-Bình Erlenmeyer đựng dịch cần lọc. 2-Dịch lọc được đẩy sang thiết bị màng lọc nhờ máy bơm. 3-Thiết bị màng lọc (với các loại hình các kích cỡ khác nhau).

Phương pháp diệt khuẩn nhờ lọc còn dùng để lọc không khí. Hai ví dụ thường gặp là khẩu trang dùng trong ngoại khoa và nút bông dùng cho các ống nghiệm hay các bình nuôi cấy vi sinh vật. Không khí đi qua được nhưng vi sinh vật thì bị giữ lại bên ngoài. Phòng cấy Laminar thoáng khí nhưng an toàn sinh học (Laminar flow biological safety cabinet) đã sử dụng màng lọc không khí bằng các hạt hiệu lực cao HEPA (high-efficiency particulate filter). Nó có thể lọc được đến 99,97% các hạt có kích thước $0,3\mu\text{m}$ và được coi là một hệ thống lọc rất quan trọng. Người nuôi cấy vi sinh vật có thể thao tác thoải mái trong một phòng cấy mở một phần cửa nhưng rất an toàn nhờ luôn có một luồng không khí vô khuẩn được thổi từ phía trong và lại thoát ra qua màng lọc HEPA đặt ở phía trên. Khi thao tác với các vi sinh vật nguy hiểm như vi khuẩn lao *Mycobacterium tuberculosis*, virus gây ung thư, các DNA tái tổ hợp... nhất thiết cần sử dụng phòng cấy này. Thiết bị này được dùng trong các phòng thí nghiệm, trong công nghiệp, như là công nghiệp dược phẩm, để chuẩn bị môi trường, thao tác thí nghiệm, nuôi cấy mô...



Phòng cấy Laminar

Bức xạ (radiation)

Bức xạ tử ngoại (Ultraviolet radiation-UV) với bước sóng 260nm có hiệu ứng diệt khuẩn rất mạnh, tuy nhiên không có khả năng xuyên qua thủy tinh, các màng bản, nước và một số cơ chất khác. Vì vậy UV chỉ dùng để diệt khuẩn trong một số trường hợp, ví dụ diệt khuẩn không khí trong tủ cấy, phòng nuôi cấy hoặc bên ngoài một số vật thể. UV có hại đối với da và mắt cho nên phải tắt đèn UV trước khi vào làm việc nơi có đèn này. UV cũng có thể dùng để diệt khuẩn nước, phải là một tầng nước mỏng đi qua đèn UV để đủ sức diệt mầm bệnh và các vi sinh vật khác..

Bức xạ ion hóa (ionizing radiation) hay bức xạ điện ly có sức xuyên rất mạnh và được dùng rất tốt để diệt khuẩn. Nó có thể diệt cả tế bào dinh dưỡng lẫn bào tử vi khuẩn, cả vi sinh vật nhân nguyên thủy (procaryotic) lẫn các vi sinh vật có nhân thật (eucaryotic). Tia gamma từ nguồn cobalt 60 được dùng để diệt khuẩn nguội đối với chất kháng sinh, kích tố (hormones), chỉ khâu vết thương, các vật liệu y học bằng chất dẻo (plastic) như ống tiêm... Tia gamma còn được dùng để tiệt trùng (pasteurize) đối với thịt và các thực phẩm khác. Bức xạ ion hóa có thể diệt các vi khuẩn gây bệnh nguy hiểm như *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*... Cả cơ quan quản lý thực phẩm và thuốc Hoa Kỳ (FDA) lẫn tổ chức Y tế thế giới (WHO) đều xác định tính an toàn của việc chiếu xạ này đối với thực phẩm. Đã có một nhà máy chiếu xạ thương phẩm ở gần Tampa (bang Florida). Tiếc rằng phương pháp này chưa được ứng dụng rộng rãi tại Hoa Kỳ, nguyên nhân là do giá còn cao và nhiều người còn lo ngại các ảnh hưởng bất lợi của việc chiếu xạ lên thực phẩm. Gần đây, Chính phủ Mỹ đã phê chuẩn việc chiếu xạ lên thịt gia cầm, thịt bò, thịt lợn, thịt bê, thịt cừ non, hoa quả, rau củ và các chất điều vị. Việc chiếu xạ trong tương lai sẽ ngày càng được ứng dụng rộng rãi.

Sử dụng các phương pháp hóa học để khống chế vi sinh vật

Mặc dầu người ta vẫn thường dùng các phương pháp vật lý để tiệt trùng nhưng các tác nhân hóa học cũng thường được dùng để tiệt trùng (disinfection) và phòng thối (antisepsis). Có nhiều nhân tố ảnh hưởng đến hiệu quả tiệt trùng và phòng thối bằng phương pháp hóa học. Chẳng hạn như loài vi sinh vật, nồng độ và bản chất của các chất tiệt trùng và phòng thối, thời gian xử lý,... Trước khi sử dụng các chất tiệt trùng hay phòng thối thì bề mặt vật thể phải được làm sạch. Cần đảm bảo sự an toàn khi dùng hóa chất trong các phòng thí nghiệm hay trong bệnh viện. Hóa chất cũng được dùng để phòng chống sự sinh trưởng của vi sinh vật trong thực phẩm. Có nhiều loại hóa chất được dùng làm chất tiệt trùng, mỗi loại đều có những ưu điểm và nhược điểm riêng. Trước khi chọn sử dụng hóa chất nào phải hiểu rõ đặc tính của chất đó. Trong trường hợp pha rất loãng và có mặt chất hữu cơ thì chất đó vẫn có thể tác dụng có hiệu quả lên các nhân tố truyền nhiễm (vi khuẩn Gram dương, Gram âm, vi khuẩn kháng acid, bào tử của vi khuẩn, các loại nấm và virus...), mặt khác lại phải không có hại đối với cơ thể người, không làm ăn mòn các vật phẩm nói chung. Trong thực tiễn, rất khó đạt đến tiêu chuẩn vừa có hiệu lực vừa ít độc đối với cơ thể. Một số hóa chất tuy hiệu lực thấp nhưng vì khá vô hại nên vẫn được sử dụng. Chất tiệt trùng phải ổn định khi bảo quản, không có mùi vị khó chịu, tan trong nước và trong dầu để dễ xâm nhập vào vi sinh vật và phải có sức căng bề mặt thấp để xâm nhập được vào các khe trên bề mặt. Nếu giá không cao càng tốt.

Một vấn đề nghiêm trọng là việc sử dụng quá mức Triclosan và các chất diệt khuẩn (germicides) khác. Chất kháng khuẩn (antibacterial) này hiện thấy có mặt trong các sản phẩm như chất khử mùi (deodorant), nước súc miệng, xà phòng, thớt cắt rau, đồ chơi trẻ em... Triclosan hầu như đang có mặt khắp nơi, hậu quả là đã xuất hiện các vi khuẩn kháng Triclosan. Ví dụ trực khuẩn mũ xanh *Pseudomonas aeruginosa* đã có thể bài xuất

chất này ra khỏi tế bào. Tương tự như trường hợp vi khuẩn phản ứng với việc dùng quá độ thuốc kháng sinh, vi khuẩn cũng sẽ có sự đáp ứng như vậy khi dùng quá mức các chất phòng thối. Hiện đã có bằng chứng cho thấy việc sử dụng rộng rãi Triclosan đã làm tăng tần số xuất hiện các vi khuẩn kháng thuốc kháng sinh. Vì vậy việc dùng quá mức các chất phòng thối (antiseptic) có khả năng sinh ra những hậu quả khó lường.

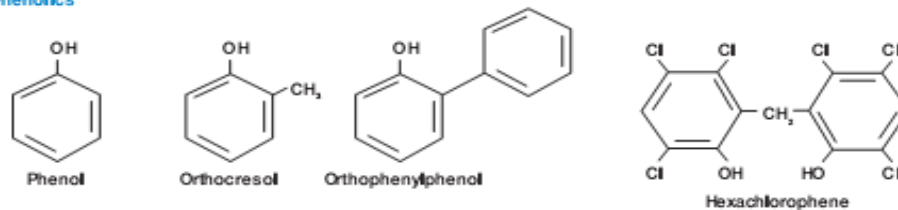
Nồng độ sử dụng và mức độ hoạt tính của các chất diệt khuẩn thông dụng

Hóa chất	Nồng độ sử dụng	Mức độ hoạt tính*
Dạng khí:		
Ethylen oxide	450-500mg/L	Cao
Dạng lỏng:		
Glutaraldehyde dịch thể	2%	Tương đối cao
Formaldehyde + cồn	8 + 70%	Cao
H ₂ O ₂ ổn định	6-30%	Tương đối cao
Formaldehyde dịch thể	6-8%	Tương đối cao
Iodophors	750-5000mg/L	Tương đối cao
Iodophors	75-159mg/L	Tương đối thấp
Iodine + cồn	0,5 + 70%	Trung bình
Hợp chất của Chlore	0,1-0,5%	Trung bình
Hợp chất của phenol, dịch thể	0,5-3%	Tương đối thấp
Iodine, dịch thể	1%	Trung bình
Cồn (ethyl, isopropyl)	70%	Trung bình
Hợp chất Ammonia bậc 4	0,1-0,2% trong nước	Thấp
Chlorohexidine	0,75-4%	Thấp
Hexachlorophene	1-3%	Thấp
Hợp chất Thủy ngân	0,1-0,2%	Thấp

*Hoạt tính cao-có thể làm chết vi khuẩn kể cả vi khuẩn lao, bào tử, nấm, virus; Hoạt tính trung bình- làm chết mọi vi khuẩn, trừ bào tử; Hoạt tính thấp- làm chết tế bào dinh dưỡng của vi khuẩn, trừ VK lao, làm chết nấm, virus có lượng lipid mức trung bình. Theo Seymour S. Block, 1983.

Ức chế vi sinh vật bằng các tác nhân vật lý và hóa học

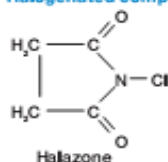
Phenolics



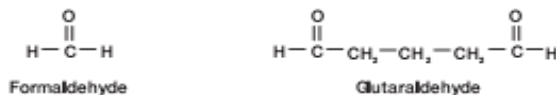
Alcohols



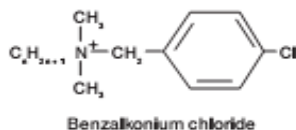
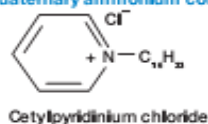
Halogenated compound



Aldehydes



Quaternary ammonium compounds



Gases



Cấu trúc của một số chất tiêu độc và chất phòng thối thông dụng

Loại Phenol

Phenol là chất phòng thối và tiêu độc được sử dụng rộng rãi đầu tiên. Năm 1867 Joseph Lister đã dùng phenol để làm giảm nguy hiểm của việc nhiễm vi sinh vật trong quá trình phẫu thuật. Hiện nay phenol và các dẫn xuất như các loại cresol, các loại xylenol và orthophenylphenol đã được dùng để làm chất tiêu độc trong các phòng thí nghiệm và bệnh viện. Chất tiêu độc thương mại Lysol là một hợp chất loại phenol. Các chất loại phenol có thể làm biến tính protein và phá hủy màng tế bào. Chúng có ưu điểm là có thể diệt vi khuẩn lao khi có mặt các chất hữu cơ. Sau khi sử dụng có thể duy trì tác dụng khá lâu trên bề mặt vật thể. Nhưng chúng có mùi khó chịu và có thể làm kích thích da.

Hexachlorophene là một chất phòng thối thường dùng vì có thể làm giảm số lượng vi khuẩn trên da và duy trì được khá lâu, nhưng nó lại có thể làm tổn thương não cho nên hiện chỉ dùng trong bệnh viện khi có sự bộc phát của Tụ cầu khuẩn *Staphylococcus*.

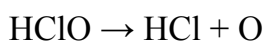
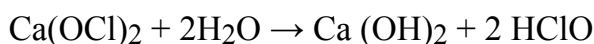
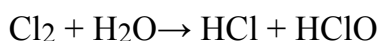
Cồn

Cồn là một trong những loại thuốc tiêu độc và thuốc phòng thối thường dùng. Cồn có thể làm chết cả vi khuẩn và nấm nhưng không làm chết được bào tử. Một số virút chứa lipid cũng bị cồn làm chết. Ethanol và Isopropyl alcohol là hai loại cồn thường dùng để diệt khuẩn, nồng độ thường dùng là 70-80%, nồng độ này làm biến tính protein, cồn có thể làm hòa tan màng lipid. Để diệt khuẩn nhiệt kế và các dụng cụ nhỏ cần xử lý bằng cồn trong 10-15 phút.

Các Halogene

Halogene là một trong 5 nguyên tố thuộc nhóm VIIA của bảng tuần hoàn (Fluorin-F, Chlorine-Cl, Bromine-Br, Iodine-I và Astatine-). Ở trạng thái tự do các phân tử tồn tại dưới dạng 2 nguyên tử liên kết với nhau. Chúng có thể tạo thành muối với sodium (Na) hay các kim loại khác. I và Cl là hai loại kháng vi sinh vật quan trọng. I thường được dùng làm thuốc phòng thối (antiseptic) ngoài da. Nó làm chết vi sinh vật do oxy hóa các thành phần tế bào, iod hóa (iodinating) các protein. Với nồng độ cao có thể làm chết bào tử, nói chung là sử dụng tincture d'iode (tincture of iodine) - tức là IK với nồng độ 2 % hay cao hơn iodine trong dung dịch nước-ethanol. Mặc dầu I là chất phòng thối có hiệu quả nhưng cũng có thể làm tổn thương da, có thể làm biến màu da, còn có thể gây dị ứng (allergie). Gần đây người ta sử dụng iodophore - hợp chất của I với một chất hữu cơ. Iodophore tan trong nước, không làm biến màu da, có thể giải phóng dần Iodine nên giảm tổn hại và giảm kích thích da. Loại tiêu độc da và dùng trong phòng thí nghiệm phổ biến là loại có nhãn hiệu là Wescodyne, còn loại tiêu độc vết thương thường dùng loại có nhãn hiệu là Betadine.

Iodine thường được dùng để tiêu độc nước tiêu dùng tại thành thị và các bể bơi. Cũng được dùng trong công nghiệp sữa, công nghiệp thực phẩm. Có thể dùng khí chlorine, sodium hypochlorite hoặc calcium hypochlorite. Khi sử dụng chúng biến thành HClO rồi giải phóng nguyên tử ôxy: Sẽ xảy ra sự oxy hóa các tế bào dinh dưỡng của vi khuẩn, nấm nhưng không có tác dụng với bào tử:



Dưới tác dụng của chúng hầu như tất cả vi sinh vật sẽ bị giết chết trong vòng 30 phút. Vì phản ứng của chất hữu cơ với tác động của Cl và các dẫn xuất của Cl nên đã can thiệp vào tác dụng diệt khuẩn của Cl cho nên người ta thường sử dụng quá lượng Cl để bảo đảm hiệu quả diệt khuẩn. Có một khả năng là Cl phản ứng với chất hữu cơ hình thành nên những hợp chất gây ung thư trihalomethanes, cho nên trong nước uống cần

Ức chế vi sinh vật bằng các tác nhân vật lý và hóa học

phải kiểm tra sự tồn tại của chất này. Tại Châu Âu và Canada đôi khi người ta sử dụng thành công ozone để thay thế cho việc chlorine hóa (chlorination).

Cl là một chất tiêu độc tốt, không đắt, lại dễ dàng sử dụng nên rất hay được sử dụng. Với một lượng nước uống nhỏ có thể tiêu độc bằng những viên halozone. Halozone (acid parasulfone dichloramidobenzoic) sau khi đưa vào nước sẽ từ từ giải phóng ra chloride, sau khoảng nửa giờ có thể đạt tới mục đích tiêu độc. Chất này thường được sử dụng trong trường hợp thiếu nước sạch để uống.

Dung dịch Cl là chất tiêu độc có hiệu quả trong gia đình và trong các phòng thí nghiệm. Có thể dùng nồng độ pha loãng 100 lần dịch tẩy trắng gia dụng (household bleach) phối hợp với chất tẩy không ion hóa (non ionic detergent) sao cho nồng độ chất tẩy vào khoảng 0,8%. Hỗn hợp này vừa làm sạch vừa loại bỏ vi khuẩn

Các Kim loại nặng

Trong nhiều năm các ion kim loại nặng như Hg, Ag, As, Zn và Cu thường được dùng để làm chất diệt khuẩn (germicides). Nhiều kim loại nặng có tác dụng ức chế vi sinh vật (bacteriostatic) hơn là diệt khuẩn. Hiện các chất này đã được thay thế bằng các chất khác có độc tính thấp hơn và có hiệu quả hơn. Nhưng cũng có trường hợp ngoại lệ, ví dụ dung dịch 1% AgNO_3 thường được dùng làm thuốc nhỏ mắt để phòng bệnh lậu ở mắt (trong nhiều bệnh viện người ta dùng Erythromycin để thay thế nitrate bạc vì chất kháng sinh này có hiệu quả chống cả *Chlamydia* lẫn *Neisseria*. Bạc sulfadiazine thường được dùng trong điều trị bỏng. CuSO_4 thường được dùng để diệt tảo có hiệu quả trong ao hồ và các bể bơi.

Kim loại nặng kết hợp với protein, làm bất hoạt protein và cũng có thể làm kết tủa protein của tế bào.

Các muối ammonia bậc bốn (Quaternary Ammonium Compounds)

Các chất tẩy (Detergenets - từ gốc La Tinh detergerecó nghĩa là loại trừ) là những phân tử hữu cơ được dùng làm các chất giữ ẩm (wetting agents) và nhũ hóa (emulsifiers) vì chúng vừa có cực thân nước (polar hydrophilic) vừa có những gốc phi cực kỵ nước (nonpolar hydrophobic ends). Chúng có thể làm tan các chất khó hòa tan bởi các phương pháp khác, vì vậy dùng làm chất tẩy rửa, giặt giũ rất có hiệu quả, nhưng cơ chế khác với các chất béo có trong xà phòng.

Mặc dầu các chất tẩy dạng ion có chức năng kháng vi sinh vật nhất định nhưng chỉ có các chất tẩy rửa cationic (ion dương) mới có tác dụng tiêu độc. Thường dùng nhất là các muối ammonia bậc bốn, chúng làm phá vỡ màng tế bào, cũng có thể làm biến tính protein.

Ức chế vi sinh vật bằng các tác nhân vật lý và hóa học

Các chất tẩy cationic như Benzalkonium chloride và Cetylpyridinium chloride có thể giết chết phần lớn vi khuẩn nhưng không giết được vi khuẩn lao *Mycobacterium tuberculosis* và các nội bào tử. Chúng có ưu điểm là ổn định, không độc và không gây kích thích... nhưng lại bị mất tác dụng trong nước cứng (hard water) và nước xà phòng. Các chất tẩy cationic thường được dùng để làm chất tiêu độc đối với bát đĩa, các thiết bị nhỏ và để xử lý ngoài da. Zephiran có chứa benzalkonium chloride và Ceepryn có chứa cetylpyridinium, chloride là các mặt hàng thường gặp trên thị trường.

Các Aldehyde

Hai loại aldehyde thường được sử dụng là Formaldehyde và Glutaraldehyde. Chúng có phản ứng rất mạnh, có thể kết hợp với acid nucleic và protein và làm bất hoạt chúng, còn có thể làm bất hoạt thông qua việc liên kết chéo (crosslinking) và alkyl hóa (alkylating). Chúng có thể làm chết bào tử, có thể dùng làm chất diệt khuẩn hóa học. Formaldehyde thường được dùng dưới dạng hòa tan trong nước hay trong cồn. Dung dịch đậm 2% glutaraldehyde là một loại chất tiêu độc có hiệu quả và thường được dùng để tiêu độc các phòng thí nghiệm và bệnh viện. Glutaraldehyd trong 10 phút đã đủ để tiêu độc nhưng để giết chết bào tử cần tới 12 giờ.

Các khí diệt khuẩn

Có nhiều vật phẩm không chịu được nhiệt độ cao như các đĩa Petri bằng chất dẻo, các ống tiêm nhựa, các bộ phận của máy tim-phổi nhân tạo, các ống dẫn, ống nối... cần diệt khuẩn bằng khí ethylene oxide (EtO). EtO có thể kết hợp với protein, có thể làm chết cả vi sinh vật lẫn bào tử. EtO nhanh chóng xuyên qua được các bao bì bằng chất dẻo nên là một loại chất tiêu độc đặc biệt hiệu quả.

Tiêu độc bằng EtO rất giống với tiêu độc trong nồi cao áp. Cần khống chế nồng độ EtO, nhiệt độ và độ ẩm. Với EtO thuần khiết thường dùng nồng độ 10-20% phối hợp với CO₂ hay dichlorodifluoromethane. Với các vật dụng sạch cần xử lý ở 38⁰C trong 5-8 giờ, nếu ở 54⁰C cần xử lý trong 3-4 giờ. Nồng độ EtO là 700mg/lít. Vì EtO có độc tính lớn cho nên sau khi tiêu độc cần thổi khí mạnh để loại trừ hết EtO đi.

Betapropiolactone (BPL) cũng là loại khí dùng để tiêu độc. Trong trạng thái lỏng BPL dùng để tiêu độc vắc xin và huyết thanh. BPL sẽ bị phá hủy thành dạng vô hoạt tính sau vài giờ chứ không khó loại trừ như EtO. Năng lực diệt khuẩn tuy cao hơn EtO nhưng khả năng xuyên thấu qua vật liệu lại kém hơn so với EtO. Hơn nữa chất này có thể gây ung thư cho nên không được ứng dụng rộng rãi như EtO.

Gần đây hydrogen peroxide dạng bay hơi cũng được dùng để tiêu độc các phòng thao tác an toàn sinh học.

Đánh giá hiệu lực của các tác nhân kháng vi sinh vật

Tại Hoa Kỳ việc đánh giá các tác nhân kháng vi sinh vật được thực hiện bởi hai cơ quan khác nhau: Cơ quan quản lý các chất tiêu độc bảo vệ môi trường và Cơ quan quản lý Thực phẩm và dược phẩm. Cần đánh giá các tác nhân này có hiệu quả kháng vi sinh vật hay không, có hiệu lực từ nồng độ nào. Sau đó tiến hành trên từng ứng dụng thực tiễn.

Phổ biến nhất là thí nghiệm hệ số phenol (phenol coefficient test), tức là so sánh hiệu lực của một số chất tiêu độc với phenol. Đầu tiên pha loãng với các mức độ khác nhau, sau đó cấy vào các độ pha loãng này vi khuẩn thương hàn *Salmonella typhi* và tụ cầu vàng *Staphylococcus aureus*, để ở 20⁰C hay 37⁰C. Sau 5 phút lại cấy sang môi trường mới và nuôi cấy tiếp 2 ngày hay lâu hơn. Độ pha loãng cao nhất trong 10 phút có thể diệt hết vi khuẩn được dùng để tính toán Hệ số phenol. Lấy bội số pha loãng của chất thử nghiệm chia cho bội số pha loãng phenol đạt hiệu quả như nhau thì thu được Hệ số phenol. Ví dụ bội số pha loãng của phenol là 90 mà bội số pha loãng của chất tiêu độc thử nghiệm là 450 thì Hệ số phenol là 5. Hệ số phenol càng cao thì biểu thị chất thử nghiệm có năng lực tiêu độc trong cùng điều kiện thí nghiệm càng cao. Hệ số phenol càng cao hơn 1 thì biểu thị năng lực tiêu độc càng cao hơn phenol (bảng 5)

Hệ số phenol của một số chất tiêu độc. (*Những chỗ không chú thích là xử lý ở 370C)

Chất tiêu độc	Với S.typhi*	Với S.aureus*
Phenol	1	1
Cetylpyridinium chloride	228	337
O-phenylphenol	5,6 (200C)	4,0
p-cresol	2,0-2,3	2,3
Hexachlorophene	5-15	15-40
Merthiolate	600	62,5
Mercurochrome	2,7	5,3
Lysol	1,9	3,5
Isopropyl alcohol	0,6	0,5
Etanol	0,04	0,04
Dung dịch 2%I2 trong cồn	4,1-5,2	4,1-5,2

Hệ số phenol là có ích để sơ bộ lựa chọn chất tiêu độc, nhưng trong quá trình ứng dụng thực tế không thể dùng để biểu thị hiệu lực cao thấp của chất tiêu độc. Bởi vì hệ số

Ức chế vi sinh vật bằng các tác nhân vật lý và hóa học

phenol là số liệu thu được trong những điều kiện thí nghiệm nhất định, với các vi sinh vật thuần chủng, còn trong thực tế với một quần thể vi sinh vật phức tạp, có tồn tại các chất hữu cơ, chất vô cơ, với các pH, nhiệt độ khác nhau..., hiệu lực của chất tiêu độc chịu ảnh hưởng rất nhiều vào các nhân tố môi trường khi sử dụng.

Muốn đánh giá thực tế hơn hiệu lực của các chất tiêu độc có thể tiến hành các phương pháp thử nghiệm khác. Trên thực tế so sánh các chất hóa học khác nhau để kiểm tra tốc độ diệt khuẩn. Có thể dùng Thử nghiệm pha loãng thực dụng (use dilution test) để tiến hành xác định. Tìm nồng độ nào của chất tiêu độc có thể diệt được 95% vi sinh vật theo mức độ tin cậy. Còn có thể dùng phương pháp Thí nghiệm thực dụng (in-use test) trong các điều kiện thực tế cụ thể để xác định nồng độ bắt đầu có tác dụng của từng chất tiêu độc.