



استریلیزاسیون در اتوکلاو و اون

مهناز صارمی

کارشناس میکروبیولوژی

آزمایشگاه مرجع سلامت

اتو کلاو



■ اگر چه اتو کلاو 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 و در نتیجه به محیط های کشت زیان وارد می کند. بنابراین در چرخه استریلیزاسیون باید از زمان کوتاهتر و دمای بالاتر استفاده کنیم تا علاوه بر آنکه آسیب کمتری به محیط کشت وارد می شود، برای ارگانسیم نیز کشنده تر باشد.

■ دمای استریلیزاسیون به دمای چمبر اتو کلاو برمیگردد 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 121°C ، در طی ۱۵ دقیقه به این دما برسد.

چرخه استریلیزاسیون



- مرحله ۱: زمان بالا رفتن دما در محفظه اتوکلاو (121°C – 20)
- مرحله ۲: زمان نفوذ گرما به داخل ظرف محیط کشت (121°C – $100 <$)
- مرحله ۳: زمان نگهداری در دمای مقرر (121°C)
- مرحله ۴: زمان پایین آمدن دمای محفظه (121 – 80°C)

انواع استریلیزاسیون



- استریلیزاسیون محیط های کشت و محلول ها
- استریلیزاسیون مواد مصرفی آلوده
- استریلیزاسیون مواد خشک بسته بندی شده



استریلیزاسیون محیط های کشت و محلولها

- 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 اشیاء بر روی یکدیگر بپرهیزید. باید فاصله اشیاء 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 (معمولاً ۱۵ دقیقه در 121°C) تنظیم کنید.
- در بعضی از محیط های کشت که به دمای بالا حساس هستند (محتوی مقدار قند بالا یا عوامل مهار کننده مثل دزوکسی کولات سدیم یا نمکهای صفراوی هستند) تحت تأثیر 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 آنرا 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 121°C یا ۳۰-۱۵ دقیقه در 134°C 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 121°C می باشد.

نحوه نگهداری



- روزانه: صفحه کف اتو کلاو را از سوراخ آبگذر اتاقک جدا کرده، تمیز کنید. لوازم فرعی مثل طبقات و سینی ها را با آب و صابون بشوید. 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 ۳ 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.

□ تست بیولوژیک:

استفاده از ویال حاوی اسپور باسیلوس استئاروترموفیلوس ATCC 7953 بطور هفتگی توصیه می شود.

ایمنی



- از دستکش مقاوم به حرارت و محافظ چشم استفاده کنید.
- بعد از آنکه فشار اتاقک اتوکلاو به صفر و دمای آن به حدود 60°C رسید کنار درب اتوکلاو بایستید و آنرا باز کنید. منتظر بمانید تا ظروف 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 در هنگام کار دستگاه شل و سفت نکنید.



فور (اون)

اون برای استریل کردن موادی که نمی توانند بطور کامل تحت نفوذ بخار قرار گیرند، اما می توانند دمای بالای مورد نیاز مثل $160 - 180^{\circ}\text{C}$ را تحمل کنند، به کار می رود. اون بویژه برای ظروف شیشه ای مثل لوله آزمایش، پتری دیش، پی پت و نیز برای آلات 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 بسته بندی این وسایل جهت استریل نمودن آنها در اون میتوان از فویل آلومینیومی یا کاغذ کرافت و سربطریهای پنبه ای استفاده نمود.
- ۲- باید دقت شود که کاغذ و پنبه نسوزند، چون پنبه نیم سوز مواد باکتری کش فرّاری 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- درپوش لوله های آزمایش را با کاغذ آلومینیومی بپوشانید و آنها را بطور عمودی در جا لوله ای قرار دهید. درپوش، لبه لوله را از آلودگی از طریق هوا در طی ذخیره سازی حفظ می کند.

...ادامه



۵- در صورتی می توان بطری های درپیچ دار را در اون استریل نمود که درپوش و آستری آنها از موادی مثل فلز، پلی پروپیلن یا لاستیک سیلیکون ساخته شده باشد تا در دمای استریلیزاسیون از شکل طبیعی خارج نشود.

۶- پودر، روغن، چربی و گریس مثل Petroleum Jelly 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 نمایید.

۷- قبل از قرار دادن ظروف شیشه ای در اون، از خشک بودن آنها مطمئن شوید. مواد را به گونه ای در اون قرار دهید که هوای داغ در اطراف و بین آنها در جریان باشد.

...ادامه



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 قسمت‌های اتاقک و مواد داخل آن به دمای مورد نظر برسند ($160-180^{\circ}\text{C}$ به مدت ۲ ساعت).

۹- به دلیل عایق بودن دستگاه، چند ساعت طول می کشد تا اشیاء داخل آن خنک شود، مگر آنکه مجهز به فن باشد. درب اون را باز نکنید تا اتاقک، ظروف و مواد داخل آن تا دمای حدود 60°C خنک شوند. اگر هوای سرد ناگهان وارد دستگاه شود ممکن است ظروف شیشه ای ترک بخورند.

فور (اون)



□ نحوه نگهداری:

بطور ماهانه داخل آن تمیز شود.

هر ۶ ماه توسط نماینده سرویس تعمیر، بازرسی شود.

□ کنترل کیفی:

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

تست بیولوژیک: استفاده از نوار کاغذی حاوی اسپور باسیلوس سوبتیلیس واریته نایجر ATCC 9372 بطور هفتگی توصیه می شود.

□ ایمنی:

استفاده از دستکش مقاوم به حرارت و محافظ چشم.

