ایمنی کار در آزمایشگاه

(برگرفته ازاصول ایمنی کار در آزمایشگاههای تحقیقاتی دانشگاه آلبرتا کانادا)

تهیه و تنظیم

گروه بیوتکنولوژی دارویی

دانشکده داروسازی

دانشگاه علوم پزشکی تبریز

زیر نظر: دکتر ام لیلا مولوی، دانشیار گروه بیوتکنولوژی دارویی

ایمنی در آزمایشگاه:

حفظ ایمنی در آزمایشگاه وظیفه ی همه پرسنل آزمایشگاهی است.

خطر: شرایط یا رفتاری است که پتانسیل ایجاد جراحت یا نقصان را دارد. به طور کلی خطر به دو دسته تقسیم می شود: خطرات سلامت و خطرات ایمنی.

خطرات سلامت: این خطرات، موجب اثرات جدی و حادی بر سلامت می شوند. همچنین این خطرات، ایجاد مشکلات طولانی مدت (مزمن) می کنند.

خطرات ایمنی: هر عاملی که در صورت رخ دادن حادثه ای، موجب آسیب یا نقصان شود.

ارزیابی خطر: فرآیند استاندارد مکتوبی برای تعیین خطرات سلامت و ایمنی و همچنین ارزیابی خطرات مرتبط با کار می باشد و شامل نظارت بر تمام کارهایی است که در محیط کاری انجام می شود. هنگامی که خطرات تعیین شدند، پروسه ارزیابی خطر شروع می گردد.

کارفرمایان مسئولیت ویژه ای در رابطه با ایمنی محیط کار به عهده دارند. به طور خاص باید موارد زیر را انجام دهند :

- **پروسه های مکتوب جهت ارزیابی خطرات**
- **تا حد امکان به کارگیری کارکنانی که خطرات ارزیابی شده را اجرا کنند.**
- **ابلاغ عواقب خطرات ارزیابی شده به همه**
- **کنترل خطرات ارزیابی شده به منظور فراهم کردن محیط کار ایمن**

کارفرمایان همچنین باید در نظر داشته باشند که ارزیابی خطرات را به روز کنند. ارزیابی خطرات باید به صورت زیر انجام گیرند:

- **در فواصل زمانی مشخص**
- **شروع یک فرآیند جدید**
- **تغییر در روند فرآیند کار**
- **قبل از اضافه کردن یا تغییری در محل کار**

کارکنان در محیط کار دو مسئولیت مهم دارند:

- **محافظت از خودشان ودیگر کارکنان**
- **همکاری با کارفرما جهت حفظ سلامت و ایمنی خودشان و دیگران**

حفظ ایمنی و سلامت فقط مسئولیت کارفرما نیست، بلکه وظیفه همه ی کارکنان محل کار می باشد که این امر چند مزیت دارد:

- **چون بصورت روتین کار میکنند، به خوبی در جریان کار هستند**
- **افزایش توانایی کارکنان در شناسایی خطرات**
- **ایجاد فرهنگ ایمنی در محیط کار**

حال که ازضرورت ارزیابی خطرات آگاه شدیم ، فرآیند ارزیابی خطرات را آغاز می کنیم.

1- تعیین وظایفی که نیاز است تکمیل شوند:

وظایف و کارهایی که به عنوان شغل شما، نیاز به تکمیل شدن دارند در ستون 1 از فرم ارزیابی لیست شود. لیست فعالیت های گروهی هم در صورتی که خطرات مربوطه یکسان باشد قابل قبول است.

2- تعیین خطرات سلامتی و ایمنی احتمالی :

در ستون 2 ، خطرات بالقوه و موجود لیست شود. این ستون جایی است که اشخاص باید بین خطرات سلامتی و ایمنی تمیز قائل شوند و همه خطراتی که احتمال وقوع آن در طول انجام کار وجود دارد، لیست شود.

3- تعیین رده ی خطر :

زمانی که خطرات تعیین شدند، در ستون 3 به دسته بندی آن ها می پردازیم. هر دو نوع خطر، سلامت و ایمنی را درگروه های زیر می توان طبقه بندی نمود:

خطرات شیمیایی : مواد شیمیایی، گازها، گرد و خاک، غبار و غیره.

خطرات فیزیکی : بلند کردن و جابه جایی بار، لرزیدن و سر خوردن، جابه جایی قطعات ماشین ها ، کار در ارتفاع، سیستم های فشاری ، دمای بالا ، آتش و غیره.

خطرات بیولوژیک: ویروس های پاتوژن، باکتری ها، سموم ، انگل ها و قارچ ها ، خون و مایعات بدن انسان ، فاضلاب.

خطرات رادیاسیون: مواد رادیو اکتیو، لیزر، نور اولترا ویوله، اشعه X، اشعه مایکرو ویو، فرکانس رادیویی

خطرات ارگونومیک: حرکات متناوب و محکم، ارتعاش، دمای بالا، موقعیت های نامناسب که همگی از روش های غیر صحیح کار منشا می گیرند.

خطرات روانی: سختی کار، ساعات کاری.

4- آنالیز ریسک هر خطر :

آنالیز ریسک، ارزیابی از احتمالات بالقوه و شدت حاصله از هر خطر شناسایی شده می باشند تا سطح کلی ریسک را تعیین کند. آنالیز ریسک به تعیین نوع و تعداد کنترل های مورد نیاز برای حذف، کاهش یا به حداقل رساندن ریسک کمک می کند. دو فاکتور در آنالیز ریسک استفاده می

شوند: احتمال وقوع و شدت نقصان.

احتمال وقوع: چقدراحتمال ایجاد نقصان مانند جراحت، بیماری، آسیب مالی یا از دست رفتن محصول وجود دارد؟ این مورد در ستون 4 فرم ارزیابی خطرات وارد می شود.

سطح 4: احتمالی (probable) : ممکن است حداقل یک بار در سال اتفاق بیفتد .

سطح 3: تصادفی: ممکن است هر یک تا پنج سال یک بار اتفاق بیفتد.

سطح 2: بعید: احتمال اتفاق بعید است اما ممکن است هر پنج تا ده سال اتفاق بیفتد.

سطح 1: غیر محتمل: احتمال اتفاق غیرمحتمل است.

پی آمد احتمالی : در صورتی که در معرض قرار گیری با عوامل خطرناک کنترل نگردد، با چه شدتی نقصان اتفاق خواهد افتاد؟ این مقادیر در ستون 5 از فرم ارزیابی خطرات لیست می شود.

سطح 4: شدید: مرگ، جراحت جدی یا بستری بیش از دو روز در بیمارستان، ناتوان شدن پایدار، آسیب مالی پرهزینه.

سطح 3: قابل توجه: جراحت یا بیماری طولانی مدت، ناتوان شدن موقت، جراحت بالقوه، آسیب مالی قابل توجه.

سطح 2: جزیی : جراحت در حد کمک های پزشکی، بیماری جزیی، آسیب مالی جزیی.

سطح 1: حداقل : جراحت در حد کمک های اولیه، شبیه نقصان سطح دو.

میزان ریسک با ضرب کردن مقادیر دو فاکتور زیر تعیین می شود:

Risk Value = Incident Probability x Potential Consequences

عدد حاصله برای مشخص کردن سطح ریسک استفاده می شود.

سطح ریسک : سطح ریسک را در سه گروه بالا ، متوسط یا پایین طبقه بندی می کنند و برای انجام و پیاده سازی اولویت بندی اندازه کنترل ها به کار می رود. عدد مربوط به آن در ستون 6 از فرم ارزیابی خطر نوشته می شود.

بیشتر از یازده = ریسک بالا (انجام فعالیت فوری در حذف ریسک یا پیاده سازی کنترل مناسب در کاهش ریسک).

مقدار 4-11 = ریسک متوسط (فعالیت به موقع در جهت انجام کنترل های مناسب در جهت کاهش یا به حداقل رساندن ریسک).

مقدار کمتر از 4 = ریسک پایین (فعالیت ممتد با کنترل های کمینه).

5- تعیین کنترل های خطر:

کنترل خطر یا برای حذف خطر و یا برای کاهش ریسک، تا حد امکان استفاده می شوند. پیچیدگی سطح کنترل متناسب با سطح ریسک کلی است.

استراتژی های کنترل خطر شامل موارد زیر می باشد:

- ✓ **کنترل های طراحی و مهندسی**
- ✓ **کنترل های اجرایی**
- ✓ **تجهیزات محافظتی پرسنل**PPE

ممکن است در کنترل برخی خطرات، ترکیبی از سه روش کنترلی فوق در جهت کاهش خطر استفاده شود. در طول فرآیند باید تیم، کلیه ی کنترل های خطرات جایگزین را در نظر بگیرد. مقادیر مورد نیاز کنترل در ستون 7 لیست می شوند.

کنترل های مهندسی:

این کنترل ها در اولویت اول در نظر گرفته می شوند چرا که تنها روش کنترلی هستند که می توانند خطر را حذف کنند. هدف نهایی در این نوع کنترل، طراحی محیط کار، پروسه کار و تجهیزات است که خطرات را حذف می کند. تا حدی که ممکن است خطرات باید از ریشه حذف یا کنترل شوند.

مثال هایی از این نوع کنترل:

- **حذف: استفاده از سایبر گرین(SYBR Green) به جای اتیدیوم برماید برای رنگ آمیزی اسید نوکلئیک (چون اتیدیوم برماید موتاژن است).**
- **جایگزینی: استفاده از اشعه** uv **بجای کلرین برای ضدعفونی کردن آب**
- **عایق کردن: قراردادن ژنراتور برق پر سر و صدا در جایی که کارکنان از صدای آن در امان باشند.**
- **تهویه: نصب یک سیستم تهویه ی خروجی برای حذف بخارات.**
- **نصب حفاظ: نصب حفاظ بر روی قطعات ماشین ها برای جلوگیری از تماس با قسمت های متحرک.**

کنترل های اجرایی

این نوع کنترل بر فرآیندها، کارها و عملیات مهم تمرکز می کند.

مثال هایی از کنترل اجرایی:

- **فرآیندهای ایمنی کار : فرآیندهای اجرایی فقط در مورد کار**
- **فرآیندهای ایمنی عملیات راه اندازی : ایجاد یک دستورالعمل مکتوب برای راه اندازی اتوکلاو**
- **جابجایی و چرخش کارکنان: موجب کاهش در معرض قرار گیری خطرات می شود**
- **علایم هشدار دهنده خطر: علایم مناسب، هشداردهنده ی خطر در محل و همچنین تجهیزات مورد نیاز پرسنل برای ورود به محل می باشد**
- **تعلیم: برگزاری دوره هایی مانند** WHMIS **درآموزش نحوه ی جابه جا کردن مواد خطرناک، تعلیم ایمنی های شیمیایی و زیستی، تجهیزات محافظت تنفسی و غیره.**
- **نظام بخشی به عملیات: فضای مشخص انجام کار**
- **برنامه های نگهداری: هودهای** fume **، کابینت های زیست ایمن**

تجهیزات محافظتی پرسنل(personal protective equipment)

سومین مورد برای کنترل خطر استفاده از تجهیزات مناسب محافظتی(PPE) **است.این نوع کنترل، روشی برای کنترل خطر است وزمانی مورد استفاده قرار می گیرد که کنترل های مهندسی و کنترل های اجرایی نتوانند به طور موثر خطر را کنترل کنند.** PPE **باید استانداردهای قابل قبول در رابطه با اساسنامه ی سلامت و ایمنی مشاغل را داشته باشد.**

مثال هایی از PPE **شامل :**

- **دستکش های مقاوم در برابر مواد شیمیایی و سوراخ شدن**
- **ماسک ها**
- **کلاه های با دوام**
- **وسایل محافظتی گوش**
- **محافظ پا**
- **روپوش ها و لباس های مخصوص آزمایشگاه**
- **محافظ چشم**

همه ی کنترل هایی که برای حذف یا به حداقل رساندن خطرات استفاده می شوند در ستون 7 **فرم ارزیابی خطرات وارد می شوند.همه ی کنترل های تعیین شده باید اجرا گردند. موقعیت کنترل های اجرا شده باید در ستون** 8 **فرم کنترل خطرات وارد شوند.**

- **کنترل های خطرات سطح بالا بایستی در اولویت قرار بگیرد.**
- **خطرات سطح متوسط باید در رده ی دوم قرار بگیرند.**
- **خطرات سطح پایین در آخر اجرا می شوند.**

فاکتورهای زیادی در تعیین چگونگی و زمان اجرای کنترل های وجود دارند:

- **اختصاص منابع: تخصیص منابع مالی کافی ، مواد و کارکنان در جهت اجرای کنترل ها.**
- **تعلیم: هرگونه تغییر در کنترل های قبلی یا ورود کنترل های جدید باید به کارکنان آموزش داده شود.**
- **سرپرستی و نظارت: سوپروایزرها باید بر استفاده ی مناسب، دقت در اجرای کنترل ها و نگهداری کنترل ها از طریق مشاهده، برخورد، بحث در جلسات مخصوص و بازرسی محل کار نظارت نمایند.**
- **ارزیابی کارایی اثرات: پس از آنکه کنترل ها اجرا شدند ، سوپروایزر باید پیگیر کارایی آن ها در جلوگیری از حوادث ها ی آتی باشد.**

6- **ارزیابی و پی گیری : سوپروایزرها و کارکنان باید کارایی تمامی کنترل های جدید و تغییر یافته را ارزیابی کنند. فرم های ارزیابی خطر باید بازبینی شده و حداقل هر سه سال یکبار به روز شوند . مواقعی که نیاز به مرور ارزیابی خطرات هست در ادامه آمده است:**

- **زمانی که فرآیند یا عملیاتی تغییر می کند.**
- **زمانی که تجهیزات جدیدی وارد محیط کار می شود.**
- **قبل از هرگونه اضافه کردن یا تغییری در محل کار.**
- **در نتیجه ی بازبینی محل کار.**
- **در نتیجه یک تحقیق.**

زمانی که ارزیابی های بالا مشخص شدند، ارزیابی خطرات باید مطابق فعالیت های زیر تجدید شوند:

- **مرور و باز بینی: برای حذف یا کاهش ریسک به حداقل ممکن، نیازمند بازبینی می باشد.**
- **نو کردن تعلیمات: اگر کنترل ها تغییر کنند تازه کردن تعلیمات نیاز است تا از آگاهی کارکنان از تغییرات اطمینان حاصل شود.**
- **ارتباطات مداوم: سوپروایزرها باید خطرات شناخته شده جدید و کنترل ها را به صورت مداوم به کارکنان ابلاغ کنند.**

WHMIS (سیستم اطلاعاتی مواد خطرناک موجود در محل کار)

بایستی سیستم اطلاعاتی از مواد خطرناک موجود در محل کار ایجاد شود تا کارکنانی که مواد خطرناک استفاده میکنند، اطلاعات لازم را در مورد جابه جایی ایمن ، نگهداری و دورریز آن ها داشته باشند.

اجزایWHMIS

(Workplace hazardous material information system) **شامل سه جز بسیار مهم است:**

- ✓ **آموزش کارکنان: فراهم کردن آموزش مرتبط با محصولات مورد استفاده در محیط کار شامل آموزش های خاص و عام.**
- ✓ **برچسب ها: برچسب های تولید کننده و برچسب های محل کار، اطلاعات ضروری را در مورد حمل ایمن یک محصول فراهم می کند.**
- ✓ **برگه های حاوی اطلاعات ایمنی مواد**MSDS: **اطلاعات پایه در مورد خصوصیات فیزیکی و خطرات آنها را تهیه می کند.**

برچسبها

برچسب ها برای هشدار به کاربران برای خطرات یک محصول کنترل شده طراحی شده اند و همچنین اقدامات احتیاطی را برای جلوگیری از خطر نشان می دهند. دو دسته عمده از برچسب WHMIS **عبارتند از:**

•برچسبهای تولید کننده

•برچسبهای محل کار

برچسب ها تولیدکننده

این برچسب بر روی محصولات تحت کنترل، در ظروف اصلی زده می شوند.7مورد از اطلاعات بایدبر روی برچسب تولید کننده وجود داشته باشد. این برچسب ها شامل اطلاعات زیر هستند:

•شناسه محصول

•عبارات خطر

•تامین کننده

•اقدامات پیشگیرانه

•اقدامات کمک های اولیه

•ارجاع بهMSDS

برچسب های محل کار

این برچسب ها بر روی ظروف محصولات کنترل شده (محصولاتی هستند که برای مصرف در محل کار تولید شده اند) که از محل تهیه اصلی به محل مصرف انتقال داده شده اند و برای جایگزینی برچسبهای گم شده و یا ناخوانا استفاده می شوند.این برچسب هاباید شامل اطلاعات زیر باشد:

•شناسه محصول

•اطلاعات کار ایمن

•ارجاع بهMSDS

برچسب های تولیدکنندگان خانگی:

برچسب های تولید کننده برای محصولاتی که تولید آن ها به صورت خانگی است، متفاوت هستند. آن ها در مقادیر کمتر از 10 **کیلوگرم بسته بندی می شوند و فقط برای مصرف آزمایشگاه هستند.**

برگه های اطلاعات ایمنی مواد Material Safety Data Sheets

برگه اطلاعات ایمنی مواد(MSDS)**، نوشته ای است که شرح خطر، اطلاعات پیشگیرانه واضطراری در مورد یک محصول تحت کنترل را داراست. این برگه هابرای تکمیل اطلاعات موجود در منبع ویا برچسب های محل کاراست.**

9 **دسته ازاطلاعات که در**MSDS **وجود دارد:**

•اجزای خطرناک

•اطلاعات تهیهMSDS

•اطلاعات محصول

•داده های فیزیکی

•خطر آتش سوزی یا انفجار

•اطلاعاتی در مورد واکنش پذیری

•خواص توکسیکولوژی

•اقدامات پیشگیرانه

•اقدامات کمک های اولیه

MSDS بایدبرای هر محصول کنترل شده، تحت نظر WHMIS موجود در آزمایشگاه، در دسترس باشد. موارد استثنا عبارتند از:

•محصولات تحت کنترل تولید شده در آزمایشگاه، در همان آزمایشگاه باقی بماند.

•محصولات حدواسط در ظروف واکنش

فرمت MSDS

MSDS ها باید به روز شوند و بر طبق قانون WHMIS، MSDS باید کمتر از سه سال باشد. آنرا می توان به طرق مختلف دردسترس پرسنل قرار داد:

•نسخه های کاغذی از MSDSها

•دسترسی به اطلاعات MSDSها

•دسترسی کامپیوتری به MSDSها

در بسیاری از آزمایشگاهها، ترکیبی از سه روش استفاده می شود. اگر دسترسی از طریق کامپیوتر است، مدیر آزمایشگاه باید اطمینان حاصل کند که:

•پرسنل تمام اوقات دسترسی به کامپیوتر دارند.

•تمام پرسنل آزمایشگاه چگونگی دسترسی به اطلاعات و بازیابی MSDSها را بدانند.

•وب سایت به بیش از یک منبع MSDS لینک شود و اطلاعات کاربری و یا هرگونه ثبت نام و یا اطلاعات ورود به وضوح بر روی کامپیوتر موجود باشد.

•نسخه های سخت افزاری هم در صورت لزوم می توان کپی کرد.

تکنیک صحیح میز کارمجموعه ای از مهمترین مهارتهای مورد نیاز، درهنگام کار با مواد خطرناک می باشد. تکنیک صحیح میز کار، درسه قانون خلاصه می شود:

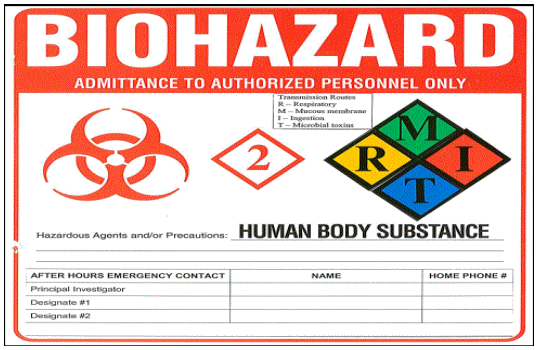
• سطوح باید تمیز نگهداری شوند.

• درب بطری ها ولوله ها، حدالامکان بسته نگه داشته شود.

• جابه جایی و دستکاری تجهیزات تا حد امکان باید به حداقل برسد.

دسترسی و ورود به آزمایشگاه

از آنجاکه خطرات به صورت بالقوه در هر آزمایشگاه شایع است، بایستی افرادی که داخل آزمایشگاه میشوند، ازخطرات موجود در آن اطلاع داشته باشد و همچنین ورود پرسنل غیر مسئول محدود گردد.



علایم آزمایشگاهی

در حال حاضر، علائم آزمایشگاهی بر روی درب تمام آزمایشگاه های سطح2 و سطح 3 نصب می گردد. این علائم به بازدید کنندگان، در مورد راههای انتقال عوامل مورد استفاده در داخل آزمایشگاه و همچنین سطح محدودیت بیولوژیکی

اطلاع می دهد. این علائم در مورد خطرات رادیاسیون و خطرات مواد شیمیایی موجود در آزمایشگاه اطلاعاتی نمی دهد.

این علائم شامل اطلاعات زیر است:

- **خطرات موجود در آزمایشگاه: بیولوژیکی، شیمیایی وپرتوی**
- **اقدامات احتیاطی ویژه وPPE متناسب برای کار داخل آزمایشگاه**
- **تماس های اورژانسی و خارج از ساعات کاری**

نگهداری مناسب آزمایشگاه

بی نظمی در آزمایشگاه هم باعث اختلال بازده و بهره دهی شده و همچنین به عنوان خطرجدی ایمنی بالقوه برای پرسنل پژوهشی می باشد. محدوده آزمایشگاهی باید تمیز و عاری ازمواد شیمیایی ودستگاههای غیر ضروری باشند و همه مواد غیر ضروری و تجهیزات را باید به طور صحیح نگهداری شود.

بعضی از موارد ممنوع در ازمایشگاه

غذا و نوشیدنی : نباید موادغذایی و نوشیدنی در آزمایشگاه داخل دانشگاه مصرف و یا ذخیره شود. همچنین از نگهداری ظروف و بطری های آب نوشیدنی جلوگیری شود.

آرایشی و بهداشتی: لوازم آرایشی نباید در آزمایشگاه استفاده شود. این لوازم شامل رژ لب و برق لب است. لنزهای تماسی نباید در آزمایشگاه، در چشم گذاشته یا برداشته شود. همچنین ممکن است آزمایشگاه محدودیت هایی دراستفاده ازلنزهای تماسی را اعمال کند.

راه های تمیز و مرتب نگهداشتن آزمایشگاه عبارتند از:

- **تجهیزاتی که مرتبا استفاده نمی شوند، خارج از محدوده فعال آزمایشگاه نگهداری شوند.**
- **تمیز کردن تجهیزات و وسایل شیشه ای بلافاصله پس از استفاده.**
- **گذاشتن مواد شیمیایی پس از استفاده به محل نگهداری آنها.**
- **تمیز کردن سطوح طورمنظم برای جلوگیری ازتجمع گرد و غبار وموادشیمیایی.**
- **تمیز و غیر مسدود بودن تمامی راهرو ها و مسیر ها به منظور اطمینان ازحرکت ایمن.**
- **کابلهای برق و یا لوله گاز یا جریان آب در راهرو ویا ازهود بیرون زدگی نداشته باشد و همچنین،کابل و لوله گاز ازسقف آویزان نباشد.**
- **سریعا مواد ریخته شده پاک شوند**
- **مسدود نکردن مسیر دسترسی به تجهیزات اضطراری**
- **جعبه، تجهیزات اضافی و وسایل شخصی در آزمایشگاه نگهداری نشود.**
- **بسته بندی و مجزا کردن پسماند ها و نگهداری آنها در محل های مناسب.**
- **دورانداختن زباله به شکل مناسب وبه موقع. محل زباله های خطرناک در آزمایشگاه به طورکامل پوشانده شود.**

تکنیک میز کار:

کار درروی میز، شایعترین فعالیت دریک آزمایشگاه تحقیقاتی است. تکنیک صحیح کار بر روی میز آزمایشگاه برای اطمینان ازایمنی وموفقیت پژوهش ضروری می باشد.

روش آسپتیک(Aceptic) در هنگام کار با مواد خطرناک زیستی(biohazard): به روش ها وتکنیکهای طراحی شده برای جلوگیری از آلودگی کارکنان، محیط و نمونه ی درحال کار، اطلاق می شود.

تکنیک میز کار مناسب مجموعه ای از مهم ترین مهارتهای مورد نیاز است که درهنگام کار بامواد خطرناک باید رعایت شود.

روش میز کارمناسب را می توان با سه قانون خلاصه کرد:

- ✓ **سطوح باید تمیز نگه داشته شوند.**
- ✓ **بطری ولوله ها تا آنجا که ممکن است باید بسته نگه داشته شود.**
- ✓ **جابه جایی ودستکاری تجهیزات تا حد امکان باید به حداقل برسد.**

نگهداری سطوح تمیز: میز آزمایشگاه بایستی بدون در هم ریختگی نگهداری گردد. بطری، لوله ها وپلیت ها یا نگهداری شده ویا دور ریخته شوند و بر روی میز باقی نمانند. (تا حد ممکن خواندن و نوشتن بایددر روی میز انجام نشود مگردر یک منطقه معین). سطح میز باید قبل وبعد از آزمایش به طور مناسب تمیز شود.

تصاویر فوق، تفاوت بین میزکثیف و تمیز را نشان می دهد.در تصویر سمت چپ، فضای بسیار کمی برای کار وجود دارد

بسته نگه داشتن بطری ها و لوله ها:

انتقال مایعات بین ظروف باعث انتشار محتویات بصورت آئروسل شده که یک منبع بالقوه از آلودگی برای کارکنان و همچنین کراس کنتامیناسیون نمونه می شود. هنگام کار با مواد خطرناک زیستی داخل کابینت های ایمن زیستی می توان ایجاد آئروسل را به حداقل رساند همچنین قبل از باز کردن ظروف، بایستی با ضد عفونی کننده مناسب درب آن را ضد عفونی کرد. به همین شکل، در هنگام کار با مواد شیمیایی، با کار در داخل هود های شیمیایی آزادسازی آئروسل را به حداقل رساند. همچنین هنگام پی پت کردن مایعات می توان با نگه داشتن بطری یا لوله بازاویه45 آزاد سازی آئروسل را به حداقل رساند.

بایستی بطری ها و لوله ها مانند میکروتیوپ های PCR هنگام استفاده باز شوند. همه بطریها در محیط مناسب، یعنی درزیر هود شیمیایی یا هود کشت سلولی باز شوند. برای جلوگیری ازکراس کنتامیناسیون و اختلاط مواد شیمیایی، تمام بطری ها ولوله های آزمایش برچسب زده شوند.

به حداقل رساندن حرکات:

پرسنل باید ازهرگونه حرکت اضافی هنگام باز کردن ظروف یا استفاده از پیپت جلوگیری کنند. آلودگی به راحتی توسط تماس نوک پیپت به لبه خارجی بطری ها و لوله ها و یا به دستکش وسطوح روی میزانتقال یابد. همچنین می توان با در دسترس گذاشتن همه مواد وتجهیزات لازم برای آزمایش قبل از شروع کار، حرکات را به حداقل رساند. پس از اتمام آزمایش میز بایددر اسرع وقت تمیز و تمام تجهیزات وواکنشگرها به درستی دفع شود.

راههای قرار گیری در معرض مواد خطرناک:

قرار گرفتن در معرض مواد خطرناک، توسط چهار طریق عمده رخ می دهد:

- **استنشاق**
- **خوردن**
- **تزریق**
- **جذب از طریق پوست یا غشای مخاطی**

هدف از بهداشت شخصی، تمیز کردن آزمایشگاه و داشتن پوشاک مناسب آزمایشگاهی برای جلوگیری ازقرارگیری درمعرض مواد خطرناک در آزمایشگاه می باشد. در این بخش به اصول ودستورالعمل هایی که باید برای حفاظت از پرسنل، انجام داد، می پردازیم:

بهداشت و سلامت شخصی:

بهداشت و سلامت شخصی عامل مهمی درجلوگیری ازقرارگرفتن رمعرض مواد خطرناک است. برخی ازراهها برای محافظت شخصی عبارتند از:

- **اجتناب ازتماس مستقیم با مواد خطرناک. به منظور آگاهی به برگه های ایمنی مواد (MSDS) مراجعه شود**
- **خواص مواد**
- **PPE مناسب**
- **حمل و نقل و دفع ایمن**
- **اقدامات و کمک های اولیه**
- **اجتناب ازاستنشاق مواد: برای انجام کارمربوط به مواد شیمیایی فرار بایست ازهودFume استفاده شود.کار با مواد خطرناک زیستی گروه 2 باید در کابینت های ایمن زیستی صورت گیرد.**
- **فرض کنید که اختلاط مواد شیمیایی خیلی خطرناکتر از ماده شیمیایی بسیار خطرناک می باشد.**
- **همیشه مواد ناشناخته رابه عنوان مواد خطرناک در نظر بگیرید.**
- **پس ازکار کردن با هرگونه مواد خطرناک دستان خود را کاملا با آب و صابون بشویید حتی اگردستکش پوشیده باشید.**
- **هرگز با دهان پی پت ننمائید.**
- **از خوردن، نوشیدن یا استفاده ازلوازم آرایشی در آزمایشگاه خودداری کنید. برای ذخیره، آماده سازی و یا مصرف مواد غذایی از وسایل آزمایشگاهی استفاده نکنید (یخچال و فریزر، اجاق های مایکروویو، ظروف) .**
- **منابع آب آزمایشگاهی و آب دیونیزه هرگز به عنوان منابع آب آشامیدنی استفاده نگردد.**
- **با توجه به نوع تحقیقی انجام شده در آزمایشگاه، ممکن است ارزیابی خطر نیاز به محافظت اضافی از قبیل واکسن دربرابرمواد خطرناک زیستی داشته باشد.**
- **کارکنانی که قبلا عملیات جراحی یا آرایشی (تتو و سوراخ کردن گوش) ویا صدمات فیزیکی که موجب تغییر قابل توجهی در پوست بوده نباید تا بهبودی کامل وارد آزمایشگاه شوند. این زخم ها فرد را بیشتر در معرض خطرقرار می دهد.**

بازدید کنندگان و کودکان در آزمایشگاه:

کودکان

ورود کودکان به آزمایشگاه در هر زمان ممنوع می باشد بجز بچه هایی که به عنوان بخشی ازتوررسمی دانشگاه و یا به عنوان بازدیدکننده توسط گروه دعوت شده اند. دراین مواردخاص، رهبر تور، یاسایر پرسنل آگاه، بایدنظارت دقیق ومستقیم را داشته باشد. ممکن است برخی ازبرنامه های توسعه ای شامل حضور دانش آموزان دبیرستانی باشد. این دانش آموزان در تمام زمانیکه در آزمایشگاه هستند باید تحت نظارت مستقیم پرسنل آزمایشگاه و بزرگسالان باشند.

بازدید کنندگان دیگر

فقط افراد مجاز باید درآزمایشگاه دانشگاه وارد شوند."مجاز" کسی است که یک دلیل معتبر برای حضور در آزمایشگاه داشته باشد مانند کارگرآزمایشگاهی، دانش جویان مشغول به کار درآزمایشگاه، پرسنل تعمیر و نگهداری محل کار، و یا فردی که دارای مجوز از سرپرست آزمایشگاه است. بازدیدهای غیر مهم درآزمایشگاه دانشگاه مجاز نیست.

در تمام موارد، بازدید کنندگان باید از موارد زیرآگاه باشند:

•همه خطرات بالقوه در آزمایشگاه

•روشهای اضطراری درصورت نشت، آتش سوزی

به بازدید کنندگان نیز باید وسایل مناسب محافظتی شخصی در صورت لزوم ارائه شود و در کل زمانی که در آزمایشگاه هستند ، بایدتحت نظارت پرسنل آزمایشگاه باشند.

کار کردن به تنهایی و روش های خارج ازساعت کار

کار در خارج از ساعات کاری، دارای ریسک بالاتری نسبت به ساعات معمول می باشد بدلیل اینکه افرای کمتری حضور دارند. بنابراین ، مراقبت های بیشتری نیاز است زیرا دستیاری برای کمک در شرایط اورژانسی وجود ندارد. موارد زیر نکاتی است که در این مورد باید رعایت شود:

– میزان کارهای آزمایشگاهی که در خارج ازساعات روتین را باید به حداقل رساند.

– روش جدید یا ناآشنا نباید بعد ازساعت کاری انجام شود.

– کارهای با ریسک پایین باید در ساعات خارج از ساعات کار ازمایشگاه انجام شود.

– سوپروایزر بایدحضور بعد از ساعات کاری را تایید کند.

– همه وسایل اضطراری وتجهیزات محافظتی ایمنی (به عنوان مثال: دستکش، کیت کمک های اولیه، دوش اضطراری، کپسول آتش نشانی) بایدبه آسانی در دسترس باشند.

کار کردن به تنهایی(working alone)

طبق تعریف قانون بهداشت و ایمنی شغلی، الزامات خاصی برای آن عده ازکارمندانی که به تنهایی کارمی کنند وجود دارد. کار به تنهایی، طبق تعریف،

- ✓ **زمانی است که یک فرد تنها در محل کار است**
- ✓ **اگر مجروح یا بیمار شود کمک یا اورژانس به آسانی در دسترس نیست.**

اگر شرایط فوق پیش بیاید، کارفرما ملزم به ارائه یک سیستم ارتباطی موثر (تلفن) است و بایست در فواصل زمانی منظم تماس داشته باشد.

پرسنل باید آموزش هایی درمورد روش های حفظ محیط کاری امن و همچنین سلامت پرسنل که به تنهایی کار می کنند را دریافت کنند. روشها باید شامل موارد زیر باشد:

•دستورالعمل در مورد نحوه به دست آوردن کمک

•روشهای عکس العمل اورژانسی که شامل مسئولیت های پرسنل در موارد اضطراری و زمان مناسب و چگونگی استفاده از تجهیزات اضطراری.

پرسنل منفرد (Lone worker)

برنامه ی خدمات حفاظتی دانشگاه (UAPS) تمهیدات حضور پرسنل منفرد برای کار در ساعات آرام شب و یا تعطیلات آخر هفته ایجاد کرده است. در این برنامه تماس با پرسنل حفظ شده و کمک های فوری در صورت نیاز فراهم می شود.

آزمایشات بی مراقبتunattentend experiment

آزمایش های بی مراقبت باید به حداقل برسد، این آزمایشات خارج از ساعات کاری روتین، در صورت بروز مشکلی، ایجاد خطرات ایمنی می کند. تمام عملیات بی مراقبت نیاز به تایید قبلی ازسوپروایزر آزمایشگاه، و روش کار امن مکتوب دارد.

هنگامی که آزمایش نیاز به عملیات مداوم و یا شبانه روزی دارد، برای جلوگیری ازریخته شدن، جاری شدن آب و یا آتش سوزی که ناشی ازشکست مکانیکی، نقص برق و آب باشد، اقداماتی بایددر نظر گرفته شود که عبارتند از:

در آزمایشاتی که نیاز به آب خنک داشته، باید لوله های آب بصورت محکم اتصال وجریان آب را درحداقل میزان لازم، تنظیم گردد و مکانیسمی"توقف امن" در نظر گرفته شود تا عملیات را، در صورت قطع آب متوقف کند.

•آزمایش را درهود فیومfume **سازماندهی شود، به طوری که درصورت خرابی سیستم، هیچ ماده خطرناکی رادرفضای آزمایشگاهی آزاد نشود. اطمینان حاصل کنید که هودهای فیوم، در طول انجام آزمایش، روشن بماند.**

•چراغ آزمایشگاه باید روشن باشد و یادداشتی به شرح زیر نصب گردد:

- **شرح عملیات**
- **موادشیمیایی در حال استفاده**
- **نام و شماره تماس فرد انجام دهنده ی این آزمایش.**
- **زمانی شروع و پایان مورد انتظار**
- **اقداماتی که در موارد اورژانسی باید انجام شود**

• اگر در طول شب، آزمایشی در حال انجام باشد، قبل از ترک پرسنل، اطمینان حاصل شود که آزمایش چک شده وموارد مذکور بصورت مکتوب درآید. اگر آزمایش بدون مراقب در طول ساعت کار روتین در حال انجام باشد، باید در فواصل معینی که سوپروایزر تعیین میکند، بازدید و سرکشی شود.

شستشوی اورژانسی چشم ودوش ها:

در تمام آزمایشگاه هایی که با مواد خطرناک کارمی شود، باید محل شستشوی چشم و دوش اضطراری در داخل آزمایشگاه و یا نزدیک به آزمایشگاه باشد. پرسنل باید از محل دوش ایمنی وشستشوی چشم آگاه بوده و طریقه استفاده آن را بدانند. میز، نیمکت وتجهیزات آزمایشگاهی نباید زیردوش اضطراری نگهداری شود و مسیر دسترسی به آنها، به هیچ وجه مسدود نشود.

دوش های اورژانسی: برای شستشوی سر و بدن طراحی شده و هرگز برای شستشوی چشم نمی توان از آن استفاده کرد. سرعت جریان و فشار نسبتا بالا، موجب آسیبی شدیدتر از آسیب آلودگی اولیه می شود.

شلنگ آب: از وسایل مشترک در آزمایشگاهها می باشد و مکمل ابزار شستشوی چشم و دوش گرفتن است و برای موارد زیر استفاده شوند:

- **شستن منطقه کوچک زمانی که دوش کامل نیاز نباشد.**

- برای کسی که قادر به ایستادن نیست یا بیهوش است.
- شستشوی لحظه ای قبل ازشستشوی کامل و دوش اضطراری.

بطری شستشوی چشم: بطری شستشوی چشم امکان شستشوی فوری آلودگی و یا ذرات کوچک را فراهم کرده که بدنبال آن باید به مدت 15 دقیقه به طور منظم در ایستگاه شستشوی چشم شسته شود. برای جلوگیری از رشد میکروبی، هنگامی که بسته بندی بطری شکسته شد، آب داخل بطری شستشوی چشم بایدبه طور منظم طبق دستورالعمل سازنده عوض شود. محلول سالین بافر حاوی ضد باکتری مناسب برای طولانی کردن تاریخ مصرف بطری شستشوی چشم استفاده شده که تحریک کنندگی کمتری برای چشم دارد.

علائمی باید محل دوش ایمنی و شستشوی چشم را به وضوح نشان دهد. در صورت قرارگرفتن درمعرض مواد خطرناک، همه لباس های آلوده در آورده شوند. لباس، مواد شیمیایی را جذب کرده و نزدیک به پوست نگه می دارد و باعث سوختگی شیمیایی می شود. شستشوی فوری و کامل قسمتی از بدن که تحت تاثیر مواد آلوده قرارگرفته است حداقل به مدت 15 دقیقه ضروری است که موجب رقیق کردن و شستن آلودگی می گردد. پس از شستشوی قسمت مورد نظر، در اسرع وقت تحت مراقبت های پزشکی قرار دهید.

اکثر دوشها و ایستگاه شستشوی چشم اضطراری در دانشگاه از آب سرد استفاده می کنند. ایستادن زیر دوش آب سرد به مدت 15 دقیقه، زمان زیادی است پس حتما یک نفر باید مراقب باشد که شخص، دوش را قبل از شسته شدن آلودگی های شیمیایی، ترک نکند همچنین، فردی که چشمش با مواد شیمیایی آلوده شده، تمایل شدیدی به بستن چشمانش دارد و بستن چشم، میزان آسیب چشم را افزایش می دهد پس باید فردی به باز نگهداشتن پلک قربانی کمک کرده تا شستشوی مناسب صورت گیرد.

نگهداری دوش ها و شوینده های چشم:

ایستگاه های شستشوی چشم باید به طور منظم، هفته ای یک بار به مدت 3 دقیقه تست شوند.در برخی از ایستگاه های شستشوی چشم، مخصوصا ساختمان های نو ساز به دلیل باز بودن زهکش فاضلاب، این کار مشکل است. برخی گروه های تحقیقاتی با قرار دادن یک پنکه روی زهکش فاضلاب یا با قرار دادن یک لوله ی pvc در زهکش، تست کردن رابه صورت هفتگی تسهیل می بخشند.

دوش های اضطراری :

این دوش ها نباید توسط پرسنل آزمایشگاه تست شوند و برای تست آن ها، با بخش مدیریت تسهیلات تماس گرفته شود.

قطع امکانات **Utility shutdowns**

در مواقع قطع بودن آب، برق یا تهویه، نباید با مواد خطرناک کار کرد. زیرا، تجهیزات ایمنی آزمایشگاه به خطر افتاده و درست کارنمی کند ودرصورت حادثه و یا نشت، در دسترس نمی باشند. برای مثال در زمان قطع آب، دوش های اضطراری و شوینده های چشم کار نمی کنند.

کارهای آزمایشگاهی که شامل مواد خطرناک نیست، مجاز می باشد. برخی از کارهای مجاز شامل :

راه اندازی دستگاه ها، کار با داده ها (data) و مواد.

در زمان نقص برق یا قطع آن، تمام مواد خطرناک را در جای امن گذاشته و آزمایشگاه را ترک و در را بسته شود.

برای اینکه افراد در معرض مواد خطرناک قرار نگیرند، ترک آزمایشگاه ضروری است . زیرا هودها و وسایل تهویه غیرفعال هستند. زمانی که نقص برق برطرف شد و پس از مدت زمان کافی جهت تهویه آزمایشگاه، بازگردید، حداقل یک ساعت زمان لازم است.

وسایل آزمایشگاه :

یک آزمایشگاه مدرن شامل تعداد زیادی وسایل پیچیده و عموما گران است که توسط پرسنل متعددی استفاده می شود. انجام فرآیندهای آزمایشگاهی نیازمند مهارت های خاص می باشد.

وسایل شیشه ای:

وسایل شیشه ای آزمایشگاه از انواع مختلف شیشه ساخته می شود. بسته به کاربرد آنها، انواع شیشه آلات استفاده می شود.

شیشه های بوروسیلیکاته : این نوع از شیشه ها ضریب انبساط گرمایی پایینی دارند که موجب مقاومت می شود در برابر دمای بالا می شود. در واقع تمام شیشه های آزمایشگاهی، بوروسیلیکاته هستند زیرا درشرایط حرارتی و شوک مکانیکی خوب کار می کنند. برای آزمایشات تحت خلا، شیشه های بروموسیلیکاته ته گرد یا دیوار ضخیم طراحی شده تا فشار پایین مورد استفاده را، تحمل کند.

شیشه های soft: این نوع شیشه ها در شرایط که خیلی ناملایم نباشند، کاربرد دارند مانند بطری واکنشگرها، لوله های آزمایش و ابزار سنجش.

طبقه بندی منظم شیشه آلات را نشان می دهد

قبل از شروع کار آزمایشگاهی، شیشه آلات باید از نظر عیب های زیر بررسی شوند:

- لب پریدگی - ترک - خدشه - علایم نوشته شده

پرکردن صحیح شیشه آلات: انتخاب شیشه آلات با اندازه ی مناسب، مهم است. حداقل باید 20 درصد فضای خالی باشد تادر صورت اتساع و افزایش محتویات، فضای کافی وجود داشته باشد. پر کردن کامل شیشه آلات، صحیح نمی باشد.

نکات عمومی ایمنی شیشه آلات :

- **از شیشه آلات متناسب با مواد شیمیایی، استفاده شود.**
- **هنگام انتخاب شیشه آلات، واکنش های شیمیایی در نظر گرفته شود.**
- **گیره ها خیلی سفت نشود.**
- **شیشه آلات داغ، روی سطوح سرد گذاشته نشود.**
- **هنگام انتقال شیشه آلات از دمای بسیار سرد -70 درجه به دمای محیط، مراقب شکستن به دلیل تغییرات سریع دمایی باشید.**
- **در شرایط خلا فقط از شیشه آلات مخصوص تایید شده، استفاده کنید.**

Glass tubing: در بسیاری از روش های آزمایشگاهی، لوله های شیشه ای(ترمومتر) برای وارد کردن به سوراخ چوب پنبه فلاسک نیاز می باشد. این عمل باید بطور صحیح انجام تا ریسک آسیب کاهش یابد.

پوشش های مناسب PPE: جهت کاهش خطر هنگام کار با لوله شیشه ای، بایست محافظ چشم و دستکش چرمی پوشیده شود.

استفاده از لوله های با اندازه ی مناسب: اطمینان از اینکه سوراخ چوب پنبه به اندازه کافی بزرگ برای لوله شیشه مورد استفاده، باشد.

لوله های با کف مناسب :کف لوله ها باید صیقلی و صاف باشد.

استفاده از لغزاننده ی مناسب: از محلول آب و صابون یا گلیسیرین یا لغزاننده ی مناسب قبل از قرار دادن چوب پنبه در لوله استفاده کنید.

دقت شود که: لوله در کف دستی که چوب پنبه در آن است قرار نگیرد. از حرکت چرخشی برای گذاشتن چوب پنبه استفاده کنید. هرگز با فشار این کار صورت نگیرد.

نظافت شیشه آلات: بسیاری از آزمایشگاه ها قوانین خاصی در نظافت شیشه آلات دارند. آگاهی پرسنل از قوانین آزمایشگاهشان الزامیست.

تجهیزات الکترونیکی: این تجهیزات ممکن است در آزمایشگاه ایجاد جرقه یا اتصال کنند که به عنوان منبع آتش سوزی یا انفجار شیمیایی عمل کند. به منظور کاهش احتمال خطرات ، احتیاطاتی باید صورت گیرد

- **در همه ی وسایل برقی، دو شاخه های مجهز به حفاظ و سیم اتصال به زمین استفاده شود.**
- **تجهیزات باید طوری قرار بگیرند که کمترین احتمال ریزش مواد به زیر آن ها وجود داشته باشد.**
- **سیم ها برای جلوگیری از خطر اتصال بازبینی شوند.**
- **دستگاه های دارای موتور اگر در معرض بخارات قابل اشتعال هستند، باید دارای القاگر ضد جرقه باشند.**
- **کلیدهای روشن و خاموش، رئوستات های کنترل سرعت و موارد مشابه می توانند تولید جرقه کنند. اگر دستگاه الکتریکی در زیر هود استفاده می شود تمام کنترل های آن باید خارج از هود انجام شود. اگر لازم است یک سویچ برق بر روی سیم قرار دهید.**
- **وسیله ی برقی را قبل از انجام هر تغییر یا تعمیر از برق بکشید.**

تجهیزات الکتریکی بی مراقب:

احتمال نقص مکانیکی و خراب شدن دستگاه های الکتریکی مانند مخلوط کن ها و شیکرها که زمان طولانی به کار می روند، وجود دارد. اگر به مدت طولانی بدون مراقب در حال کار هستند باید به فیوز برق وصل و قطعات محافظ حرارتی داشته باشند که در صورت بروز مشکل عملیات را متوقف کند.

سانتریفیوژها از ابزار بسیار مهم در آزمایشگاه ها هستند. همه ی پرسنل باید به قوانین مربوط به استفاده از آن ها بدانند. دو خطر عمده در استفاده از سانتریفوژ ها وجود دارد:

- **نقص مکانیکی : کار کردن سانتریفیوژها نیازمند نیروی مکانیکی بالاست که موجب فرسایش روتور، نقص دستگاه، از بین رفتن نمونه و در نهایت خرابی سانتریفوژ می شود.**
- **تعلیق آئرسول ها: سانتریفوژ کردن نمونه ها، موجب تولید آئروسل در فضا خواهد شد.به همین دلیل سانتریفوژ کردن مواد خطرناک، طبق قوانین خاص انجام شود. اکثرحوادث سانتریفوژها مربوط به خطای فردی است بنابر این آموزش افراد قبل از استفاده از سانتریفوژها ضروری است.**

انواع سانتریفوژهای معمول:

- **میکروفیوژها: این سانتریفوژها معمولا به صورت کوچک روی میزی ساخته می شوند و اغلب حاوی بخش خنک کننده هم هستند و برای حجم های کوچک حجم های 1 میکرولیتر تا 2 میلی لیتر طراحی شده اند.**
- **سانتریفوژهای تدارکی(preparative): این ها در دو مدل bench-top (روی میزی)و floor model(زمینی) ساخته می شوند و روتور های بزرگتر متنوعی را در خود جای می دهند معمولا برای حجم های بزرگتر هستند (حجم های 1 لیتری).**
- **اولترا سانتریفوژها: این ها هم در دو مدل روی میزی یا زمینی هستند و برای سرعت های بالا طراحی شده اند(بالای 100 هزار rpm). به دلیل این سرعت بالا، دارای خنک کننده هستند تا از گرم شدن نمونه وهمچنین پمپ خلا محافظت کند. این سانتریفیوژها، گران ترین مدل بوده و اغلب در آزمایشگاه های مرکزی موجود می باشند.**

به ترتیب از سمت چپ: میکروفیوژ، سانتریفوژ تدارکی و اولتراسانتریفوژ

پروتکل سانتریفوژ کردن:

قبل از استفاده هر سانتریفوژ، باید با کار کرد آن آشنا شد و به SOP (پروسه کار کرد ایمن آزمایشگاهی) و به راهنمای کار کرد دستگاه مراجعه کرد.همچنین راهنمای کار با سانتریفوژ، کنار آن نصب گردد

انتخاب روتور و تیوپ :اولین اقدام برای استفاده سانتریفیوژ، انتخاب تیوپ و روتور می باشد. در انتخاب تیوپ چند نکته باید رعایت شود:

- **باید با مواد شیمیایی که سانتریفیوژ می شوند، سازگار باشند**
- **باید قادر به تحمل نیروی مکانیکی سانتریفوژ مورد نظر باشد.**
- **باید تیوب حجم مناسب داشته باشد (بیش از ¾ ام لوله پر نشود).**
- **باید تیوب دارای سیستم بسته شدن محکم و مناسب باشد.**

Rpm و rcf :

در بسیاری از پروتکل ها سانتریفوژها به صورت g×123 لیست شده اند. rcf به نیروی نسبی سانتریفوژ ویا به گراویتی × نیرو(g×force) مربوط می شود. rcf نیروی واقعی اعمال شده بر محتویات روتور را اندازه می گیرد و چون مستقل از روتور است، بیشتر مورد استفاده قرار می گیرد. اغلب نیاز است که rcf به تعداد دورها در دقیقه تبدیل شود (rpm). سانتریفوژهای جدید بر اساس هر دو هستند. اما اگر از سانتریفوژهای قدیمی استفاده می کنید بر اساس rpm هستند. محاسبات برای تبدیل این دو به هم به صورت زیر است:

$$rcf = 1.118 \times 10\text{-}5 \times r \times rpm2$$

$$rpm = 103 \sqrt{RCF/1.12\ r}$$

قبل از سانتریفوژ کردن : پس از آنکه روتور و تیوپ انتخاب شدند، مراحل زیر در هر بار استفاده باید دقت گردند:

- **بررسی روتور و bucket از نقطه نظر فرسایش یا شکست.**
- **اطمینان از تمیز و خشک بودن روتور و تیوپ و spindle**
- **کنترل شرایط ایمنی روتور .**
- **بررسی تیوپ ها از نظر نقص.**
- **توازن داشتن باکت، تیوپ و روتور به طور صحیح .**
- **پوشاندن سر لوله ها به صورت ایمن.**

نکته: لوله ها در سانتریفوژ باید به صورت بالانس قرار داده شوند. به عنوان یک قانون کلی: هرچه دور بیشتر باشد نیاز به توازن و بالانس دقیقتری است. برای مثال در اولتراسانتریفوژ، نیاز به توازن در حد 0/001 گرم است.

در طول سانتریفوژ کردن :

- **درب سانتریفوژ باید همیشه بسته باشد. در سانتریفیوژ های جدید تر، تا قبل از توقف کامل، قفل درب باز نمی شود اما در مدل های قدیمی قبل از توقف کامل، می توان درب را باز نمود.**
- **نباید قبل از رسیدن به دور مورد نظر و اطمینان از کار کرد ایمن سانتریفوژ و بدون لغزش، آن را ترک کرد.**
- **یک یادداشتی در کنار سانتریفوژ نصب که دسترسی به کاربر را نشان دهد.**

پس از اتمام سانتریفوژ:

- **قبل از باز کردن درب آن، از توقف کامل آن مطمئن شوید.**
- **داخل سانتریفیوژ را از نظر نشت و چکه احتمالی بررسی و در صورت نیاز، تمیز گردد.**

فرآیندهای اضطراری در هنگام سانتریفوژ کردن: شرایط زیر، وضعیت اضطراری در نظر گرفته می شوند:

- **نشتی در سانتریفوژ وجود دارد.**
- **کارکرد نادرست سانتریفوژ**
- **نقص روتور**
- **شکستن لوله ها**

زمانی که سانتریفوژ در حال کار و درب آن بسته است موارد مذکور، به صورت صدای بلند یا نامعمول شنیده خواهد شد.

پروتکل اضطراری:

اگر هر یک از موارد ذکر شده در بخش قبل، رخ دهد، بایستی اقدامات زیر را انجام شود:

- **فورا دستگاه سانتریفیوژ خاموش گردد**
- **فرض می شود که نشتی مواد وجود داشته و سانتریفیوژ نیاز به تمیز کردن دارد. بنابراین باید با دقت سانتریفیوژ را باز و بررسی نمود.**
- PPE **مناسب در طول تمیز کردن باید پوشیده شود. روتور سانتریفیوژ، سطوح داخلی و لوله ها همگی باید تمیز شوند. در برداشتن لوله های شکسته، حداکثر مراقب صورت گیرد.**
- **از پروتکل دفع مواد ونشت مواد خطرناک در سانتریفیوژ دنبال شود.**

موارد نادرست و اشتباه

عموما سانتریفیوژها دارای حفاظ های بسیار مناسبی می باشند که در صورت بروز اشتباه، روتور را داخل سانتریفیوژ نگه می دارد.

غالبا، نقص روتور به دلایل زیر رخ می دهد:

- **روتور، نامناسب انتخاب شده باشد.**
- **نمونه ها کاملا بالانس نباشند.**

- **روتور خیلی قدیمی باشد و پوسیدگی فلز روتور، سبب خرابی آن شود.**

بررسی روتور بطور منظم، بسیار ضروری بوده و در صورت داشتن سئوالی در مورد ایمنی و سالم بودن روتور، با محقق اصلی صحبت شود

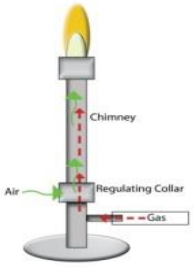
منابع گرمایی

در بسیاری از آزمایش ها از وسایل گرمایی استفاده می کنند. در صورت امکان باید از منابع گرمایی الکتریکی مانند مثلhot plate، توری گرمایی ، heating mantle یا وسایل مشابه به جای هیتر گازی استفاده کرد، بدلیل اینکه منابع گرمایی الکتریکی ایمن تر میباشند.

حمام های بخار برای تامین دماهای زیر 100 درجه سانتی گراد مناسب هستند. در این حمام ها خطر جرقه یا شوک وجود ندارد.

چراغ بونزن Bunsen burner

چراغ بونزن، شعله مستقیم را در دمای بالا ایجاد می کند که وجود این شعله درآزمایشگاه خطرناک می باشد.



شکل، نمونه ای از چراغ بونزن را نشان می دهد.

هنگام استفاده از چراغ بونزن باید احتیاطاتی جهت جلوگیری از آتش سوزی صورت گیرد.

- **قبل ازاستفاده ، همه قسمتهای لوله بایداز نظر داشتن ترک و نیز اتصال مناسب لوله به دریچه گاز, مورد بررسی قرار گیرد.**
- **چراغ بونزن را باید دوراز وسایل و تجهیزات آزمایشگاهی قرارداد تا احتمال آتش سوزی نباشد.**
- **کاغذها، مواد قابل اشتعال و مواد شیمیایی، باید از اطراف چراغ بونزن دور کرد.**
- **برای روشن کردن چراغ بونزن، باید ازفندک دهانه بلند استفاده شود. از کبریت یافندک معمولی استفاده نشود چون ممکن است فرد، انگشتان خود را بسوزاند.**
- **هنگامیکه روشن بودن چراغ بونزن, نباید آن را بدون مراقبت رها کرد.**
- **پس از اتمام کار، شیرهای اصلی گاز مجددا بررسی تا بسته باشد.**

درآزمایشگاههای میکروبیولوژی معمولا از اتانول 70٪ به عنوان ضد عفونی کننده قبل از فلامباژ وسایلی مانند پنس یا قیچی استفاده می کنند. هرچند این روش موثر در ضدعفونی کردن تجهیزات در بین تلقیح ها می باشد, اما نگرانی های ایمنی را بوجود می آورد. حوادث آتش سوزی هنگام فرو بردن در الکل اتفاق افتاده است. در صورت استفاده از چراغ بونزن به همراه اتانول، بایستی اقدامات زیر به منظور کاهش خطر آتش سوزی انجام گیرد.

- **اتانول مورد استفاده باید در ظرف شیشه ای درب بسته نگهداری شود. چون در صورت آتش گرفتن اتانول، درب از گسترش آتش جلوگیری کرده و سبب خاموشی آن می شود. پتری دیش های پلاستیکی برای نگهداری اتانول مناسب نیستند.**
- **همه کاغذها، مواد قابل احتراق و همچنین مواد شیمیایی اضافی از محیط کار باید دور نگه داشته شوند.**
- **با تمرکز کار انجام شود، چون هنگام صحبت کردن و عدم تمرکز، اشتباه راحت تر صورت می گیرد.**

در صورت ممکن، از وسایل یکبار مصرف استفاده شود، در صورت عدم امکان، برای اجتناب از خطر، باید به اندازه کافی وسایل شیشه ای در دسترس باشد.

Heating mantle

درهیتر ها، عنصر حرارتی درلایه هایی از پشم شیشه احاطه شده که موجب کاهش خطر آتش سوزی تا حد قابل توجهی می گردند.

احتیاطاتی که هنگام استفاده باید صورت گیرد، عبارتنداز:

- **قبل از استفاده، پشم شیشه آن بررسی شده و در صورت کهنه بودن و شکسته بودن، استفاده نشود چون عنصر حرارتی را بطور کامل نمی پوشاند.**

- **ازریختن آب و یا مواد شیمیایی دیگربر روی روکش باید جلوگیری کرد چون موجب شوک خطرناک می شود. بسته به نوع ماده شیمیایی ریخته شده، احتمال آتش سوزی و انفجار، نیز وجود دارد.**

- **همیشه باید از یک ترانسفورماتور برای کنترل ولتاژ ورودی استفاده شود. هرگز به طور مستقیم به برق وصل نشود. چون ولتاژ بالا، سبب شعله ور شدن روکش و آسیب رساندن به عایقهای پشم شیشه و عریان کردن عنصر حرارتی می شود.**

حمام‌های روغن، ماسه و نمک

حمام های روغن که بصورت الکتریکی گرم میشوند درصورت نیاز به شرایط دمایی پایدار و همچنین کوچک و نامنظم بودن ظرف، استفاده می شود. برخی احتیاطاتی که در صورت استفاده ازحمام روغن باید در نظر گرفته شوند عبارتند از:

- **جلوگیری ازریختن آب یا مواد فرار در حمام،که ممکن است سبب تراوش روغن داغ، نفوذ دود و یا شعله ور شدن حمام شود.**

- **روغن پارافین اشباع ، برای حرارت دادن تا 200درجه سانتی گراد مناسب است و روغن سلیکون برای دماهای بالای 300درجه سانتی‌گراد استفاده می شود.**

- **درجه حرارت حمام همیشه بررسی شده تا از نقطه اشتعال روغن تجاوز نکند.**

- **برای جلوگیری از تشکیل نقطه داغ، روغن باید به خوبی مخلوط شود.**

- **با استفاده ازجک آزمایشگاهی یا وسیله مشابه و بدون کمک دست, حمام را براحتی بالا و پایین برد.**

حمام های نمک مذاب شبیه حمام های روغن بوده با این تفاوت که این حمامها در محدوده دمایی بالاتری عمل می کنند (450 درجه سانتی گراد).

ظرف حمام (و ظرف واکنش) باید در برابر دماهای خیلی بالا پایدار باشند.

باید حمام خشک نگه داشته شود، در صورتی که آب جذب شده در درجه حرارت بالا، تبخیر شود، احتمال خطر وجود دارد.

آون ها و کوره ها

آون ها اغلب برای خشک کردن ظروف آزمایشگاهی و نمونه های شیمیایی استفاده می شود. فقط از آون های استفاده شود که عنصر گرمایی و کنترل دما، بصورت مجزا از فضای داخلی آن باشد. معمولا آون های آزمایشگاهی بصورت مستقیم به آزمایشگاه تخلیه میشوند پس اگر احتمال نشت گازهاو یا بخارات وجود داشته باشد، در این صورت باید به داخل هود fumeیا تهویه خروجی، تخلیه شود.

کوره برای استفاده در دماهای بالا طراحی شده است. باید از ظروف و تجهیزات مورد استفاده در کوره، مقاوم به دمای بالا باشند.

یخچالها، سردخانه ها و فریزرها

یخچال ها و فریزر هایی که در آزمایشگاه استفاده می شوند باید به دقت برای نگهداری مواد خطرناک انتخاب شوند. یخچال های تجاری برای نگهداری مواد قابل اشتعال، طراحی نشده اند. در قسمت داخلی یخچال های تجاری، اتصالات الکتریکی می توانند جرقه های الکتریکی تولید کنند. فریزر های بدون برفک، اغلب مجهز به drain برای رساندن بخار به کمپرسور و هیتر برای آب کردن یخ می باشند که ممکن است با خطر تولید جرقه همراه باشند. در فریزرهای بدون برفک به علت استفاده از هیتر، تغییرات دمایی قابل توجهی دارند بنابراین برای نگهداری موادی که حساس به دما هستند مناسب نیستند. یخچالها و فریزرهای تجاری برای نگهداری مواد غیر قابل اشتعال مناسب هستند وباید با برچسب مشخص شود که برای نگهداری مواد قابل اشتعال مناسب نیستند.

همه یخچال ها، سردخانه ها و فریزرها که حاوی مواد خطرناک زیستی هستند با برچسب مواد خطرناک و و آن هایی که برای نگهداری رادیو ایزوتوپ ها بکار می روند، با برچسب رادیاسیون مشخص شوند. اطلاعات تماس برای کاربران در دسترس باشد تا درمواردی چون نشت، امکان تماس باشد

یخچالهای آزمایشگاهی

دو نوع اصلی یخچال آزمایشگاهی وجود دارد که برای سرد نگه داشتن مواد قابل اشتعال استفاده می شود:

ضد اشتعال: دراین نوع یخچال ها، هیچ سوئیچ داخلی یاسیم عریانی که بتواند به عنوان یک منبع احتراق عمل کند، وجود ندارد.

ضد انفجار: این واحد ها دارای سوئیچهای داخلی وخارجی و سیم محافظت شده هستند از این رو برای استفاده در محیط های که بخارات قابل اشتعال دارد، مناسب هستند. برای نگهداری مواد قابل اشتعال درآزمایشگاه، یک واحد با نام "نگهداری موادقابل اشتعال" کافی است.

روش های کار

روش های خوب زیادی برای کار با یخچال ها و فریزرهای آزمایشگاهی باید دنبال شود.

هیچگاه نباید هیچ نوع غذا یا نوشیدنی را دریخچال، فریزر و یاسردخانه آزمایشگاهی نگهداری کرد.

نگرانی اصلی در مورد یخچال های نگهداری کننده مواد شیمیایی این است که در فضای کاملا بسته، احتمال تولید بخارات سمی و قابل اشتعال وجود دارد. مراحل مختلفی برای به حداقل رساندن تولید بخارات سمی وقابل اشتعال وجود دارد:

- **ظروف به طور مناسب بسته شوند. ظروف باید کاملا بسته شوند. بشر، فلاسک، پتری دیشهاو بطری ها پوشیده با فویل آلومینیومی یا پوشش پلاستیکی یا درپوش های چوب پنبه ای و شیشه ای برای نگهداری مواد خطرناک در یخچال و فریزر مناسب نمی باشند. ظروف در پیچ شونده برای نگهداری در یخچال مناسب می باشند. پتری دیشها باید داخل کیسه ها و یا جعبه های مخصوص محکم بسته شود.**

- **به حداقل رساندن بی نظمی. یخچال ها باید حاوی موادی باشد که به صورت فعال در آزمایشگاه استفاده می شوند. یخچال باید بطور مرتب تمیز شود و موادی که تاریخ انقضای آنها گذشته و موادی که مورد نیاز نیستند به عنوان زباله های خطرناک باید دفع شوند.**

یخ زدایی فریزر

به منظور به حداقل رساندن تجمع یخ و بخارات سمی داخل فریزر، آن ها را بطور مرتب یخ زدایی و تمیز کرد.

کپک ها و رفت و آمد در سردخانه ها

علیرغم دمای پایین سردخانه ها و یخچال ها، همچنان مستعد آلودگی هستند. به ویژه استفاده از cardboard **در سردخانه ها منجر به تولید کپک می شود . هنگامی که کپک در سردخانه نفوذ کرد، به سرعت پخش و از بین بردن آن کار سختی خواهد بود. بنابراین استفاده از** cardboard **در سرد خانه ها منع شده است. یخچال ها و سردخانه ها باید تمیز نگه داشته شوند و از آنها برای نگهداری طولانی مدت محیط های کشت استفاده نشود. رفت و آمد در سردخانه هایی که بین چند گروه تحقیقاتی مشترک است وباید از شرایط نگهداری و برنامه های تمیز کردن مطلع باشند.**

فریزرهای 80-

برای نگهداری طولانی مدت نمونه های بیولوژیکی، آنها را باید در فریزرهای 80 –(**منفی** 80)**نگهداری کرد. با توجه با اینکه گروه های تحقیقاتی، نمونه های متعددی دارند، این فریزرها می توانند حاوی صدها نمونه غیر قابل جایگزین باشند به همین دلیل، همه فریزرهای** 80 **با آلارم های دمایی مجهز شده اند که با افزایش دما به صدا در می آیند. باید نام و شماره تماس مسئول در آزمایشگاه باشد تا در صورت نقص در خارج از ساعات روتین کار، اقدامات لازم صورت گیرد و به محض شنیدن آلارم، سریعا با مسئول واحد مربوطه تماس بگیرد.**

درب فریزرها باید حتی الامکان زمان کوتاهی باز باشند. بازبودن درب فریزر به مدت 15 **دقیقه، دمای فریزر را تحت تاثیر قرار داده و موجب بصدا در آمدن آلارم می شود. قفسه های فلزی فریزر، فوق العاده سرد بوده و باید از دستکش های عایق (مانند دستکش های اتوکلاو) برای برداشتن قفسه ها استفاده کرد. برای برداشتن لوله ها و جعبه ها، باید دستکش های کلفت را خارج نمود و دستکش های یکبار مصرف پوشیده شوند. پرسنل آزمایشگاه باید زمان کار کردن با نمونه های فوق العاده سرد را به حداقل برسانند. چون ممکن است انگشتان دچار یخ زدگی شوند. پس از اتمام کار با فریزر، باید به دمای فریزر توجه کرد، اگر دما بالای** 65- **درجه سانتی گراد باشد، برای بازگشت دما به حالت نرمال (منفی** 80)**، باید فریزر را مانیتور نمود.**

گرمخانه ها و انکوباتورها

گرمخانه ها و انکوباتورهایی که حاوی مواد زیستی خطرناک هستند، باید با یک برچسب مواد خطرناک زیستی مشخص شوند. به علت دمای بالای آنها امکان اینکه آلودگی در انکوباتور،به سرعت خارج از کنترل شود، وجود دارد. رفت وآمد پرسنل خدماتی به این محل ها جلوگیری شده و ماهانه توسط اعضا آزمایشگاه تمیز شوند. ازضدعفونی کننده متناسب برای ارگانیسمهای موجود در آزمایشگاه، باید استفاده شود. گرمخانه ها و انکوباتورها برای گروه های متعدد پژوهشی مشترک بوده بنابراین باید از مواد خطرناک زیستی که توسط گروههای دیگر استفاده می شوند ، مطلع باشند. همچنین، همه آزمایشات باید نام ارگانیسم وشخص آزمایش کننده مشخص شود. دمای انکوباتورها را می‌توان تغییر داد. انکوباتور های منفرد، دمایشان قابل تنظیم می باشد اما باید اعضای جدید، از پروتکل مرتبط با تغییرات آگاه باشند. نام وشماره مسئول باید بر روی درب گرمخانه هایی مجهز به آلارم نصب تا در صورت نقص دستگاه در خارج از ساعات روتین، امکان تماس باشد.

پی پت کردن و انتقال مایع

پیپت کردن مایعات، کار بسیار رایجی در آزمایشگاه می باشد. خطر اصلی هنگام پی پت کردن، تولید آئروسل است. اقدامات ایمنی برای به حداقل رساندن این خطر برای پرسنل آزمایشگاه باید انجام شود.

- **پی پت کردن با دهان، ممنوع می باشد وخوشبختانه دیگر این کارصورت نمیگیرد. پی پت کردن با دهان، پرسنل آزمایشگاهی را در معرض مواد شیمیایی خطرناک و همچنین مواد عفونی قرار می دهد.**

- **وسیله مکانیکی به نامPipet Aidیا وسیله مشابه آن(معمولا پوار) هنگام استفاده پیپت توصیه می شود. این وسایل مکانیکی با یک فیلتر 0/2 میکرولیتری مجهز که موجب حفاظت در برابر آلودگی می شود.**

- **برای برداشت و انتقال حجم های کم مایعات، بایست از میکرو پیپتور(سمپلر) استفاده شود. سر سمپلرهای فیلتر دار در مواردی حساس به آلودگی استفاده می شوند.**

- **از اختلاط مواد عفونی که آئروسل را تولید خواهند کرد، باید جلوگیری شود.**

- **خارج کردن مایعات با فشار از پیپت، موجب تولید آئروسل می شود.**

- **اگر پیپت ها برای مواد خطرناک زیستی استفاده شده باشند، باید پی پت های آلوده در ضد عفونی غوطه ور شوند این امر موجب شده که پرسنل، کمتر در معرض عوامل خطرناک قرار بگیرند.**

سیستم ها و پمپ‌های خلا

سیستم های خلا در بسیاری از آزمایش ها کاربرد دارند. کار کردن در فشارهای پایین، خطر انفجار، پاشیدن مواد شیمیایی و آتش سوزی را ممکن میسازد. برای به حداقل رساندن خطرات مذکور، هرگونه وسیله یا ظروف مورد استفاده در فشار پایین، باید به طریقی محافظت تا ریسک کاهش یابد. بسیاری از آزمایشگاه ها مجهز به خط خلا مرکزی می باشند. همچنین، بسیاری از هودهای fume و هود ها حاوی خط خلا می باشند. هنگام استفاده از خلا مرکزی،همه خطوط خلا، باید حاوی فیلتر مابین فلاسک و شیر باشند تا از آلودگی نمونه و آسپیراسیون مایعات درخط خلا جلوگیری کند. نمونه ای از پمپ های خلا حاوی فیلتر در خط را نشان می دهد.

احتیاطات ویژه

- **فیلتراسیون مایعات حاوی مواد عفونی گروه 2 یا گروه 3 هستند بایست در کابینت ایمنی زیستی انجام شوند.سطح بیرونی فلاسک های خلا باید با پارچه یا چیزی پوشانده شود تا در صورت انفجار ظرف، پرتاب شیشه کاهش یابد. یک فلاسک خلا حاوی ضد عفونی کننده باید بین فلاسک نگهدارنده مایع دور ریخته و منبع خلا، نصب شده باشد.**

- **اتصالات لوله ای از طریق جداکردن سریع، ایمن می شوند. خلا باید قبل از فیلتراسیون، باید روشن باشد و کار کند. برای خاموش کردن سیستم، ابتدا باید لوله فلاسک حاوی نمونه قطع شود و سپس پمپ خلا را خاموش گردد. با این کار از برگشت مایع به فلاسک نمونه جلوگیری می شود.**

- **در طول فیلتراسیون، منافذ فیلتر ممکن است مسدود شده که منجر به آهسته کردن سرعت جریان و یا توقف کامل آن می شود. با مشاهده سرعت جریان، می توان تشخیص داد که آیا نیاز به تعویض فیلتر دارد . فیلتراسیون در حجم های کوچک نسبت به فیلتراسیون حجم بزرگ ارجح می باشد.**

وسایل تیز sharps

استفاده از وسایل تیز وسرنگ، نیاز به احتیاط زیادی دارد. پرسنل آزمایشگاه باید ضرورت این تجهیزات را در کارخود مورد بررسی قرار دهند. وسایل تیز شامل سوزن/سرنگ، تیغ جراحی و اسکالپل و اشیایی با لبه های دندانه دار و یا تیز که می تواند سبب سوراخ شدن کیسه پلاستیکی شده و موجب آسیب کسی که با مواد کار می کند، می شود. جراحتهای ناشی از سرسوزن درمیان کارکنان مراقبت های بهداشتی وآزمایشگاهها معمول است که با احتیاطات زیر، به حداقل می رسد.

- **از وسایل تیزی که حفاظ دارند، استفاده شود . سوزن این نوع سرنگها بعد از اتمام کار، با پوشش پلاستیکی پوشانده که موجب کاهش جراحتهای ناشی ازسر سوزن می شود.**

- **سوزن را باید دور از خود یا دیگران نگه داشت.**
- **سوزن را نباید دو بار استفاده کرد.**
- **سوزن وسرنگ را نباید به داخل ظروف بازیافت و یا ظروف زباله های معمولی ریخت.**
- **سوزن وسرنگ ها باید در ظرف مناسب اشیا نوک تیز دور ریخته شوند.**

ممکن است آزمایشگاهها از ظروف پلاستیکی (ظروف سفید کننده خالی) برای دفع اشیا نوک تیز استفاده کنند اما پلاستیک باید بحدی ضخیم و مقاوم باشد که سوراخ نشود و روی آنها، برچسب وسایل تیز مشخص شوند.

مدیریت پسماندهای آزمایشگاهی

بایستی در آزمایشگاه ها، پاکیزگی در استاندارد بالایی نگهداری شود. در همه جای دانشگاه، تولید و دفع پسماندها از وظایف ناخوشایند است ولی حفظ و نگهداری محیط ایمن بسیار مهم می باشد. همه گروهها در قبال دفع مناسب مواد خطرناکی که تولید می کنند، مسئول هستند. در مواجه با پسماندهای آزمایشگاهی، باید به سوالات زیر پاسخ داده شود:

- **پسماندها چه نوع آلودگی را تولید میکنند؟**
- **آیا میتوان ضایعات آزمایشگاهی را حذف و یا خنثی نمود؟**
- **اگر نمی توان زباله ها را حذف و یا خنثی نمود، چگونه نگهداری کنیم؟**

گروههای تحقیقاتی با پیروی ازسه اصل کاهش دادن، استفاده مجدد و بازیافت کردن، می توانند میزان پسماندهای خطرناک را به حداقل برسانند.

کاهش

- **سفارش حداقل مقدار لازم از مواد شیمیایی برای آزمایش**
- **استفاده از کمترین مقدار ممکن برای آزمایش.**
- **استفاده از محلولهای رقیق در صورت امکان.**

استفاده مجدد

انتقال مواد شیمیایی بلااستفاده به همکارانی که استفاده می کنند لذا باید، از به روز رسانی موجودی مواد شیمیایی برای هر دو گروه تحقیقاتی، مطمئن شوید.

قبل از خرید یک ماده شیمیایی جدید، یک نمونه از آن را از همکارتان برای آزمایش قرض بگیرید.

بازیافت

استفاده از برنامه بازیافت مواد شیمیایی دانشگاه.

پردازش کردن پسماندهای آزمایشگاهی

این بخش به پردازش، طبقه بندی وظروف مناسب دفع پسماندهای آزمایشگاهی می پردازد. پسماندهای خطرناک به 5 دسته تقسیم می شوند:

1) پسماندهای بیولوژیک

2) پسماندهای شیمیایی

3) مواد قابل بازیافت شیمیایی: باتری ها وسیلندرهای گاز

4)پسماندهای دسته بندی نشده: پسماندهایی که بصورت سازمانی دسته بندی نشده اند اما باید با متد متناسب با محیط زیست دفع شوند (برخی رزین های اپوکسی، اسید اسکوربیک).

5) مواد رادیواکتیو

دستورالعمل های مذکور، به منظور ارتقا استاندارد در مدیریت پسماند های آزمایشگاهی دانشگاه می باشد.

دپارتمان های مجزا، کمیته های ایمنی دارند که پروسه های مشابه و یا استاندارد های بیشتر از موارد گفته شده را دارند. گروههای تحقیقاتی برای همکاری با پرسنل بخش ایمنی جهت سازماندهی پسماندها تشویق می شوند. صرف نظراز روش دپارتمان، دستورالعمل به طور کلی عبارتند از:

▪ **اگر پسماندهای آزمایشگاهی بطور مناسب تمیز و یا خنثی شوند (به وسیله اتوکلاو کردن و یا ضد عفونی کردن شیمیایی مواد خطرناک زیستی) در این صورت، پرسنل خدماتی مجاز به برداشتن آنها هستند.این افراد،مجاز به جمع آوری پسماندهای آزمایشگاهی هستند که از هر گونه موادخطرناک ضد عفونی گردیده باشند و در صورتی که به طورصحیح ، ضدعفونی نشده باشند، موجب ایجاد خظر برای پرسنل خدماتی و همچنین محیط زیست می شود.**

▪ **برچسب مشخص کننده مواد خطرناک، باید از ظروف حاوی پسماندهای خنثی و ضد عفونی شده، بایست حذف شود.**

▪ **پرسنل خدماتی می توانند از برداشتن پسماندهایی که به طور صحیح ضدعفونی نشده، امتناع ورزند.**

▪ **برخی از گروه های تحقیقاتی، پسماندهایی که بطور مناسب ضد عفونی شده را مستقیما در سطلهای زباله محوطه دانشگاه، میریزند. درصورت انجام این کار، باید همه دستورالعمل های مربوط به حذف وخنثی سازی مواد خطرناک ذکر شده را رعایت کنند.**

پسماندهای خطرناک را نباید بدون پردازش کردن به آبرو و یا داخل فاضلاب ریخته شوند.

مدیریت پسماندهای خطرناک زیستی

در صورت امکان از گروههای تحقیقاتی خواسته میشود که عوامل خطرناک زیستی که تولید کرده اند، را خنثی نمایند. در بحث مدیریت پسماندهای خطرناک زیستی، اصطلاحات متعددی استفاده می شود که عبارتند از:

آلودگی زدایی: فرآیند یا تیماری که سطح یا تجهیزات ایمن را برای کار فراهم می کند. محدوده این روش، از اتوکلاو تا شستشوی ساده با آب و صابون را در برمی گیرد. استریلیزاسیون، ضدعفونی کردن و آنتی سپسیس، همه از اشکال مختلف آلودگی زدایی میباشند.

استریلیزاسیون: استفاده از تیمار فیزیکی یا شیمیایی که همه موجودات زنده اعم از آندوسپورها و ذرات پریون را نابود می کند.

ضدعفونی کردن: تیماری که تقریبا همه اشکال پاتوژن و بیماریزا، باکتری های غیر اسپور دار را از سطوح و تجهیزات، حذف می کند.

آنتی سپسیس: کاربرد مواد شیمیایی مایع که موجب مهار و از بین بردن میکروارگانیسم ها بر روی پوست و موجود زنده می گردد.

بایکی ازدو فرایند زیر، آلودگی زدایی مواد خطرناک زیستی صورت می گیرد:

- **تیمار شیمیایی**
- **اتوکلاو کردن**

در صورت امکان پسماندهای خطرناک زیستی توسط یکی از این دو فرآیند مذکور، باید خنثی شوند. در غیر این صورت، باید از دستورالعمل های استانی برای نگهداری آنها استفاده کرد.

- **پسماند هایی که برای بیش از 24 ساعت نگهداری می شوند، بایست در 4 درجه سانتی گراد، نگهداری تا از گسترش بو و تکثیر عوامل میکروبی جلوگیری شود . این پسماند ها ممکن است قبل از دفع، به مدت 42 روز (6 هفته) در این درجه حرارت نگهداری شوند.**
- **پسماند ها در صورت نگهداری در زیر صفر درجه، می تواند برای مدت سه ماه نگهداری گردد.**

پردازش کردن پسماندهای شیمیایی

اکثر آزمایشگاه های تحقیقاتی(نه همه آنها)، پسماند های شیمیایی تولید میکنند .مواردی از پسماندهای شیمیایی عبارتند از:

- **محصولات جانبی و حدواسط تولید شده توسط آزمایشگاههای آموزشی و تحقیقاتی**
- **هر چیزی که آلوده به مواد شیمیایی شده باشد.**
- **انواع روغنهای استفاده شده**
- **حلالهای مصرف شده از جمله آب**
- **مواد آلوده به جیوه**
- **محلولها و مواد شیمیایی پردازش فیلم عکاسی**
- **پودرهای خیلی ریز**
- **اتیلن گلیگول**
- **رنگهای روغنی و لاتکس**
- **نمونه های محافظت شده**
- **پاک کننده های صنعتی**
- **رزینها (فنولیک، اپوکسی، استیرن)**
- **رنگ و لعاب ها**

برای دفع زباله های شیمیایی، باید ازدستورالعملهای زیر پیروی شود.

تمامی پرسنل آزمایشگاه باید ازچگونگی بسته بندی ایمن پسماندهای شیمیایی، آگاه باشند.

بسته بندی پسماندهای شیمیایی

- **ظروف زباله یکپارچه باشد و بیرون ظرف هم عاری از آلودگی شیمیایی باشد.**
- **برچسب ظروف با محتوای آن کاملا همخوانی داشته باشند.**
- **از سازگاری ظروف زباله با پسماند شیمیایی اطمینان حاصل شود.**
- **20٪ فضای بطریهای حاوی پسماندهای مایع باید خالی باشد تا فضا جهت اتساع بخار بوده و نیز احتمال نشت درحین انتقال را کاهش دهد.**

- **از بسته بودن صحیح درب ظرف پسماند و عدم چکه آن اطمینان حاصل شود. بستن ظروف مخصوص زباله با پارافیلم، فویل، چوب پنبه مجاز نیست. اگر آزمایشگاه مقادیر زیادی ازپسماندهای قابل اشتعال و یاقابل احتراق مایع تولید میکند، باید از یک گالن 5، مورد تایید ایمنی برای نگهداری آنها استفاده شود. این گالن‌ها را میتواند به آزمایشگاه برگردانده و مجددا استفاده شود.**
- **درب ظروف پسماند همیشه باید بسته باشد جز در مواردی که به آن پسماند اضافه می شود.**
- **پسماندهای شیمیایی به شرح زیر تفکیک شده اند:**
  - **تفکیک پسماند های مایع وجامد از یکدیگر.**
  - **تفکیک پسماند های مایع آلی از پسماند های مایع آبی.**
  - **تفکیک اسیدها و بازهای قوی از دیگر پسماندهای آبی.**

پردازش پسماندهای رادیواکتیو

پسماند های رادیو اکتیو شامل هرگونه مواد رادیواکتیوی است که فعالیت بالایی داشته و ممکن است باقی مانده از آزمایش و یا از محصولات واکنش باشند.

دفع مواد رادیواکتیو همراه با پسماند های معمول، ممنوع می باشد.

فقط پرسنلی که دوره های ایمنی رادیاسیون را گذرانده باشند، مجاز به مدیریت پسماندهای رادیو اکتیو هستند.

ظروف پسماند های آزمایشگاهی

بسیاری از آزمایشگاهها و گروههای تحقیقاتی، با انواع مواد وتجهیزات کار میکنند. پسماند های تولید شده، باید قبل دفع توسط پرسنل، تفکیک گردند اکثر دپارتمان ها و تاسیسات مرکزی، متدهای خاصی برای دفع پسماندهای خود دارند.پرسنل در صورت داشتن سئوالی بایست با مدیریت تحقیقات مشورت نمایند.

کیسه‌های سیاه دفع پسماندهای معمول

سطل های زباله حاوی کیسه های زباله سیاه، توسط پرسنل خدماتی خالی می شود. کیسه های سیاه معمولی، فقط برای جمع آوری کاغذهای غیر آلوده و زباله های اداری استفاده می شوند. تحت هیچ شرایطی، نبایست مواد مصرفی آزمایشگاه، زباله های شیشه ای و یا وسایل نوک تیز، در آن جمع آوری گردد.

کیسه زباله های نارنجی برای مواد مصرفی آزمایشگاهی

مواد مصرفی آزمایشگاهی یعنی هر نوع پسماند آزمایشگاهی که در تحقیق استفاده شده و شامل: دستکش های یکبار مصرف، سر سمپلر، پلیت های کشت سلولی، تیوب های میکروسانتریفیوژ، ماتریکس های جامد کروماتوگرافی و الکتروفورز می باشند.

مواد آزمایشگاهی که در تهیه مواد شیمیایی، رادیواکتیو و مواد خطرناک زیستی استفاده نشده است، می توان در کیسه های نیمه شفاف نارنجی جمع آوری گردد. کیسه های نارنجی رنگ از مواد پلاستیکی مقاوم تری نسبت به کیسه های سیاه ساخته شده اند بنابراین مقاومت بهتری در برابر سوراخ شدن دارند.گروه پژوهشی باید کیسه زباله خود را محکم بسته و بعد از نوشتن تاریخ و عبارت مواد غیر خطرناک، آن را در محلهایی خاص در اختیار پرسنل خدماتی قرار دهند.

کیسه های شفاف اتوکلاو جهت مواد خطرناک زیستی

این کیسه های شفاف، جهت اتوکلاو کردن استفاده می شوند(با رعایت دستورالعمل هایی ذکر شده). بعد از اتمام اتوکلاو، بایست دمای پسماندهای استریل شده به دمای اتاق رسیده و سپس آنها از حالت بسته بندی، باز کرده و در محلهای تعبیه شده در اختیار پرسنل خدماتی قرار می‌دهیم. برخی گروههای تحقیقاتی، پسماندهای اتوکلاو شده و وسایل مصرفی آزمایشگاهی را مستقیما در سطلهای زباله داخل محوطه دانشگاه میریزند که باید با مسئول بخش ایمنی دپارتمان نسبت به چگونگی روش دفع مشورت نمایند.

جعبه های دفع مواد خطرناک

جعبه ها، نباید بیش از حد پر شوند و بیش از10کیلوگرم، در یک جعبه قرار داده نشود. توجه داشته باشید در صورت نگهداری پسماند های بیولوژیکی بیش از 24ساعت، باید در دمای 4 درجه نگهداری شده تا از ایجاد بو وتکثیر عوامل میکروبی، جلوگیری شود.

سطلهای بدون درب برای زباله های شیشه ای غیرخطرناک
پسماند های شیشه ایی شامل ظروف خالی شیشه ای مواد شیمیایی، ظروف شیشه ای نگهداری نمونه، پیپت های شیشه ای، ظروف پلاستیکی فشرده تیز بزرگ مانند پیپت های مدرج 1 تا 25 میلی لیتری، که احتمال آسیب به افرادی که آنها را دستکاری میکنند، می باشد. قبل از قرار دادن زباله های شیشه ای آلوده در داخل سطل، بایست پرسنل تحقیقاتی، آنها را آلودگی زدایی و خنثی کند.

تمیز کردن وسایل شیشه ای جهت بازیافت
تمامی ظروف شیشه ایی که برای بازیافت فرستاده می شوند، باید خالی و عاری از هرگونه بقایای شیمیایی بوده تا با مواد ناسازگار در پروسه پایین دست بازیافت، واکنش ندهند. زباله های شیشه ای که حاوی مواد کارسینوژن، موتاژن، تراتوژن، داروهای سیتوتوکسیک یا مواد شیمیایی بسیاربد بو، و یا شیشه های شکسته آلوده به مواد شیمیایی خطرناک، جهت بازیافت، تمیز و شسته نمی شوند بلکه آنها از طریق CHEMATIX دفع می شوند.

به منظور آماده سازی ظروف شیشه ای خالی برای بازیافت، بایست مراحل زیر دنبال گردد:
- **ظروف شیشه ای استفاده شده با مواد خطرناک شیمیایی، باید سه بار با آب شسته تا تمیز گردند.**
- **استفاده از کمترین مقدار مایع جهت شستشوی مرحله اول که این مایع در ظرف مناسب پسماندهای خطرناک جمع آوری شود. بار دوم و سوم شستشو را با مقدار زیادی آب انجام می توان انجام داد.**
- **پس از شستشو، ظروف شیشه ای رادر هوا قرار داده تا خشک شود سپس در سطل پسماند های شیشه ای غیر خطرناک قرار داده می شود.**
- **برچسب مواد شیمیایی قبل قرار دادن در سطل پسماند های غیر خطرناک شیشه ای برداشته شود.**

سطل زباله های شیشه ای غیرخطرناک توسط پرسنل خدماتی برداشته شده و بعد از تخلیه برای استفاده مجدد به آزمایشگاه بازگردانده می شوند
سطل پلاستیکی درب دار

اگر مواد خطرناک موجود در ظروف شیشه ای را نتوان بطور کامل تخلیه کرد، باید درسطل های پلاستیکی درب دار، گذاشته شود و بیش از سه چهارم سطل زباله پر نشود همچنین هنگام بستن درب سطل، دقت نمود. در مدت زمان انتظار برای برداشتن سطل، بایست در مکان امن و دور ازدیگر مواد زائد روتحت شرایط سازگار با مواد خطرناکش، نگهداری گردد(به عنوان مثال، مواد بیولوژیک در 4درجه سانتیگراد، آلاینده های شیمیایی مضر، درfumehood شیمیایی نگهداری شود).سطل های سرپوشیده برای دفع زباله های خطرناک، یکبار مصرف هستند چون مواد آنها را تخریب کرده و نمیتوان آنها را مجددا استفاده کرد.

ظروف وسایل تیز و برنده

وسایل تیز(sharp)، از وسایل آزمایشگاهی بوده که شیشه های با لبه های تیز و دندانه دار سوراخ کننده کیسه پلاستیکی را شامل نمی باشند. وسایل تیز(sharp)، عبارتند از سرنگ وسر سوزن، اسکالپل و تیغ جراحی، بدون توجه استفاده آنها برای مواد خطرناک به عنوان وسایل تیز منظور می شوند. به علاوه، سرنگ با سر سوزن یا بدون آن، جز وسایل تیز محسوب می شود. این وسایل تیز باید در ظروف پلاستیکی با درب قابل اطمینان، یا ظروف مخصوص تجاری و یا ظروف پلاستیکی محکم در پیچ دار مانند ظرف سفید کننده دارای برچسب نشان دهنده sharp دور ریخته شوند. سرنگ را به همراه سر سوزن آن باید دور ریخت و نباید آنها را جدا نمود. نباید بیش از سه چهارم ظرف زباله پر نشود و همچنین نباید بصورت فشرده و با فشار آنها را ریخت. در هنگام ترک اتاق، باید درب این ظروف را محکم بسته و با برچسب، نام گروه پژوهشی را مشخص کرده و حتما عبارت وسایل تیز وخطرناک بر روی ظرف زده و در جای امن و مناسب قرار داده شود.

حمل و نقل مواد خطرناک

غالبا نیاز به انتقال مواد خطرناک (بیولوژیکی، شیمیایی ورادیواکتیو) درداخل ساختمان ها وگاهی بین ساختمان ها وجود دارد. دو نکته مهم را درهنگام حمل ونقل مواد خطرناک آزمایشگاه ، بایدرعایت گردد:

- **حصول اطمینان ازایمنی کارکنان، مردم ومحیط زیست در طول انتقال ودرصورت وقوع نشت.**
- **درک عمومی از ایمنی موادی که انتقال داده میشود، ایجاد شود. محققان باید آگاه باشندکه بعضی موارد بین مردم، احساس رعب و وحشت ایجاد میکند (به عنوان مثال، پوشیدن دستکش پرسنل در مناطق عمومی).**

در اثر حمل و نقل غیر صحیح مواد خطرناک بین آزمایشگاه و بین ساختمان های داخل محوطه، موجب نشت زباله ها می شود. این بخش روشهایی انتقال صحیح مواد که منجر به کاهش احتمال نشت شده و همچنین چگونگی مقابله با نشت در صورت وقوع را توضیح می دهد.

حمل و نقل مواد شیمیایی، از جمله رادیو ایزوتوپ، داخل ساختمان ها

اغلب نیاز به انتقال مواد خطرناک داخل یک طبقه برای میکروسکوپ، انکوباتور و سرد کننده وجود دارد. هنگام انتقال مواد در اینچنین شرایطی، بهتر است از cart(حامل چرخدار) استفاده و مواد در سینی یا سطل روی آن قرار گیرد. PPE مورد استفاده مانند شرایط آزمایشگاهی است اما استثنا قابل توجه این است که از دستکش یکبار مصرف برای باز کردن درب هایی که منتهی به اتاق انکوباتور یا سردخانه می شود، استفاده نشود.

هنگام انتقال مواد به مکان دورتر آزمایشگاه مثلا انتقال از انبار به آزمایشگاه، باید روش های ذیل در نظر گرفته شود

- **در انتقال مواد باید PPE مناسب پوشیده شود**
- **اطمینان از شرایط مواد و بسته بودن درب آنها به طور محکم. از ظروف خراب برای انتقال استفاده نشود**

- مواد شیمیایی ناسازگار نباید در یک محفظه یا جعبه انتقال یابند.در صورت عدم اطمینان از ناسازگاری مواد شیمیایی مورد انتقال، به موارد زیر مراجعه شود
- مطالعه MSDS مواد مورد انتقال تا از عدم خطر فیزیکی و محدودیت دمایی مرتبط با مواد، اطمینان حاصل شود
- همه ظروف باید برچسبی داشته که نشان دهنده دقیق محتویات باشد.
- بطری های حاوی مواد شیمیایی مایع یا مواد خطرناک زیستی، باید در ظرف بزرگ دیگری که توانایی در بر گرفتن حجم مایعات انتقالی را داشته باشند.
- بطری ها باید در کریر مخصوص بطری انتقال یابند
- در خلال انتقال مواد، همیشه یک دست باید بدون دستکش باشد تا درب ها را باز یا دگمه آسانسور را فشار دهد.
- اگر بیش از یک بطری انتقال داده می شود باید از حامل چرخدار برای انتقال استفاده شود. از پر کردن بیش از حد باید خود داری شود
- در صورت امکان، از آسانسور اشخاص استفاده نشود. از آسانسور مخصوص وسایل در صورت امکان استفاده شود.از پله ها بار انتقال مواد خطرناک استفاده نگردد.

انتقال مواد بین ساختمان ها

انتقال مواد بین ساختمان ها، خطر بیشتری را ایجاد می کند بدلیل اینکه در صورت روی دادن نشتی، نیروی کمکی در دسترس نمی باشند. علاوه بر دستورالعمل های گفته شده در بخش قبل، موارد زیر برای افراد انتقال دهنده مواد بیولوژیک، شیمیایی یا رادیو ایزوتوپ را بین ساختمان، مهم می باشد

انتقال مواد شیمیایی مانند رادیو ایزوتوپ بین ساختمان ها

به شدت توصیه می شود که دو نفر به حمل و نقل مواد خطرناک در بین ساختمان ها مبادرت بورزند به طوری اگر اشتباهی رخ داد، یک نفر در محل بماند و نفر بعدی به دنبال کمک برود.

-باید از حامل چرخدارCART برای انتقال مواد شیمیایی بین ساختمان ها استفاده شود و کیت نشت و وسایل محافظتی شخصی PPE مورد نیاز هم حمل شود.
-نبایست از پوشش آزمایشگاهی و دستکش، هنگام انتقال از مناطق عمومی و یا در بین ساختمان ها استفاده شود. همه PPE مورد نیاز باید در حامل چرخدار قرار گیرد.
-یک کیت متناسب باید در CART باشد تا در مواقع نشت، در دسترس باشد
-قبل از ترک آزمایشگاه، مسیر مشخص گردد. نباید مواد خطرناک بدون مراقب در مکان عمومی قرار داده شود.
-در صورت امکان، از آسانسور افراد استفاده نشود و از آسانسور وسایل استفاده گردد.از پله های برای انتقال مواد خطرناک استفاده نشود.
-مستقیم به سوی مقصد حرکت شود(برای ناهار و یا قهوه، متوقف نشوید)

حمل و نقل مواد خطرناک بیولوژیکی بین ساختمان ها

ظرف اولیه مواد خطرناک بیولوژیکی باید در یک کیسه زیپ دار به همراه مقدار کافی از مواد جاذب قرار داده شود که در صورت نشت نمونه، آن را به خود جذب کند. هنگامی که کیسه بسته می شود باید سطح آن با مواد ضد عفونی کننده متناسب با محتویاتش، ضدعفونی شود. بر روی کیسه باید نام محقق، تاریخ و محتویات نمونه درج شود.

• کیسه های زیپ دار باید با سمبل مواد خطرناک زیستی نشاندار شده یا برچسب مواد خطرناک زیستی روی کیسه زده شود. باید توجه شود که بعد از اینکه مواد از کیسه انتقال داده شد، قبل از دفع کیسه زیپ دار، برچسب مخدوش شود

سپس کیسه زیپ دار در خنک کننده یا ظرف ایمن درب دار غیر قابل نفوذ به آب قرار گیرد. بیرون خنک کننده باید حاوی نام محقق، آدرس آزمایشگاه وی و شماره تلفن باشد. بیرون خنک کننده نباید حاوی برچسب نماد مواد خطرناک بیولوژیکی باشد.

• پرسنل نبایست پوشش و دستکش آزمایشگاه در طول حمل و نقل بپوشند. فقط پرسنل بیمارستان از روپوش آزمایشگاهی تمیز برای انتقال مواد استفاده کنند(روپوشی را که در آزمایشگاه برای پژوهش به کار می برند، را نپوشند).

• هنگام حمل و نقل مواد خطرناک زیستی، پرسنل باید به طور مستقیم به مقصد خود حرکت کنند، یعنی در طول راه برای حمام، غذا و نوشیدنی و کار شخصی توقف نکنند.

• در مقصد، قبل از باز کردن درب خنک کننده، بایست PPE مناسب متشکل از عینک ایمنی، روپوش آزمایشگاهی که به طور کامل بسته می شود و یا دستکش یکبار مصرف پوشیده شود.

علاوه بر موارد موجود در این دستورالعمل، چندین شیوه خوب وجود دارد که برای انتقال مواد خطرناک در صورت امکان رعایت شوند. پرسنل منتقل کننده مواد خطرناک با خود یک تلفن موبایل حمل کنند تا در صورت وقوع نشتی، برای برقراری ارتباطات سریع صورت گیرد. علاوه بر این، حمل و نقل باید در زمان های ترافیک در راهروها انجام نشود (زمان تغییر کلاس و یا درست قبل از شروع آزمایشگاه آموزشی).

در صورت رخ دادن اشتباه چه باید کرد ؟

•در صورت وقوع نشت در طول حمل و نقل مواد خطرناک ؛ ایمنی پرسنل آزمایشگاه و مردم اطراف منطقه، بیشترین اهمیت را دارد.

•مهم ترین قسمت در پاسخ به نشت، آمادگی و تدارک است. افراد باید از خطرات مرتبط با موادی که در حال حمل و نقل آن هستند آگاه باشند.

•اگر مشاهده شد که مواد از بطری یا ظرف نشت می کنند باید بلافاصله از طریق نزدیکترین تلفن و یا یک تلفن همراه با اورژانس کمپ تماس گرفته شود.

•پرسنل باید حاوی PPE مناسب پوشیده باشند و اقدام به تمیز کردن نشت با کیت موجود در حامل چرخدار بکنند. .

•اگر خنک کننده و یا ظرف سالم است، به طرف مقصد ادامه دهید. به محض رسیدن به مقصد، موارد زیر باید رعایت گردد:

• مواد خطرناک زیستی: خنک کننده باید داخل کابینت ایمن بیولوژیکی باز کرده تا مشخص شود که کیسه زیپ دار سالم است یا مواد در داخل کیسه نشت کرده است. اگر استحکام و یکپارچگی کیسه به خطر بیافتد، یا مواد داخل کیسه نشت کرده باشد، بسته زیپ دار را در پسماند اتوکلاو قرار داده و سطوح درونی خنک کننده را با مواد ضد عفونی کننده متناسب با محتویاتش، ضدعفونی کنید.

• مواد شیمیایی: خنک کننده یا جعبه باید داخل هود شیمیایی باز شود تا سالم بودن بسته یا بطری مشخص شود. اگر ماده نشت کرده است، باید با مواد متناسب تمیز گردد.

• رادیوایزوتوپ ها: wipe test **باید انجام شود تا اطمینان حاصل شود که رادیواکتیویته به بیرون از بسته نفوذ نکرده است.**

اورژانس آتش سوزی

چه چیزی را بدانیم:

• محل نزدیکترین ایستگاه آتش نشانی و اینکه چگونه کار می کنند.

•ماندن مدت زمان کم در دود و یا گرمای شدید.

• بستن درب منطقه آتش (اما آن را قفل نکنید).

• به سرعت خارج شدن.

• محل های خروجی در کجا قرار دارند

• چرخش درها چگونه است و پله ها به کجا ختم می شوند.

•موقعیت و مکان راهرو های "بن بست"

• محل پله ها (آسانسور استفاده نشود)

• کجا می توان پناهگاه را یافت در صورتی که نتوان فرار کرد

چه کاری باید انجام دهید؟

• آشنا شدن با صدای آلارم ساختمان.

• مطالعه تخلیه کردن محل.

• اگر زنگ هشدار به صدا در آمد، بلافاصله محل را ترک یا بدنبال پناهگاه باشید.

• ابتدا زنگ هشدار را به صدا درآورید و سپس به تخلیه منطقه مبادرت بورزید.

• فقط برای خاموش کردن آتش سوزی کوچک تلاش کنید،البته در صورتیکه مهارت دارید. Fire Extinguisher Training

• به تنهایی برای خاموش کردن آتش اقدام نکنید.

• موقعیت خود را در میان آتش و محل خروج قرار دهید.

• از خاموش کننده به طور صحیح استفاده کنید

• مراقب شعله ور شدن باشید.

• محتویات کپسول را تخلیه کنید.

کمک های اولیه

تنها کارکنانی که آموزش کمک های اولیه راگذرانده اند به یک قربانی کمک کنند. هرگز در صورتی که آموزش ندیده اید اقدام به انجام کمک های اولیه نکنید.

شما باید خودتان را با این موارد آشنا کنید:

• محل اتاق کمک های اولیه و / یا جعبه کمک های اولیه

• محل لیست مسئولین کشیک کمک های اولیه

• محل نزدیکترین تجهیزات پزشکی .....

نشتهای خطرناک

نشت به "انتشار غیر قابل کنترل ماده شیمیایی خطرناک، ماده زیستی خطرناک یا رادیوایزوتوپ گفته می شود که این ترکیبات در اشکال جامد، مایع یا گاز می باشند."

نشتها در در انواع محیطهای کار رخ دهد.این بخش، بر آزمایشگاه های پژوهشی و آموزشی متمرکز می شود. چالش های مربوط به نشت مواد خطرناک با توجه به نوع و حجم مواد، متفاوت خواهند بود.این بخش روشهایی را برای پاسخ به نشت مواد شیمیایی و مواد خطرناک بیولوژیکی توضیح دهید.

کیت های نشت شیمیایی

کیت های نشت شیمیایی، بایست بر طبق ماده شیمیایی خاصی و شرایط موجود در محل کار، سفارش داده شوند. سه نوع مختلف از کیت های نشت وجود دارد

✓کیت های نشت کوچک آزمایشگاهی

✓کیت های نشت دپارتمانی/بزرگ

✓کیت های نشت جیوه

محتویات کیت های نشت

در صورتی که از کیت های تجاری قابل دسترس خریداری می شود باید اطمینان داشته باشیم که همه محتویات ضروری در کنترل کردن نشت را فراهم می کند

کیت های نشت شیمیایی کوچک

در هر آزمایشگاه مصرف کننده ماده شیمیایی باید یک کیت نشت شیمیایی وجود داشته باشد که در واکنش فوری به اغلب نشت ها و تمیز کردن مقادیر کم نشت در صورت وقوع استفاده شود. اگرچه اجزای کیت نشت کوچک، همان وسایل رایجی هستند که درهمه آزمایشگاه ها یافت می شوند، اما یک کیت نشت منسجم که همه موارد را در بر می گیرد باید برای استفاده اورژانسی وجود داشته باشد.

اجزای کیت نشت:

- تجهیزات محافظتی شخصی

➢عینک های محافظ برای نپاشیدن مواد شیمیایی

➢ روپوش آزمایشگاهی

➢دستکش های ضخیم نیتریل یا نئوپرن

- تجهیزات جهت پاک کردن نشت

- **برس پلاستیکی**
- **کیسه های ضخیم حداقل به ضخامت 3 میلی متر**

- **ماده جاذب(محلول 1:1:1سدیم بی کربنات: kitty litter : شن**
- **بالش های نشت: به حد کافی بزرگ بوده تا نشت را جذب کند**
- **دیگر جاذب ها و خنثی کننده هایی که در آزمایشگاه برای مواد شیمیایی استفاده می شود**

کیت های نشت شیمیایی بزرگ/ دپارتمانی

هر دپارتمانی که مواد شیمیایی قابل توجهی دارد باید حداقل یک کیت نشت بزرگ داشته باشد. تعداد و محل این کیت ها به تعداد مواد شیمیایی مورد استفاده و به اندازه دپارتمان بستگی دارد. به طور کلی، در هر طبقه باید یک کیت نشت بزرگ موجود باشد این کیت شامل تجهیزات محافظتی شخصی پیشرفته و وسایل و تجهیزات پاک کردن می باشد.

کیت نشت جیوه

همه مناطقی که با جیوه و یا تجهیزات حاوی جیوه کار میکنندذ باید کیت نشت جیوه را داشته باشند. مواردی که برای تمیز کردن نشت جیوه بکار می رود باید در ترکیب با موارد کیت های نشت برزرگ یا دپارتمانی استفاده می شوند

واکنش به نشت شیمیایی

هنگام نشت ماده خطرناک، افراد حاضر در محل باید به سرعت اقدام به برطرف نمودن آن بنمایند که بسته به وسعت، پیچیدگی، و میزان خطر مرتبط با نشت،باید عمل گردد که مراحل صحیح به هنگام وقوع نشت، توضیح داده می شود.

1-آگاه باشید و دیگران را مطلع نمائید: با احتیاط محل نشت را تمیز کنید وافراد حاضر در محل را از وقوع نشت آگاه نمایید.

2- به افراد مجروح کمک کنید: اگر فردی مجروح شد سریعاً با اورژانس تماس بگیرید. در صورت آشنایی با کمک های اولیه، به فرد مجروح کمک های اولیه را ارائه دهید. در صورت آلوده شدن افراد با نشت شیمیایی، آنها را به نزدیکترین دوش اضطراری هدایت کرده و به آنها در شستن نشت کمک کنید. با این حال خود را در معرض خطر قرار ندهید. در اغلب موارد، صدمات ناشی از نشت مواد شیمیایی، نیازمند اورژانسهای پزشکی می باشد.

3- وضعیت را ارزیابی کنید: آیا شرایط موجود، شرایط اورژانسی است؟شرایط اورژانسی زمانی است که خطر بالا برای:

- **افراد**
- **اموال**
- **محیط**

وجود دارد.

موارد اضطراری در دانشگاه

آسیب های فردی: آسیب فیزیکی یا قرار گیری در معرض مواد خطرناک از قبیل مواد شیمیایی خطرناک و یا میکروبهای بیماریزا است که شامل سوزن، قرار گیری در معرض خون و یا مایعات بدن انسان و گزش حیوانات است.

نقض بهداشت و ایمنی: فعالیت مرتبط با تحقیقات، که با مقررات یا دستورالعمل های سلامت و ایمنی نهادها، استانها و یا فدرال مغایرت داشته باشد که شامل سیلندرهای گاز غیر استاندارد، دفع نادرست پسماندهای خطرناک، انسداد راههای خروج اضطراری و ذخیره سازی غیر صحیح مواد شیمیایی می باشد.

نشت خطرناک و یا انتشار محیطی: آزاد شدن غیر قابل کنترل هر نوع ماده رادیو اکتیو، ماده شیمیایی و یا بیولوژیکی می باشد.

نزدیک به محل حادثه: اگرچه ممکن است وسعت آلودگی اطراف محل نشت، کم باشد اما احتمال خطر نشت و آسیب به افراد همچنان وجود دارد.

نشت های مواد زیستی خطرناک: وجود این نشت ها به ویژه در آزمایشگاه بسیار خطرناک می باشد زیرا آنها براحتی قابلیت پخش و گسترش از محل وقوع اولیه را دارند. همچنین امکان تشخیص زمان دقیق وقوع آنها وجود ندارد که موجب تاخیر در پاکسازی سریع محل نشت می شود.

نشت موادی که از راه تنفس منتقل میشوند خطرناکتر از عوامل منتقله غیر تنفسی است به دلیل اینکه نشت، تولید آئروسل هایی میکند که براحتی شخص را آلوده می کند. با توجه به حجم ماده نشت یافته، آنها را به دو نوع نشت بزرگ (نشت های بزرگتر از 25 میلی لیتر) و نشت کوچک (نشت های 25 میلی لیتری و کمتر از آن) تقسیم بندی می شوند. اما چنانچه ارگانیسم مورد استفاده، دوز پایینی برای ایجاد عفونت داشته باشد و یا بیماریزا (ویرولانس) باشد، پروتکل نشت های بزرگ باید دنبال شود.

کیت های نشت مواد خطرناک زیستی

همه دپارتمان ها باید کیت نشت مواد خطرناک زیستی را داشته باشند و نزدیک به محل کار مواد خطرناک زیستی گذاشته شود

پرسنل بخشهایی که با مواد خطرناک زیستی (biohazards)کار می کنند باید از محل کیت نشت اطلاع داشته باشند و کیت در دسترس افراد باشد. برخی دپارتمان ها یک کیت نشت مشترک داشته و بقیه لابراتوار های تحقیقاتی، کیت مجزا دارند.

این کیت ها شامل اجزای زیر می باشند:

- تی و سطل با گنجایش 15 لیتر (تی مخصوص نظافت، برای پاک کردن نشت استفاده نشود).

- سفید کننده های خانگی (زمان خرید روی آن نوشته و برای اطمینان از اثر بخشی، سالیانه تعویض شود.)

- سه حوله کهنه حمام

- بسته پارچه کتانی (cheesecloth)

- کیسه های زباله بزرگ و یا کیسه های شفاف اتوکلاو

- یک جفت انبر بزرگ (برای برداشتن شیشه یا قطعات پلاستیکی)

- عینک ایمنی یا حفاظ صورت

- ماسک خود چسب تنفسی99

- دستورالعمل نشت خطر

پاکسازی نشت بیولوژیک کوچک

- **به هنگام وقوع نشت زیستی، باید به سرعت مواد بیولوژیکی را از محل نشت دور کرد.**
- **پرسنل بایستی کفشهای رو بسته، روپوش آزمایشگاهی و شلوارهای بلند بپوشند و از دستکش لاتکس و عینک ایمنی استفاده نمایند. در صورت لزوم به هنگام نظافت نشت، افراد باید از ماسک خود چسب دهان وبینیN99(موجوددر کیت نشت دپارتمان) استفاده کنند.**
- **اگر مایع ریخته شده در حال پخش از محل اولیه است، برای جلوگیری از انتشار، از دستمال حوله ای استفاده کنید**

- **پارچه های کتانی یا cheesecloth (موجود در کیت نشت مواد خطرناک زیستی(biohazard) و یا یک دستمال حوله ای را در محلول سفید کننده10٪ تازه تهیه شده، توسط فرو بردن یا اسپری کردن آغشته و اشباع نمائید**

- **بدون چلاندن، بر روی محل نشت قرار دهید و در صورت نیاز، با پارچه و حوله های اضافی تکرار کرده تا کل منطقه نشت، پوشیده شود.**

- **حوله و دستمالها را به مدت 25 دقیقه در محل نشت بگذارید. این عمل سبب ضدعفونی نمودن محل نشت شده و مانع از تولید آئروسل می گردد.**

- **پس از 25 دقیقه حوله دستمالها را بردارید و آنها را به کیسه های زباله انتقال دهید. در کیسه ها بخوبی بسته شود و سطوح خارجی آنها را با اتانول 70٪ ، قبل از دفع کردن، ضد عفونی کنید.**

- **بطور کامل منطقه آلوده را با ست جدید از پارچه کتان یا حوله آغشته به ضد عفونی کننده، پاک کنید.**

- **کیسه زباله های بسته شده حاوی حوله های و پارچه های استفاده شده در سیستم دفع زباله های معمولی می توان دفع شود**

- **نشت بیولوژیکی را به سوپروایزر گزارش شود و وسایل استفاده شده کیت نشت را جایگزین نموده و در محل خود قرار دهید. تمامی نشتها، باید در طی 48 ساعت به سوپروایزر گزارش شوند**

پاکسازی نشت بیولوژیکی بزرگ

- **به هنگام وقوع نشت زیستی بزرگ، باید به سرعت تمامی مواد بیولوژیکی نزدیک محل نشت را از آنجا دور کرد.**

- **پرسنل باید کفشهای رو بسته، روپوش آزمایشگاهی و شلوارهای بلند بپوشند. همچنین باید از دستکش لاتکس و یا عینک محافظ استفاده نمایند و به هنگام پاکسازی محل، در صورت نیازاز ماسک خود چسب 99(موجود در کیت نشت) استفاده کنند.**

- **در صورت گسترش نشت مایعات از محل اولیه، باید از دستمال های حوله ای، دستمال لوله برای توقف انتشار، استفاده نمایید. سپس درب های منتهی به محل بسته و علامت "ورود ممنوع" نصب کنید و در غیر اینصورت اطراف محل نشت را با نوار ببندید. در صورت امکان، به منظور ته نشست آئروسل ها، 15 دقیقه محل را ترک کنید. اگر نشت در کریدور و یا محل بدون درب اتفاق افتاد، 15 دقیقه را منتظر نشده و سریعا مرحله بعدی انجام گیرد.**

- **تقریباً نیمی از سطل کیت نشت را با محلول سفید کننده 10 ٪ پرکنید (500 میلی لیتر بلیچ به 4/5 لیتر آب شیر اضافه کنید).**

- **در کنار محل نشت، دستمالهای حوله ای را در سطل حاوی محلول سفید کننده، خیسانده و بدون چلاندن، به آرامی روی محل نشت قرار داده شود. در صورت نیاز با حوله های اضافی این کار تکرار تا کل منطقه نشت ، پوشش داده شود.**

- **به مدت 25 دقیقه حوله ها قرار داده شوند. حوله های حاوی سفید کننده موجب ضد عفونی کردن محل نشت شده و از تولید آئروسل جلوگیری می کند.**

- **بعد از 25 دقیقه دستمال ها برداشته و به کیسه های اتوکلاو جهت دفع ، انتقال داده شوند. سطح بیرونی کیسه ها، ضد عفونی شوند. با استفاده تی شستشو و سفید کننده باقی مانده داخل سطل، محل نشت را کاملا شستشو دهید.**

- **پس از اتمام شستشو مرحله قبل، محل تمیز در نظر گرفته می شود. محلول استفاده شده در سطل را به آبریز ریخته شود. محلول تازه سفیده کننده تهیه کرده و جارو را داخل سطل به مدت 15 دقیقه قرار دهید .سپس محتویات سطل را به داخل آبریز بریزید و سطل خالی و جارو را در محل مخصوص نگهداری نمائید.**

- **می توان کیسه های زباله بسته شده حاوی حوله های استفاده شده را در سیستم دفع زباله های معمول، دور ریخته شود.**

پاکسازی نشت در هودهای ایمنی زیستی (BSC)

باید به نکات زیر به هنگام پاکسازی نشت در هودهای زیستی توجه شود:

- **در طول تمیز کردن نشت داخل هود، فن های هود باید روشن و کار کند.**

- **سطوح استیلی که در معرض محلول 10٪ سفید کننده هستند بایستی با محلول الکل 70٪ پاک شده تا بقایای سفید کننده از بین برود. به علت خاصیت خورندگی محلول سفید کننده، در صورت باقی ماندن محلول سفید کننده ممکن است در سطح استیل، حفراتی ایجاد و آنرا سوراخ کند.**

- **تمامی مواد بیولوژیکی را در کابینت محفوظ نگه دارید و سطحشان با ضد عفونی کننده، ضد عفونی گردد و از کابینت خارج گردد.**

- **سایز مناسبی از دستمالهای حوله ای، پارچه کتانیcheesecloth یا دیگر مواد جاذب را انتخاب کرده تا بتواند بطور کامل سطوح در معرض نشت را بپوشاند.**

- **مواد جاذب را در سطل کیت نشت قرار دهید و روی آن محلول 10٪ سفید کننده بریزید تا کاملاً مواد جاذب اشباع گردند و سطل را به طرف هود آلوده حمل کنید.**

- **مواد جاذب را بدون چلاندن از سطل خارج نموده و به سرعت آنها را روی سطوح آلوده به نشت به مدت 25 دقیقه قرار دهید.**

- **در صورت آلوده شدن دیواره های داخلی، باید با اسپری کردن با محلول سفید کننده 10٪، پاک گردد. همچنین از این روش برای پاک کردن سطوحی که نمی توان آنها را با مواد جاذب پوشاند، می توان استفاده کرد.**

- **در مدت زمان تماس موثر، همه موارد از کابینت خارج گردد البته قبل از جابجایی، مواد داخل کابینت های در معرض نشت، باید سطوح را با محلول 10٪ سفید کننده، ضدعفونی نمود.(زمان تماس 1 دقیقه می باشد)**

- **بعد از تماس کافی با سطح آلوده، مواد جاذب برداشته و بدقت داخل کیسه اتوکلاو قرار گیرد و سطوح خارجی کیسه اتوکلاو را با محلول 10٪ سفید کننده ضد عفونی نمائید.**

- **سطوح کارو دیوارهای هود کشت سلولی را با محلول 10٪ سفید کننده پاک کنید.(مدت زمان تماس 1 دقیقه می باشد)**

- **چنانچه نشت با شبکه جلوی هود تماس پیدا کرد، سطح کار را بعد از ضد عفونی کردن بلند کرده و قسمتهای زیرین شبکه جلو را با محلول 10٪ سفید کننده پاک کنید.**

- **گزارش نشت زیستی را به سوپروایزر داده و تمامی مواردی که برای تمیز کاری استفاده شده، را در جای خود قرار گیرد.**

نکات خاص:

کابینت باید در طول مدت پاکسازی نشت، روشن نگهداشته شود. باید دقت کرد که در این حالت، امکان کشیده شدن کاغذ یا حوله کاغذی به داخل هود وجود داشته و صدایی غیر عادی مشابه صدای عدم توازن سانتریفوژ ایجاد میشود. فشار وارده بر فن، موجب شکستن آن شده که هزینه بسیاری را به دنبال دارد. سعی شود که با قرار دادن دست روی کاغذ و حوله ها، مانع این اتفاق شوید. اما در صورت وقوع، باید به سرعت هود را خاموش کرد و مسئول را مطلع نموده تا اقدام به خارج کردن کاغذ و ضدعفونی کردن بنماید.

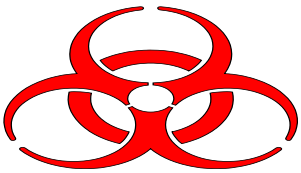
مفاهیم در ایمنی زیستی

مفاهیم ایمنی زیستی، دومین بخش از اصول ایمنی آزمایشگاهی است که با انواع مختلف مواد خطرناک زیستی (biohazardous) که در طول تحقیقات، بالین، آزمایشگاه مواجه می شوید را آشنا می سازد. برای محافظت از خود و دیگران در برابر این خظرات، بایست دستورالعملهای اجرایی استاندارد (SOP) و ارزیابی های پیشگیرانه پیروی گردد.

تعریف

مواد خطرناک زیستی (Biohazards) مواد با منشا بیولوژیکی یا مواد سنتتیک که ماهیت بیولوژیکی را تقلید میکنند و برای انسان، حیوانات،گیاهان و محیط ایجاد شرایط نامطلوب می کنند. شکل، سمبل مواد خطرناک زیستی است که توسط Charles Baldwin و کمپانی شیمیاییDow در سال 1960 طراحی گردید.

این سمبل بدلیل رنگ نارنجی روشن،کاملاً قابل رویت بوده و طراحی سه جهت آن باعث رویت یکسان از هر طرف می شود که اهمیت ویژه ای برای حمل و نقل مواد دارد.



هدف از مفاهیم دراصول ایمنی زیستی:

مواد خطرناک زیستی، عواملی هستند که می توانند تاثیرات نامطلوبی روی انسانها، حیوانات، گیاهان و محیط بگذارند. کاملاً واضح است که ما باید به طور کاملاً ایمن با این عوامل کار کنیم. اما چه عاملی آنها را منحصر نموده است؟برای پاسخ به سوال بایست مواد خطرناک زیستی را با مواد شیمیایی یا رادیواکتیو، مقایسه کنیم. سه مسئله عمده و برجسته شامل موارد زیر می باشند:

1- فقدان سیستم های شناسایی فوری

این مورد باعث افتراق خطرات زیستی از خطرات رادیاسیون و شیمیایی می گردد.برخی تکنولوژیهای بررسی هوا، برای تشخیص خطرات شیمیایی قابل دسترس هستند(شناساگر های مونواکسید کربن و گاز آمونیاک). بسیاری از خطرات رادیاسیون با شمارنده Geiger یا شمارنده scintillation قابل شناسایی می باشند. اما هیچ روش و راهی برای شناسایی آلودگی های زیستی وجود ندارد. بنابر این باید تصور کنیم که خطر وجود دارد وهمه پروتکل های ایمنی را در ذهن طراحی نمائیم.

2- پنجره درمانی

مدت زمان درمان های پیشگیری برای خطرات شیمیایی و رادیاسیون بر حسب دقیقه اندازه گیری می شود در حالیکه عموما، برای خطرات زیستی بر حسب روز اندازه گیری می شود (به استثنای توکسینهای میکروبی که پنجره درمانی محدودی دارند).

3- قابلیت تکثیر اغلب خطرات زیستی

این توانایی موجب شده که خطرات زیستی خیلی آسان تر از محل اولیه خود گسترش یابند.یک حادثه، بذر حوادث آتی را می پاشد. به عنوان مثال، اگر شخصی به سالمونلا آلوده شود، قادر به انتقال این آلودگی به همکاران، خانواده و افراد در تماس، می باشد. پتانسیل این حوادث برای خارج شدن از کنترل، فاکتور اصلی در طراحی پروتکل های ایمنی می باشد.

ایمنی زیستی، یک نگرش است!

مهم ترین قسمت هر برنامه ایمنی، خود پرسنل می باشد. ایمنی شامل نگرش و درکی ازعملکرد هایی که مرتبط با اشخاص پیرامون می باشد. همچنین جامعه بزرگتری مثل دانشگاه.زمانیکه شما تصمیم می گیرید به طور ایمن با خطرات زیستی کار کنید شما خیلی بیشتر خودتان را محافظت می کنید.

ملاحظات دیگر شامل:

همکاران آزمایشگاه ،کارمندان ،دوستان و خانواده ، حیوانات خانگی ، محیط، تحقیقات در حال اجرا ، اعتبار شخصی، آزمایشگاهی و دانشگاهی ، درک عمومی،

وقتیکه تمامی این فاکتورها در نظر گرفته شد انتخاب به کار گیری شیوه های ایمن، آسان است.

چه کارهایی را نباید در آزمایشگاههای زیستی انجام داد:

- **همه محققین باید توجه کنند که رعایت دستور العمل های ایمنی اجباری، حداقل مواردی است که باید انجام شود و باید بیش از دستورالعمل، رعایت گردد.**

- **اگر آزمایش مورد نظر در محدوده دستورالعمل های موجود نباشند، در این حالت باید پرسنل آمادگی طراحی و ارائه دستورالعمل معادل را داشته باشند.**

عفونتهای اکتسابی آزمایشگاهی (LAIs): شامل عفونتهایی هستند که ار طریق دستکاری کشتهای خالص و یا نمونه های بالینی حاوی میکروبهای بیماریزا در محیط های آزمایشگاهی اکتساب می شود.
علت هایی که باعث ایجاد(LAIs) میشود شامل:

- **قرار گرفتن در معرض مواد عفونی**

- **نقص در ارزیابی مناسب خطر (قبل از شروع به کار)**

- **عدم الصاق دستورالعمل های ایمنی تدوین شده**

عفونت های اکتسابی آزمایشگاهی منحصر به افراد آزمایشگاهی نمی باشد، بلکه پرسنل غیر آزمایشگاهی در تماس با افراد مذکور، در معرض خطر می باشند.این عفونت ها، در نتیجه خطاهای فردی و همچنین بی توجهی به حزئیات دستورالعمل های ایجاد می شود. علاوه بر مسئولیتهای فردی، در اینگونه موارد نباید از نقش بازرسان و همچنین برنامه ایمنی سازمان چشم پوشی کرد و آنها را نادیده گرفت.

با رعایت دستورالعمل های ایمنی و بکارگیری روشهای ارزیابی خطر، (LAIs) را به میزان قابل توجهی کاهش می یابد
راه های مختلفی انتقال برایLAIs وجود دارد که بوسیله کارهای آزمایشگاهی مختلف ایجاد می شود.

1- **بلع یا قورت دادن: این به معنای نوشیدن فلاسک های کشت نمی باشد! بلکه از طریق موارد زیر اتفاق می افتد:**

- **پی پت کردن با دهان**
- **پاشیدن مواد عفونی بداخل دهان**
- **گذاشتن مواد یا دستهای آلوده در دهان**
- **مصرف غذا یا نوشیدنی در آزمایشگاه**

سه مورد آخر در آزمایشگاههای امروزی بیشتر دیده شده است.

2- **تلقیح: این اتفاق زمانی رخ می دهد که عامل عفونی از طریق پوست نفوذ کند. با پوشیدن لباسهای محافظتی مناسب(PPE)از این نوع انتقال می توان جلوگیری کرد.**

- **حوادثی مانند ایجاد جراحت توسط سوزن**
- **بریدگی توسط وسایل تیز (مثل شیشه شکسته یا پی پت پاستور)**
- **نیش حشرات یا خراش**

3- **آلودگی پوست و غشاهای مخاطی:PPE در محافظت از این نوع انتقال آلودگی با ارزش است. این نوع آلودگی شامل موارد زیر می باشند:**

- **نشت یا پاشیدن بداخل چشم،دهان یا بینی**
- **نفوذنشت ها یا پاشیدن به داخل پوست سالم یا آسیب دیده**
- **تماس با سطوح، تجهیزات ومواد آلوده**

3- **استنشاق: خطرناک ترین نوع درمعرض قرار گیری می باشد بدلیل اینکه فهمیدن استنشاق آئروسل های عفونی، مشکل بوده و به محض ورود آئروسل ها از طریق تنفس، شخص مبتلا دیگر کاری برای پیشگیری نمی تواند انجام دهد. این دشواری مرتبط با آئروسل ها، به علت توانایی حرکت آنها از کل اتاق می باشد و پرسنلی که در طرف دیگر آزمایشگاه کار می کنند، از طرف دیگر آزمایشگاه که در حال انجام پروسه های تولید کننده آئروسل در شرایط غیر ایمن،اطلاعی ندارند. ردیابی و تشخیص منشا عفونت در این نوع مشکل می باشد. برخی روشهای آزمایشگاه تولید کننده آئروسل از عوامل عفونی و معلق ماندن آنها برای مدت زمان طولانی، عبارتند از:**

- ✓ **پی پت کردن**
- ✓ **هموژنیزاسیون**
- ✓ **لیوفیلیزاسیون**
- ✓ **سانتریفوژکردن**

ارزیابی مناسب خطر و برنامه ریزی از قبل پروتکل ها ، برای به حداقل رساندن خطر عفونت استنشاقی ضروری می باشد. یکی از اولین سوالات مرتبط با LAIs که باید پرسیده شود، شیوع در میان کارکنان آزمایشگاه است . تخمین شیوع LAIs مشکل است چون پرسنل آزمایشگاه بدلیل ترس از مجازات و جریمه، تمایل به گزارش دادن ندارند

در کتاب ایمنی زیستی" اصول و روشها" هاردینگ و بایر، با بررسی 270 مقاله از سال 1979 تا سال 2004 مرتبط با عفونت های اکتسابی آزمایشگاهی، برای روشن شدن موارد زیر صورت گرفت:

- **تعدادکل LAIs**
- **میکروارگانیسمهای مرتبط با LAIs**
- **عملکرد اولیه تجهیزاتی که آلودگی در آن رخ داده است**
- **نوع فعالیتهای کاری مرتبط با عفونتها**

جدول زیر، ده مورد از شایع ترین LAIs علامت دار را نشان می دهد

عامل بیماریزا	تعداد موارد	تعداد مرگ و میر
Mycobacterium tuberculosis	199	0
Arboviruses	192	3
Coxiella burnetii	177	1
Hantavirus	155	1
Brucella spp.	143	4
Hepatitis B virus	82	1
Shigella spp.	66	0
Salmonella spp.	64	2
Hepatitis C (formerly non-A, non-B	32	1
Neisseria meningitides	31	11
جمع کل	1141	23

96٪ از موارد LAIs باکتریها و ویروسها می باشند و این عفونتها در آزمایشگاه بالینی و هم در آزمایشگاه تحقیقاتی رخ می دهد. بنابراینLAIsدراین آزمایشگاهها غالبا اتفاق می افتد و حتی سبب مرگ برخی از پرسنل آزمایشگاه می شود.اما چگونه افراد عفونت را کسب می کنند؟ آیا حوادث یا پاشیدن های رخ داده، موجب عفونت می شود ؟ برای پاسخ به این سوالات، در سال 1976،R. Pike آزمایشاتی روی 3921 نفر انجام و نشان داد که منشاء 82٪ از این عفونتها ناشناخته بود و مشخص گردید که پرسنل مبتلا یا با عامل عفونی کار کرده یا در مجاورت عوامل عفونی بودند. در ادامه به چند نمونه از اثرات عفونت های آزمایشگاهی بر روی پرسنل آزمایشگاه اشاره شده است

مورد 1:بررسی آمادگی آزمایشگاهی(laboratory preparedness survey)

درنوامبر 2007 :جهت انجام بررسی بر بروسلا آبورتوس RB51 ، یک سویه واکسن این ارگانیسم به 1316 آزمایشگاه در آمریکا و کانادا توزیع شد . همراه واکسن دستورالعملهایی کار کردن ایمن وجود داشت.دستورالعمل ها شامل کار با سویه در کلاس 2 هودهای بیولوژیکی آزمایشگاه و به کار گیری سطح محدودیت 3بودند.

طی بررسیهای انجام شده در نوامبر سال 2007 ، برای اولین بار آزمایشگاهی در نیویورک گزارش کرد که در طی آزمایشات، در معرض بروسلا قرار گرفته است. بر روی ویال حاوی سویه واکسن، به طوراشتباه برچسب نمونه بیمار زده شده بودو کار خارج از هود

بیولوژیکی انجام شده بود. این نتایج در 24 نفر از کارکنانی که در معرض عامل عفونی قرار گرفته بودند بدست آمد. CDC(مرکز کنترل بیماری) تصمیم گرفت بررسی بیشتری در روش کارآزمایشگاههای شرکت کننده در این تحقیقات انجام دهد و مشخص شد که 254 نفر از 1316 نفر (19٪) آزمایشگاهها بطور صحیح با نمونه ها کار نمی کردند.

موارد زیرگزارش شده اند:

- **عدم برچسب گذاری لوله ها**
- **کار روی میز های آزمایشگاهی (تمامی کارها بایستی در زیر هودهای بیولوژیکی انجام می شد)**
- **روشهای عدم تولید آئروسل بدرستی انجام نمی شد.**
- **دستورالعملهای کارکردن و مدیریت به کارکنان داده نشده بود**
- **موارد دیگر، مثل بو کردن محیط کشت**

این موارد در 916 نفر از کارکنان آزمایشگاه منجر شد که 679 نفر از آنها در معرض خطر ابتلا بالایی قرار بگیرند. از ژانویه 2008 ، هیچ بیماری به CDC گزارش نشد.

نگاهی به پیام صفحه: این مورد نشان می دهد که خیلی از آزمایشگاهها ، با مفهوم اصول ایمنی زیستی و شیوه های اجرایی آن در کشمکش هستند. مدیران آزمایشگاه و محققین اصلی نباید فرض کنند که تمامی پرسنل علم و دانش یکسانی به اندازه آنها برای انجام این کار دارند. اطلاعات مربوط به روش کار, باید به همه داده شود. همچنین برخی روشهای آزمایشگاهی (مثل بو کشیدن پلیتهای محیط کشت) وجود دارد که باید کنار گذاشته شود.

مورد 2 :عفونت ویروس واکسینا

ویروس واکیسنا (VACV) جزء زنده واکسن آبله است. سویه های خیلی تضعیف شده خطرناک محسوب نمی شوند MSDS (برگه اطلاعات ایمنی مواد) ، مربوط به آژانس بهداشت عمومی کانادا (PHAC) روشهای سطح 2 را برای کار با ویروس واکسینا پیشنهاد کرده است . واکسن آبله برای تمامی افرادی که با VACV و همچنین با اورتوپوکس ویروسها کار می کنند توصیه می شود .

اطلاعات موردی: در 5 ژولای 2008 ، یک کارمند انسیتیتو ویرجینیا متوجه عفونت درلاله گوش ، چشم چپ و تب و ورم غدد لنفاوی شد به وی آنتی بیوتیک برای عفونتهای باکتریایی احتمالی وی تجویز شد. بیمار پزشک را مطلع کرد که در آزمایشگاه تحقیقاتی سرطان که با موشهای آلوده با VACV سرو کار دارند، کار کرده است. سپس پزشک با CDC تماس گرفته و مشخص شد که مریض با این موشها 4-6 روز قبل از بروز علائم بیماری کار می کرده است. از بیمار زمانیکه برای اولین بار بستری شده بود ،در رابطه با مواجه شغلی با عامل عفونی سوال پرسیده شد ولی وی اظهار داشته بود که چند هفته گذشته با این موشها کار کرده است . تصاویر زیر وخامت عفونت را نشان می دهد .

آزمایش برای VACV شروع شد و مشخص شد که بیمار از لحاظ ویروس واکسینا مثبت است ولی نه با سویه هایی که موشها را آلوده کرده بود(موشهایی که وی با آنها کار می کرده آلوده به ویروس دیگری بوده اند.) آزمایشات بیشتر نشان داد یک آلودگی در سویه ذخیره ای که کارمند از آن استفاده می کرده وجود داشته است.

تغییرات سازمانی ناشی از این مورد:

آزمایشگاهی که این مورد در آن اتفاق افتاد دستورالعملهای ایمنی جهت پیشگیری ازعفونت و در معرض قرار گیری را داشت. با این حال تحقیقات بیشتر نشان داد که نه تنها کارکنان، بلکه دانشجویانی که با این سویه ها کار می کردند و مدیران آزمایشگاه تحت واکسیناسیون به روز آبله قرار نگرفته بودند. سیاست واکسیناسیون این انستیتو،بر اساس درخواست کارمندان بود. به دنبال این اتفاق، سیاست انیستیتو تغییر و تمامی افرادی که با VACV کار می کردند میبایست در جلسات آموزشی ایمنوزاسیون شرکت کنند و تمامی افرادی که نمی خواستند واکسینه شوند بایستی فرم رضایت را امضاء می کردند.

نگاهی به پیام صفحه: مورد ذکر شده نکات بسیار زیادی دارد.

- **هنگام کار با مواد عفونی،بایست بدانید که با چه چیزی و در چه زمانی کار می کنید. این اطلاعات بایستی به تمامی پرسنل مراقبتهای بهداشتی و مقامات ایمنی داده شود . اگر شخص مبتلا سریع در بیمارستان پذیرش می ش، برخی اتفاقات بعدی محدود می شد.**
- **مهم است که از علائم این عوامل عفونی که با آن کار میکنید آگاه باشند. چنانچه فرد مذکور، نظارت بر سلامتی خودش داشت، درمان زودتر شروع می شد.**
- **سیاست یا خط مشی سازمانی نیازمند این است که فعال در برابر واکنش باشد . کارکنان باید از اینکه چگونه به طور کاملاً ایمن کار کنند اطلاع داشته باشند. مقامات نباید منتظر بمانند تا پرسنل از آنها اطلاعات بخواهند.**

مورد 3 :بروسلا ملی تنسیس در کارکنان آزمایشگاه میکروبیولوژی:

این مورد بررسی هم بروسلا است گر چه سویه متفاوتتری از مورد اول می باشد

سابقه: مقامات تمام پرسنل آزمایشگاه میکروبیولوژی ، اعم از آزمایشگاهی که کارمندان کار می کرده و هم در آزمایشگاههای مجاور را آزمایش کردند.تیتر سرم برای تمامی پرسنل بدست آمد و از کارمندان سوال پرسیده شد که آیا آنها علائمی از بروسلوزیس در بهار ، تابستان یا پائیز 1988 داشته اند یا خیر؟

8 نفر ، سرم مثبت برای بروسلا بودند همه غیر از یک نفر علائم بیماری را داشتند. افراد بدون علامت با این حال تستهای عملکرد کبدی غیر نرمال را داشتند.

منبع عفونت : تمام افرادی که در آزمایشگاه میکروبی کار می کردند مبتلا شده بودند ، هیچ یک از افرادی که در آزمایشگاه مجاور کار می کردند مبتلا نشده بودند، هیچ اتفاقات یا نشتهایی گزارش نشده بود و هیچ فردی در آزمایشگاه قبل از بروز علائم بالینی با بروسلوزیس کار نکرده بود مقامات به دنبال منبع بالقوه ای از عفونت در ماه مارس یاآوریل گذشته ، حدود 6 هفته قبل از اینکه علائم بیماری ظاهر شود ، بودند. هنگامی که برنامه جدول زمانبندی مورد بررسی قرار گرفت مشخص شد که تمام کارمندان مبتلا در روزهای 30 یا 31 مارس کار می کرده اند.

آزمایشات روی نمونه های استوک یخ زده نشان داد که نمونه ذخیره بروسلا ملی تنسیس جهت بررسی زنده بودن آن ذوب گردیده و دوباره در اوایل آوریل یخ زده شد.این کارها در زیر هود بیولوژیکی صورت نگرفته و روی میزهای روباز انجام گرفته بود . پروتکل های ایمنی موجود در محل برای این ارگانیسمها حاکی از این بود که تمامی کارها باید در زیر هود لامینار صورت گیرد.

از آنجائی که افراد مبتلا در محل های متفاوتی در آزمایشگاه قرار گرفته بودند به نظر می رسد انتقال هوا یک راه انتقال عفونت بوده است.

نگاهی به پیام صفحه :این مورد بررسی روشن ساخت که حتی یک اشتباه کوچک می تواند سبب آسیب های جدی برای افرادی که با آنها کار می کنید شود. این حادثه سبب بیماری در 8 نفر از کارمندان شد. بعلاوه میزان ساعاتی که برای بررسی این حادثه و معاینه کل

کارمندان و تعیین منبع عفونت صرف شد قابل توجه بود. چنانچه از پروتکلهای ایمنی تدوین شده برای این ارگانیسمها پیروی می شد، این حادثه اتفاق نمی افتاد.

گروههای خطر:

در قسمت مقدمه خطرزیستی اینگونه تعریف شد" ماده ای با منشا بیولوژیکی یا ماده سنتتیکی که ماهیت بیولوژیکی را تقلید کرده و موجب شرایط نامطلوبی برای انسان ها، حیوانات، گیاهان و محیط می کند. هنگامی که مشخص شد آزمایشگاهی با مواد خطرناک زیستی کار میکند، چگونه می توان ریسک مواد حاضررا برای کاربر و جامعه بزرگتری مانند دانشگاه را تعیین کرد.

دراین بخش، درمورد گروههای خطر بحث خواهد کرد و با شیوه تخمین گروه خطر ارگانیسمی که با آن کار می کنید آشنا می کند. پروسه ارزیابی خطر، اولین مرحله در تعیین سطح محدودیت و شیوه های کاربردی مورد استفاده با مواد خطرناک زیستی، می باشد. واحد ارزیابی خطر، ضرورت انجام ارزیابی خطر و همچنین فاکتور هایی که بایست در نظر گرفته شود را توضیح می دهد. سازمان جهانی سلامت برای کمک به ارزیابی خطر عوامل فردی، یک طرح طبقه بندی ارائه داده است.

طبقه بندی گروههای خطر:

WHO **یک دستورالعمل ایمنی آزمایشگاهی منتشر کرده است که شامل موضوعات عمومی، شیمیایی، رادیاسیون و زیستی می باشد. نسخه سوم این نشریه در سال** 2004 **منتشر شده است .**

WHO**یک سیستم طبقه بندی را برای عوامل خطرناک زیستی ارائه کرده است. آژانس سلامت عمومی کانادا**(PHAC) **نیز سیستم طبقه بندی مشابه اصول ایمنی آزمایشگاه تدوین نموده است. این سیستم طبقه بندی بر اساس:**

- **بیماریزایی ارگانیسم**
- **دوز عفونی کننده**
- **طیف میزبان**
- **مکانیسم انتقال**
- **دسترسی به درمان**

4 **گروه خطر شناسایی شده اند و در جدول زیر شرح داده شده اند.**

گروه خطر 1: عواملی که احتمال ایجاد بیماری در افراد سالم و حیوانات سالم بعید می باشد.(خطر کم فردی و اجتماعی)

گروه خطر 2: پاتوژن می تواند موجب بیماری در انسان شود ولی در شرایط نرمال آزمایشگاهی، احتمال خطر جدی، برای کارکنان آزمایشگاه ، اجتماع و محیط بعید می باشد. قرار گیری در معرض این گروه می تواند سبب بیماری شود ولیکن درمان به آسانی در دسترس و ریسک پخش آن محدود می باشد.(خطر متوسط فردی و خطر کم اجتماعی)

گروه خطر 3: پاتوژنی که معمولاً موجب بیماری وخیم در انسان شده یا منجر به پیامدهای جدی اقتصادی شود ولیکن توسط تماس ها معمولی از شخصی به شخص دیگر انتقال نمی یابد و با عوامل ضد میکروبی یا ضد انگل قابل درمان است.(خطر زیاد فردی و خطر پایین اجتماعی)

گروه خطر 4: هر پاتوژنی که موجب بیماری های بسیار وخیم در انسان شده که اغلب غیر قابل درمان بوده و به آسانی از شخصی به شخصی دیگر و از حیوان به انسان یا بالعکس بصورت مستقیم یا غیر مستقیم توسط تماس معمولی منتقل میشود.(خطر زیاد فردی و اجتماعی)

این معیارها، برای تعیین گروه های خطر همه عوامل عفونی استفاده می شود.

تعیین سطح گروههای خطر :

آشنایی با سیستم طبقه بندی گروههای خطر، به پژوهشگران در تخمین اینکه ارگانیسمها در کدام گروه از گروههای خطرقرار می گیرند، کمک می کند. با این حال، فرایند تعیین گروههای خطر می تواند طولانی باشد و نیازمند تحقیقات زیاد باشد. چندین سیستم on-line برای کمک به محققان در تعیین گروههای خطر وجود دارد.

PHAC-1: این وب سایت ، MSDSs برای یک رنج وسیعی از عوامل خطرناک زیستی را دارد.

Public Health Agency of Canada MSDS Listing.

2- انجمن ایمنی زیستی آمریکا (ABSA):این وب سایت طبقه بندی گروههای خطر برای باکتری ها، ویروسها، قارچها و انگلها ارائه داده است ویژگی منحصر این وبسایت مقایسه گروههای خطر ارگانیسمهای WHO، استرالیا، کانادا، اروپا و آمریکا می باشد

ABSA Risk Group Determination (CDC/NIH, NIH rDNA)

3-دپارتمان سلامت و خدمات انسانی ایالت متحده (مرکز کنترل بیماریها (CDC))و انستیتوی ملی سلامت آمریکا(NIH) ایمنی زیستی در آزمایشگاههای میکروبی و پزشکی

(Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (5th Edition)

آشنایی با این 3 وب سایت، به محققان در تعیین گروههای خطر،کمک می کند. توجه به این نکته ضروری است، که گاهی اوقات اختلافی بین این سه سایت وجود دارد که در این حالت باید از PHAC، MSDSs که سند حاکم است استفاده شود.
زمانیکه گروه خطر تعیین گردید، محققین باید با طراحی دستورالعمل های ایمنی مناسب، خطر آلودگی با ارگانیسمها را تقلیل دهند. در مواردی که اطلاعات ناقص یا متناقض است، بهتر است که محافظه کارانه عمل شود (بالاترین طبقه بندی گروه خطر را برای ارگانیسم در نظر بگیرید).

سطوح محدودیت :

مقدمه

گروههای خطر ذکر شده در قسمت های قبل، خطراتی را که این عوامل برای کارکنان آزمایشگاه و محیط ایجاد می کند را توصیف می کند،گروه های خطر، نوع آزمایش و دستکاری های که برای خطرات زیستی طراحی می شوند، رادر نظر نمی گیرد.

ترکیبی از گروههای خطر و روشهایی که درهنگام کار با این مواد استفاده می شود،برای تقسیم بندی سطح محدودیت استفاده می شود.سه فاکتور برای تعیین سطح محدودیت مناسب در یک فضای آزمایشگاهی خاص وجود دارد:

- **روشها و تکنیک های آزمایشگاهی**
- **تجهیزات ایمنی**
- **طراحی تاسیسات**

چهار سطح محدودیت برای عوامل خطرناک زیستی وجود دارد. اغلب گروه خطرهرارگانیسم با سطح محدودیتی که در آن کار می کنیم، مطابقت دارد. باید توجه داشت که ارزیابی خطر برای پروتکل های برنامه ریزی شده باید انجام شود تا تعیین نماید که سطح محدودیت برای دستکاری های برنامه ریزی شده متناسب می باشد.

در حال حاضر، سه یا چهار سطح محدودیت در آزمایشگاههای تحقیقاتی و یا آزمایشگاه دانشگاه یافت می شود. بخشهای زیر، شیوه هایی را برای هر سطح محدودیت شرح می دهد. اینها حداقل استانداردهایی است که باید دنبال شود ممکن است پروتکل افراد، روش های سختگیرانه تری باشد.

سطح محدودیت 1 (containment level, CL):

روشهای بسیاری در آزمایشگاههایی که با مواد عفونی سرو کار دارند، انجام می شود. آزمایشگاههای CL-1 ارگانیسمهای را استفاده که به خوبی مشخص شده و ایجاد بیماری در افراد سالم نمی کند. این روشها در زیر لیست شده است و به سه اصل از محدودیت های زیست ایمنی تقسیم شده اند که در بخش مقدمه لیست شده اند.
1-تکنیک و روش آزمایشگاهی :

- **خوردن، آشامیدن، سیگار کشیدن، نگهداری مواد غذایی، وسایل پرسنل، مواد آرایشی، گذاشتن و برداشتن لنزهای تماسی در همه آزمایشگاهها ممنوع می باشد. استفاده از لنزهای تماسی فقط زمانی که امکان استفاده از عینک مناسب وجود ندارد، مجاز است. استفاده از جواهرات نیز در آزمایشگاه توصیه نمی شود.**
- **پی پت کردن هر ماده ای با دهان درهر آزمایشگاهی ممنوع است.**
- **موهای بلند باید از پشت بسته شود تا هیچ تماسی با دستها، وسایل، ظروف یا تجهیزات نداشته باشد.**
- **روشهای ایمنی مکتوب، بایست در دسترس همه پرسنل باشد و دستورالعمل آن پیروی شود و باید به طور منظم مرور و به روز گردد.**
- **پرسنل باید آموزشی در خصوص خطرات مرتبط با کار و نیز احتیاطات لازم برای پیشگیری از قرار گیری در معرض عوامل عفونی بگذرانند و باید نشان دهند که آموزشها را درک کرده اند. آموزشها بایستی بایگانی و به امضای کارمند و سوپروایزر برسد. برنامه های باز آموزی نیز بایستی اجرا شود.**
- **زخمها، بریدگیها و خراشیدگی ها بایستی با پانسمان ضد آب پوشانده شود.**

آزمایشگاهها بایستی تمیز و مرتب نگهداری شوند و نگهداری وسایلی که مربوط به کار نبوده و براحتی هم ضد عفونی نمی شوند مثل کتابها، مجلات به حداقل برسد. گزارش ها مکتوب و یاد داشت ها، باید از نواحی کار با مواد خطرناک دور نگه داشته شوند.

• تمامی پرسنل آزمایشگاه باید لباسهای حفاظتی که بطور کامل بسته شده، را بپوشند همچنین شامل بازدید کننده ها ، افراد تحت آموزش و دیگر افرادی که وارد می شوند و یا در آزمایشگاه کار می کنند، نیز می باشد. باید در تمام مناطق آزمایشگاه از کفشهای مناسب که پاشنه و انگشتان پا را بپوشاند استفاده شود.

• لباسهای آزمایشگاهی را نباید در محل های دیگر استفاده کرد و همچنین در تماس و کنار لباسهای بیرون، نگهداری نشود.

• در صورت قرار گیری مشکوک در معرض مواد آلوده، باید لباسهای آلوده شده، قبل از شسته شدن، ضد عفونی گردند(مگر اینکه رختشوی خانه داخل آزمایشگاه بوده و موثر در ضدعفونی کردن باشد).

• دستها را باید بعد از درآوردن دستکشها و قبل از ترک آزمایشگاه و بعد از دست زدن به مواد مشکوک به آلودگی، شست.

• سطوح کار بایست در پایان روز کاری و پس از نشت مواد خطرناک، تمیز و با ضدعفونی کننده متناسب، ضدعفونی گردند.

• مواد یا تجهیزات آلوده که برای تعمیر از آزمایشگاه خارج می شوند باید به طور کامل ضدعفونی شوند و برچسب گذاری شوند.

• کارایی اتوکلاو، باید به طور منظم توسط اندیکاتورهای بیولوژیکی بررسی شود (هفتگی، بستگی به میزان استفاده از اتوکلاو دارد) و این نتایج باید ثبت گردد (که شامل زمان، دما، فشار است) و نیز باید در فایل نگهداری شوند.

• تمامی مواد آلوده (جامد یا مایع) باید قبل از دفع یا استفاده مجدد، ضدعفونی شوند. باید از نشت محتویات آلوده این مواد در طی انتقال جلوگیری شود. تسهیلات اتوکلاو مرکزی، از دستورالعمل محدودیت سطح 2 پیروی می کند.

• نشت ها یا حوادث دیگر مانند قرار گرفتن در معرض مواد عفونی، باید سریعاً به سوپروایزر آزمایشگاه گزارش داده شود و تمامی گزارش ها باید ثبت و از نتایج تحقیقات برای ادامه آموزش های استفاده شود.

2-تجهیزات ایمنی:

• در زمان انجام کارهای آزمایشگاهی باید از چشم و صورت به دقت محافظت کرد. باید توجه دقیق به ماهیت مواد خطرناک کرده و عینک متناسب انتخاب گردد.

• بایست در همه کارهایی که امکان تماس مستقیم با مواد خطرناک و یا حیوانات آلوده وجود دارد،از دستکش (لاتکس، وینیل ، کوپلیمر) استفاده شود. زمان ترک آزمایشگاه، دستکش را درآورده و قبل از دفع آن با پسماندهای آزمایشگاهی، ضدعفونی گردد. از دستکش های metel mesh میتوان زیر دستکش یکبار مصرف استفاده نمود.

• استفاده سوزن، سرنگ و دیگر مواد تیز باید کاملاً محدود شود. بایستی هنگام کار با سوزن و سرنگ، به منظور جلوگیری از تلقیح خودی و تکثیر آئروسلها حین استفاده و زمان دفع آنها، احتیاط گردد.کار باید در زیر هود ایمنی زیستی صورت گیرد. پس از اتمام کار، سوزن و وسایل نوک تیز باید به سرعت در یک ظرف مقاوم به وسایل تیز، قرار بگیرند (مطابق با استانداردهای انجمن کانادا).

• باید همیشه ضد عفونی کننده موثردر برابر عوامل عفونی مورد استفاده، در دسترس مناطق کار با مواد خطرناک زیستی کار یا نگهداری آنها، باشد.

• باید از ظروف ضد نشت برای انتقال مواد عفونی بین آزمایشگاه ها استفاده شود.

• برنامه مناسب برای کنترل حشرات و جوندگان باید بکار رود.

3-طراحی تاسیسات:

●دسترسی و استفاده از آزمایشگاه و نواحی اطراف آن تنها برای پرسنل آنها مجاز باشد.

●درهای آزمایشگاه نباید باز گذاشته شوند(این مورد برای مناطق باز آزمایشگاه اعمال نمی شود).

سطح محدودیت 2 :

آزمایشگاه سطح محدودیت 2، با عواملی که توانایی و پتانسیل آلوده کردن پرسنل را دارد، کار می کند. خطر ابتلای پرسنل، متوسط در نظر گرفته شده است و باید به روشهای تولید کننده آئروسل، توجه ویژه ای کرد. آزمایشگاههای CL-2 علاوه بر شرایط ذکر شده برای CL-1، موارد زیر را شامل می شوند:

1-تکنیک و روش آزمایشگاهی:

● بکار گیری روش مناسب درآزمایشگاههای میکروبیولوژی، از انتشار عوامل عفونی که با آنها کار می شود، جلوگیری می کند.

●تمامی افرادی که در سطوح محدودیت کار می کنند باید آموزش دیده و از دستورالعمل های قابل مربوطه پیروی کنند. کارآموزان باید با یک فرد آموزش دیده، همراه شوند. بازدید کننده ها، کارکنان تعمیرات و نگهداری، کارکنان خدمات وافراد دیگر بایدآموزش های لازم را ببینند.

●روشهای اورژانسی برای پاکسازی نشت، خرابی هودهای بیولوژیک، آتش سوزی، فرار حیوانات و دیگر کارهای اضطراری باید بصورت مکتوب در دسترس پرسنل باشد. همچنین ورود و خروج افراد حین موارد اضطراری(به غیر از پرسنل آزمایشگاه) باید ثبت شود.

2 – تجهیزات ایمنی:

تجهیزات ایمنی که در آزمایشگاه سطح محدودیت 1 مورد استفاده قرار می گیرد برای آزمایشگاههای با سطح محدودیت 2 نیز مناسب است.پرسنل بایداز تجهیزات حفاظتی مناسب(PPE) زمان تماس با عوامل عفونی استفاده کنند.

3 – طراحی تاسیسات :

● استفاده از هودهای ایمنی زیستی در مواردی که امکان تولید آئروسل های آلوده وجود داشته و یا غلظت بالا و حجم بالایی از مواد خطرناک زیستی وجود دارد، ضروری می باشد.

● علامت های مناسب نشان دهنده ماهیت خطر ماده مورد استفاده (علامت biohazard، سطح محدودیت) را باید بر روی درب هر آزمایشگاه نصب کرد. چنانچه آزمایشگاهی با مواد عفونی کار می کند و برای ورود به آن آزمایشگاه، نیازمند مقررات خاصی است، اطلاعات مربوطه باید بر روی علامت اضافه شود همچنین اطلاعات تماس با سرپرست آزمایشگاه یا فرد مسئول باید قید گردد.

تنها پرسنل آزمایشگاه، افرادی که با حیوانات سر و کار دارند، کارکنان تعمیرات و کارکنان اداری مجاز به ورود در آزمایشگاه میباشند.

سطح محدودیت 3

آزمایشگاههای CL-3 با عواملی کار می کنند که باعث ایجاد بیماری های جدی و بالقوه کشنده در افراد سالم می شوند. دسترسی به این آزمایشگاهها محدود است و تجهیزات طوری طراحی شده اند تا حداقل خطر عفونت را برای پرسنل آزمایشگاه را داشته باشند. تمامی آزمایشگاههای CL-3باید گواهی سالیانه داشته باشند.

تجهیزات CL-3 دستورالعمل ایمنی و برنامه آموزشی مخصوص به خود دارند. تمامی آزمایشگاهها و پرسنل که مایل به انجام کار با تجهیزات CL-3 هستند باید ابتدا با بخش ایمنی زیستی سازمان حفاظت محیط زیست تماس بگیرند. این بخش سلامتی و ایمنی را در استفاده از تجهیزات تامین کرده است.

سطح محدودیت 4

BSL4 facility at National Microbiology Laboratory in Canada (Winnipeg)

آزمایشگاه CL-4 با خطرناک ترین مواد زیستی کار می کند. این عوامل، ریسک بالایی را در ایجاد بیماری های کشنده دارند و به راحتی منتقل می شوند. ورود به آزمایشگاههای CL-4 به شدت تحت کنترل است. آنها اغلب در ساختمانهای مجزا یا مکانهای ایزوله قرار دارند. افرادی که در این ساختمانها کار می کنند باید تحت آموزش فراگیر قرار بگیرند. PPE در آزمایشگاههای CL-4 باید خیلی مجهز باشد و لباسهای کاملاً تحت فشار لازم است. یک نمونه از PPE در شکل دیده می شود.

هیچ یک از امکانات CL-4 در آزمایشگاههای دانشگاهی دیده نمی شود. در واقع تنها یکی از آنها در در آزمایشگاهی در کانادا در Winnipeg وجود دارد. کار با ارگانیسمهایی که نیاز به تجهیزات سطح 4 دارد در دانشگاهها ممنوع است.

محدودیت، ملاحظات خاص:

سطوح محدودیتی که شرح داده شد، حداقل الزامات اجرایی را برای آزمایشگاههای دانشگاه را ارائه می دهد. با این همه برخی شرایط و عواملی وجود دارند که بطور منظم در این محدودیتها قرار نمی گیرند، آنها ممکن است سطوح منحصر بفردی از خطر برای پرسنل یا محیط ایجاد کنند. اغلب این عوامل با اقدامات احتیاطی ویژه ای که از طریق پروسه ارزیابی خطر ایجاد شده، مورد استفاده قرار می گیرند. این موارد شامل:

- **DNA نوترکیب**
- **محیطهای کشت مقیاس بزرگ**
- **خون انسان و مواد بدن**
- **لنتی ویروسها ، آدنو ویروسها و رتروویروسها**
- **پاتوژنهای گیاهی و گیاهان با ویژگیهای جدید**
- **پریونها**
- **توکسینهای میکروبی**

کشت در مقیاس بزرگ

کار در مقادیر زیاد مواد بیولوژیک خطرناک موجب افزایش خطر برای کارشناس ونیز محیط کار می گردد. دستورالعمل آزمایشگاه PHAC، مقادیر بالاتر از 10 لیتر را به عنوان مقیاس بزرگ تعیین میکند هرچند این مقدار مطلق نبوده و هنگام کار با ارگانیسم های پاتوژنیک خاص، کمتر می باشد.

برای مثال تولید 5 لیتراشر شیا کلی انتروهموراژیک مقاوم به دارو O157:H7(گروه خطر 2)بهتر است که در مقیاس بزرگ CL-3 انجام شود.

باید موارد زیر در نظر گرفته شود:

- **بیماری زایی ارگانیسم**
- **راه انتقال**
- **دوز ایجاد کننده عفونت**

به منظور تعیین ضرورت نیاز به سطح محدودیت بالاتر،هنگام کشت در مقیاس بزرگ، بایست ارزیابی خطر صورت گیرد. امکاناتی که برای کشت در مقیاس بزرگ میکرب ها و یا رده های سلولی اوکاریوتیک استفاده می شود، نیاز به جنبه های ایمنی بیشتری دارد. در حوادثی از قبیل ریختن یا شکاف ظرف فرمانتاسیون ، بررسی ها تضمین می کند که عامل کشت داده، به داخل سیستم فاضلاب آزاد نمی گردد.

برای کشت در مقادیر زیاد، دستورالعمل های زیر اجرا می شود:

- **بررسی ونظارت بی عیبی و یکپارچگی سیستم های محدود کننده برای یافتن چکه های جزیی مهم است.**
- **کشت ارگانیسم های زنده باید در محدوده بسته صورت گیرد تا خطر آزادشدن آئروسل ها کاهش یابد.**
- **تجهیزات کار بایستی حاوی دستگاه های حسگر و هشدار دهنده باشد تا امکان بررسی بی عیبی میسر گردد.**
- **تاسیسات باید طوری طراحی شود تا از ورود ارگانیسم های زنده به فاضلاب بهداشتی جلوگیری شود**

اگر گروه تحقیقاتی در مقیاس بزرگ کار کند، باید قبل از شروع کار با مسئول بخش ایمنی در رابطه با کار با مواد بیولوژیک مشورت کند

مفاهیم درایمنی زیستی

نکات خلاصه

نکات خلاصه زیر، پیام های مهمی برای گروه های در معرض خطر و بخش های محدود کننده، دارا می باشد.

تمامی مواد خطرناک زیستی به گروه های خطر 1 تا 4 تقسیم بندی می شوند. شماره گروه بالاتر مرتبط با افزایش ریسک می باشد.

در سطح محدود کننده، باید موارد زیر در نظر گرفته شود

- **تکنیک و تمرین آزمایشگاهی**
- **وسایل ایمنی**
- **طراحی تسهیلات**

4 سطح محدود کننده وجود دارد سه تا از اینها در کارهای فعلی دانشگاه وجود دارداستاندارد های محدوده ها، حداقل استاندارد هایی هستند که باید در تمام آزمایشگاه های لحاظ شوند.

کابینت های ایمنی بیولوژیکیBSC

کابینت های ایمنی بیولوژیکی به کابینت های ایمنی اطلاق می شود که عموما در آزمایشگاه ها به عنوان وسیله محدود کننده مواد آئروسلی استفاده می شود.

تاریخچه:

اولین وسیله محدود کننده مواد بیولوژیکی توسط دانشمند آلمانی، رابرت کخ در اوایل دهه 1900 طراحی و ساخته شد. کار، از طریق دستکش های تعبیه شده در صفحه جلوی کابینت صورت می گرفت و دست ها از طریق آن وارد محدوده می شدند. این دستگاه محدود کننده در حفاظت ایشان هنگام کار با آنتراکس ، توبرکلوزیس، ویبریو کلرا موفق بود.

اوایل قرن 20، گزارشات متعددی از ابتلا محقق به عفونت های اکتسابی در نتیجه دستگاه های ضعیف محدود کننده آئروسل ارائه شد. این وضعیت تا اوایل دهه 1940 بدون تغییر باقی ماند.

به عنوان بخشی از پروژه منهتن، کمپانی دکتر آرتورز، فیلتر HEPA را جهت محدود نگهداشتن آئروسل رادیو اکتیو اختراع کرد که منجر به پیشرفت مهمی در طراحی کابینت ها شد و ذرات ریز عفونی در داخل فیلترهای دستگاه به دام افتادند.

استفاده از کابینت های BSC

دستورالعمل زیادی برای استفاده از هود های ایمنی بیولوژیک BSC وجود دارد. اداره ایمنی زیستیBiosafety توصیه میکند که کار با عوامل زیر، باید در داخل محدوده های در بر گیرنده آئروسل انجام گردد.

- **هر نوع میکرب (باکتری، ویروس، پریون) و رده سلولی اوکاریوتی که در گروه 2 طبقه بندی می شود.**
- **سیستم های دستکاری شده ترانسژنیک دربرگیرنده لنتی ویروس دارای نقص تکثیر، آدنو ویروس و یا سیستمهای وکتور رتروویروس**
- **نمونه های بافتی انسان یا حیوانات وحشی شامل ادرار و یا نمونه های مدفوعی**
- **آلرژن های مرتبط با آزمایشگاه و یا حیوانات وحشی و یا لاشه های آنها**
- **نمونه های گیاهی وحشی که غیر بومی منطقه و یا سویه های ترانسژنیک گیاهی**
- **تکنولوژی نانو ذرات**

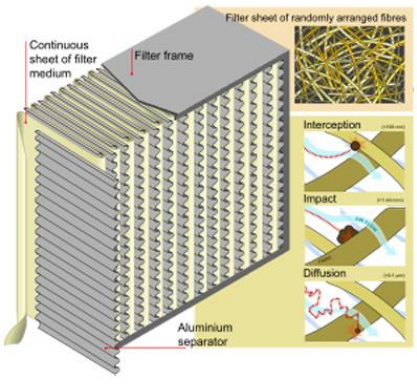
فیلتر های HEPA

فیلترهای هوا با کار آیی بالا برای ذرات ریز(HEPA) برای در بر گرفتن مواد خطرناک زیستی داخل BSC استفاده می شوند. همان طور که در قسمت مقدمه گفته شد، فیلترهای HEPA در دهه ی 1940 اختراع و در دهه 1950 به صورت تجاری درآمدند.

فیلترهای هپا، جز ضروری در طراحی کابینت های BSC می باشند. فیلتر هپا از درهم تنیده شدن تصادفی الیاف فایبرگلاس به شکل V ساخته می شود. قطر الیاف های فوق بین ۵/۰ تا دو میکرون بوده و فضای بین فیبر های بیش از 0.3 میکرون است .

فیلترهای هپا برای ذرات زیر طراحی شده تا آن ها را به دام اندازند.ذرات از طریق 4 مکانیسم به دام می افتند:

- **Interception(در هوا گرفتن) : ذرات موجود در جریان هوا که در شعاع فیبر وارد فیلتر شده و به فیبر می چسبند که مکانیسم اصلی گیر افتادن ذرات می باشد.**
- **Impaction (گیر انداختن):ذرات بزرگتر که برای جریان هوا خیلی سنگین می باشند با برخورد به فیبر ها به آنها می چسبند**
- **Diffusion(پراکنش): ذرات ریز از طریق جریان هوا حرکت کرده و در زمان حرکت به فیلتر برخورد می کنند.**
- **Sieving(غربال کردن): ذرات بزرگتر از فضای بین الیاف به فیلتر می چسبند.**



جداکننده آلومینیمی که در فیلترها هپا وجود دارد که موجب تقویت جریان هوایی شده که به کناره فیلتر وارد می شود. این سیستم، اساس جریان هوای لایه ای را ایجاد میکند.

مکانیسمهای گفته شده در دیاگرام شماتیک فیلتر هپا دیده می شود.

کارآیی فیلتر های هپا

کارآیی فیلتر، با ذرات محبوس شده و گیرافتاده در فیلتر، نسبت به تعداد کل ذراتی که وارد فیلتر می شوند، ارتباط دارد.

فیلتری با 99.97٪ کار آیی، 0.3 میکرون است یعنی 99.97٪ در گیر انداختن ذرات در حساس ترین سایز، 0.3 میکرون موثر می باشد.

این بدان معنا نیست که فیلتر در بدام انداختن ذرات ریزتر یا بزرگتر ناکارآ می باشد در حقیقت سایز 0.3 میکرومتر به عنوان بیشترین سایز نفوذ کننده شناخته شده است(MPPS) . این سایز، سخت ترین اندازه برای جدا کردن از جریان هوا می باشد. در واقع فیلتر در برداشتن ذرات ریزتر و بزرگتر از 0.3 ، بسیار کارآ می باشد.

ویروس های متعددی وجود دارند که کوچکتر از0.3 میکرومتر می باشند. فیلتر های هپا بر علیه این نوع هم موثر می باشند.

- ویروس های با سایز کوچکتر، توسط قطرات آب احاطه شده و ذرات بزرگتر ایجاد می کنند.
- فقط ذرات ویروس منفرد می توانند از فیلتر عبور کنند اگرچه زنده ماندن ویروس تقریبا غیر محتمل می باشد
- کارآیی فیلتر، بسیاری از این ذرات را به دام می اندازد.

فیلترهای هپای داخل کابینت های BSC سالانه توسط مسئولین ایمنی زیستی، آزمایش و در صورت نیاز جایگزین می شوند.

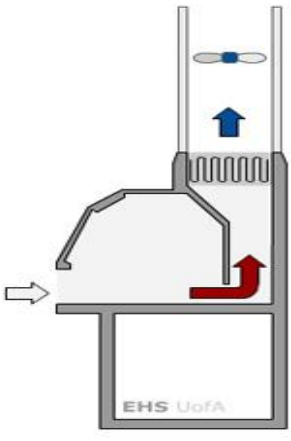
انواع محفظه های محدود کننده ذرات آئروسلی

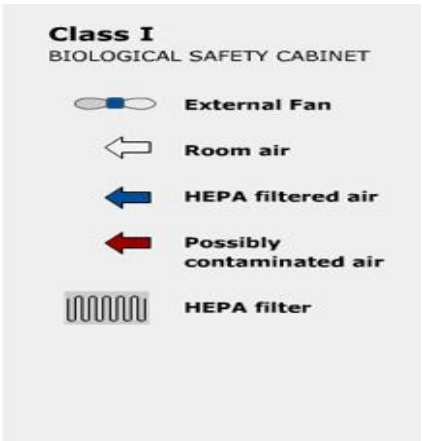
به طور کلی دستگاه های محدود کننده ذرات آئروسلی به سه طریق کار می کنند

✓محافظت کاربر از محصول
✓محافظت محصول از آلودگی
✓محافظت محیط در برابر آلودگی محصول تولید شده

لازم به ذکر است که هود های لامینار میکروبی و میز های تمیز و هود های فیوم(شیمیایی)، دستگاه های محدود کننده مواد زیستی محسوب نشده و در موارد ذکر شده نبایداستفاده گردند.

کابینت های ایمنی بیولوژیک کلاس یک





دیاگرام شماتیک ، الگوی جریان هوا را به داخل کابینت نشان می دهد. این نوع کابینت ها، حفاظتی برای مواد و عواملی که در داخل کابینت با آنها کار می شود، فراهم

نمی آورد به دلیل اینکه هوای کثیف اتاق ، دائما از طریق قسمت باز جلوی کابینت داخل آن می رود.

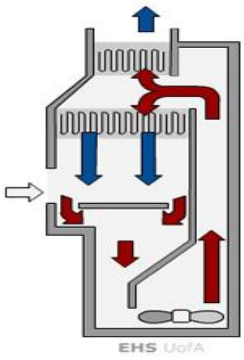
نکات دیگر در مورد این نوع کابینت ها عبارتند از:

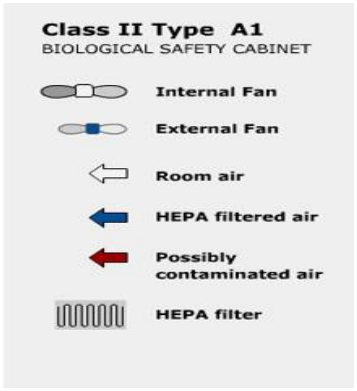
- ✓ **هوا دور از اپراتور در جریان است و 100٪ هوا خارج می شود**
- ✓ **برای کار با رادیو نوکلئوتید ها و مواد شیمیایی توکسیک فرار استفاده می شود(منوط به تنظیمات موقعیت منطقه)**
- ✓ **برای کار با عوامل گروه های خطر 1و 2و 3 مناسب می باشند**

کابینت های ایمنی بیولوژیک کلاس (2):

شایع ترین کابینت های مورد استفاده می باشد. این کابینت ها، اپراتور و مواد و نیز محیط کار داخل هود را در برابر آلودگی های خارجی حفاظت می نماید. محصول، از طریق ایجاد پرده ای از هوا در جلوی کابینت محافظت می گردد.(هوای وارد شده بداخل هود به جای گذر از فضای داخل هود از یک سری منافذ در جلوی هود، به طرف پائین هدایت می شود)

هود کلاس 2 نوع A :دو تیپ از هود های کلاس دوتیپ A وجود داردکه بر اساس فشار مثبت یا منفی اشغال شده طبقه بندی می شوند. Plenum شرایط یا فضایی است که در آن، هوا یا گازهای دیگر را در فشاری متفاوت از فشار اتمسفر می باشنددیاگرام شماتیک هر دو تیپ در پایین دیده می شود





ویژیگی های مشترک هر دو تیپ شامل:

- ✓ **دسترسی در قسمت باز جلوی کابینت**
- ✓ **هپا، جریان هوان عمودی و غیر جهت دار داخل محفظه را فیلتر میکند**
- ✓ **هپا، هوای خارج شده را فیلتر کرده که یا به داخل اتاق و یا به سیستم خروجی می فرستد**
- ✓ **30٪ هوای خارج شده پس از فیلتر شدن به داخل آزمایشگاه بازگردانده می شود و یا با خارج ساختمان راه می یابد.**
- ✓ **70٪ هوا دوباره به داخل کابینت BSC جریان می یابد**
- ✓ **این نوع ها برای کار با رادیو نوکلئوتیدها و مواد شیمیایی سمی قابل تبخیر مناسب نمی باشند**
- ✓ **برای کار با عوامل گروه های 1و2و3 مناسب هست**

کابینت کلاس 2 نوعB2

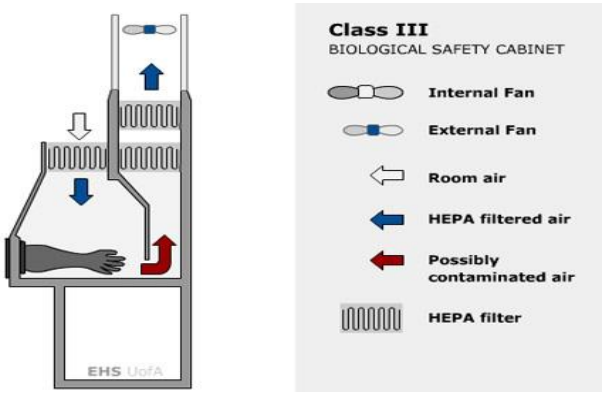
این نوع کابینت، ویژگی های مشترکی با کابینت های تیپ A دارد ولی سیستم خروجی شان متفاوت می باشد

- **کابینت ها به خارج ساختمان تخلیه هوا می شوند**
- **هیچ گونه هوایی پس از فیلتر شدن دوباره به درون کابینت بازگردانده نمی شود.100٪ هوا خارج می شود**
- **برای مواد شیمیایی سمی قابل تبخیر و مواد رادیونوکئوتید قابل تبخیر مناسب است(منوط به تنظیمات موقعیت محل)**
- **برای کار با عوامل گروه خطر 1و2و3و مناسب است**

کابینت های ایمنی بیولوژیک کلاس 3

کابینت های کلاس سه، بالاترین سطح محافظت را برای پرسنل، محیط کار و مواد تأمین می کنند و دارای ویژگی های زیر میباشند

- ✓**کابینت ها کاملا بسته و با گاز محکم شده اند**
- ✓**دسترسی پرسنل به مواد از طریق دستکش های بلند صورت می گیرد**
- ✓**کابینت تحت فشار منفی نگه داشته می شود**
- ✓**هیچ هوایی دوباره به داخل جریان نمی یابد و همه هوا خارج می شود**
- ✓**برای کار با مواد خطرناک زیستی گروه 4 مناسب می باشد**



اساس کار با کابینت های ایمنی بیولوژیک

قبل از شروع کار در زیر محفظه ، چند نکته باید در نظر گرفته شود

کاربر نیاز به پوشیدن تجهیزات محافظتی شخصی دارد (PPE) و باید از تکنیک های کارایمن داخل کابینت مطلع باشد. با رعایت اطلاعات مندرج در این بخش، به پیشگیری از آلودگی وابتلا به عوامل عفونی کمک خواهد شد.

تجهیزات محافظتی شخصیPPE

- **تجهیزات محافظتی شخصی استاندارد باید برای آزمایشگاهCL-2 (سطح محدودیت 2) پوشیده شود.**
- **هنگام کار کردن در داخل BSC، بسیاری از افراد ترجیح داده بجای پوشش آزمایشگاهی کاملا بسته، از روپوش آزمایشگاهی سفت با سر آستین الاستیکی بخصوص هنگام کار کشت سلولی استفاده کنند**
- **اگر روپوش آزمایشگاهی پوشیده شود، بایستی دقت شود که پوست بدن بین روپوش و دستکش بیرون نماند**

نکاتی در مورد جریان هوا

کابینت های ایمنی بیولوژیک (BSC) زمانی به طور صحیح کار می کنند که دیواره (پرده) ای از هوا، کاربر و محصولات را از آلودگی حفظ کند. این جریان دیواره مانند هوایی کاملا شکننده و حساس است و می تواند به آسانی تخریب گردد. کارهای متعدد بایستی انجام شود تا از تخریب جلوگیری بعمل آید.

- **درهم ریختگی و شلوغی در BSC بایستی به حداقل برسد و فقط وسایل ضروری داخل هود نگهداشته شود. هرگز هود به عنوان محل نگهداری و انبار وسایل استفاده نشود.**
- **نباید شبکه های جلو و عقبی ورود و خروج هوا BSC بسته شوند تمام مراحل انجام کار بایستی حداقل 10 سانتی متر با شبکه های جلو و عقب فاصله داشته باشد. به منظور جلوگیری از آلودگی، از حرکات وسایل و دستان در داخل و خارج کابینت اجتناب نمائید**

➢ خارج و داخل کردن وسایل و در کل حرکات آنها، بایستی به حداقل برسد تا مانع آلودگی شود.
➢ استفاده از چراغ بونزن در داخل BSC ممنوع است زیرا شعله، در الگوی جریان هوا تداخل ایجاد کرده و منبع بالقوه آلودگی می شود.
➢ تراکم افراد در مقابل کابینت بایستی به حداقل برسد زیرا جریان هوا با رفت و آمدهای افراد (تراکم) به مخاطره می افتد.
➢ هنگام دستکاری با ظروف درب باز محتوی عوامل عفونی، نباید ساعد و آرنج خود را روی شبکه های هوایی جلوی کابینت قرار داذه و باید بالای این شبکه های نگه داشت. وقتی که درب ظروف حاوی عوامل عفونی بسته شده است کاربر می تواند بازوهای خود را روی شبکه ها قرار دهد.

ضدعفونی کردن یا آلودگی زدایی

رفع آلودگی از تجهیزات و دستکش های، بخش اساسی تکنیک آسپتیک داخل BSC است. بایستی بطری های حاوی ضد عفونی کننده بر علیه مواد خطرناک، موجود باشد. یک بطری حاوی ضد عفونی کننده بیرون کابینت و دیگری داخل BSC باشد.
باید سطح هر چیزی هنگام ورود و خروج از کابینت ضد عفونی گرد. پارچه های کتانی قابل آغشته به ضدعفونی استفاده می شود و بعد استفاده به عنوان پسماند خطرناک زیستی دفع گردند.

راه اندازی BSC

قبل از شروع کار، نکات متعددی باید توجه شوند.
هودهای کشت سلولی توسط گروه های تحقیقاتی متعدد مورد استفاده قرار می گیرد بنابر این، باید برگه هایی جهت امضا و رزرو، موجود بوده و نیز مراحل به ترتیب زیر رعایت گردد:

- ❖ کابینت را روشن کنید و اجازه داده به مدت 5 دقیقه کار کند این عمل برای کارکرد درست دستگاه ضروری است و نبایست هود را روشن و بلافاصله کار را شروع کرد.
- ❖ جریان هوا توسط قراردادن یک تکه کاغذ درقسمت میانی لبه پنجره آزمایش شود و اطمینان حاصل شود که قسمت بالای کاغذ به طرف داخل هود کشیده می شود.
- ❖ فشار استاتیک نمایش داده شده موجود درجلو باید ثبت و در جدول نوشته شود تا تغییرات ناگهانی بررسی شود. تغییرات در حد0/25± باید به مسئول تحقیقات یا مدیر آزمایشگاه گزارش شود
- ❖ سطوح کابینت باید با ضد عفونی کننده مناسب پاک شوند
- ❖ کابینت با مواد و تجهیزات مورد نیاز کار، پر شود. تمامی وسایلی که در کابینت قرار داده میشود بایستی قبل قراردادن، با ضدعفونی کننده مناسب پاک شوند.
- ❖ ظرف پسماند جامدات، شامل بشری می باشد که حاوی کیسه اتوکلاو است و 100 میلی لیتر ضد عفونی کننده دارد

در خلال آزمایش

در حین کار داخل BSC احتیاطات باید صورت گیرد تا خطر آلودگی ها برای نمونه ها و نیز کاربر به حداقل برسد

- تمام مراحل آزمایش باید طوری صورت بگیرد که 10 سانتی متر با شبکه های جلویی و عقبی فاصله داشته باشد
- از حرکت بیش از اندازه داخل کابینت و خارج کابینت باید اجتناب گردد.
- اگر نیاز به اضافه کردن و یا برداشتن وسیله ای در خلال آزمایش باشد بایست سطح هر چیزی هنگام ورود وخروج ضدعفونی گردد.

بعد اتمام آزمایش، همه ظروف حاوی مواد خطرناک زیستی یا باید به محفظه های پسماند های جامد ریخته یا سطح آنها ضدعفونی و از کابینت خارج شوند. پلیت های کشت سلولی و یا دیگر وسایلی که ضدعفونی کردن سطوح آنها مشکل است، بایستی در ظرف پلاستیکی درب دار منتقل شوند.

تمیز کردن BSC

دونکته مهم در مورد تمیز کردن کابینت ها وجود دارد:

- ✓ **ضدعفونی کردن سطوح**
- ✓ **دور انداختن پسماندها**

ضد عفونی کردن سطوح

تمام وسایلی که در طول آزمایش استفاده شده، بایستی سطحشان قبل از خروج از داخل کابینت ضدعفونی شود. بعد از خارج کردن تمامی وسایل، سطح کابینت و دیواره های داخلی با ضد عفونی کننده پاک شوند.

دور انداختن پسماند ها

سطح ظرف حاوی پسماند های جامد ضدعفونی و سپس خارج شود. وسایل تیز استفاده شده، بایستی در ظروف مخصوص وسایل تیز انداخته شوند.

پس از خارج کردن پسماند ها و ضدعفونی کابینت ، فن باید بمدت 5 دقیقه دیگر کار کند تا ازاطمینان حاصل شود که همه ذرات آئروسل پخش شده داخل کابینت خارج می شوند

لامپ های UV

بیشتر کابینت های BSC به نور اولترا ویوله تجهیز می گردند. این لامپ ها قبل و بعد استفاده کردن از کابینت، برای از بین بردن بقایای مواد خطرناک بیولوژیکی به کار می رود.

لامپ های uv، روش ضد عفونی موثری نبوده و استفاده آنها توسط اداره ایمنی زیستی توصیه نمی شود.

در صورت استفاده از لامپ uv ، بایست موارد زیر رعایت گردد

- **هنگام روشن بودن لامپ UV باید فن کابینت خاموش باشد**
- **هیچ پرسنلی در اتاقی که لامپ UV روشن است، حضور نداشته باشد و در صورت عدم امکان، باید پنجره کابینت بسته باشد**
- **لامپ های UV باید به طور منظم با الکل 70 درصد تمیز شوند**
- **لامپ های UV باید به عنوان روش ثانویه عفونت زدایی تلقی شوند و هیچگاه به عنوان روش اولیه برای ضد عفونی نمی باشند**

روش های اولیه ضد عفونی کردن

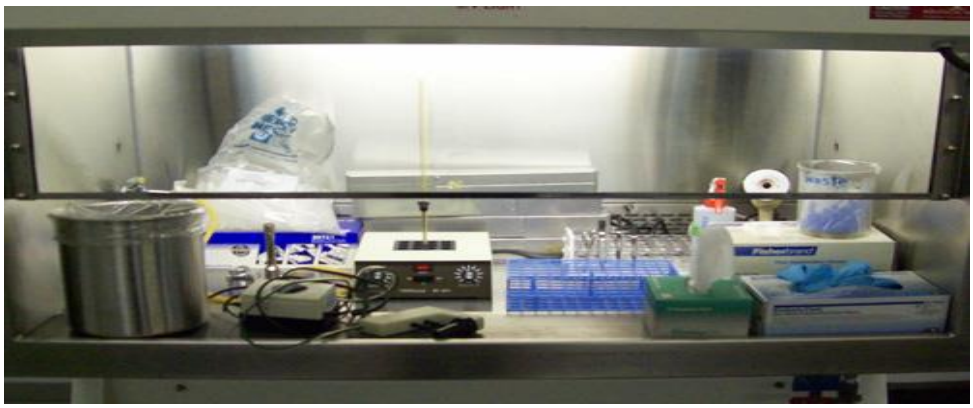
بعضی از کابینت های جدید که به لامپUV مجهز نیستند، در صورت مجهز کردن به لامپ UV ، امکان اختلال در جریان هوای کابینت وجود داشته و عملکرد صحیح کابینت را تحت تاثیر قرار می دهد

BSC : آنچه نباید انجام داد

این بخش بر عملکرد صحیح و نگهداری هود ها متمرکز شده است. این بخش بر روی نباید ها بحث خواهد کرد

پر کردن بیش از حد کابینت

یکی از مشکلات شایع ، پر کردن بیش از حد کابینت ها می باشد.



وجود تجهیزات زیاد و مواد به دلایل زیر مسئله ساز می باشد

✓در صورت نبودن فضای کافی، دستکاری های آزمایشی به سختی انجام می شود

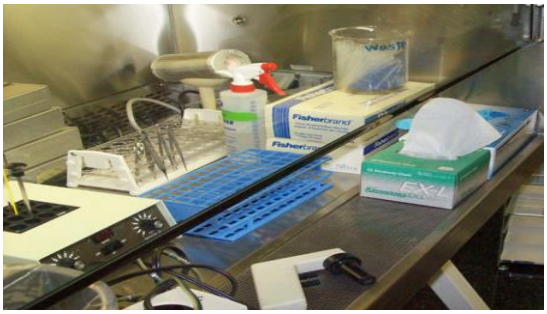
✓در صورتی که تجهیزات و مواد بر روی شبکه های ورود و خروج هوا قرار گیرند، الگوی جریان هوا مختل خواهد شد

بسته شدن شبکه های جلوی کابینت

بسته شدن شبکه های به ویژه شبکه های جلوی کابینت، یکی از منابع رایج آلودگی است. هرگز نباید کاغذ و وسایل شبکه جلو کابینت را مسدود کنند زیرا شدیدا الگوی هوای داحل کابینت را مختل کرده و به طور بالقوه می تواند هم کاربر را و هم محصول داخل کابینت را آلوده کند.

کاربران باید مواظب باشند که بازوهای خود را زمان کار با ظروف حاوی مواد خطر ناک زیستی در روی شبکه ها قرار ندهند

تصویر زیر نشان می دهد که چگونه شبکه های جلوی کابینت پوشیده شده اند.



نگهداری جعبه ها و تجهیزات در قسمت بالای کابینت

در بسیاری از گروه های تحقیقاتی، به علت محدودیت فضای کار و همچنین فضای زیاد مورد نیاز برای فرآورده های کشت سلول، گاها قسمت بالای کابینت بعنوان قفسه نگهداری استفاده می شود که منجر به دو مشکل می شود:

- **بسته شدن فیلتر جلوی کابینت موجب عملکرد نادرست کابینت می شود اگر حفاظ فیلتر وجود نداشته باشد، امکان صدمه به فیلتر خروجی وجود دارد.**
- **وجود جعبه های در بالای کابینت، دسترسی جهت سرویس کردن و یا تست کردن را مشکل می کند. بایست حدود 30 سانتی متری فضا اطراف کابینت باشد تا کارکرد صحیح و نیز دسترسی راحت برای سرویس کردن ایجاد شود.**

تست کردن کابینت های ایمنی بیولوژیکBSC

بخش ایمنی زیستی، سالانه کابینت ها رابر طبق معیار های کارخانه سازنده چک می کند تا از عملکرد صحیح آنها اطمینان حاصل شود و پرسنل آزمایشگاه و محیط پیرامون در معرض مواد خطرناک زیستی قرار نگیرند.

- ✓ **کابینت را از تمام تجهیزات و مواد خالی نمائید**
- ✓ **مطمئن شوید که سطح داخلی کابینت ضدعفونی شده است**
- ✓ **وسایلی از قبیل جعبه ها و تجهیزات نباید در قسمت بالای کابینت انبار شوند**
- ✓ **بایستی حداقل 30 سانتی متر فضا اطراف کابینت باشد تا دسترسی صحیح برای نگهداری و سرویس موجود باشد**

تست های زیر جهت بررسی عملکرد صحیح فن ها و فیلتر ها انجام می شود:

1- نشت فیلتر خروجی هپا تست کنید: با استفاده از دستگاه کمپرسور هوا، کابینت با ذرات آئروسل شیمیایی دی اکتیل فتالات (DOP) پر می شود. سپس فیلتر ها توسط فتومتر اسکن می شوند. هر گونه نشت آئروسل دی اکتیل فتالات تشخیص داده و با استفاده از سیلیکون تعمیر خواهد شد.

2- سرعت هوا را از منبع فیلتر خروجی اندازه بگیرید: سرعت هوا با دستگاه ترماناومتر اندازه گیری می شود تا از قابل قبول بودن محدوده سرعت اطمینان حاصل شود.

3- تست با دیدن دود: این تست بسیار مهمی است و ثابت می کند که هود ایمنی بیولوژیک، نیاز های محدوده را کفاف خواهد داد. در طول آزمایش، هوای آزمایشگاه نباید وارد کابینت گردد و هوای کابینت نباید به آزمایشگاه وارد شود.

4- تست کردن لامپ های UV : اگر کابینت با لامپ UV مجهز شود بایستی از کارکرد صحیح آن اطمینان حاصل شود. هنگامی که تمام تست ها انجام شدند، کابینت صحیح کار کرده و برای استفاده آماده می باشد.

خرابی کابینت یا سئوالاتی در مورد آلودگی

اگر طول آزمایش، کابینت دچار نقص گردید فورا کابینت خاموش گردد. تمامی ظروف در باز حاوی مواد خطرناک زیستی باید بسته شده و سطوح آنها ضدعفونی و از کابینت خارج شوند. تمام تجهیزات و سطوح کابینت باید ضدعفونی گردند و سپس به مسئول اطلاع دهند. همچنین علامتی روی پنجره کابینت زده تا پرسنل بدانند که کابینت خارج از سرویس می باشد.

مدیریت پسماند های خطرناک زیستی

پسماند های خطرناک زیستی متفاوت از پسماند های شیمیایی است چون اغلب عامل های زیستی خطرناک می توانند در محل تحقیقاتی خنثی شوند. واژه ها و تعاریف متعددی در مورد پاکسازی پسماند های خطرناک زیستی وجود دارد که تعاریف زیر مفید می باشند:

آلایش زدایی یا رفع آلودگی Decontamination : مرحله یا تیماری است که سطح مقاوم یا وسیله ایمن را برای کار ایجاد می کند. بر اساس عوامل درگیر، ضدعفونی کردن شامل استریل کردن توسط اتوکلاو تا شستن ساده با آب و صابون باشد. استریلیزاسیون، ضد عفونی کردن و جلوگیری از رشد میکرب های توسط ضد عفونی کننده ها، از اشکال آلودگی زدایی می باشند

استریلیزاسیون Sterilization : با استفاده از روش فیزیکی یا شیمیایی تمام موجودات زنده میکربی را اعم از آندوسپور ها و ذرات پریونی را تخریب می کند.

ضد عفونی کردن Disinfection : روشی که همه اشکال پاتوژن، باکتری های بدون اسپور را از سطوح بی جان کار و تجهیزات حذف می کند .

آنتی سپسیس Antisepsis : بکار بردن مایع شیمیایی برای پوست بدن و بافت های زنده به منظور مهار و ازبین بردن میکروارگانیسم های موجود

در آزمایشگاه، ضد عفونی کردن مواد خطرناک زیستی با یکی از روش های زیر صورت می گیرد:

- **روش های شیمیایی**

- **اتوکلاو کردن**

پسماند های خطرناک زیستی بایست با روش شیمیایی و یا اتوکلاو کردن ضد عفونی شوند .در صورت عدم امکان، تنظیمات استانی(محلی) دستورالعمل های زیر را جهت نگهداری آنها ارائه می دهد:
پسماند هایی که بیش از 24 ساعت نگهداری می شوند، بایستی در 4 درجه قرار داده شوند تا مانع انتشار بوی آن و همچنین از تکثیر عوامل میکروبی جلوگیری بعمل آید. این پسماند ها ممکن است برای مدت 42 روز(6 هفته) در 4 درجه قبل از اینکه دور ریخته شوند، نگهداری گردند.
پسماند های زیستی ممکن است برای مدت 3 ماه نگهداری شوند که در این صورت باید در دمای زیر صفر درجه نگهداری شوند.

ضد عفونی کردن شیمیایی:
انواع متفاوتی از ضد عفونی کننده های شیمیایی وجود دارد. هنگام انتخاب یک ضدعفونی کننده شیمیایی مناسب، سوالات متعددی باید پرسیده شوند:

- **میکروارگانیسم هدف چیست؟**
- **چگونه میکروارگانیسم به حالت معلق در می آید؟(در جامد یا مایع)**
- **بالاترین غظت سلول هایی که ضدعفونی می شوند، چیست؟**
- **آیا تماس موثر با اشیایی که ضدعفونی میشوند نگهداشته می شود؟**
- **آیا مواد شیمیایی، با موادی که ضد عفونی می شوند سازگار می باشند؟**
- **آیا آثار و بقایایی از مواد شیمیایی بر جا خواهد ماند؟**
- **آیا بوی مضر تولید خواهد شد؟ و در صورت تولید، آیا محیط بخوبی تهویه خواهد شد؟**
- **چه خطراتی با ضد عفونی کننده های مرتبط هستند(خورنده، کارسینوژن، قابل اشتعال)**

لیستی از ضد عفونی کننده های معمول، نحوه استفاده و همچنین ارگانیسم هایی که بر علیه آنها موثر هستند را توضیح می دهد. پرسنل باید به اثر ضد عفونی کننده بر ارگانیسم مورد نظر و خطرات مرتبط، آشنا باشند.همچنینMSDSs برای ضد عفونی کننده شیمیایی باید در دسترس تمامی پرسنل آزمایشگاه قرار گیرد.

موثر بودن ضد عفونی کننده های شیمیایی
هنگام انتخاب ضد عفونی کنند، باید از عواملی که قادر به تغییر تاثیر ضد عفونی کننده شیمیایی هستند، مطلع باشیم

- ✓ **زمان تماس**
- ✓ **غلظت ماده شیمیایی**
- ✓ **حضور ماده ارگانیک و کثیفی**
- ✓ **دما**
- ✓ **رطوبت**
- ✓ **غلظت ارگانیسم**
- ✓ **شرایط و ماهیت سطحی که ضدعفونی خواهد شد**

همه متغیر ها، قبل از آغاز پروسه ضد عفونی کردن باید در نظر گرفته تا ضد عفونی کردن موثر صورت گیرد.

همه افراد استفاده کننده از ضد عفونی کننده های شیمیایی باید PPE مناسب بپوشند که شامل کفش های جلوبسته، روپوش آزمایشگاهی، شلوار بسیار بلند و دستکش و یک صفحه شیشه محافظ چشم و یا عینک های محافظتی میباشند

پرسنل باید مطمئن شوند که در محیط کاز، هوا بخوبی تهویه شود. جدول زیر خواص ضد عفونی کننده های معمول شیمیایی را نشان می دهد

خواص ضد عفونی کننده های معمول شیمیایی

ضد عفونی کننده	غلظت فعال	زمان تماس(دقیقه)	موثر بر عوامل					اهمیت: ویژگی، ایمنی، احتیاطات	کاربرد بالقوهَ
			باکتری های متحرک	ویروس های لیپوفیل	توبر کول	ویروس های هیدرو فیل	اسپور های باکتریایی		
الکل (اتانول، ایزوپروپانل)	70–85٪	10–30	+	+	+	±		سمی، قابل اشتعال، محرک چشم، توسط ماده آلی غیر فعال می شود	برای سطوح کار و وسایل، نگهداری ایمن سطوح کابینت
کلرین (سفید کننده، پرسپت)	5–10٪	10–30	+	+	+	+	±	خورنده، محرک چشم پوست و دستگاه تنفسی، توسط ماده آلی غیر فعای میشود به دلیل تخریب، نیاز به تهیه تازه است	برای سطوح تجهیزات، دستگاه های و وسایل شیشه های و حمام آب
فنولیک ها(دتول، لیزول)	0.2–3٪	10–30	+	+	+	±		ماندن بقایا، خورنده، محرک جسم پوست و دستگاه تنفسی، سمی، با مواد آلی غیر فعال می شود	کار و تجهیزات، وسایل ، حمام آب و لوازم شیشه ای
ترکیبات یدوفور(وسکودین)	0.47٪	10–30	+	+	+	±		ماندن بقایا، خورند، پوست و چشم،توسط مواد آلی غیر فعال می شود	کار و سطوح تجهیزات ، هود های ایمنی، وسایل شیشه ای، حمام آب
ترکیبات آمونیوم چهارظرفیتی(روکال)	0.1–2٪	10–30	+	+				سمی، توسط مواد آلی غیر فعال می شود	کار و سطوح تجهیزات، کابینت های ایمنی، نگهداری کف، وسایل شیشه ای، دستگاه ها
فرم آلدئید(فرمالین)	4–8٪	10–30	+	+	+	+	±	ماندن بقایا، محرک پوست ، چشم و دستگاه تنفسی،	سطوح تجهیزات، وسایل شیشه ای ،

								سمی و کارسینوژن	دستگاه ها
گلوتارآلدئید	٪2	60	+	+	+	+	+	ماندن بقایا، محرک پوست، چشم و دستگاه تنفسی، سمی	سطوح تجهیزات، وسایل شیشه ای ، دستگاه ها

اتوکلاو

اتوکلاو، وسیله ای برای استریل کردن و آلودگی زدایی مواد بیولوژیک خطرناک و یا موادی که درمعرض مواد خطرناک زیستی قرارگرفته اند است و به صورت روتین برای استریل کردن وسایل آزمایشگاه، محلولها و محیط کشت استفاده می شود. برای این که اتوکلاو به درستی کارکند و خطر آسیب برای پرسنل در محیط کار به حداقل برسد، دستورالعمل های زیر توصیه می گردد.

تمرینات و خطرات اتوکلاو

اتوکلاو تحت فشار بسیار بالا(تا Psi20)و دمای بسیار بالای 121(تا 134 درجه)کار میکند. به دلیل فشار و دمای زیاد، خطرات و آسیب های زیر، از موارد مهم هستند:

- **سوختگی ناشی از تماس با محفظه اتوکلاو، درب ، جا لوله و مواد اتوکلاو شده**
- **سوختگی ناشی از بخار مایعات اتوکلاو شده یا بخاری که از داخل اتوکلاو نشت می کند.**
- **سوختگی ناشی مواد اتوکلاو شده یا تغلیظ بقایا و پاشیده شدن آنها به پوست در معرض**
- **سوختگی بدنی ناشی از انفجار محفظه بسته شده و یا مجرا، به دلیل افزایش فشار داخلی در طول پروسه کار اتوکلاو**

پرسنل، بایست کارکردن با اتوکلاو همچنین سیکل های استریل کردن صحیح مواد و یا پس مانده های موادرا یاد بگیرند.

بعضی از مواد را نمی توان اتوکلاو کرد مانند مایعات قابل احتراق و قابل اشتعال، محلول ها و مواد شیمیایی فرار و زنگ زننده که توانایی تولید گازهای قابل اشتعال را تحت دما و فشار بالای اتوکلاو دارا می باشند مانند فنل ، کلروفرم، اتانول، و سفید کننده ها می باشند. مواد رادیو اکتیو هم تحت هیچ شرایطی نباید اتوکلاو شوند

کارکرد اتوکلاو

بررسی اتوکلاو

باید بررسی روزانه جهت کنترل اتوکلاوها قبل از شروع کار صورت گیرد، بررسی باید شامل دیدن مستقیم سیستم تحویل بخار اتوکلاو و مجرای فشار آن می باشد تا اطمینان از ایمنی اتوکلاو حاصل شود.

در صورت ایجاد مشکل، کاربران باید با مسئول تحقیقات و یا دپارتمان ایمنی تماس گرفته تا توصیه های لازم را بکند. اتوکلاوی که به طور صحیح کار نکند تا زمان تعمیر آن، نباید استفاده گردد و نیز علامتی روی درب اتوکلاو چسبانده شود تا نشان دهد که خارج از سرویس است.

آماده سازی مواد: دستورالعمل های زیر برای اتوکلاو کردن مواد باید رعایت شود .

- **فقط از کیسه های شفاف اتوکلاو استفاده شود. کیسه نارنجی اتوکلاو و یا کیسه ای که برچسب مواد خطرناک زیستی را دارد برای اتوکلاو کردن مواد استفاده نشود. اتوکلاو کردن، عوامل بیولوژیک خطرناک را نابود کرده و شرایط دفع آن ها را در زباله های معمولی ایجاد میکند. بعد از اتوکلاو کردن، برچسب هشدار مواد خطرناک زیستی باید برداشته و یا معیوب شود.**
- **موادی که اتو کلاو می شوند(مثل کیسه های که شل بسته، ظروف پوشیده شده پسماند مایعات ، محفظه های وسایل تیز) باید در سینی بزرگی که گنجایش همه محتویات را دارد، گذاشته شوند.**

- **مواد بایستی به طور کم تراکم در داخل کیسه قرار گیرند و نباید بیش از حد درون کیسه قرار داده شوند.**
- **حجم مایعات نباید بیش از 2000 میلی لیتر به ازای هر محفظه باشد و 2/3 محفظه پر شده باشد تا از سر رفتن مایع در زمان جوشیدن در داخل اتوکلاو جلوگیری شود. شیشه های معمولی، توانایی تحمل تغییر دمای اتوکلاو را ندارند و در حین اتوکلاو شدن می شکنند. پلاستیک های که قابل اتو کلاو کردن نیستند ممکن است در طول پروسه، ذوب شوند. فقط از وسایل شیشه ای و پلاستیکی قابل اتوکلاو کردن برای اتوکلاو کردن مایعات استفاده می شوند.**
- **باید قبل از اتوکلاو کردن، درب و یا پوشش محفظه های مایع(بطری)، شل شود در غیر این صورت در حین اتوکلاو، فشار داخل محفظه افزایش یافته و باعث انفجار می گردد.**
- **همه کیسه های اتو کلاو باید قبل از اتوکلاو باز شده تا بخار به محتویات داخل کیسه برسد. گاهی اوقات، آب به کیسه های حاوی مواد خشک اضافه می شود تا بخار تولید شود.**
- **باید چسب اتوکلاو بر روی هر کیسه یا وسیله ای که قرار است درون اتوکلاو قرار گیرد، چسبانده شود.**

پر کردن اتوکلاو

نبایست اتوکلاو با مواد و وسایل بیش از حد پر شود چون در صورت تراکم، از نفوذ بخار جلوگیری شده و کار آیی اتو کلاو را به خطر می اندازند.

- **وسایل محافظتی مناسب باید برای کار با اتوکلاو پوشیده شود که شامل دستکش های عایق حرارتی، کفش های جلو بسته، عینک محافظ، شلوار بسیار بلند و پوشش آزمایشگاهی دگمه دار می باشد.**
- **همه سینه ها را در سبد اتوکلاو قرار داده و درب اتوکلاو را بسته و اطمینان حاصل شود که کاملا چفت شده باشد.**
- **شروع شدن سیکل: هنگام شروع سیکل، بهتر است که اتوکلاو را دیده و مطمئن شویم که به دما و فشار صحیح رسیده باشد. هنگامی که زمان استریل شدن شروع شد ، اپراتور می تواند اتاق اتوکلاو را ترک کند.**

تصویراتوکلاو بسیار پر شده را نشان می دهد. سینی زیر کیسه ها، کوچکتر از آن است که بتواند محتویات ریخته شده اتوکلاو را جای دهد.

خالی کردن اتوکلاو

زمان خارج کردن مواد و وسایل ازداخل اتو کلاو، باید احتیاطاتی در خصوص بخارات باقی مانده اتوکلاو صورت گیرد. محتویات اتوکلاو، تحت فشار و دمای بالایی می باشند. بهتر است بعد از اتمام سیکل اتوکلاو، هنگام باز کردن درب آن، پشت درب اتوکلاو ایستاده شود. همچنین موارد زیر باید رعایت گردد:

- **قبل باز کردن درب اتوکلاو، وسایل محافظتی شخصی مناسب پوشیده شود**
- **قبل از باز کردن درب اتوکلاو، فشار داخل محفظه بایستی به صفر برسد**
- **در ابتدا، درب اتوکلاو بیشتر از 2 سانتی متر باز نشود تا بخارات باقیمانده خارج شوند و فشار داخل مایعات و محتویات به حد نرمال برسد.**

- **قبل از باز کردن کامل درب اتوکلاو، بایستی مواد استریل شده به مدت ده دقیقه داخل سبد اتوکلاو بماند**
- **بعد از برداشتن وسایل داخل اتوکلاو، علامت نشان دهنده "احتیاط داغ است" زده شود یا وسایل در محدوده ای که برای وسایل گرم اختصاص داده شده، قرار داده شود**
- **قبل از انتقال محتویات اتوکلاو، اجازه دهید که محتویات اتوکلاو به دمای اتاق برسد.**

انتخاب سیکل اتوکلاو

اکثر اتوکلاو ها، سیکل های از پیش تنظیم شده دارند که می تواند به سرعت و بدون نیاز به تنظیم شروع به کار کنند. جدول زیرین پارامتر های سیکل های رایج و زمان آن ها را توضیح می دهد.

سیکل	زمان مورد نیاز استریلیزاسیون	توضیحات
مایع	15 تا 30دقیقه در دمای 121 درجه	زمان استریل کردن به نوع محیط کشت/ مایع که اتوکلاو خواهد شد بستگی دارد.مراجعه به پروسه های استاندارد
خشک/سنگینی	15-30 در دمای 121 درجه استریل شود/15-30 دقیقه سیکل خشک کردن	این سیکل برای اتوکلاو کردن وسایل آزمایشگاهی مانند سر سمپلر و شیشه های خالی استفاده می شود. مراجعه به پروسه های استاندارد
پسماند های بیولوژیکی(به حالت مایع)	60 دقیقه در دمای 121 درجه	برای بقایای باکتریایی غیر اسپور دارو ویروس مناسب می باشد
پسماند های بیولوژیکی: حاوی پسماند های حاوی باکتری های اسپوردار	120 دقیقه در دمای 121 درجه	زمان طولانی استریل کردن برای استریل کردن کامل همه اسپور ها نیاز است

کنترل کیفی اتوکلاو

بایستی از عملکرد صحیح اتوکلاو اطمینان حاصل شود اگر اتوکلاو، محیط کشت را به طور صحیح استریل نکند، آزمایشات بعدی آلوده و بخطر خواهند افتاد. همچنین، اگر پسماند ها به طور صحیح اتوکلاو نشوند، خطرات جدی برای پرسنل حمل کننده زباله ها و نیز محیط زیست خواهد داشت. بنابراین ، کنترل کیفی اتوکلاو باید پیگیری گردد.

نوار چسب های اتوکلاو، دارای طرح هایی می باشد که با قرار گرفتن در شرایط استریلیزاسیون حرارتی اتوکلاو به مدت چند دقیقه، تغییر رنگ می دهند. بر روی تمام موادی که درون اتوکلاو گذاشته می شود، باید اندیکاتور های نوار چسبی

چسبانده شده تا نشان دهد که همه مواد بخوبی تحت اتوکلاو قرار گرفته اند. لازم به ذکر است که چسب های اتوکلاو فقط نشان دهنده رسیدن به دمای صحیح اتوکلاو می باشند و در واقع ثابت نمی کند که ارگانیسم ها کشته شده اند.

اندیکاتور های بیولوژیکی: برای اطمینان از استریلیزاسیون کاملا موثر اتوکلاو، توصیه می شود به طور ماهانه از اندیکاتور های بیولوژیکی استفاده شود. اندیکاتورها، حاوی اسپور های باسیلوس استئاروترموفیلوس می باشند که یا در نوار و یا در ویال می باشند.

هنگام استفاده از اندیکاتور ها،کاربر از دستورالعمل تولید کنندگان و نیز روش استفاده و چگونگی نگهداری نتایج مطلع باشد

برای کنترل کیفی صحیح اتوکلاو، دستورالعمل های زیر باید اجرا گردد.

- **یک ویال اندیکاتور را برداشته و روی آن برچسب زده و تاریخ اتوکلاو کردن روی آن نوشته شود**
- **ویال را به قسمت انتهای پی پت 10 میلی لیتر چسبانده و آن را دقیقا در مرکز متراکم ترین کیسه پسماند های بیولوژیکی قرار داده شود.یک طرف پی پت را با نخ رنگ روشن گره زده و طرف دیگر نخ را به سبد اتوکلاو گره زده شود تا بعدد از اتوکلاو، برداشتن راحت باشد.**
- **سبد را داخل اتوکلاو قرار داده و درب آن را ببندید و سیکل را شروع کنید**
- **بعد اتمام، درب اتوکلاو را باز و وسایل را خارج نمائید. اجازه داده تا مواد و وسایل اتوکلاو شده به دمای اتاق برسد.**
- **دستکش پوشیده شود و گره نخ پی پت را از سبد اتوکلاو باز کرده و پی پت را با اندیکاتور چسبیده به آن را از اتوکلاو خارج نمائید. سپس اندیکاتور را از پی پت جدا نمائید.**
- **با پارچه خیسانده در سفید کننده 10 درصد، اطراف ویال اندیکاتور را بپوشانید تا 5 دقیقه به همین حالت بماند. همچنین سطح دستکش را با سفید کننده 10 درصد استریل نمائید.**
- **بعد از 5 دقیقه، ویال اندیکاتور را از پارچه آغشته به سفید کننده خارج و دستورالعمل تولید کننده برای تغییر رنگ آن، بررسی نمائید.**
- **لازم به ذکر است که بایستی ویال کنترل مثبتی که اتوکلاو نشده است، در آزمایشگاه موجود باشد تا با ویال اتوکلاو شده مقایسه شود**
- **اندیکاتور بعد از 24 و 48 ساعت انکوبه کردن باید کنترل و چک شود**
- **نتایج آزمایشات باید در فرم های کنترل کیفی اتوکلاو یادداشت شود و حداقل به مدت 3 سال نگهداری شود.**

نتیجه تستی که نشان دهنده عملکرد نادرست دستگاه می باشد بایستی به مسئول اصلی دپارتمان گزارش شود.

حوادث کار با اتوکلاو

علیرغم بسیاری از احتیاطات ایمنی، همچنان حوادثی در مورد استفاده ی اتوکلاو وجود دارد. این بخش دو حادثه در مورد کار با اتوکلاو را نشان میدهد.

حادثه اول: انفجار اتوکلاو در موسسه ای در آمریکا در وب سایت موسسه بهداشت صنعتی آمریکا توصیف شده است. این انفجار، بسیار وحشتناک بود که با ترکیدن درب اتوکلاو نوع 801b ، مواد بیولوژیک خطرناک در همه ی فضای اتاق اتوکلاو پخش شد. خسارت وارده در عکس دیده می شود.

خوشبختانه زمان انفجار، هیچ پرسنلی در اتاق نبود. در واقع، خطر اصلی، مواد بیولوژیک خطرناکی بود که به فضای بزرگی پخش شده بود. پتانسیل آلودگی ایجاد شده، با طراحی دقیق اتاق اتوکلاو کاهش یافت چرا که اتاق کار اتوکلاو به طور تخصصی برای سیستم خروج مهندسی شده بود و از آلودگی داخلی ساختمان جلوگیری کرد.

پیام

اگر چه علت انفجار روشن نشد اما نکات مهمی باید در نظر گرفته شود

- **کنترل های مهندسی اتاق بسیار مهم می باشد و خسارت های ناشی از انفجار اتوکلاو درصورت مهندسی سیستم خروجی اتاق اتوکلاو به حداقل می رسد**
- **نگهداری منظم و دقیق اتوکلاو ضروری می باشد و همه اتوکلاو ها باید به طور مرتب بررسی و در صورت نیاز تعمیر شده ونباید به تعویق افتد**

حادثه 2:

این حادثه در سال 1995 در بیمارستانی در استرالیا اتفاق افتاد. زمانی که اتوکلاو تحت فشار بالا بود، درب آن باز شد و منجربه آسیب های جدی چون آسیب شنوایی، ضربه مغزی و سوختگی های ناشی از بخار شد. این گونه حوادث نباید اتفاق می افتاد چرا که اکثر اتوکلاو ها به سیستم های ایمنی برای جلوگیری از باز شدن درب اتوکلاو در حین کار و تحت فشار بالا مجهز می باشند. مشخص شد که قسمت قفل درب اتوکلاو به دلیل عدم رسیدگی و همچنین استفاده ناصحیح از آن، جدا شده بود.

بایستی به دو نکته توجه شود:

- **آموزش اپراتور ضروری می باشد و باید بداند که چه زمانی می تواند درب اتوکلاو را باز کند و نیز فشار را کنترل کند(قبل از اینکه به طور دستی درب آن را باز شود)**
- **نگهداری منظم اتوکلاو نباید نادیده انگاشته شود. اگر اتوکلاو مذکور که نسبت به عملکردش شکی وجود داشت به طور منظم سرویس می شد، خرابی قفل داخلی آن مشخص و تعمیر می گشت**

اتفاقات گفته شده خطرات اتوکلاو را نشان میدهد و چرا باید توصیه های ایمنی در در هنگام کار با اتوکلاو بایستی درمحل کار باید وجود داشته باشد.

بسته بندی اولیه

– همه پسماندهای جامدی که اتوکلاو خواهند شد باید در کیسه های پلاستیکی شفاف سایز مناسب بسته بندی شده و نبایست بیش از نصف ظرفیتشان پرگردد و با گره زدن و نوار چسب بسته بندی شوند .همچنین مواد داخل کیسه های اتوکلاو باید بصورت شل گذاشته شوند زیرادر صورت متراکم بودن، بخار اتوکلاو به داخل نفوذ نکرده ومانع از عملکرد صحیح اتوکلاو می گردد.

– همه پسماند های مایع که اتو کلاو خواهند شد بایست درتنگ های دهان گشاد سفالی یا شیشه ای جمع آوری گردند. نباید بیش از 3/4ظرفیتشان ظروف پر گردند.

– تجهیزات قابل استفاده مجدد که نیاز به استریلیزاسیون دارند(مانند قیچی های جراحی، گلوله های شیشه ای، اسکاپل ،قیف ها وغیره) باید در کیسه های پلاستیکی اتوکلاو در سایز مناسب بسته بندی شوند یا در ظروفی که ازمواد ضدعفونی کننده پر شده اند غوطه ور شوند (نباید بیشتر از3/4ظرفیتشان پر شوند).

–پی پت های پلاستیکی باید از پی پت های شیشه ای جدا شده ودر تنگ های دهان گشاد قرار داده شوند(پی پت های شیشه ای ومواد با لبه های تیزمثل آیتم قبلی عمل شوند). پی پت های پلاستیکی نباید درکیسه های اتوکلاو بسته بندی شوند چون ممکن است سوراخ کرده و مواد داخلشان به بیرون نشت کند و موجب آسیب شخص طی حمل آن شود.

– لام های میکروسکوپ وپی پت های پاستور شیشه ای باید در ظروفی که برای وسایل تیز مناسبند بسته بندی شوند.

–بطری های شیشه ای به بسته بندی اولیه(مقدماتی) نیاز ندارند اما اگر محتوی مایع باشند نباید بیش از3/4 ظرفیتشان پر شوند.

همه تجهیزات شیشه ای نیز مانند تجهیزات قابل استفاده مجدد؛ بسته بندی شوند.

بسته بندی ثانویه

– پس از اینکه مواد در بسته بندی اولیه قرار گرفتند آنهارا باید در ظروف پلاستیکی سخت درب دار مانند Sterilite bin قرار داده شوند.

– روی ظروف پلاستیکی سخت باید، برچسب نام گروه تحقیقاتی وشماره تلفن آزمایشگاه چسبانده شود.

–به محض اینکه ظروف پلاستیکی سخت پر شدند وکامل بسته شدند، بیرون ظروف بایستی باید با مواد ضد عفونی کننده مناسب اسپری شود.

انتقال

– ظروف پلاستیکی پر شده از مواد وتجهیزات باید با یک میز چرخدار به اتاق مرکزی اتوکلاو انتقال داده شوندو از حمل دستی ظروف خودداری شود.

– اشخاصی که مواد را انتقال می دهند باید بطورمستقیم از آزمایشگاهشان به ساختمان اتوکلاو مرکزی هدایت شوند واز مسیرشان منحرف نشوند (مثل استفاده از دست شویی، مصرف غذا ونوشیدنی).

– اگر انتقال بین طبقات ضروری باشد، پرسنل باید از سرویس باربری یا آسانسور استفاده کنند.

–به محض ورود به ساختمان اتوکلاو مرکزی ، پرسنل باید طبق دستور کارکنان مرکز، برای ذخیره وتخلیه مواد برای اتوکلاو شدن، پیروی کنند.

–اگر نشتی ازظروف ثانویه(بسته بندی ثانویه) درهنگام عبور از راهروها و آسانسور و یا دراتاق اتوکلاو مشخص شود، مسئولیت تمیز کردن نشت، با گروه تحقیقاتی تولید کننده آن است.

–برای از بین بردن ریسک آلودگی باید از یک ضد عفونی کننده مناسب استفاده شود.

– به محض اینکه ظروف با بسته بندی ثانویه به آزمایشگاه بر می گردند قبل از استفاده مجدد آن، سطح داخلشان با یک ضد عفونی کننده مناسب اسپری شود.

مدیریت خطرات زیستی زباله: نکات خلاصه

– همه گروههای تحقیقاتی مسئولیت از بین بردن صحیح پسماند های خطرات زیستی که تولید کرده اند را به عهده دارند.

آلودگی زدایی به طریق شیمیایی و اتوکلاو کردن، دو روش اصلی برای خنثی کردن پسماند های خطرناک زیستی می باشند.

– اتوکلاو ها توانایی ایجاد خطرات قابل توجهی را دارا می باشند: همه استفاده کنندگان، قبل از کار با اتوکلاو، بایست آموزش های مناسب را دریافت کرده باشند.

– کنترل کیفی باید بطور منظم روی همه اتوکلاوها انجام شود.کنترل کیفی توسط زدن نوار چسب روی وسایلی که اتوکلاو خواهند شد و همچنین استفاده ازویال های اندیکاتور بیولوژیکی بصورت ماهانه صورت می گیرد.

– پرسنلی که ازامکانات اتوکلاو مرکزی استفاده می کنند باید مطمئن باشند که مواد بطور مناسب بسته بندی شده اند.

کارهای حیوانی و زئونوز ها

– گاهی کارکردن بر روی حیوان، بخش عمده ای از پروسه تحقیقاتی است. خطرات منحصر به فردی در رابطه با کار با حیوانات وجود دارد که در دو قسمت بحث خواهد شد:

– زئونوز ها

– آلرژن ها

مانند هر آزمایش، هنگام کار با حیوانات، باید خطرات بصورت مناسب ارزیابی شوند.

ارزیابی خطرات باید شامل همه پروتکل ها واستاندارد هائی باشد که توسط سرویس های حیوانی در دانشگاه تنظیم می شود.

زئونوز ها، بعنوان "بیماری های قابل انتقال از حیوانات به انسانها در شرایط عادی" تعریف می شوند.

سه نوع مخزن برای این نوع عفونت ها وجود دارد:

✓حیوانات وحشی

✓حیوانات خانگی واهلی

✓حیوانات آزمایشگاهی

ریسک اکتساب بیماری زئونوزی برای افرادی همچون گروه های تحقیقاتی، که با حیوانات وحشی کارمی کند، بالاترین حالت است.

ریسک مبتلا شدن به بیماری از حیوانات آزمایشگاهی به دلایل زیر خیلی پایین است:

– بیشتر حیوانات آزمایشگاهی از ارائه دهندگان تجاری معتبر خریداری می شوند و از نظر سلامتی قبل از فروش چک شده اند.

– دامپزشکان دانشگاه وکارمندان آزمایشگاه حیوانی، سلامتی و ایمنی حیوانات آزمایشگاهی را بررسی می کنند.

پرسنلی که باحیوانات آزمایشگاهی کار می کنند باید نسبت به پتانسیل سرایت عفونت های زئونوزی ازحیواناتی که با آنها کار میکنند، آگاه باشند.

راه های انتقال

راه های متعددی برای انتقال بیماری های زئونوزی به انسان وجود دارد. بیشتر حیوانات، حاملین بدون علامت برای انتقال میکرو ارگانیسم های پاتوژن به افراد می باشند.

شایع ترین روش های انتقال بیماریهای زئونوزی عبارتند از:

– آئروسل (استنشاق ارگانیسم ها)

– بلع (بلعیدن ارگانیسم ها)

– جذب از طریق پوست بازیا غشاء مخاطی

– تزریق (حوادث در فرایند تحقیق)

با رعایت موارد زیر، ریسک در معرض قرار گیری در برابرعوامل زئونوزی کاهش می یابد:

-PPE مناسب

- استفاده مناسب از تجهیزات (BSCs)

- تمرینات تجربی مناسب

پرسنل باید ازهمه استاندارد ها وپروتکل هائی که توسط سرویس های آزمایشگاه حیوانی دانشگاه تنظیم شده پیروی کنند.

یکی از شایع ترین خطرات مرتبط با کار با حیوانات، ایجاد آلرژی نسبت به حیوانات آزمایشگاهی است و به عنوان آلرژیهای نسبت به حیوانات آزمایشگاهی (LAA) شناخته شده اند.

سایتCCAC گزارش می دهد که 44٪ افرادی که با حیوانات آزمایشگاهی کار می کنند حداقل به یکی ازانواع آلرژی ها دچار می شوند. در بیشتر مواقع آلرژی ها در سه سال اول در معرض قرار گیری ظاهر می شوند.

ریسک ایجاد آلرژی ها را می توان توسط روشهای زیر کاهش داد:

- ✓ **شناختن ریسک فاکتورهای ایجاد آلرژی ها**
- ✓ **استفاده از کنترل های مناسب برای به حد اقل رساندن ریسک فاکتورها**

در دانشگاه چندین مرکز نگهداری حیوانات دارد و پرسنلی هستند که به طور مستقیم با حیوانات کار نمی کنند این اشخاص باید از پتانسیل تولید آلرژن آگاه باشند واحتیاطات مناسب را برای جلوگیری از افزایش LAA انجام دهند.

علائم LAA

واکنش های آلرژیک درافراد مختلف به شکل های متنوع بروز می کند. بروز علائم به محل قرار گیری در معرض، بستگی دارد.

- ➢ **دستگاه تنفس فوقانی: شایع ترین نشانه های LAA می باشد و شامل خارش و ریزش اشک، آبریزش بینی، عطسه کردن.**
- ➢ **دستگاه تنفس تحتانی: این نشانه ها کمتر شایع بوده و شامل تنفس کوتاه (ناشی از انقباض برونش ها) و تولید موکوس در راههای هوائی می باشد که می تواند منجر به آسم انسدادی که یک بیماری جدی است، بشود.**
- ➢ **واکنش های پوستی: افراد زیادی به محض تماس پوستی با حیوانات واکنش پوستی از خود نشان می دهند.**
- ➢ **-آنافیلاکسی: واکنش شدید وتهدید کننده زندگی است که خوشبختانه به ندرت اتفاق می افتد و نیاز به درمان فوری واورژانسی دارد.**

ریسک فاکتورها ایجاد LAA

اگرچه ایجادLAA کاملا قابل پیش بینی نیست، اما ریسک فاکتورهایی وجود دارند که احتمال ایجاد آلرژی را افزایش می دهند، این ریسک فاکتور ها عبارتند از:

- ✓ **زمینه خانوادگی به ایجاد حساسیت**
- ✓ **سیگار کشیدن**
- ✓ **جنسیت**
- ✓ **شدت در معرض قرار گیری**

کاهش در معرض قرارگیری به آلرژن ها

قرار گرفتن در معرض آلرژن ها توسط موارد زیر کاهش می یابد:

- **-PPE: استفاده ازPPE مناسب شامل دستکش ها، ماسک های ویژه ومحافظ چشم، قرار گرفتن درمعرض آلرژن ها را به طور قابل توجه کاهش می دهد.همچنین بایست تمامی پرسنل، بهداشت شخصی (مثل شستن دست ها) را به خوبی رعایت کنند.**
- **پاکیزگی: حفظ و نگهداری پاکیزگی وبهداشت در سطح بالا در مناطق نگهداری حیوانات، تعداد آلرژن های موجود را کاهش می دهد.**

- **مکان حیوانات: تهویه مناسب محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی به کاهش آلرژن کمک خواهد کرد. همچنین استفاده ازهود های مناسب در دستکاری حیوانات وتغییر قفس، به کاهش ذرات آئروسل کمک خواهد کرد.**
- **همه کارهای حیوانی در دانشگاه باید توسط یکی از کمیسیون های استفاده حیوانی تایید شود.**
- **زئونوزها وآلرژن ها دو خطرعمده مربوط به کار با حیوانات است.**
- **با استفاده از PPE مناسب وپیروی از پروتوکل های ایمنی می توان از بیماریهای زئونوزی پیشگیری کرد.**
- **توسط روشهای زیرمی توان از ایجاد آلرژی نسبت به حیوانات جلوگیری کرد:**

- استفاده از مناسبPPE

- سطح بالائی ازپاکیزگی

- تهویه مناسب محل زندگی حیوان

کشت سلولی (Cell line)

– دودمان های سلولی(Cell line) که بعنوان کشت سلولی یا کشت بافتی شناخته میشوند در بسیاری ازآزمایشگاههای تحقیقاتی دانشگاهها استفاده می شوند.استفاده ازسل لاین ها در آزمایشگاههای تحقیقاتی مستلزم این است که پرسنل استفاده کننده، از خطرات آن آگاه باشند. سل لاین ها بطور ذاتی خطرناک نیستند بلکه پتانسیل آلودگی به ارگانیسم های پاتوژن را دارا می باشند. سل لاین های می توانند با ارگانیسم های زیرآلوده شوند:

- ✓ **باکتری ها**
- ✓ **قارچ ها**
- ✓ **ویروس ها**
- ✓ **پریون ها**
- ✓ **مایکوپلاسما ها**

سل لاین ها به دو دسته نوترکیب و غیر نوترکیب طبقه بندی می شوند.

سل لاین های غیر نوترکیب: بعنوان دودمانهای سلولی اولیه شناخته شده و از سلولها یا بافت هایی که به طور مستقیم از انسان یا حیوان گرفته شده، تهیه می گردند.

سل لاین های نوترکیب: بعنوان دودمانهای سلولی تغییر کرده، دائمی ونامیرا شناخته میشوند.اینها سلولهایی هستند که از کشت های بعدی (ساب کالچر) بافت یا سلولهای اصلی بدست آمده اند. به منظور رشد دائمی سل لاین ها، خصوصیات رشد اُنها باید بوسیله حضور DNA ویروسی یا DNA نوترکیب تغییریابد

ارزیابی خطرات سل لاین ها

باید ارزیابی خطر دقیقی روی هر سل لاین جدیدی که به آزمایشگاه آورده می شود انجام شود. بعلت اینکه ترکیب های نامحدودی از سل لاین ها ودستکاریها وجود دارد لذا بکارگیری رهنمودهای زیردرفرایند ارزیابی خطرات به محققین کمک خواهد کرد.

سل لاین های غیر نوترکیب

سل لاین های غیر نوترکیب خطرناک ترین سل لاین محسوب می شوند زیرا بطور مستقیم از ارگانیسم میزبان گرفته شده اند. ارزیابی های زیر باید برای آنها در نظر گرفته شود:

– منبع سل لاین: بیشترین ریسک آلودگی به ترتیب نمونه های انسانی، پریمات ها، پستانداران، پرندگان و بی مهره هاست. هر چه سل لاین از لحاظ فیلوژنتیکی به انسان نزدیکتر باشد خطر بیشتری را در بر دارد. اساسا نزدیک بودن دودمان سلولی از لحاظ فیلوژنتیکی ریسک بزرگتری ارزیابی می شود.خطرناکترین نوع سل لاین،آن است که از خودش ساخته شود مثلا یک نوع سلول سرطانی که برای رشد در میزبان بخوبی سازگارشده است، به این نوع سل لاین هرگز نباید فکر کرد.

– بافت منبع: منبع بافت میتواند شاخصی برای پتانسیل آلودگی باشد.

–تاریخچه سل لاین: ریسک کار کردن با سل لاین های مطالعه شده نسبت به دودمان های سلولی ناشناخته،کاملا مشخص شده است.

کمیت سلولها: بیشتر بودن مقدار سلولها یعنی بالاتر بودن پتانسیل ریسک آنها.

سل لاین های نوترکیب

علاوه بر معیارهائی که برای ارزیابی سل لاین های غیر نوترکیب بکار رفت موارد زیر را برای سل لاین های نوترکیب باید در نظر گرفت:

- **هیبریدوما: وقتی سل لاین هیبریدوما بوجود می آید باید خواص هرکدام از سلولها در هیبریدوما را در نظر گرفت.**
- **حامل مورد استفاده برای ترانسفورماسیون**
- **انتقال توالی ویروسی**
- **انتقال فاکتورهای بیماریزا (ویرولانس)**
- **فعال سازی ویروس های اندوژن**
- **فراورده ژن نوترکیب**
- **حضور ویروس کمکی**

همه موارد بالا پتانسیلی برای افزایش سطح محدودیت (سطح کنترل کننده آلودگی) آزمایش بوجود می آورند.اشخاصی که از تاثیرهرکدامیک از این وضعیت ها بر روی سل لاین مطمئن نیستند، می توانند با محقق اصلی یا با اداره ایمنی زیستی مشاوره کنند.

تعیین گروه ریسک

منابعOn line برای کمک به گروههای تحقیقاتی جهت تعیین سطح محدودیت(سطح کنترل آلودگی) مناسب برای سل لاین ها قابل دسترس هستند مانند: مجموعه انواع کشت امریکا(ATCC)

آلودگی سل لاین

یکی از مهمترین موارد درکنترل کیفی کشت سلولی، آلودگی می باشد. حذف آلودگی از سل لاین، فرایند زمان بر و خسته کننده می باشد. دو منبع از آلودگی وجود دارد که ایمنی زیستی را برای هرکدام از آنها توضیح داده می شود.

آلودگی ناشی از میکرو ارگانیسم

سل لاین ها با انواع میکروارگانیسم های زیرمی توانند آلوده شوند:

- ✓ **باکتری ها**
- ✓ **ویروس ها**
- ✓ **قارچ ها**
- ✓ **مایکو پلاسما ها**

اگر ارگانیسم‌ها به طور بالقوه مسری باشند، آلودگی کشت *سلولی* با هر کدام از ارگانیسم‌های بالا معرف یک خطر زیستی است .آلودگی با تعدادی از این ارگانیسم‌ها بسادگی شناسایی نمی‌شود و اگر تکنیک‌های آسپتیک مناسبی نباشند، آلودگی در تمام سل لاین های آزمایشگاه پخش می شود.

آلودگی باکتریایی و قارچی:

این نوع آلودگی بسادگی آشکار می‌شود. رنگ کشت اغلب تغییر کرده و کدورت افزایش می یابد. آلودگی به سرعت غلبه کرده وسل لاین ها خواهند مرد. می‌توان این نوع آلودگی را با افزودن آنتی‌بیوتیک به محیط کشت از بین برد، اگرچه اغلب پرسنل جهت بازده بهتر کار، آن را دور ریخته و کار را با یک Stock غیر آلودهٔ جدید شروع می کنند .

آلودگی ویروسی:

شناسایی آلودگی ویروسی بسیار مشکل است ، بدلیل اینکه برخلاف کشت باکتریایی تغییر واضح و آشکاری در محیط کشت ایجاد نمی‌کند. وقتی نرخ رشد سلولی تغییر می‌یابد، مشکوک به آلودگی ویروسی است. آلودگی ویروسی به سادگی از بین نمی‌رود و سل لاین ها آلوده دور ریخته می‌شوند.

مایکوپلاسما:

مایکوپلاسماها ذرات بسیار کوچکی هستند و آلودگی‌های شایع در کشت سلولی می باشند و تحت تأثیر آنتی‌بیوتیک‌هائی که به صورت نرمال در کشت سلولی استفاده می‌شوند قرار نمی‌گیرند. عموماً برای پرسنل خطرناک نیستند، با این وجود چون بر روی سرعت رشد سلول تأثیر می‌گذارند بر روی کیفیت تحقیق موثرند. آلودگی مایکوپلاسمائی، اغلب موجب دور ریختن سل لاین ها می گردد، با این وجود اگر جایگزینی آنها به سادگی امکانپذیر نباشد معمولاً کشت سلولی را با پلاسموسین تیمار می‌کنند. گروه‌های تحقیق باید همه دودمانهای سلولی که وارد آزمایشگاه می‌شوند را از نقطه نظر عفونت مایکوپلاسما تست کنند و تا قبل از آلودگی زدایی،شروع به کارنکنند.

مایکوپلاسما و کار حیوانی:

برخی از روش های تحقیق، نیاز به تزریق سل لاین ها یوکاریوتی به داخل بدن حیوانات دارد. علاوه بر ارزیابی خطری در مورد منبع سل لاین ها و حیوانات گیرنده انجام می شود، بایستی سل لاین، قبل از تزریق به حیوان میزبان ازلحاظ عفونت مایکوپلاسمائی تست شوند تا عفونت مایکوپلاسمائی به حیوانات آزمایشگاه پخش نشود.

یک نکته راجع به آنتی‌بیوتیک‌ها:

افزودن آنتی‌بیوتیک‌ها بعنوان یک مکمل استاندارد در محیط کشت، بحث‌انگیز است و اغلب مورد بحث بین اعضای گروههای تحقیق است. بغیر از شرایط خاصی مانند:

- **گران بودن یا مشکل بودن رشد سل لاین ها**
- **طولانی مدت بودن زمان آزمایشات**
- **آزمایشات با افزایش ریسک ذاتی آلودگی همراه باشند.**

استفاده نکردن از آنتی‌بیوتیک ها بهتر میباشد. آنتی بیوتیک‌ها می‌توانند آلودگی که در پروسه آزمایش را پنهان کنند. حذف آنتی‌بیوتیک مزایایی دارد بطوری که پرسنل نسبت به کیفیت تکنیک آسپتیکشان هشیار می شوند.

آلودگی بین سل لاین ها

دومین مشکل در آلودگی سل لاین ها ، آلوده شدن یک سل لاین با دیگری است. این نوع از آلودگی معرف یک خطر زیستی است چرا که ایجاد کننده آلودگی، ممکن است خصوصیاتی داشته باشد که آن را خطرناکتر کند و نیاز به سطح محدودیت بالاتری داشته باشند، همچنین

دستکاری‌های آزمایشی ممکن است ناخواسته سل لاینی را بوجود بیاورد که خطرناکتر از آنهایی باشد که پرسنل مد نظر دارد.شناسایی آلودگی سل لاین ها بسیارمشکل می باشد. پیروی از رهنمودهای زیر می‌تواند آلودگی بین سل لاین ها را به حداقل برساند.

- **توجه زیاد به تکنیک آسپتیک**
- **بایست استوک‌ها از منابع معتبر تهیه شوند. سل لاین های تجاری در دسترس، دستخوش آزمایشهای فراوانی جهت بررسی خلوص می شوند.**
- **روش های نگهداری سلولی و فرآیندهای انجماد استوک باید به دقت انجام شود و توسط همه اعضای گروه تحقیق رعایت شوند. همه پرسنلی که با سل لاین هاکار می‌کنند باید با روش های صحیح آشنا باشند. با برنامه‌ریزی مناسب آزمایش و تکنیک خوب، می توان از بیشتر آلودگی‌های سل لاین ها جلوگیری کرد.**

مواد داخل بدن و خون انسان

کار با خون انسان و مواد بدن نیاز به بررسی تخصصی ایمنی جهت به حداقل رساندن ریسک در معرض‌گیری و عفونت پرسنل دارد. پتانسیل در معرض قرارگیری در برابر پاتوژن‌های خونی مثل HIV، ویروس هپاتیت B (HBV) و ویروس هپاتیت C (HCV)، ریسک‌های خیلی واقعی برای ایمنی و سلامت پرسنل آزمایشگاه هستند در این واحد اغلب اشاره به خون انسان است؛ با این وجود همه بافتهای انسانی و مایعات بدن بطور بالقوه مواد عفونی در نظر گرفته می‌شوند. در یک آزمایشگاه همه مواد مذکور تا وقتی که غیرفعال نشده باشند عفونی در نظر گرفته می‌شوند.

روش های انتقال

در معرض پاتوژنهای خونی قرار گرفتن از سه طریق اصلی اتفاق می‌افتد:

- **با تلقیح در اثر فرو رفتن سوزن یا از طریق زخم با بریدگی باز روی پوست.**
- **از طریق غشاهای مخاطی (مثل بینی، چشم و دهان).**
- **از طریق خراشیدگی کوچک روی پوست**

ریسک عفونت توسط در معرض قرارگیری پاتوژنهای خونی، به مقدار پاتوژن در نمونه، حجم نمونه و همچنین پاسخ اختصاصی سیستم ایمنی شخصی بستگی دارد.

احتیاطات

برای جلوگیری ازقرار گیری در معرض و عفونت نسبت به عوامل گفته شده، همه اشخاصی که با خون یا مواد بدن انسان کار می‌کنند باید از قوانین و رهنمودهای کلی در این قسمت پیروی کنند.

احتیاطات ضروری برای کار با این عوامل می‌تواند تقسیم شود به:

- **کنترل مدیریتی**
- **تمرین و تکنیک آزمایشگاهی**

خون انسان و مواد بدن انسان: مدیریت خطر

ارزیابی خطر، برای هر آزمایشی است که شامل خون و مواد بدن انسان می باشد، ضروری است

کارکردن با این نمونه‌ها بصورت ایمن، شامل سه جزء عمده است:

- **کنترل مدیریت**
- **تمرین و تکنیک آزمایشگاهی**

• طراحی تجهیزات و تسهیلات

کنترل خطر هنگام کار با مواد بدن و خون انسان، نیازمند مسؤولیت فردی و آزمایشگاهی است.

مسئولیت آزمایشگاهی

همه آزمایشگاههای دانشگاه نیاز به پروانه معتبر جهت کار با مواد بدن و خون انسان دارند. برای بدست آوردن پروانه دو کار مورد نیاز است:

• ثبت قانونی و به روز ایمنی زیستی

• تکمیل فرم درخواست کار با مواد بدن و خون انسان

به محض اینکه این فرم‌ها به اداره ایمنی زیستی ارسال گردید یک بازرسی ازفضای آزمایشگاه انجام خواهد گردید و سپس اداره ایمنی زیستی، پروانه کار با مواد خونی وبدنی انسان را برای آزمایشگاه صادر خواهد کرد. این پروانه باید سالیانه تجدید شود.

علاوه بر پروانه، آزمایشگاهها باید کپی هائی از صفحات اطلاعاتی ایمنی مواد (MSDSs) برای پاتوژنهای خونی زیر داشته باشند:

• ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV)

• ویروس هپاتیت B (HBV)

• ویروس هپاتیت C (HCV)

این MSDSs قابل دسترسی هستند در وب‌سایت آژانس بهداشت عمومی کانادا
Public Health Agency of Canada Pathogen Sefety Data Sheets

مسئولیت‌های فردی

اگر آزمایشگاه پروانه معتبر دارد، اشخاصی تازه وارد به آزمایشگاه و یا شروع یک پروژه که شامل نمونه‌های انسانی است باید به پروانه افزوده شوند.

همه اشخاصی که با مواد بدن و خون انسان کار می‌کنند باید در برابر HBV ایمن شوند و در صورت عدم تمایل ، باید فرم رسمی مبنی بر عدم تمایل به دریافت ایمونیزاسیون را امضاء کنند. همچنین قبل از شروع کار با مواد بدن و خون انسان همه پرسنل باید MSDSs پاتوژنهای خونی را مرور کنند.

تکنیک و عملیات آزمایشگاهی

مهمترین ملاحظات هنگام کار با نمونه‌های بافت و خون انسان، استفاده از تکنیک‌های آزمایشگاهی خوب می باشد. خود شخص، اولین و مهمترین قدم در ایجاد محیط کار ایمن می باشد.

احتیاطات جهانی

عبارت احتیاطات جهانی اولین بار توسط مرکز کنترل بیماری (CDC) در ایالات متحده در تابستان 1987 بکار گرفته شد.

احتیاطات صادر شده، در پاسخ به خبر ابتلا سه نفر از کارکنان آزمایشگاه بالینی با HIV مطرح شد، احتیاطات جهانی اساساً برای حفاظت در برابر عفونت HIV طراحی شده است اما حالا شامل پاتوژنهای خونی دیگر مثل HBV و HCV نیز می‌شود. مفهوم احتیاطات جهانی این است:

همه کارکنانی که در تماس با نمونه‌های بافتی یا خونی انسان هستند باید باور داشته باشند که همه نمونه‌ها، بدون توجه به تاریخچه مورد یا منبع آن با پاتوژن‌های خونی آلوده هستند و متناسب با آن رفتار کنند.

علاوه بر استانداردهای محدودیت سطح 2، موارد زیر باید رعایت گردد:

- PPE که شامل روپوش هایی است که بطور کامل بسته می‌شوند، دستکش‌ها، عینک‌های حفاظتی، کفش‌های جلو بسته و شلوارهای بلند پوشیده شده زمان کار با نمونه‌ها و یا زباله‌های ضدعفونی نشده

- پرسنلی که اعمال جراحی یا اعمال زیبائی (مثل تاتو و سوراخ کردن گوش) یا صدمات فیزیکی (بریدگی، سائیدگی، سوختگی و غیره) داشته اند که موجب تغییردر یکپارچگی و حالت طبیعی پوست شده، نباید با نمونه‌ها کار کنند تا اینکه صدمات، ترمیم شوند. (بخصوص صورت، سر، گردن، دست‌ها یا بازوها)
- همه دستکاریهای نمونه‌ها که بطور بالقوه آئروسل بوجود می‌آورند باید به سمت داخل کابیت ایمنی زیستی هدایت بشوند.
- برای سانتریفوژ این نمونه‌ها، باید از سانترفیوژهای مخصوص حاوی مواد زیستی استفاده شود.
- سطوح کار و تجهیزات باید با استفاده از یک ضدعفونی کننده مؤثر در برابر ویروسها و باکتریها به صورت روزانه پاک شوند.
- همه مواد زباله‌ای باید قبل از دور ریختن، در 120 درجه سانتی گراد و به مدت 60 دقیقه اتوکلاو شوند.

تجهیزات تخصصی

کابینت ایمنی زیستی (BSC)

استفاده از یک BSC هنگام کار با مواد بدن و خون انسان کار می‌کنید ضروری است. دستکاریهای آزمایشگاهی نمونه‌های بافتی و خونی، به طور بالقوه آئروسل های زیادی تولید می‌کند. مراقبت و دقت و باید صورت گیرد در:

- نمونه‌های بافتی هموژنیزه
- نمونه‌های بافتی که تحت تأثیر امواج ماوراء صوت قرار گرفته (سونیکاسیون)
- وقتی تیوپ های سانتریفوژ بارگیری می‌شوند.
- پی پت کردن نمونه های

همه فرایندهای بالا باید داخل کابینت ایمنی زیستی دارای گواهینامه انجام شوند و به دنبال آن فرآیندهای آلودگی زدایی مناسب صورت گیرد.

سانتریفوژ کردن

سانتریفوژ مواد بدن و خون انسان از دستورالعمل‌هائی سانتریفوژ ارگانیسم‌هائی که بعنوان RG2 طبقه‌بندی شده‌اند، پیروی می کند. ظروف و لوله‌های سانتریفوژ باید داخل BSC بارگیری شوند. لوله‌ها باید خوب بسته شوند.استفاده از درهای راحت بازشو برای لوله‌های سانتریفوژ مواد بدن و خون انسان توصیه نمی‌شود لوله های در پیچ شونده ایده‌آل است و باید با چسب حلقه‌ای درزگیری شوند.

مواد بدن و خون انسان: گزارش حوادث

صدمات فرورفتن سوزن و در معرض نمونه‌های بدن یا خون انسان قرار گرفتن

علیرغم همه احتیاطات، فرورفتن سوزن و در معرض مواد بدن و خون انسان قرار گرفتن، ممکن است اتفاق بیفتد که باید گزارش شوند، هر چند در زمان حادثه بی‌اهمیت به نظربرسند. به دلیل اینکه پاتوژن‌های خون می‌توانند از طریق غشاءهای مخاطی روی صورت وارد بدن شوند، پاشیدن آنها به صورت باید جدی در نظر گرفته شود.

نکات خلاصه

- وقتی با مواد بدن و خون انسان، کار می‌کنید بدون توجه به منبع و شرح حال بیمار، باید همه نمونه‌ها آلوده در نظر گرفته شوند.

- **بهترین اقدام برای تمامی پرسنل این است وقتی که با مواد بدن و خون انسان کار می‌کنند، از احتیاطات جهانی استفاده کنند.**
- **همه پرسنلی که با مواد بدن و خون انسان کار می‌کنند باید در برابر ویروس هپاتیت B ایمونیزه شوند .**
- **همه موارد قرارگیری درمعرض مواد بدن و خون انسان باید گزارش شوند، هر چند در زمان وقوع، جزئی به نظر برسند.**

اسیدهای نوکلئیک نوترکیب

دستکاری اسیدهای نوکلئیک یک ارگانیسم برای تأثیر و یا افزایش یک ویژگی خاص، ایده ی جدیدی نیست. متدهای به هم آمیختن و انتخاب طبیعی برای سالیان برای تغییر انواع گونه ها و ارگانیسم‌ها استفاده شده است.

استفاده از DNA نوترکیب (rDNA) جایگزین تعداد زیادی از این تکنیک‌ها شده است.

تعریف DNA نوترکیب

- **مولکولهایی که خارج از سلولهای زنده بوسیله اتصال قطعات DNA طبیعی یا سنتیک به مولکول DNA ساخته می شوند که می‌تواند در سلولهای زنده تکثیر یابند.**

معمولاrDNA در آزمایشگاهها برای تکنیک‌هایی مانند افزایش بیان ژن هدف، تولید حیوانات و گیاهان ترانسژنیک و تولید کلون‌های ویروسی عفونی با طول کامل، شامل ایجاد دوباره ویریون عفونی از ساختمانهای نوترکیب (مهندسی ژنتیک معکوس) استفاده می‌شود

اوایل وقتی کار rDNA نوترکیب انجام می شد ترس‌های زیادی نسبت به ایمنی کار وجود داشت اما تحقیقات نشان داد که هیچ اثرات مضری روی پرسنل و محیط ندارد. بیشتر تحقیقات رویrDNA با هیچگونه ریسک خاصی برای پرسنل روبرو نبود. با این وجود برای انجام ارزیابی خطر، سوال‌هایی بوجود می آید که نیاز به پرسیده شدن دارند.

DNA نوترکیب: ارزیابی خطر

عموماً استفاده از rDNA در تحقیق خطری ندارد بدلیل اینکه منابع DNA، حامل‌ها و میزبان، همه بی‌خطر هستند. با این وجود، بعضا شرایطی وجود داشته که استفاده از rDNA برای محققین و محیط دانشگاه خطرناک بوده است و مهم است که ارزیابی خطر برای تشخیص این وضعیت‌ها و برنامه‌ریزی متناسب با آن انجام شود. برای ارزیابی خطر، فاکتورهای زیر باید در نظر گرفته شوند:

- **سطح محدودیت برای ارگانیسم گیرنده و دهنده**
- **کارائی تکثیر ارگانیسم نوترکیب**
- **فاکتورهای بالقوه انکوژنیک و پاتوژنیک مرتبط با rDNA انتقال داده شده**
- **عملکرد ژن انتقال داده شده**
- **سطح بیان مورد نظربرای ژن انتقال داده شده**
- **محدودیت زیستی ارائه شده بوسیله سیستم‌های میزبان حامل**
- **تعامل بین ژن انتقال داده شده و سیستم‌های میزبان حامل**
- **زنده ماندن host vector**

این فاکتورها در تعیین سطح مناسب محدودیت برای تحقیق مورد نظر کمک خواهند کرد .

بعلت اینکه ترکیب بی نهایتی از DNA، میزبان و حامل‌ها وجود دارد، بایست ارزیابی خطر برای همه آزمایشات برنامه‌ریزی شده انجام بدهیم .

لازم به ذکر است که host vector حاملی است که برای انتقال DNA به داخل سلول‌های گیرنده مورد است قرار می‌گیرد و نباید با سل لاین میزبان ، مدل حیوانی یا نژاد باکتریائی که rDNA تکمیل شده به آن منتقل می شود، اشتباه گردد.

رهنمودهای ایمنی آزمایشگاهی PHAC اعلام کرده که اگر هیچ یک از اجزاء آزمایش مورد نظر، خطرناک شناخته نشدند، محدودیت‌های ایمنی زیستی لازم نمی باشد ولی اگر یکی از اجزاء آزمایش خطرناک باشد ، سطح محدودیت مناسب باید در نظر گرفته شود. برای مثال اگردر آزمایشی انتقال ژن به داخل سلولهای هلیکوباکترپیلوری زنده وجود دارد (پاتوژنی با گروه ریسک 2) پس سطح بازداری مناسب CL_2 می باشد. در صورتی که انتقال ژن، به طور بالقوه بیماریزائی یا پاتوژنیسیته ارگانیسم را افزایش بدهد، سطح محدودیت باید افزایش یابد .

DNA نوترکیب: میزانهای بازدارندگی preventative measures

به محض ارزیابی خطر برای آزمایشات شامل rDNA، گروه تحقیق به دنبال میزانی از بازدارندگی است که بیشترین تناسب را با دستکاریهای مورد نظر داشته باشد.

این بازدارندگی متشکل از:

- **کنترل مدیریتی**
- **کنترل فنی**
- **کنترل مهندسی**

هر سه نوع کنترل برای آزمایشات rDNA استفاده شده است. در مواجهه باrDNA ، باید میزان کنترل اضافی در نظر گرفته شود که در زیر توضیح داده می‌شود.

سدهای طبیعی

سد های طبیعی، محدودیت زیستی است که توسط سیستم حامل میزبان ارائه می شود.

دو عملکرد عمده برای سدهای طبیعی وجود دارد:

- **محدود کردن عفونت‌زائی حامل یا ناقل (پلاسمید یا ویروس) به میزبانهای اختصاصی.**
- **محدود کردن انتشار و زنده ماندن حامل‌ها در محیط.**

برای کاهش احتمال انتشار rDNA به بیرون از آزمایشگاه، وکتورها از لحاظ ژنتیکی طراحی می شوند.

مثالهای زیادی وجود دارد از اینکه سدهای طبیعی چگونه در آزمایشات عملی استفاده می‌شوند:

- **یک ویروس واکسینیا نوترکیب که گلیکوپروتئین متفاوتی ازویروس را بیان می‌کند در سطح محدودیت ویروس واکسینیا وحشی قرارخواهد گرفت، چون پروتئین به داخل ذرات ویروس ملحق نمی‌شود و بعید است که این دستکاری خواص بیولوژیکی ویروس نوترکیب را تغییردهد.**
- **یک ویروس نوع استوماتیت وزیکولار کاذب که بیان‌کننده یک گلیکوپروتئین متفاوت ویروسی است در سطح محدودیت 2 خواهد بود چون ویروس قادر به تکثیر نیست.**

ترکیب این چهار کنترل جهت تعیین سطح محدودیت مناسب برای کار با rDNA توصیه می شود.

نکات خلاصه:

- **کار با rDNA ذاتاً خطرناک نیست.**
- **ارزیابی خطر جهت تعیین افزایش وبالا بردن سطح محدودیت برای آزمایش خاص ،باید صورت گیرد.**

حاملهای ویروسی: اطلاعات زمینه

حامل‌های ویروسی از اوایل دهه 1990 در کارهای بالینی و تحقیقاتی استفاده شده‌اند. حامل‌های ویروسی شامل: آدنوویروس ها، لنتی ویروس ها و سیستم‌هایی بر پایه رتروویروس‌ها می باشد که عمدتاً برای تحویل ژن استفاده می‌شوند. دراین حاملها، از توانایی ویروس‌ها برای رساندن DNA نوترکیب (rDNA) به داخل سلول میزبان بهره‌برداری می‌کنند.

حامل های ویروسی استفاده شده اند برای:

- **ژن درمانی: حاملهای ویروسی در آزمایش‌های بالینی هم در** invitro **و هم** invivo **بعنوان یک مکانیسم انتقال** DNA **به داخل حیوانات و انسان استفاده شده‌اند.**
- SiRNA: **حاملهای لنتی ویروسی، حاملهای انتخابی جدیدی هستند برای انتقال**SiRNA (short-interfering RNA).

SiRNA **ها توالی‌های کوتاه از** RNA **هستند که برای خاموش کردن بیان ژن استفاده شوند. با گسترش استفاده از این حامل‌ها در کارهای تحقیقاتی، بایستی به دنبال ایمنی مرتبط بگردیم. دو مسئله اصلی ایمنی هنگام کار با سیستم‌های حامل ویروسی وجود دارد:**

- **تقریبا غیر ممکن است به طور کامل پروسه های سلولی را کنترل شود تا تضمین کند ویروسی که نقص تکثیر دارد به طور طبیعی ژن های مورد نیاز برای تکثیر را به دست نمی آورد.**
- **ژن مورد نظر می‌تواند دستخوش وقایع نوترکیب با ویروس‌های دیگر یا بافتهای غیردلخواه میزبان شده و مشکلات بالقوه‌ای را بوجود آورد.**

دراین قسمت بیولوژی سیستم‌های حامل و ایمنی مربوطه توضیح داده می شود.

سیستمهای حامل آدنوویروسی

آدنویروس‌ها از 20 **سال پیش تاکنون بعنوان یک روش برای ژن رسانی استفاده شده‌اند.**

آنها دارای مزایائی هستند از جمله اینکه قادرند طیف وسیعی از سلولها و بافتها را عفونی کنند

سلولهای عفونی شده می‌توانند هم تقسیم شونده و هم غیرتقسیم شونده باشند.

وکتورهای آدنوویروسی برای تومورزایی، تنظیمات رونویسی و آزمایشات تولید پروتئین استفاده شده اند.

جنبه‌های مثبت وکتورهای آدنوویروسی عبارتند از:

- **خوب شناخته شده‌اند و به راحتی دستکاری می‌شوند.**
- **پایدارند و قادرند تیتر بالائی از حاملهای نوترکیب تولید کنند.**
- **قادرند طیف وسیعی از انواع سلولها راعفونی کنند .**
- **جذب سلولی بالا تا** DNA 37kb
- **ریسک پائینی از الحاق تصادفی کروموزومی را دارند.**

همراه با مزایای زیادی که این سیستم‌های ویروسی دارند موضوع ایمنی‌شان باید بررسی شود.

آدنوویروس‌ها پاتوژنهایی هستند که موجب عفونت‌های تنفسی از علائم شبه سرماخوردگی تا برونشیت و ذات‌الریه می‌شوند همچنین باعث عفونت‌های قرنیه و ملتحمه چشم می شوند.

ذرات ویروسی پایدار بوده و حتی پس از تیمار با حلال های مختلف، عفونی باقی می‌مانند.

روشهای انتقال آدنوویروس‌ها عبارتند از:

- **قطره**
- **آئروسل**
- **تزریق**

نشانه‌های قرار گرفتن در معرض آدنوویروس‌ها عبارتند از:

- **بیماری تنفسی (علائم شبه سرماخوردگی)**
- **ذات‌الریه**
- **التهاب ملتحمه (چشم صورتی)**

- **التهاب قرنیه**

اشخاصی که مشکلات سیستم ایمنی دارند ریسک بالاتری از بیماری وعوارض مربوطه رادارند و باید احتیاط رادرکار با این سیستم‌های حامل پیشه کنند.

تغییرات زیادی روی سیستم‌های حامل آدنوویروسی از زمان معرفی آنها صورت گرفته است. اهداف عمده اصلاحات عبارتند از:

- **بهبود ایمنی سیستم حامل**
- **بهبود هدف‌گیری انتقال ژن**
- **افزایش کارائی بیان ترانس ژنهای دلخواه**

در مقالات اغلب به نسلهای حاملهای آدنوویروسی اشاره می‌شود که در زیر توضیح داده شده است:

حاملهای آدنوویروسی نسل اول: در این حاملها، کاست‌های ژنی E1 و یا E3 حذف شده است. حذف این ژنها به دو منظور انجام شده است: اجازه ورود DNA خارجی ونقص در تکثیر DNA ویروسی و تولید پروتئین‌های کپسید ویروسی می باشد. نواحی E3وE1 مسئول رونویسی اولیه ژن در ژنوم آدنوویروس است.

حاملهای آدنوویروسی نسل دوم:بیشتر ژنها از ژنوم ویروسی حذف شده‌اند و نیاز به سل لاین های مکمل جهت بیان ژن مورد نظر دارد و این عمل، موجب کاهش ایجاد ساختمان قابل تکثیر ویروس می گردد.

حاملهای آدنوویروسی نسل سوم: آخرین نسل حاملهای آدنوویروسی که حاملهای"gutless" نیز نامیده می‌شوند که تقریبا تمام ژنهایشان حذف شده است و نیازمند ویروس کمکی و سل لاین مکمل مناسب برای تکثیر نیاز هستند. تقریباً همه پروتئین‌های آدنوویروسی بصورت ترانس فراهم شده که موجب افزایش کنترل بیان سیستم شده است. حمل ژنها برای تکثیر و بیان، بر روی ویروس‌ها مجزا و سل لاین ها، احتمال نوآرائی آدنوویروس به ذرات ویروسی عملکردی را کاهش می‌دهد.

«محققین باید از نوع حاملهای آدنوویروسی که در گروه تحقیقاتی استفاده می کنند آگاه باشند تا وقایع بالقوه ای که منجر به تولید ویروس دارای عملکرد و قدرت تکثیر می شود، را بدانند.»

سیستم‌های حامل لنتی ویروسی و رتروویروسی

سیستم‌های حامل رتروویروسی

حاملهای رتروویروسی سیستم جذابب برای آزمایشات بیولوژی مولکولی و همچنین ژن درمانی هستند. خانواده رتروویریده به دو خانواده تقسیم می‌شوند:

ارتورتروویرینه (Orthoretrovirinae) و اسپومارتروویرینه (Spumaretorovirinae). خانواده ارتو رتروویرینه به شش گروه تقسیم می‌شوند که به خانواده ارتو رتروویرینه پرداخته می شود. این ویروس‌ها عموماً به سیستم‌های حامل لنتی ویروسی و حاملهای غیرلنتی ویروسی تقسیم می‌شوند. عمده حاملهای غیرلنتی ویروسی از ویروس‌های انکوژنیک مشتق می‌شوند مانند ویروس مولونی ـ مورین (MoMulv)، ویروس تومور پستان موش (MMTV) و ویروس فلین لوکمیا (FeLV).

سیستم‌های حامل رتروویروسی اصلی از MoMuLV استفاده می‌کند. این سیستم از دو تا پلاسمید استفاده می‌کند یک پلاسمید کمکی که شامل ژنهای بسته‌بندی است و یک پلاسمید حامل مهندسی شده که شامل ژن مورد نظر است. اگرچه این سیستم بیان خوبی از ژن مورد نظر دارد ولی تولید ذرات ویروسی قابل تکثیر RCV (Replication competent virus) دیده شده است. واقعه نوترکیب دوگانه بین حامل و پلاسمید کمکی منجر به تولید RCVs را می‌شود.

وجود ذرات RCV یک نگرانی بزرگ بود، و در صورت ایجاد نسل‌های جدیدی از این سیستم‌های حامل هنگامی که ایمنی شان افزایش پیدا کند مفهوم کاربرد سیستم‌های لنتی ویروسی به واقعیت تبدیل می‌شود.

سیستم‌های حامل لنتی ویروسی

لنتی ویروس‌ها خانواده‌ای از رتروویروس‌ها هستند که شامل ویروس نقص ایمنی انسان (HIV)، ویروس نقص ایمنی میمون (SIV)، ویروس نقص ایمنی گربه‌سانان (FIV).می باشند. این ویروسها قادر به ایجاد مرگ و بیماری مهمی در میزبانشان هستند.

ثابت شده است که لنتی ویروس ها به عنوان سیستم‌های حامل، ابزار مفیدی برای رساندن مولکول DNA نوترکیب به سلولهای میزبان می باشند. حاملهای لنتی ویروسی برای ژن درمانی، تحقیقات سرطان شناسی و تحقیقات بیولوژی سلولی عمومی استفاده می‌شوند.

مزایای حاملهای لنتی ویروسی عبارتند از:

- **آنها می‌توانند هم سلولهای قابل تکثیر و هم غیرقابل تکثیر را عفونی کنند.**
- **آنها می‌توانند ژن خارجی را در ژنوم سلولهای بنیادی ادغام کنند.**
- **بیان ترانسژن می‌تواند برای دوره‌های طولانی حفظ شود.**

بیشتر سیستم‌های حامل لنتی ویروسی در دسترس بر پایه HIV هستند که مسائل ایمنی را ایجاب می کند. همانند سیستم‌های حامل آدنوویروسی، چندین نسل از سیستم‌های حامل لنتی ویروسی وجود دارد.

عمده خطرات مربوط به سیستم‌های لنتی ویروسی عبارتند از:

- ✓ **تولید RCVs**
- ✓ **پتانسیلی سرطان‌زائی**
- ✓ **جهش‌زائی الحاقی**

ارزیابی مناسب از خطر برای سیستم‌های حامل لنتی ویروسی، پتانسیل همه این خطرات را مشخص خواهد کرد. مهم است که استفاده‌کنندگان، نوع سیستم حامل لنتی ویروسی که بکار می‌برند را بدانند.

حاملهای لنتی ویروسی نسل اول: سیستم‌های حامل لنتی ویروسی نسل اول با استفاده از سیستم سه پلاسمیدی برای غلبه بر مشکلات حامل MoMyLV کار می‌کنند.

- **پلاسمید بسته‌بندی (Packaging)**
- **پلاسمید پوشاننده (Envelope)**
- **حامل انتقال HIV**

ایمنی این سیستم بهبود یافته است، با این وجود پلاسمید بسته بندی، شامل ژنهای فرعی HIV است که می تواند منجربه تولیدRCVs شود.

حاملهای لنتی ویروسی نسل دوم: در این حاملها ژنهای فرعی (accessory) از پلاسمید بسته‌بندی (packaging) حذف شده است. این عمل، ایمنی حامل را افزایش داده ولی اثری روی میزان بیان سیستم حامل (تیتر حامل) ندارد.

حاملهای لنتی ویروسی نسل سوم:

آخرین نسل از این نوع حاملهاست که گاهی به حامل‌های خود محدودکننده (SIN) شناخته می‌شوند. در این حامل‌ها، چندین جنبه پیشرفته ایمنی گنجانده شده است.

- **حذف ناحیه افزاینده Enhancer که منجر به ایجاد حاملی که از نظر رونویسی غیرفعال است شده که باعث می‌شود حامل نتواند RNA با طول کامل تولید کند.**
- **توالی کمک‌کننده helper بین سه یا چهار پلاسمید تقسیم شده –که احتمال وقایع نوترکیبی راکاهش می‌دهد**
- **ایجاد سل لاین های پایدار بسته‌بندی‌کننده –که بصورت پایدار توالی بسته‌بندی‌کننده را بیان و موجب کاهش احتمال تولید RCVs می شود**

مفهوم موارد ذکر شده این است که هیچگونه تجهیز شدنی نمی تواند توسط ویروس HIV وحشی برای حامل اتفاق بیفتد و موجب می شود که از HIV بعنوان حامل در ژن‌درمانی استفاده کنیم.

هیچ اتفاق نوترکیبی شناخته شده ای با سیستم‌های حامل لنتی ویروسی نسل سوم مشاهده نشده است.

همانند حاملهای آدنوویروسی، بایستی پرسنل از سیستم‌های حاملی که با آن کار می‌کنند آگاه بوده و وقایع ضروری برای تولید ویروس‌های قابل تکثیررا بفهمند.

ارزیابی خطر سیستم‌های حامل ویروسی

مانند هر پروسه آزمایشگاهی، قبل از شروع کار با هر سیستم حامل ویروسی باید ارزیابی خطر تکمیل شود. استفاده از سیستم‌های نسل سوم توسط اداره ایمنی زیستی به شدت توصیه شده است: در این سیستم‌های حامل، جنبه‌های ایمنی افزایش پیدا کرده است. سه عنصر باید در آزمایش با سیستم‌های حامل ویروسی در نظر گرفته شود.

ترانس ژن

- **ماهیت ترانس ژن ورودی: انکوژن‌های شناخته شده یا ژن‌هائی با پتانسیل سرطان‌زائی بالا نیاز به مراقبت خاصی دارند. همچنین فاکتورهای رشد و سیتوکین‌ها، نگرانی های ایمنی را افزایش داده است.**
- **حضور عناصر غیرکدکننده: گاهی مواقع این عناصر برای افزایش بیان ژن استفاده می‌شوند، اما در بعضی موارد یک پروتئین به طور بالقوه انکوژنیک را بیان می‌کنند. رایج‌ترین مثال، عنصر تنظیم‌کننده پس رونویسی هپاتیت B موش خرما(WRPE) است. لازم است که اطمینان حاصل شود که همه یا قسمتی از پروموتور این عنصر حذف شده است.**

سیستم حامل

- **تیتر حامل و مقدار کلی حامل**
- **پتانسیل ایجاد ویروس‌های قادر به تکثیر (RCVs) از اجزاء حامل.**
- **تعداد وقایع نوترکیبی که برای ایجاد RCV ضروری خواهد بود.**
- **تعداد ژنهای اساسی که از سیستم بسته‌بندی حامل حذف شده‌اند.**

میزبان

- **در افراد HIV مثبت، امکان نوترکیبی ویروس بومی با حامل، وجود دارد(این مشکل با حاملهای نسل آخر کاهش پیدا کرده است).**
- **استفاده از میزبانهای حیوانی: آدرس محل نگهداری پس از تزریق حامل باید مشخص شود.**

لازم به ذکر است که سیستم حاملی انتخاب شود که هم نیازمندیهای آزمایش را تأمین و هم سطح بالائی از ایمنی را فراهم کند.

در استفاده از سیستم‌های حامل ویروسی، باید ملاحظاتی در نظر گرفته شود که در نمودار (جدول) زیر نشان داده شده است.

ریسک پائین	ریسک بالا	ملاحظات ایمنی زیستی
عملکرد بسته بندی و وکتور برروی پلاسمیده های مختلفی جدا می شوند حذف ژنهای ویروسی	عمل بسته‌بندی حامل روی دو پلاسمید بیان ژنهای ویروسی	طراحی حامل
غیرانکوژن	انکوژن	ترانس ژن
در سطح آزمایشگاهی	به مقدار زیاد	تولید حامل
میزبان غیرمجاز	میزبان مجاز حیوانی که سلولهای انسانی به آنها پیوند زده شده اس	میزبانهای حیوانی
نگهداری و مراقبت (عدم استفاده از وسایل تیز)	مدیریت حامل (استفاده از وسائل تیز در هنگام تزری	دستکاری حیوانات

استانداردهای محدودیت برای سیستم‌های حامل ویروسی

PHAC (قوانین آژانس بهداشت عمومی کانادا) بدون توجه به نسل سیستم حامل، همه این سیستم ها را بعنوان عوامل ریسک گروه 2 در نظر می‌گیرد. این بدان معنی است که همه کارهای با سیستم‌های حامل لنتی ویروسی و آدنوویروسی مانند نگهداری، آماده کردن و تلقیح باید در سطح محدودیت 2 (CL-2) آزمایشگاهی انجام شود

علاوه بر اجرای استاندارد ها، موارد زیر باید اعمال گردد:

- **استفاده از سیستم‌های حامل را در اداره ایمنی زیستی ثبت شود.**
- **تمام مراحل تهیه فرآورده و تلقیح سیستم‌های حامل باید یا داخل کابینت ایمنی زیستی (BSC) یا تجهیزاتی معادل آن که تولید آئروسل را محدود می‌کند، انجام گردد. از روتورهای سانتریفوژ محدودکننده زیستی استفاده گردد. روتور باید در BSC بارگیری و تخلیه شود.**
- **استفاده از سوزن‌ها و اجسام تیز برای سیستم‌های حامل باید شدیداً محدود شود. در جائی که استفاده از سوزن ضروری است (مثلاً برای تلقیح حیوانات)، باید سوزن‌های زیرجلدی با سوزن قفل‌شونده استفاده شود.**

هنگام تلقیح حیوانات تحقیقاتی باید از ابزارهای مهارکننده مناسب و بی‌حس‌کننده استفاده شود. برای جلوگیری از تقلای حیوان که ممکن است منجر به فرو رفتن سوزن شود، حیوان باید نگه داشته شود و اشخاص باید از دستکش‌های مقاوم به سوراخ‌شدگی استفاده کنند.

- **همه ابزارهای تیز و سوزن‌های استفاده شده برای سیستم‌های حامل باید داخل یک ظرف نگهداری اجسام تیز بدون بستن در یا جابجا کردن وسایل، قرار گیرد. ظروف ابزارهای تیز باید قابل بسته‌بندی شدن و مقاوم به سوراخ‌شدگی باشند و برچسب نام محقق اصلی و نام اتاق و برچسب مناسب اطلاعات مربوط به خطرات بر روی ظرف چسبانده شوند. همه وسایل تیز که برای سیستم‌های حامل بکار رفته باید قبل از جمع‌آوری در 121 درجه به مدت یک ساعت اتوکلاو شوند.**
- **هر گونه صدمه ناشی از کار شامل در معرض سیستم‌های حامل قرار گرفتن (مثل فرورفتن سوزن)، بریدگی‌ها، سائیدگی‌ها یا همچنین پاشیدگی به صورت در صورت وجود زخم یا به داخل مخاط، هرچند در زمان وقوع بی اهمیت باشند باید به محقق اصلی گزارش گردند.**

باید در اسرع وقت با اداره ایمنی زیستی یا پرستار بهداشت کار تماس گرفته و گزارش محقق اصلی بصورت مکتوب تکمیل شود.

- **یک برنامه آموزشی مخصوص سیستم‌های حامل برای محققین طراحی شود. این برنامه باید شامل ارزیابی خطرات ناشی از دستکاری نوترکیب‌ها و یک مروری بر ایمنی مواد مربوط به تهیه‌کنندگان تجاری سیستم‌های حامل باشد. همه کارکنان و دانشجویانی که بصورت مستقیم با این سیستم‌ها کار می‌کنند و یا کسانی که هر گونه زباله یا موادی را حمل می‌کنند با ید این آموزش را بگذرانند.**
- **هنگام کار با سیستم‌های حامل، باید پوشیدن PPE انجام شود: یک گان آزمایشگاهی که خوب بسته شود، دستکش‌های دو لایه‌ای یکبار مصرف، کفش‌هایی جلو بسته که پا را بپوشانند و شلوارهایی که طول کامل دارند. گان آزمایشگاهی باید مخصوص استفاده از سیستم‌های حامل باشد. لایه داخلی دستکش‌های یکبار مصرف باید برای کارمند آزمایشگاه ایمن باشد و با نوار پوشانده شود. عینک‌های ایمنی باید زمانی که حامل یا زباله را به بیرون BSC منتقل می‌کنید، پوشیده شوند.**
- **پرسنلی که اعمال جراحی یا زیبائی داشته‌اند (البته فقط به تاتو یا پیلینگ محدود نمی‌شود) یا صدمات فیزیکی (بریدگی‌ها، سائیدگی ها و سوختگی) یا هر اتفاقی که باعث از بین رفتن یکپارچگی پوستشان شده است، تا زمان بهبودی، نباید با سیستم‌های حامل یا زباله‌های ضدعفونی نشده کار کنند. مخصوصاً وقتی ناحیه درگیر، صورت، گردن، سر، دست یا بازوها باشد. بریدگی‌های کوچک یا سائیدگی‌ها باید با یک پانسمان ضدآب پوشانده شوند.**

اگر کسی نسبت به زخمش مشکوک است، قبل از شروع کار، بایست با محقق اصلی مشورت کند.

- **تلقیح و مراقبت‌های پس از تلقیح در حیوانات با سیستم‌های حامل باید در اتاق‌های دارای شرایط CL2 انجام شود. هرنشتی از محل تلقیح باید با یک جاذب آغشته به ضدعفونی‌کننده موثر بر علیه ویروس‌های پوشش دار و غیرپوشش دار، پاک شود. به محض اینکه حیوان**

بهبودی یافت احتمال دارد به محل نگهداری طبیعی برگردانده شود . با این وجود اگر پس از آن عوارض نشان داد یا مرد، درمان یا نکروسکوپی باید در اتاق با سطح CL2 انجام گردد.

- **آلودگی‌زدائی همه سطوح کار و تجهیزات استفاده شده با سیستم حامل، روزانه با یک ضدعفونی‌کننده موثر برعلیه ویروس‌های پوشش دار و بدون پوشش صورت گیرد. دستها حتی در صورت دستکش، باید بطور منظم در طول کار و قبل از خروج از BSC آلودگی‌زدائی شوند.**
- **هرگونه نشتی و ریزش سیستم حامل باید طبق پروتکل زیستی مربوط به مواد نشتی دانشگاه برطرف شود.همه پرسنل باید قبل از شروع به کارنزدیکترین وسایل و ابزار رفع نشتی را بشناسند.**
- **همه پسماند ها، چه جامد و چه مایع، قبل از دور ریختن، باید حداقل در 121 درجه و به مدت 60 دقیقه اتوکلاو شوند.**

اشخاصی که سوالات بیشتری نسبت به استانداردهای ضروری کنترل‌آلودگی برای کار با سیستم‌های حامل دارند باید با محقق اصلی یا با اداره ایمنی زیستی جهت دریافت توصیه و اطلاعات بیشتر تماس بگیرند.

سیستم‌های حامل ویروسی: نکات خلاصه

- **سیستم‌های حامل لنتی ویروسی و آدنوویروسی به تسهیلات محدود کننده سطح 2 (LC2) نیاز دارند.**
- **محققین باید به نوع و نسل حامل ویروسی که در آزمایشگاهشان استفاده می‌کنند، آگاه باشند.**
- **هنگام کار با سیستم های حامل ویروسی، بایستی ارزیابی خطر صورت گیرد.**
- **بخش ایمنی زیستی به سیستم‌های حامل ویروسی که طبق بایگانی ایمنی زیستی گروه لیست شده، نیاز دارد.**