14. **جار بی هوازی و جار شمع دار**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل فنی و کنترل کیفی جار بی هوازی و جار شمع دار (کندل جار)** | |
| **کد سند:** | D-002-0014 | |
| **دسته بندی سند:** | دستورالعمل و کنترل کیفی دستگاه ها و تجهیزات | |
| **شماره ویرایش:** | {{EditeNumber}} | |
| **تاریخ ویرایش:** | {{EditeNumber}} | |
| **تاریخ بازنگری سند:** | {{ReviewDate}} | |
| **تهیه کننده:** | **تایید کننده:** | **امضاء :** |
| شرکت دارا ویرا آزما  دکتر داریوش شکری | {{ConfirmerOneName}} | {{ConfirmerTwoName}} |

**(1) هدف:**

شرح دستورالعمل فنی، تشریح روش کار، نگهداری و کنترل کیفی دستگاه جار بی هوازی.

**(2) دامنه كاربرد:**

بخش میکروب شناسی.

**(3) مسئولیت ها:**

در دستورالعمل کلی دستگاهها و تجهیزات آمده است.

**(4) تعاریف و اصطلاحات:**

**باکتری‌های بی‌هوازی:** برای رشد خود نیاز به اکسیژن ندارند و حتی در شرایط فقدان اکسیژن رشد می‌کنند.

بسته به میزان حساسیت این گروه به اکسیژن می‌توان آن‌ها را به سه دسته دسته‌بندی کرد:

**بی‌هوازی اجباری:** ارگانیسم‌هایی که در حضور اکسیژن هوا (غلظت ۲۱٪) توانایی زندگی ندارند. بی هوازی های اجباری مطلق فقط در عدم حضور O2 رشد کرده و در حضور آن آسیب می بینند یا می میرند.

**بی‌هوازی اختیاری**: ارگانیسم‌هایی که توانایی استفاده از الکترون موجود در اکسیژن و ایجاد متابولیسم هوازی در محیط های حاوی اکسیژن دارند. باکتری های بی هوازی اختیاری در حضور یا عدم حضور O2رشد می کنند ولی در حضور O2رشد بهتری دارند.

**تحمل‌کننده هوا:** ارگانیسم‌هایی که در حضور اکسیژن می‌توانند به فعالیت خود ادامه دهند ولی قادر به استفاده از الکترون اکسیژن نیستند.

## گاز پک (gas pack): پاکت‌هایی یک بارمصرف حاوی پودر یا قرص خشک که با آب مخلوط شده و در یک شیشه دربسته (جار) تولید فضایی فاقد اکسیژن برای کشت باکتری‌های بی‌هوازی می‌کنند. این محصول با نام گازفیت هم شناخته می‌شود. بسته به شرکت تولیدکننده می‌تواند به صورت قرص یا پودر، مناسب برای یک یا چند بار مصرف طراحی شود.

### انواع گاز پک

گاز پک نوعA : جهت استفاده در جار بی‌هوازی برای باکتری‌هایی با اتمسفر بی‌هوازی مطلق.   
گاز پک نوعC : جهت استفاده در جار بی‌هوازی برای باکتری‌های میکروآئروفیلیک و کپنوفیلیک که به میزان کمی اکسیژن برای رشد نیازمند هستند (قابلیت تحمل ۳% تا ۱۰% اکسیژن).

**جار (ظرف) بی هوازی:** ظرف پلاستیکی، فلزی یا شیشه ای می باشد که هوای موجود در آن توسط سیستم های مختلف تخلیه شده و گاهی بسته به باکتری هدف CO2 مورد نیاز (باکتری های کاپنوتروف) نیز تأمین می شود. جنس بدنه جار بی هوازی از شیشه ، فلز یا پلاستیک است و دارای یک درب می باشد که با قفل شدن به بدنه از نفوذ هوا به داخل جلوگیری می کند. در این محفظه ها به روش های گوناگون اکسیژن موجود خارج شده و با کربن دی اکسید(CO2) و هیدروژن (H2) و در مواردی نیتروژن (N2) جایگزین می شود تا شرایط برای رشد باکتری های مورد نظر فراهم شود.

**جار شمعی** (candle jar): در این روش بعد از قرار دادن پلیت ها درون جار بی هوازی یک یا دو شمع بی رنگ کوچک روشن را درون آن قرار داده و درب جار را می بندند. پس از گذشت چند دقیقه شعله شمع اکثر اکسیژن موجود در فضای ظرف را مصرف کرده و مقداری دی اکسید کربن تولید می کند. مقدار دی اکسید کربن تولید شده با این روش برای باکتری های میکروآئروفیل و باکتری هایی که برای رشد نیاز به دی اکسید کربن کمی دارند کافی است.

**سیستم اتومات کشت هوازی:** از دستگاه ایجاد خلاء و گازهای شرایط بیهوازی استفاده می شود تا توسط آن شرایط بیهوازی مطلق یا میکروآئروفیلیک (بسته به باکتری هدف) با ایجاد خلاء در جار توسط پمپ خلاء یا [پمپ وکیوم](https://shimiazma.ir/product/%d9%be%d9%85%d9%be-%d8%ae%d9%84%d8%a7/" \t "_blank)، ایجاد شود.

**(5)** **شرح دستورالعمل:**

* بعد از انتخاب محیط کشت مناسب جهت کشت باکتری، پلیت را در جار (ظرف) بی هوازی قرار می دهند تا این وسیله شرایط یک محیط بیهوازی را برای باکتری ایجاد نماید.
* اگر دستگاه بی هوازی موجود است جار را با واسطه شلنگ های مخصوص به دستگاه بیهوازی وصل می کنیم و بعد از ایجاد شرایط مورد نظر آن را خارج کرده و داخل انکوباتور می گذاریم.
* اگر دستگاه بی هوازی موجود نیست و از گازپک برای ایجاد شرایط بی هوازی استفاده می شود، بعد از کشت و گذاشتن گازپک و ریختن آب بر روی سطح آن برای فعال شدن جاذب آب و بیهوازی شدن داخل جار، درب آن را می بندیم و داخل انکوباتور قرار می دهیم. مواد داخل گاز پک در طی واکنش با آب اکسیژن محیط داخل جار را مصرف می کند.
* اگر از جار شمع دار برای رشد باکتری نیازمند CO2 استفاده می شود از دو عدد شمع سفید کوچک داخل ظرف استفاده می شود که آنها را روشن کرده و درب ظرف گذاشته می شود تا با مصرف مقداری از اکسیژن، CO2 مورد نیاز فراهم گردد.

**(6)** **کنترل کیفی و کالیبراسیون:**

**کنترل کیفی جار شمع دار:**

باکتری استرپتوکوک پنومونیه ATCC49619 در جار شمع دار بعد از 24 ساعت به خوبی رشد می کند.

**کنترل کیفی دستگاه بی هوازی:**

**- نوار اندیکاتور بلودو متیلن (یا رسازورین):** همزمان با ایجاد شرایط بی هوازی در داخل جار یک نوار اندیکاتور آبی رنگ بلودومتیلن قرار می گیرد. این نوارهای باریک حاوی موادی است که در حالت عادی به رنگ آبی می باشد .هنگامی که اکسیژن از محیط حذف می شود این مواد هم تغییر رنگ داده و به حالت بی رنگ در می آید .همچنین از اندیکاتور رسازورین می توان استفاده نمود که در شرایط بی‌هوازی بی‌رنگ (سفید)، اما در حضور اکسیژن به صورتی تبدیل می‌شود.

**- کشت سوش های هوازی مطلق:** راه دیگر کنترل کیفی بی هوازی شدن جار استفاده از سوش های هوازی مطلق مانند سودوموناس آئروجینوزا، نایسریا و هموفیلوس می باشد که آنها را بر روی پلیت کشت داده و داخل جار می گذاریم. این باکتری ها چون هوازی مطلق هستند اگر شرایط بیهوازی به خوبی فراهم شده باشد بعد از انکوباسیون رشدی نخواهند داشت.

**(7)** **نگهداری:**

* به صورت هفتگی با آب و هیپوکلریت رقیق 1 درصد می توان جار را شستشو داد.
* بعد از شستشو با آب فراوان آبکشی شود تا اثرات هیپوکلریت از بین برود.

**(8) سرویس و تعمیرات:**

در دستورالعمل کلی دستگاهها و تجهیزات آمده است.

**(9) ملاحظات ایمنی:**

* موقع کار کردن بايد از دستکش استفاده شود.
* چون برخی از جارهای بی هوازی شيشه اي هستند لذا بايد دقت شود تا هنگام کار با آن ضربه به آنها وارد نشود.

**(10) محدوديت ها و تداخلات:**

گاز پک و سیستم بیهوازی گران قیمت بوده و ممکن است کشت نمونه های بی هوازی در روزهای خاصی برنامه ریزی شود تا نمونه چند بیمار به طور همزمان به انجام برسد. بنابراین زمان کشت بی هوازی باید به اطلاع سیستم پرستاری، پزشک و پذیرش آزمایشگاه برسد.

**(11) مستندات و سوابق :**

فرم سوابق یاLog book نگهداری روزانه و تمیزکاریوهمچنینسوابق کنترل کیفی و کالیبراسیون.

**(12) منابع**

1. مهری علی اصغر پور، مهناز صارمی، راهنمای نگهداشت تجهیزات آزمایشگاهی، انتشارات سازمان بهداشت جهانی، ویرایش دوم (2008).
2. A Guide to Biosafety & Biological Safety Cabinets, ESCO. World Class. Worldwide.
3. CLSI C24: Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions.2016.
4. CLSI QMS01: A Quality Management System Model for Laboratory Services. 2019.
5. Tille، Patricia. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology-e-book*. Elsevier Health Sciences، fifteenth edition. 2021.