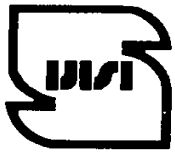
ISIRI
10140
1 st. Edition

جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران
Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران
۱۰۱۴۰
چاپ اول

اپتیک و تجهیزات اپتیکی - فرآورده های مراقبت کننده از لنزهای تماسی- الزامات میکروبیولوژی وروشهای آزمون برای فرآورده ها و مقررات مدیریت بهداشتی لنزهای تماسی

Optics and optical instruments - Contact lens care products- Microbiological requirements and test methods for products and regimens for hygienic management of contact lenses

نشانی مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران : کرج ـ شهر صنعتی، صندوق پستی ۱۶۳-۳۱۵۸۵

دفتر مرکزی : تهران ـ ضلع جنوبی میدان ونک، صندوق پستی ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵

تلفن مؤسسه در کرج : ۸-۲۸۰۶۰۳۱-۰۲۶۱

تلفن مؤسسه در تهران : ۵-۸۸۷۹۴۶۱-۰۲۱

دورنگار : کرج ۲۸۰۸۱۱۴-۰۲۶۱ ـ تهران ۸۸۸۷۱۰۳ - ۸۸۸۷۰۸۰ – ۰۲۱

بخش فروش ـ تلفن : ۲۸۰۷۰۴۵-۰۲۶۱ دورنگار: ۲۸۰۷۰۴۵-۰۲۶۱

پیام نگار: Standard @ isiri.or.ir

بهاء : ۱۶۲۵ ریال

Headquarters: **Institute Of Standards And Industrial Research Of Iran**

P.O.Box: **31585-163 Karaj-IRAN**

Tel: **0098 261 2806031-8**

Fax: **0098 261 2808114**

Central Office: **Southern corner of Vanak square, Tehran**

P.O.Box: **14155-6139 Tehran-IRAN**

Tel: **009821 8879461-5**

Fax: **0098 21 8887080, 8887103**

Email: **Standard @ isiri.or.ir**

Price: **3750 RLS**

«بسمه تعالی»

آشنایی با مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات موسسه استاندارد 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.

تدوین استاندارد در حوزه های مختلف در کمیسیون فنی مرکب از کارشناسان موسسه*، صاحب نظران مراکز و موسسات علمی، پژوهشی تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود 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 تولید کنندگان، مصرف کنندگان، صادر کنندگان و واردکنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان-های دولتی و غیردولتی حاصل می‌شود. پیش نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون‌های فنی مربوط ارسال می‌شود 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 می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که موسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیر با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند در کمیته ملی طرح و بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که موسسه استاندارد تشکیل می‌دهد به تصویب رسیده باشد.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد (ISO)[1]، کمیسیون بین‌المللی الکترونیک (IEC)[2] و سازمان بین‌المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)[3] است و به عنوان تنها رابط[4] کمیسیون کدکس غذایی (CAC)[5] در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندیهای خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی 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. موسسه می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمان‌ها و موسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، موسسه استاندارد این گونه سازمان-ها و موسسات را بر اساس ضوابط نظام تایید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تایید صلاحیت به آنها اعطا و بر عملکرد آنها نظارت می-کند. ترویج دستگاه بین‌المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این موسسه است.

---

* موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

[1] - International Organization for Standardization
[2] - International Electrotechnical Commission
[3] - International Organization for Legal Metrology (Organization International de Metrologie Legal)
[4] - Contact Point
[5] - Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

"اپتیک و تجهیزات اپتیکی - فرآورده های مراقبت کننده ازلنزهای تماسی – الزامات میکروبیولوژی و روشهای آزمون برای فرآورده ها و مقررات مدیریت بهداشتی لنزهای تماسی"

رییس :	**سمت و/ یانمایندگی**
بهروان ، جواد (**phD** بیوتکنولوژی)	دانشیار دانشگاه علوم پزشکی مشهد
دبیر:	
عباسی ، فاطمه (لیسانس بیولوژی – شیمی)	اداره کل استاندارد وتحقیقات صنعتی استان خراسان رضوی
اعضا :	
احمدی ، حمیده (فوق لیسانس شیمی)	اداره کل استاندارد وتحقیقات صنعتی استان خراسان جنوبی
توحیدی مقدم ، نرگس (لیسانس بینایی سنجی)	کلینیک اپتومتری
رضایی مکرم ، عالیه (لیسانس میکروبیولوژی)	موسسه تحقیقات رازی
رمضانیان ، محبوبه (لیسانس میکروبیولوژی)	مشاور آزاد
سمیعی مقدم ، زهره (دکترای داروسازی)	آزمایشگاه کنترل غذا ودارو دانشگاه علوم پزشکی مشهد
عباسی ، صغری (دکترای عمومی پزشکی)	اداره کل استاندارد وتحقیقات صنعتی استان خراسان رضوی
علیجانی گنجارودی ، محسن (متخصص چشم پزشکی)	دانشگاه علوم پزشکی مشهد
مختاری ، فهیم دخت (فوق لیسانس ایمونولوژیی)	گروه پژوهشی میکروبیولوژی موسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران

فهرست مندرجات

عنوان	صفحه
۱ پیش گفتار	و
۲ هدف	۱
۳ دامنه کاربرد	۱
۴ مراجع الزامی	۱
۵ اصطلاحات وتعاریف	۲
۶ اساس روش	۲
۷ الزامات عملکردی	۵
۸ روش های آزمایش	۸
۹ پیوست الف (اطلاعاتی) ارگانیسم ها ومو سسات وکلکسیونهای کشت	۱۹
۱۰ پیوست ب (اطلاعاتی) مثال از روش فیلتر غشائی	۲۱
۱۱ پیوست پ (اطلاعاتی) گزارش تخصصی آزمایش ویروس	۲۳
۱۲ پیوست ت (اطلاعاتی) گزارش تخصصی آزمایش آمیب	۲۴
۱۳ پیوست ث (اطلاعاتی) گزارش تخصصی اشکهای مصنوعی	۲۵
۱۴ مراجع	۲۷

پیشگفتار

استاندارد " اپتیک و تجهیزات اپتیکی - فرآورده های مراقبت کننده ازلنزهای تماسی – الزامات میکروبیولوژی و روشهای آزمون برای فرآورده ها و مقررات مدیریت بهداشتی لنزهای تماسی " که پیش نویس آن در کمیسیونهای مربوط توسط موسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران تهیه وتدوین شده ودر یکصدوپنجاه وپنجمین اجلاس کمیته ملی استاندارد مهندسی پزشکی مورخ ۱۳۸۶/۱۰/۲۵ مورد تصویب قرار گرفته است اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر میشود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفتهای ملی و جهانی در زمینه صنایع ، علوم و خدمات استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدیدنظرخواهدشدوهرپیشنهادی که برای اصلاح وتکمیل این استانداردهاارائه شوددرهنگام تجدیدنظردرکمیسیون فنی مربوط موردتوجه قرار خواهدگرفت. بنابراین باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی استفاده کرد .

منبع و ماخذی که برای تهیه این استاندارد بکار رفته به شرح زیر است :

1- ISO 14729 : 2001 , Ophtalmic optic – Contact lens care products- Microbiological requirements and test methods for products and regimens for hygienic management of contact lenses

اپتیک و تجهیزات اپتیکی - فرآورده های مراقبت کننده از لنزهای تماسی – الزامات میکروبیولوژی و روشهای آزمون برای فرآورده ها و مقررات مدیریت بهداشتی لنزهای تماسی

۱ هدف

هدف از تدوین این استانداردتعیین الزامات میکروبیولوژی وروشهای آزمون برای ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی فرآورده های محافظت کننده لنزهای تماسی وضد عفونی کردن لنزهای تماسی با استفاده از روش های شیمیایی و رژیمهای مدیریت بهداشتی لنزهای تماسی می باشد.

۲ دامنه کاربرد

این استاندارد **برای ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی فرآورده هایی که برای ضدعفونی کردن لنزهای تماسی به کار میروند کاربرد دارد که شامل موارد زیر میباشد .**

الف ضد عفونی لنزهای تماسی با استفاده از روشهای شیمیایی .

ب فرآورده هایی که به عنوان بخشی از مراقبت بهداشتی لنز های تماسی مورد استفاده قرار می گیرند.

این استاندارد برای مدیریت بهداشتی لنزهای آزمایشی کاربرد ندارد.

"یاد آوری-" استانداردهای عمومی محصولات ضدعفونی کننده برای فرآورده های مراقبت کننده از لنزهای تماسی قابل استفاده نیست،[1]

۳ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیرحاوی مقرراتی است که در متن این استانداردبه آنها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب ان مقررات جزئی ازاین استاندارد محسوب میشود.

درصورتی که به مدرکی باذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد ، اصلاحیه ها ویا تجدید نظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد نیست.درمورد مدارکی که بدون ذکرتاریخ انتشاربه آنها ارجاع داده شده همواره آخرین تجدید نظرواصلاحیه های بعدی آنها مورد نظراست.

۱

1- EN 1275: 1997 , EN 1040: 1997

استفاده از مراجع زیربرای این استاندارد الزامی است .

ISO 8320-1:-1) Contact lenses and contact lens car products-Vocabulary-Part 1:Contact lenses .

ISO 8320-2:-1) Contact lenses and contact lens car products-Vocabulary-Part 2:Contact lenses car Products .

۴ اصطلاحات وتعاریف :

علاوه بر تعاریف داده شده دراستاندارد ایزو ۸۳۲۰ دراین استانداردتعاریف زیرنیز به کار می‌رود.

۴-۱ فرآورده ضدعفونی کننده لنزهای تماسی

فرآورده ای است که فعالیت کشندگی [1] (کشتن ، تخریب یا غیر فعال کردن میکروارگانیسم ها) داشته وفقط معیارهای اولیه آزمایش مستقل راکه در این استاندارد مشخص شده برآورده می کند

۴- ۲ رژیم ضدعفونی کنندۀ لنزهای تماسی

مقرراتی است که به منظور مراقبت از لنز تماسی طراحی شده تا هم معیارهای ثانویۀ آزمایش مستقل و هم آزمایش رژیم را به گونه‌ای که در این استاندارد مشخص شده، برآورده سازد.

۴-۳ ضدعفونی کردن لنزهای تماسی

فرایند شیمیایی یا فیزیکی است که به منظورکاهش تعداد میکروارگانیسم‌های قادر به زیست [2] به گونه ای که در بخش های مربوط به الزامات عملکرد این استانداردمشخص شده است ، به کار می رود .

۵ اساس روش

۵-۱ کلیات

آزمایش مستقل: به منظور بررسی کیفی محلولها یی که به عنوان فرآورده های ضدعفونی لنز تماسی طراحی شده اند ودارای فعالیت ضدمیکروبی مناسب هستند، به کار می رود .

آزمایش رژیم: برای بررسی کیفی محلولهایی که به عنوان بخشی از فرآیند ضدعفونی کردن لنز تماسی طراحی شده اند به کار می رود

. فرآورده هایی که معیارهای آزمایش رژیم را داراباشند باید حداقل الزامات عملکردی آزمایش مستقل را نیز داشته باشند. ضروری است که اینگونه فرآورده ها (ظروف باز نشده) باید توانایی برآورده کردن الزامات آزمایش را در تمام دورۀ تاریخ مصرف که بر روی فرآورده درج شده داشته باشند.[1]

1- Cidal
2- Viable microorganisms

همانگونه که در شکل یک توضیح داده شده است، مراقبت کننده های لنز تماسی که دارای خصوصیات و ویژگی‌های ضدعفونی کنندگی هستند باید ابتدا بااستفاده از آزمایش مستقل موردآزمون قرار گیرند. اگر معیارهای اولیهٔ مربوط برآورده شوند "به بند ۶-۱ مراجعه کنید "، فرآورده را می‌توان به عنوان فرآورده ضدعفونی کنندهٔ لنزهای تماسی برچسب گذاری نمود. اگر فرآورده معیارهای اولیهٔ آزمایش مستقل رابدست نیاورد، این فرآورده باید فعالیت ضدمیکروبی کافی از خود نشان دهد تا معیارهای ثانویه آزمایش مستقل را که در بند ۶-۲ مشخص شده است برآورده سازد.

اگر این معیارهای ثانویه برآورده شد، باید به منظور بررسی کیفی فرآورده به عنوان بخشی ازیک رژیم ضدعفونی کردن لنزهای تماسی وبرآورده شدن معیارهای رژیم آزمایش مربوط به رژیم انجام شود "به بند۶-۳ مراجعه کنید" .

اگر فرآورده هم معیارهای ثانویهٔ آزمایش مستقل و هم آزمایش رژیم را به دست آورد، اما معیارهای اولیهٔ آزمایش مستقل رانداشت، باید به عنوان بخشی از رژیم ضدعفونی کردن لنز تماسی برچسب گذاری شود.

درطراحی فرآورده های مراقبت کننده لنز تماسی که برای تمیز و ضدعفونی نمودن لنزهای تماسی استفاده می شود باید قابلیت پذیرش بیمارواحتمال عدم تطبیق فرآورده با بیمارنیزمد نظر قرارگیرد . به طور مثال، زمان ضدعفونی کردن باید مناسب با زمان استفاده از لنز تماسی باشد.

"یادآوری-" استفاده از آزمایش های مواجهه میکروبی مخلوط یا چندتایی می‌تواند بر فعالیت ظاهری یک فرآورده ضدعفونی کننده خاص تأثیر داشته باشد. ارزیابی این متغیرها همراه با آزمون بااستفاده از طیف وسیعتری از میکرواورگانیسم ها و آزمایش نمونه‌هایی از ظروفی که مقداری از آنها استفاده شده است، می‌تواند در ساختن فرآورده مراقبت کننده لنز تماسی مفید و ارزشمند باشد اما از دامنه کابرد این استاندارد خارج است. "به پیوست‌های ت و پ مراجعه کنید"

۵-۲ آزمایش مستقل (آزمایش مواجهه با تلقیح میکروبی):

درآزمایش مستقل، یک فرآورده ضد عفونی کننده با ماده تلقیحی استانداردی که حاوی طیفی از میکروارگانیسم های شاخص است مواجه شده و میزان از بین رفتن میکرواگانیسم ها در فواصل زمانی مشخص، مشابه با فواصل زمانی استفاده از فرآورده ضدعفونی کننده لنز تماسی تعیین می شود .

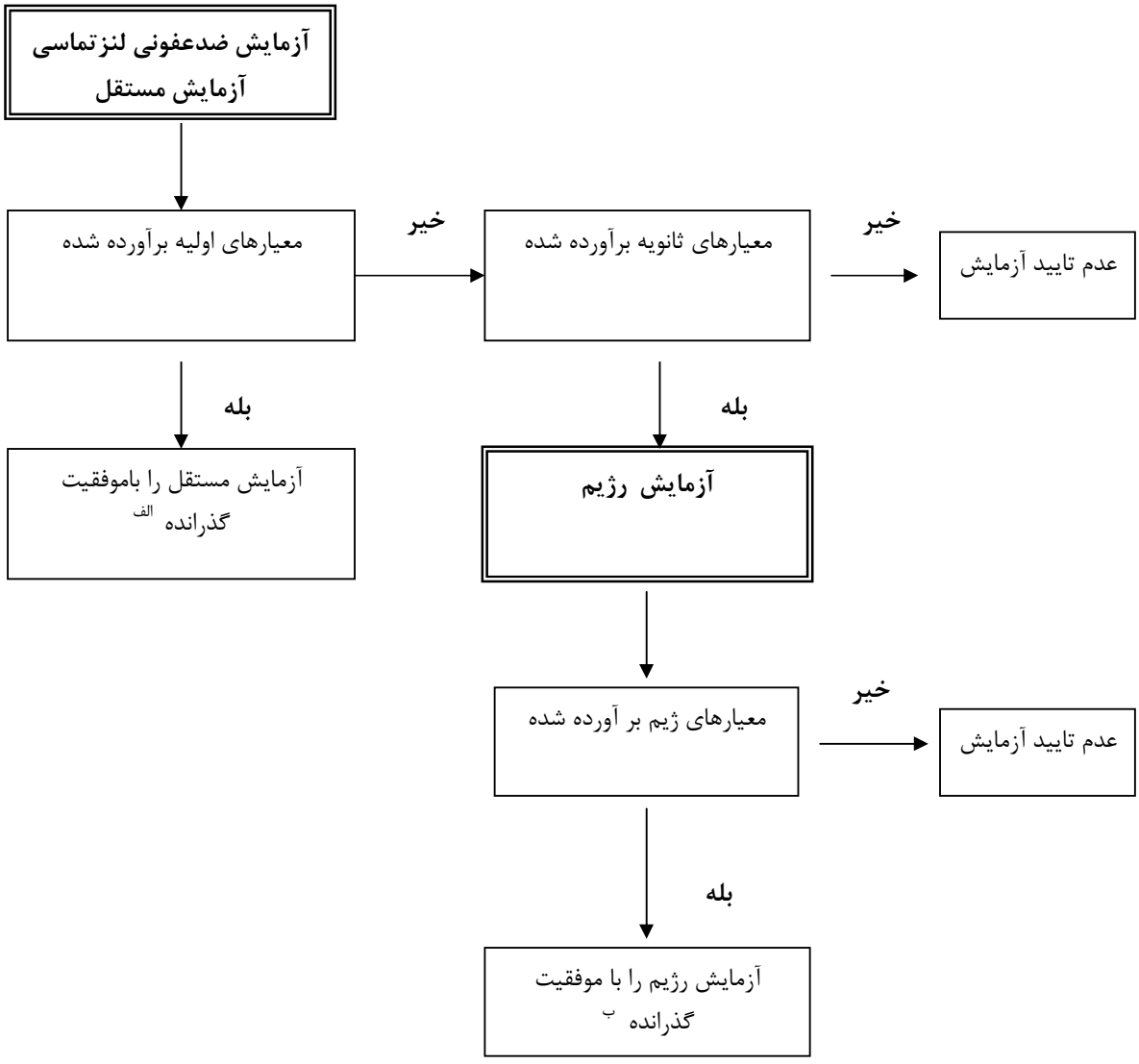
تعداد ونوع میکرو ارگانیسم های انتخاب شده برای آزمون مواجهه نمایانگرتعداد ونوع میکروارگانیسم هایی که درشرایط واقعی در فرآورده وجود دارند نیست اما تعداد قابل شمارشی را فراهم می‌کند که از طریق آن می‌توان مقیاس و میزان از بین رفتن میکروارگانیسم ها را تخمین زد.

در هنگام آزمایش فعالیت ضدمیکروبی، محتوای کیفی و کمی فرآورده باید یا توسط آزمایشهای تحلیلی یا با استفاده از شواهد موجودمشخص شده باشد.

اقدامات مناسبی بایدبرای غیر فعال کردن یا حذف باقیمانده مواد ضد میکروبی در حین کشت انجام شودتادر شمارش ارگانیسم هایی که پس از مواجهه باقی مانده اند ،اختلال ایجاد نشود . کارایی وموثر بودن این اقدامات باید صحه گذاری شود . عملی بودن این فرایند در طول آزمایش بایدبا استفاده از کنترل‌های مناسب نشان داده شود.

"یادآوری- " برای کسب اطلاع در مورد آزمایش ویروس، "به پیوست پ مراجعه کنید" و برای آزمایش آمیب (آکانتاموبا)، " به پیوست ت مراجعه کنید".

شکل ۱ - فلوچارت آزمایش مستقل و آزمایش رژیم:



الف _ فرآورده را می‌توان فرآورده ضدعفونی کنندهٔ لنزهای تماسی نامگذاری کرد.

ب _ فرآورده را باید به عنوان بخشی ازرژیم ضدعفونی کنندهٔ لنز تماسی نامگذاری کرد.

۵-۳ آزمایش رژیم:

آزمایشی است که درآن یک رژیم ضدعفونی کنندهٔ چندمنظوره با یک سوسپانسیون تلقیحی استاندارد که حاوی طیفی از میکرواورگانیسم های شاخص است مواجه شده و میزان از بین رفتن میکروارگانیسم ها را در فواصل زمانی مشخص و از پیش تعیین شده، اندازه‌گیری می‌شود، تلقیح درطی فرآیندرژیم بر روی یک لنز تماسی انجام می‌شود.

این روش در مورد رژیم ضدعفونی کنندهٔ چند منظوره که شامل مراحل تمیز کردن، شستن و خیساندن هستند قابل استفاده است. هنگام انجام روش آزمایش رژیم، فرآورده ها به روش و میزان توصیه شده در دستورالعمل درج شده بر روی برچسب فرآورده ویا نسخه بیمار ، استفاده می‌شوند.

مرحلهٔ ضدعفونی هر رژیم ضدعفونی کنندهٔ لنز تماسی که با این آزمایش ارزیابی شده است باید حداقل الزامات آزمایش مستقل را که در شکل یک توضیح داده شده، احراز کند. فقط فرآورده هایی که حداقل الزامات عملکردی آزمایش مستقل را به دست آورده‌اند می‌توانند به عنوان جزئی از یک رژیم ضدعفونی کننده لنز تماسی مورد استفاده قرار گیرند.

در هنگام آزمایش، محتوای کمی و کیفی همهٔ فرآورده هایی که در آزمایش رژیم استفاده شده است بایددرزمان آزمایش یا بوسیلهٔ آزمایش های تحلیلی یا با استفاده از شواهد موجود مشخص شده باشد.

اقدامات مناسبی بایدبرای غیر فعال کردن یا حذف باقیمانده مواد ضد میکروبی در حین کشت انجام شودتادر شمارش ارگانیسم هایی که پس از مواجهه باقی مانده اند ،اختلال ایجاد نشود . کارایی وموثر بودن این اقدامات باید صحه گذاری شود . عملی بودن این فرایند در طول آزمایش بایدبا استفاده از کنترل‌های مناسب نشان داده شود.

"یادآوری -" برای مسائل مربوط به لنزهایی که توسط انسان استفاده می‌شود، به پیوست ث مراجعه کنید .

۶ الزامات عملکردی :

۶ – ۱ آزمایش مستقل: معیارهای اولیه " به جدول ۱ مراجعه کنید"

۶-۱-۱ باکتری‌ها

در حداقل زمان توصیه شده برای خیساندن تعداد هریک از ارگانیسم های مورد استفاده در آزمون مواجهه پس از بازیابی بازای هر میلی لیتر باید حد اقل ۹۹/۹درصد (۳واحد لگاریتم) کاهش یابد.

"یادآوری - " این میزان با میانگین گرفتن از کاهش لوگاریتمی هریک ازارگانیسم های مورد استفاده در هر سری تولید آزمون شده تعیین می‌شود.

۶-۱-۲ کپک‌ها و مخمرها

در حداقل زمان توصیه شده برای خیساندن تعداد هریک از ارگانیسم های مورد استفاده د رآزمون مواجهه پس از بازیابی به ازای هر میلی لیتر باید حداقل ۹۰درصد (۱ واحد لگاریتم) کاهش یابد و درچهار برابرحداقل زمان توصیه شده برای خیساندن با خطای آزمایشی ۰/۵ ± واحدلگاریتم افزایش نیابد.

"یاد آوری -" این میزان با میانگین گرفتن از کاهش لوگاریتمی هریک از ارگانیسم های مورد استفاده در هر سری تولیدآزمون شده تعیین می‌شود.

۶-۲ آزمایش مستقل: معیارهای ثانویه " به جدول ۱ مراجعه کنید"

فرآورده هایی که معیارهای بند ۶-۱-۱ و۶-۱-۲ رابدست نیاورده اند باید با روش آزمایش رژیم که در بند۷-۴ گفته شده ارزیابی گردند، به شرط اینکه در مدت زمان توصیه شده برای خیساندن، مجموع میانگین‌ها، برای ۳ گونه باکتری حداقل ۵ واحد لوگاریتم و برای هر باکتری حداقل میانگین یک واحد لوگاریتم کاهش داشته باشد. توقف رشد مخمرها و کپکها باید برای مدت زمان توصیه شده برای خیساندن در محدودهٔ خطای آزمایش معادل ۰/۵ ± واحد لگاریتم مشاهده شود.

۶-۳ آزمایش رژیم: معیارهای رژیم " به جدول ۱ مراجعه کنید"

برای هر گونهٔ میکروبی، میانگین شمارش میکروارگانیسم های بازیابی شده (برای همهٔ سری های آزمایش شده) نباید بیش از(cfu) 10^1 برای هرنوع لنزو ترکیب محلول نگهداری لنز باشد.

داده های حاصل از بیش از یک نوع لنز نباید بایکدیگر مخلوط شده وبرای محاسبه میانگین مورد استفاده قرار گیرد .

"یادآوری- " وقتی که یک رژیم فرآورده مراقبت از لنز، که برای یک نوع لنز استفاده می‌شود، مورد بررسی قرار می گیرد. میانگین تعداد شمارش شده برای هر گونه، نیازمند میانگین گرفتن از اطلاعات حاصل از۲۴ لنز از یک نوع است. وقتی رژیم فرآورده مراقبت از لنزکه برای بیش از یک نوع لنزاستفاده می شود، تحت بررسی قرار می‌گیرد، میانگین شمارش برای هر گونه با توجه به نوع لنز به میانگین‌گیری از اطلاعات ۱۲ لنز از هر نوع لنزنیاز دارد. برای تعداد لنزهایی که باید استفاده شود به جدول ۴ مراجعه نمایید.

۱

۱- واحد تشکیل دهنده کلنی (Colony Forming Unit)

جدول شماره ۱_ خلاصه معیارهاو روشهای اجرایی مورد نیاز برای مراحل ضدعفونی لنز تماسی

آزمایش	میانگین کاهش لگاریتم در زمان خیساندن				
	قارچ‌ها		باکتری‌ها		
	فوزاریوم(FS) [a]	***کاندیدا (CA)*** [a]	***سراتیا (SM)*** [a]	***پسودوموناس(PA)*** [a]	***استا ف (SA)*** [a]
آزمایش مستقل: معیارهای اولیه	۱	۱	۳	۳	۳
آزمایش مستقل: معیارهای ثانویه	ب	ب	ج	ج	ج
آزمایش رژیم: معیارهای رژیم د	≈ ۴تا۵	≈ ۴تا۵	≈ ۴تا۵	≈ ۴تا۵	≈ ۴تا۵

a

PA= P. aeruginosa ATCC 9027
SA= S. aureus ATCC 6538
SM= S. marcescens ATCC 13880
CA= C. albicans ATCC 10231
FS= F. solani ATCC 36031

ب توقف رشددر زمان خیساندن

ج حداقل کاهش لوگاریتمی ، مورد قبول برای هر ۳ باکتری که ترکیب شده‌اند ۵ می‌باشد. حداقل کاهش لوگاریتمی موردقبول برای یک نوع باکتری یک میباشد

د معادل میانگین کمتر از cfu ۱۰ برای هرنوع لنز و ترکیب محلول نگهداری لنز

۷ روشهای آزمایش

۷-۱ مواد و واکنش گرها

مواد و واکنش گرهای مورد استفاده (ارگانیسم‌های آزمایش، محیط های کشت و واکنش گرها، تجهیزات و نمونه‌ها) هم در روش آزمایش مستقل برای فرآورده های ضدعفونی کننده و هم روش رژیم برای ضدعفونی کردن لنز تماسی مشترک می‌باشند.

۷-۱-۱ ارگانیسم‌های آزمایشی

گونه‌هایی که در جدول ۲ آمده است باید مورد استفاده قرار گیرند.

"یادآوری- " ارگانیسم‌های آزمایش ازدیگر مجموعه‌های کشت که می‌توان از آنها استفاده کرد در پیوست الف آمده است **.**

جدول شماره ۲_ ارگانیسم‌های آزمایش

Pseudomonas aeruginosa	ATCC 9027	PTCC 1074
Staphylococcus aureus	ATCC 6538	PTCC 1337
Seratia marcescens	ATCC 13880	PTCC 1621
Cadnida albicans	ATCC 10231	PTCC 5027
Fusarium solani	ATCC 36031	PTCC 5284-5285

۷-۱-۲ محیط‌های کشت و واکنش گرها

۷-۱-۲-۱ پوتیتو دکستروز آگار Potato dextrose agar (PDA)

۷-۱-۲-۲ تریپتون سویا آگار Tryptone soya agar (TSA)

۷-۱-۲-۳ سابورد دکستروز آگار Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

۷-۱-۲-۴ Dulbecco's Phosphate Buffered Saline **بدون کلرید کلسیم و کلرید منیزیم** (DPBS) . **شامل ترکیبات زیر**

کلسیم کلراید KCl **۲۰۰میلیگرم درلیتر**

دی هیدروژت پتاسیم فسفات KH_2PO_4 **۲۰۰ میلیگرم درلیتر**

سدیم کلراید $NaCl$ **۸۰۰۰ میلیگرم درلیتر**

دی سدیم هیدروژن فسفات $Na_2HPO_4 .7H_2O$ **۲۱۶۰ میلیگرم درلیتر**

ویا رقیق کننده مناسب دیگر .

۷-۱-۲-۵ Dulbecco's Phosphate buffered Saline به اضافه ۰/۰۵ درصد (حجم/جرم) از پلی سوربات ۸۰ (Polysorbate) (DPBST) یا رقیق کنندهٔ مناسب دیگر.

۷-۱-۲-۶ معرف ها یا محیط‌های خنثی کنندهٔ معتبر مورد نیاز مانند

Dey-Engley Neutralising Broth (DEB) و Letheen Broth [1]

۷-۱-۳ وسایل مورد نیاز

تجهیزات آزمایشگاهی متداول زیر مورد نیاز است.

۷-۱-۳-۱ پیپت های سترون

۷-۱-۳-۲ سوآب [2]

۷-۱-۳-۳ لوله آزمایش

۷-۱-۳-۴ پلیت (باقطر۹۰ تا ۱۰۰ میلی‌متروارتفاع ۲۰میلیمتر)

۷-۱-۳-۵ انکوباتور

۷-۱-۳-۶ طیف‌سنج برای مشخص کردن دانسیته سلولی [3]

۷-۱-۳-۷ دستگاه شمارش کلنی

۷-۱-۳-۸ سانتریفوژ

۷-۱-۴ نمونه‌های آزمایشی

فرآورده ا ی که مورد آزمون قرار می گیرد باید نماینده محصولی باشد که به فروش میرود. نمونه‌ها باید مستقیماً از ظرف نهایی فرآورده، دقیقاً قبل از انجام آزمایش، برداشته شوند.

سه سری از فرآورده باید آزمون شود. هر سری از فرآورده باید با تهیه مادهٔ تلقیحی جداگانه‌ای برای هر ارگانیسم مورد استفاده آزمایش گردد.

۷-۱-۵ نگهداری کشت

کشت‌های آزمایشی را مطابق دستور العمل توصیه شده مرکز گردآوی کشت مربوط نگهداری کنید.

کشت ها را نباید بیشتر از ۵ بار از کشت های ذخیره [1] پاساژ (کشت)داد . هر پاساژ یک زیرکشت از پاساژ قبلی است.

۱- Dey-Engley Neutralising Broth (DEB) , Letheen Broth نمونه‌هايي از معرفها ومحيط های خنثی کننده مناسب هستند که در بازار موجود مي‌باشند. اين اطلاعات براي راحتي استفاده کنندگان اين استاندارد داده شده است و تأييدي را از جانب اين استاندارد براي اين فرآورده به همراه نمي‌آورد.

2- Swabs

3- Spectrometer

۲-۷ تهیه و آماده‌سازی مواجهه میکروبی (مادهٔ تلقیحی)

روش تهیه میکروارگانیسم‌های آزمایشی (مادهٔ تلقیحی) هم برای آزمایش مستقل برای فرآورده هـای ضـدعفونی کننده و هم برای آزمایش رژیم برای ضدعفونی لنز تماسی، یکسان می‌باشد.

در آزمایش رژیم برای ضدعفونی لنز تماسی، خاک ارگانیک [۲] می تواند قسمتی از مادهٔ تلقیحی باشد. "به پیوست ث مراجعه کنید."

هر ارگانیسم مورداستفاده در آزمون را روی آگار شیبدار[۳] مطابق شرایط شرح داده شده در جدول ۳ کشت دهید.

[۱]

جدول شماره ۳_ محیط‌های کشت و شرایط گرم خانه گذاری برای رشدمیکروارگانیسم‌ها

ارگانیسم	محیط کشت	دما درجه سلسیوس	مدت زمان کشت
پسودوموناس آئروژینوزا *P.aeruginosa*	تریپتون سویا آگار TSA	۳۰تا ۳۵	۱۸تا۲۴ساعت
استافیلو کوکوس اورئوس *S.aureus*	تریپتون سویا آگار TSA	۳۰ تا ۳۵	۱۸ تا۲۴ساعت
سراتیا مارسسنز *S.marcescens*	تریپتون سویا آگار TSA	۳۰ تا ۳۵	۱۸تا۲۴ساعت
کاندیدا آلبیکنز *C.albicanx* یا کاندیدا آلبیکنس *C.albicans*	سابورد دکستروز آگار SDA	۲۰ تا ۲۵	۴۲ تا ۴۸ ساعت
	سابورد دکستروز آگار SDA	۳۰ تا ۳۵	۱۸ تا ۲۴ ساعت
فوزاریوم سولانی *F.solani*	پوتیتو دکستروز آگار PDA	۲۰ تا ۲۵	۱۰ تا ۱۴ روز

۱- کشت های ذخیره را می توان از کلکسیون های میکروبی معتبر دنیا مثل NCPF, NCTC, NCIB, ATCC تهیه کرد برای کسب اطلاعات بیشتر درمورد سایر کلکسیون ها ی میکروبی به "پیوست الف مراجعه کنید".

2- Organic Soil

3- Agar Slopes

برای برداشت هر کشت از DPBST سترون یا رقیق کنندهٔ مناسب استفاده کنید، رشد سطحی رابشویید، حاصل را به یک ظرف مناسب ورتکس[1] منتقل کنید. سوسپانسیون فوزاریوم سولانی را از پشم شیشهٔ سترون، کتان یا گاز عبور دهید تا ریسه ها جداشوند.

پس از برداشت، ارگانیسم‌های کشت شده را می‌توان با استفاده از سانتریفوژ کردن شستشو داد.

سوسپانسیون‌های باکتریایی را می‌توان صاف کرد (به عنوان مثال بااستفاده ازصافی های سترون باقطر منافذ ۳ تا ۵ میکرومتر) تاپراکندگی سلولی یکنواختی ایجاد شود ، سپس همه سوسپانسیونهای سلولی مورد آزمایش را بارقیق کننده مناسب به غلظتی بین۱×۱۰^{۷}cfu/ml و ۱×۱۰^{۸}cfu/ml برسانید .

غلظت تقریبی سلولی هر سوسپانسیون را بااندازه گیری میزان کدورت سوسپانسیون یا رقت های تهیه شده ازسوسپانسیون رابا استفاده ازاسپکترو فتومترتخمین بزنید .غلظت واقعی بر اساس تعداد کلنی های ایجاد شده درمیلی لیتر هر سوسپانسیون را در زمان آزمایش با استفاده از روش شمارش پرگنه مشخص کنید.

چنانچه از سانتریفوژ استفاده شود، هر سانتریفوژ کردن باید در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس حداکثر به مدت۱۰دقیقه در g×۴۰۰۰ یا کمتر انجام شود .سانتریفوژ کردن را به مدت طولانی تر می توان درسرعت پایین تر انجام داد.

سوسپانسیون‌های سلولی مخمری و باکتریایی راروزانه تهیه کرده و مورداستفاده قراردهید. سوسپانسیون‌های هاگی را می‌توان تا ۷ روز بعد از تهیه در صورتی که در یخچال دردمای ۲ تا ۸ درجه سلسیوس نگهداری شوند ، مورد استفاده قرارداد.

۳-۷[1] روش مستقل

۱-۳-۷ روش آزمایش مادهٔ تلقیحی

۱-۱-۳-۷ برای هر سری محصول مورد آزمایش به ازای هر ارگانیسم آزمایش یک یا چند لوله حاوی حداقل ۱۰میلی لیتراز محلول فرآورده مورد آزمون آماده کنید.

"یادآوری-" برای انجام موثرترآزمون از لحاظ فنی توصیه می گردد بجای استفاده از ظروف لنز آزمون در لوله انجام شود . از آنجا که ممکن است ناسازگاری‌هایی بین مواد تشکیل دهندهٔ محلول و جنس لوله وجود داشته باشد، بایداز لوله‌هایی باجنس مناسب و سازگاربامحتویات استفاده کرد.

به لوله محتوی ماده ضد عفونی کننده ، سوسپانسیون ارگانیسمهای آزمون را طوری تنظیم کنید که غلظت نهایی ارگانیسم بین ۱×۱۰^{۵} cfu/ml و ۱×۱۰^{۶} cfu/ml شود اطمینان حاصل کنید که حجم ماده تلقیحی از یک درصد حجم نمونه بیشتر نشود . ماده تلقیحی را خوب تکان دهید تا کاملا" پخش شود.

۲-۱-۳-۷ فرآورده تلقیح شده را در دمای ۲۰تا ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری کنید. دما باید با استفاده از دماسنج مناسب کنترل و ثبت شود.

1- vortex

اگر فرآورده به نور حساس است، باید از آن در طول دورهٔ آزمایش مراقبت‌های لازم به عمل آید.

۷-۳-۱-۳ مقادیر یک میلی لیتر از فرآورده تلقیح شده را برای تعیین میزان میکروارگانیسم های قادر به زیست بردارید. زمانهای نمونه گیری باید براساس حداقل زمان توصیه شده برای ضدعفونی تمام میکروارگانیسم‌ها ،۲۵ ، ۵۰ ، ۷۵ و ۱۰۰ درصد این زمان باشد .بعلاوه، این زمان کمتر از ۴۰۰درصد حداقل زمان ضدعفونی توصیه شده برای مخمرها و کپک‌ها نباشد. اگر ضدعفونی لنز تماسی برای یک شب توصیه شده است، میزان خیساندن باید ۸ ساعت باشد.

۷-۳-۱-۴ مقادیر یک میلی لیتری برداشته شده در فواصل زمانی تعیین شده‌را در محیط های کشت مناسب حاوی مواد خنثی کنندهٔ بریزید. به نحوی که سری رقت های اعشاری مورد نیاز بدست آید . سوسپانسیون را با ورتکس کردن به صورت شدید، خوب تکان دهید و آن را ثابت قرار دهید تا فرایند خنثی سازی کامل گردد. شرایط خنثی‌سازی باید براساس آزمون کنترل محیط کشت مورد استفاده برای بازیابی انتخابی باشد . " به بند ۷-۳-۲-۲ مراجعه کنید."

چنانچه یک عامل ضدمیکروبی درفرمولاسیون را نتوان به اندازهٔ کافی غیرفعال یا خنثی کرد، آن را با استفاده از یک روش فیلتراسیون غشایی صحه گذاری شده حذف کنید. "به پیوست ب مراجعه کنید . "

۷-۳-۱-۵ تعداد میکروارگانیسم‌های قادر به زیست رابا اضافه کردن رقت های مناسب به صورت سه تایی (مگر شرایطی که غیر از این تعیین شده باشد) به یک محیط کشت مناسب (به عنوان مثال تریپتون سویا آگار (TSA) برای باکتری‌ها وسابورد دکستروز آگار (SDA) برای کپک‌ها و مخمرها تعیین کنید.

اگر ازفیلتر غشایی برای جداسازی یا خنثی کردن عوامل ضدمیکروبی استفاده شده است، صافی ها را به طور مناسب روی این محیطهای کشت قراردهید.

چنانچه از روش پور پلیت استفاده می‌شود، آگار را قبل از ریختن درپلیت در دمای زیر ۵۰ درجه سلسیوس نگهداری کنید.

درصورت لزوم می توان از محیط کشت آگارداری که حاوی غیرفعال کننده‌ها یا خنثی کننده‌ها باشد استفاده کرد.

۷-۳-۱-۶ پلیت های رشدباکتری را در دمای ۳۰تا ۳۵ درجه سلسیوس ،پلیت های رشد مخمر را در دمای ۲۰تا۲۵ یا ۳۰تا۳۵درجه سلسیوس وپلیت های رشد کپک رادردمای ۲۰تا۲۵درجه سلسیوس درگرمخانه نگهداری کنید. بهترین زمان کشت باید برای رشد باکتری‌ها، مخمرها و کپک ها مشخص شود. حداقل زمان کشت باید براساس آزمایش کنترل محیط کشت باشد "به بند ۷-۳-۲مراجعه کنید ". تعداد cfu مشاهده شده روی پلیت های قابل شمارش را ثبت کنید.

"یاد آوری-" پلیت ها باید مرتباً در طول کشت بررسی گردد تا از بوجود آمدن پلیت های غیر قابل شمارش ، در اثر رشد بی‌رویه، جلوگیری شود.

۷-۳-۱-۷ میانگین تعداد cfu تشکیل شده در پلیت های قابل شمارش رامشخص کنید. کاهش میکروبی را در زمان‌های مشخص شده محاسبه کنید.

"یاد آوری- " پلیت های قابل شمارش بین ۳۰ cfu/plate تا ۳۰۰ cfu/plate برای باکتری‌ها و مخمرها و ۸cfu/plate تا ۸۰cfu/plate برای کپک‌هامیباشد ، به جز مواقعی که کلنی‌ها تنها دررقتهای 10^{-1} یا 10^{0} مشاهده شوند.

۷-۳-۱-۸ عدم رشد میکروارگانیسم‌ها را باید ثبت کرد، به عنوان مثال با ثبت یک "O" یا "NR" (بدون رشد) در زمانی که همه رقتهای تهیه شده از یک نمونه در یک نقطه زمانی، اصلاً کلنی نداشته باشد (تعداد صفر کلنی)گزارش شود.

۷-۳-۲ کنترل‌ها

۷-۳-۲-۱ کنترل ماده تلقیحی

حجم معینی ازماده تلقیحی را به درون همان حجم از رقیق کننده مناسب که دربند۷-۳-۱-۱ استفاده شده(مثلاً DPBST) تزریق کنید تا غلظت نهایی 1×10^{5} cfu/ml تا 1×10^{6}cfu/ml به دست آید. اطمینان حاصل کنید که حجم مادهٔ تلقیحی از یک درصد حجم نمونه بیشتر نباشد. دقت کنید که گسترش و انتشار ماده تلقیحی با تکان دادن به میزان کافی انجام شود. این نمونه را در ابتدای آزمایش براساس cfu/ml ارزیابی کنید تا مناسب بودن محیط کشت مورد استفاده برای رشد میکروارگانیسم آزمایش مشخص گردد و تخمینی از غلظت ماده تلقیحی اولیه به دست آید. میزان مناسبی از هر لوله را به صورت سه تایی (مگر شرایطی که غیر از این تعیین شده باشد) به محیط کشت مورد استفاده برای بازیابی تلقیح کنید .

۷-۳-۲-۲ کنترل محیط کشت مورد استفاده بری بازیابی

مایع ضدعفونی کننده را در محلول خنثی کنندهٔ موردتائید به نسبت ۱/۱۰رقیق کرده (۱ میلی‌لیتر در۹میلی لیتر)و ورتکس کنید. سپس آن را ثابت قرار دهید تا خنثی شدن کامل شود. لولهٔ کنترل دوم را با ۱۰میلی لیتراز یک رقیق کنندهٔ مناسب (مثلاً DPBST) تهیه کنید. لوله‌ها را با میزان کافی از ماده تلقیحی پر کنید تا ۱۰cfu/ml تا ۱۰۰cfu/ml از میکروارگانیسم آزمایشی به ازاء هر پلیت به دست آید. میکروارگانیسم‌های تلقیح شده را برای مدت زمان مناسبی در یک دمای فراگیر در گرمخانه نگه دارید، اما این زمان آنقدر زیاد نباشد که باعث تکثیر بیش از حدمیکرو ارگانیسم‌های تلقیح شده گردد. مقدار مناسبی از هر لوله را به صورت سه تایی (مگر شرایطی که غیر از این تعیین شده باشد) به محیط آکار مورد استفاده برای بازیابی تلقیح کنید.

پلیت های رشد باکتری را در دمای ۳۰ تا ۳۵ درجه سلسیوس، پلیت های رشد مخمر را دردمای ۲۰تا ۲۵ درجه سلسیوس یا ۳۰ تا ۳۵ درجه سلسیوس وپلیت های رشد کپکها را در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس در گرمخانه نگهدارید. مینیمم زمان نگهداری در گرمخانه را برای رشد مطلوب باکتری‌ها، مخمرها و کپکها تعیین کنید.

بررسی کنید که رشد در محلول خنثی کننده حداقل ۵۰درصد از رشد در لوله کنترل دوم باشد. این کنترل را برای هر میکروارگانیسم آزمایش باید انجام داد.

چنانچه برای خنثی سازی، رقیق شدن به میزان بیشتر ازرقت ۱/۱۰ مورد نیاز است، باید از فیلتر غشایی استفاده شود.

خنثی‌سازی فرآورده را با هر میکروارگانیسم آزمایش در ابتدا و به طور مناسب ثابت کنید.

۷-۳-۲-۳ خصوصیات کنترل

چنانچه معیارهای کنترلی، خارج از مقداری است که تعیین گردیده است، فرآیند را دوباره تکرار کنید زیرا آزمایش مربوط معتبر نیست.

۷-۳-۳ گزارش آزمایش

گزارش آزمایش باید شامل موارد زیر باشد:

۷-۳-۳-۱ مشخصات فرآورده

۷-۳-۳-۲ نام فرآورده

۷-۳-۳-۳ شماره سری تولید

۷-۳-۳-۴ تاریخ تولید (به روز وماه وسال)

۷-۳-۳-۵ تاریخ انقضاء قابلیت مصرف (به روز وماه وسال)

۷-۳-۳-۶ نام ونشانی تولید کننده

۷-۳-۳-۷ شرایط نگهداری

۷-۳-۳-۸ مواد فعال و غلظت آنها

۷-۳-۳-۹ نام آزمایش کننده

۷-۳-۳-۱۰ انحراف ازدستور کار

۷-۳-۳-۱۱ مدت زمان گرمخانه گذاری

۷-۳-۳-۱۲ زمان نگهداری فرآورده

۷-۳-۳-۱۳ نتایج به دست آمده

اگر فرآورده معیارهای اولیهٔ آزمایش مستقل را به دست آورد، می‌تواند به عنوان فرآورده ضدعفونی کنندهٔ لنز تماسی برچسب گذاری شود. اگر فرآورده تنها معیارهای ثانویهٔ آزمایش مستقل و آزمایش رژیم را بدست آورد، باید به عنوان بخشی از یک رژیم ضدعفونی کنندهٔ لنز تماسی برچسب گذاری شود گردد.

۷-۴ آزمایش رژیم

۷-۴-۱ تلقیح لنز

آزمایش را با استفاده از انواع لنزی که به عنوان نمونه لنزهایی است که درآزمایش رژیم ازآن استفاده خواهد شد مانند لنزهای یونی با میزا ن هیدروفیلیک بالا [1]، غیر یونی با میزان هیدرو فیلیک پایین [2] و آکریلیت سیلیکون [3]. [1] و غیره انجام دهید. در این آزمایش بایداز لنزهای مصرف نشده استفاده کرد.

1- high water ionic
2- low water[1] non- ionic
3- Silicone acrylat

وقتی که که یک رژیم فرآورده مراقبتی لنز با یک نوع لنز بررسی می‌شود، تلقیح ۸عدد لنز برای هر گونهٔ میکروبی به ازاء هرسری محصول مراقبتی کافی خواهد بود، درنتیجه به آزمون ۲۴ عددلنز در هر دستورالعمل برای هر گونه نیازاست.

وقتی که یک رژیم فرآورده مراقبتی لنزبا انواع لنزهای هیدروفیلیک [۱] بررسی می‌گردد، تلقیح چهارعدد لنز از گروه یک (لنزهای غیر یونی با میزان هیدروفیلیک پایین [۲]) و چهارعدد لنز از گروه چهار (لنزهای یونی با میزان هیدروفیلیک متوسط وبالا [۳]) برای هر گونهٔ میکروبی وهرسری محصول آزمایشی کافی خواهدبود، درنتیجه به آزمون ۱۲ عدد از هر نوع لنز، درهردستورالعمل برای هر گونه نیاز است.

علاوه براین انواع لنزهای هیدروفیلیک بیشتری ممکن است آزمایش شود، بهرحال حد اقل چهار عدد از هر نوع لنز برای هر گونه میکروبی درهردستورالعمل باید استفاده گردد.

وقتی که یک رژیم فرآورده مراقبتی لنز با انواع لنزهای غیرهیدروفیلیک [۴] بررسی می گردد،تلقیح چهار عددلنز آکریلیت سیلیکون [۵] و چهارعدد لنز اکریلیت فلوروسیلیکون [۶] برای هرگونه میکروبی و هر سری محصول آزمایشی کافی است در مجموع ۱۲ عدد از هر نوع لنز برای هرگونه میکروبی وهردستورالعمل باید تلقیح شود.

بررسی نمودن یک رژیم فرآورده مراقبتی لنز با همهٔ لنزهای هیدروفیلیک و غیرهیدروفیلیک نیاز به آزمایش با انواع لنزهای هیدروفیلیک گروه ۱ و ۴ و لنزهای غیرهیدروفیلیک سیلیکون آکریلیت و فلوروسیلیکون آکریلیت دارد.

تعداد لنزهای مورد نیاز برای آزمایش در جدول ۴ داده شده است.

لنزهای مورد آزمایش ولنزهای شاهد را به صورتی که سطح مقعر آن به سمت بالا باشد در یک پلیت سترون قرار دهید. مقدار ۰/۱ میلی لیتر از ماده تلقیحی در قسمت زیرین لنز در نقطه تماس بین پلیت و لنز تلقیح کنید. ۰/۱ میلی لیتراز همان ماده تلقیحی رابه طور مستقیم بر روی سطح مقعر لنز تلقیح کنید.

اجازه دهید مادهٔ تلقیحی ظرف مدت زمان ۵ تا ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس جذب لنزشود.

۱

1- hydrophilic
2- low water cotent non-ionic
3- mid and high water content ionic
4- non- hydrophilic
5- Silicone acrylat
6- fluoro silicone acrylate

جدول شماره ۴_ تعداد لنزهای مورد نیاز

تعداد لنزهای لازم برای هر گونه میکروبی					
نمونه آزمایش [الف]	آزمایش یک نوع لنز منفرد [ج]	آزمایش انواع لنزهای هیدروفیلیک [ب،د]		آزمایش انواع لنزهای غیر هیدروفیلیک [ب،د]	
	به عنوان مثال گروه۱	گروه ۱	گروه ۴	سلیکون اکریلیک	فلورو سلیکون اکریلیک
محلول سری ۱	۸	۴	۴	۴	۴
محلول سری ۲	۸	۴	۴	۴	۴
محلول سری ۳	۸	۴	۴	۴	۴
جمع کل [د]	۲۴	۱۲	۱۲	۱۲	۱۲

الف حداقل ۳ سری از فرآورده مراقبتی لنز باید آزمایش شود.

ب چنانچه بیش از یک نوع لنز آزمایش می شود، حداقل ۴ عدد از هر نوع لنز برای هر سری فرآورده مراقبتی لنز و هر گونه میکروبی باید استفاده شود.

ج چنانچه تنها یک نوع لنز آزمایش می شود، حداقل ۸ عدد از هر نوع لنز و از هرسری فرآورده مراقبتی و هر گونه میکروبی باید استفاده شود.

د وقتی یک رژیم فرآورده مراقبتی لنز با انواع لنزهای هیدروفیلیک و غیرهیدروفیلیک آزمایش می شود حداقل به چهارعدد لنز از هر نوع لنزهای هیدروفیلیک گروه ۱ و گروه ۴ و لنزهای غیرهیدروفیلیک سلیکون اکریلیت وفلوروسیلیکون اکریلیت نیازاست.

۷-۴-۲ دستور العمل لنز

پس از جذب ماده تلقیحی، لنزها را طبق دستورالعمل تولید کننده برای ضدعفونی لنز تماسی که شامل مراحل تمیز کردن، شستن و خیساندن می‌باشد، استفاده نمایید. دستورالعمل آزمایش باید پارامترهای مراحل تمیز کردن و شستشو را مشخص کند (به طور مثال زمان ساییدن ، مالیدن ، شستشو و میزان شستشو)

۷-۴-۳ بازیابی میکروارگانیسم‌های باقیمانده "برای روش فیلتر غشایی به پیوست ب مراجعه کنید"

۷-۴-۳-۱ حجم مناسبی از محیط کشت خنثی کنندهٔ مورد تأیید را داخل دستگاه فیلتر غشایی بریزید "مطابق بند ب-۱-۲-۱ " شرایط خنثی سازی باید براساس آزمایش کنترل محیط کشت مورد استفاده برای بازیابی باشد "مطابق بند ۷-۴-۴-۲ "

۷-۴-۳-۲ محتویات ظروف لنز مورد آزمایش (لنز و محلول) را به طور کامل با محیط کشت خنثی کننده به دستگاه فیلتر غشایی منتقل کنید"مطابق بند ب-۱-۲-۲" در حالیکه مدت زمان انجام خنثی‌سازی را قبل از فیلتراسیون مشخص کرده‌اید "به پیوسته ب مراجعه کنید"

۷-۴-۳-۳ تحت فشار کم محلول را از فیلتر عبور دهید. فیلتررا با مقدار مناسبی از محیط کشت خنثی کننده شستشو دهید.

۷-۴-۳-۴ لنزهای تماسی را درشرایط کاملاً ضدعفونی شده به بستری از محیط کشت آگار، که برای رشد میکروارگانیسم آزمایش مناسب است انتقال دهید. مقداری از همان محیط کشت آگاری را که زیر ۵۰ċ نگهداری کرده اید روی لنز بریزید و بگذارید تا سرد شود.

۷-۴-۳-۵ فیلتر آزمایش را روی سطح پلیت حاوی محیط کشت جامد مناسب قرار دهید (این محیط کشت می‌تواند محیط کشت بند۷-۳-۱-۵ باشد)

۷-۴-۳-۶ ظروف رشد باکتریها را در۳۰تا ۳۵درجه سلسیوس ، ظروف رشد مخمرها را در ۲۰تا ۲۵ یا ۳۰تا ۳۵ درجه سلسیوس و ظروف رشد کپکها را در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سلسیوس در گرمخانه نگهداری کنید. مدت زمان گرمخانه گذاری برای رشد مناسب باکتریها، مخمرها و کپک‌ها باید مشخص شود. حداقل مدت زمان گرمخانه گذاری باید براساس آزمایش کنترل محیط کشت مورد استفاده برای بازیابی باشد " به بند۷-۴-۴ مراجعه کنید". تعداد cfu مشاهده شده درپلیت های قابل شمارش را ثبت کنید. پلیت ها باید در طول کشت مرتب مورد بازدید قرار گیرند تا از ایجاد پلیت های غیرقابل شمارش در اثر رشد بیش از حد جلوگیری شود.

۷-۴-۴ کنترل‌ها

۷-۴-۴-۱ کنترل تلقیح لنز

برای هر گونه میکروبی آزمایش شده ، سه عدد لنز تلقیح شده را به لوله‌های حاوی یک رقیق کننده مناسب مثلا"(DPBST) منتقل کنید. لوله ها را به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس کنید. به ترتیب رقیق سازیهای مناسب را به صورت سه تایی (مگر شرایطی که غیر از این تعیین شده باشد) انجام دهید . تا مقداری از سلول‌های زنده، باقی بمانند. میانگین این مقادیر نباید کمتر از ۲×۱۰^{۵}cfu/lens و بیشتر از ۲×۱۰^{۶} cfu/lens باشد.

این میزان تأیید می‌کند که تعداد ارگانیسم‌های روی لنز در زمان آزمایش رژیم کافی بوده است.

۷-۴-۴-۲ کنترل محیط کشت مورد استفاده برای بازیابی

دستگاه فیلتر غشایی رابه صورت سه تایی (مگر شرایطی که غیر از این تعیین شده باشد) "مطابق بند ۷-۴-۳" با حجم مناسبی از محیط کشت خنثی کننده و فرآورده ضدعفونی کننده آماده کنید "به پیوست ب مراجعه کنید". آن را ثابت قرار دهید تا خنثی سازی به طور کامل انجام شود. تعدادارگانیسم‌های آزمایشی را ۵cfu تا ۱۰۰cfu (یک ارگانیسم برای یک فیلتر) اضافه کنید و همان طورکه دربند ۷-۴-۳ توضیح داده شده آن را از فیلترعبورردداده و کشت دهید.

مادۀ تلقیحی رابه صورت سه تایی (مگر شرایطی که غیر از این تعیین شده باشد) روی یک محیط کشت مناسب قرار دهید.

اطمینان حاصل کنید که رشد روی فیلتر از محیط خنثی کننده حداقل ۵۰ درصد مادۀ تلقیحی باشد.

خنثی‌سازی فرآورده را با هر میکروارگانیسم آزمایش در ابتدا و به طور مناسب ثابت کنید.

۷-۴-۵ گزارش آزمایش

گزارش آزمایش باید شامل موارد زیر باشد:

۷-۴-۵-۱ مشخصات فرآورده

۷-۴-۵-۲ نام فرآورده

۷-۴-۵-۳ شماره سری تولید

۷-۴-۵-۴ تاریخ تولید (به روز وماه وسال)

۷-۴-۵-۵ تاریخ انقضاء قابلیت مصرف (به روز وماه وسال)

۷-۴-۵-۶ نام ونشانی تولید کننده

۷-۴-۵-۷ شرایط نگهداری

۷-۴-۵-۸ مواد فعال و غلظت آنها

۷-۴-۵-۹ نام آزمایش کننده

۷-۴-۵-۱۰ انحراف ازدستور کار

۷-۴-۵-۱۱ مدت زمان گرمخانه گذاری

۷-۴-۵-۱۲ زمان نگهداری فرآورده

۷-۴-۵-۱۳ نتایج به دست آمده

اگر فرآورده معیارهای اولیهٔ آزمایش مستقل را به دست آورد، می‌تواند به عنوان فرآورده ضدعفونی کنندهٔ لنز تماسی برچسب گذاری شود. اگر فرآورده تنها معیارهای ثانویهٔ آزمایش مستقل و آزمایش رژیم را بدست آورد، باید به عنوان بخشی از یک رژیم ضدعفونی کنندهٔ لنز تماسی برچسب گذاری گردد.

پیوست الف

(اطلاعاتی)

ارگانیسم‌های آزمایشی ازدیگر کلکسیون های کشت

الف – ۱ کلیات

جزئیات ارگانیسم‌های آزمایشی و کلکسیون های کشت و مؤسسات به ترتیب در جدول الف-۱ و الف -۲ درج گردیده است.

کشت‌هایی که از کلکسیون های مختلف هستند باید معادل گونه های ATCC باشند.

جدول شماره الف - ۱ ارگانیسم‌های آزمایشی از دیگر کلکسیون های کشت

ارگانیسم	کلکسیونهای کشت				
Pseudomonas aeruginosa	MUAVCR 278	CCM 1961	CIP 82.118	DSM 1128	DSM 1385
	IAM 10374	IFO 13275	NCIMB8626	NRRLB-800	
Staphilococcus aureus	CIP 4.83	DSM 799	IFO 13276	NCIB 9518	NCTC10788
Seratia marcescens	CCM 303	DSM 47	DSM 30121	CDC 813-60	NCIB 9155
	NCTC 10211				
Candida albicans	CBS 6431	CCY 29-3-106	CIP 48-72	DSM 1386	IFO 1594
	NCP F 3179	NCYC 1363	VTTC - 85161		

جدول شماره الف-۲ مؤسسات و کلکسیون های کشت

ATCC	American Type culture collection, Rockville, Md., USA
MUAVCR	Microbiologicy ustav Academie ved Ceske repobliky, Prague, Czech Rpoblic
CBS	Centraalbureau voor Schimmelcultures, ,Baam,The Netherlands
CCM	Ceska sbirka microorganizmu, penrodovedecka fakulta Masarykovy univer zity, Brno, Czech Republic
CCY	Cultur collection of yeasts, Chemicky ustav sav , Bratislava, Slovakia
CDC	Center for Disease control, Atlanta, Georgia, USA
CIP	Collection de bacteries de I' Institut Pasteur, Paris, France
DSM	Deutsche Sammlung Von Microorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany
IAM	Institute of Applied MicrobiologyUniversity of Tokyo, Tokyo, Japan
IFO	Institute for Fermentation,Osaka, Japan
NCIB	National Collection of Industrial Bacteria, Aberdeen, Scotland, U.K.
NCIMB	National Collection of Industrial and Marine Bacteria, Aberdeen, Scotland, U.K.
NCPF	National Collection of Pathogenic Fungi , Mycological Refrence Laboratory, Central Public Health Laboratory, London, U.K.
NCTC	National Collection of Type Cultures, Central Public Health Laboratory, London, U.K.
NCYC	National Collection of Yeast Cultures, Nutifield, Surrey, U.K.
NRRL	Northern Regional Research Center, U.S. Department of Agriculture, Peoria, lllinois, USA
VTT	Technical Research Centere of Finland, VTT Collection of Industrial Microorganisms, Espoo, Finland

پیوست ب

(اطلاعاتی)

مثال از روش فیلتر غشایی

ب-۱ مواد و واکنش گرها

ب-۱-۱ محیطهای کشت و واکنش گرها

ب-۱-۱-۱ محلول رقیق کننده، با یابدون خنثی کننده.

ب-۱-۱-۲ تریپتون سویاآگار (Tryptone Soya Agar)

ب-۱-۱-۳ Dulbecco's Phosphate Buffered Saline **بدون کلرید کلسیم و کلرید منیزیم** (DPBS) :

شامل ترکیبات زیر:

کلسیم کلراید KCl **۲۰۰میلیگرم درلیتر**

دی هیدروژت پتاسیم فسفات KH_2PO_4 **۲۰۰ میلیگرم درلیتر**

سدیم کلراید NaCl **۸۰۰۰ میلیگرم درلیتر**

دی سدیم هیدروژن فسفات $Na_2HPO_4 .7H_2O$ **۲۱۶۰ میلیگرم درلیتر**

ویا رقیق کننده مناسب دیگر .

ب-۱-۱-۴ Dulbecco's Phosphate buffered Saline **به اضافهٔ ۰/۰۵ درصد (حجمی/وزنی)پلی سوربات ۸۰** (DPBST) **یا رقیق کنندهٔ مناسب**

ب-۱-۱-۵ معرف هاو محیط‌های کشت خنثی کنندهٔ مورد تأیید، به عنوان مثال

Dey-Engley N[1]eutralizing broth (DEB) **و** Letheen Broth

ب-۱-۲ تجهیزات آزمایش

وسایل متداول آزمایشگاهی (مانند پیپت‌های سترون، پلیت هاوظروف) همراه با موارد زیر.

ب-۱-۲-۱ دستگاه سترون برای نگهداشتن فیلتر غشایی سترون و انجام عمل فیلتراسیون

ب-۱-۲-۲ تجهیزات ایجاد خلاء یا فشار به منظوراینکه فاز مایع محلول آزمایشی تلقیح شده بتواند درشرایط سترون از فیلتر غشایی (بامنافذ حداکثر۰/۴۵ میکرومتر وقطر حداقل ۴۷ میلی متر وعاری از مواد شیمیایی سمی برای سلولهای میکروبی) عبور کند.

۱- Dey- Engley Neutralising Broth (DEB) و Letheen Broth نمونه‌هایی از رقیق کننده های مناسب هستندکه در بازار موجود می باشند. این اطلاعات برای راحتی استفاده کنندگان داده شده است و تأییدی از طرف این استانداردبرای فرآورده های مذکور نمی باشد.

ب-۲ روش آزمون و نتایج

ب-۲-۱ فیلتر غشایی سترون " مطابق بند ب-۱-۲-۲" از یک مجموعهٔ فیلتر سترون را بـا DPBST سـترون "مطابق بند ب-۱-۱-۴" یا رقیق کننده مناسب مرطوب کنید.

ب-۲-۲ درشرایط سترون، حجم معینی از محلول آزمایشی تلقیح شده را به ۵۰ تا ۱۰۰ میلـی لیتـر از DPBST سترون "مطابق بند ب-۱-۱-۴" یا مایع رقیق کننده مناسب منتقل کنید و کاملاً مخلوط کنید.

"یاد آوری۱- " این کار احتمال تشکیل کلنی های چندتایی را روی فیلتر کاهش خواهد داد.

ب-۲- ۳ محلول رقیق شده را به غشاء انتقال دهید و سریعا" به کمک خلاء یا فشار آن را از فیلتر عبور دهید.

ب-۲-۴ فیلتر غشایی را با استفاده از چندین حجم از مایع رقیق کننده که در صورت نیاز می‌تواند حـاوی عوامـل خنثی کنندهٔ اضافی باشد، شستشو دهید.

"یاد آوری۲-" معمولا"سه حجم از مایع رقیـق کننـده (هـر کـدام ۱۰۰ میلـی لیتـر) بـرای حـذف یـا رقیـق کـردن عامـل ضدمیکروبی کافی است. حجم واقعی باید به طور عملی ویا تجربی برای هر دستورالعمل وهر ارگانیسم آزمایش تعیین شود.

ب-۲-۵ فیلتر غشاء را روی محیط کشت مناسب قراردهید تا کلنی ها روی سطح فیلتر رشد کنند.

"یاد آوری۳ -" می‌توان فیلتر غشایی رادرشرایط اسپتیک ازروی دسـتگاه فیلتراسـیون برداشـته وروی سـطح پلیـت آگـار سترون قرار داد یا می توان فیلترغشایی را درساندویچ آگار (کشت دولایه) قرار داد . به عنوان جایگزین متناوبـا مـی‌تـوان ازیـک فیلتر غشایی سترون خاص استفاده نمود که لازم است محیط کشت سترون را به فیلتر غشایی که در محـل خـود محکـم شـده اضافه نمود. باید از محیط کشتی استفاده شود که مناسب رشد نوع ارگانیسم آزمایش و دسـتور العمـل آزمـایش باشـد. زمـان گرمخانه گذاری باید مشخص گردد.

ب-۲-۶ متوسط تعداد کلنی های روی فیلترهای غشایی قابل شمارش را تعیین کنید (۳ تا ۱۰۰cfu برای باکتری‌هـا و مخمرها و ۳ تا ۱۰cfu برای کپک‌هابرروی فیلتر ۴۷ میلی متری)، مقدار cfu/ml را برای محلـول تلقـیح شـده محاسبه و ثبت کنید.

ب-۳ کنترل‌ها

با انتقال حجم معینی از محلول مورد آزمایش تلقیح نشده به همان حجم مایع رقیق کنندهٔ سترون(۵۰ تا ۱۰۰میلـی لیتر) ، اثر خنثی کننده را تأیید کنید. به کمک فشار یا خلاء، تمامی حجم را به غشاء و فیلتر اعمال کنید. با چنـد حجم مایع رقیق کننده برابر با مقدارحجم به کار رفته در آزمایش، فیلتر را بشویید. ۵cfu تا ۱۰۰cfu از ارگانیـسم آزمایشی(یک گونه برای هر فیلتر)رابه ۱۰۰ میلی لیتر مایع رقیق کننده وارد کرده و آن را از غشاء عبـور دهیـد. همانگونه که در مراحل آزمایش توضیح داده شده، فیلتر غشایی را در تماس با محیط کشت قراردهیـد وگرمخانـه گذاری نمایید "مطابق بند ب-۲-۵" .

مراحل بالارا با مایع رقیق کننده‌ای که با محلول آزمایش مخلوط نشده، تکرار کنید. مقادیر رابانتایج بدست امـده از روش یکسانی که به جای محلول آزمایش از رقیق کننده مناسبی (مثلاً DPBST) استفاده شده، مقایسه کنیـد. مادهٔ تلقیحی را روی یک محیط کشت مناسب به صورت سه تایی (مگر شرایطی که غیر از این تعیین شده باشـد) تأیید کنید .اطمینان حاصل کنید که رشد بر روی فیلتر از مایع خنثی کننده، حداقل ۵۰درصد مادهٔ تلقیحی باشد.

پیوست پ

(اطلاعاتی)

گزارش تخصصی: آزمایش ویروسی

به دلیل تفاوت‌های اساسی در شکل حیات، ویروسها نمی‌توانندمانند باکتری‌های گرم منفی نظیر پسودوموناس[1] وسراتیا[2] یا آمیب های آکانتاموبا[3] ، بر روی لنزهای تماسی، در جا لنزی یا در محلول نگهداری لنز تکثیر شوند. علت این است که ویروس‌ها انگل های اجباری درون سلولی هستند و برای تکثیر به سلول‌های زنده نیاز دارند (مرجع [۱] را درمراجع[4] ببینید). کراتیت ویروسی بوسیله تبخال[5] ایجاد می شودعفونت باتبخال معمولاً در کودکان رخ می‌دهد و ۸۰ درصد جمعیت انسان ها تا سن ۱۵ سالگی به عفونت تبخال مبتلا شده‌اند. عفونت مجددربزرگسالان بوسیله استرس، تب یا نور ماورای بنفش به دلیل فعال سازی مجدد ویروسهای پنهان موجود در اعصاب و دیگر بافتها شروع می‌شود (مراجع [۲] و [۳] را ببینید). انتقال عفونت از یک شخص به دیگر ی نیز امکان‌پذیر است.

خطر انتقال قابل توجه ویروسها از جمله ویروس ایدز[6]، هپاتیت یا آدنو ویروس[7] ازلنزهای آزمایشی برای شاغلین(مراجع[۴]و[۵]و[۶]رابببنید)جود دارد زیرا ویروس می‌تواندهمراه با لنز باشد. درتحقیقات انجام شده هیچ گزارشی در مورد انتقال ویروس‌ها به دلیل استفاده از لنزهای تماسی بدست نیامده است .همچنین ارتباط مستقیم بین استفاده از لنز تماسی و عفونت های ویروسی از چشم خارجی پیدا نشده است.

این استاندارد قصد دارد اصولی را برای ارزیابی سیستم‌های ضدعفونی کنندهٔ لنز تماسی صرفا" برای استفاده فردی فراهم کند. از آنجا که انتقال ویروس از طریق استفاده از لنز تماسی، ثابت نشده است و ویروسها نمی‌توانند روی لنزهای تماسی یا در جا لنزی تکثیر شوند، این استاندارد آزمایش ویروسی را توصیه نمی‌کند.

در دوره استفاده از لنز تماسی چنانچه بیماری چشمی ویروسی مشاهده شود، توصیه می‌شود لنز و جالنزی برای جلوگیری از امکان ابتلای مجدد دور انداخته شوند.

۱

1- Pseudomonas
2- Serratia
3- Acanthamoeba
4- Bibliography
5- Herpes simplex
6- HIV
7- Adenovirus

پیوست ت

(اطلاعاتی)

گزارش تخصصی: آزمایش آمیب آکانتاموبا [1]

آمیب آکانتاموبا می‌تواند ندرتا"باعث التهاب جدی قرنیه گردد. این نوع از التهاب قرنیه عمدتاً در افرادی که از لنزهای تماسی استفاده میکنند رخ می‌دهد و با استفاده از سیستم‌های مراقبت لنز تماسی آلوده مرتبط می‌باشد. استفاده از آب آشامیدنی یا محلول نمکی تهیه شده از آب مقطر غیر سترون برای لنزهای تماسی از عوامل مهم خطر مرتبط با بیماری هستند (مراجع [۷]، [۸]، [۹] و [۱۰] را ببینید). افرادی که ازلنزهای تماسی استفاده می کنند همواره باید دستورالعمل سازندگان را برای مراقبت از لنز به دقت به کار ببرند کنند. (مراجع [۱۱] و [۱۲] را ببینید).

گمان می‌رود که آمیب ها[2] بر روی باکتری‌هایی رشد می‌کنند که به لنز تماسی، جالنزی و یا در محلول نگهدارنده می‌چسبند. هنگامی که لنز آلوده از جا لنزی برداشته می‌شود و روی چشم قرار می‌گیرد، مسیری برای آمیب آکانتاموبا فراهم می‌شود تا به اپی تلیوم قرنیه نفوذ کند .(مراجع [۱۳]، [۱۴]، [۱۵]، [۱۶] و [۱۷] را ببینید).

تحقیقات نشان می‌دهد که آمیب در برابر اجماد، خشکاندن و عوامل ضدمیکروبی مانند عوامل ضد باکتریایی، ضد قارچی،ضد انگلی[3]، ضدویروسی وعوامل ضد سرطان مقاوم می‌باشد (مرجع [۱۴] را ببینید). به علاوه روش استانداردی برای آزمایش فرآورده ها، اندازه‌گیری و بازیابی ارگانیسم های باقیمانده، نوع گونه و مرحله ارگانیسم آکانتاموبا برای آزمایش وجود ندارد. برای از بین بردن آکانتاموبا گرما یا ضدمیکروب‌های قوی با مدت زمان خیساندن طولانی لازم است . این ضدمیکروب‌ها ممکن است برای چشم سمی باشند. بنابراین اکثر ضدعفونی کننده‌های لنزهای تماسی در مدت زمان خیساندن قادر به از بین بردن آکانتاموبا ، به خصوص کیست‌های آن، نیستند (مراجع [۱۴]، [۲۰]، [۲۱]، [۲۲]، [۲۳]، [۲۴]، [۲۵]، [۲۶]، [۲۷] و [۲۸] را ببینید). چون باکتریها منبع غذایی آکانتاموبا هستند (مرجع [۲۳] را ببینید)، تمیز کردن، شستشوی لنزها با محلول سترون مراقبت لنز تماسی، نگهداری لنز در یک محلول سترون، خشک و تمیز نگه داشتن لنز و تعویض مرتب جالنزی، می‌تواند کمک بزرگی درجلوگیری از آلودگی آکانتاموباکند (مراجع [۹] و [۳۰] را ببینید).سیستم مراقبت لنز که آلودگی باکتریایی را محدود می‌کند، آلودگی به آکانتاموبا را کاهش می‌دهد (مراجع [۳۰] و [۳۱] را ببینید).

به علت رخداد نادر ابتلاء، عدم وجودمنبع قابل جلوگیری از آلودگی و فقدان روشی استاندارد، این استاندارد آزمایش آکانتاموبارا توصیه نمی‌کند.

۱

1- Acanthamoeba
2- amoebae
3- protozoal

پیوست ث

(اطلاعاتی)

گزارشی تخصصی: اشکهای مصنوعی در روشهای آزمایشگاهی.

برای ارزیابی ضدعفونی کننده‌های لنز تماسی، خاک آلی [1] لازم نیست ،اما می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

این پیوست اطلاعاتی شامل بحث دربارهٔ خاک آلی در زمینه لنزهای تماسی و فرآورده های مراقبتی لنز تماسی، می‌شود.

مشخص شده است که وجودمواد آلی می تواندبر فعالیت میکروب کشی برخی از فرآورده های ضد عفونی کننده لنز تماسی موثرباشد، (مرجع [۵۱] را ببینید).

در آزمایش رژیم، برای مشابه‌سازی رسوباتی که ممکن است در شرایط طبیعی استفادهٔ بیمار وجود داشته باشد، می‌توان خاک آلی را به لنزها افزود. افزودن مواد آلی اجازهٔ ارزیابی مرحله تمیز کردن برای حذف ذرات و میکروارگانیسم‌های مربوط و نیز تأثیر متقابل مواد آلی باقیمانده را با محلول خیساندن می‌دهد.

تلاش‌های بسیاری برای ایجاد مدل اشک مصنوعی ، یا خاک آلی ، به منظور استفاده در ارزیابی محصولات مراقبت کننده لنزهای تماسی صورت گرفته است. هدف این تلاشها، شبیه‌سازی مایع طبیعی اشک بوده است، با این حال هیچ مدلی به طور کامل نمایانگر خصوصیات پیچیده اشک انسان یا یک لایه اشک طبیعی بر روی لنز تماسی نیست.

اشک از یک لایهٔ سطحی چربی، یک فاز آبی و یک لایهٔ مخاطی تشکیل شده است. فاز آبی دارای حداقل ۶۰ ترکیب پروتئینی از جمله لیزوزیم [2] ، لاکتوفرین [3] ، لیپاکا لین [4] ، ترنس فرین [5] ، آلبومین [6] ، کایرو لوپلاسمین [7]، مکمل [8] ، گلیکو پروتئینها [9] ، آنتی پروتئینازها [10] و طیف متنوعی ازایمونوگلوبولین ها [11] به خصوص الجی آ [12] ترشحی میباشد . (مراجع [۳۲]، [۳۳]، [۳۴]، [۳۵] را ببینید.). اگر چه مدل‌های زیادی از اشک مصنوعی آزمایشگاهی یا خاک آلی موجود است (مراجع [۳۶]، [۳۷]، [۳۸]، [۳۹] و [۴۰] را ببینید)، اما هیچکدام از آنها دارای تمامی اجزای موجود در اشک طبیعی نیستند (مرجع [۱۳] را ببینید). علاوه بر این، غلظت اشک، فعالیت و منابع در مدل مصنوعی با اشک‌های انسان مطابقت کامل ندارد (مراجع [۳۲]، [۳۳]، [۴۲] و [۴۳] را ببینید). [1]

---

[1]-Organic Soil
2- lysozyme
3- lactoferrin
4- tear lipacalin
5- transferring
6- albomin
7- caeruloplasmin
8- complement
9- glycoproteins
10- antiproteinases
11- immunoglobulins
12- lgA

علاوه بر ترکیب اشک، برای شبیه‌سازی لایه طبیعی اشک، چندین عامل دیگر را باید در نظر گرفت. بسته به زمـان و از فردی به فرد دیگر، ترکیب اشکهای انسان متفاوت است (مرجع[۵۳] را ببینید). مهمتر آنکه،هنگامی که اشک جذب لنز شد ممکن است فعالیتش با فعالیت اصلی یکسان نباشد.

بعلاوه تفاوتهای دیگری ممکن است هنگام رسوب اشکهای مصنوعی روی سطح لنز نمایان شود.

الف : طبیعت و ترکیب لایه ماکرومولکولی [1] روی یک لنز به طبیعت شیمیایی شبکه پلیمـری لنـز بـستگی دارد (مراجع[۴۶]، [۴۷]، [۴۸]، [۴۹] و [۵۰] را ببینید).

ب : رسوب‌های لنز به نحوه رسوب شدن بستگی دارد (مراجع [۴۱] و [۴۵] را ببینید).اشکهای مصنوعی روی لنز نمی‌تواند دقیقاً نمایانگر اشک‌های رسوب شده انسان باشند به خصوص هنگامی که ارتباط بین چشم وهوا و پلـک زدن مکانیکی عینی در شرایط آزمایشگاهی ایجاد نشده باشد.

چون افزودن خاک آلی برای استفاده، با این روش دراین زمان، استاندارد نشده است، اشک مصنوعی یا خاک آلـی در طی ارزیابی محصولات مراقبت کننده لنز تماسی مورد نیاز نیست. برخی مقامات بهداشتی دولتی (بـرای مثـال ادارهٔ غذا و داروی ایالات متحده[2]) استفاده از خاک آلی را برای ثبت فـرآورده توصـیه مـی‌کننـد. بنـابراین ایـن استاندارد آزمایش رژیم را با یا بدون استفاده از خاک آلی شامل می‌شود. مثال برای آماده‌سازی و استفاده از خاک آلی به شرح ذیل می باشد (مرجع [۵۲] را ببینید)

آماده سازی خاک آلی :

ساخارومیسزسرویسیا [3] را روی محیط کشت سابورد دکستروز آگار کـشت دهیـد و در دمـای۲۰ تـا ۲۵درجـه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری کنید. همانگونه که در بند۷-۲ بیان شـده آن را جمـع‌آوری کنیـد. سوسپانسیون را در دمای ۲ ± ۱۰۰درجه سلسیوس به مـدت ۱۰ دقیقـه گرمـا دهیـد. آن را در کمتـر از g × ۵۰۰۰ حداکثربه مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ کنید. آن را در سرم گاوی که برای غیرفعال کردن مکمل[4] به کـار مـی‌رودبـه مدت ۳۰ دقیقه و در دمای ۵۶درجه سلسیوس حـرارت داده شـده اسـت، دوبـاره بـه تعلیـق درآوریـد. غلظـت ساخارومیسزسرویسیا در سرم بایدcfu/ml ۱۰^۷× ۱ تا ۱۰^۸ باشد.

پس از جمع‌آوی ارگانیسم آزمایشی، سوسپانسیون ارگانیسم آزمایشی را سانتریفوژ کنید. آن را در خاک آلـی تـا غلظت cfu/ml ۱۰^۷× ۱ تا ۱۰^۸ به تعلیق در آورید. این مادهٔ تلقیحی است که در بند۷-۴ استفاده شده.

1

[1]-Macromolecular
2- FAO
3- S.cerevisiae
4- Complement

مراجع

منابع مربوط به پیوست پ

[1] RICHMOND S. *Principles of Virology*. In D.L. Easty (ed), *Virus disease of the eye*. Year Book Medical Publishers, Inc., Chicago, 1985, pp. 1-20.

[2] BELFORT, MOLINARI R. H. and POLACK F.M. *Herpetic keratitis*. In F.M. Polack (ed.) *External diseases of the eye*. Ediciones Scriba, S.A., Barcelona, Spain, 1991, pp. 139-146.

[3] BLYTH W.A. *Latency and recurrence in Herpes simplex infection.* In D.L. (ed), *Virus disease of the eye*. Year Book Medical Publishers, Inc. Chicago, 1985, pp. 83-92.

[4] COHEN E.J. *Is your office safe? Yes, Cornea.* **9** (Suppl. I): 1990, pp. 41-43
.

[5] DARRELL R.W. and JACOB G.B. *Hepatitis B surface antigen in human tears.* Arch. Ophthalmol. **96** pp. 674-676.

[6] VOGT M.W., HO D.D., BAKAR S.R., GILBARD J.P., SCHOOLEY R.T. and HIRSCH M.S. *Safe disinfection of contact lenses after contamination with HTLV-III*. Ophthalmol. **93** (6): 1986, pp. 771-774.

منابع مربوط به پیوست ت

[7] KILVINGTON S., LARKIN D.F., WHITE D.G. and BEECHING J. R. *Investigation of Acanthamoeba keratitis.* J. Clin. Microbial. **28** 1990, pp. 2722-2725.

[8] MATHEWS T.D., FRAZER D.G., MINASSIAN D.C., RADFORD C.F. and DART J.K.G. *Risks of keratitis and patterns of use with disposable lenses.* Arch. Ophthalmol. **110** 1992, pp. 1559-1562.

[9] SEAL D., STAPLETON F.D.and DART J.K.G. *Possible environmental sources of Acanthamoeba spp. In contact lens wearers.* Brit. J. Ophthalmol. **76** 1992, pp. 424-427.

[10] STAPLETON F.D., SEAL D.V. and DART J.K.G. *Possible environmental sources of Acanthamoeba species that cause keratitis in contact lens wearers.* Rev. Inf. Dis. **13** (suppl 5): 1991, p. 392.

[11] MOORE M.B. Acanthamoeba keratitis and contact lens wear: the patient is at fault. Cornea. **9** (Suppl. 1): 1990, pp. 33-35
.

[12] PALMER M.L. and HYNDIUK R.A. *Contact lens related keratitis*. Intl. Ophthalmol. Clin. **33** 1993, pp. 23-49.

[13] LARKIN D.F.P., KILVINGTON S. and EASTY D.L. *Contamination of contact lens storage cases by Acanthamoeba and bacteria.* Brit. J. Ophthalmol. **74** 1990, pp. 133-135.

[14] LUDWIG I.H., MEISLER D.M., RUTHERFORD I., BICAN F.E., LANGSTON R.H.S. and VISVERVARA G.S. *Susceptibility of Acanthamoeba to soft contact lens Disinfection Systems.* Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. **27** 1986, pp. 626-628.

[15] SILVANY R.E., DOUGHERTY J.M., MCCULLEY J.P., WOOD T.S., BOWMAN R.W. and MOORE M.B. *The effect of currently available contact lens disinfection systems on Acanthamoeba castellani and Acanthamoeba polyphaga.* Ophthalmol. **97** (3) March 1990, pp. 286-290.

[16] GORLIN A.I., GABRIEL M.M., WILSON L.A. and AHEARN D.G. *Binding of Acanthamoeba to hydrogel contact lenses.* Curr. Eye Res. **15** 1996, pp. 151-155.

[17] STEHR-GREEN J.K., VISVESVARA T.M. and G.S. *The epidemiology of Acanthamoeba keratitis in the United States.* Amer. J. Ophthalmol. **107** 1989, pp. 331-336.

[18] MEISLER D.M. and RUTHERFORD I. *Acanthamoeba disinfection of soft contact lenses.* Rev. Inf. Dis. **13** (Suppl. 5), 1991, pp. 410-412.

[19] WILHELMUS K.R. and JONES D.B. *Program Planning for Research on Acanthamoeba, Reviews of Infectious Diseases.* **13** (suppl. 5), 1991, pp. 446-450
.
[20] CONNOR C.G., HOPKINS S.L. and SALISBURY R.D. *Effectivity of contact lens disinfection systems against Acanthamoeba culbertsoni.* Optom. & Vis. Sci. **68** 1991, pp. 138-141.

[21] DAVIES D.J.G., ANTHONY Y., MEAKIN B.J., KILVINGTON S and ANGER C.B. *Evaluation of the antiacanthamoebal activity of five contact lens disinfectants.* ICLC. **17** 1990, pp. 14-20.

[22] HOLDEN B. *A report card on hydrogen peroxide for contact lens disinfection.* CLAO J. **16** [(l). Suppl.]: 1990, pp. 61-64.

[23] KILVINGTON S. *Activity of water biocide chemicals and contact lens disinfectants on pathogenic free-living amoebae.* Intl. Biodeterioration. **26** 1990, pp. 127

[24] SEAL D.V., HAY J., DEVONSHIRE P. and KIRKNESS C.M. Acanthamoeba and contact lens disinfection: should chlorine be discontinued? Brit. J. Ophthalmol. **77** 1993, pp. 128.

[25] KILVINGTON S.D., ANTHONY Y., DAVIES D.J.G. and MEAKIN M.J. *Effect of contact lens disinfectants against Acanthamoeba cysts.* Rev. Inf. Dis. **13** (Suppl 5): 1991, pp. 414-415.

[26] KILVINGTON S.D. Acanthamoeba trophozoite and cyst adherence to four types of soft contact lens and removal by cleaning agents. Eye. **7** 1993, pp. 535-538.

[27] SEAL D. and HAY J. *Contact lens disinfection and Acanthamoeba: Problems and practicalities.* The Pharm. J. May 30 1992, pp. 717-719.

[28] LOPEZ A., CALLEJAR M. and CLARAMONTE P. *Effect of non-oxidizing contact lens disinfection systems on Acanthamoeba culbertsoni.* Contactologia. 14E: 1992, pp. 68-73.

[29] BOTTONE E.J., MADAYAG R.M. and QURESHI M.N. Acanthamoeba keratitis: synergy between amoebic and bacterial cocontaminants in contact lens care systems as a prelude to infection. J. Clin. Microbial. **30** 1992, pp. 2447-2450.

[30] DONZIS P.B., MONDINO B.J., WEISSMAN B.A. and BRUCKNER D.A. *Microbial contamination of contact lens care systems.* Amer. J Ophthalmol. **104** 1987, pp. 325-333.

[31] DONZIS P.B., MONDINO B.J., WEISSMAN B.A. and BRUCKNER D.A. *Microbial analysis of contact lens care systems contaminated with Acanthamoeba.* Amer. J. Ophthalmol. **108** 1989, pp. 53-56.

[32] VAN HAERINGEN N.J. *Clinical biochemistry of tears.* Surv. Ophthalmol. **26** 1981, pp. 84-96
.
[33] GACHON A-M., RICHARD J. and DASTUGUE B. *Human tears: normal protein pattern and individual protein determinations in adults.* Curr. Eye. Res. **2** 1983, pp. 301-308.

[34] WEDLER F.C., ILLMAN B., HORENSKEY D. and MOWREY-MCKEE M. *Analysis of protein and mucin components deposited on hydrophillic contact lenses.* Clin. and Exp. Optom. **70** 1987, pp. 59-68.

[35] DELAIRE A., LASSAGNE H. and GACHON A.M.H. *New members of the lopocalin family in human tear fluid.* Exp. Eye Res. **55** 1992, pp. 645-647.

[36] *FDA Testing Guidelines for Class III Soft (Hydrophillic) Contact Lens Solutions (draft).* 1985.

[37] *French Guidelines.* AFNOR NF 72 190.

[38] *The Japanese Standards of Pharmaceutical Ingredients and Supplement.* (JSP1) 1991.

[39] MINER N.A., WHITMORE E. and MCBEE M. *A quantitative organic "soil" neutralisation test for disinfectants.* Dev Indust. Microbial. **16** 1975, pp. 23-30.

[40] MIREJOVSKY D., PATEL A., RODRIGUEZ D and HUNT T. *Lipid adsorption onto hydrogel contact lens materials. Advantages of nile red over oil red O in visualization of lipids.* Optom. and Vis Sc. **68** 1991, pp. 858-864
.
[41] HART D.E., TIDSALE R. and SACK R. *Origin and composition of lipid deposits on soft contact lenses.* Ophthalmol. **93** 1986, pp. 495-503.

[42] YAMADA M., TAKECHI K. and HASEGAWA E. *The possible role of human lysozyme in soft contact lens hygiene, II. Enzymatic properties and antimicrobial activities* J Jpn C. L Soc. **22** 1980, pp. 138-142.

[43] ALCON *Total protein analysis of FDA organic soil used in the multi-item test.* 1994.

[44] CHENG J. W., MATSUMATO S. and ANGER C. *The effect of tear protein on preservative toxicity.* Poster Presentation at CLAO. 1994.

[45] SACK R., JONES B., ANTIGNANI A., LIBOW R. and HARVEY H. *Specificity and biological activity of protein deposited on the hydrogel surface. Invest. Ophthalmol.* Vis. Sci. **28** 1987, pp. 842-849.

[46] STONE R., MOWREY-MCKEE M. and KREUTZER P. *Protein: source of lens discoloration.* Contact Lens Forum. 1984, 9:33.

[47] SACK R., HARVEY H. and NUNES I. *Disinfection associated spoilage of high water content ionic matrix hydrogels.* CLAO J. **15** 1989, 138-145.

[48] BOHNERT J.L., HORBETT T., RATNER B. and ROYCE F. *Adsorption of proteins from artificial tear solutions to contact lens materials.* Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. **29** 1988, pp. 362-373.

[49] MINARIK L. and RAPP J. *Protein deposits on individual hydrophillic contact lenses: effects of water and ionicity.* CLAO J. **15** 1989, 185-188.

[50] TRIPATHI P.C. and TRIPATHI R.C. *Analysis of glycoprotein deposits on disposable soft contact lenses.* Invest. Ophthalmol Vis. Sci. **33** 1992, pp. 121-125.

[51] SCHUNK T. and SCHWEISFURTH R.S. *Disinfectant performance of oxidizing contact lens solutions: Quantitative suspension tests with organic soil contaminants.* Contactologia. **11** 1989, pp. 84-89.

[52] FDA 510(k) *Guidelines for Contact Lens Care Products*, May 1, 1997.

[53] FARRIS R.L. *Tear analysis in contact lens wearers.* Trans. Am. Ophthalmol . Soc. **83** 1985, pp. 501 -545.

ICS: 11.040.70

صفحه: ۳۱