**7. اتوكلاو**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **اسم آزمایشگاه:** | {{LabName}} | |
| **اسم سند:** | **دستورالعمل فنی و کنترل کیفی اتوكلاو** | |
| **کد سند:** | D-002-0007 | |
| **دسته بندی سند:** | دستورالعمل و کنترل کیفی دستگاه ها و تجهیزات | |
| **شماره ویرایش:** | {{EditeNumber}} | |
| **تاریخ ویرایش:** | {{EditeDate}} | |
| **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 اتوكلاو.

**(2) دامنه كاربرد**:

واحد شستشو و استریلیزاسیون تحت نظارت بخش میکروب شناسی.

**(3) مسئولیت ها:**

در دستورالعمل کلی دستگاهها و تجهیزات آمده است.

**(4) تعاریف و اصطلاحات:**

**اتوكلاو** بهترین و رایج ترین وسیله براي استریل یا سترون کردن محیط هاي کشت، محلول ها، پسماندآلوده و مواد خشک است که با بهره گیري از حرارت بخار آب تحت فشار مورد استفاده قرار می گیرد.

چرخة سترون سازی دارای 4 مرحله می باشد:

مرحلة1: زمان بالا رفتن دما در محفظة اتوكلاو (C˚20-121)

مرحلة2: زمان نفوذ گرما به داخل ظرف محیط کشت (˚C120-180<)

مرحلة3: زمان نگهداري در دماي مقرر (C˚121)

مرحلة4: زمان پایین آمدن دماي محفظه (C˚80-121)

**(5) شرح دستورالعمل:**

**انواع سترون سازی**

* سترون سازي محیط هاي کشت و محلول ها
* سترون سازي پسماندآلوده
* سترون سازي مواد خشک بسته بندي شده

**1. سترون سازی محیط های کشت و محلول­ها**

* بهتر است از لوله و ارلن در پیچ­دار استفاده شود. بیشتر از 3/2 آنها را پر نکنید. درپیچ آنها را شل کنید.
* از قرار دادن اشیاء بر روی یکدیگر بپرهیزید. باید فاصله اشیاء از یکدیگر و از دیواره­های اتوکلاو حداقل 5 سانتی­متر باشد تا بخار جریان یابد.
* درب اتوکلاو را ببندید. زمان و دما را طبق دستور شرکت سازنده (معمولاً 15 دقیقه در C˚121) تنظیم کنید.
* طولانی شدن مرحلة گرمایی، سبب کاهش کیفیت مواد مغذي در محیط هاي کشت کمپلكس محتوي قند، مواد معدنی و فلزي می شود و در نتیجه به محیط هاي کشت زیان وارد می کند. بنابراین در چرخة سترون سازي باید از زمان کوتاهتر و دماي بالاتر استفاده کنیم تا علاوه بر آنكه آسیب کمتري به محیط کشت وارد می شود، براي ارگانیسم نیز کشنده تر باشد.
* 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 می­یابد.
* دمای استریلیزاسیون به دمای اتاقک اتوکلاو بر می­گردد نه به دمای محیط کشت. زمان لازم برای رسیدن به این دما باید در حد ممکن کوتاه باشد.
* چرخه استریلیزاسیون باید متناسب با نفوذ گرما در نظر گرفته شود. برای مثال محتویات یک ظرف یک لیتری محیط کشت از زمان رسیدن محفظه به دمای C˚121باید طی 15 دقیقه، به این دما برسد.

**2. سترون سازي پسماند آلوده:**

* مواد مصرفي آلوده را جدا نموده و در كيسه‌هاي قابل اتوكلاو قرار دهيد و بر روي آنها برچسب خطر بیولوژیک (Biohazard) نصب كنيد.
* براي اطمينان از نفوذ بخار به همه قسمت‌هاي كيسه، يا گره آن را شل كنيد يا قبل از محكم كردن گره، يك پيمانه (3/0 ليتر) آب به آن اضافه كنيد.
* براي جلوگيري از مسدود شدن آبگذر اتاقك اتوكلاو توسط آگار مذاب، كيسه‌ها را داخل سطل فلزی قرار دهيد.
* زمان لازم براي استريليزاسيون زباله، 60-30 دقيقه در 121 درجه سانتي گراد يا 30-15 دقيقه در 134 درجه سانتي گراد مي‌باشد.

**3. سترون سازي مواد خشك بسته بندي شده (از قبیل سوآب و لوله آزمایش):**

* بسته‌ها را طوري در اتوكلاو قرار دهيد كه حداكثر چرخش بخار در بين آنها ايجاد شود و با ديواره‌هاي اتوكلاو نيز تماسي نداشته باشند.
* زمان لازم براي سترون سازي مواد خشک بسته بندي شده، 25 دقیقه با خروج سریع بخار در دماي C˚ 121 یا30 دقیقه بدون خروج بخار در این دما می باشد.

**(6) کنترل کیفی و کالیبراسیون :**

**تست (اندیكاتور) شیمیائی:**

* در آزمایشگاه جهت کنترل کیفیت اتوکلاو از نوار کاغذی یا اندیکاتور شیمیایی TST کلاس 5 يا 6 یا چسب اتوکلاو استفاده می­شود. این اندیکاتورها سه عامل زمان، بخار و دما را کنترل می­کند و از زرد به بنفش تغییر رنگ می­دهند (ممکن است بسته به برند مورد استفاده رنگ ها متفاوت باشد). مشاهدة تغییر رنگ مناسب اندیكاتور پس از پایان مرحله سترون سازي، نشان دهنده عملكرد مطلوب دستگاه است.
* در هر سری کاری از این نوار استفاده کنید و پس از استفاده از این نوارها در هر سری کاری نام و نام خانوادگی کاربر، تاریخ و ساعت استفاده را بر روی آن نوشته و در سابقه کنترل کیفیت اتوکلاو نگهداری کنید. همچنین نوع ماده اتوکلاو شده باید یادداشت شود.

**تست (اندیكاتور) بیولوژیک:**

* استفاده از ویال حاوی اسپور ژئوباسیلوس استئارترموفیلوس ATCC7953 به طور هفتگی یا فواصل بیشتر، متناسب با بار کاري اتوكلاو توصیه می­شود. این کار مطابق با دستورالعمل سازنده انجام می شود.
* در ته یک ظرف کوچک مقاوم به حرارت و نفوذپذیر نسبت به بخار مثل ظرف ایمن یا Safety Box چند لایه تنزیب قرار داده، تست شیمیایی و بیولوژیک را داخل آن قرار داده، درب ظرف ایمن را ببندید و آن را به همراه سایر مواد و وسایل داخل دستگاه قرار دهید. برنامه سترون سازي را اجرا کنید.
* پس از پایان سیكل، ویال اندیكاتور بیولوژیک را بیرون بیاورید و طی مدت2 ساعت آمپول شیشه اي داخل آن را بشكنید تا محیط کشت و اندیكاتورpH داخل آمپول شیشه اي با کاغذ آغشته به اسپور باسیلوس در تماس قرار گیرد، سپس ویال را به مدت 72 -24 ساعت در دماي C˚1±56 انكوبه نمایید و تغییر رنگ در آن را بررسی کنید. تغییر رنگ محیط کشت به رنگ اعلام شده توسط سازنده، نشانگر رشد باکتریایی و تغییر pH محیط کشت و عدم صحت عملكرد دستگاه است و عدم تغییر رنگ، نشان دهنده از بین رفتن باسیلوس و صحت عملكرد دستگاه است. نتیجه را ثبت کنید.

**کنترل مثبت:** چند وقت یكبار (مثلاً سه ماهه) براي بررسی زنده بودن میكروارگانیسم داخل ویال از کنترل مثبت استفاده کنید. براي این کار، یک ویال اندیكاتور بیولوژیک را بدون آن که اتوكلاو شود، بشكنید و به مدت72-24ساعت در دماي C˚1±56 انكوبه نمایید. باسیلوس موجود در این ویال حتماً باید رشد کند و رنگ محیط کشت را تغییر دهد. اگر تغییر رنگ مورد نظردر این ویال ایجاد شود، نتایج سایر ویال ها قابل اعتماد است. اگر این ویال تغییر رنگ ندهد، نشان دهنده از بین رفتن خود به خودي باسیلوس است، بنابراین نتایج سایر ویال ها نیز قابل اعتماد نیست.

**(7) نگهداری:**

**روزانه** : صفحه کف اتوکلاو را از سوراخ آبگذر اتاقک جدا کرده، تمیز کنید. لوازم فرعی مثل طبقات و سینی­ها را با آب و صابون بشوئید. سطح آب ژنراتور را کنترل کنید.

**هفتگی** : آبگذر و درزها را تمیز کنید. سوپاپ اطمینان را بررسی کنید.

**ماهانه**: آب دستگاه را تعویض نمائید.

**هر3 ماه**: داخل و خارج دستگاه و قسمت بیرونی آبگذر را تمیز کنید.

**هر 6 ماه** : دستگاه توسط نماینده سرویس تعمیر، بازرسی شود.

جزئیات انجام هر یک از مراحل فوق را در فرم لاگ بوک اتوکلاو ثبت می شوند.

**(8) سرویس و تعمیرات:**

در دستورالعمل کلی دستگاهها و تجهیزات آمده است.

**(9) ملاحظات ایمنی:**

* از دستکش مقاوم به حرارت و محافظ چشم استفاده کنید.
* بعد از آن که فشار اتاقک اتوکلاو به صفر و دمای آن به حدود C˚60 رسید باید درب آن را در حالی که در کنار ایستاده اید 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 ننمائید.
* هرگز در هنگام روشن بودن دستگاه و اتصال آن به پریز اقدام به تمیز نمودن آن نکنید.
* هرگز پیچ­های محکم کننده درب را در هنگام کار دستگاه شل و سفت نکنید.

**(10) محدوديت ها و تداخلات:**

اتوکلاو مواد خشک، محیط های کشت و مواد آلوده و پسماند باید به صورت مجزا انجام گیرد چون دارای شرایط انجام متفاوتی هستند.

**(11) مستندات و سوابق :**

فرم سوابق یاLog book نگهداری روزانه و تمیزکاریوهمچنینسوابق کنترل کیفی و کالیبراسیون و موارد عدم انطباق و اقدامات اصلاحی و سرویس دستگاه.

**(12) منابع**

1. مهری علی اصغر پور، مهناز صارمی، راهنمای نگهداشت تجهیزات آزمایشگاهی، انتشارات سازمان بهداشت جهانی، ویرایش دوم (2008).
2. دستورالعمل فني فور، اتوكلاو و انكوباتور. آزمایشگاه مرجع سلامت. وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشكي. تابستان1396.
3. A Guide to Biosafety & Biological Safety Cabinets, ESCO. World Class. Worldwide.
4. ISO 15189:2022: Medical laboratories — Requirements for quality and competence. Edition 4, 2022.