

# دستورالعمل استریلیزاسیون در اتوکلاو، اون

## اتوکلاو

اگر چه اتوکلاو بهترین وسیله برای استریلیزاسیون است، باید تصدیق کنیم که طولانی شدن مرحله گرمایی، سبب کاهش کیفیت مواد مغذی در محیط های کشت کمپلکس محتوی قند، مواد معدنی و فلزی می شود در نتیجه به محیط های کشت زیان وارد می شود. بنابراین در چرخه استریلیزاسیون باید از زمان کوتاهاتر و دمای بالاتر استفاده کنیم تا علاوه بر آن که آسیب کمتری به محیط کشت وارد می شود برای ارگانسیم نیز کشنده تر باشد.

دمای استریلیزاسیون به دمای چمبر اتوکلاو برمی گردد نه به دمای محیط کشت. زمان لازم برای رسیدن به این دما باید در حد ممکن کوتاه باشد.

چرخه استریلیزاسیون باید متناسب با زمان نفوذ گرما در نظر گرفته شود. برای مثال یک ظرف یک لیتری محیط کشت باید از زمان رسیدن چمبر به دمای ۱۲۱ درجه طی ۱۵ دقیقه به این دما برسد.

## چرخه استریلیزاسیون

- مرحله ۱: زمان بالا رفتن دما در محفظه اتوکلاو (۱۲۰-۲۰ درجه سلسیوس)
- مرحله ۲: زمان نفوذ گرما به داخل ظرف محیط کشت (۱۲۰-۱۰۰ < درجه سلسیوس)
- مرحله ۳: زمان نگهداری در زمان مقرر (۱۲۱ درجه سلسیوس)
- مرحله ۴: زمان پایین آمدن دمای محفظه (۸۰-۱۲۱ درجه سلسیوس)

## انواع استریلیزاسیون

- استریلیزاسیون محیط های کشت و محلول ها
- استریلیزاسیون مواد مصرفی آلوده

- استریلیزاسیون مواد خشک بسته بندی شده

## استریلیزاسیون محیط های کشت و محلول ها

- بهتر است از لوله و ارلن در پیچ دار استفاده شود. بیشتر از ۲/۳ آنها را پر نکنید. در پیچ آنها را شل کنید.
- از قرار دادن اشیا بر روی یکدیگر پرهیزید. باید فاصله اشیا از یکدیگر و از دیواره های اتوکلاو حداقل ۵ سانتی متر باشد تا بخار جریان یابد.
- درب اتوکلاو را ببندید. زمان و دما را طبق دستور شرکت سازنده (معمولا ۱۵ دقیقه در ۱۲۱ درجه سلسیوس (تنظیم کنید.
- در بعضی از محیط های کشت که به دمای بالا حساس هستند (محتوی مقدار قند بالا و یا عوامل مهار کننده مثل دزوکسی کولات سدیم یا نمکهای صفراوی هستند) تحت تاثیر دمای بالا، PH محصول نهایی کاهش می یابد.

## استریلیزاسیون مواد مصرفی آلوده

- مواد مصرفی آلوده را جدا نموده و در کیسه های قابل اتوکلاو شدن قرار دهید و بر روی آنها برچسب Biohazard نصب کنید.
- برای اطمینان از نفوذ بخار به همه قسمت های کیسه، یا گره آن را شل کنید یا قبل از محکم کردن گره، یک پیمانه (۰/۳ لیتر) آب به آن اضافه کنید بیش از ۳/۴ کیسه را پر نکنید.
- برای جلوگیری از مسدود شدن آبگذر اتاقک اتوکلاو توسط آگار مذاب، کیسه ها را داخل سطل قرار دهید.
- زمان لازم برای استریلیزاسیون زباله، ۶۰-۳۰ دقیقه در ۱۲۱ درجه سلسیوس یا ۳۰-۱۵ دقیقه در ۱۳۴ درجه سسیوس می باشد.

- وقتی آگار ذوب شده، سفت شد آنرا مثل زباله طبیعی دور بریزید. اما محیط کشت محتوی سلنیت را باید بصورت زباله مخصوص منهدم کنید.

## استریلیزاسیون مواد خشک بسته بندی شده

- بسته ها را طوری در اتوکلاو قرار دهید که حداکثر چرخش بخار در بین آنها ایجاد شود و با دیواره های اتوکلاو نیز تماسی نداشته باشند.
- زمان لازم برای استریلیزاسیون مواد خشک بسته بندی شده، ۲۵ دقیقه با خروج سریع بخار یا ۳۰ دقیقه بدون خروج بخار در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس می باشد.

## نحوه نگهداری

- روزانه: صفحه کف اتوکلاو را از سوراخ اتاقک جدا کرده، تمیز کنید. لوازم فرعی مثل طبقات و سینی ها را با آب و صابون بشویید. سطح آب ژنراتور را کنترل کنید.
- هفتگی: آبگذر و درزها را تمیز کنید. سوپاپ اطمینان را بررسی کنید.
- ماهانه: آب دستگاه را تعویض نمایید.
- هر سه ماه: داخل و خارج دستگاه و قسمت بیرونی آبگذر را تمیز کنید.
- هر ۶ ماه: دستگاه توسط نماینده سرویس تعمیر کار، بازرسی شود.

## کنترل کیفی

- تست شیمیایی:

- نوار کاغذی TST: سه عامل زمان، بخار و دما را کنترل می کند و از زرد به بنفش تغییر رنگ می دهد. در هر ران کاری از این نوار استفاده کنید.

- برچسب Sterility-Record: علاوه بر سنجش استریلیتی، امکان ثبت تاریخ استریلیزاسیون، نام فرد استریل کننده و نام محیط کشت بر روی این برچسب وجود دارد. در هر ران کاری از این برچسب استفاده کنید.

## ایمنی

- از دستکش مقاوم به حرارت و محافظ چشم استفاده کنید.
- بعد از آنکه فشار اتاقک اتوکلاو به صفر و دمای آن به حدود ۶۰ درجه سلسیوس رسید کنار درب اتوکلاو بایستید و آنرا باز کنید. منتظر بمانید تا ظرف ها کمی خنک شوند سپس آنها را حمل کنید.
- هرگز در هنگام روشن بودن دستگاه اقدام به بارگذاری یا خارج نمودن وسایل و مواد ننمایید.
- هرگز در هنگام روشن بودن دستگاه و اتصال آن به پریز برق اقدام به تمیز نمودن آن نکنید.
- هرگز پیچ های محکم کننده درب را هنگام کار دستگاه شل و سفت نکنید.

## فور(اون)

فور برای استریل کردن موادی که نمی توانند به طور کامل تحت نفوذ بخار قرار بگیرند، اما می توانند دمای بالای مورد نیاز مثل ۱۸۰-۱۶۰ درجه را تحمل کنند به کار می رود. فور بویژه برای ظروف شیشه ای مثل لوله آزمایش، پتری دیش، پیپت و نیز برای وسایل فلزی مثل پنس، اسکالپل و قیچی به کار می رود. اون باید دارای فن (جهت چرخش هوای متراکم در سراسر اتاقک)، نشانگر درجه حرارت، ترموستات و تایمر، طبقات مشبک، قفل داخلی درب و عایق بندی مناسب جداره ها باشد.

## استریلیزاسیون در اون

۱. برای برای بسته بندی این وسایل جهت استریل نمودن آنها در اون می توان از فویل آلومینیومی یا کاغذ کرافت و سر بطریهای پنبه ای استفاده نمود.

۲. باید دقت شود که کاغذ و پنبه نسوزند، چون پنبه نیم سوز مواد باکتری کش فرآری را متصاعد می کند.
۳. حدود ۲ سانتی متر از انتهای فوقانی پی پتها را با پنبه غیر جاذب ببندید و آنها را در ظروف فلزی قرار داده، درب آنها را ببندید.
۴. در پوش لوله های آزمایش را با کاغذ آلومینیومی بپوشانید و آنها را بطور عمودی در جالوله ای قرار دهید. در پوش، لبه لوله را از آلودگی از طریق هوا در طی ذخیره سازی حفظ می کند.
۵. در صورتی می توان بطری های در پیچ دار را در اون استریل نمود که در پوش و آستری آنها از موادی مثل فلز، پلی پروپیلین یا لاستیک سیلیکون ساخته شده باشد تا در دمای استریلیزاسیون از شکل طبیعی خارج نشود.
۶. پودر، روغن چربی را در ظرف شیشه ای یا فلزی و در اندازه های کوچک که از وزن ۱۰ گرم یا عمق یک سانتی متر تجاوز نکند، استریل کنید.
۷. قبل از قرار دادن ظروف شیشه ای در اون، از خشک بودن آنها مطمئن شوید. مواد را به گ.نه ای در اون قرار دهید که هوای داغ در اطراف و بین آنها در جریان باشد.
۸. زمان نگهداری استریلیزاسیون از زمانی آغاز می شود که اتاقک به دمای استریل انتخابی برسد و نیز مدتی هم بیشتر در نظر گرفته می شود تا همه قسمت های اتاقک و مواد داخل آن به دمای مورد نظر برسد (۱۸۰ - ۱۶۰ درجه به مدت ۲ ساعت)
۹. به دلیل عایق بودن دستگاه چند ساعت طول می کشد تا اشیا داخل آن خنک شود. درب اون را باز نکنید تا اتاقک، ظروف و مواد داخل آن تا دمای حدود ۶۰ درجه خنک شود. اگر هوای سرد ناگهان وارد دستگاه شود ممکن است ظروف شیشه ای ترک بخورد.

## نحوه نگهداری فور:

به طور ماهانه داخل آن تمیز شود. هر شش ماه توسط نماینده سرویس بازرسی شود.

کنترل کیفی:

تست شیمیایی: میال شیشه ای Brown و مشاهده تغییر رنگ مناسب از قرمز به سبز، از این ویال در هر ران کاری استفاده کنید.

تست بیولوژیک: استفاده از نوار کاغذ حاوی اسپر با سلسیوس سوبتیلیس واریته نایجر ATCC9372 به طور هفتگی توصیه می شود.

ایمنی:

استفاده از دستکش مقاوم به حرارت و محافظ چشم.

تهیه و تنظیم: حسین میری

کارشناس اداره امور آزمایشگاه های دانشگاه علوم پزشکی سبزوار