**راهنماي حفاظت و ایمنی آزمایشگاه**

**تهيه کننده : دکتر سمیرا اصغرزاده**

**مديریت حفاظت و ایمنی پژوهشکده ی علوم پایه سلامت**

**دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد**

**مقدمه :**

بر طبق آمار سازمان جهانی کار ILO حدود 2 میلیون و 300 هزار نفر هر ساله به دلیل بیماری های شغلی و حوادث ناشی از کار ، می میرند . به این ترتیب گزارش سازمان جهانی کار ، هر روز 860 هزار حادثه شغلی اتفاق می افتد .

سازمان جهانی کار در تازه ترین گزارش خود درباره کنگره جهانی ایمنی و بهداشت کار اعلام کرد : داشتن جهانی بدون حوادث شغلی منجر به مرگ ، امکان پذیر است .

در تمام کشورهای دنیا ، حوادث ناشی از کار در محیط های شغلی اتفاق می افتد که البته باید جدی گرفته شود چرا که برخورداری از یک محیط کار ایمن و سالم ، از حقوق اساسی بشر است ، بنابراین پیشگیری های لازم در این زمینه باید صورت پذیرد . همین طور در این گزارش آمده است که با پیشگیری از حوادث به طور متوسط بیش از دو برابر اصل سرمایه گذاری باز می گردد . به عبارتی بازگشت دو برابری سرمایه اتفاق می افتد .

در کشور ما علیرغم گسترش آزمایشگاهها ، وجود متخصصین ارزشمند و مطرح ، ملاحظات و تجهیزات ایمنی و اطلاعات و تجارت فردی ، حفاظت و ایمنی سازمان یافته و سیستماتیک را در آزمایشگاههای کمتر می توان یافت و این واقعیت به دلیل عدم وجود آموزشهای جامع حفاظت و ایمنی در سیستم های آموزشی کشور بوده است که خوشبختانه در سالهای اخیر استقبال چشمگیری در ارتباط با آموزش و توسعه سیستمهای حفاظت و ایمنی به عمل آمده است .

آشنایی با خطرات و راههای پیشگیری ، آموزش و باز آموزی مستمر ، بازنگری و تمرین همراه با ایجاد سیستم های حفاظت و ایمنی و مشارکت همه کارکنان از بالاترین تا پایین ترین سطوح بایستی به صورت پروتکل در برنامه آزمایشگاه گنجانده شود . هر چند تامین سلامت شغلی وظیفه قانونی سازمان ها و واحدهای کاری به ویژه مدیریت است . اما این اصل باید مورد تاکید قرار گیرد که سلامت و حفظ آن یک مسئولیت فردی ، اجتماعی و سیستماتیک است و هر کارمند آزمایشگاه صرف نظر از موقعیت شغلی و به عنوان یک اصل اخلاقی – قانونی موظف به حفظ آن برای خود ، همکاران و کلیه سیستم های آزمایشگاهی می باشد . اگر چه توسعه روز افزون صنعت و توسعه صنعتی به وجود آمدن تکنیکهای جدید و پیشرفته آزمایشگاهی و استفاده از تجهیزات مدرن پیشرفت قابل توجی محسوب می گردد اما در ورای این سیستم خطرات فراوانی هم وجود دارد .

تماس مداوم با مواد شیمیایی با مواد آزمایشگاهی رادیو اکتیو و نمونه های حاوی آلودگی میکروبی و همچنین تجهیزات برقی که با ولتاژ بالا کار می کنند با تجهیزاتی که تولید امواج الکترومغناطیس یا اشعه های مادون قرمز ، ماورای بنفش یا X می نمایند همگی به صورت خطرات بالقوه و بالفعل می باشد در هر سیستم آزمایشگاهی می بایست با رعایت کلیه استانداردهای حفاظتی ، مواردی مانند آموزش کارکنان ، تهیه دستور العمل داخلی و ابلاغ آن به عنوان راهنمای حفاظت آزمایشگاه را مد نظر داشت .

**اصول کلی حفاظت و ایمنی در آزمایشگاههای زیست – پزشکی/ پاسخ های موارد اضطراری ( آتش سوزی )**

**پاسخ های موارد اضطراری Emenrgency Response :**

* مراقب اطرافیان خود در آزمایشگاه باشید . اگر کسی در آزمایشگاه کار غیر اصولی انجام می دهد به او تذکر دهید .
* مراقب دانشجویان و افراد تازه وارد در آزمایشگاه باشید . بیاد داشته باشید که حفاظت و سلامتی او محافظت از سلامتی شماست و بر عکس
* وقتی مسئولیتی جدید در یک آزمایشگاه به عهده می گیرید باید به کمک مسئول مربوطه به طرح عملیات اضطراری در آزمایشگاه آشنا شوید که شامل آشنایی با محل :
* شماره تلفن های اضطراری و اورژانس
* دوش و چشم شور اضطراری
* وسایل برای جمع آوری و رفع آلودگی از مواد آزمایشگاهی پر خطر که ممکن است در آزمایشگاه ریخته شوند .
* راههای خروج اضطراری

**آتش سوزی :**

آتش سوزی از مهمترین موارد بالقوه اورژانس در آزمایشگاههای بیولوژیک است .

این مسئله مهم است که چگونه می شود از وقوع آتش سوزی در آزمایشگاه جلوگیری نمود و آمادگی داشته باشید که در صورت وقوع آتش سوزی عکس العمل مناسب نشان دهید .

**جلوگیری از آتش سوزی :**

مصرف حلالهای قابل اشتعال اولین عامل آتش سوزی ها ر آزمایشگاها است .

1. از حداقل میزان حلالهای قابل اشتعال در کارها استفاده کنید
2. مقادیر عمده stock اینگونه حلالها را در کابینت مخصوص نگهداری کنید .
3. مایعات قابل اشتعال را از منابع آتش و ایجاد جرقه دور نگه دارید . هیچگاه از شعله Bunsen burner در محل هایی که با حلالهای قابل اشتغال کار می شود استفاده نکنید .

**آمادگی لازم در موارد آتش سوزی**

1. باید با امکانات اضطراری مقابله با آتش سوزیهای احتمالی موجود در آزمایشگاه تان آشنایی داشته باشید .
2. وسایل آزمایشگاهی و سایر اشیا را سر راههای عبور و مرور و خروج اضطراری بردارید . بیان داشته باشید که راه عبور راحت و ایمن هم برای عبور سالم شما و هم کسانی که برای کمک اضطراری می آیند ضروری است.
3. بطور منظم هر از گاهی تمرین عملیات اورژانس مقابله با آتش سوزی باید انجام شود .

**آتش سوزی روی میز آزمایشگاه :**

یک مایع قابل اشتعال روی میز می ریزد و آتش می گیرد . عکس العمل شما باید به ترتیب به این صورت باشد :

1. افراد دیگر در آزمایشگاه و مسئول آزمایشگاه را خبر کرده و زنگ خطر اضطراری را به صدا در آورید .
2. در صورت کوچک بودن آتش از کپسول آتش نشانی و سایر وسایل خاموش کردن آتش استفاده کنید .
3. بطرف راه خروجی بایستید .
4. پایه و منشا آتش را هدف بگیرید .

**وضعیت اضطراری : آتش سوزی های بزرگ**

1. به فوریت به افراد دیگر خبر دهید که محل را ترک کنند .
2. نزدیکترین خطر را به صدا در آورده و برای گرفتن کمک اضطراری تلفن بزنید .
3. برای محدود نمودن آتش در آزمایشگاه را ببندید .
4. فردی را که با آزمایشگاه و حادثه مربوطه آشنا است را در محل بگمارید تا در صورت لزوم به ماموران آتش نشانی راهنمایی و کمک دهد .

**آتش گرفتن روپوش آزمایشگاه :**

اگر همکارتان در نتیجه ریخته شدن اتانول و آتش سوزی روپوش او آتش گرفته است شما باید به او کمک کنید تا با افتادن و غلتیدن روی کف زمین ، شعله خفه گردد . سپس محل سوختگی را با آب سرد کنید و در صورت وجود هر گونه ناراحتی جهت سایر مراقبت های پزشکیبه درمانگاه مراجعه کند و حادثه را به سوپروایزر خود گزارش کنید .

**پاسخ های موارد اضطراری ( استفاده از مواد شیمیایی)**

**پاشیدن مواد شمیایی در چشم :**

اگر در حال کار کردن با محلول ضعیف اسید کلریدریک مقداری از آنبه چشم شما پاشید باید سریعاً به محل چشمشوی رفته و برای حداقل 15 دقیقه به چشم خود آب بپاشید . سپس در صورت مشاهده قرمزی یا هر گونه ناراحتی به پزشک مراجعه کنید .

**امدادهای پزشکی اضطراری:**

**کارهای زیر را به فوریت انجام دهید :**

1. آرامش خود را حفظ کنید .
2. عملیات نجات را در صورت ضرورت به اجرا در آورید .
3. درخواست اورژانس نمایید .
4. فرد را حرکت ندهید مگر اینکه خطر آسیب بیشتر وجود داشته باشد .
5. فرد مجروح را گرم نگه دارید .

**استانداردهای لازم برای حفظ سلامتی و ایمنی محیط آزمایشگاه :**

* شما باید آموزش کافی برای کار کردن با مواد شیمیایی پر خطر Hazardous chimicals دیده باشید .
* باید راهنمای مراقبت های ایمنی – بهداشتی در آزمایشگاه به راحتی در دسترس باشد .
* باید از وجود و آزمایشاتی که مواد شیمیایی پر خطر در آزمایشگاهتان استفاده می شوند اطلاع داشته باشید .
* باید راههای تشخیص وجود و یا رها شدن مواد پر خطر در آزمایشگاه را بدانید.
* باید تجهیزات شخصی حفاظتی و کنترل فنی در برابر مواد شیمیایی پر خطر را در اختیار داشته باشید .
* باید با راههای صحیح پاسخ به موارد اورژانسی آشنا باشید .
* نکته ای که مهم است این است که بین عوامل پر خطرHazardous و خطرناکDongerous تفاوت قائل شویم . کار کردن با مواد منفجره هر چقدر هم احتیاط کنید خطرناک است . اما ما می توانیم خود را در برابر خطرات ناشی از کار کردن با عوامل پر خطر مثل HBV وHIV با پیش بینی – برنامه ریزی و احتیاط حفاظت کنیم .
* وقتی شما کاملاً خسته هستید .

احتمال وقوع حادثه در ضمن کارتان زیاد می شود .

همینطور وقتی شما خسته هستید ممکن است در مورد کاری که می کنید درست نتوانید فکر کنید . ممکن است لوله های آزمایش را با هم اشتباه کنید و یا درست نتوانید دستورالعمل آزمایش را اجرا کنید .

* همچنین درست نیست که آزمایشی را با عجله و یا با خستگی انجام دهید .
* در این موارد کار درست انجام نخواهد داشت زیر شما کاملاً آگاهانه و از روی هوشیاری کار نمی کنید .
* اگر کار شما در رابطه با خون انسان یا مایعات بدن است باید آموزش کافی برای کار با نمونه هایی که موجب تماس شما به عوامل بیماریزایی که از طریق خون منتقل می شوند را داشته باشید .
* دسترسی به راهنمایی مهار و کنترل عوامل عفونی داشته باشید .
* نسبت به هپاتیت B واکسینه شده باشید .
* پس از اتمام کار با سرنگ حتماً آن را در در ظرف مخصوص اجسام تیز (Safety box ) قرار دهید .
* مواد شیمیایی پر خطر Hazardous مواد شیمیایی آزمایشگاهی که دارای اثرات حاد یا مزمن زیان آور روی سلامتی هستند عبارتند از :

1. کارسینوژنها مانند فرمالدئید
2. مواد خورنده Corrosive مانند فنل
3. سموم کبدی مانند کلروفورم
4. موتاژنها مانند اتیدیوم بروماید
5. نفروتوکسینها مانند استونیتریل
6. نوروتوکسینها مثل اکریل آمید
7. تراتوژنها مانند فرمامید

برشور اطلاعت حفاظت و ایمنی (MDS) Material Safety Data Sheet که توسط شرکت تولید کننده مواد شیمیایی تهیه می شود مرجع خوبی برای آگاهی از خطرات و نکات ایمنی برای کار با مواد است. بسیار مهم است که قبل از کار کردن با یک ماده شیمیایی جدید این برشورها را مطالعه کنید . این بروشورها اطلاعات با ارزشی در مورد خطرات این مواد از جمله اطلاعات در موارد زیر را به شما می دهد.

* خواص فیزیکی و شیمیایی
* پایداری و واکنش ها
* سمیت و خطرها برای سلامتی انسان
* اثرات حاد و مزمن تماس با این مواد
* حد و میزان مجاز تماس با آنها

بر چسب ها منبع خوبی برای بدست آوردن اطلاعات در مورد خطرات مواد شیمیایی است.

برچسب موجود روی ظروف مواد شیمیایی حاوی اطلاعات در مورد اسم عمومی و خطرات و همچنین ممکن است اطلاعات دیگر شامل نحوه کار کردن – نگهداری و شیوه عملکرد در موارد اورژانس نیز باشد .

اکریل آمید ماده شیمیایی خطرناک است که در آزمایشگاهها زیاد استفاده می شود اکریل آمید اثر آنی ندارد. بلکه بتدریج در بدن جمع می شود. کسانی که با اکریل آمید کار می کنند متوجه خطری نمی شوند زیرا ((اثر نوروکسین )) آن فوری نیست. ولی انباشته شدن تدریجی آن در بدن به مرور اثر بد خود را می گذرد . حداکثر دوز مجاز تماس permissible exposure limit ( PEL ) با اکریل آمید 0.3mg می باشد.

در صورتی که با ماده شیمیایی خاصی کار می کنیدmsds ماده را در اینترنت جستجو نمایید تا از خطرات احتمالی آن آکاه شود . حداکثر دوز مجاز مواد در msds ماده توضیح داده شده است. دوز مجاز تماس ( PEL) بر حسب غلظت توسط ماده شیمیایی در هوا است و یعنی میزانی که تقریباً تمام افراد در طی 8 ساعت کار روزانه می توانند با آن در تماس باشند بدون اینکه اثر زیان ۀوری روی سلامتی آنها داشته باشد. در گزارش National Research council prudent practices توصیه شده است که با موادی که حداکثر دوز مجاز آنها کمتر از 50mg/m3 است در زیر هود شیمیایی کار شوند.

نگهداری مواد شیمیایی در آزمایشگاه ها لازم است که موادشیمیایی به طریق ایمن و صحیح نگهداری شوند این کار باعث می شود که :

1. به سهولت و بطور موثر بتوان با آن کار کرد
2. خطر آتش سوزی را کم می کند .
3. از مخلوط شدن اتفاقی مواد ناسازگار incompatible در موارد اورژانس جلوگیری می شود .
4. تماس با مواد خورنده و سمی را به حداقل می رساند .

مقررات برای نگهداری مواد در آزمایشگاه برای مدت خیلی طولانی موادی را که نیاز ندارید در آزمایشگاه نگه ندارید. همیشه بر چسب اطلاعات روی مواد را بخوانید و تاریخ دریافت را پیش از انبار کردن روی آن بنویسید.

مواد ناپایدار و واکنش کننده سریع را بیش از 6 ماه در آزمایشگاه نگه ندارید.

هرگز مواد شیمیایی نا معلوم و بدون برچسب را نگه ندارید.

مواد مختلف را بر اساس سازگاری آنها دسته بندی و در هر گروه بر حسب حروف الفبا نگه داری کنید.

مواد شیمیایی خیلی سمی را در محل جداگانه ای نگه دارید.

**نگه داری مواد شیمیایی جامد و پودر:**

مواد جامد خشک را می توان در کنار هم انبار کرد . برای اطمینان از سازگاری آنها مواد آلی و غیر آلی را از هم جدا نگه دارید . برچسب کدهای رنگی شرکت تولید کننده یک راه ساده برای تشخیص مواد ناسازگار که با هم نمی توان آنها را نگه داری کرده می باشد .

**مواد شیمیایی مایع :**

مرحله اول تعیین گروههای اصلی این مواد شامل اسید- بازها – مواد قابل اشتعال – اکسید کننده ها و مواد فوق العاده سمی است.

اسیدها باید در سینی یا تشک نگه داری شوند که در صورت ریخته شدن از پاشیده شدن آنها در آزمایشگاه جلوگیری شود و همچنین بتوان کاملاً آنها را از هم جدا نمود.

خیلی از آزمایشگاهها فقط اسیدهای معدنی مثل نیتریک اسید را در کابینت های مقاوم به اسید نگه می دارند .

اسیدهای آلی – بازهای آلی و مواد قابل اشتعال : این مواد را می توان با هم نگهداشت در صورتی که آنها را در تشتک پلاستیکی مقاوم به اسید قرار دهید تا به اندازه کافی از هم جدا باشند.

اکسید کننده ها: اکسید کنندها از لحاظ شیمیایی فوق العاده فعال هستند. آنها را باید از سایر مواد شیمیایی جداگانه نگهداری کرد.

**مواد شیمیایی بسیار سمی :**

مواد سمی مانند کارسینوژنها و مواد مضر برای تولید مثل را باید در کابینت های جدا نگه داری کرد.

مواد سمی فرار که تولید بخار می کنند را باید در ظرف در بسته نگه داشت.

لیستی از مقدار و مصرف این گونه مواد خیلی سمی و واکنش کننده باید همواره در آزمایشگاه وجود داشته باشد.

از قفسه های لبه دار برای نگه داری مواد استفاده کنید تا در صورت وقوع زلزله – آتش سوزی یا حادثه از افتادن آنها جلوگیری شود. محلولهای ساخته شده و مواد شیمیایی را که بطور معمول در کارهایتان استفاده می کنید را به مقدار کم در قفسه لبه دار بالای میز کار می توان نگه دارید.

* محل نگهداری مواد خورنده – سمی – قابل اشتعال و واکنش کننده های سریع باید نزدیک هود شیمیایی قرار داشته باشد. تا :

الف- از مخلوط شدن اتفاقی مواد ناسازگار در حوادث جلوگیری شود .

ب- خطر آتش سوزی کم شود .

ج- افراد تشویق شوند که در موقع استفاده و انتقال مواد شیمیایی از هود استفاده کنند .

**پاسخ های موارد اضطراری ( وسایل حفاظت فردی – خطر کار با مواد شیمیایی)**

**محافظت صورت و چشم :**

همیشه از چشمهای خود حفاظت کنید عینک حفاظتی دارای حفاظ کناری و حفاظ کامل صورت موجب محافظت در مقابل پاشیدن مواد شیمیایی و مواد موجود در هوا می شوند . از عینک محاظ دارای حفاظ کناری در هنگام کار کردن در برابر پاشیده شدن مقادیر کم مواد شیمیایی پر خطر برای مثال موقع باز و بسته کردن بطریها یا باز کردن در لوله های میکرو سانتریفوژ استفاده کنید . از عینک های بزرگ Goggles هنگام کار با مواد واکنش کننده خیلی خطرناک یا با حجم زیاد ( یک لیتر یا بیشتر ) استفاده کنید .

از حفاظ صورت موقعی که با حجم خیلی زیاد مواد پر خطر کار می کنید و یا موقعی که لازم است چشم و صورت هر دو را حفاظت کنید استفاده نمایید . برای مثال وقتی ظرف در بسته ای را از نیتروژن مایع خارج می می کنید یا هنگامی که با اشعه (transilluminator) U.V کار می کنید استفاده کنید .

* **موقع باز کردن درب لوله اپندورف چند قطره فنل به چشم شما می پاشد . چه کار خواهید کرد ؟**

1. سریع داخل چشمهایتان را آب بپاشید .
2. با فشار انگشت چشمهایتان را باز نگهدارید تا داخل پلکهایتان نیز شستشو شوند .
3. به پزشک مراجعه کنید .
4. حادثه را به مسئول آزمایشگاه گزارش کنید .

**دستکش :**

پوشیدن دستکش ساده ترین و موثرترین راه حفاظت برای جلوگیری از تماس با مواد شیمیایی است . اما دستکش باید نسبت به مواد شیمیایی خاص که به آن کار می کنید مقاوم باشد . هیچ دستکشی وجود ندارد که نسبت به همه مواد شیمیایی نفوذ ناپذیر باشد . بنابراین موثرترین روش عوض نمودن مداوم دستکش ها بخصوص وقتی که می بینید آلوده شده است می باشد .

**از دستکش مناسب استفاده کنید :**

* شما باید با ویژگی های انواع دستکش ها آشنا باشید و خطرات هر ماده شیمیایی را با آن کار می کنید بشناسید .
* دستکش هایی که دستهایتان در آنها خیلی راحت هستند مقاومت آنها در برابر مواد شیمیایی خیلی کم است .
* وقتی با مواد شیمیایی پر خطر که دارای حداکثر دوز مجاز PEL Value هستند استفاده می کنید از دستکش های مخصوص که مقاومت بالایی دارند استفاده کنید . اما زمان تماس با ماده شیمیایی باید محدود باشد . این مواد بدلیل جذب پوستی اثرات بسیار بد روی سلامتی تان ممکن است داشته باشند . همیشه دستهایتان را قبل از تعویض دستکش ها و بعد از کار کردن بطور کامل بشویید .
* **برآورد کردن خطر کار کردن با مواد شیمیایی سمی :**

1. تعیین نوع ماده شیمیایی که باید استفاده کنید : مقدار ماده شیمیایی که برای کارتان لازم است را حساب کنید . همیشه حد اقل میزان مواد سمی که لازم دارید سفارش دهید . امکان جایگزینی با ماده کم خطر را همواره در نظر داشته باشید .
2. شرایط استفاده : سوالات زیر را قبل از شروع هر کار آزمایشگاهی در نظر بگیرید .

* هر چند وقت آزمایش باید انجام شود ؟
* آیا باید کار روی میز آزمایشگاه یا در زیر هود شیمیایی انجام شود ؟
* چه کسی آزمایش را انجام می دهد ؟
* آیا شرایط خاص پزشکی مانند حاملگی یا حساسیت به مواد شیمیایی وجود دارد در نظر گرفته شود ؟

1. ارزیابی سمیت مواد شیمیایی

* تعیین کنید آیا هیچ یک از موادی که قرار است با آن کار کنید دارای اثر سمی حاد ( با یکبار تماس) یا سمیت مزمن ( با چند بار یا تماس طولانی ) است؟
* درجه سمیت حاد با پارامتر LD50 آنها تعیین می شود . LD50 دوز متوسط ازیک ماده شیمیایی است که موجب مرگ نصف حیوانات که در تماس با آن قرار می گیرند می شود .
* خیلی سمی <50mg/kg
* سمیت متوسط 50 to 500 mg/kg

**کمی سمی 500mgto 5 g/kg**

**راههای مواجهه با مواد پر خطر :**

وزن کردن و مخلوط نمودن مواد شیمیایی پر خطر کاری خطر زاست . راههای وجود دارد تا خطر کار کردن با اینگونه مواد را کم کرد و شما باید از آنها مطلع باشید .

* امکان خطر از طریق تنفس یا جذب از طریق پوست را در نظر بگیرید .
* با اطلاعاتی که شما بدست می آورید قادر خواهید بود تعیین کنید که آیا روشهای استاندارد در آزمایشگاه برای انجام ایمن آزمایش مناسب است یا راهکارهای اضافی باید در نظر گرفته شود . در موقع کار کردن با مواد خیلی سمی با همکاران با تجربه مشورت کنید .
* برای پیشامد اتفاقی آماده باشید . علائم و نشانه های تماس با مواد شیمیایی که استفاده می کنید را بشناسید .عملیات اورژانس مواجهه با مواد خطر زا در نتیجه نشت احتمالی آنها را بدانید .
* **استخراج DNA با فنل – کلروفرم**
* فنل ماده شیمیایی خورنده قوی است و باعث سوختگی شدید در تماس با پوست می شود .
* استات سدیم و تریس در تماس با پوست و چشم باعث تحریک آنها می شوند .
* خطر اصلی اتانول احتمال آتش گرفتن آن است .
* کلروفوم خطرات متعدد برای سلامتی انسان از جمله موجب سرطان و آسیب در اندامها می شود . تنفس و تماس پوستی آن خطرناک بوده و اثرات زیان آور آن تدریجی است .

**کار کردن با اکریل آمید :**

* همیشه از اسپاتول برای برداشتن آن استفاده کنید . هرگز با تکان دادن آن را بیرون نریزید که موجب پاشیده شدن آن به اطراف می شود . ذرات کوچک آن ممکن است در هوا پخش شده و مدت طولانی در هوا باقی بماند .

برای کار با مقادیر زیاد در زیر هود شیمیایی کار کرده و به ماسک صورت چندان تکیه نکنید . زیرا ماسک صورت از تنفس ذرات ریز معلق ( ائروسل ) جلوگیری نمی کند .

**کار کردن با فنل :**

* از لوازم حفاظت شخصی استفاده کنید . فنل ماده خورنده قوی بوده که باعث سوختگی شدید در تماس با پوست می شود هر گاه با مواد پر خطر مثل کار می کنید از روپوش آزمایشگاهی – دستکش و عینک استفاده کنید .
* درجه حرارت را کنترل کنید . قبل از ذوب نمودن فنل مطمئن شوید که به درجه حرارت اتاق رسیده است .
* همچنین هنگام گرم کردن درب آن را شل نمایید تا امکان انبساط وجود داشته و از افزایش فشار جلوگیری شود .
* در صورت امکان از ظرف ثانویه استفاده کنید . بعد از ذوب کردن فنل گرم را روی سطح سرد قرار ندهید . زیرا بطری آن ممکن است بشکند و فنل به بیرون بریزد . قرار دادن بطری فنل در ظرف دوم موجب افزایش ایمنی و ظریب اطمینان برای جلوگیری از ریختن فنل در صورت شکستن بطری هنگام بهم زدن فنل با میله هم زن مغناطیسی می باشد .
* فنل را در حجمهای کم استفاده کنید . برای جلوگیری از خطر تماس محلول فنل بافری را در حجم زیاد بکار نبرید بلکه مقادیر کم آن را در لوله های کوچک استفاده کنید .
* تنفس مواد پر خطر را باید کنترل و جلوگیری کنید . مواقعیکه با فنل – کلروفورم کار می کنید . بهتر است در زیر هود شیمیایی کار کنید تا از خطر تنفس این مواد خطرناک محفوظ باشید .
* از پاشیده شدن مواد خطرناک جلوگیری کنید . بکار بردن احتیاط و مراقبت های ساده موقع کار کردن با ظروف و لوله های کوچک از خطر پاشیدن مواد خطرناک جلوگیری می کند . پرش ناگهانی درب لوله های اپندورف باعث پاشیدن مواد می شود . از دستتان به عنوان حفاظ ( شیلد) استفاده کنید . وقتی لوله ای را ورتکس می کنید همیشه لوله و درب آن را با هم نگه دارید تا از باز شدن ناگهانی درب جلوگیری شود .
* اگر کار پیچیده ای را برای اولین بار انجام می دهید انجام اولیه آن بطور آزمایشی بدون انجام واقعی آن می تواند به شما در تعیین مشکلات در رابطه با محیط کار – انتخاب وسایل آزمایش و مهارت شما در انجام کار کمک کند .

یکی از همکارانتان اسید روی لباسش پاشیده است. عکس العمل شما برای کمک به او چه خواهد بود ؟

1. قسمت هایی از بدن که اسید روی آن پاشیده شده است را زیر دوش اضطراری حداقل 5 دقیقه آب بپاشید .
2. لباسهای آلوده را یکباره با هم درآورید .
3. کفش های او را چک کنید که مواد شیمیایی در آنها نباشد .
4. برای کمک پزشکی اقدام کرده و حادثه را به مسئول آزمایشگاه گزارش کنید .

* اگر فنل از بطری ترک خورده در حال نشت روی میز تراوش کرده و روی پا ریخت اول درخواست کمک کرده و سریعاً با آب فراوان به مدت 15 دقیقه محل را شستشو دهید ( در صورت در دسترس بودن دوش اضطراری به زیر دوش بروید ) لباس ها و کفش فرد چک شود در صورت وجود آلودگی حتماً کفش خارج شود . در صورت وجود هر گونه ناراحتی حتماً به نزد پزشک بروید . قابل ذکر است در دانشکده پزشکی بیشترین آلودگی شیمیایی مربوط به فنول می باشد . البته اتیدیوم برماید نیز خطرناک بوده که قبلاًاز آن استفاده زیادی می شد اما اخیراً استفاده از آن ممنوع شده و ماده جایگزین آن Gelred یا Gelgreen می باشد .

**هودهای شیمیایی :**

هود شیمیایی محوطه بسته دارای تهویه است که موجب حفاظت در برابر بخار گاز وائروسل حاصل از مواد شیمیایی می شود . هوای اتاق به درون هود کشیده می شود و به اتمسفر انتقال می یابد . تهویه توسط هود همچنین موجب رقیق کردن گازهای قابل اشتعال به کمتر از حد انفجار می شود . هود همیشه باید روشن باشد . در صورت خاموش بودن هود یا نشت بخار مواد از زیر هود بدلیل درست کار نکردن هود به تاسیسات برای رفع اشکار خبر دهید .

**هود چگونه کار می کند ؟**

شما می توانید با قرار دادن یخ خشک در زیر هود ببینید که چگونه هود کار می کند . اگر دریچه شیشه ای کاملاً بالا باشد بخار به سادگی به خارج هود نشت کرده و حفاظت بخوبی انجام نخواهد شد . اگر دریچه تا محل علامت پایین کشیده شود کنترل بهتر انجام شده و بخار و گازها گرفته شده و حفاظت بیشتر خواهد بود .( بهتر است دهانه هود بین 20 تا 25 سانتی متر بیشتر باز نشود )

**ناپایداری هوا اطراف هود :**

طراحی ائرو دینامیکی ورودی هود باعث آرام شدن جریان هنگام ورود هوا بداخل هود و در نتیجه کاهش اغتشاش هوا می شود . به هم خوردن جریان هوا در اطاق و حتی حرکات سریع دستها به داخل یا خارج از هود و هر گونه مانع در ورودی هود روی عملکرد آن اثر می گذارد . حتی اغتشاش کم هوا نزدیک هود مثل بستن در یا قدم زدن نزدیک هود باعث فرار بخار از زیر هود می شود . هنگام که با مواد خطرناک کار می کنید از همکارانتان بخواهید فعالیتهای خود مانند قدم زدن نزدیک هود یا باز و بسته نمودن در هنگام کار کردن شما را کاهش دهند.

**حدود باز نمودن دریچه هود :**

مهمترین تصمیم شما برای کنترل نمودن عملکرد هود مقدار باز نمودن ارتفاع باز نمودن دریچه است . هر چقدر مقدار باز نمودن دریچه کمتر باشد عملکردهود بهتر خواهد بود . دریچه را تا حد نشانه و یا زیر نشانه باز کنید . باز نمودن دریچه در پایین ترین حد ممکن بیترین حفاظت را ایجاد خواهد کرد .

-مهمترین راهکار برای افزایش حفاظت در هنگام کار کردن در زیر هود شیمیایی قرار دادن دریچه هود در پایین ترین حد در زیر نشانه مربوط می باشد . سایر موارد که می تواند در افزایش کارایی هود اثر داشته باشد شامل موارد زیر می باشد .

الف- مواد شیمیایی حداقل 4 اینچ ( 10 سانتی متر ) با فاصله از لبه ورودی هود کار شوند .

ب- از همکارتان بخواهید هنگام کار در کنار هود قدم نزند .

ج- از مسدود شدن شکاف خروج هوا در پشت هود توسط لوازم موجود در زیر هود جلوگیری کنید .

**استفاده از هود شیمیایی:**

برای انجام آزمایش برنامه ریزی کنید . ابتدا خطرهای انجام ةآزمایش را ارزیابی کنید . اگر به هود شیمیایی نیاز دارید همه چیزهای لازم را قبل از شروع بکار زیر هود بگذارید . دریچه را پایین بکشید . همیشه مطمئن شوید که در یچه تا حد نشانه به پایین کشیده شده است . بهترین حفاظت در حالتی است که دریچه به پایین ترین وضعیت خود باشد . به کار خود دقت کنید . حکتهای شما باید آرام باشد . لوازم را طوری در هود قرار دهید که جلوی جریان هوا در قسمت جلو و همچنین شکاف مکنده هوا گرفته نشود . تا فاصله 4 اینچی لبه کار نکنید .

* اگر با یک بطری حاوی ماده شیمیایی آلی که تاریخ مصرف آن گذشته است برخورد کنید باید بلافاصله بعنوان پسماند شیمیایی بطریق درست دفع شوند .

**پاسخ های موارد اضطراری ( کار با خون / سیلندرهای گاز فشرده . بریدگی )**

**کار کردن با خون انسان :**

کار با خون انسان خطرات ویژه ای دارد . خون و سایر مایعات بدن انسان ممکن است دارای هپاتیت نوع ب ( HBV ) یا ویروس ایدز باشد . اگر با اینگونه نمونه ها کار می کنید باید واکسینه شوید. بسیار اهمیت دارد که با روشهای کنترل موجود در موسسه تان آشنایی داشته باشید . برای جلوگیری ازآلودگی اتفاقی با خون و مایعات بدن انسان باید دستورالعمل های متعاقب را رعایت کنید .

* بجز هنگام خون گیری از سرنگ – سوزن و سایر اشیای تیز استفاده نکنید . وقتی از اینگونه اجسام تیز استفاده می کنید مراقب باشید بطور اتفاقی موجب ایجاد سوراخ و بریدگی در بدن نشوند .
* سوزن و سایل بریدن یکبار مصرف را بعد از استفاده در داخل ظرف درب دار مقاوم در برابر پاره شدن قرار دهید . سوزن سرنگهای مصرف شده را نباید دوباره در جلد خود قرار داد و یا خم کرد و شکست و از سرنگ جدا نمود و با دست آنها را تغییر داد .
* با تمام نمونه های خون چه از افراد بیمار یا نرمال با ید با احتیاط با آنها کار کرد .
* همیشه از دستکش استفاده کنید . اگر دستکشتان با خون کثیف شد با احتیاط آن را در آورید دستتان را فوراً بشویید و از دستکش ای تازه استفاده کنید .
* بمحض اتمام کار و همچنین هنگام خارج شدن از آزمایشگاه دستهای خود را بشویید .
* هنگام کار روپوشس آزمایشگاه – عینک محافظ چشم و ماسک استفاده کنید .
* وقتی پی پت می کنید باید همیشه از پی پت کننده های مکانیکی استفاده کنید . با دهان هیچ وقت برای پیپت کردن استفاده نکنید .
* کارهایی را که در آن ائروسل درست می شود در زیر کابینت انجام دهید .
* قطره های خون ریخته شده را با محلول بلیچ رقیق شده ( 10:1) تازه عفونت زدایی کنید .
* وقتی کارتان تمام شد با الکل ایزوپروپانل 70% تمام سطح کار را تمیزنمائید .
* اگر جایی از بدنتان را با خون آلوده شده ناحیه آلوده بدن یا زخم را با آب و صابون بشوئید و به اورژانس یا اتاق خدمات پزشکی مراجعه کنید .
* حادثه را به مسئول آزمایشگاه گزارش کنید .
* در صورت تماس با مایعات بدن انسان که در آن خون انسان وجود دارد باید علیه ویروس هپاتیت B واکسینه شوید .
* **سیلندر گاز فشرده :**

در آزمایشگاهها از کپسول های گازهای مختلف استفاده می شود .

گازهای فشرده خطر زا هستند . برحسب نوع گاز استفاده از آنها خطرهای شیمیایی و فیزیکی را ممکن است ایجاد کنند . گازهای ممکن است قابل :

اشتعال – انفجار – خورنده – سمی – خنثی و با ترکیبی از خصوصیات فوق را داشته باشند .

مراقبت ویژه برای استفاده از سیلندرهای گاز را باید بکار برد .

از آنجاییکه گازها در ظرفهای فلزی سنگین تحت فشار قرار دارند . انرژی زیاد حبس شده در کپسولها آنها را بالقوه تبدیل یک راکت یا بمب می نماید .

* محتویات هر کپسول باید بطور .اضح روی آن نوشته شده باشد . اگر محتویات آن مشخص نباشد و یا برچسب روی آن کنده شده باشد با قرار دادن برچسب نامعلوم به شرکت تولید کننده باید برگردانده شود . بر چسب روی سیلندر را بخوانید و به رنگ برچسب برای شناسایی محتویات آن اکتفا نکنید . در کارخانه های مختلف از کدهای رنگی متفاوت استفاده می شود . برچسب ها روی بدنه ونه روی کلاهک سیلندر باید قرار داده شئه باشند . کلاهک روی سیلندر ها ممکن است با هم جابجا شوند .
* علائم واضح باید در محل نگهداری سیلندرها قرار داده شوند که مشخص کننده محتویات و احتیاط های لازم باشند مانند : گاز هیدروژن – گاز قابل اشتعال – سیگار نکشید – آتش یا شعله ممنوع .
* سیلندرهای گاز همیشه باید به جایی زنجیر و بسته شده باشند تا از افتادن از آنها جلوگیری شود . سیلندرها را می توان بصورت تک تک با زنجیر یا تسمه های محکم به میز کار یا دیوار بست .
* اگر در سیلندرهای نشتی پیدا شود در صورتیکه خطری برای شما ندارد آن را به محل امنی انتقال دهید و به واحد حفاظت و ایمنی اطلاع دهید .
* هرگز سیلندر و شیر آن را خودتان تعمیر نکنید .
* شیر – رگلاتور و سایر اتصالات را برای عدم وجود هر گونه آسیب و خرابی بازرسی کنید .
* شیر اصلی سیلندر را در صورت عدم نیاز به گاز ببندید .
* شیر سیلندر باید به آرامی باز شود . موقع باز کردن باید جهت لوله خروج گاز بطرف شما نباشد .
* سیلندرهای حاوی گازهای قابل اشتعال مانند هیدروژن یا استیلن را نباید در کنار شعله یا وسایلی که ایجاد جرقه می کنند نگه داشت .
* هرگز از شعله برای تشخیص نشتی از سیلندر استفاده نکنید . شعله گاز هیدروژن قابل مشاده نیست . برای تشخیص باید حرارت آن را حس کنید .
* همه سیلندرهای گازهای قابل اشتعال را باید در محیط با تهویه خیلی خوب نگه داشت .
* سیلندر گاز اکسیژن و گازهای قابل اشتعال را در کنار هم نگذارید .
* رگولاتورها برای هر گازی اختصاصی هستند و لزوماً قابل جایگزینی نیستند .
* همیشه مطمئن شوید که شیر و رگولاتور با هم جور باشند .
* بعد از اتصال رگولاتور شیر را تنها به اندازه های که فشار روی درجه رگولاتور مشخص شود باز شود ( نه بیشتر از یک دور کامل )
* همه اتصالات را با محلول صابون برای وجود نشتی چک کنید .
* هرگز گریس و روغن روی رگولاتور بکار نبرید .
* سیلندر گاز را نمی بایست تا فشار کمتر از ( 25 psi/in2) 172kpa خالی نمود .
* اگر شیر باز بماند باقیمانده گاز موجود در سیلندر ممکن است آلوده شود .
* بعد از اتمام گاز سیلندر شیر آن را بسته و درپوش آن را بگذارید و آنرا به محل کپسولهای خالی منقل کنید . سیلندر های خالی و پر را باید جدا از هم نگه داری کرد .
* همیشه از محافظ چشم و صورت در موقع استفاده از سیلندر استفاده کنید .
* بخصوص وقتی که رگولاتور اتصالات را به سیلندر وصل یا از آن جدا می کنید .
* سیلندر گازهای فشرده را نمی بایست پرت کرده و یا به آن ضربه وارد شود .
* در غیر این صورت غیر قابل استفاده شده و یا به صورت راکت در خواهد آمد ..
* برای حفاظت از شیر در هنگام انتقال آنها باید درپوش روی سیلندر قرار داده شود و با دست محکم شود . تا هنگامیکه مورد استفاده قرار گیرد در پروشروی سیلندر باید قرار داشته باشد .
* هرگز سیلندرها را نغلتانید و یا روی زمین آن را نکشید .
* آن را به چرخ دستی بسته و روی چرخ حمل کنید .
* در دفعه فقط یک سیلندر باید روی چرخ حمل شود .

بر اساس یک مطالعه بین سالهای 1997-1993 متداولترین عامل آسیب دیدگیها به کارکنان بخش تحقیقات ایجاد بریدگی بدلیل بی احتیاطی هنگام استفاده از تیغ بوده است .

متداولترین آسییهای جدی شکستگیها و ضذب دیدگی ها در نتیجه افتادن و بلند نمودن نادرست اجسام سنگین بوده است .

**بریدگی ها و آسیب های جزئی :**

موقعی که یک چسب قبلی را با تیغ بر می دارید انگشتتان بطور عمقی بریده می شود . کارهایی که باید انجام دهید .

1. محل زخم را با آب و صابون برای چند دقیقه بشوئید .
2. به دنبال مراقبت های پزشکی بروید
3. بریدگی و آسیب های جزئی باید در کلینیک بهداشت حتی اگر تماس با عاملی خطرناک وجود نداشته باید بازدید شود .
4. حادثه را به مسئول آزمایشگاه گزارش کنید .

شما در حال کار کردن با خون انسان هستید و بطور اتفاقی سوزن در دستتان می رود . اولین کاری که باید اول محل زخم را سریعاً بطور کامل شستشو داده و سپس دنبال امداد پزشکی بروید . لازم است به مسئول خود اطلاع دهید و فرم گزارش حادثه را نیز در اسرع وقت تکگمیل نمایید .

**پاسخ های موارد اضطراری ( خطرات فیزیکی / کار با دستگاههای آزمایشگاهی / شستشوی وسایل شیشه ای / MSDS و لوزی خطر )**

**خطرات فیزیکی :**

در آزمایشگاههای تحقیقات زیست – پزشکی مانند سایر محیط های کاری خطرات فیزیکی وجود دارند که با مراقبت و عملکرد درست می شود میزان اینگونه خطر را کاهش داد .

* کف آزمایشگاه را خشک نگهدارید و از درهم ریختگی وسایل و شلوغی جلوگیری کنید تا از سر خوردن و افتادن افراد ممانعت به عمل آورید .
* هر جایی که امکان باشد از وسایل گرم کننده برقی به جای شعله باز باید استفاده نمود .
* وقتی مواد خطرناک را انتقال می دهید مواظب باشید درب آنها بسته باشد و از ظرف ثانویه نیز استفاده کنید .
* اگر خسته یا آشفته هستید یک استراحت کوتاه داشته باشید و دوباره روی کارتان تمرکز کنید .
* اگر متوجه وضعیتی خطرناک یا حادثه و آسیب شدید با مسئول ظآزمایشگاه صحبت کنید .
* لوازم ولتاژ قوی : وقتی از لوازم ولتاژ بالا مانند دستگاه الکتروفورز استفاده می کنید مراقب باشید قبل از وصل
* کردن کابل های برق دستگاه خاموش باشد . کابل را یکی یکی و با یک دست وصل کنید . هرگز با دست خیس و عرق کرده اینکار را انجام ندهید .
* مراقب باشید اتصالات شل نباشند که باعث ایجاد جرقه می شوند .
* دستگاه را از محل های مرطوب و دستشوئی دور نگهدارید . اگر موقع دست زدن به دستگاه احساس لرزش یا سوزش می کنید کار کردن با دستگاه را فوراً قطع کرده تا دستگاه تعمیر شود .

**آون میکروفر:**

میکرو فر اگر درست استفاده نشود می تواند خطرناک باشد . ظروف درب دارمی توانند منفجر شوند . افزایش فوق العاده دما ممکن است اتفاق بیافتد . ظروف پلاستیک نا مناسب ممکن است ذوب شوند .

**خطرات کار کردن با سانتریفوژ:**

90 % از موارد درست کار نکردن سانتریفوژ ها مربوط به اشتباهات استفاده کننده ها از سانتریفوژ می باشد . بی مبالاتی در هنگام استفاده از سانتریفوژ موجب از دست دادن نمونه ها یا آسیب به دستگاه می شود . عدم مراقبت ممکن است باعث خطر برای استفاده کننده و آزمایشگاه شود . خوشبختانه موارد آسیبهای شخصی کم است . موارد آسیب های شخصی معمولاً به دلیل روش نادرست بلند کردن و جابجا نمودن روتورهای سنگین است . سانتریفوژ کردن ممکن است به نظر کار خیلی ساده به نظر آید اما اینگونه نیست .

کاربرد دقیق – نگهداری دستگاه و یا داشت و ثبت موارد استفاده در هر بار لازمه استفاده درست از سانتریفوژ است . هر دفعه که شما از سانتریفوژ استفاده می کنید یکسری انتخاب را انجام می دهید . اینکه کدام سانتریفوژ – کدام روتور کدام نوع لوله و آداپتور – چه سرعتی – یا چه مدت سانتریفوژ نمایید ؟ هر کدام از این انتخابها برای آزمایش و ایمنی شما مهم هستند . اگر برای هر کدام از این انتخاب ها مطمئن نیستید از همکاران با تجربه تان سئوال کنید .

دستورالعمل استفاده از سانتریفوژ را مطالعه نمایید و یا با نماینده شرکت سازنده تماس بگیرید هر کدام از مراحل برای راه اندازی و استفاده از سانتریفوژ مهم هستند .

* قبل از قرار دادن روتور در سانتریفوژ مطمئن شوید که محفظه داخل سانتریفوژ و خشک باشد .
* لوله ها را با دقت بالانس کنید و لوله ها را از نمونه پرولبریز نکنید . لوله هایی که در روتورهای با زاویه ثابت Fixed Angle Rotor استفاده می شوند . نیروهای سانتریفوژ باعث کشیده شدن و ریختن نمونه به خارج لوله می شود .
* اطمینان یابید که روتوردر جای خود به درستی قرار گرفته و ثابت شده است بار زیاد بدون کم کاری سرعت بر بروی روتور نگذارید .
* وقتی از روتور افقی استفاده می کنید مطمئن شوید همه باکتها Bucket درست در جای خود قرار دارند و آزادانه می توانند حرکت کنند .
* O-ring را برای وجود ترک – خرابی در اثر مواد شیمیایی و شکستگیهای احتمالی نگاه کنید . حداقل هفته ای یکبار قسمت واکیوم را گریس کاری کنید .
* اشتباهاتی که هنگام سانتریفوژ کردن اتفاق می افتند . روتور در جای خود محکم نشده باشد یا درب روی روتور نباشد و یا محکم بسته نشده باشد .
* دقت کنید سرعت دوران سانتریفوژ از ماکزیمم دور مجاز برای روتور بیشتر نباشد .
* در کنار سانتریفوژ تا زمانیکه مطمئن شوید سانتریفوژ با سرعت تنظیم شده به طور یکنواخت کار می کند بایستید .
* وقتی سانتریفوژ کامل می شود تا زمان توقف کامل درب سانتریفوژ را باز نکنید . همیشه روتور و سانتریفوژ را پس از انجام کار تمیز کنید .
* همیشه از روتور و لوله هایی استفاده کنید که از ایجاد ائروسل جلوگیری می کنند .
* پر کردن و خالی کردن لوله باید در کابینت حفاظتی مخصوص عوامل بیولوژیک انجام شود .
* برای جلوگیری از تماس با ائروسل اینگونه نمونه های خطرناک قبل از باز نمودن در سانتریفوژ ده دقیقه صبر کنید .
* اگر آثار نشتی یا هر نوع شکستگی را مشاهده کردید در سانتریفوژ را بسته و به فکر ضد عفونی کردن و تمیز کردن آن باشید .
* روتور در نتیجه استفاده نادرست و خوردگی ممکن است آسیب ببیند . دستور العمل کارخانه سازنده را رعایت نمایید . در اینجا بعضی راهنماییهای عمومی ذکر شده اند .
* روتور را تمیز و خشک نگه دارید . اگر نمونه در روتور ریخته شود یا اگر نمک و سایر مواد خورنده در روتور استفاده شدند بلافاصله روتور را بشویید .
* با روتورهای آلومینیومی با ملایمت کار کنید . از شوینده های قوی و یا برسهای دارای سیم تیز در انتهای بخصوص موقع تمیز کردن روتورهای آلومینیومی استفاده نکنید . با آب دیونیزه برای آبکشی استفاده کنید .
* روتورها را بطور مرتب وارسی کنید .
* اگر لکه های سفت ناهمواری و تورفتگی – رسوب های سفید یا تغییر رنگ زیاد روی روتور دیده می شود از آن استفاده نکنید بگذارید توسط نمایندگیهای سازنده آن بازرسی شود .
* داشتن دفتر یادداشت نهایتاً روزی هر روتری باید کنار گذاشته شود . در استفاده از روتورهای اولترا حداکثر سرعت آنها باید کم شود .
* بهتر است دفتری برای یادداشت موارد استفاده از روتور داشته باشید .

**شستشوی وسایل شیشه ای خطرناک در آزمایشگاه های بیولوژیک:**

افرادی که در قسمتهای پشتیبانی از تحقیقات کار می کنند دو مسئولیت دارند .

1. وظایف محوله را بدرستی و با دقت انجام دهد .
2. موارد ایمنی را رعایت کند .

* لوازم حفاظتی شخصی : شما با پوشیدن روپوش آزمایشگاهی و کفش های جلو بسته با کف پلاستیکی می توانید خود را در برابر خطرات احتمالی تا حد زیاد حفاظت کنید بیاد داشته باشید همیشه از عینک و دستکش محافظ استفاده کنید .
* حفظ ایمنی محیط کار : مراقب هر چیزی که می توانید موجب سر خوردن – لغزش و افتادن شود باشید . سطح و کف غیر لغزنده به حفظ ایمنی محیط کار کمک می کند . همیشه بلافاصله مواد ریخته یا خرده های شکستگی را از کف تمیز و جمع کنید . این باعث حفاظت شما و همکارانتان که ممکن است متوجه خطر در محل نباشند می شود .
* **کارهای مقدماتی برای شستشوی وسایل شیشه ای وسایل آلوده :**

لوازم شیشه ای را که دارای مواد شیمیایی یا آلودگی های دیگر هستند را به محقق مربوطه برگردانید تا بطریق درست دفع گردند . لوازم شیشه ای شکسته : لوازم دارای ترک و شکستگی را در سطل مخصوص لوازم شکسته قرار دهید . برداشتن برچسب : وقتی برچسب ها را بر می دارید همیشه لوازم شیشه ای را به کنار دیوار ظرفشوئی محکم تکیه دهید تا سر نخورد و بتواند آن را بخوبی کنترل کنید . خیساندن لوازم شیشه ای : در بسیاری از جاها لوازم شیشه ای را در شوینده های حاوی EDTA Sulfonate قرار می دهند تا به تمیز کردن کمک کرده و دیگر نیازی به شستشو با اسید نباشد .

**مراقبت های لازم برای شستشو با اسید .**

اگر از اسید کرومیک استفاده می کنید از مسئول آزمایشگاه بخواهید روش سالمتری را انتخاب کند . در بیشتر جاها بدلیل خطرهای کار شستشو با اسید را انجام نمی دهند . اما اگر شستشو با اسید در آزمایشگاه شما انجام می شود مراقبت های زیر را بعمل آورید . حفاظت از خودتان از روپوش آزمایشگاهی – دستکش های بلند – پیش بند های با دوام – کفش های جلو بسته با تخت پلاستیکی استفاده کنید . با احتیاط کار کنید تا از پاشیده شدن اسید جلوگیری کنید . هر گز آب در اسید نریزید .

نگهداری محلول اسید : ظرف اسید را در ظرف دیگر مقاوم به اسید نگهداری و حمل کنید . اسید را در کنار بلیچ یا سایر مواد شیمیایی ناسازگار نگهداری یا استفاده نکنید . درب ظرف اسید را موقعی که از آن استفاده نمی کنید بگذارید استفاده از همراه : هنگامیکه از اسید استفاده می کنید همیشه افراد دیگری باید در محل باشند .

آشنایی با کلیات : برگه اطلاعات ایمنی مواد ( MSDS ) Material Safety Data sheet :

تمام افرادی که با مواد شیمیایی خطرناک سر و کار دارند باید در برنامه آموزشی شرکت نموده و اطلاعات آموزشی داده شده را بکار ببرند . اطلاعات ایمنی مربوط به مواد شیمیایی مختلف که شامل خطرات احتیاط های ایمنی و وسایل حفاظت فردی ، انبار داری ، روش دفع و ........ در برگه هایی به نام (( برگه های اطلاعات ایمنی مواد )) یا Material Safety Data Sheet و یا MSDS بیان شده است . در صورتی که با ماده شیمیایی خاصی کار می کنید msds ماده را در اینترنت جستجو نمایید تا از خطرات احتمالی آن آگاه شود . حداکثر دوز مجاز مواد در msds ماده توضیح داده شده است . دوز مجاز تماس ( PEL) بر حسب غلظت متوسط ماده شیمیایی در هوا است و یعنی میزانی که تقریباً تمام افراد در طی 8 ساعت کار روزانه می توانند با آن در تماس باشند بدون اینکه اثر زیان آوری روی سلامتی آنها داشته باشد . در گزارش (( Prudent Practices )) National Research Council توصیه شده است که با موادی که حداکثر دوز مجاز آنها کمتر از 50mg/m3 است در زیر هود شیمیایی کار شوند .

**برخی از مراقبت های عمومی جهت کار با مواد شیمیایی :**

* تمام مواد شیمیایی موجود در آزمایشگاه در هر گونه ظرف یا لوله باید دارای برچسب باشند و برگه اطلاعات ایمنی برای شیمیایی خطرناک در محیط کار به راحتی در دسترس باشد .
* افراد باخطرات ناشی از کار کردن با هر یک از مواد شیمیایی باید آشنا بوده و قبل از استفاده برچسب اطلاعات روی ظرف ماده شیمیایی را مطالعه کنند .
* روشهای مقابله با موارد و وضعیت های اضطراری را بدانند .
* محل نگهداری تجهیزات حفاظتی مانند دوش اضطراری ، چشم شور ، ماسک وسایل اطفاء حریق ، زنگ خطر وقوع آتش سوزی و شماره تلفن های اضطراتری را بداند .
* حتی الامکان از کار کردن به تنهایی در آزمایشگاه اجتناب کنید .
* از خوردن ، نوشیدن ، جویدن آدامس یا استفاده از مواد آرایشی لنزهای چشمی در محیط های که مواد شیمیایی آزمایشگاهی نگهداری و استفاده می شوند اجتناب کنید .
* از تجهیزات حفاظتی مناسب مانند روپوش آزمایشگاه ، دستکش و عینک حفاظتی استفاده کنید . روپوش و دستکش استفاده شده را در خارج از آزمایشگاه نپوشد .
* از بوییدن و یا چشیدن مواد شیمیایی خوداری کنید .
* از پی پت کردن و یا سیفون نمودن مایعات با دهان خودداری کنید .
* دستهای خود را همیشه بعد از هر دفعه استفاده از مواد شیمیایی بشویید .

**آشنایی با لوزی خطر :**

گاهی نیز جهت سهولت در شناساندن خطرات مواد از برچسب های استاندارد که لوزی شکل هستند و توسط NFPA (National Fire Protection Association) طراحی گردیده است ، استفاده می شود .

علامت لوزی که توسط NFPA (National Fire Protection Association) طراحی شده است روشی بین المللی برای شناسایی خطرات مربوط به یک ماده شیمیایی خاص است . تا کارکنان با استفاده از اطلاعات آن دچار صدمه و آسیب نشوند . این علامت خیلی مواقع در آزمایشگاهها ، مکان های نگهداری مواد شیمیایی یا روی ظروف مواد شیمیایی پیدا می شود . در جدول زیر خطرات گوناگون در لوزی مربوطه بوسیله کدهایی به شکل عدد نشان داده شده که به ترتیب شدت خطر تقسیم بندی شده اند . در لوزی خطر با توجه به نوع ماده و خطرات آن یک عدد و یا واژه در هر قسمت رنگی نوشته می شود .

این لوزی به چهار بخش شده است که هر رنگ پیام ویژه ای دارد . رنگ آبی ( سمت چپ ) پیام خطرات سلامتی و زیستی ، رنگ سرخ پیام اندازه ی آتشگیری ، رنگ زرد ( سمت راست ) نشانگر میزان واکنش پذیری ( شیمیایی) و رنگ سفید ( پایین ) دارنده ی نشان های ویژه برای خطرهای ویژه است . میزان خطرهای سلامتی ، آتشگیری و واکنش پذیری ( قرمز ) از 0 تا 4 دسته بندی شده اند که 0 نشانگر بی خطری و 4 بیانگر خطر فراوان است .

جدول راهنمایی سلامتی ( رنگ آبی )

1. کوچک ترین تماس می تواند باعث مرگ یا جراحت های شدید شود ( مثل هیدروژن سیانید)
2. تماس کوچک می تواند باعث آسیب جدی کوتاه مدت یا جراحت های معمولی شود (مثل : گاز کلر )

2-استفاده شدید و پیوسته البته نه در طولانی مدت می تواند باعث ناتوانی های کوتاه مدت و جراحت شود (کلروفرم )

1. تماس با آن می تواند باعث تحریک اعصاب (مانند : خارش) همراه با جراحت های خفیف شود (مثل تورپنتاین)

0-هیچ خطری برای سلامتی ندارد و لازم به انجام هیچ گونه پیشگیری نیست ( مثل : لانولین )

**جدول راهنمایی آتش گیری ( رنگ قرمز**)

4- در دما و فشار معمولی جو به سرعت یا کاملاً بخار می شود یا مایل است در هوا پراکنده شود و آتش بگیرد . ( مثل :پروپان )نقطنقطه فعال سازی زیر 23 درجه سانتیگراد ( 73 درجه فارنهایت )

3-جامدات و مایعاتی که تقریباً در هر دمایی قابل احتراق هستند ( مثل : بنزین ، نقطه فعال سازی بیشتر از 23 درجه سانتیگراد ( 73 درجه فازنهایت) و کمتر از 38 درجه سانتیگراد ( 100 درجه فارنهایت )

1. قبل از اینکه بسوزد باید به اندازه کافی گرما بگیرد یا سطح زیادی داشته باشد ( مثل : سوخت دیزل ( دمای احتراق بین 38 درجه ساتیگراد (100 درجه فارنهایت و 93 درجه سانتگراد ( 200 درجه فارنهایت )

1-برای اینکه بسوزد باید حرارت داده شود . ( مثل : روغن سویا ( دمای احتراق بالای 93 درجه سانتیگراد (200 درجه فارنهایت )

1. نمیسوزد( مثل: آب)

**جدول راهنمای میزان واکنش پذیری ( رنگ زرد )**

4-در دما و فشار معمولی جو قابل انفجار است یا به عنوان مواد منفجره بکار می رود ( مثل : نیتروگلیسیرین و هیکسوژن)

3-قابل انفجار است ولی به انرژی فعال سازی زیادی احتیاج دارد و باید محبوسانه فعال شود . با آب واکنش می دهد یا اگر به آن شوک شدیدی وارد شود منجر می شود ( مثل : فلوئور)

در شرایط سخت شیمیایی و در دما و فشار بالا منفجر می شود . با آب به شدت واکنش می دهد و یا روی آن منفجر می شود ( مثل : فسفر و پتاسیم و سدیم )

1. در شرایط عادی پایدار است . ولی در دما و فشار بالا ناپایدار می شود ( مثل هیدروژن فلوئورید )
2. 0-پایدار است . حتی در تماس با آتش با آب نیز واکنش نمی دهد ( مثل : هلیم)

**جدول راهنمای نمادهای ویژه ( سفید)**

**W**: واکنش با آب غیر عادی است یا وضعیت خطرناکی را ایجاد می کند (مثل : سزیم و سدیم )

**OX**  یا**OXY**  : اکسید کننده است ( مثل : پتاسیم پر کلرات ، آمونیوم نیترات و دی نیتروژن مونوکسید)

**SA** : یک گاز اختناق آور است. گازهای اختناق آور ، نیتروژن ، هلیم ، نئون ، آرگون ، کریپتون و زنون هستند.

**COR**: خورنده است ، یک اسید یا باز قوی است. (مثل : هیدروکسید پتاسیم و اسیدسولفوریک و فنول) ، گاهی اوقات برای تشخیص بهتر از علایمACID برای اسیدها و ALK برای بازها استفاده می کنند .

: **BIO** خطر زیستی دارد ( مثل : ویروس آبله )

**PIO** : سمی است ( مثل : زهر مار )

RA یاRAD : رادیوکتیویته است ( مثل : پلاتینیوم )

CRYیا CRYO : بسیار سرد است ( مثل : نیتروژن مایع )

نکته فقط علایم W وOX/OXY و SA جز علائم رسمی استاندارد NFPA 704 است و بقیه علایم بصورت غیر رسمی استفاده می شود .

**مقدمه –Biosafety) ) و انواع آن ایمنی زیستی**

**انواع خطرات :**

خطرات بیولوژیکی ( میکروارگانیسم های بیماریزا)/ خطرات شیمیایی ( مواد سمی و آتش زا)/ خطرات الکتریکی ( وسایل با ولتاژ بالا) / خطرات روانی ( استرس های رفتاری ، خستگی)

**طبقه بندی عوامل بیولوژیکی خطرناک :**

باکتریها / انگل ها / قارچ ها/ آلرژن ها/ ویروسها/ کشت های سلولی و عوامل عفونی موجود در آنها/ ریکتریاها تمام نمونه های کلینیکی ( خون ، بافت ، مایعات و غیره )/ DNA نوترکیب و محصولاتش/ کلامیدیاها

* **ایمنی زیستی و درجات مختلف آن :**
* ایمنی زیستی به معنای رعایت اصول ایمنی و استفاده صحیح از وسائل حفاظتی در موقع کار با مواد بیولوژیکی ( باکتریها ، قارچ ها ، ویروس ها و غیره ) است .
* **ایمنی زیستی بطور کلی به چهار درجه تقسیم می شود .**
* **انتخاب درجه ایمنی زیستی مناسب به چندین عامل از جمله عوامل زیر بستگی دارد .**
* ویرولانس و شدت بیماریزائی آن عامل میکروبی
* ثبت بیولوژیکی
* مسیر و طریقه انتشار
* ماهیت و نوع آزمایشگاه
* روشهای آزمایشگاهی و دستکاریهای ژنتیکی در ارتباط با آن عامل
* در دسترس بودن واکسن های موثر
* روش های درمانی مناسب

**ایمنی زیستی نوع 1:**

مخصوص کار با عواملی است که خطر ساخته شده ای برای پرسنل آزمایشگاه و یا محیط ندارند . البته بعضی از این BL1 عوامل پاتوژنهای فرصت طلبی هستند که می توانند در کسانی که از نظر ایمنی ضعیف هستند ایجاد بیماری نمایند .

* آزمایشگاه از محل های عمومی ساختمان جدا نمی شود و کار بر روی میزهای باز انجام می شود .
* لزومی به استفاده از وسائل محافظت کننده خاص نمی باشد .

پس از اتمام کار و قبل از ترک آزمایشگاه باید دستها شسته شوند .

**ایمنی زیستی نوع 2 :**

مخصوص کار با عواملی است که احتمال خطر ( در حد متوسط ) برای پرسنل آزمایشگاه و یا محیط دارند . این سطح از BL2 ایمنی در آزمایشگاه های تشخیصی ، درمانی و آموزشی که در آن عوامل میکروبی با درجه ریسک متوسط مورد استفاده قرار می گیرند قابل اجراست .

* با روش های مناسب این عوامل میب توانند روی میزهای باز مورد استفاده قرار گیرند .
* در اینگونه آزمایشات احتمال ایجاد آئروسل بسیار پائین است .
* برای کار با خون ، مایعات یا بافت های بدن ، که وجود عفونت در آنها نیز معلوم نمی باشد مناسب است . اولین خطراتی که پرسنلی که با این عوامل کار می کنند در رابطه با در معرض قرار گرفتن پوست ، غشا موکوس یا بلعیدن مواد عفونی است ، احتیاطهای لازم در رابطه با سوزنهای آلوده یا وسایل تیز حتماً باید رعایت شوند . چنانچه در حین کار احتمال ایجاد آئروسل وجود دارد ، استفاده از هودهای بیولوژیک یا سانتریفوژهای مخصوص توصیه می شود . در صورت نیاز دیگر موانع اولیه مانند صفحات محافظ چشم و صورت ، روپوش و دستکش باید مورد استفاده قرار گیرند .
* موانع ثانویه مانند شستشوی دستها و تسهیلات آلودگی زدائی از ضایعات باید فراهم باشند تا احتمال آلودگی محیط کاهش یابد .
* اکثر میکروارگانیسمهای پاتوژن که در آزمایشگاه جداسازی می شود به گروه خطر 2 تعلق دارند بایستی از سطح Level 2 Biosafety محافظتی 2 استفاده شود )
* **گروه خطر 2: باکتریها ، کلامیدیا ، مایکوپلاسما و ویروسها**

**ایمنی زیستی نوع 3 :**

این درجه از ایمنی در آزمایشگاههای تشخیصی ، درمانی ، آموزشی و تحقیقاتی که در آنها با عوامل بومی یا غیر بومی با BL3 پتانسیل انتقال از طریق تنفس که ممکن است خطرات جدی و یا خطر مرگ را داشته باشند کار می شود مورد استفاده قرار می گیرد .

* مایکوباکتریوم توبرکولوزیس ، ویروس سنت لوئیس انسفالیت ( St Lousi encephalitis و کوکسیلا بورنتی (Coxiella burnetii ) از اینگونه میکروارگانیسم ها هستند .

**ایمنی زیستی نوع 4 :**

این درجه از ایمنی زیستی در آزمایشگاه اعمال می شود که در آنها با عومال خطرناک و غیر بومی که خطر ایجاد B14 بیماریهای منجر به مرگ را که طریق آئروسل انتال می یابند و برای آنها هیچ واکسن یا درمانی وجود ندارد کار می شود .

**گروه خطر 4 : ویروسها**

***Arthropod-borne viruses are identified with an asterisk***

Arenaviridae, Lassa –Junin ,Machupo viruses .sabia .Guanario, Genus Nairovirus, Crimean – Congo hemorrhagic fever, Filoviridae, Ebola virus, Falviviridae, Tick – bome encephalitis complex, including/ Russian spring –summer Encephjalitis, Kyasanur forest virus, Omsk hemorrhagic fever virus, Alphaherpesvirinae, Genus simplexvirus :Herpes B virus (Monkey virus ), Genus orthopoxvirinae, Variola ,Monkeypox

**اصول صحیح کار در آزمایشگاه میکروبیولوژی**

**نکات کلیدی :**

* شستشوی دستها
* استفاده از وسایل حفاظتی شخصی
* استفاده از روشهای صحیح کار در آزمایشگاه

**دستها را کاملاً بشوئید :**

|  |  |
| --- | --- |
| **قبل از** | **بعداز** |
| شروع کار | تماس با مواد بیولوژیک |
| تماس مستقیم با بیمار | خارج کردن دستکش ها |
| ترک آزمایشگاه | تماس مستقیم با بیمار |
|  | گرفتن دستها جلوی دهان یا بینی هنگام عطسه یا سرفه |

**محل های شستشو :**

جاهای شستشو نزدیک به محل خروج را به شستشوی دستها اختصاص دهید .

سینک های مخصوص شستشوی دست را در آزمایشگاه با برچسب بصورت " فقط مخصوص شستشوی دست " مشخص کنید .

در محل سینک ها صابون ، ماده ضد عفونی مناسب و دستمال کاغذی قرار داده شود .

هرگز از سینکهای شستشوی دست جهت دور ریختن مواد خطرناک استفاده نشود .

در محل های نمونه گیری از بیمار که سینک شستشوی دست وجود ندارد از مواد ضد عفونی کننده مانند سیدارین ( cidarinse) برای شستشوی دست استفاده شود .

**کار با نمونه ها :**

* نمونه هائی که از بیماران گرفته می شود آلوده کننده در نظر گرفته شوند و از وسائل حفاظتی شخصی مناسب در اینگونه مورد استفاده شوند .
* حفاظت شخصی سد حفاظتی خطر انتقال ارگانیسم ها را کاهش می دهد .
* هنگام کار با نمونه ها از دستکش یکبار مصرف استفاده کنید .
* اگر احتمال پا شیدن یا ایجاد آئروسل از ترشحات بدن وجود دارد از وسایل حفاظتی اضافی پیش بند ، عینک یا محافظ صورت استفاده کنید .
* برای حمل نمونه ها از یک سیستم حمل و مطمئن استفاده کنید بطوریکه ظروف محکمی باشند که هیچگونه نفوذ ؛ نشت کردن یا احتمال شکستن وجود نداشته باشد . ظروف می بایستی در ظرف دیگری که درب آن کاملاًٌ بسته می شود ( مثلاً کیسه پلاستیکی یا کیسه های ziplock پلاستیکی )
* به افراد مسئول حمل نمونه ها بایستی آموزش داده شود .
* نمونه های آلوده در دو کیسه محافظ حمل شوند .
* فرد دریافت کننده نمونه بایستی قبل از باز کردن محفظه داخلی جهت رویت هر گونه نشتی یا ریخته شدن نمونه محفظه را چک کند .
* در صورت بروز هر گونه نشت یا وجود شکستگی نمونه ها بایستی دور ریخته شوند .
* برای برداشتن درب لوله های حاوی خون ، به آرامی درب آنرا در داخل یک محفظه شل کنید و یا غیر مستقیم باز کنید .

**اصول کلی کار در آزمایشگاه :**

* پنجره های آزمایشگاه بایستی کاملاً بسته و کیپ باشند .
* محل کپسول آتش نشانی و جعبه کمک های اولیه را بدانند .
* ورود افراد غیر مجاز به آزمایشگاه ( مگر با اجازه و صلاحدید مسئول آزمایشگاه ) ممنوع است .
* فرد تازه وارد باید در مدت 1 هفته طرز کار با وسایل و دستگاههای مورد نیاز را از مسئول خود آموزش ببینید . فرد تنها پس از آموزش مجاز به کار با دستگاهها می باشد .
* برای کار در ساعات غیر اداری حتماً باید مجری طرح در جریان قرار گیرد .
* کارهای آزمایشگاهی که با وجود رعایت اصول ایمنی که با وجود ریایت اصول ایمنی باز هم برای دیگران مخاطره آمیز می باشد در ساعت خلوت آزمایشگاه انجام گیرند .
* به تنهائی در آزمایشگاه کار نشود .
* پوشیدن روپوش و کفش مخصوص آزمایشگاه
* از لنز استفاده نشود .
* خوردن ، نوشیدن ، جویدن ، سیگار کشیدن در آزمایشگاه ممنوع است .
* از گرم کردن غذا در Microwave آزمایشگاه خودداری شود .
* از یخ خشک Pad های فریز و غیره که برای حمل نمونه ها برای سایر مقاصد بکار می روند استفاده نکنید زیر آنها بالقوه آلوده اند .
* بر روی صفحات کلید و تلفن هائی که در محوطه آزمایشگاه نمی باشند ، بایستی بر چسب تمیز نصب نمود . بطور کلی اینگونه دستگاهها را بایستی از دسترسی پرسنل آزمایشگاه و متصدیان حمل نمونه ها دور نگه داشت . در مواقعیکه افراد فوق نیاز به استفاده از تجهیزات فوق دارند، بایستی قبل از دست زدن به صفحه کلید و دستگاههای مشابه ، دستکش های خود را در آورده و دستان خود را بشویند .
* بر روی کلیه صفحات کلید و تلفن ها بایستی بر چسب تمیز یا آلوده را نصب نمود . برای استفاده از تلفن ها و صفحات کلیدی که بر روی آنها بر چسب آلوده نصب شده است ( شامل تمام صفحات کلید آزمایشگاهی و دستگاههای تلفن که مورد استفاده متصدیان مواد خطر زای بیولوژیک biohazard قرار می گیرد ) بایستی حتماً دستکش به دست داشت .
* هرگز بدون اجازه وسیله ای را جایش تکان ندهید .
* در موقع کار با مواد آتشزا که دارای بخار سمی می باشند حتماً زیر هود کار شود . از دستکش ، ماسک و عینک های محافظ استفاده شود .
* هرگز برای کشیدن مواد از طریق پی پت از دهان استفاده نشود .
* کلیه محصولات خود شامل موادیکه باید ذخیره شوند و پسمانها را برچسب زده نام خود و نام ماده را قید نمائید.
* آخرین نفر پیش از ترک آزمایشگاه باید تمام دستگاهها ، شیرهای گاز و آب ، یخچال ها و فریزرها را چک نماید. جداره خارجی دستگاهها پیپ کننده را در صورتی که در اثر تماس با نمونه آلوده شده را بایستی را با مواد ضد عفونی کننده مناسب ، تمیز و ضد عفونی نمود . اگر دستگاه فوق از داخل آلوده شده باشد ، بایستی دستگاه باز شده و پس ازضد عفونی کردن مجدداً مونتاژ نمود .
* کلیه دستگاه هائی که نیاز به تعمیر دارند ، بایستی قبل از تعمیر تمیز و ضد عفونی نمود .
* تجهیزاتی مانند حمام های بخار ، راک های حاوی لوله های آزمایش هو غیره حداقل ماهی یکبار و هر زمان که با مواد بیولوژیکی آلوده می شوند را بایستی تمیز و ضد عفونی نمود .

**اصول کار در آزمایشگاه میکروبیولوژی**

* تمام مکان ها و میزهای کار بایستی هر روز ضد عفونی شوند و حتی الامکان جهت جلوگیری از مقاوم شدن میکروارگانیزم هر از چند وقت این مواد عوض شوند .
* پرسنل آموزشی ، تحقیقاتی و دانشجویان به دلیل احتمال مواجهه آنها با عوامل بیماری زا را صورت وجود واکسن مربوطه واکسینه شوند .
* انجام واکسیناسیون علیه هپاتیتB در مورد کسانی که در آزمایشگاه کار می کنند به ویژه آنان که با خون و سرم کار می کنند ضروری است .
* در افراد واکسینه شده وضعیت ایمنی آنها بررسی شود و افراد دچار نقائص ایمنی از انجام کارهای پر خطر خوداری نمایند .
* با انجام آزمایشات لازم وضعیت سلامتی کارکنان هر از چند وقت به طور منظم مورد بررسی قرار گیرد .
* قبل از شستشوی روپوش آزمایشگاه حدود 25-20 دقیقه در مواد ضد عفونی کننده خیسانده شود .
* در صورت وجود زخم بر روی دست کاملاً آن را به نحو مناسب بپوشانید و سپس به انجام کار بپردازید .
* وسایلی مثل موبایل ، دسته کلید و غیره را در جای تمیز قرار داده و آنها را روی میز کار خود در آزمایشگاه قرار ندهید .
* برای کار با بعضی از بکتری ها وویروس ها مثلاً فرانسیلا ، یرسینیا ویروس های هپاتیت B و C از عینک محافظ استفاده گردد .
* کار با عوامل بیولوژیک بیماری زا در محل مجزا و در زیر هود مناسب انجام شود .
* نحوه کار با Biosafety cabinet و نکات مرتبط با مقدمات کار ، نکات حین کار و پایان کار را دقیقاً رعایت نمائید . گردش هوا مورد استفاده قرار ندهید .
* در صورت استفاده از هاون جهت همونیژه کردن مواد عفونت زا آن را در زیر کابینت Biosafety مورد استفاده قرار دهید .
* هاون های شیشه ای استفاده نکنید . مگر آنکه در محفظه پلی روتین باشند و هنگام استفاده یک گاز آغشته به مواد ضد عفونی کننده در بالای هاون بگذارید و برای جلوگیری از ایجاد آئروسل پس از قرار دادن محتویات 1 دقیقه صبر کنید سپس از هاون استفاده نمائید .
* پلیت های محیط کشت باکتریائی را به نحو صحیح کمک کنید. و از بوئیدن محتویات پلیت جداً خودداری کنید .
* خودکار ، مداد و غیره را با دهان نگذارید . حین کار دست خود را به دهان و بینی خود نزنید .
* نحوه استفاده و کار صحیح از سانتریفوژ را فرا گیرید . تزریق و کشیدن مایعات به وسیله سرنگ فقط در صورتی انجام شود که با وسائل دیگر امکان انجام آن نباشد . در صورت استفاده سوزن و سرنگ به روش مناسب دفع گردند .
* در صورتی که قصد دارید بوسیله سرنگ ماده ای را درون بطری بریزید ، بطری را به منظور سوراخ نمودن درب آن در دست نگه ندارید و خون یا هر گونه مواد دیگر را با فشار درون بطری نریزید .

**از ایجاد نمودن ائروسل هنگام کار جداً خودداری کنید . کاهش آئروسل :**

* پی پتینگ صحیح : دیوار – تخلیه با فشار / قطره آخر
* نپاشیدن قطرات روی سطح سخت با فشار
* تعمیر کردن سریع قطرات با گاز آغشته به ضد عفونی کننده .
* هنگام ورتکس ، خرد کردن و مخلوط کردن از ظروف در بدار استفاده کنید .
* مایعات را با دقت منتقل کرده از ایجاد حباب جلوگیری کنید .
* انجام مواردی مثل هموژنیزاسیون ، ورتکس ، مخلوط نمودن ، پی پت کردن ، مواد آلوده و عفونی و جابجائی این مواد و ظروف به دلیل امکان ایجاد آئروسل حتی الامکان در زیر biosafety cabinet انجام شود .
* ضایعات حاوی عوامل عوامل بیماری زا بایستی جمع آوری شده بر چسب زده شده بعد به وسیله ضد عفونی کننده ها اتو کلاو و آلودگی زدائی شوند .
* برای آزمایشگاه اتو کلاو و سایر وسائل آلودگی زدائی مهیا باشد و روش های صحیح کاربرد آنها آموزش داده شود. روش های تمیز کردن ، آلودگی زدائی و استرلیزاسیون تجهیزات آزمایشگاه ، وسایل و سطوح بایستی مشخص و در دسترس باشند .
* کلیه حوادث به مسئول مستقیم آزمایشگاه گزارش دهده شود .
* دستور العمل کمک های اولیه در ارتباط در ارتباط به مواجهه انواع عوامل بیولوژیک خطرناک در دسترس باشد .
* در صورت مواجهه با خون و سرم آلده پیگیری های لازم از نظر پیشگیری و درمان به عمل آید جهت این امر قبلاً با یک بیمارستان هماهنگی های لازم به عمل آمده باشد .
* در هنگام بروز حوادث از خروج آلودگیب احتمالی از آزمایشگاه جلوگیری شود .
* پس از اتمام کار ، میز کار خود را با مواد ضد عفونی کننده تمیز نمائید .
* کلیه وسایل را با نظم سر جای خود قرار دهید .
* هنگام خروج از آزمایشگاه ( حتی موقتاً دستکش آلوده را خارج نمائید و از لمس کردن دستگیره درها و غیره خوداری فرمائید .
* پس از اتمام کار دست خود را ضد عفونی کرده و شسته و حتی الامکان چرب نمائید .
* وسائلی که ممکن است ریسک داشته باشند به صورت مرتب از نظر کارکرد بررسی شوند تناوب این بررسی ها بسته به میزان ریسک توسط دستگاه ممکن است متفاوت باشد .

**مواد ضد عفونی کننده مختلف :**

* ترکیبات کلر
* ترکیبات ید
* الکل
* ترکیبات فنل
* ترکیبات چهار ظرفیتی آمونیوم ( QAC)
* گلوترآلدئید
* پروکسید هیدروژن

**میزان مقاومت عوامل عفونت زا به ضد عفونی کننده ها :**

* پریون
* اسپور باکتری ها
* کوکسیدیا ( کریپتوسپوریدیم)
* مایکو باکتریوم
* ویروس های بدون پوشش ( هپاتیت A - پولیو)
* قارچ ها
* ریکتزیا – کلامیدیا
* باکتری های رویا
* ویروس های حاوی پوشش لیپیدی

**دفع ضایعات بیولوژکی :**

1. تمام ضایعات بیولوژی بایستی جمع آوری ، جدا سازی ، بسته بندی ، شماره گذاری و ثبت شده و بر اساس مقررات دفع گردند .روش های دفع می بایست باعث آلودگی هوا ، آب و یا زمین نگردد .
2. تمام ضایعات بیولوژیکی ( مانند محیط های کشت ، نمونه های دور انداختنی ، بیو لوژیکی ) را در کیسه های پلاستیکی Biohazard قرار دهید .
3. لوله های شیشه ای ، بطری های کشت حاوی خون و غیره را در کیسه های پلاستیکی Biohazard قرار داده و سپس درون جعبه های مقوایی که پس از پر شدن و بسته بندی آب بندی می گردد قرار دهید ، جعبه ها را زیاد از حد پر نکنید . جعبه های حاوی محیط های کشت خون بایستی تا نیمه پر شوند .
4. تمام لوازم آلوده نیز ( مانند پیت های تیز ، Tip های پلاستیکی یکبار مصرف ، سوزن ها ، شیشه های شکسته و ..... ) را در ظرف مخصوص وسایل تیز Biohazard که در مقابل سوراخ شدن مقاوم است ، قرار دهید . سوزن ها را قطع و خم ننموده و آنها را نشکنید .
5. تمام ظروف فوق را درون ظرف پلاستیکی بزرگ قرار داده و آن را در اطاق شستشو و یا استرلیزاسیون قرار دهید .

**اصول کار و ایمنی درآزمایشگاه های کشت سلولی و تجهیزات مورد نیاز آن**

**تجهیزات کشت آزمایشگاهی :**

یک اتاق کشت سلولی باید محیطی باشد که حداقل احتمال آلودگی برای سلولهایی که در آن کشت داده میشوند وجود داشته باشد . معمولاً میزان رشد سلولهای باکتریایی و قارچ ها از سلولهای حیوانی بیشتر است .

خصوصیات مهم یک اتاق کشت سلولی جدا بودن محل استریل مانند انکوباتور و هود از محل های شستشو مانند مانند اتوکلاو می باشد . اتاق های کشت سلولی معمولاً در اتاق های کوچکی که افراد وجود دارد ساخته می شود . این اتاق کوچک کشت سلولی باید دارای یک هود ( Laninir Sflow Cabinet Hood ) باشد تا حداقل ذرات معلق موجود در هوا در آن یاد شود .

میکروسکوپ و انکوباتور باید نزدیک به این هود باشند تا انتقال فلاسک های کشت سلولی در حداقل فاصله صورت گیرد . هوای ورودی به اتاق باید توسط یک فیلتر الکتریکی یا high – efficiency particulate Air ( HEPA) که سقف اتاق قرار دارد . کولر نیز به علت حرارت تولید شده توسط انکوباتور و سایر وسایل الکتریکی موجود در اتاق کشت لازم است . در انکوباتور طوری ساخته شده است که تنها با دستان تکنسین می تواند وارد آن شود . این امراحتمال آلودگی رابه حداقل می رساند .

**شستن وسایل شیشه ای قابل استفاده مجدد :**

هدف اصلی آزمایشگاههای کشت سلولی استفاده از ظرف پلاستیکی یک بار مصرف به جای استفاده از ظرف شیشه برای حداقل رساندن آلودگی سلولی است . شستن ظروف شیشه ای برای پاک شدن از عوامل الودگی کار بسیار وقت گیری است ولی هنوز در آزمایشگاههای کشت سلولی وسایلی وجود دارد که نیاز به شستشو و استریل دارند . شستن این وسایل به دقت بسیاری نیاز دارد ، به طوری که هر گونه خطا در مراحل استریلیزه کردن وسایل به آلودگی سلولها می انجامد .

ضروری است که همه وسایل قابل استریل را ابتدا در محلول کلر غوطه ور کنیم . وجود یک سینک عمیق با عمق 45 سانتیمتری برای جمع کردن همه وسایل قابل استریل ضروری است . اگر محل شستشو خارج از محیط کشت باشد می توان از یک سطل برای انتقال آنها استفاده کرد . قبل از انتقال به محل شستشو ، شیشه را زیر آب سرد خوب شستشو داده و اگر نوشته ای روی ظرف وجود داشته باشد با استن خوب آنرا شستشو می دهیم . غوطه ور شدن در کلر بهتر است یک شب طول بکشد .

قبل از استفاده از ظروف شیشه ای باید آنها را در یک Oven با دمای 100 درجه خشک کرد .

اگر چه پپتیهای پلاستیکی یک بار مصرف در بازار موجود هستند ، اما وجود پیپتهای شیشه ای قابل استریل در اتاق های کشت ضروری است . برای استیریل کردن این پیپتها آنها را در محفظه های استوانه ای که از جنس Polypropylene است قرار می دهد . سپس این ظرف اتستوانه ای که پیپت ها در آن قرار دارند در اتو کلاو یا اوون با دمای 160 درجه استریل می شوند .

**هود لامینار :**

شرایط استریل در اتاق کشت سلول در زیر کابینت هایی که هود نامیده می شوند برقرار می شود . هود احتمال آلودگی سلولی را به حداقل می رساند در این محفظه یک لامپ (Ultraviolet) UV قرار داده شده که داخل آن را استریل می کند . سطحآن همیشه باید با الکل استریل شود و از نگهداری فلاسک و ظروف دیگر در آن جلوگیری شود . در هود یک جریان عمودی از فیلتر وجود دارد که هوای درون آن را پیوسته تهویه می کند . معمولی ترین هودها برای کشت سلولی به ارتفاع 22/1 متر می باشند که هودهای کلاس 2 نامیده می شوند .

از طریق یک فیلتر به نام ( HEPA) هوا از بالای کابینت به سطح کاری آن در پایین جریان می یابد این جریان هوا سرعتی حدو.د 4 متر بر ثانیه دارد . این فیلترها از صفحات فیلتری میکروسکوپی برخوردار می باشد که قدرت جذب ذرات 3/0 میکرومتری را با کارایی 99 درصد را دارند . سطح کاری کابینت همیشه باید با الکل 70 درصد استریل شود .

**انکوباتور :**

ضروری ترین وسیله اتاق کشت سلول برای برقراری شرایطی شبیه به بدن انسان در دمای 37 درجه سانتیگراد و co2 و o2 مناسب انکوباتور است . مقدار فاکتورهای ذکر شده توسط این دستگاه قابل اندازه گیری هستند . این سه پارامتر برای رشد سلولها در انکوباتور ضروری می باشند افزایش کاهش حرارت در انکوباتور می تواند برای سلول زیان بار باشد . سلولها در دمای 39 درجه سانتیگراد تنها برای چند ساعت زنده می مانند و در دمای 40 درجه سلولها خواهند مرد . همچنین رطوبت موجود در انکوباتور باید کاملتاً تنظیم شده باشد . این رطوبت از بخار شدن محیط کشت های موجود در فلاسک ،پتری دیش و مولتی ولها جلوگیری می کند CO2 به عنوان یک سیستم بافر عمل می کند تا سطح بیکربنات مورد کشت در حالت تعادل نگه داشته شود و PH آن در اطراف 9/6 تا 4/7 حفظ شود . درصد CO2 موجود در محیط کشت بستگی به نوع محیط کشت مصرفی دارد . مقدار CO2 5 درصد و 10 درصد بیشترین الگو را در انکوباتور دارد . مقدار غیر طبیعی CO2 در انکوباتور باعث تغییر PH و رنگ محیط کشت می شود . کمبود CO2 باعث افزایش PH و افزایش CO2 باعث کاهش PH می شود .

CO2 می تواند به وسیله دستگاهی بنام Fyrite test kit اندازه گیری شود . در این دستگاه ساده نمونه ای از گاز داخل انکوباتور با یک بادکنک لاستیکی به درون مایع دستگاه پمپ می شود و سطح مایع نماینگر درصد co2 موجود می باشد . برای جلوگیری از تغییر PH فلاسکها بعد از خروج آنها از انکوباتور باید از یک بافر در محیط کشت استفاده کرد .

دوماده HEPES و MPOS با دوز 10 تا 20 میلی مول این امر را میسر می سازند .

در یک اتاق کشت مدرن سلولی دو کپسول CO2 در کنار انکوباتور قرار داده می شود . هر کپسول دو دریچه تنظیم کننده دارد . یکی از این دریچه ها برای اندازه گیری فشار زیاد درون کپسول می باشد که فشاری در حدود 2000-0 Psi را اندازه گیری می کند . و دیگری برای اندازه گیری فشار درون انکوباتور می باشد که فشاری در حدود 30-0 Psi را اندازه گیری می کند .

دستگاه اندازه گیری فشار کم به یک سوئیچر متصل می باشد که وقت فشار آن به زیر psi 3 برسد ، کپسول بعدی را به آن وصل می کند .

درصد CO2 موجود در اکوباتور توسط یک گاز آنالایزر مادون قرمز کنترل می شود . این سنسور به تغییرات گاز تا 1/0% حساس است .

هوا به درون انکوباتور با یک پمپ که در سر راه آن یک فیلتر قرار دارد جریان می یابد . یک سینی آب در ته انکوباتور قرار داده می شود تا رطوبت درون انکوباتور را ثابت نگه دارد .

آب موجود در این سینی باید استریل باشد و برای جلوگیری از آلودگی به آن مواد ضد عفونی کننده افزوده می شود .

**فلاسک های محیط کشت :**

در دهه گذشته فلاسک های محیط کشت از شیشه های سیلیکانی ساخته می شدند . مهمترین آنها Roux Bottle بود که به شکل دو طرف مسطح با مساحت 230 cm2 بود و ظرفیتی در حدود 500 میلی لیتر داشت . این فلاسکها قابل شستشو بودندو این امر احتمال آلودگی آنها را بالا می برد . در آزمایشگاههای مدرن امروزی از فلاسکهای پلاستیکی که از جنس polystyrene می باشند استفاده می شود . این فلاسکهای یک بار مصرف برای چسبیدن سلولهای مهیا گشته و با اشعه گاما استریل شده اند . استفاده از این فلاسکهای یک بار مصرف احتمال آلودگی در محیط کشت را به حداقل رسانیده است . سطح این فلاسکها باید با فرآیندهای شیمیایی خاص باردار شود تا امکان چسبیدن سلولها به آن فراهم شود . شیشه های Borosilicate قدیمی از قدرت کمی برای چسبندگی سلولی برخوردار بودند . اما با روشهای شیمیایی سطح آنها باردار می شد . برای این کار از روش Alkali Treatment استفاده می شده است . در این روش 0.1 EDTA مولار در Naoh Mm 25 در دمای 122 درجه برای 30 دقیقه به آنها اضافه می شده است . برای چسبیدن سلول به کف دیش به حضور یونهای کلسیم و منیزیوم در محیط کشت نیاز است . بررسی میکروسکوپ الکترونی در محل چسبیدن سلول به کف دیش حضور پروتئین های 50 انگسترومی را در محل چسبیدن نشان می دهد . این پروتئین ها می توانند از سلول ترشح شده یا از ترکیبات سرمی محیط کشت باشند .

فلاسکهای کشت امروزی که از جنس polystyrene هستند نیز با روش های شیمیایی باردار شده تا برای چسبیدن سلولها به کف آن آماده شوند . فلاسکهای پلی استیرن خانگی آبگریز بوده و فاقد بار می باشند . برای باردار کردن فلاسکها و آبدوست کردن آنها از اسید سولفوریک استفاده می شود تا سطح آنها سولفاته و باردار شود . روش دیگر باردار کردن الکنتریکی آنها یا ولتاژهای بالا است . این کار نیز منجر به منفی شدن سطح باری آنها می شود مقدار بهینه بار برای چسبیدن سلول به کف فلاسک (1410 × 10-2 ) در هر سانتیمتر مربه است . همچنین تغیراتی شامل اضافه کردن گروههای کاتیونیک و آنیونیک به کف فلاسک نیز در سطح آنها انجام می شود .

همچجنین کف فلاسک می تواند با استفاده از پلیمرهایی چون (polyacrylamide ، polylysine ، polyhistidine ،protamine DEAE-dextran ، Polyarginine ، Polyornithine) دارای بار مثبت شود . Poly-D-lysine با وزن مولکولی 30 تا 300 کیلو دالتون برای پوشاندن سطح فلاسکها و باردار کردن مثبت آنها استفاده می شود برای این کار کف فلاسک را با محلول Poly D- Lysine با دوز 10 میکرو گرم در هر میلی لیتر می شویند تا کف آن باردار شود .

انتخاب نوع ظرف کشت به نوع سلول که چسبنده باشد یا در محیط کشت معلق باشد بستگی دارد . ظروفی مختلف از حجم 10 میکرو لیتر تا 10000 لیتر برای کشت سلولی توسط شرکتهای مختلف ساخته شده اند .

محبوبترین شکلهای ظروف کشت سلول ، مولتی ولها ، پتری دیشها و فلاسکهای کشت بافت که T-flask نیز نامیده می شوند از جنس پلی استیرن هستند . مولتی ولهای 24 تایی حجمی در حدود 2 میلی لیتر محیط کشت در هر ول ظرفیت دارند . مولتی ولهای 96 تایی 3/0 میلی لیتر در هر ول ظرفیت دارند . خارج کردن سریع محیط کشت از مولتی ولهای 96 تایی توسط پیشتور مولتی ول میسر می باشد خواننده مولتی ول 96 تایی ، برای اندازه گیری غلظت سلولی ولها استفاده می شود .

فلاسکها و پتریب دیشها حدوداً حجمی از 2 تا 100 میلی لیتر محیط کشت را در خود نگه می دارند . و برای کشت سلولی چسبنده یا کروی (spheroid) مناسب هستند . این فلاسکها به سازهای 25، 75 و 175 سانتیمتر مربع تقسیم بندی می شوند .

بطریهای spinner شیشه های ایستاده کشت سلول هستند که یک پره تفلونی و حاوی مگنت در مرکز خود دارند و وقتی در یک چرخنده مغناطیسی قرار می گیرند . محلول موجود در خود را می چرخانند . ظرفیت این بطری 5 تا 10 لیتر است .

بزرگترین ظرف متداول برای کشت سلول بطری Roller می باشد . این ظرف پلاستیکی و استوانه ای شکل است و در دستگاه Roller قرار می گیرد . شکلهای استاندارد این بطری در مساحت های 490 ، 850 ،1750 سانتیمتر مربع ساخته و با 250 تا 500 میلی لیتر از محیط پر می شوند .

دستگاه چرخنده ، بطریRoller را به آرامی می چرخاند تا محیط کشت به تمام سطوح آن برسد. این چرخیدن باعث می شود که سلولها در تمام سطوح این بطری بچسبند .

Inverted Microscope دو میکروسکوپ برای کنترل سلولها در اتاق کشت وجود دارد . یکی میکروسکوپ invert است که برای کنترل منظم رشد دیدن کلنی برخی سلولها و نیز اطمینان از سالم بودن سلولها لازم است .

طرح این میکروسکوپ بدین صورت است که نور از بالا به آن می تابد و یک کوندانسور که در فاصله زیادی با نمونه قرار دارد نور را برای دیدن سلولهای فلاسک تنظیم می کند .

میکروسکوپ نوری (light Microscope) برای شمارش سلولی با لام نئو بار به کار می رود و دارای نگهدارنده اسلاید است .

**سانتریفیوژ**

یک سانتریفیوژ با دور کم برای کشت سلول لازم است .

یک سانتریفیوژ با قدرتی حدودg 150-200 به مدت 5 تا 10 دقیقه برای جدا کردن سلول از محیط کشت لازم است . نیرو و زمان بیشتر ممکن است با متراکم کردن سلولها در کف تیوپ به آنها آسیب برساند . بعد از سانتریفیوژ محیط رویی باید دور ریخته و ته مانده سلولیResuspend شود . به طور معمول چنین سانتریفیوژهایی برای لوله فالکون های 15 و 50 لیتری وئو یا میکروفیوژهای 1 میلی لیتری ساخته می شوند .

**تانک نیتروژن مایع :**

سلول ها برای مدت زمان طولانی می توانند در دمای زیر صفر زنده بمانند . این کار مانع از آلودگی سلولها و تغییرات ژنتیکی آنها می شود برای یک رده سلولی با ارزش بهتر است از دو تانک نیتروژن استفاده شود. تانک اصلی ذخیره و تانک کاری، تانک اصلی ذخیره دارای سلولهایی است که از پاساژهای اولیه بدست آمده اند . تانک کاری ، شامل سلولهایی است که در پاساژهای بعدی منجمد شده اند. سلولها در محیط کشت منجمد و در ویالهای 2 میلی لیتری به مقدار 107 سلول در میلی لیتر در تانکهای نیتروژن قابل نگهداری هستند . محیط کشت منجمد شامل سرم گاو و ماده نگه دارنده Glycerol یا ( DMSO) که سلولها را در هنگام منجمد و ذوب شدن حفاظت می کند است . حضور ماده نگهدارنده باعث می شود که سلولها بتوانند تا دمای 196 درجه زیر صفر را تحمل کنند . روشهای فریزر و ذوب برای بقا سلولها بسیار مهم می باشند. فریز کردن آهسته و ذوب کردن برای بقا سلولها بسیار حیاتی اند . برای فریز کردن سلولها ، وقتی که آنها در محیط فریز قرار داده شده اند باید خیلی آسته فریز شوند . برای این کار ابتدا 1 ساعت آنها را در دمای 4 درجه زیر صفر نگهداری می کنند . سپس به مدت یک شب آنها را در دمای 70 درجه زیر صفر نگهداری می کنند . سپس آنها را وارد نیتروژن مایع می کنند . ظرفیت تانک نیتروژن می تواند 25 تا 500 لیتر باشد . نیتروژن مایع باید به صورت منظم به ظرف الضافه شود تا دمای آن ثابت نگه داشته شوئ . تانکهای معمولی قدرت نگهداری 250 تا 15000 ویال پلاستیکی را دارند .

**اصول و روش های گندزدایی در آزمایشگاه های کشت سلولی**

**Aseptic Techniques**

**مقدمه ای بر Aseptic techniques :**

آلودگی با میکرو ارگانیسم ها یک مشکل اساسی در کشت سلولی است، باکتری مایکوپلاسما، مخمر و اسپورهای قارچ ممکن است از طریق فرد اتمسفر، سطوح کاری ، محلول ها و منابع دیگر وارد کشت شوند . هدف از Aseptic techniques خارج کردن با ایجاد و وضع تمرین ها و قواعدی که هر شخص با استفاده از بتواند به این هدف برسد .

آلودگی می تواند خفیف باشد و محدود به یک دو کشت شود یا می تواند گسترش یابد و حتی همه استوک را هم درگیر کند . این واقعه می تواند به کمترین حد خود برسد اگر :

1. کشت ها با چشم و با یک میکروسکوپ و ترجیحاً invert مرتباً چک شوند .
2. کشت ها بدون آنتی بیوتیک نگه داشته شوند . حداقل برای یک مدت زمان تا بتوانند آلودگی را نشان دهند .
3. همه مواد قبل از مصرف از لحاظ استریل بودن چک شوند .
4. بطری ها و محلول ها با افراد دیگر شرکت نشوند یا برایب cell – line های مختلف استفاده نشوند .
5. استاندارد تکنیکهای استریل در همه زمان ها رعایت شود Maintaining ster rility

تکنیک استریل صحیح باید یک مرز بین میکروارگانیسم ها ، محیط خارج محیط کشت و محیط داخل فلاسک ایجاد کند. بنابراین تمامی وادی که در تماس مستقیم با کشت هستند باید استریل باشند . اما اگر کار در شرایط استریل انجام نشود این مرز بندی استریل نمی تواند کاملاً جلوگیری کند . چون اگر چه شرایط آزمایشگاهها پیشرفت کرده است اما آزمایشگاههای جدید اغلب شلوغ است و امکانات باید شراکتی استفاده شود.

**Elements of Aseptic environment**

1. محیط آرام

در عدم حضور یک هود لامینار یک اتاق استریل ایزوله می تواند برای کار استریل استفاده شود . اگر این امکان ندارد یک مکان بدون رفت و آمد از آزمایشگاه را می توان در نظر گرفت . با هود لامینار هم باید یک منطقه ای انتخاب شود که جریان هوا وجود نداشته باشد یا نباید دستگاههایی باشند که جریان هوا ایجاد کنند . فعالیت ها باید در اتاق کشت محدود شوند و کشت های حیوانی و میکروبیولوژی باید از این محیط خارج شوند . کارهای غیر استریل مانند sample processing یا آماده کردن نمونه ها رنگ آمیزی ها ، استخراج ها باید در یک مکان دیگر انجام شود .

1. سطوح کار :

مهم است که سطوح کار تمیز باشد بنابراین قوانین زیر باید رعایت شود .

1. با یک سطح کاملاً تمیز کار شود .
2. سطح کار باید با الکل 70% تمیز شود
3. فقط مواردی که در یک روش کار خاص نیاز دارید روی سطح قرار دهید .
4. هر چیزی که نیاز نمی باشد خارج کنید و مرتباً بین مراحل کار سطح را تمیز کنید .
5. محیط کاری تان را تقسیم بندی کنید در این صورت شما به راحتی به همه چیز دسترسی خواهید داشت اگر شما همه وسایل را نزدیک به خودتان قرار دهید . بدون اینکه متوجه شوید سر پیپت یا سر سمپلر با آنها تماس خواهد داشت بعلاوه جریان هوا در زیر هود لامینار هم به خوبی انجام نمی شود .
6. هود لامینار افقی کمتر توصیه می شود .
7. به گونه ای کار کنید که همه چیز در دید مستقیم شما باشند مثلاً زاویه دید استفاده از پیپت و گذاشتن سر سمپلر و ....
8. هر گونه سر ریز شدن محلول ها را سریعاً با دستمال و الکل 70% تمیز کنید .
9. بعد از تمام شدن کار همه چیز را خارج کرده و سطح کار را دوباره تمیز کنید .
10. **بهداشت شخصی :**

بحث های زیادی وجود دارد که آیا شستن دست ها تعداد باکتری ها را روی دست کاهش می دهد . شستن دستها میکروارگانیسمهایی را که به صورت مرده و ریزشی به دستها چسبیده اند و ریزش آنها برای کشت خطرناک است و مناسب نیست را کاهش می دهد . دستکش های جراحی ممکن است پوشیده شود و مرتب swab شود اما گاهی ترجیح داده می شود که بدون آنها کار شود ( اگر خطری وجود ندارد )

کلاه و گان و ماسک های صورت باید تحت شرایط (GMP)Good Manufactring Practic استفاده شود . اما در شرایط نرمال لازم نیست مخصوصاً وقتی هود لامینار کار می شود . اگر موی بلند دارید آن را از پشت سر ببندید. اگر در یک open bench کار می کنید بحث نکنید . صحبت کردن وقتی مجاز است که شما در حال کار کردن در یک هود لامینارهستید اما بهترذ است در حد مینیمم باشد . اگر شما سرما خورده اید ماسک بپوشید یا بهتر است که در این شرایط کشت انجام ندهید .

1. **محلول ها و محیط های کشت :**

محلول ها و محیط هایی که تجاری تهیه می شوند باید تحت کنترل شدید کیفیت باشد و مطمئن بود که استریل باشند بعضی شرکت ها بطری هایی تولید می کنند که در پلی اتیلین پیچیده شده است که آنها را تمیز نگه می دارد و می توان آنها را در water bath قرار داد . بطری های بدون پوشش باید با الکل swab%70 شود وقتی از یخچال و ...... بیرون آورده شود .

1. **کشت ها :**

کشت هایی که از آزمایشگاه دیگر گرفته می شود خطر آلودگی را دارند . cell line هایی که به آزمایشگاه آورده می شود باید همیشه گارانتی باشند و حتماً باید جداگانه از بقیه کشت ها نگه داشته شوند و آنتی بیوتیکها به صورت روتین اضافه نمی شود تا وضعیت آلودگی کشت مشخص شود .

**استریل کار کردن :**

1. ***Swabbing***

سطح کار با دستکش 70% قبل از کار و در حین کار بخصوص بعد از هر بار سر ریز شدن تمیز کنید . و همچنین بعد از تمام شدن کار بطری ها را Swb کنید بخصوص آنهایی که بن ماری یا از یخچال خارج می شوند . ایزوپروپیل الکل می تواند به جای اتانول یا متانل استفاده شود به صورت آماده در دسترس است .

1. ***Capping :***

درهای با پیچ های عمیق ترجیح داده می شود و باید دقت شود که همه دترجنتها از لا به لای پیچ ها خارج شود . باید درهای یک بار مصرف استفاده شود در پیچ ها بایئد با فویل آلومینیومی پوشیده شود تا گردن بطری از گرو و غبار محافظت شود .

1. **Flaming :**

در هنگام کار کردن در یک open bench پیپت های شیشه ای و سر شیشه ها و درهای پیچ دار قبل و بعد از باز و بسته کردن بطری باید نزدیک به شعله کار کرد و نباید درب بطریها باز نگه داشته شوند . درهای پیچ دار باید قبل از قرار گرفتن روی بطری شعله گرفته شوند .

هنگام کار با هود لامینار استفاده از شعله توصیه نمی شود چون به هود آسیب می رساند .

1. **Handling bottles :**

در هنگام کار کردن یک open bench نباید باطری های عمود نگه دارید وقتی باز است در عوض آنها را در یک زاویه نگه دارید . بدون خطر سریز شدن فلاسک های کشت باید به صورت افقی قرار داده شوند . هنگام کار کردن با هود لامینار بطری ها می توانند عمودی و باز نگه داشته شوند .

5–**Pipetting** :

پیت های پلاستیکی یکبار مصرف یا شیشه ای هنوز هم راحت ترین روش برای جابجا کردن مایعات است .

**6- Pouring :**

از یک ظرف استریل به داخل ظرف دیگر نریزد . مگر اینکه بطری که از آن خالی می کنید فقط یکبار استفاده می شود . خطر اصلی در ریختن این است که یک پلی از مایعات بین خارج بطری و داخل آن ایجاد می کند که باعث می شود آلودگی وارد بطری شود .

**Standard procedure**

**پتری دیش و پلیت های مولتی اول :**

پتری دیش به دلایل زیر مستعد به آلوده شدن می باشند .

1. سطح بیشتری به محیط خارج ارتباط دارد وقتی که دیش باز است .
2. خطر تماس انگشت با دیش وقتی که دیش با درباز در حال جابجا کردن هستیم .
3. خطر انتقال آلودگی از محیط کار با پلیت از طریق در آن اگر وارونه گذاشته باشد .
4. محیط کشت پر کننده در و پلیت در هنگام انتقال پلیت
5. ریسک بیشتر آلوده شدن را کاهش خواهد داد

**تمرین های زیر خطر آلودگی را کاهش خواهد داد :**

1. دیش ها را برای یک مدت طولانی باز باقی نگذارید .
2. هنگام انتقال دیش از انکوباتور باید مراقب بود که زیاد تکان نخورند. برای احتیاط بیشتر می توان

الف- از دیش های عمودی استفاده کرد .

اگر محیط کشت هنوز در فضای بین در و دیش وجود دارد در را دور بیندازید محیط کشتی که در این فضاست را باید آغشته به الکل 70% تمیز کنید و یک در استریل روی آن قرار دهید .

ج- دیش ها و پلیت ها را در یک جعبه انتقال پلاستیکی قرار دهید .

**وسایل و مواد :**

1. **انکوباتور :**

انکوباتور های مرطوب یک منبع اصلی آلودگی است و باید به طور مرتب تمیز شوند . با خارج کردن محتویات شامل همه سینی ها و شستن آنها با یک دترجنت غیر سمی مانند Roccall و Decon باقی مانده های دترجنت باید با الکل 90% خارج شوند که باید اجازه داده شود که به طور کامل تبخیر شود قبل از اینکه قفسه ها دوباره قرار داده شوند .

یک fungicide مانند Roccasll 2% یا سولفات مس 1% می تواند داخل سینی انکوباتور قرار داده شود . بعضی انکوباتورها سیکل استریلاسیون با درجه حرارت بالا دارند . بعضی انکوباتور ها هم فیلتراسیون با سوراخ هایی بسیار ریز و هود لامینار دارند تا از جریان یافتن میکرو ارگانیسم ها جلوگیری کند .

1. **جعبه کشت :**

وقتی مشکلات آلودگی با انکو باتور مکرر اتفاق می افتد می توان پلیت ها و فلاسک ها را در جعبه پلاستیکی قرار داد . جعبه باید قبل از استفاده داخل و خارج آن swab شود و اجازه داده شود تا خشک شود .

وقتی جعبه از انکوباتور خارج می شود باید با الکل 90% قبل از باز شدن swab شود . فلاسک ها با درهای قابل نفوذ لازم نیست که داخل جعبه قرار داده شوند . ولی باید قبل از قرار دادن داخل انکوباتور swab شود .

1. **گاز CO2 :**

فلاسک های با درهای فیلتر دار به سرعت با CO2 محیط به تعادل می رسد. بدون اینکه خطر آلودگی باشد. میتوان داخل فلاسک را گازCO2 استریل وارد کرد و در آن را محکم کرد.   
**انواع خطرات و راهکارهای مقابله با آن در آزمایشگاه ها**

**Laboratory safety :**

Risk assessment یک اصل مهم است که وارد قوانین جدید safety شده است . تعیین طبیعت و وسعت یک خطر خاص فقط بخشی از مراحل نیست. شرایط محیطی معمولی در تعیین خطر مهم است . چنین توجهاتی مانند مقدار یک ماده خاص ، درجه تناوب تماس پیدا کردن با یک خطر ، وسعت عمل ، روشهای کار کردن با مواد و سایل ، کسی که از آنها استفاده می کند و تجربه و آموزش آنها ، نوع پوشش ، خطراتی مانند در معرض حرارت ، یخ زدگی و جریان برق گرفتن همگی در ایجاد خطر شرکت دارند . اگر چه طبیعت خطر خودش ثابت باشد . یک مشکل اصلی که در ایجادsafe practice در یک آزمایشگاه بیولوژی وجود دارد مفهوم غیر متناسبی است که به بیشتر خطرات ساده داده می شوند . مثلاً آنهایی که از آلودگی ژنتیکی منشا می گیرند نسبت به خطرات شناخته شده و ثابت شده ای مانند آتش ، مواد خورنده و ...... مهم این است که biohazards به طور صحیحی دسته بندی شوند .

**Standard operating procedurse :**

مواد خطر زا ، تجهیزات و شرایط نباید به صورت مجزا تصور شود بلکه باید قسمتی از کار در نظر گرفته شود و اگر یک procedure فرض شود که در وضعیت خطر خیلی خاص انجام می شود یک SOP یا روش کار استاندارد یا Standard operating procedurse باید برای آن تعریف شود و همه کسانی که با آن ماده خاص کار می کنندباید با آن روش آشنا شوند مراحل مختلف روش باید تعیین شود و باید در نظر داشت که وجود بیش از یک خطر در یک روش ، خطر را پیچیده می کند و احتیاط های لازم را پیچیده می کند . ( مثلاً یک فرد برای دور انداختن یک شیشه شکسته که در تماس با یک cell line انسانی که با رادیو ایزوتوپ آلوده شده است چه کار باید انجام دهد .

Safety regulation توصیه های زیر شاید به عنوان یک تمرین توصیه نشود اما در عوض به عنوان یک پیشنهاد برای کمک در اجرای قوانین safety می باشد . قوانینGeneral Safety از طریق دفتر یا Office Safety در سازمانی که شما کار می کنید می تواند در دسترس قرار گیرد بعلاوه آنها از اداره بهداشت و ایمنی حرفه ای OSHA در آمریکا و درUK از مدیریت بهداشت و ایمنی در قوانین کار در دسترس هستند . این قوانین همه جوانب General safety را در بر می گیرد .

Safety guide line یا دستور العمل های ایمنی در اروپا در سطح ملی اجرا می شود و از مسئولیت پذیری هر کشور است تا از رعایت مناسب دستور العمل ها مطمئن شود .

**General safety**

بیشتر بر جنبه های ایمنی شخصی در یک آزمایشگاه کشت سلول تاکید می کند و شامل موارد ذیل می باشد :

1. **Operator :**

از مسئولیت پذیری یک سازمان است که آموزش های صحیح را برای انجام صحیح آزمایشگاهی فراهم نماید و مطمئن شود که اعضای جدید و قدیمی با قوانین Safety آشنا هستند . از وظایف Supervisor می باشد که نظارت کند که روش ها به طرز صحیح انجام می شود و لباسها به طرز صحیح پوشیده شده است .

1. **Equipment**

یک فرد مسئول باید برای حفاظت از همه تجهیزات، ایمنی الکتریکی و قابلیت استفاده از ماشین ها منصوب شود . یک منشی باید برای هر وسیله خاص قرار داده شود تا مراقبت و نظارت بر عملکرد آن را بر عهده داشته باشد و به دیگران روش کار آن را ، خطرهای ویژه شامل تولید هوای سمی،Aerosols یا ذرات معلق از سانتریفیوژها و هموژنیزرها آموزش دهد .

1. **وسایل تیز و شیشه ای**

بیشتر انواع صدمات در انجام کشت سلولی ناشی از کار با شیشه های شکسته و نیدل های سرنگ است . بخصوص پیپت های شکسته که در سیلندر های شستشو قرار می گیرند بسیار خطرزا هستند . پیپت پاستورهای شکسته نباید همراه با دیگر پیپت ها در یک سیلند شستشو قرار داده شوند . پیپت پاستورها باید به داخل یک Sharp Bin دفع شود و نباید داخل زباله های معمولی قرار داده شود . چون به راحتی می شکند اگر بخواهیم دوبار استفاده کنیم باید جداگانه و با مراقبت زیاد نگهداری شوند پاستور پیپت های پلاستیکی یکبار مصرف هم می توان استنفاده کرد که نوک آنها ضخیمتر است . از سرنگ استفاده نشود مگر اینکه برای کشیدن آمپول ها استفاده شود . وقتی نیدل ها اوت می شوند باید از یک ظرف فلزی یا پلاستیک محکم استفاده شود باید یک ظرف جداگانه برای شیشه های شکسته و نیدل های تیز استفاده کرد . باید مراقب بود که در هنگامی که یک بالب را بر سر یک پیپت نصب می کنید باید بالب حتماً مناسب با پیپت باشد و پیپت را از نزدیک انتها نگهدارید یا فشار کمی به آن وارد کنید این ایمنی فقط برای پیپت های شیشه ای نیست پیپت پلاستیکی هم ممکن است در دست بشکند .

1. **Chemical Toxicity :**

نسبتاً مواد سمی کمی در کشت سلول استفاده می شود اما وقتی استفاده می شوند باید احتیاط لازم را انجام داد . توجه ویژه باید به قرار دادن پودرها و Aerosol ها (ایجاد ذرات ریز مایع) در زیر هود باید انجام داد . دترجنت ها به خصوص آنهایی که در ماشین های شستشو استفاده می شوند بسیار رسوب آور هستند و حتی می توانند باعث التهاب در پوست چشم ها و ریه گردند.Disinfectant های شیمیایی مانند هیپوکلریت باید با احتیاط استفاده شود . هیپوکلریت لباس ها را بی رنگ می کند و باعث التهاب پوست می شوند و حتی به استیل آسیب می زنند .

**مواد شیمیایی خاصی که در کشت سلول استفاده می شوند و نیاز به توجه ویژه دارند شامل :**

1. DMSO یا دی متیل سولفوکساید که یک حلال قوی است و نفوذ کننده به پوست است و می تواند بسیاری از مواد را از طریق پوست به داخل انتقال دهد . حتی از بین بسیاری از دستکش های محافظت کننده مانند دستکش های لاتکس یا سیلیکون ) عبور می کند .
2. موتاژن ها ، سرطان زاها و داروهای سیتوتوکسیک که باید در زیر یک هود لامینار با آنها کار شود یک هود کلاس II برای کار کردن با مقادیر کمی از این مواد کافی است اما لازم است تا از یک هود خاص برای مواد شیمیایی سیتوتوکسیک استفاده کرد . موتاژن ها سرطان زاها و دیگر مواد شیمیایی گاهی اوقات در DMSO حل می شوند خطر جذب از طریق پوست را افزایش می دهند . دستکش های نیتریل یک محافظ بهتر می باشد ولی باید تست هم شوند .
3. **گازها :** اغلب گازهایی که در کشت سلول استفاده می شوند ( O2 , N2 , CO2 ) در مقادیر کم مفید هستند اما اگر به طرز صحیح استفاده نشوند می توانند خطرناک باشند . آنها باید در سیلندرهای تحت فشار نگهداری شوند که به طور صحیح مهار شده اند. اگر یک نشت بزرگ اتفاق بیافتد احتمال خفگی با CO2 و N2 و همچنین آتش سوزی با O2 وجود دارد . تخلیه هوا و حداکثر تهویه ضروری است و اگر نشت O2 وجود دارد باید آتشنشانی را خبر کرد. یک مونیتور اکسیژن باید نزدیک به مناطقی که ذخیره CO2 و N2 مایع می باشد باید قرار گیرد .
4. **نیتروژن مایع :**

سه خطر مهم با نیترژون مایع وجود دارد یخ زدگی ، خفگی و انفجار

چون درجه حرارت نیتروژن مایع 196– درجه سانتیگرداد است تماس مستقیم با مایع آن یا با مایع هر چیزی به خصوص یک فلز که با آن مخلوط شده باشد یک آسیب جدی ایجاد می کند . دستکش هایی که به اندازه کافی ضخیم هستند ولی به اندازه کافی هم Flexible هستند باید پوشیده شود وقتی نیتروژن مایع در حین انجام کار روتین کشت استفاده می شود تهویه مناسب لازم است . به خاطر داشته باشید که 1 لیتر از نیتروژن مایع حدود 700 لیتر گاز تولید می کند . یک مانیتور اکسیژن و آلارم باید قرار داده شود و متصل به دستگاه تهویه باشد بنابراین افزایش N2 غلظت O2 را کاهش می دهد و باعث افزایش تهویه می گردد. وقتی یک ویال در نیتروژن مایع غوطه ور شود یک تفاوت فشار زیاد بین داخل و خارج ویال ایجاد می شود و اگر ویال خوب سیل نشده باشد. نیتروژن مایع داخل آن وارد شود و وقتی ویال برای استفاده از سلول های آن گرم می شود ناگهان منفجر می شود. بنابراین ویالی که داخل مایع قرار می گیرد باید کاملاً سیل شده و وقتی می خواهیم آن را فریزر کنیم باید در یک محوطه در بسته این کار انجام شود و یک عینک محافظ هم باید پوشیده شود .

**BURNS**

سه منبع اصلی که خطر سوختگی دارند .

1. اتو کلاو آون ها و HOT PLAT ها
2. جابجا کردن وسایلی که از داخل آنها خارج می شود .
3. شعله های بی حفاظ مانند Bunsen burner

باید یادداشت های اخطار کننده نزدیک همه وسایل داغ مانند شعله ها و همه وسایل که برای استریل کردن می باشند نوشته شود و همه وسایل باید اجازه داد خنک شود و بعد خارج شوند و دستکش های مناسب برای خارج کردن وسایل قرار داده شوند .

Fire :

خطرات ویژه آتش زایی در کشت سلولی ناشی از استفاده از شعله ها ، همراه با الکل برای swab کردن می باشد باید این دو را جدا از هم نگهداری کرد و همیشه الکل را در حجم های کم در بطری های پلاستیکی نگه داشت و نزدیک به یک شعله نباید قرار داد وقتی وسایل در الکل استریل می شوند و بعد روی حرارت گرفته می شوند نباید آنها را وقتی آنها هنوز داغ هستند دوباره در الکل قرار داد. اگر از این تکنیک استفاده می کنیم باید با یک پارچه مرطوب شعله الکل را مهار نمود .

**Lionizing Radiation :**

سه نوع اصلی از خطر radiation یا تشعشع یونی در کشت سلولی وجود دارد .

1. Ingestion
2. تشعشع از مواد label شده
3. تشعشع از یک منبع پر انرژی

1 **Ingestion-**

ترکیبات رادیو لیبل شده محلول می تواند بوسیله پخش روی دست ها یا از طریق aerosol هایی که بوسیله پیپت کردن یا استفاده از سرنگ تولید می شود ingest شود . نوکلوتیدهای رادیو لیبل شده اگر تصادفی ، ingest شود به داخل DNA وارد خواهد شد و موجب آسیب به DNA می شود . به دلیل تشعشات بتا که از آن ساطع می شود. ایزوتوپ های رادیو اکتیو ید ، در تیروئید تجمع پیدا می کند و موجب صدمه می شود . باید در زیر یک هود کلاس 2 کار کرد و دستکش پوشید و مواردی که با آن کار می کنید داخل یک سینی عمیق قرار دهید با یک کاغذ هر گونه سر رفتگی را جمع کنید . از کوچکترین قسمت یک وسیله استفاده کنید (یک پیپتور با Tip های یکبار مصرف کوچک ) در مقایسه با بقیه وسایل waste های با حجم کمتر ایجاد کند محیط را بعد از اتمام کاملاً تمیز کنید .

2- Disposal of Radioactive waste

روشهای و قوانین دفع مواد رادیو اکتیو مشخص است. به طور خلاصه مقدار رادیو اکتیوی که در طول یک مدت زمان خاص دفع می شود یک محدودیت دارد . دفع آنها در یک سینک های طراحی شده ای محدود می شود و مقادیری که دفع می شود لازم است که در یک دفتر یادداشت در کنار محل دفع یاداداشت شود . ظروفی که برای دفع استفاده می شود لازم است که با استفاده از یک دترجنت مناسب و پس از شستن مواد دفعی به عنوان زباله رادیواکتیو آلودگی زایی شود .

3-Radiation from labeled Reagents

دومین نوع خطر از irradiation از منابع با انرژي بالا مانند β وƔ می باشد مانند 51 cr , 131 1 I , 125I , 32 P است . حفاظت می تواند با کار کردن پشت یک دیوار سربی 2mm ایجاد شود و ایزوتوپ ها را داخل یک قوطی سربی نگه داشت.

1. 4- Irradiation from high energy sources :

نوع سوم از خطر irradiation از ماشین های X- ray هستند منابع با انرژی خیلی بالا CO 60 یا منابع اشعه ماورا بنفش (UV ) که برای استریلیزه کردن یا متوقف کردن رشد سلولها در Feeding layer استفاده می شود چون انرژی مخصوصاً ازX ray یا 60Co خیلی زیاد است این منابع معمولاً در یک ساختمان خاص طراحی شده قرار داده می شوند و تحت مراقب ویژه هستند . منابع uv می توانند باعث سوختگی پوستی شود و به چشم ها آسیب بزند با آنها به دقت رفتار کرد تا از آسیب های مستقیم جلوگیری کرد و باید عینک های مخصوص فیلتر دار استفاده کرد . با دفاتر مخصوص radiological قبل از شروع آزمایشات شور کنید قوانین رادیو ایزوتوپ محلی متفاوت است اما همه کنترل شدید روی مکان ، مقدار و دفع این رادیو ایزوتوپ ها دارند .

Biohazard :

همانطور که برای استفاده از رادیو ایزوتوپ گفته شد استفاده از مواد خطرزای بیولوژیکی ( biohazards) نیاز به یک آزمایشات پزشکی عمومی وجود دارد مثلاً نگه داشتن یک نمونه از خون قبل از شروع کار نیاز به حفاظت در مقابل بیوهازاردها هم بوسیله منبع ماده و هم بوسیله طبیعت کاری که قرار است انجام شود تعیین می شود و همچنین بستگی به شرایطی که کشت در آن انجام می شود دارد . با ورود هودهای لامینار افقی ، استریل بودن کشت حفظ می شد اما فرد در معرض آلودگی قرار داشت . این منجر به پیشرفت هودهای لامینار عمودی شد که امروز به عنوان کابینت های میکروبیولوژی کلاس II تعریف می شود .

**Levels of Biological containment**

چهار سطح Biological safety بوسیله انجمن ملی سلامت (National institutes of Heads NIH ) تعریف شده است. این ها شامل تمرین ها و امکانات و روش های Safety است. Guideline های انگلستان هم 4 سطح ایمنی بیولوژیکی دارد که تفاوتهای کمی با دسته بندی آمریکایی دارد . این جدول فقط خلاصه ای را ارائه می دهد و هر شخص که تحت شرایط خاص بیوهازارد کار می کند می تواند با کمیته های Safety محل مورد نظر مشورت کند .

**ایمنی کار با نمونه های دارای DNA نو ترکیب**

اسیدهای نوکلئیک که در مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی مورداستفاده قرار می گیرند را می توان به صورت زیر دسته بندی کرد :

1. اسیدهای نوکلئیک با ساختار DNA

* Cdna ژنوم های RNA ویروسی
* پلاسمیدها
* ترانسپوزون ها
* ناقل های مصنوعی
* واکسن های DNA

1. اسیدهای نوکلئیک با ساختار RNA

* آنتی سنس RNA
* واکسن های RNA
* ناقل های RNA ویروسی

1. DNA - RNA هیبریدها

رها سازی اسیدهای نوکلئیک در محیط از روش های مختلفی صورت می گیرد .

1. زباله های میکروارگانیزم های تراریخت
2. زباله های کشت سلولی و محصولات گیاهی تراز ریخت
3. زباله های جانوران تراریخت
4. غذای مهندسی شده
5. نسوخ گیاهی مهندسی شده نظیر کتان
6. گرد و خاک و دانه گرده محصولات مهندسی شده

اسیدهای نوکلئیک در محیط های طبیعی قدرت بقا داشته ، در ضمن بعضی از انواع آن ها قادر به انتقال از یک ارگانیزم به ارگانیزم دیگر می باشند .

اسیدهای نوکلئیک می توانند خطرات احتمالی به صورت زیر داشته باشند

1. ایجاد شوک توکسیک در زمان است استفاده از ناقل های ویروسی
2. واکنش ایمونولوژیکی در زمان استفاده از ناقل های ویروسی
3. ایجاد واکنش های اتو ایمن توسط DNA دو رشته ای و RNA
4. تولید ویروس های نو ترکیب بیماریزا
5. ایجاد موتاسیون ( Insertion mutagenesis)
6. Insertion oncogenesis
7. آلودگی ژنتیکی سلولهای زایشی

بسته به نوع کار پژوهشی با اسیدهای نوکلئیک مقررات ایمنی اعمال خواهد شد که مجری پروژه های تحقیقاتی ملزم به آموزش نکات ایمنی اختصاصی کار خویش می باشند. مقررات کلی ایمنی زیستی در سطح آزمایشگاههای مرکز ( ایمنی زیستیII ) برای کار با DNA به صورت زیر است :

1. پوشیدن روپوش آزمایشگاه و دستکش در حین کار با نمونه های DNA ضروری است .
2. زباله های آلوده به DNA باید از زباله های غیر آلوده جدا شده و زباله های آلوده نهایت اتو کلاو شوند .
3. از ریختن محلولهای آلودذه به DNA در ینک های ظرفشویی به شدت خودداری گردد .
4. در صورت آلوده شدن سطوح آزمایشگاه به DNA نو ترکیب، سطوح توسط اسید رقیق شسته شده پس از شستشوی اسید با آب ضد عفونی کردن سطوح با الکل صورت گیرد .
5. پیشنهاد می گردد که قبل از کار بابا DNA ، سطوح آزمایشگاهی توسط پوشش های دو قسمتی ( پلاستیک – بخش قابل نفوذرویی ) پوشیده گردد و در انتهای کار جمعشده و اتو کلاو شود .
6. مسلماً رعایت نکات ذکر شده می تواند احتمال وقوع خطر را به حداقل برساند .

**توصیه های کلی در کار با حیوانات** :

استفاده از روپوش بلند با آستین های بلند که در انتها تنگ هستند .

عدم استفاده از روپوش ها در مکان های عمومی و خوداری از بردن آنها به منزل

استفاده از دستکش در هنگام کار با حیوانات آزمایشگاهی

در صورت آلودگی پوست با خون ، مدفوع ، ادرار یا موی حیوان ، شستشوی پوست با آب و صابون

در صورت آلودگی چشم ، شستشو با آب فراوان

تمیز نگاه داشتن سطوح و ضد عفونی کردن سطوحی که در تماس با حیوانات بوده اند .

یادگیری تکنیک های مفید کردن حیوانات و استفاده از وسایل محافظ مناسب

عدم کار با حیواناتی که از نحوه مقید کردن و استفاده از آن آگاهی ندارید .

شستشوی نقاط مجروح با آب و صابون و مراجعه به پزشک در مواردی که جراحت وسیع و یا توسط حیوانات غیر آزمایشگاهی (سگ ، گربه ، میمون و ...) ایجاد شده است . در موارد مشکوک به هاری ، تماس با دامپزشک الزامی است .

در صورت بروز سانحه ، تاریخ و نوع حادثه یادداشت شود .

در صورت بروز هر عارضه غیر معمول و مراجعه به پزشک ، تماس با حیوانات را به وی خاطر نشان کنید .

احتمال بروز آلرژی به حیوانات و شدت آن در افراد آتوپیک بیشتر است . این افراد در کار با حیوانات آزمایشگاهی بایستی نهایت مراقبت های فردی را به عمل بیاورند .

افراد دچار نقص سیستم ایمنی حتی المقدور باید از تماس نزدیک با حیوانات خصوصاً انواع غیر آزمایشگاهی خودداری نمایند و در صورت اجبار بایستی رعایت شرایط ایمنی را به طور اکید بنماید .

از خوردن ، آشامیدن ، به کار بردن مواد آرایشی و لنزهای تماسی در آزمایشگاه هایی که در آن حیوانات نگاهداری و یا بر روی آنها کار می شود خودداری نمایید .

حمل و نقل حیوانات با قفس های سر بسته

رعایت ضوابط ایمنی در معدوم کردن حیوانات

**مقید کردن حیوانات :**

هدف از مقیر کردن حیوانات جلوگیری از آسیب هم به محقق و هم به حیوان است .

صحت نتایج بعضی از آزمایش ها در گر آرامش حیوان است .

گام اول : آرام کردن حیوان

**انواع حیوانات مورد استفاده در مطالعات حیوانی**

**گروه 1 :**  حیوانات پرورشی در مرکز تولید و تکثیر حیوانات آزمایشگاهی : موش ، رت ، خوکچه هندی ، هامستر ، خرگوش

**خطرات کار با گروه 1 و نحوه پیشگیری آنها**

**آلرژی :**

علایم : خارش و آبریزش از چشم و بینی ، عطسه ، تنگی نفس ، آنافیلاکسی ( نادر )

عامل : ترشحات ، مو و فضولات

گروه پر خطر : تمام افراد در تماس با حیوانات ( شیوع در افراد آتوپیک و مردان بیشتر است ، شدت در افراد آتوپیک و سیگاری بیشتر است )

پیشگیری : محافظت های ذکر شده

**درمان :**

در موارد خفیف استفاده پیشگیرانه از آنتی هیستامین ها

در موارد شدید ، حتی المقدور احتراز از مواجهه با حیوان و مراجعه به پزشک

**خراشیدگی و گاز گرفتگی**

علایم : درد ، سوزش ، اضطراب عفونی شدن زخم و ایجاد بیمماری موضعی یا سیستمیک ( عفونی شدن با حیوانات نوع 1 شایع نیست )

پیشگیری : رعایت ملاحظات کلی

درمان : شستشوی کامل زخم با آب و صابون و ضد عفونی کردن آن با بتادین ، مشورت با پزشک

**بیماری های دستگاه گوارش :**

علایم : اسهال با یا بدون استفراغ ، بیحالی

پیشگیری : احتراز از تماس با محتویات روده ، استفاده از وسایل محافظ ، شستشوی وسایل ، میز و دستها

درمان : در صورت شدید بودن مراجعه به پزشک ، جبران مایعات ، در صورت لزوم استفاده از آنتی بیوتیک

**( Rat Bite Fener ) تب گزش رت**

به دنبال گاز گرفتگی توسط رت و سایر جوندگان ( ندرتاً مواد streptobacillus moniliformis , spiril عامل : ورود خوراکی آلوده شده به ترشحات و ادرار رت )

علایم 2-10 روز ( گاه 2-4 هفته ) پس از گاز گرفتگی به طور ناگهانی تب و لرز شدید ، کمر درد ، درد و تورم مفاصل و عضلات راش جلدی در طی این مدت زخم اولیه خودبخود بهبود می یابد .

پیشگیری از دستکش محافظ ، محافظت مواد خوردنی و آشامیدنی از ترشحات رت

درمان : مراجعه به پزشک ، استفاده از آنتی بیوتیک

**درماتومایکوزیس ( کچلی – قارچی )**

عامل : قارچ های موجود در پوست حیوان ، بستر حیوان و یا وسایل آغشته

علایم 4-14 روز بعد از تماس یک یا چند ضایعه قرمز خشک یا ترشح دار با یا بدون خارش ( حیوان آلوده عموماً یا بی علامت است یا علامت مخفی است )

پیشگیری : استفاده از وسایل محافظ ، شستشوی وسایل ، میز و دست ها

درمان : استفاده از داوری ضد قارچ

**لپتوسپیروز :**

عامل : اسپیروکتی به نام لپتوسپیذا ، تماس با ادرار حیوان آلوده و یا مواد وسایل آغشته به ادراغر ورود از طریق خراش پوست مخاط و چشم در مناطق حاره و مرطوب شایعتر است .

علایم : گاه بی علامت علایم مشابه آنفولانز ، تهوع ، استفراغ ، شکم درد ، ندرتاً درگیری کبد ( زردی ) کلیه نارسایی ) مغز ( تب شدید ، مننژیت ) دوره کمون معمولاً بین 4 تا 14 روز است .

پیشگیری : احتراز از تماس با ادرار حیوانات ، استفاده از وسایل محافظ ، شستشو وسایل ، میز و دست ها

درمان :آنتی بیوتیک + درمان های حمایتی

گروه 2: حیوانات مزرعه و اهلی : گوسفند ، بز ، گاو ، اسب ، سگ ، خرگوش ، موش صحرایی

**خطرات کار با گروه 2 و نحوه پیشگیری و مقابله با آنها :**

همه خطرات ممکن با گروه 1

ملاحظات ایمنی : روشهای ذکر شده در مورد گروه 1

آسیب های فیزیکی نظیر لگد زدن و گاز کرفتن

پیشگیری : مشاوره با مربی ماهر

آلودگی حیوان به حشرات ناقل باکتری ها و انگل ها

پیشگیری : استفاده از ماسک و دستکش ، درمان حیوانات ، شستشوی حیوان در مرکز نگهداری حیوانات

**کوریومننژیت لموسیتی :**

عامل : ویروس موجود در موش وحشی ، سنجاب ، گاهی سگ و میمون و یا رت های آزمایشگاهی که در شرایط استاندارد پرورش نیافته اند .تماس با ادرار و ترشحات موش می تواند فرد را مبتلا کند .

**علایم :** علایم شبه آنفولانزا ، مننژیت ، انسفالیت

**در صورت امکان خرید از پرورش دهندگان معتبر ، استفاده از دستکش و شستشوی دقیق دستها**

**گروه 3 : حیوانات وحشی :**  سگ ها و گربه های ولگرد ، روباه ، موش خرما ، میمون ، خفاش و ....

همه خطرات ممکن با گروه 1

روشهای ذکر شده در مورد گروه 1

آسیبهای فیزیکی نظیر گاز گرفتن و چنگال کشیدن

مشاوره با مربی ماهر

**آلودگی حیوان به حشرات ناقل ، باکتری ها و انگل ها**

استفاده از ماسک و دستکش ، درمان حیوانت ، شستشوی حیوان در مرکز نگهداری حیوانات

**هاری :**

علائم : دوره نهفتگی 15 روز تا سه ماه ( متوسط 1 تا دو ماه ) ، پس از آن تب ، لرز ، خستگی ، اضطراب ، دست و پا زدن ، تحریک پذیری ، توهم ، آب ریزش شدید از دهان ، اسپاسم عضلات ، کوما و مرگ

پیشگیری : مفروض دانستن هار بودن تمام حیوانات وحشی ، واکسیناسیون افراد در معرض2 خطر ، استفاده از تمام مراقبت ها برای جلو گیری از آسیب رسانی حیوان ، گزارش سریع هر گونه گزش توسط حیوان به دامپزشکان و مراکز بهداشتی و انجام واکسیناسیون

**توکسوپلاسموز :**

عامل : انگل موجود در مدفوع گربه

افراد در معرض خطر : خانم های باردار ، افراد دچار نقص سیستم ایمنی

علایم در افراد پر خطر : عوارض بینایی و مغزی در نوزاد و یا افراد دارای نقص سیستم ایمنی ( ندرتاً علایم بینایی در افراد سالم )

پیشگیری : احتراز خانم های باردار و افراد دچار نقص سیستم ایمنی از مواجهه با مدفوع گربه ، استفاده از دستکش در کار با گربه

**( cat scratch disease ) بیماری خراش گربه :**

عامل : باکتری موجود در بزاق گربه

علایم : برجستگی یا تاول در ناحیه آسیب دیده ، تورم غدد لنفاوی ناحیه 2-3 هفته پس از گزش ) ، کسالت و بیحالی ، سر درد ایجاد فیستول

پیشگیری : کوتاه کردن ناخن های گربه ، استفاده از دستکش مناسب

درمان: آنتی بیوتیک

ایمن سازی :کلیه افرادی که در آزمایشگاه کار می کنند بایستی واکسیناسیون کزاز را بر طبق پروتکل کشوری انجام داده باشد .

(آنفلوانزا ، سرخک ، سرخچه ، مننژیت ، مننگوککی و ..... ) بسته به نوع فعالیت و مواجه B واکسیناسیون های دیگر ( هاری ، هپاتیت ، بایستی انجام گیرد ) .

**نکات ایمنی در استفاده از ابزارها ، مواد و داروها در کار با حیوانات آزمایشگاهی :**

عدم دستکاری سوزن ، اسکالپل و سایر وسایل دور ریختنی

تخلیه ابزار تیز در ظرف یا کیسه مقاوم به سوراخ شدن

مقید کردن کپسول های پر فشار

جدا کردن رگولاتور و گذاشتن درپوش پیش از حمل و نقل

حمل و نقل سیلندرهای تحت فشار به صورت منفرد و با گاری مخصوص

درمورد داروهای معمولی ، به طور مجزا دور ریزی و یا دفن کردن مجاز است .

در مورد داروهای سیتو توکسیک ، دور ریز معمولی ، دفن کردن و یا تخلیه به فاضلاب مجاز نیست . یا باید به کارخانه عودت داده شود و یا کاملاً سوزانده شود .

استفاده از گازها و یا مایعات بیهوش کننده برای بیهوش کردن و یا اوتانازی بایستی در زیر هودهایی که جریان یک طرفه رو به خارج دارند انجام گیرد .

در صورت قابل انفجار بودن انفجار بودن ماده بیهوش کننده ، لوازم الکتریکی را در زیر هود قرار ندهید .

لاشه حیوان و یا هر نوع ماده و یا وسیله ای که در معرض ماده بیهوشی ، استنشاقی قرار گرفته است باید پیش از دور انداختن به مدت 30-15 دقیقه در زیر هود قرار گیرد .

توصیه های عام در نگهداری و استفاده از مواد شیمیایی در مباحث دیگر مطرح خواهد شد .

**نکات مهم در آماده سازی فرآورده های سیتوتوکسیک :**

حتی المقدور از فرآورده های آماده استفاده و از خرید پودرهای دارو خودداری شود .

( نوع عمودی ) انجام گیرد .

( نکات مهم در استفاده دار لامینرفلو در مباحث دیگر مطرح II آماده سازی باید در زیر لامینر فلو نوع خواهد شد )

بیش از آماده سازی دارو باید کلیه وسایل مورد نیاز ( سرنگ ، ویال ، ..... ) در لامینر فلو قرار داده شوند . همچنین قرار دادن یک کیسه برای تخلیه وسایل دور ریز الزامی است .

برکف لامینر فلو پوشش پوشش جاذب پهن کتید و در پایان کار آن را جمع و به دیگر وسایل آلدوده به ماده سیتو توکسیک ( آمپول ، سرنگ ، دستکش ، .... ) منهدم نمایید .

از دستکش و گان استفاده نمائید .

گان باید از نوع نفوذناپذیر و با آستین هاببلند که در انتها کشدار هستند باشد .

دستکش باید تا زیر آستین را بپوشاند . پیش از استفاده از دستکش و پس از در آوردن آن دستها را با آب و صابون بشویید . در صورتیکه کار با فراورده سیتوتوکسیک مدید است ، دستکش هر نیم ساعت بایستی عوض شود . در هنگام شکستن سر آمپول ، بر گردن آن گاز استریل قراردهید .

در مورد ویال ها سعی کنید دقیقاًحجمی از دارو که مورد نیاز است را به داخل سرنگ بکشید در صورت ورود مقدار مازاد ، آن را به داخل ویال بازگردانید .

در مورد آمپول ها مقدار مازاد را به یک ویال حالی که قبلا" در لامینر فلو قرار داده اید وارد کنید .

نوک سوزن و بدنه سرنگی را که به دارو آغشته شده است با استفاده از پنبه الکل پاک نمائید .

ظروف آلوده به مواد سیتوتوکسیک بایستی در ظرف دور ریز مواد شیمیایی خطرناک قرار داده شود . وسایل آلوده ، سرنگ ؛ دستمال ، پنبه و ...باید در ظرف دور ریز وسایل خطرناک که در مقابل اشیاء نوک تیز مقاومت قرار داده شود .کف لامینرفلو را با دستمال حوله ای مرطوب تمیز و پس از آن همین عکمل را با استفاده از الکل70% تکرار کنیم . دستمال را متانند وسایل پیش گفته دور بریزد .

بر اساس فارماکوکینتیک دارو و دفعات مصرف ، حیوان و یا مواد دفعی می تواند منبع قابل ملاحظهای از دارو به حساب بیایند . مراقب خود و پرسنل نگهدارنده حیوانات باشید .

در صورت آلوده شدن پوست ، آن را با آب و صابون بشویید . در صورت آلودگی چشم ، بلافاصله شستشوی چشم با اب فراوان به مدت 15 دقیقه انجام گیرد و پس از آن به چشم پزشک مراجعه نمایید.

از خوردن آشامیدن ، به کار بردن مواد آرایشی و لنز های تماسی در آزمایشگاه هایی که در ان با داروهای سیتوتوکسیک کار می شود بایستی اکیدا" خودداری کرد .

وسایل مورد نیاز برای حفاظت در برابر آسیب های ناشی از مطالعه بر روی حیوانات آزمایشگاهی

سطوح قابل شستشو برای قرار دادن حیوان ، مکان مجزا دارای تهویه مناسب دستشویی مجزا ، حوله، صابون ، کمد مجزا برای روپوش آزمایشگاه و لباس های معمول ، لبای کار با روپوش بلند ، دستکشیک بار مصرف ، دستکش ضخیم برای مقید کردن حیوان ، ماسک ، مواد ضد عفونی کننده ( بتادین ، ساولن ، آب ژوال ) ، اتو کلاو ، و سطل با کیسه مناسب برای خروج لاشه حیوانات سطل با کیسه مقاوم برای دفع اشیاء برنده ، سطل با کیسه مناسب برای دفع داروهای سیتوتوکسیک ، سطل با کیسه مناسب برای دفع وسایل و مواد آلوده شده به مواد سیتوتوکسیک ، قفس های دارزای فیلتر و یا در بسته برای جابجایی حیوانات ، عیار سنج رادیواکتیویتی عینک محافظ ، هود ، تسهیلات برای انجام واکسیناسیون ، ماشین لباسشویی برای شستشوی روپوش ها

پبوست ها

1-شیوه صحیح نظافت ، در صورت ریختم مواد خطرناک زیستی

الف – عوامل عفونی ( بر اساس سطوح مختلف ایمنی زیستی )

ایمنی زیستی به معنای رعایت اصول ایمنی و استفاده صحیح از وسائل حفاظتی در موقع کار با مواد بیولوژیکی خطرناک ( باکتری ها , قارچها ، ویروس ها و غیره ) است . ایمنی زیستی به طور کلی زبه چهار درجه level تقسیم می شود . در جدول زیر به طور خلاصه سطوح و ختلف ایمنی ذکر شده است ( اطلاعات کامل در جزوه حفاظت ایمنی در آزمایشگاه های زیست پزشکی – تدوین کمیته علمی واحد ایمنی و بهداشت کار دانشکده پزشکی موجود می باشد . این جزوه باید در تمامی آزمایشگاههای این داشکده در دسترس باشد).

شیوه صحیح نظافت در صورت ریختن مواد خطرناک زیستی Biohazard Spill Clean-Up

با توجه به نوع ماده خطرناک زیستی ، نظافت را می توان به یکی از روش های زیر انجام شود .

**در صورتیکه ماده ریخته شده شامل خون یا دیگر مایعات بدن باشد .**

* بعد از پوشیدن دستکش ، مایعات ریخته شده با دستمال جاذب الرطوبه ( دستمال کاغذی ) یکبار مصرف حمع آوری شود .
* تمام سطح آلوده به خون و مایعات دیگر بدن ، با آب و صابون تمیز شود .
* ضد عفونی محل آلوده با محلول تازه تهیه شده ای از وایتکس با غلظت ( 1 به 10) انجام شود (ml1 وایتکس + ml9 آب )
* بعد از ضد عفونی و جمع آوری محلول ، محل مورد نظر با وایتکس ( 1 به 100 ) تمیز گردد .
* تمام وسایل استفاده شده یکبار مصرف را در کیسه غیر قابل نفوذ گذاشته ، درب آن بسته ذو قبل از دفع اتو کلاو گردد .

**ب- در صورتیکه ماده ریخته شده شامل میکرو ارگانیسم های کشت داده شده مربوط به زیست ایمنی سطح دوم ( BL2) باشد ( مانند = E.Coli –Adenoviruses - staphylococcuss sp و ...)**

1. ابتدا افرادی را که در آزمایشگاه هستند آگاه کنید .
2. مسئول آزمایشگاه یا مسئول ایمنی را در جریان قرار دهید .
3. وسایل و مواد مورد نیاز مانند وایتکس ، مایع ضد عفونی کننده ، دستمال و حوله ای کاغذی یا پارچه ای ، انبر ، کیسه اتو کلاو و ..... ) برای رفع آلودگی را فراهم آورید .
4. از وسایل حفاظتی خاص ( پیشبند یکبار مصرف محافظ چشم ؛ دستکش ، پوشش کفش و ماسک ) استفاده نمایید .
5. سطح آلوده را با استفاده از مواد ضد عفونی کننده مناسب به ترتیب زیر پاکساززی نمایید .

* سطح آلوده را با حوله کاغذی یا روزنامه بپوشانید .
* محلول هیپوکلریت سدیم ( وایتکس ) رقیق شده 10% را در اطراف محل آلوده به سمت مرکز ، به طوریکه باعث گسترش آلودگی و ترشح به اطراف نشود بریزید .
* 20 دقیقه صبر نمایید .
* بعد از جمع کردن دستمال های آلوده با پارچه یا دستمال کاغذی آغشته به ماده ضد عفونی کننده ( الکل) محل آلوده را تمیز کنید .
* وسایل غیر قابل اتو کلاو شدن را با استفاده از ماده ضد عفونی کننده تمیز کنید .
* وسایل تیز آلوده را در ظرف مخصوص ظروف تیز قرار دهید وسایل آلوده دیگر که طی مراحل تمیز کردن مورد استفاده قرار گرفته اند را درون کیسه وسایل آلوده قرار دهید و آن را بر چسب مناسب مشخص نمایید .
* وسایلی که باید دوباره مورد استفاده قرار گیرند را در کیسه مخصوص برای اتو کلاو شدن ارسال کنید .
* وقتی دستکش ها را از دست خارج کردید حتماً دست ها را بشویید .

ج- در صورتیکه ماده ریخته شده شامل میکرو ارگانیسم ها ی کشت داده شده مربوط به زیست ایمنی سطح سرم ( BSL3) باشد ( مایکوباکتریوم تربوکلوزیس و کشت های ( TB)) .

* افرادی که احتمالاً دچار صدمه یا آلودگی شده اند باید از محیط خارج شوند . سایر افراد نیز محیط را ترک کنند.
* برای پیشگیری از انتشار آلودگی درب آزمایشگاه بسته شود و مدت یک ساعت کسی داخل نگردد .
* شخصی که قرار است محل آلوده را تمیز کند باید از این اتفاق و نوع آلودگی کاملاً مطلع باشد .
* نظافت کننده باید گان ، دستکش و ماسک مخصوص بپوشد و محافظ مخصوص روی کفش خود بکشد .
* محل آلوده به روش نظافت مربوط به زیست ایمنی سطح دوم (BSL2) آلوده زدایی و تمیز شود .

**شستشوی لباس آزمایشگاه :**

هر گونه لباس محافظی که در آزمایشگاه پوشیده می شود باید در محل کار شسته شود. لباس های کثیف جمع آوری و در کیسه های غیر قابل نفوذ گذاشته شود ، در رختشوخانه باید با پوشش محافظ مناسب اقدام به شستن لباسهای آلوده شود .

لباسهای محافظی که در آزماتیشگاه زیست ایمنی سطح سوم (BSL3) پوشیده می شوند . باید قبل از شستشو با شیوه مناسب ضد عفونی شود .

1. **دستور العمل تماس با عوامل آلوده کننده عفونی و نیدلینگ**

قبل از ورود به آزمایشگاه باید وضعیت واکسینسیون ( کزاز و هپاتیت ) و سطح آنتی بادی فرد در معرض خطر چک شود و مدارک مربوط در پرونده بهداشتی موجود واحد ایمنی و بهداشت کار ثبت شده باشند . در صورت عدم وجود سابقه واکسیناسیون ، با مراجعه به واحد ایمنی و بهداشت کاز شخص بلافاصله تحت واکسیناسیون قرار بگیرد و سه ماه بعد از نظر سطح آنتی بادی چک شود . باید تیتر بالای 10MIU/ml باشد اگر تیتر زیر 10MIU/ml بو.د باید یک دوره کامل هپاتیت دیگر زده شود . اگر دوباره تیتر چک شد و باز هم زیر 10MIU/ml بود این فردnon respond می باشد .

در صورت نیدینگ بر اساس دستور العمل زیر عمل شود :

1. زخم و محل آسیب دیده پوست باید با اب و صابون شسته شود . به دلیا اسیب های احتمالی ، به کار بردن مواد سوزاننده و آنتی سپتیک ها بر روی زخم توصیه نمی شود ( درمان محل برخورد مشابه درمان استاندارد زخم ها است . )
2. سریعا مشخصات منبع آلوده کنده از نظر وجود آلودگی ویروسی هپاتیت و ایدز بررسی گردد.
3. در صورت آلوده نبودن نمونه ، درمانی لازم نیست . اما در صورتیکه نمونه آلوده به ویروس هپاتیت بود حداکثر ظرف مدت 24ساعت پس از برخورد و جهت ویروس ایدز حداکثر یک ساعت پس از برخورد سریعا" به مراکز زیر مراجعه گردد.

3**- دستور العمل اطفاء حریق با استفاده از خاموش کننده های دستی**

-هر زمانی که علامت هشدار آتش در طبقه شما به صدا در آمد از طریق نزدیک ترین درب خروجی ساختمان را ترک نمائید .

-در صورتیکه متوجه اتش سوزی شدید ، آژیر آتش ( نزدیکترین دکمه اعلام خطر ) را بصدا در آورید .

- با شماره آتش نشانی 125 تماس بگیرید .

- اگر آتش کوچک است ، سعی کنید با کپسول اطفای حریق آن را خاموش کنید . برای آتش سوزی های وسایل برقی از کپسول های CO2 و برای آتس سوزی های مایعات قابل اشتعال از کپسول های پودری استفاده نمائید.

- هرگز اجازه ندهید که آتش بین شما و درب خروجی قرار گیرد .

- اگر آتش به تجهیزات الکتریکی توسعه یافت ، آنها را از برق بکشید .

- اگر قادر به خاموش کردن آتش نیستید ، سریع از درب اضطراری خارج شوید . و نگهبانان را در جریان بگذارید .

- قبل از باز کردن درب ها ی بسته ، آن را با پشت دستتان لمس کنید .

- اگر سرد بود با احتیاط خارج شوید .

- اگر اتاق را دود گرفته است ، خود را خم کرده و خارج شوید .

- اگر می توانید آتش سوزی را حتی المکان با بستن درب ها و پنجره ها محدود کنید ولی درها را قفل نکنید .

**-هرگز از آسانسور طی آتش سوزی استفاده ننمائید .**

- از پله ها برای تخلیه استفاده نماید .

-در زمان تخلیه کفش های پاشنه بلند نپوشید .

* در زمان تخلیه از بردن بطری آب و سایر مایعات خودداری کنید ، زیر خطر ریختن و لیز کردن مسیر و زمین خوردن وجود دارد .
* بدون اجازه مسئولین ایمنی و تاسیسات به ساختمان بر نگردید .
* برای ورود دوباره به ساختمان منتظر دستور مسئولین ایمنی و تاسیسات باشید .
* برای اطفاء آتش های کوچک و نبود تهدید جدی از کپسولهای آتش نشانی مراحل زیر را انجام دهید . این مراحل اصطلاحاً PASS نامیده می شود که مخفف حرف اول کلمات زیر است ( PULL- AIM – SQUEEZE – SWEEP )

1. ضامن موجود در دسته کپسول را بکشد
2. آن را به طرف قاعده آتش نشانه روید
3. دسته کپسول را فشار دهید . با فاصله حدود 3 متر از آتش ایستاده9 و شلنگ را بصورت جارویی حرکت دهید .
4. **دستور العمل استفاده از دوش – چشم شوی اضطراری :**

در صورت پاشیده شدن مواد شیمیایی به چشم یا آلوده شدن بدن با مواد شیمیایی ريال سطح آلوده باید سریعاً با مقدار زیادی آب شستشو شود . برای این منظور می توانید از چشم شوی ( جهت رفع آلو.دگی از چشم و صورت ) و دوش اضطراری جهت رفع آلودگی از قسمت های مختلف بدن استفاده نمایید .

**نکات قابل توجه :**

* قسمت آلوده بدن یا چشم و صورت را برای مدت 15 دقیقه با آب شستشو دهید .
* آب یا محلول شستشو نباید مستقیماً بر روی کره چشم پاشیده شود . پاشیدن آب به چشم از سمت بینی به سمت خارج چشم انجام گیرد ، این کار باعث جلوگیری از آلوده شدن چشم دیگر می شود .
* در صورت استفاده از لنز باید سریعاً لنز از چشم خارج شود و بعد چشم با آب کاملاً شستشو داده شود .
* طبیعی است هنگام پاشیده شدن آب به چشم ، چشم بسته می شود و این موضوع باعث جلو گیری از خروج مواد شیمیایی از چشم می شود پس حتماً سعی نمائید چشم باز باشد .
* مراجعه به پزشک باید سریع انجام پذیرد . این امر می تواند باعث کاهش احتمال آسیب دائمی به چشم شود ( با واحد ایمنی و بهداشت تماس بگیرید ) .
* جهت جلوگیری از آسیب از وسایل حفاظت فردی مناسب مثل عینک های حفاظتی ، گاگل ، شیلد صورت استفاده نمایید .
* قبل از کار با هر ماده ای ابتدا MSDS ( برگه اطلاعات ایمنی مواد ) را مطالعه نمایید .
* برای کسب اطلاعات پیرامون MSDS مواد می توانید به شرکت سازنده و یا آدرس مقابل مراجعه نمایید .

HTTP : // MED . SUMS .AC.IR /DEPUTIES / POSHTIBANI /EMENI /MSDS.HTML

1. **دستور العمل تفکیک زباله در دانشکده پزشکی :**

**سطل سفید** : مخصوص زباله های معمولی از جمله خوراکی ها ، مواد زائد غیر خطر ناک و غیر عفونی ، کلیه موادی که عفونت زدایی بر روی آنها انجام گرفته است و .... می باشد .

**سطل زرد بزرگ** : مخصوص زباله های عفونی مانند کلیه پسماندهای آلوده به خون ، کلیه پسماندهای آلوده به ترشحات بیماران عفونی – معرفهای آزمایشگاهی و .... می باشد .

نکته 1: محیط های کشت آلوده باید حتماً قبل از دفع اتو کلاو شده و یا با محلول رقیق شده وایتکس ( به نسبت یک به ده ) خنثی شده و سپس بعنوان زباله معمولی دفع گرد .

نکته 2: مایعات بیولوژیکی بدن ( خون ، ادرار ... ) حتماً باید قبل از دفع اتو کلاو شده و یا با محلول رقیق شده وایتکس ( به نسبت یکه به ده ) خنثی شده و سپس در سیستم فاضلاب دفع گردد .

Safety box : مخصوص سر سرنگ ، تیغ بیستوری ، شیشه های شکسته و هرگونه وسایل تیر و برنده می باشد ، هنگامی که 4/3 ظرف پر شد درب ظرف را محکم بسته و جهت دفع و دریافت ظرف جدید با کارشناس رابط ایمنی بخش هماهنگی فرمائید .

وسایل تیز و برنده آلوده به هیچ عنوان در سطل های دیگر دفع نگردند .

**سطل قزمز** : مخصوص ژل های اتیدیوم بروماید و سایر زباله های جامد آلوده به اتدیوم بروماید . ( و سایر زباله های شیمییی ) که روش دفع آنها سوزاندن می باشد . مثل مواد سیتو توکسیک ....) می باشد . در اول هر ماه راس ساعت 8 صبح جهت سوزاندن ارسال می گردد . جهت دفع آن با کارشناس رابط ایمنی بخش هماهنگی نمایید .

نکته : محلولهای شیمیایی قبل از دفع باید با روش مناسب خنثی گردیده و سپس در فاضلاب دفع گردد .

نکته : محلولهای شیمیایی که نیاز به دفع ویژه دارند مانند فنول و .... نباید در سیستم فاضلاب دفع گردد بلکه بسته به نوع ماده شیمیایی در ظرفهای مخصوص نگهداری شده و با برچسب محتوای ظرف ، نام بخش ، تاریخ تولید ماده به صورت خوانا و بزرگ روی ظرف مشخص شود و جهت دفع آن با مسئول ایمنی بخش هماهنگ شود .

نکته : مواد رادیو اکتیو ( جامد – مایع ) بر اساس قوانین سازمان انرژی اتمی باید انجام پذیرد .

**سطل آبی** : مخصوصلاشه و اندام حیوانات می باشد . این زباله ها باید به نحو مناسب در پلاستیک بسته بندی شده و در فریزر مربوطه تا زمان حمل نگهداری شود .

از ریختن زباله معمولی در سطل و کیسه زباله های خطرناک شیمیایی و عفونی خودداری فرمایید و تولید و میزان زباله خطرناک عفونی و شیمیایی را به حداقل ممکن برسانید .

از تغییر کاربر و استفاده از سطل ها و کیسه های زباله به غیر از همان مورد خاص جداً خوداری نمایید

در صورت وجود هر گونه نقص در این مورد سریعاً به مسئول آزمایشگاه اطلباع دهید .

رفرانس

-کتابچه ی راهنماي حفاظت و ایمنی آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی شیراز