



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran

سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران

۳۰۰۱-۲

تجدید نظر دوم

۱۳۹۳

INSO

3001-2

2nd.Revision

2014

سترونی وسایل پزشکی-آزمون سترونی
قسمت ۲: روش صافی غشایی

**Sterilization of medical devices-Test of sterility
Part 2:Filtration method**

ICS:11.080.01 ; 07.100.10

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

نام موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب یکصد و پنجاه و دومین جلسه شورای عالی اداری مورخ ۹۰/۶/۲۹ به سازمان ملی استاندارد ایران تغییر و طی نامه شماره ۲۰۶/۳۵۸۳۸ مورخ ۹۰/۷/۲۴ جهت اجرا ابلاغ شده است.

تدوین استاندارد در حوزه های مختلف در کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف کنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان های دولتی و غیر دولتی حاصل می شود. پیش نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال می شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادها در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان های علاقه مند و ذی صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می کنند در کمیته ملی طرح و بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می شوند که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می دهد به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد (ISO)^۱، کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی های خاص کشور، از آخرین پیشرفت های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین المللی بهره گیری می شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری نماید. سازمان می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمان ها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاه ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) و سایر سنجش، سازمان ملی استاندارد ایران این گونه سازمان ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن ها اعطا و بر عملکرد آن ها نظارت می کند. ترویج دستگاه بین المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) و سایر سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1- International Organization for Standardization

2 - International Electrotechnical Commission

3- International Organization of Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legale)

4 - Contact point

5 - Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد
«سترونی وسایل پزشکی-آزمون سترونی قسمت ۲: روش صافی غشایی»
(تجدید نظر دوم)

رئیس:

مختاری ، فهیم دخت
(فوق لیسانس ایمونولوژی)

دبیر:

داورزنی ، ساره
(لیسانس تغذیه)

اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

ابراهیمی امام ، غلامحسن
(لیسانس صنایع غذایی)

احمدزاده ، مسلم
(لیسانس شیمی)

درویش حیدری ، سیما
(لیسانس میکروبیولوژی)

دوچشمه ، مهدی
(فوق لیسانس مهندسی محیط زیست)

زاهدی نیا ، حمیده
(کاردان علوم آزمایشگاهی)

عطائی کچوئی، سعید
(دکترای ایمونولوژی)

سمت و / یا نمایندگی

پژوهشگاه استاندارد- گروه پژوهشی
بیولوژی

پژوهشگاه استاندارد- گروه پژوهشی
میکروبیولوژی

پژوهشگاه استاندارد- پژوهشکده
غذایی و کشاورزی

شرکت صانع طب

شرکت سها

پژوهشگاه استاندارد - گروه پژوهشی
میکروبیولوژی

پژوهشگاه استاندارد -گروه پژوهشی
میکروبیولوژی

موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی
رازی

انستیتو پاستور ایران

مردی، وحید

(فوق لیسانس مهندسی فرایند)

پژوهشگاه استاندارد- گروه پژوهشی

مهرپور ، رامش

میکروبیولوژی

(لیسانس صنایع-گرایش کنترل کیفیت)

فهرست مندرجات

عنوان	صفحه
آشنایی با سازمان ملی استاندارد	ب
کمیسیون فنی تدوین استاندارد	ج
پیش گفتار	ه
مقدمه	و
۱ هدف و دامنه کاربرد	۱
۲ مراجع الزامی	۱
۳ اصطلاحات و تعاریف	۲
۴ اصول آزمون	۴
۵ مواد	۵
۶ وسایل	۵
۷ شرایط آزمون	۱۰
۸ نمونه برداری	۱۲
۹ حجم نمونه	۱۳
۱۰ روش آزمون	۱۳
۱۱ بررسی نتایج	۱۵
۱۲ تفسیر نتایج	۱۶
پیوست الف (الزامی) روش تهیه سوسپانسیون میکروبی محیط کشت برای آزمون رشد دهنده گی یا قابلیت رشد محیط کشت	۱۷
پیوست ب (اطلاعاتی) نمونه برداری وسایل پزشکی سترون	۲۰

پیش گفتار

استاندارد "سترونی وسایل پزشکی-آزمون سترونی - قسمت ۲: روش صافی غشایی" نخستین بار در سال ۱۳۶۸ تدوین شد. این استاندارد بر اساس پیشنهادهای رسیده و تایید کمیسیونهای مربوط برای دومین بار مورد تجدید نظر قرار گرفت و در سیصد و شصت و پنجمین اجلاس کمیته ملی استاندارد میکروبیولوژی و بیولوژی مورخ ۹۳/۳/۱۷ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می شود. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدید نظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

این استاندارد جایگزین استاندارد ملی ایران شماره ۲-۳۰۰۱ : سال ۱۳۷۷ است.

منابع و مآخذی که برای تهیه این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

- 1- ISO 11737-2:2009 Sterilization of medical device, Microbiological methods -Part 2: Tests of sterility performed in the definition, validation and maintenance of a sterilization process.
- 2- British pharmacopeia, BP, 2013.
- 3- The United States pharmacopeia, USP 35, 2012.

سترونی وسایل پزشکی-آزمون سترونی- قسمت ۲: روش صافی غشایی

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد ارائه روشی برای آزمون سترونی یا تایید سترون بودن وسایل پزشکی با استفاده از روش صافی غشایی می باشد.

این استاندارد برای انواع وسایل پزشکی یکبار مصرف، وسایلی که فقط مسیر عبور مواد در آن ها سترون است و بخصوص وسایلی که دارای فعالیت باکتری ایستائی^۱ / قارچ ایستائی^۲ هستند، کاربرد دارد.

۲ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی ایران به آن ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می شود.

در صورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه ها و تجدید نظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه های بعدی آن ها مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است:

۱-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۵۰۵، ضد عفونی کننده ها و گندزدهای شیمیایی - نگهداری ارگانایسم های آزمون مورد استفاده در تعیین فعالیت باکتری کشی، مایکوباکتریوم کشی، اسپورکشی و قارچ کشی

۲-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۷۶۷، سترونی محصولات پزشکی - واژه نامه

۳-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۰۶۸، میکروبیولوژی - فرآورده های بهداشتی ، آرایشی-راهنمای کلی برای آزمون های میکروبیولوژی

۴-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۶۲۵۲-۱، اتاق های تمیز و محیط های کنترل شده - قسمت اول: طبقه بندی تمیزی هوا

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاحات و یا تعاریف زیر به کار می روند:

یادآوری- اصطلاحات با تعاریف زیر مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۷۶۷ می باشد.

1- Bacteriostatic

2- Fungistatic

۱-۳

سترون^۱

عاری بودن از میکروارگانیسم های قابل رشد است.

۲-۳

سترونی^۲

وضعیت عاری بودن از میکروارگانیسم های قابل رشد است.
یادآوری - در عمل، امکان عدم وجود میکروارگانیسم ها بطور مطلق وجود ندارد.

۳-۳

آزمون سترونی^۳

آزمونی که وجود یا عدم وجود میکروارگانیسم های قابل رویش در فرآورده را، وقتی که در شرایط تعریف شده کشت قرار می گیرد، تعیین می کند.

۴-۳

سترون سازی^۴

فرآیند صحه گذاری شده مورد استفاده برای به دست آوردن محصولی است که عاری از میکروارگانیسم های قابل رشد می باشد.

۵-۳

فرآیند سترون سازی^۵

مجموعه اقدامات متوالی یا عملیات مورد نیاز برای دست یابی به الزامات خاص برای سترونی است.

۶-۳

عامل سترون کننده^۶

-
- 1- Sterile
 - 2- Sterility
 - 3- Test of Sterility
 - 4- Sterilization
 - 5- Sterilization Process
 - 1- Sterilizing agent

یک عامل فیزیکی یا شیمیایی، یا تلفیقی از عواملی که با فعالیت ضد میکروبی کافی برای دست یابی به سترونی تحت شرایط تعریف شده می باشد.

۷-۳

صحه گذاری^۱

روش اجرایی مستند شده برای دست یابی، گزارش دهی و تفسیر نتایج لازم برای تعیین اینکه یک فرآیند بطور پیوسته محصولی مطابق با ویژگی های از پیش تعیین شده ارائه خواهد داد.

۸-۳

سری ساخت^۲

مقدار معینی از محصول با خصوصیت و کیفیت یکسان که در طی یک چرخه تولید معین ساخته شده است.

۹-۳

بهر^۳ محیط کشت

هر محیط کشت با یک سری ساخت و تاریخ تولید یکسان را گویند.

۱۰-۳

مادهی خنثی کننده^۴

ماده ای که مانع تأثیر بازدارنده های رشد میکروارگانیسم می گردد.

۱۱-۳

وسایل پزشکی یکبار مصرف^۵

وسایل پزشکی که پس از یکبار مصرف باید دور انداخته شوند و مجددا قابل سترون کردن نیستند.

۱۲-۳

بسته^۶

2- Validation

3- Batch

4- lot

5- Nutralizer

6-Single-use

1- Package

منظور بسته بندی اولیه است که در تماس مستقیم با فرآورده بوده و در واقع اولین لایه محافظ در برابر شرایط خارجی است .

۱۳-۳

آزمایه^۱

نمونه های وارد شده به آزمایشگاه که از یک بهر سترون جهت انجام آزمایش های مختلف برداشته شده است.

۱۴-۳

آزمونه^۲

قسمتی از آزمایه است که از آن برای انجام آزمون استفاده می شود.

۱۵-۳

کنترل شرایط کار

منظور کنترل شرایط و محیط کار از نظر سترونی در مراحل انجام آزمون می باشد.

۱۶-۳

بهر سترونی^۳

منظور از بهر سترونی در این استاندارد، محموله ای با ویژگی های یکسان است که در یک زمان وارد سیستم سترونی می شود .

۱۷-۳

آزمون باکتری ایستائی/قارچ ایستائی

آزمونی که بوسیله میکروارگانیزم های انتخابی، به منظور تشخیص حضور موادی است که از تکثیر این میکروارگانیزم ها در آزمون سترونی جلوگیری می کنند.

۱۸-۳

آزمون رشددهندگی یا قابلیت رشد محیط های کشت^۴

2- Test sample

3- Test portion

4-Sterilization lot

1-Gross Promotion test

آزمونی که به منظور نشان دادن قابلیت یک محیط کشت برای رشد میکروارگانیسم ها انجام می شود.

۱۹-۳

وسيله پزشکی^۱

وسيله پزشکی شامل وسيله، دستگاه، ابزار، ماشین، اسباب، کاشتنی ها، معرف یا کالیبره کننده برون تنی، نرم افزار، مواد خام یا سایر اقلام مرتبطی است که به منظور یک یا چند هدف مشخص زیر، سازنده آن را به صورت تک یا تلفیقی برای انسان به کار می برد. اهداف عبارتند از :

الف- تشخیص، پیشگیری، پایش، درمان یا تسکین بیماری

ب- تشخیص، پیشگیری، پایش، درمان یا تسکین یا ترمیم یک جراحی

پ-تحقیق، جایگزینی، اصلاح یا حمایت از آناتومی یا یک فرآیند فیزیولوژیک

ت- حمایت یا ادامه حیات

ث- کنترل حاملگی

ج- ضد عفونی وسایل پزشکی

چ- فراهم نمودن اطلاعات برای اهداف پزشکی به وسیله بررسی های آزمایشگاهی نمونه های بدن انسان
همچنین شامل آن دسته از وسایلی است که تاثیر اولیه آن ها از طریق روش های داروشناسی، ایمنی شناسی یا متابولیک بر یا در بدن انسان عمل نمی کند اما ممکن است این وسایل با چنین روش هایی اعمال شود.

۴ اصول آزمون

این روش براساس شستشوی آزمون با محلول های شستشو دهنده، فیلتراسیون و سپس انتقال صافی غشایی به محیط های کشت مناسب انجام می شود. محیط کشت تلقیح شده در دما و زمان مناسب گرمخانه گذاری شده، سپس با توجه به محیط های کشت کنترل شرایط کار، بررسی می شوند.

۵ مواد

۱-۵ آب مقطر

آب مقطر مورد استفاده باید به طور تازه تهیه شده و ویژگی های آن باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۰۶۸ باشد.

یادآوری ۱- در صورتیکه آب مقطر مورد استفاده در طول تهیه محیط های کشت سترون می گردد، نیاز به سترون کردن جداگانه آن نمی باشد.

یادآوری ۲ - در صورتیکه آب مقطر با کیفیت مناسب در دسترس نباشد، می توان از آب مقطر تهیه شده برای مصارف تزریقی استفاده کرد.

۵-۲ محیط‌های کشت و محلول‌ها

۵-۲-۱ کلیات

مواد و محیط‌های کشت مورد استفاده باید دارای درجه خلوص آزمایشگاهی و/یا از نظر میکروبی مناسب بوده و باید عاری از مواد سمی و یا مواد ممانعت کننده رشد ارگانیسم‌های آزمون باشند. در صورت استفاده از محیط‌های کشت آماده تجاری، باید طبق دستورالعمل سازنده تهیه شود. اگر محیط کشت تهیه شده بلافاصله پس از سترون شدن مورد استفاده قرار نمی‌گیرد آن را در دمای $25^{\circ}\text{C} - 2^{\circ}\text{C}$ نگهداری نمایید. در ظرف محیط کشت باید کاملاً بسته باشد تا از نفوذ هوا به داخل آن جلوگیری شود. برای بررسی کارایی محیط‌های کشت، باید برای هر بهر از هر محیط کشت تجاری یا تهیه شده در آزمایشگاه، آزمون رشد دهندگی یا قابلیت رشد طبق بند ۱۰-۲ انجام شود.

۵-۲-۲ محیط کشت فلوئید تیوگلیکولات^۱ (FTG)

محیط کشت فلوئید تیوگلیکولات، محیط کشت انتخابی برای باکتری‌های بی‌هوازی می‌باشد ولی برای بررسی باکتری‌های هوازی نیز به کار می‌رود.

۵-۲-۲-۱ مواد تشکیل دهنده:

نام مواد	مقدار
ال - سیستین ^۲	۰٫۵ g
آگار	۰٫۷۵ g
سدیم کلراید ^۳	۲٫۵ g
گلوکز یک آبه/یا	۵٫۵g
گلوکز بدون آب	۵ g
عصاره مخمر ^۴	۵٫۰ g
کازئین هضم شده پانکراتیک ^۵	۱۵٫۰g
سدیم تیوگلیکولات ^۶ یا	۰٫۵g
اسید تیوگلیکولیک ^۷	۰٫۳ ml

1- Fluid Thioglycollate Medium

2- L-Cystine

3- Sodium chloride

4- Yeast Extract

5- Pancreatic digest of casein

2- Sodium thioglycollate

3- Thioglycolic acid

۱/۰ ml
۱۰۰۰ml

محلول سدیم رسازورین^۱
آب مقطر

روش تهیه:

ال-سیستین، آگار، گلوکز، عصاره مخمر و کازئین هضم شده پانکراتیک را در آب مقطر حل کنید و به آرامی حرارت دهید تا به صورت محلول یکنواختی درآید. سپس تیوگلیکولات سدیم یا تیوگلیکولیک اسید را به محلول اضافه کنید. سپس محلول سدیم رسازورین را به محلول فوق اضافه کنید و محیط کشت را در حالیکه داغ است ضمن همزدن در ظروف مناسب تقسیم کنید به طوری که در هر ظرف نسبت مناسبی بین سطح و عمق برقرار شود که پس از پایان گرمخانه گذاری در ظروف حاوی محیط کشت تغییر رنگ صورتی ناشی از دریافت اکسیژن در بیشتر از نصف ظرف مشاهده نشود. محیط کشت را در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ °C به مدت زمان ۱۵min استرون کنید. pH محیط کشت را به گونه‌ای تنظیم کنید که پس از استرون سازی $7/1 \pm 0/2$ باشد. محیط کشت آماده مصرف شفاف می باشد و باید در صورت امکان تازه تهیه شود پس از اتوکلاو کردن نباید فوراً در یخچال قرار داد، باید اجازه داد تا در دمای اتاق خنک شود تا ورود اکسیژن اتمسفر را به حداقل برساند.

یادآوری- اگر محیط کشت تهیه شده بلا فاصله پس از استرون شدن مورد استفاده قرار نمی گیرند، آن را در دمای ۲۵°C-۲°C نگهداری کنید. در این مدت اگر بیش از یک سوم ارتفاع محیط کشت صورتی رنگ شد می توانید یکبار در حمام آب حرارت دهید که رنگ صورتی از بین برود و بلافاصله به دمای اتاق برسانید. محیط کشت را هیچگاه بیش از یکبار حرارت ندهید.

۳-۲-۵ محلول سدیم رسازورین

۱-۳-۲-۵ مواد تشکیل دهنده:

نام مواد	مقدار
سدیم رسازورین	۱/۰ g
آب مقطر	تأحجم ۱۰۰۰ ml

روش تهیه:

سدیم رسازورین را در آب مقطر حل کرده و به حجم ۱۰۰۰ ml برسانید. محلول سدیم رسازورین باید تازه تهیه شود.

۴-۲-۵ محیط کشت سوی بین کازئین دایجست مایع^۲ (تریپتیک سوی براث^۳ TSB)

محیط کشت سوی بین کازئین دایجست برای رشد قارچها و باکتریهای هوازی مناسب می باشد.

1- Resazurin sodium solution
2- Soybean-casein digest medium
3- Tryptic soy broth

۵-۲-۴-۱ مواد تشکیل دهنده:

نام مواد	مقدار
پپتون از کازئین ^۱	۱۷۰ g
پپتون از سویا ^۲	۳۰ g
سدیم کلراید	۵۰ g
دی پتاسیم هیدروژن فسفات ^۳	۲/۵ g
گلوکز با یک مولکول آب/یا	۲/۵ g
گلوکز بدون آب	۲/۳ g
آب مقطر	۱۰۰۰ ml

روش تهیه:

مواد فوق را در آب مقطر حل کرده و به آرامی حرارت دهید تا به صورت محلول یکنواختی درآید. در صورت لزوم برای شفاف سازی محیط کشت آن را توسط کاغذ صافی مناسب صاف کنید. محیط کشت را در ظروف مناسب تقسیم کرده و در اتوکلاو در دمای °C ۱۲۱ به مدت زمان ۱۵min سترون کنید. pH محیط کشت را به گونه‌ای تنظیم کنید که پس از سترون سازی 7.3 ± 0.2 باشد.

۵-۲-۵ محلول های شستشو دهنده

محلول های شستشودهنده مورد مصرف در روش آزمون صافی غشایی نباید خاصیت ضدباکتریایی یا ضدقارچی داشته باشند.

۵-۲-۵-۱ محلول A^۴

۵-۲-۵-۱-۱ مواد تشکیل دهنده:

نام مواد	مقدار
هضم شده پپتیکی بافت حیوانی ^۵	۱۰ g
آب مقطر	تا حجم ۱۰۰۰ ml

روش تهیه:

-
- 1- Pepton from casein
 - 2- Peptone from soymeal
 - 3- Dibasic potassium phosphate
 - 6- Fluid A
 - 1- Peptic digest of animal issue

ماده فوق را در آب مقطر حل کنید سپس به حجم ۱۰۰۰ml برسانید. در صورت لزوم محلول را سانتریفوژ یا صاف کنید تا شفاف شود. سپس در ظروف مناسب تقسیم کنید و در اتوکلاو با دمای ۱۲۱°C به مدت ۱۵ min استرون کنید. pH را به گونه ای تنظیم کنید که پس از استرون سازی $7/1 \pm 0/2$ باشد.

۵-۲-۵-۲ محلول D^۱

در مواردی که نمونه مورد آزمون حاوی لسیتین یا روغن باشد و یا برای وسایلی که مسیر عبور مواد در آن ها باید استرون باشد از این محلول استفاده می شود.

۵-۲-۵-۲-۱ مواد تشکیل دهنده:

نام مواد	مقدار
پلی اکسی اتیلن سوربیتان منوولئات (پلی سوربات ۸۰) ^۲	۱/۰ g
محلول A	۱۰۰۰ ml

روش تهیه

پلی سوربات ۸۰ را در محلول A حل کنید و سپس pH آن را روی $7/1 \pm 0/2$ تنظیم کرده و در ظروف مناسب تقسیم کنید و در اتوکلاو با دمای ۱۲۱°C به مدت ۱۵ min استرون کنید.

۵-۲-۵-۳ محلول K^۳

۵-۲-۵-۳-۱ مواد تشکیل دهنده:

نام مواد	مقدار
هضم شده پپتیکی بافت حیوانی	۵/۰ g
عصاره گوشت ^۴	۳/۰ g
پلی سوربات ۸۰	۱۰/۰ g
آب مقطر	تا حجم ۱۰۰۰ ml

روش تهیه:

مواد فوق را در آب مقطر حل کنید و به حجم ۱۰۰۰ml برسانید. در صورت داشتن کدورت آن را صاف کنید سپس در ظروف مناسب تقسیم کرده و در اتوکلاو با دمای ۱۲۱°C به مدت ۱۵ min استرون کنید. pH را به گونه ای تنظیم کنید که پس از استرون سازی $6/9 \pm 0/2$ باشد.

2- Fluid D

3- Polyoxyethylene sorbitan monooleate

4- Fluid K

5- Beef extract

۶ وسایل

از وسایل معمول در آزمایشگاه میکروبیولوژی مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۰۶۸ و همچنین وسایل زیر استفاده کنید:

- ۱-۶ تجهیزات فیلتراسیون شامل: کیف شیشه ای یا استیل مخصوص صاف کردن، گیره نگهدارنده، ارلن مایر تخلیه و لوله های وصل شونده به پمپ خلاء
- ۲-۶ صافی غشایی با قطر منافذ حداکثر ۰/۴۵ میکرومتر
- ۳-۶ پمپ خلاء
- ۴-۶ اتوکلاو، قابل تنظیم در دمای $121^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ برای سترون سازی با حرارت مرطوب
- ۵-۶ فور، قابل تنظیم در دمای 160°C تا 180°C برای سترون سازی با حرارت خشک
- ۶-۶ گرمخانه، قابل تنظیم در دمای $32 \pm 2^{\circ}\text{C}$ - 35°C
- ۷-۶ گرمخانه، قابل تنظیم در دمای $22/5 \pm 2/5^{\circ}\text{C}$ - 25°C
- ۸-۶ pH متر، با دقت $\pm 0/1$ واحد pH در دمای 20°C
- ۹-۶ بطری در پیچدار با حجم مناسب
- ۱۰-۶ ارلن و وسایل شیشه ای
- ۱۱-۶ قیچی
- ۱۲-۶ پنس

۷ شرایط آزمون

۱-۷ کلیات

آزمون سترونی باید در شرایط آسپتیک انجام شود که شامل کنترل شرایط محیطی، کنترل شرایط کار و شرایط کارکنان می باشد.

۲-۷ شرایط محیطی

به علت حساس بودن روش کار و پراکنده بودن میکروارگانیسم ها در همه جا آزمون باید در شرایطی انجام شود که سبب ایجاد پاسخ های کاذب نشود. آزمون کنترل سترونی باید در محیطی که از سایر مکان های آزمایشگاه جدا است انجام شود. این محیط باید مختص آزمون های سترونی بوده و هیچ آزمون دیگری در آن انجام نشود. هوای اتاقک کشت باید توسط قرار دادن چند پلیت حاوی محیط های کشت مناسب برای رشد باکتری ها و قارچ ها به صورت در باز در نقاط مختلف آن به مدت زمان ۱۵min پایش شود. پس از گرمخانه گذاری پلیت ها در دمای 30°C - 35°C به مدت ۳ روز برای باکتری ها و 20°C - 25°C به مدت ۵ روز برای قارچ ها، رشد بیش از یک کلنی در هر پلیت، نشان دهنده عدم انطباق شرایط محیطی بوده و در صورت مشاهده رشد در نتایج آزمون سترونی، آزمون باید تکرار شود.

۳-۷ شرایط کار

به منظور فراهم کردن شرایط مناسب برای آزمون سترونی باید از اتاقک کشت سترون مجهز به جریان هوای لایه‌ای^۱ با طبقه تمیزی ISIRI طبقه ۲ یا معادل آن استفاده شود.

برای کنترل شرایط کار باید هم‌زمان با هر آزمون، یک ظرف از هر محیط کشت را به عنوان کنترل به صورت در باز در محلی که آزمون انجام می‌شود قرار داده و سپس طبق شرایط آزمون سترونی از نظر دما و زمان، گرمخانه‌گذاری کرده و سپس بررسی کنید. هیچگونه رشدی نباید در محیط‌ها مشاهده شود. مشاهده کدورت ناشی از رشد در ظروف کنترل، نشان دهنده عدم انطباق شرایط کار بوده و آزمون باید تکرار شود.

یادآوری- به منظور تأمین شرایط مناسب، اتاقک باید در محیطی قرار گیرد که شرایط لازم برای طبقه تمیزی ISIRI طبقه ۲ مربوطه را فراهم کند.

۴-۷ شرایط کارکنان

به دلیل اینکه آزمون سترونی از حساسیت زیادی برخوردار است کوچکترین تماسی با اجسام آلوده می‌تواند در نتیجه بدست آمده اختلال ایجاد کند. کارکنان باید از ماسک و دستکش سترون استفاده نمایند و موها نیز با پوشش مناسب پوشانده شود.

۸ نمونه برداری

نمونه دریافت شده توسط آزمایشگاه باید نمایانگر واقعی فرآورده باشد و هنگام حمل و نقل و نگهداری آسیب ندیده باشد. نمونه برداری باید با مستندات مناسب و خاصی انجام شود (طبق پیوست ب).

۹ حجم آزمونه

حجم نمونه باید متناسب با حجم محیط کشت مورد استفاده باشد. مقدار آن باید کمتر از ۱۰٪ حجم محیط کشت باشد. برای تهیه آزمونه از نمونه‌های مختلف به ترتیب زیر عمل کنید :

۹-۱ وسایل سترون سلولزی

از سه نقطه مختلف هر بسته در شرایط آسپتیک قطعاتی به اندازه 10 cm^2 برای هر ظرف محیط کشت جدا کنید از نمونه‌هایی که به صورت تکی بسته بندی شده اند در صورت کوچک بودن نمونه ($75\text{ mm} \times 25\text{ mm}$)، تمام قطعه را بردارید.

۹-۲ نخ های جراحی

برای هر ظرف محیط کشت از پنج نخ استفاده کنید. در صورتیکه نخ ها به صورت چند تایی بسته بندی شده باشند، باید هر نخ از بسته جداگانه انتخاب شود.

۹-۳ وسایل تزریقی سترون و سایر وسایل

این بند مربوط به وسایلی است که از یک یا چند قطعه تشکیل شده اند. برای محصولاتی با اندازه و شکل مناسب که غوطه ور شدن آن ها در حداقل ۱۰۰ ml محلول شستشو دهنده امکان پذیر است، تمام نمونه و در غیر اینصورت قطعاتی از نمونه را که سترون شدن آن ها مشکل تر از بقیه قسمت ها می باشد را انتخاب کنید. در صورت امکان بهتر است قطعاتی از داخلی ترین قسمت های نمونه را در شرایط عاری از میکروب جدا کنید.

۱۰ روش آزمون

۱۰-۱ مناسب بودن^۱ آزمون سترونی

به منظور اعتبار بخشی به نتایج آزمون سترونی، باید آزمون ها طبق بندهای ۱۰-۱-۱ تا ۱۰-۱-۵ انجام شود. در صورت مغایرت، نتایج آزمون سترونی نامعتبر محسوب می شود.

۱۰-۱-۱ آزمون تایید سترونی محیط های کشت

همزمان با هر آزمون سترونی، باید آزمون تایید سترونی محیط های کشت نیز انجام شود. برای این منظور، یک ظرف از هر محیط کشت را پس از سترون کردن، طبق شرایط آزمون سترونی (طبق بند ۱۱) گرمخانه گذاری کنید. پس از پایان مدت گرمخانه گذاری، هیچ گونه رشدی نباید مشاهده شود.

۱۰-۱-۲ آزمون تایید سترونی محلول های شستشو دهنده

مقدار مناسبی از محلول های شستشو دهنده (حدود ۱۰ ml) را در محیط های کشت فلوئید تیوگلیکولات و سوی بین کازئین دایجست مایع منتقل کنید و سپس طبق آزمون سترونی از نظر دما و زمان گرمخانه گذاری کنید. پس از پایان مدت گرمخانه گذاری هیچ گونه رشدی نباید مشاهده شود.

۱۰-۱-۳ آزمون تایید سترونی صافی ها

به منظور کنترل سترونی صافی ها، یک صافی را به وسیله تیغ سترون بریده، نصف آن را در محیط کشت فلوئید تیوگلیکولات و نصف دیگر را در محیط کشت سوی بین کازئین دایجست غوطه ور کنید و سپس طبق آزمون سترونی از نظر دما و زمان گرمخانه گذاری کنید. پس از پایان مدت گرمخانه گذاری هیچ گونه رشدی نباید مشاهده شود.

۱۰-۱-۴ آزمون رشد دهندگی یا قابلیت رشد محیط‌های کشت

آزمون رشد دهندگی یا قابلیت رشد باید در مورد هر بهر از محیط‌های کشت مورد استفاده و سویه های خاص آن طبق جدول شماره ۱ و پیوست الف انجام شود. سویه‌ها باید مطابق دستورالعمل تامین کننده آن و یا استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۵۰۵ نگهداری و تهیه شوند. مشخصات سویه و نیز روش نگهداری آن باید در آزمایشگاه ثبت شود.

برای این منظور ظروف حاوی محلول های شستشو دهنده را با سوسپانسیونی حاوی حداکثر 100 cfu میکروارگانیسم تلقیح کرده و سپس با شرایط آزمون فیلتر کنید و صافی غشایی را در محیط های کشت مناسب غوطه‌ور کنید و طبق آزمون سترونی از نظر دما و زمان گرمخانه‌گذاری کنید.

۱۰-۱-۴-۱ بررسی نتایج

در صورتیکه رشد میکروبی در تمام ظروف تلقیح مشاهده شود، محیط مورد استفاده برای آزمون سترونی کارایی لازم را دارد. این آزمون باید قبل از آزمون سترونی انجام شود.

یادآوری ۱- اگر آزمون رشد دهندگی یا قابلیت رشد همزمان با آزمون سترونی انجام شود، ولی پس از پایان مدت گرمخانه‌گذاری رشد میکروبی مشاهده نشود، نتایج آزمون سترونی فاقد اعتبار خواهد بود.

یادآوری ۲- برای آماده سازی سویه‌های مورد استفاده جهت آزمون رشد دهندگی یا قابلیت رشد از استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۵۰۵ استفاده کنید.

یادآوری ۳- نسبت حجم سوسپانسیون تلقیح به محیط کشت نباید بیش از ۱٪ - ۰/۵٪ باشد.

جدول ۱- سویه های میکروارگانیسم های مناسب برای استفاده در آزمون رشد دهندگی یا قابلیت رشد محیط کشت و
 صحنه گذاری

گرمخانه گذاری			محیط کشت	میکروارگانیسم	
مدت	شرایط	دما			
حداکثر ۳ روز	هوازی	۳۰°C-۳۵°C	فلوئید تیوگلیکولات تیوگلیکولات مایع	استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ¹ 6538, CIP ² 4.83, NCTC ³ 10788, NCIMB ⁴ 9518, NBRC ⁵ 13276	باکتری های هوازی
				باسیلوس سوبتیلیس ATCC 6633, CIP 52.62, NCIMB8054, NBRC 3134	
				سودوموناس آئروژینوزا ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275	
حداکثر ۳ روز	بی هوازی	۳۰°C-۳۵°C	فلوئید تیوگلیکولات	کلستریدیوم اسپروژنز ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532 or ATCC 11437, NBRC 14293	باکتری بی هوازی
حداکثر ۵ روز	هوازی	۲۰°C-۲۵°C	سوی بین کارژین دایجست مایع	کاندیدا آلبیکنس ATCC 10231, IP ⁶ 48.72, NCPF 3179, NBRC 1594	قارچ ها
				آسپرژیلوس نایجر ATCC 16404, IP 143.83, IMI 149007, NBRC 9455	

۱۰-۱-۵ آزمون باکتری ایستایی و قارچ ایستایی نمونه

-
- 1- ATCC : American Type Culture Collection
 2- CIP : Collection de l'Institut Pasteur
 3- NCTC : National Collection of Type Cultures
 4- NCIMB : National Collection of Industrial Marine Bacteria
 5- NBRC : NITE Biological Resource Center, JP
 6- IP : Institut Pasteur

فعالیت باکتری ایستائی و یا قارچ ایستائی نمونه مورد آزمون، به وسیله این آزمون قابل بررسی است. این آزمون باید قبل از انجام آزمون سترونی یا همزمان با آن به منظور بررسی مناسب بودن روش آزمون برای نمونه مورد نظر انجام شود. اگر آزمون مناسب بودن همزمان با آزمون سترونی انجام شود، ولی پس از پایان مدت گرمخانه گذاری رشد میکروبی مشاهده نشود، نتایج آزمون سترونی فاقد اعتبار خواهد بود.

برای انجام آزمون، از میکروارگانیسم‌ها و شرایط گرمخانه گذاری ذکر شده در جدول شماره ۱ استفاده کنید. پس به محلول حاصل از شستشوی نمونه سوسپانسیونی حاوی حداکثر 100 cfu میکروارگانیسم تلقیح شده (طبق جدول شماره ۱ و پیوست الف) اضافه کرده و فیلتر کنید سپس صافی غشایی مورد نظر را در محیط های کشت مناسب غوطه‌ور کنید و سپس در شرایط مناسب (طبق جدول شماره ۱) برای باکتری‌ها حداکثر سه روز و برای قارچ‌ها حداکثر پنج روز گرمخانه گذاری کنید.

پس از پایان مدت گرمخانه گذاری باید رشد میکروارگانیسم‌ها در ظرف حاوی محلول شستشو و سوسپانسیون میکروبی مشاهده شود، در صورت عدم رشد، نمونه دارای فعالیت ضد میکروبی است و نتایج آزمون سترونی فاقد اعتبار است. اگر شرایط آزمون و نمونه‌ها تغییر نکرده باشد، انجام آزمون مناسب بودن روش در هر بار آزمون سترونی ضرورت ندارد.

یادآوری- از آزمون رشد دهندگی یا قابلیت رشد محیط کشت طبق بند ۱۰-۱-۲ به عنوان کنترل مثبت استفاده کنید.

۱۰-۲ روش صافی غشایی

نمونه را با 100 ml از محلول های شستشو دهنده مناسب شستشو دهید سپس روی صافی غشایی $0/45$ میکرومتر صاف کنید. صافی های غشایی را به کمک پنس و در شرایط سترون از وسایل نگهدارنده فیلتراسیون جدا کرده، یکی از صافی های غشایی را در 100 ml محیط کشت سوی بین کازئین دایجست مایع و صافی غشایی دیگر را در 100 ml محیط کشت فلوئید تیوگلیکولات غوطه‌ور کنید. در صورت استفاده از یک صافی غشایی آن را به کمک تیغ سترون نصف کرده و هر نیمه را در محیط‌های کشت فلوئید تیوگلیکولات و سوی بین کازئین دایجست غوطه‌ور کنید.

محیط کشت فلوئید تیوگلیکولات را در دمای 35°C - 30°C و محیط کشت سوی بین کازئین دایجست مایع را در دمای 25°C - 20°C به مدت زمان ۱۴ روز گرمخانه گذاری کنید.

۱۱ بررسی نتایج

در طول مدت زمان گرمخانه گذاری و پس از آن محیط کشت حاوی صافی غشایی را از نظر رشد میکروبی قابل مشاهده بررسی کنید.

اگر پس از پایان زمان گرمخانه گذاری کدورت مشاهده نشود نمونه مطابق با آزمون سترونی است. اگر پس از پایان زمان گرمخانه گذاری کدورت مشاهده شود نمونه مغایر با آزمون سترونی است.

اگر پس از پایان زمان گرمخانه‌گذاری میزان کدورت مشاهده شده در محیط کشت به گونه ای باشد که وجود یا عدم وجود رشد میکروبی با بررسی ظاهری امکان پذیر نباشد برای تایید آن از روش زیر استفاده کنید:
حداقل ۱ ml از محیط کشت دارای کدورت را به ظرف جدید از همان محیط کشت منتقل کنید و حداقل به مدت ۴ روز طبق شرایط آزمون سترونی گرمخانه‌گذاری کنید.

در صورتیکه رشد میکروبی مشاهده نشود نمونه مطابق با آزمون سترونی می باشد.
در صورتیکه رشد میکروبی مشاهده شود نمونه مغایر با آزمون سترونی می باشد مگر اینکه به وضوح نشان داده شود که موارد غیر مرتبط به نمونه آزمون شده نامعتبر بوده است

آزمون نامعتبر در نظر گرفته می شود اگر یک مورد یا بیشتر موارد زیر را شامل شود:

الف- مشاهده عدم انطباق در مناسب بودن آزمون سترونی (طبق بند ۱۰-۱)

ب- مشاهده عدم انطباق در آزمون‌های بررسی شرایط (طبق بند ۷)

در صورتیکه آزمون نامعتبر گزارش شود تکرار آزمون را با همان تعداد آزمون انجام دهید. اگر رشد میکروبی تایید نشد نمونه مطابق با آزمون سترونی است. اگر رشد میکروبی تایید شود، نمونه مغایر با آزمون سترونی است.

۱۲ تفسیر نتایج

نتایج بدست آمده باید به صورت زیر تفسیر می شود:

الف - عدم رشد در محیط کشت فلوئید تیوگلیکولات

باکتری‌های هوازی منفی

باکتری‌های بی هوازی منفی

ب - عدم رشد در محیط کشت سوی بین کازئین دایجست مایع

قارچ‌ها منفی

پیوست الف

(الزامی)

روش تهیه سوسپانسیون میکروبی محیط کشت برای آزمون رشد دهندگی یا قابلیت رشد محیط کشت

الف-۱ محیط‌های کشت و محلول‌ها

الف-۱-۱ کلیات

مواد و محیط‌های کشت مورد استفاده باید دارای درجه خلوص آزمایشگاهی و/یا از نظر میکروبی مناسب بوده و باید عاری از مواد سمی و یا مواد ممانعت کننده رشد ارگانیسم‌های آزمون باشند. در صورت استفاده از محیط‌های کشت آماده تجاری، باید طبق دستورالعمل سازنده تهیه شود.

الف-۱-۲ محیط کشت سوی بین کازئین دایجست^۱ مایع (تریپتیک سوی برات^۲ TSB)

الف-۱-۲-۱ مواد تشکیل دهنده:

نام مواد	مقدار
پپتون از کازئین ^۳	۱۷٫۰ g
پپتون از سویا ^۴	۳٫۰ g
سدیم کلراید	۵٫۰ g
دی پتاسیم هیدروژن فسفات ^۵	۲٫۵ g
گلوکز یک آبه/گلوکز بدون آب	۲٫۵g/ ۲٫۳ g
آب مقطر	۱۰۰۰ ml

روش تهیه:

-
- 1- Soybean-casein digest medium
 - 2- Tryptic soy broth
 - 3- Pepton from casein
 - 4- Peptone from soymeal
 - 5- Dibasic potassium phosphate

مواد فوق را در آب مقطر حل کرده و به آرامی حرارت دهید تا به صورت محلول یکنواختی درآید. در صورت لزوم برای شفاف سازی محیط کشت آن را توسط کاغذ صافی مناسب صاف کنید. محیط کشت را در ظروف مناسب تقسیم کرده و در اتوکلاو در دمای 121°C به مدت زمان ۱۵min سترون کنید. pH محیط کشت را به گونه‌ای تنظیم کنید که پس از سترون سازی 7.3 ± 0.2 باشد.

الف-۱-۳ تریتون سوی آگار^۱ (TSA)

الف-۱-۳-۱ مواد تشکیل دهنده:

نام مواد	مقدار
پپتون از کازیئن	۱۵۰ g
پپتون از سویا	۵۰ g
سدیم کلراید	۵۰ g
آگار	۱۵۰ g
آب مقطر	۱۰۰۰ ml

روش تهیه:

مواد بالا را با استفاده از حرارت همراه با هم زدن، در آب مقطر حل کرده و در اتوکلاو سترون کنید. pH محیط کشت را به گونه‌ای تنظیم کنید که پس از سترون سازی برابر 7.3 ± 0.1 در دمای $1^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ باشد.

الف-۲ تهیه سوسپانسیون میکروبی

الف-۲-۱ کشت های کاری میکروارگانیزم آزمون

به منظور تهیه کشت کاری میکروارگانیزم های آزمون یک کشت خطی از کشت ذخیره آن با استفاده از لوله های حاوی محیط کشت تریتون سویا آگار به شکل شیبدار یا پلیت های حاوی این محیط کشت تهیه و گرمخانه گذاری کنید. پس از ۱۸h تا ۲۴h گرمخانه گذاری، کشت دومی از این محیط کشت را به همین روش تهیه کرده و به مدت زمان ۱۸h تا ۲۴h گرمخانه گذاری کنید. از این کشت دوم، به همین روش می توان کشت سوم را تهیه کرد. از کشت های دوم و سوم به عنوان کشت کاری استفاده کنید.

اگر تهیه کشت کاری دوم، در زمان مورد نظر (۱۸h تا ۲۴h) امکان پذیر نمی باشد، می توان برای تهیه کشت های کاری بعدی، از کشت ۴۸ ساعته هم استفاده کرد مشروط بر اینکه کشت ذکر شده در طول این مدت (۴۸ h) در گرمخانه قرار گرفته باشد.

هیچ گاه کشت کاری چهارم را تهیه و استفاده نکنید.

الف-۲-۲ سوسپانسیون آزمون

الف-۲-۲-۱ با استفاده از یک حلقه کشت سترون، باکتری های کشت بند ۱-۲ را به داخل مقادیر کمی از تریپتون سوی براث منتقل کنید. اطمینان حاصل کنید که باکتری های آزمون به طور یکنواخت منتشر شده اند.

الف-۲-۲-۲ تعداد سلولهای زنده سوسپانسیون باکتریایی را در 10^8 تا 5×10^8 واحد تشکیل دهنده کلنی (CFU) در هر میلی لیتر رقیق کننده تنظیم کنید. تعداد واحد تشکیل دهنده کلنی را با یک روش مناسب تخمین بزنید. این سوسپانسیون را در مدت دو ساعت استفاده کنید.

یادآوری- برای تنظیم سلول های میکروارگانیسم ها ، استفاده از اسپکتروفتومتر (با طول موج ۶۲۰ nm) توصیه می شود. روش کلرومتری روش جایگزین مناسبی می باشد.

الف-۲-۲-۳ به منظور شمارش سوسپانسیون باکتری مورد آزمون، یک میلی لیتر از سوسپانسیون بند ۲-۲-۲ را به صورت دوتایی بردارید و هر میلی لیتر را در پلیت های جداگانه ریخته و ۱۲ تا ۱۵ میلی لیتر محیط کشت تریپتون سویا آگار را که ذوب شده و تا دمای 45°C خنک شده است به آن اضافه کنید. پلیت ها را به مدت ۱۸h تا ۲۴h در دمای $32^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ گرمخانه گذاری کنید.

پیوست ب

(اطلاعاتی)

نمونه برداری وسایل پزشکی سترون

حداقل تعداد محصول مورد نظر برای آزمون با توجه به تعداد محصولات در هر بهر سترون

تعداد محصولات در هر بهر سترون بر حسب بسته بندی	حداقل تعداد آزمایش برای هر محیط کشت (مگر در مواردی غیر از این مجوز یا توجیه داشته باشد)	حداقل تعداد آزمون برای هر محیط کشت (مگر در مواردی غیر از این مجوز یا توجیه داشته باشد)
کمتر از ۱۰۰ محصول	۲٪ یا ۴ جعبه	کل وسیله پزشکی
بیشتر از ۱۰۰ و کمتر از ۵۰۰ محصول	۱۰ جعبه	
بیشتر از ۵۰۰ محصول	۱۰٪ یا ۴ جعبه	
لباس جراحی، باند و گاز	۲٪ یا ۵ بسته (حداکثر ۲۰ بسته)	به ازای هر بسته ۱۰۰mg
نخ بخیه یکبار مصرف که به طور مجزا بسته بندی شده اند		کل وسیله پزشکی
نخ بخیه کت گوت و سایر نخ های بخیه جراحی مخصوص دامپزشکی		

کتابنامه

- ۱- استاندارد ملی ایران شماره ۸۶۶۳-۲، میکروبیولوژی خوراک انسان و دام-راهنمای آماده سازی و تولید محیط های کشت- قسمت دوم -راهنمای عملی برای آزمون محیط های کشت
- ۲- استاندارد ملی ایران شماره ۳۰۰۱-۱، سترونی وسایل پزشکی-آزمون سترونی- قسمت ۱: روش مستقیم