

ایمینی کار در آزمایشگاه

(برگرفته از اصول ایمینی 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 و دیگر 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 از ضرورت 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 در گروه 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: چقدر احتمال ایجاد نقصان مانند جراحی، 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، جراحی جدی یا بستری بیش از دو روز در بیمارستان، ناتوان شدن پایدار، آسیب مالی پرهزینه.

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

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

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

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

$$\text{Risk Value} = \text{Incident Probability} \times \text{Potential Consequences}$$

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 برمایید برای رنگ آمیزی اسید نوکلئیک (چون اتیدیوم برمایید

موتازن است).

- جایگزینی: استفاده از اشعه UV بجای کلرین برای ضد عفونی 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 در آموزش 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 و زمانی 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 های 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.

اجزای WHMIS

(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

برچسب‌ها تولید کننده

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

• شناسه محصول

• عبارات خطر

• تامین کننده

• اقدامات پیشگیرانه

• اقدامات کمک‌های اولیه

• ارجاع به MSDS

برچسب‌های محل کار

این برچسب‌ها 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 برچسب‌ها باید شامل اطلاعات زیر باشد:

• شناسه محصول

• اطلاعات کار ایمن

• ارجاع به MSDS

برچسب‌های تولیدکنندگان خانگی:

برچسب‌های تولید کننده برای محصولاتی که تولید آن‌ها به صورت خانگی است، متفاوت هستند. آن‌ها در مقادیر کمتر از 10 کیلوگرم بسته بندی می شوند و فقط برای مصرف آزمایشگاه هستند.

برگه‌های اطلاعات ایمنی مواد Material Safety Data Sheets

برگه‌های اطلاعات ایمنی مواد (MSDS)، نوشته‌ای است که شرح خطر، اطلاعات پیشگیرانه و اضطراری در مورد یک محصول تحت کنترل را داراست. این برگه‌ها برای تکمیل اطلاعات موجود در منبع و یا برچسب‌های محل کار است.

9 دسته از اطلاعات که در MSDS وجود دارد:

• اجزای خطرناک

• اطلاعات تهیه MSDS

• اطلاعات محصول

• داده‌های فیزیکی

• خطر آتش سوزی یا انفجار

• اطلاعاتی در مورد واکنش پذیری

• خواص توکسیکولوژی

• اقدامات پیشگیرانه

• اقدامات کمک های اولیه

MSDS باید برای 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

در دسترس پرسنل قرار داد:

• نسخه های کاغذی از MSDS ها

• دسترسی به اطلاعات MSDS ها

• دسترسی کامپیوتری به MSDS ها

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 MSDS ها را بدانند.

• وب سایت به بیش از یک منبع MSDS لینک شود و اطلاعات کاربری و یا هر گونه 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 کار مجموعه ای از مهمترین مهارتهای مورد نیاز، در هنگام کار با مواد خطرناک می باشد. تکنیک صحیح میز کار، در سه قانون خلاصه می شود:

• سطوح باید تمیز نگهداری شوند.

• درب بطری ها و لوله ها، حداقل امکان بسته نگه داشته شود.

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

دسترسی و ورود به آزمایشگاه

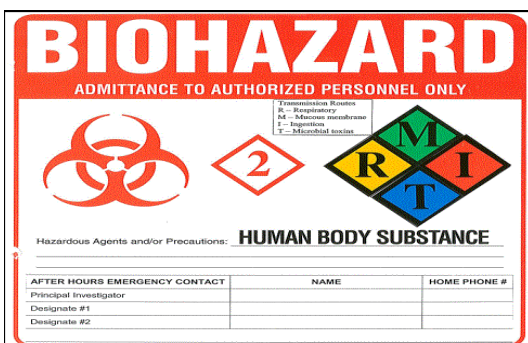
از آنجاکه خطرات به صورت بالقوه در هر آزمایشگاه شایع است، بایستی افرادی که داخل آزمایشگاه میشوند، از خطرات موجود در آن اطلاع داشته باشد و همچنین ورود پرسنل غیر مسئول محدود گردد.

علایم آزمایشگاهی

در حال حاضر، علائم آزمایشگاهی بر روی درب تمام آزمایشگاه های سطح 2 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 رادیسیون و خطرات مواد شیمیایی موجود در آزمایشگاه اطلاعاتی نمی دهد.

این علائم شامل اطلاعات زیر است:

- خطرات موجود در آزمایشگاه: بیولوژیکی، شیمیایی و پرتوی
- اقدامات احتیاطی ویژه و PPE 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 خطر جدی ایمنی بالقوه برای پرسنل پژوهشی می باشد. محدوده آزمایشگاهی باید تمیز و عاری از مواد شیمیایی و دستگاههای غیر ضروری باشند و همه مواد غیر ضروری و تجهیزات را باید به طور صحیح نگهداری شود.

بعضی از موارد ممنوع در آزمایشگاه

غذا و نوشیدنی : نباید مواد غذایی 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 در استفاده از لنزهای تماسی را اعمال کند.

راه های تمیز و مرتب نگهداشتن آزمایشگاه عبارتند از:

- تجهیزاتی که مرتباً 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 طور منظم برای جلوگیری از تجمع گرد و غبار و مواد شیمیایی.
- تمیز و غیر مسدود بودن تمامی راهرو ها و مسیر ها به منظور اطمینان از حرکت ایمن.
- کابلهای برق و یا لوله گاز یا جریان آب در راهرو و یا از هود بیرون زدگی نداشته باشد و همچنین، کابل و لوله گاز از سقف آویزان نباشد.

- سریعاً 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.

- دور انداختن زباله به شکل مناسب و به موقع. محل زباله های خطرناک در آزمایشگاه به طور کامل پوشانده شود.

تکنیک میز کار:

کار در روی میز، شایعترین فعالیت در یک آزمایشگاه تحقیقاتی است. تکنیک صحیح کار بر روی میز آزمایشگاه برای اطمینان از ایمنی و موفقیت پژوهش ضروری می باشد.

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

تکنیک میز کار مناسب مجموعه ای از مهم ترین مهارتهای مورد نیاز است که در هنگام کار با مواد خطرناک باید رعایت شود. روش میز کار مناسب را می توان با سه قانون خلاصه کرد:

✓ سطوح باید تمیز نگه داشته شوند.

✓ بطری و لوله ها تا آنجا که ممکن است باید بسته نگه داشته شود.

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

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



تصاویر فوق، تفاوت بین میز کیفی 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 آئروسول 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 آئروسول 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 آئروسول را به حداقل رساند. همچنین هنگام پی پت کردن مایعات می توان با نگه داشتن بطری یا لوله بازوویه⁴⁵ آزاد سازی آئروسول را به حداقل رساند.

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

به حداقل رساندن حرکات:

پرسنل باید از هرگونه 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 و سطوح روی میزانتقال یابد. همچنین می توان با در دسترس گذاشتن همه مواد و تجهیزات لازم برای آزمایش قبل از شروع کار، حرکات را به حداقل رساند. پس از اتمام آزمایش میز باید در اسرع وقت تمیز و تمام تجهیزات و واکنشگرها 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 از قرارگیری در معرض مواد خطرناک در آزمایشگاه می باشد. در این بخش به اصول و دستورالعمل هایی که باید برای حفاظت از پرسنل، انجام داد، می پردازیم: بهداشت و سلامت شخصی:

بهداشت و سلامت شخصی عامل مهمی در جلوگیری از قرار گرفتن ر معرض مواد خطرناک است. برخی از راهها برای محافظت شخصی عبارتند از:

- اجتناب از تماس 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 از استنشاق مواد: برای انجام کار مربوط به مواد شیمیایی فرار بایست از هود Fume 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 از کار کردن با هرگونه مواد خطرناک دستان خود را کاملا با آب و صابون بشوید حتی اگر دستکش پوشیده باشید.

- هرگز با دهان پی پت ننمائید.

- از خوردن، نوشیدن یا استفاده از لوازم آرایشی در آزمایشگاه خودداری کنید. برای ذخیره، آماده سازی و یا مصرف مواد غذایی از وسایل آزمایشگاهی استفاده نکنید (یخچال و فریزر، اجاق های میکروویو، 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 در برابر مواد خطرناک زیستی داشته باشد.

- کارکنانی که قبلا عملیات جراحی یا آرایشی (تتو و سوراخ کردن گوش) و یا 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 خطر قرار 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 از تور رسمی دانشگاه و یا به عنوان بازدیدکننده توسط گروه دعوت شده اند. در این موارد خاص، رهبر تور، یاسایر پرسنل آگاه، باید نظارت دقیق و مستقیم را داشته باشد. ممکن است برخی از برنامه 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 در آزمایشگاه دانشگاه وارد شوند. "مجاز" کسی است که یک دلیل معتبر برای حضور در آزمایشگاه داشته باشد مانند کارگر آزمایشگاهی، دانش جویان مشغول به کار در آزمایشگاه، پرسنل تعمیر و نگهداری محل کار، و یا فردی که دارای مجوز از سرپرست آزمایشگاه است. بازدیدهای غیر مهم در آزمایشگاه دانشگاه مجاز نیست. در تمام موارد، بازدید کنندگان باید از موارد زیر آگاه باشند:

• همه خطرات بالقوه در آزمایشگاه

• روشهای اضطراری در صورت 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، باید تحت نظارت پرسنل آزمایشگاه باشند.

کار کردن به تنهایی و روش های خارج از ساعت 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 از ساعات روتین را باید به حداقل رساند.

- روش جدید یا نا آشنا نباید بعد از ساعت کاری انجام شود.

- کارهای با ریسک پایین باید در ساعات خارج از ساعات کار آزمایشگاه انجام شود.

- سوپروایزر باید حضور بعد از ساعات کاری را تایید کند.

- همه وسایل اضطراری و تجهیزات محافظتی ایمنی (به عنوان مثال: دستکش، کیت کمک های اولیه، دوش اضطراری، کپسول آتش نشانی) باید به آسانی در دسترس باشند.

کار کردن به تنهایی (working alone)

طبق تعریف قانون بهداشت و ایمنی شغلی، الزامات خاصی برای آن عده از کارمندان که به تنهایی کار می 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 در مورد 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 مراقبت unattended 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 از سوپروایزر آزمایشگاه، و روش کار امن مکتوب دارد. هنگامی که آزمایش نیاز به عملیات مداوم و یا شبانه روزی دارد، برای جلوگیری از ریخته شدن، جاری شدن آب و یا آتش سوزی که ناشی از شکست مکانیکی، نقص برق و آب باشد، اقداماتی باید در نظر گرفته شود که عبارتند از: در آزمایشاتی که نیاز به آب خنک داشته، باید لوله های آب بصورت محکم اتصال و جریان آب را در حداقل میزان لازم، تنظیم گردد و مکانیسمی "توقف امن" در نظر گرفته شود تا عملیات را، در صورت قطع آب متوقف کند. • آزمایش را در هود فیوم fume سازماندهی شود، به طوری که در صورت خرابی سیستم، هیچ ماده خطرناکی رادفضای 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 و موارد 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 و دوش ها:

در تمام آزمایشگاه هایی که با مواد خطرناک کار می شود، باید محل شستشوی چشم و دوش اضطراری در داخل آزمایشگاه و یا نزدیک به آزمایشگاه باشد. پرسنل باید از محل دوش ایمنی و شستشوی چشم آگاه بوده و طریقه استفاده آن را بدانند. میز، نیمکت و تجهیزات 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 از شستشوی 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 باید به 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 کننده کمتری برای چشم دارد. علائمی باید محل دوش ایمنی و شستشوی چشم را به وضوح نشان دهد. در صورت قرار گرفتن در معرض 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 قرار گرفته 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.

Utility shutdowns قطع امکانات

در مواقع قطع بودن آب، برق یا تهویه، نباید با مواد خطرناک کار کرد. زیرا، تجهیزات ایمنی آزمایشگاه به خطر افتاده و درست کار نمی کند و در صورت 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 عموماً 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 در شرایط حرارتی و شوک مکانیکی خوب کار می کنند. برای آزمایشات تحت خلا، شیشه های بوروسیلیکاته 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

پر کردن صحیح شیشه آلات: انتخاب شیشه آلات با اندازه ی مناسب، مهم است. حداقل باید 20 درصد فضای خالی باشد تا در 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 بازمینی 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.
- سانتیفیوژها 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 سانتیفیوژها وجود دارد:
- نقص مکانیکی: کار کردن سانتیفیوژها نیازمند نیروی مکانیکی بالاست که موجب فرسایش روتور، نقص دستگاه، از بین رفتن نمونه و در نهایت خرابی سانتیفیوژ می شود.
- تعلیق آئرسول ها: سانتیفیوژ کردن نمونه ها، موجب تولید آئروسول در فضا خواهد شد. به همین دلیل سانتیفیوژ کردن مواد خطرناک، طبق قوانین خاص انجام شود. اکثر حوادث سانتیفیوژها مربوط به خطای فردی است بنابراین آموزش افراد قبل از استفاده از سانتیفیوژها ضروری است.
- انواع سانتیفیوژهای معمول:
- میکروفیوژها: این سانتیفیوژها 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.
- سانتیفیوژهای تدارکی (preparative): این ها در دو مدل bench-top (روی میزی) و floor model (زمینی) ساخته می شوند و روتورهای بزرگتر متنوعی را در خود جای می دهند معمولا برای حجم های بزرگتر هستند (حجم های 1 لیتری).
- اولترا سانتیفیوژها: 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 و همچنین پمپ خلا محافظت کند. این سانتیفیوژها، گران ترین مدل بوده و اغلب در آزمایشگاه های مرکزی موجود می باشند.



به ترتیب از سمت چپ: میکرو فیوژ، سانتریفوژ تدارکی و اولتراسانتریفوژ پروتکل سانتریفوژ کردن:

قبل از استفاده هر سانتریفوژ، باید با کار کردن آن آشنا شد و به SOP (پروسه کار کردن ایمن آزمایشگاهی) و به راهنمای کار کردن دستگاه مراجعه کرد. همچنین راهنمای کار با سانتریفوژ، کنار آن نصب گردد. انتخاب روتور و تیوپ: اولین اقدام برای استفاده سانتریفوژ، انتخاب تیوپ و روتور می باشد. در انتخاب تیوپ چند نکته باید رعایت شود:

- باید با مواد شیمیایی که سانتریفوژ می شوند، سازگار باشند
- باید قادر به تحمل نیروی مکانیکی سانتریفوژ مورد نظر باشد.
- باید تیوپ حجم مناسب داشته باشد (بیش از $\frac{3}{4}$ ام لوله پر نشود).
- باید تیوپ دارای سیستم بسته شدن محکم و مناسب باشد.

Rpm و rcf :

در بسیاری از پروتکل ها سانتریفوژها به صورت $g \times 123$ لیست شده اند. rcf به نیروی نسبی سانتریفوژ و یا به گراویته \times نیرو ($g \times force$) 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:

$$rcf = 1.118 \times 10^{-5} \times r \times rpm^2$$

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

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 سانتریفیوژ 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 اولتراسانتریفیوژ، نیاز به توازن در حد 0/001 گرم است.

در طول سانتریفیوژ کردن :

- درب سانتریفیوژ 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 کردن ایمن سانتریفیوژ و بدون لغزش، آن را ترک کرد.

- یک یادداشتی در کنار سانتریفیوژ نصب که دسترسی به کاربر را نشان دهد.

پس از اتمام سانتریفیوژ:

• 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 سانتریفیوژ کردن: شرایط زیر، وضعیت اضطراری در نظر گرفته می شوند:

• نشتی در سانتریفیوژ وجود دارد.

• کارکرد نادرست سانتریفیوژ

• نقص روتور

• شکستن لوله ها

زمانی که سانتریفیوژ 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:

• فوراً 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 و نشت 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.

غالباً، نقص روتور به دلایل زیر رخ می دهد:

• روتور، نامناسب انتخاب شده باشد.

• نمونه ها کاملاً 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 مثل hot plate، توری گرمایی، heating mantle یا وسایل مشابه به جای هیتر گازی استفاده کرد، بدلیل اینکه منابع گرمایی الکتریکی ایمن تر میباشند.

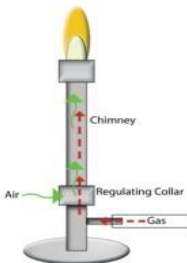
حمام های بخار برای تامین دماهای زیر 100 درجه سانتی گراد مناسب هستند. در این حمام ها خطر جرقه یا شوک وجود ندارد.

چراغ بونزن Bunsen burner

چراغ بونزن، شعله مستقیم را در دمای بالا ایجاد می کند که وجود این شعله در آزمایشگاه 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 از استفاده، 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 یافتند 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.

در آزمایشگاههای میکروبیولوژی معمولا از اتانول 70٪ به عنوان ضد عفونی کننده قبل از فلاماژ وسایلی مانند پنس یا قیچی استفاده می کنند. هرچند این روش موثر در ضد عفونی 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

درهیترها، عنصر حرارتی در لایه 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، عبارتند از:

• 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.

• از ریختن آب و یا مواد شیمیایی دیگر بر 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 در صورت نیاز به شرایط دمایی پایدار و همچنین کوچک و نامنظم بودن ظرف، استفاده می شود. برخی احتیاطاتی که در صورت استفاده از حمام روغن باید در نظر گرفته شوند عبارتند از:

• جلوگیری از ریختن 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 200 درجه سانتی گراد مناسب است و روغن سلیکون برای دماهای بالای 300 درجه سانتی گراد 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 از جک 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 گازها یا بخارات وجود داشته باشد، در این صورت باید به داخل هود fume یا 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 و باید 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 رادیسیون مشخص شوند. اطلاعات تماس برای کاربران در دسترس باشد تا در مواردی 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: در این 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 و خارجی 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 در آزمایشگاه، یک واحد با نام "نگهداری مواد قابل 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 در یخچال، 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 و قابل اشتعال وجود دارد:

- ظروف به طور مناسب بسته شوند. ظروف باید کاملا بسته شوند. بشر، فلاسک، پتری دیشها و 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 سردخانه 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 و باید 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، سریعاً 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

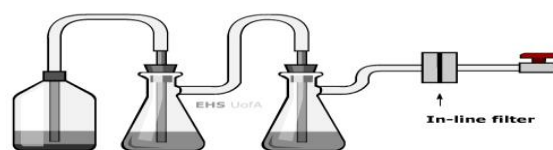
گرمخانه ها و انکوباتورهایی که حاوی مواد زیستی خطرناک هستند، باید با یک برچسب مواد خطرناک زیستی مشخص شوند. به علت دمای بالای آنها امکان اینکه آلودگی در انکوباتور، به سرعت خارج از کنترل شود، وجود دارد. رفت و آمد پرسنل خدماتی به این محل ها جلوگیری شده و ماهانه توسط اعضا آزمایشگاه تمیز شوند. از ضد عفونی کننده متناسب برای ارگانیسیمهای 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 گروه های دیگر استفاده می شوند، مطلع باشند. همچنین، همه آزمایشات باید نام ارگانیسیم و شخص آزمایش کننده مشخص شود. دمای انکوباتورها را می توان تغییر داد. انکوباتور های منفرد، دمایشان قابل تنظیم می باشد اما باید اعضای جدید، از پروتکل مرتبط با تغییرات آگاه باشند. نام و شماره 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 آئروسول است. اقدامات ایمنی برای به حداقل رساندن این خطر برای پرسنل آزمایشگاه باید انجام شود.
- پی پت کردن با دهان، ممنوع می باشد و خوشبختانه دیگر این کار صورت نمیگیرد. پی پت کردن با دهان، پرسنل آزمایشگاهی را در معرض مواد شیمیایی خطرناک و همچنین مواد عفونی قرار می دهد.
- وسیله مکانیکی به نام Pipet Aid یا 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 آئروسول را تولید خواهند کرد، باید جلوگیری شود.
- خارج کردن مایعات با فشار از پیپت، موجب تولید آئروسول 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 پمپ های 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 هودها 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 در خط 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 و سرنگ، نیاز به احتیاط زیادی دارد. پرسنل آزمایشگاه باید ضرورت این تجهیزات را در کار خود 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 و آزمایشگاهها 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 از سر سوزن می شود.

■ سوزن را باید دور از خود یا دیگران نگه داشت.

■ سوزن را نباید دو بار استفاده کرد.

■ سوزن و سرنگ را نباید به داخل ظروف بازیافت و یا ظروف زباله های معمولی ریخت.

■ سوزن و سرنگ 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 ضعیف 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 مواجهه 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 از سه 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 همکاران برای آزمایش قرض بگیرید.

بازیافت

استفاده از برنامه بازیافت مواد شیمیایی دانشگاه.

پردازش کردن پسماندهای آزمایشگاهی

این بخش به پردازش، طبقه بندی و ظروف 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 و سیلندرهای 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 مواد خطرناک ضد عفونی گردیده باشند و در صورتی که به طور صحیح، ضد عفونی نشده باشند، موجب ایجاد خطر 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 ضد عفونی نشده، امتناع ورزند.

■ برخی از گروه های تحقیقاتی، پسماندهایی که بطور مناسب ضد عفونی شده را مستقیماً در سطهای زباله محوطه دانشگاه، میریزند. در صورت انجام این کار، باید همه دستورالعمل های مربوط به حذف و خنثی 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 گروه های 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، ضد عفونی 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 پیرون را نابود می کند.

ضد عفونی کردن: تیماری که تقریباً 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.

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

• محصولات جانبی و حواسط 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 گلیکول

• 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 از دستورالعملهای زیر پیروی شود.

تمامی پرسنل آزمایشگاه باید از چگونگی 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 پارافیلیم، فویل، چوب پنبه مجاز نیست. اگر آزمایشگاه مقادیر زیادی از پسماندهای قابل اشتعال و یا قابل 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 مجدداً استفاده شود.

• درب ظروف پسماند همیشه باید بسته باشد جز در مواردی که به آن پسماند اضافه می‌شود.

• پسماندهای شیمیایی به شرح زیر تفکیک شده اند:

○ تفکیک پسماند های مایع و جامد 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 رادیواکتیو 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 می‌باشد.

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

ظروف پسماند های آزمایشگاهی

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

کیسه های سیاه دفع پسماندهای معمول

سطل های زباله حاوی کیسه های زباله سیاه، توسط پرسنل خدماتی خالی می‌شود. کیسه های سیاه معمولی، فقط برای جمع آوری کاغذهای غیر آلوده و زباله های اداری استفاده می‌شوند. 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 می‌باشند.

مواد آزمایشگاهی که در تهیه مواد شیمیایی، رادیواکتیو و مواد خطرناک زیستی استفاده نشده است، می‌توان 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 محللهایی 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 می دهیم. برخی گروههای تحقیقاتی، پسماندهای اتوکلاو شده و وسایل مصرفی آزمایشگاهی را مستقیماً در سطهای 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 از 10 کیلوگرم، در یک جعبه قرار داده نشود. توجه داشته باشید در صورت نگهداری پسماند های بیولوژیکی بیش از 24 ساعت، باید در دمای 4 درجه نگهداری شده تا از ایجاد بو و تکثیر عوامل میکروبی، جلوگیری شود.

سطهای 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، تراژن، داروهای سیتوتوکسیک یا مواد شیمیایی بسیار بد 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 در سطل 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 از دیگر مواد زائد روتحت شرایط سازگار با مواد خطرناکش، نگهداری گردد(به عنوان مثال، مواد بیولوژیک در 4درجه سانتیگراد، آلاینده های شیمیایی مضر، در fumehood 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 و سر 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 و خطرناک بر روی ظرف زده و در جای امن و مناسب قرار داده شود.

حمل و نقل مواد خطرناک

غالباً نیاز به انتقال مواد خطرناک (بیولوژیکی، شیمیایی و رادیواکتیو) در داخل ساختمان ها و گاهی بین ساختمان ها وجود دارد. دو نکته مهم را در هنگام حمل و نقل مواد خطرناک آزمایشگاه، باید رعایت گردد:

- حصول اطمینان از ایمنی کارکنان، مردم و محیط زیست در طول انتقال و در صورت وقوع نشت.

- درک عمومی از ایمنی موادی که انتقال داده میشود، ایجاد شود. محققان باید آگاه باشند که 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 استثناً 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 مثلاً 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 برجسیبی 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 نشستی، 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 چرخدار CART برای انتقال مواد شیمیایی بین ساختمان ها استفاده شود و کیت نشت و وسایل محافظتی شخصی PPE مورد نیاز هم حمل شود.

- نباید 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، ضد عفونی 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 نکنند. .

• 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، ضد عفونی 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 آلامر 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 در آورید 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 را گذرانده 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."

نشتهای 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 دیپارتمانی/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 در همه 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 1:1:1 سدیم 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 میکنند 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 بزرگ 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 و افراد 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 آئروسول 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 ارگانسیم مورد استفاده، دوز پایینی برای ایجاد عفونت داشته باشد و یا بیماریزا (ویروالانس) 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 تنفسی 99

- دستورات عمل 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 و بینی N99 (موجود در 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 کننده 10٪ تازه تهیه شده، توسط فرو بردن یا اسپری کردن آغشته و اشباع نمائید
 - بدون چلانیدن، 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 ضد عفونی نمودن محل نشت شده و مانع از تولید آئروسول 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 نیاز از 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 آئروسول ها، 15 دقیقه محل را ترک کنید. اگر نشت در کریدور و یا محل بدون درب اتفاق افتاد، 15 دقیقه را منتظر نشده و سریعاً مرحله بعدی انجام گیرد.
 - تقریباً نیمی از سطل کیت نشت را با محلول سفید کننده 10٪ پر کنید (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 چلانیدن، 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 آئروسول 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 کاملاً 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 نمایید.

• 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 خوردگی 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 کتان *cheesecloth* یا دیگر مواد جاذب را انتخاب کرده تا بتواند بطور کامل سطوح در معرض نشت را پوشاند.

• 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 چلانیدن 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، ضد عفونی 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 نماید.

• 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

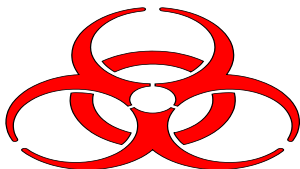


مفاهیم ایمنی زیستی، دومین بخش از اصول ایمنی آزمایشگاهی است که با انواع مختلف مواد خطرناک زیستی (biohazardous) که در طول تحقیقات، بالین، آزمایشگاه مواجه می شوید را آشنا می سازد. برای محافظت از خود و دیگران در برابر این خطرات، بایست دستورالعملهای اجرایی استاندارد (SOP) و ارزیابی های پیشگیرانه پیروی گردد.

تعریف

مواد خطرناک زیستی (Biohazards) مواد با منشأ 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 شیمیایی Dow 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 در اصول ایمنی زیستی:

مواد خطرناک زیستی، عواملی هستند که می توانند تأثیرات 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. بنابراین باید تصور کنیم که خطر وجود دارد و همه 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 عموماً، 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 از عملکرد 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 از 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 جزئیات 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 برای LAIs 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

- نفوذ نشت ها یا پاشیدن به داخل پوست سالم یا آسیب دیده

- تماس با سطوح، تجهیزات و مواد آلوده

3- استنشاق: خطرناک ترین نوع در معرض قرار گیری می باشد بدلیل اینکه فهمیدن استنشاق آئروسول های عفونی، مشکل بوده و به محض ورود آئروسول ها از طریق تنفس، شخص مبتلا دیگر کاری برای پیشگیری نمی تواند انجام دهد. این دشواری مرتبط با آئروسول 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 آئروسول در شرایط غیر ایمن، اطلاعی ندارند. ردیابی و تشخیص منشأ عفونت در این نوع مشکل می باشد. برخی روشهای آزمایشگاه تولید کننده آئروسول از عوامل عفونی و معلق ماندن آنها برای مدت زمان طولانی، عبارتند از:

- ✓ پی پت کردن

- ✓ هموژنیزاسیون

- ✓ لیوفیلیزاسیون

- ✓ سانتریفوژ کردن

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:

- تعداد کل 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

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

96٪ از موارد LAIs باکتریها و ویروسها می باشند و این عفونتها در آزمایشگاه بالینی و هم در آزمایشگاه تحقیقاتی رخ می دهد. بنابراین LAIs در این آزمایشگاهها غالباً 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)

در نوامبر 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 3 بودند.

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 طور اشتباه 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 کار آزمایشگاههای 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 زیر گزارش 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 آئروسول بدرستی انجام نمی شد.
- دستورالعملهای کارکردن و مدیریت به کارکنان داده نشده بود
- موارد دیگر، مثل بو کردن محیط کشت

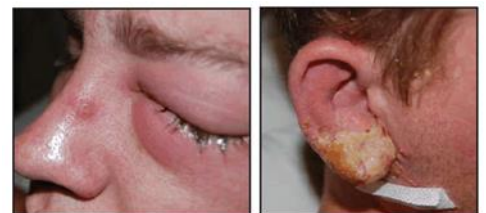
این موارد در 916 نفر از کارکنان آزمایشگاه منجر شد که 679 نفر از آنها در معرض خطر ابتلا بالایی قرار بگیرند. از ژانویه 2008 ، هیچ بیماری به CDC گزارش نشد.

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 واکسینا (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 ژوئیه 2008 ، یک کارمند انسیتیتو ویرجینیا متوجه عفونت در لاله 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 مواجهه 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 از عفونت 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 شود، برخی اتفاقات بعدی محدود می شود.
 - 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 شود.
 - 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. تیترا 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 یا آوریل 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 ارگانیسرها 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 ارگان‌سما پیروی می‌شد، این حادثه اتفاق نمی‌افتاد.

گروه‌های خطر:

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

در این بخش، در مورد گروه‌های خطر بحث خواهد کرد و با شیوه تخمین گروه خطر ارگان‌سما که با آن کار می‌کنید آشنا می‌کند. پروسه ارزیابی خطر، اولین مرحله در تعیین سطح محدودیت و شیوه‌های کاربردی مورد استفاده با مواد خطرناک زیستی، می‌باشد. واحد ارزیابی خطر، ضرورت انجام ارزیابی خطر و همچنین فاکتور هایی که بایست در نظر گرفته شود را توضیح می‌دهد. 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 می‌باشد. 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 ارگان‌سما

● 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 می‌باشد. (خطر کم فردی و اجتماعی)

گروه خطر 2: پاتوژن می‌تواند موجب بیماری در انسان شود ولی در شرایط نرمال آزمایشگاهی، احتمال خطر جدی، برای کارکنان آزمایشگاه، اجتماع و محیط بعید می‌باشد. قرار گیری در معرض این گروه می‌تواند سبب بیماری شود ولیکن درمان به آسانی در دسترس و ریسک پخش آن محدود می‌باشد. (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 نمی‌یابد 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 ارگانیسرها در کدام گروه از گروههای خطر قرار 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 ارگانیسرها 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 ارگانیسرها را تقلیل دهند. در مواردی که اطلاعات ناقص یا متناقض است، بهتر است که محافظه کارانه عمل شود (بالا ترین طبقه بندی گروه خطر را برای ارگانیسرها 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 در هنگام 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 خطرهرارگانسیم 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 ارگانسیمهای 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 در هر 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 metal 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 آئروسولها 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 موثر در 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 آئروسول، 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:

● بکارگیری روش مناسب در آزمایشگاههای 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 و افراد دیگر باید آموزش 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 باید از تجهیزات حفاظتی مناسب (PPE) زمان تماس با عوامل عفونی استفاده کنند.

3 - طراحی تاسیسات:

● استفاده از هودهای ایمنی زیستی در مواردی که امکان تولید آئروسول 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-3 باید 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 ارگانیسمی 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 نو ترکیب
- 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 و نیز 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 ارگانیزم های پاتوژنیک خاص، کمتر می باشد.

برای مثال تولید 5 لیتر اشر شیا کلی انتروهموژنیک 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 ارگانیزم
- 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 میکروب 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 و نظارت بی عیبی و یکپارچگی سیستم های محدود کننده برای یافتن چکه های جزئی مهم است.
 - کشت ارگانیزم های زنده باید در محدوده بسته صورت گیرد تا خطر آزاد شدن آئروسول 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 ارگانیزم 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 دارد استاندارد های محدودده ها، حداقل استاندارد هایی هستند که باید در تمام آزمایشگاه های لحاظ شوند.

کابینت های ایمنی بیولوژیکی BSC

کابینت های ایمنی بیولوژیکی به کابینت های ایمنی اطلاق می شود که عموماً در آزمایشگاه ها به عنوان وسیله محدود کننده مواد آئروسولی 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 آئروسول ارائه شد. این وضعیت تا اوایل دهه 1940 بدون تغییر باقی ماند.

به عنوان بخشی از پروژه منهن، کمپانی دکتر آرتورز، فیلتر HEPA را جهت محدود نگهداشتن آئروسول 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 زیستی Biosafety توصیه میکند که کار با عوامل زیر، باید در داخل محدوده های در بر گیرنده آئروسول انجام گردد.

- هر نوع میکرب (باکتری، ویروس، پرپتون) 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

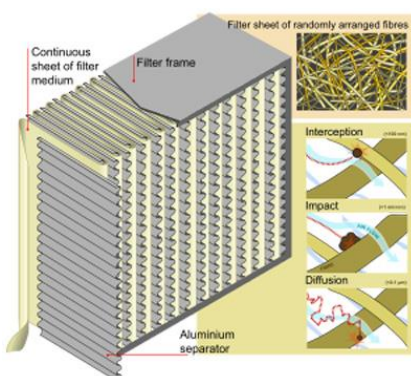
فیلتر های HEPA

فیلترهای هوا با کار آبی 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 فیلترهای 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 از 0.3 میکرومتر می باشند. فیلترهای 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 تقریباً غیر محتمل می باشد
- کارآیی فیلتر، بسیاری از این ذرات را به دام می اندازد.

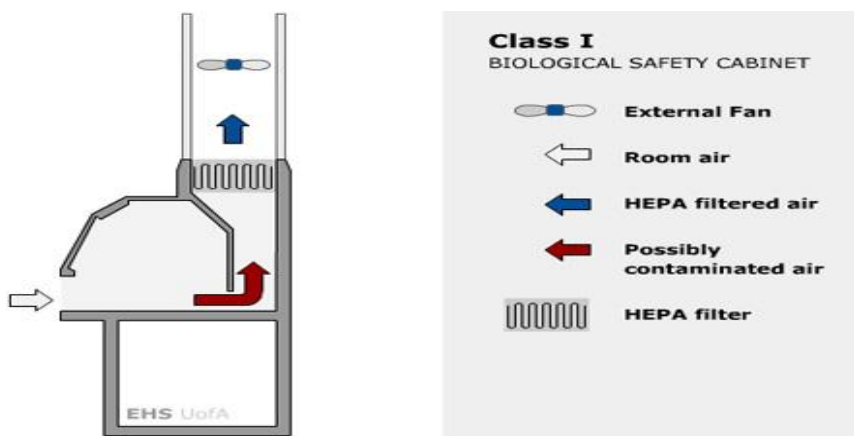
فیلترهای هپای داخل کابینت های BSC سالانه توسط مسئولین ایمنی زیستی، آزمایش و در صورت نیاز جایگزین می شوند.

انواع محفظه های محدود کننده ذرات آئروسل

به طور کلی دستگاه های محدود کننده ذرات آئروسل 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 نباید استفاده 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.

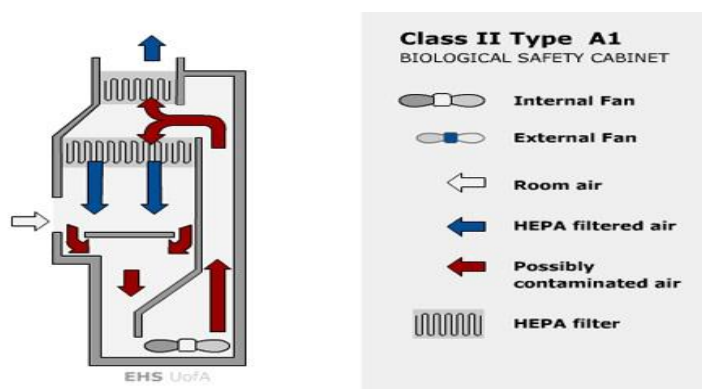
نکات دیگر در مورد این نوع کابینت ها عبارتند از:

- ✓ هوا دور از اپراتور در جریان است و 100٪ هوا خارج می شود
- ✓ برای کار با رادیو نوکلئوتیدها و مواد شیمیایی توکسیک فرار استفاده می شود (منوط به تنظیمات موقعیت منطقه)
- ✓ برای کار با عوامل گروه های خطر 1 و 2 و 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 دو تیپ A وجود دارد که 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 باشند. دیاگرام شماتیک هر دو تیپ در پایین دیده می شود



ویژگی های مشترک هر دو تیپ شامل:

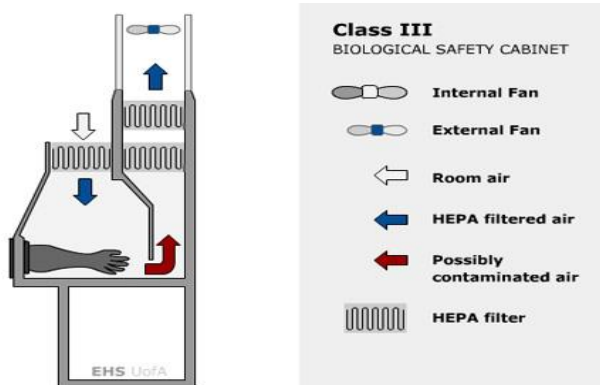
- ✓ دسترسی در قسمت باز جلوی کابینت
- ✓ هپا، جریان هوان عمودی و غیر جهت دار داخل محفظه را فیلتر میکند
- ✓ هپا، هوای خارج شده را فیلتر کرده که یا به داخل اتاق و یا به سیستم خروجی می فرستد
- ✓ 30٪ هوای خارج شده پس از فیلتر شدن به داخل آزمایشگاه بازگردانده می شود و یا با خارج ساختمان راه می یابد.
- ✓ 70٪ 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 1 و 2 و 3 مناسب هست

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 1 و 2 و 3 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 کاملاً 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 و ابتلا به عوامل عفونی کمک خواهد شد.

تجهیزات محافظتی شخصی PPE

- تجهیزات محافظتی شخصی استاندارد باید برای آزمایشگاه CL-2 (سطح محدودیت 2) پوشیده شود.
- هنگام کار کردن در داخل BSC، بسیاری از افراد ترجیح داده بجای پوشش آزمایشگاهی کاملاً 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 کاملاً 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 داده 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.

ضد عفونی 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 گردد. پارچه های کتانی قابل آغشته به ضد عفونی 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 قرارداد یک تکه کاغذ در قسمت 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 در جلو باید ثبت و در جدول نوشته شود تا تغییرات ناگهانی بررسی شود. تغییرات در حد $\pm 0/25$ 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 قرارداد، با ضد عفونی 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 و خروج ضد عفونی 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 از اطمینان حاصل شود که همه ذرات آئروسول 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

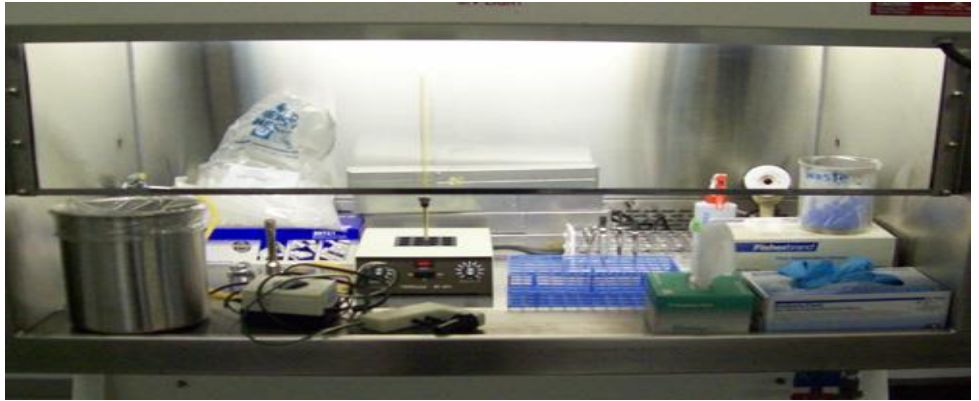
بعضی از کابینت های جدید که به لامپ UV مجهز نیستند، در صورت مجهز کردن به لامپ UV ، امکان اختلال در جریان هوای کابینت وجود داشته و عملکرد صحیح کابینت را تحت تاثیر قرار می دهد

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 شدیداً الگوی هوای داخل 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 خطرناک 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 نیاز زیاد برای فرآورده های کشت سلول، گاهی 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 بیولوژیک BSC

بخش ایمنی زیستی، سالانه کابینت ها را بر 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 ضد عفونی 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 آئروسول شیمیایی دی اکتیل فتالات (DOP) پر می شود. سپس فیلتر ها توسط فتومتر اسکن می شوند. هر گونه نشت آئروسول 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 ترمانومتر 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 فوراً کابینت خاموش گردد. تمامی ظروف در باز حاوی مواد خطرناک زیستی باید بسته شده و سطوح آنها ضد عفونی و از کابینت خارج شوند. تمام تجهیزات و سطوح کابینت باید ضد عفونی 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، ضد عفونی کردن شامل استریل کردن توسط اتوکلاو تا شستن ساده با آب و صابون باشد. استریلیزاسیون، ضد عفونی کردن و جلوگیری از رشد میکروب 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 پر یونی 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 از بین 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 ضد عفونی کننده شیمیایی مناسب، سوالات متعددی باید پرسیده شوند:

- میکروارگانسیم هدف چیست؟
 - چگونه میکروارگانسیم به حالت معلق در می آید؟ (در جامد یا مایع)
 - بالاترین غلظت سلول هایی که ضد عفونی می شوند، چیست؟
 - آیا تماس موثر با اشیایی که ضد عفونی 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 ارگانسیم هایی که بر علیه آنها موثر هستند را توضیح می دهد. پرسنل باید به اثر ضد عفونی کننده بر ارگانسیم مورد نظر و خطرات مرتبط، آشنا باشند. همچنین MSDS برای ضد عفونی کننده شیمیایی باید در دسترس تمامی پرسنل آزمایشگاه قرار گیرد.

موثر بودن ضد عفونی کننده های شیمیایی

هنگام انتخاب ضد عفونی کننده، 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 ارگانسیم

✓ شرایط و ماهیت سطحی که ضد عفونی 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 میباشد پرسنل باید مطمئن شوند که در محیط کار، هوا بخوبی تهویه شود. جدول زیر خواص ضد عفونی کننده های معمول شیمیایی را نشان می دهد

دهد

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

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

اتوکلاو

اتوکلاو، وسیله ای برای استریل کردن و آلودگی زدایی مواد بیولوژیک خطرناک و یا موادی که در معرض مواد خطرناک زیستی قرار گرفته اند است و به صورت روتین برای استریل کردن وسایل آزمایشگاه، محلولها و محیط کشت استفاده می شود. برای این که اتوکلاو به درستی کار کند 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 20 Psi) 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 کار کردن با اتوکلاو همچون سیکل های استریل کردن صحیح مواد و یا پس مانده های مواد را 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 بکنند. 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 اتوکلاو 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 اتوکلاو 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 اتوکلاو 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

- نمایست اتوکلاو با مواد و وسایل بیش از حد پر شود چون در صورت تراکم، از نفوذ بخار جلوگیری شده و کار آیی اتوکلاو 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 کاملاً 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.
- تصویر اتوکلاو 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 از داخل اتوکلاو، 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 از 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 30 دقیقه 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 بعد 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 در صورت 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 و نباید 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 منجر به 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 زیرا در صورت متراکم بودن، بخار اتوکلاو به داخل نفوذ نکرده و مانع از عملکرد صحیح اتوکلاو می گردد.

- همه پسماند های مایع که اتوکلاو خواهند شد بایست در تنگ های دهان گشاد سفالی یا شیشه ای جمع آوری گردند. نباید بیش از 3/4 ظرفیتشان ظروف پر گردند.

- تجهیزات قابل استفاده مجدد که نیاز به استریلیزاسیون دارند (مانند قیچی های جراحی، گلوله های شیشه ای، اسکاپل، قیف ها و غیره) باید در کیسه های پلاستیکی اتوکلاو در سایز مناسب بسته بندی شوند یا در ظروفی که از مواد ضد عفونی کننده پر شده اند غوطه ور شوند (نباید بیشتر از 3/4 ظرفیتشان پر شوند).

- پی پت های پلاستیکی باید از پی پت های شیشه ای جدا شده و در تنگ های دهان گشاد قرار داده شوند (پی پت های شیشه ای و مواد با لبه های تیز مثل آیتم قبلی عمل شوند). پی پت های پلاستیکی نباید در کیسه 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 و پی 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 از 3/4 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 آنها را باید در ظروف پلاستیکی سخت درب دار مانند Sterilite bin قرار داده شوند.

- روی ظروف پلاستیکی سخت باید، برچسب نام گروه تحقیقاتی و شماره تلفن آزمایشگاه چسبانده شود.

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

انتقال

- ظروف پلاستیکی پر شده از مواد و تجهیزات باید با یک میز چرخدار به اتاق مرکزی اتوکلاو انتقال داده شوند و از حمل دستی ظروف خودداری شود.

- اشخاصی که مواد را انتقال می دهند باید بطور مستقیم از آزمایشگاهشان به ساختمان اتوکلاو مرکزی هدایت شوند و از مسیرشان منحرف نشوند (مثل استفاده از دست شویی، مصرف غذا و نوشیدنی).

- 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 و تخلیه مواد برای اتوکلاو شدن، پیروی کنند.

- اگر نشتی از ظروف ثانویه (بسته بندی ثانویه) در هنگام عبور از راهروها و آسانسور و یا در اتاق 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 پسماند‌های خطرات زیستی که تولید کرده اند را به عهده دارند.
- آلودگی زدایی به طریق شیمیایی و اتوکلاو کردن، دو روش اصلی برای خنثی کردن پسماند‌های خطرناک زیستی می باشند.
- اتوکلاو‌ها توانایی ایجاد خطرات قابل توجهی را دارا می باشند: همه استفاده کنندگان، قبل از کار با اتوکلاو، بایست آموزش‌های 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 از ویال‌های اندیکاتور بیولوژیکی بصورت ماهانه صورت می گیرد.
- پرسنلی که ازمکانات اتوکلاو مرکزی استفاده می کنند باید مطمئن باشند که مواد بطور مناسب بسته بندی شده اند.

کارهای حیوانی و زئونوزها

- 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:

- زئونوزها

- آلرژن‌ها

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

ارزیابی خطرات باید شامل همه پروتکل‌ها و استانداردهائی باشد که توسط سرویس‌های حیوانی در دانشگاه تنظیم می شود. زئونوزها، بعنوان "بیماری‌های قابل انتقال از حیوانات به انسانها در شرایط عادی" تعریف می شوند.

سه نوع مخزن برای این نوع عفونت‌ها وجود دارد:

✓ حیوانات وحشی

✓ حیوانات خانگی اهلی

✓ حیوانات آزمایشگاهی

ریسک اکتساب بیماری زئونوزی برای افرادی همچون گروه‌های تحقیقاتی، که با حیوانات وحشی کار می 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 و کارمندان آزمایشگاه حیوانی، سلامتی و ایمنی حیوانات آزمایشگاهی را بررسی می کنند.

پرسنلی که با حیوانات آزمایشگاهی کار می کنند باید نسبت به پتانسیل سرایت عفونت‌های زئونوزی از حیواناتی که با آنها کار میکنند، آگاه باشند.

راه‌های انتقال

راه‌های متعددی برای انتقال بیماری‌های زئونوزی به انسان وجود دارد. بیشتر حیوانات، حاملین بدون علامت برای انتقال میکرو ارگانیسم‌های پاتوژن به افراد می باشند.

شایع‌ترین روش‌های انتقال بیماری‌های زئونوزی عبارتند از:

- آئروسل (استنشاق ارگانیسم‌ها)

- بلع (بلعیدن ارگانیسم‌ها)

- جذب از طریق پوست باز یا غشاء مخاطی

- تزریق (حوادث در فرایند تحقیق)

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

PPE- مناسب

- استفاده مناسب از تجهیزات (BSCs)

- تمرینات تجربی مناسب

پرسنل باید از همه استاندارد ها و پروتکل 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.

سایت CCAC گزارش می دهد که 44٪ افرادی که با حیوانات آزمایشگاهی کار می کنند حداقل به یکی از انواع 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 و احتیاطات مناسب را برای جلوگیری از افزایش LAA انجام دهند.

علائم LAA

واکنش های آلرژیک در افراد 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 هوایی 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 و تهدید کننده زندگی است که خوشبختانه به ندرت اتفاق می افتد و نیاز به درمان فوری و اورژانسی دارد.

ریسک فاکتورها ایجاد LAA

اگر چه ایجاد LAA کاملاً 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 قرار گیری به آلرژن ها

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

• PPE- استفاده از PPE مناسب شامل دستکش ها، ماسک های ویژه و محافظ چشم، قرار گرفتن در معرض 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 و بهداشت 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 از هود های مناسب در دستکاری حیوانات و تغییر قفس، به کاهش ذرات آئروسول کمک خواهد کرد.
- همه کارهای حیوانی در دانشگاه باید توسط یکی از کمیسیون های استفاده حیوانی تایید شود.
- زئونوزها و آلرژن ها دو خطر عمده مربوط به کار با حیوانات است.
- با استفاده از PPE مناسب و پیروی از پروتوکل های ایمنی می توان از بیماریهای زئونوزی پیشگیری کرد.
- توسط روشهای زیر می توان از ایجاد آلرژی نسبت به حیوانات جلوگیری کرد:
 - استفاده از مناسب PPE
 - سطح بالائی از پاکیزگی
 - 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 از آزمایشگاههای تحقیقاتی دانشگاهها استفاده می شوند. استفاده از سل 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 ارگانسیم های پاتوژن را دارا می باشند. سل لاین های می توانند با ارگانسیم های زیر آلوده شوند:

✓ باکتری ها

✓ قارچ ها

✓ ویروس ها

✓ پریون ها

✓ مایکوپلازما 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 و نامیرا 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 آنها باید بوسیله حضور DNA ویروسی یا DNA نوترکیب تغییر یابد

ارزیابی خطرات سل لاین ها

باید ارزیابی خطر دقیقی روی هر سل لاین جدیدی که به آزمایشگاه آورده می شود انجام شود. بعلاوه اینکه ترکیب های نامحدودی از سل لاین ها و دستکاریها وجود دارد لذا بکارگیری رهنمودهای زیر در فرایند 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 ارگانسیم 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 سازگار شده 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 نو ترکیب

علاوه بر معیارهایی که برای ارزیابی سل لاین های غیر نو ترکیب بکار رفت موارد زیر را برای سل لاین های نو ترکیب باید در نظر گرفت:

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

همه موارد بالا پتانسیلی برای افزایش سطح محدودیت (سطح کنترل کننده آلودگی) آزمایش بوجود می آورند. اشخاصی که از تاثیر هر کدامیک 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

منابع On 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 در کنترل 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 هر کدام از آنها توضیح داده می شود.

آلودگی ناشی از میکرو ارگانیسم

سل لاین ها با انواع میکرو ارگانیسم های زیر می توانند آلوده شوند:

✓ باکتری ها

✓ ویروس ها

✓ قارچ ها

✓ مایکو پلاسما ها

اگر ارگانیسیم‌ها به طور بالقوه مسری باشند، آلودگی کشت سلولی با هر کدام از ارگانیسیم‌های بالا معرف یک خطر زیستی است. آلودگی با تعدادی از این ارگانیسیم‌ها بسادگی شناسایی نمی‌شود و اگر تکنیک‌های آسپتیک مناسبی نباشند، آلودگی در تمام سل‌لاین‌های آزمایشگاه پخش می‌شود.

آلودگی باکتریایی و قارچی:

این نوع آلودگی بسادگی آشکار می‌شود. رنگ کشت اغلب تغییر کرده و کدورت افزایش می‌یابد. آلودگی به سرعت غلبه کرده و سل‌لاین‌ها 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 آلوده جدید شروع می‌کنند.

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 سل‌لاین‌ها آلوده دور ریخته می‌شوند.

مایکوپلاسما:

مایکوپلاسماها ذرات بسیار کوچکی هستند و آلودگی‌های شایع در کشت سلولی می‌باشند و تحت تأثیر آنتی‌بیوتیک‌هایی 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 سل‌لاین‌ها می‌گردد، با این وجود اگر جایگزینی آنها به سادگی امکانپذیر نباشد معمولاً کشت سلولی را با پلاسماوسین تیمار می‌کنند. گروه‌های تحقیق باید همه دودمانهای سلولی که وارد آزمایشگاه می‌شوند را از نقطه نظر عفونت مایکوپلاسمات تست کنند و تا قبل از آلودگی زدایی، شروع به کار نکنند.

مایکوپلاسمات و کار حیوانی:

برخی از روش‌های تحقیق، نیاز به تزریق سل‌لاین‌ها یوکاریوتی به داخل بدن حیوانات دارد. علاوه بر ارزیابی خطری در مورد منبع سل‌لاین‌ها و حیوانات گیرنده انجام می‌شود، بایستی سل‌لاین، قبل از تزریق به حیوان میزبان از لحاظ 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. بغير از شرایط خاصی مانند:

- گران بودن یا مشکل بودن رشد سل‌لاین‌ها
- طولانی مدت بودن زمان آزمایشات
- آزمایشات با افزایش ریسک ذاتی آلودگی همراه باشند.

استفاده نکردن از آنتی‌بیوتیک‌ها بهتر می‌باشد. آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند آلودگی که در پروسه آزمایش را پنهان کنند. حذف آنتی‌بیوتیک مزایایی دارد بطوری که پرسنل نسبت به کیفیت تکنیک آسپتیکشان هشیار می‌شوند.

آلودگی بین سل‌لاین‌ها

دومین مشکل در آلودگی سل‌لاین‌ها، آلوده شدن یک سل‌لاین با دیگری است. این نوع از آلودگی معرف یک خطر زیستی است چرا که ایجاد کننده آلودگی، ممکن است خصوصیات 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 لاین‌ها بسیار مشکل می‌باشد. پیروی از رهنمودهای زیر می‌تواند آلودگی بین سل لاین‌ها را به حداقل برساند.

- توجه زیاد به تکنیک آسپتیک
- بایست استوک‌ها از منابع معتبر تهیه شوند. سل لاین‌های تجاری در دسترس، دستخوش آزمایش‌های فراوانی جهت بررسی خلوص می‌شوند.
- روش‌های نگهداری سلولی و فرآیندهای انجماد استوک باید به دقت انجام شود و توسط همه اعضای گروه تحقیق رعایت شوند. همه پرسنلی که با سل لاین‌ها کار می‌کنند باید با روش‌های صحیح آشنا باشند. با برنامه‌ریزی مناسب آزمایش و تکنیک خوب، می‌توان از بیشتر آلودگی‌های سل لاین‌ها 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.

روش‌های 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 از قرارگیری 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 می‌باشد، 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.

مسؤولیت 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 از فضای آزمایشگاه انجام خواهد گردید و سپس اداره ایمنی زیستی، پروانه کار با مواد خونی و بدنی 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 Safety Data Sheets](http://PublicHealthAgencyofCanadaPathogenSafetyDataSheets)

مسؤولیت های فردی

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

همه اشخاصی که با مواد بدن و خون انسان کار می کنند 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 نمونه های بافت و خون انسان، استفاده از تکنیک های 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 می شود. مفهوم احتیاطات جهانی این است:

همه کارکنانی که در تماس با نمونه های بافتی یا خونی انسان هستند باید باور داشته باشند که همه نمونه ها، 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 ضد عفونی نشده

• پرسنلی که اعمال جراحی یا اعمال زیبایی (مثل تاتو و سوراخ کردن گوش) یا صدمات فیزیکی (بریدگی، سائیدگی، سوختگی و غیره) داشته اند که موجب تغییر در یکپارچگی و حالت طبیعی پوست شده، نباید با نمونه‌ها کار کنند تا اینکه صدمات، ترمیم شوند. (بخصوص صورت، سر، گردن، دست‌ها یا بازوها)

- همه دستکارهای نمونه‌ها که بطور بالقوه آئروسول بوجود می‌آورند باید به سمت داخل کابینت ایمنی زیستی هدایت بشوند.
- برای سانتریفوژ این نمونه‌ها، باید از سانتریفوژهای مخصوص حاوی مواد زیستی استفاده شود.
- سطوح کار و تجهیزات باید با استفاده از یک ضد عفونی 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. دستکارهای آزمایشگاهی نمونه‌های بافتی و خونی، به طور بالقوه آئروسول 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 دستورالعمل‌هایی سانتریفوژ ارگانسیم‌هایی که بعنوان RG2 طبقه‌بندی شده‌اند، پیروی می‌کند. ظروف و لوله‌های سانتریفوژ باید داخل BSC بارگیری شوند. لوله‌ها باید خوب بسته شوند. استفاده از درهای راحت باز شو 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 نظر برسند. 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 ایمنیزه شوند .
- همه موارد قرارگیری در معرض مواد بدن و خون انسان باید گزارش شوند، هر چند در زمان وقوع، جزئی به نظر برسند.

اسیدهای نوکلئیک نوترکیب

دستکاری اسیدهای نوکلئیک یک ارگانسیم 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 ارگانسیم‌ها 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 سنتتیک به مولکول DNA ساخته می‌شوند که می‌تواند در سلولهای زنده تکثیر یابند.

معمولاً rDNA 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 می‌شد ترس‌های زیادی نسبت به ایمنی کار وجود داشت اما تحقیقات نشان داد که هیچ اثرات مضر روی پرسنل و محیط ندارد. بیشتر تحقیقات روی rDNA با هیچگونه ریسک خاصی برای پرسنل روبرو نبود. با این وجود برای انجام ارزیابی خطر، سوال‌هایی بوجود می‌آید 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، بعضاً 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 ارگانسیم گیرنده و دهنده
- کارائی تکثیر ارگانسیم نوترکیب
- فاکتورهای بالقوه انکوژنیک و پاتوژنیک مرتبط با rDNA انتقال داده شده
- عملکرد ژن انتقال داده شده
- سطح بیان مورد نظر برای 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 بی‌نهایتی 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 می‌شود، اشتباه گردد.

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

DNA نو ترکیب: 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 با rDNA، 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 می‌شود.

دو عملکرد عمده برای سدهای طبیعی وجود دارد:

- محدود کردن عفونت زائی 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 می‌شوند.

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

- یک ویروس واکسینیا نو ترکیب که گلیکوپروتئین متفاوتی از ویروس را بیان می‌کند در سطح محدودیت ویروس واکسینیا وحشی قرار خواهد گرفت، چون پروتئین به داخل ذرات ویروس ملحق نمی‌شود و بعید است که این دستکاری خواص بیولوژیکی ویروس نو ترکیب را تغییر دهد.

- یک ویروس نوع استوماتیت وریکولار کاذب که بیان کننده 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 می‌شود.

نکات خلاصه:

- کار با rDNA ذاتاً خطرناک نیست.

- ارزیابی خطر جهت تعیین افزایش و بالا 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 می‌باشد که عمدتاً برای تحویل ژن استفاده می‌شوند. در این حاملها، از توانایی ویروس‌ها برای رساندن DNA نو ترکیب (rDNA) به داخل سلول میزبان بهره‌برداری می‌کنند.

حامل های ویروسی استفاده شده اند برای:

• ژن درمانی: حاملهای ویروسی در آزمایش های بالینی هم در invitro و هم invivo بعنوان یک مکانیسم انتقال DNA به داخل حیوانات و انسان استفاده شده اند.

• SiRNA: حاملهای لنتی ویروسی، حاملهای انتخابی جدیدی هستند برای انتقال (short-interfering RNA) SiRNA.

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

• تقریباً 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 می تواند دستخوش وقایع نوترکیب با ویروس های دیگر یا بافتهای غیردلخواه میزبان شده و مشکلات بالقوه ای را بوجود آورد.

در این قسمت بیولوژی سیستم های حامل و ایمنی مربوطه توضیح داده می شود.

سیستم های حامل آدنوویروسی

آدنوویروس ها از 20 سال پیش تاکنون بعنوان یک روش برای ژن رسانی استفاده شده اند.

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

سلولهای عفونی شده می توانند هم تقسیم شوند و هم غیر تقسیم شوند باشند.

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

جنبه های مثبت وکتورهای آدنوویروسی عبارتند از:

• خوب شناخته شده اند و به راحتی دستکاری می شوند.

• پایدارند و قادرند تیترا بالائی از حاملهای نوترکیب تولید کنند.

• قادرند طیف وسیعی از انواع سلولها را عفونی کنند .

• جذب سلولی بالا تا 37kb DNA

• ریسک پائینی از الحاق تصادفی کروموزومی را دارند.

همراه با مزایای زیادی که این سیستم های ویروسی دارند موضوع ایمنی شان باید بررسی شود.

آدنوویروس ها پاتوژنهایی هستند که موجب عفونت های تنفسی از علائم شبه سرماخوردگی تا برونشیت و ذات الریه می شوند همچنین باعث

عفونت های قرنیه و ملتحمه چشم می شوند.

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

روشهای انتقال آدنوویروس ها عبارتند از:

• قطره

• آئروسل

• تزریق

نشانه های قرار گرفتن در معرض آدنوویروس ها عبارتند از:

• بیماری تنفسی (علائم شبه سرماخوردگی)

• ذات الریه

• التهاب ملتحمه (چشم صورتی)

• التهاب قرنیه

اشخاصی که مشکلات سیستم ایمنی دارند ریسک بالاتری از بیماری و عوارض مربوطه را دارند و باید احتیاط را در کار با این سیستم‌های حامل پیشه کنند.

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

• بهبود ایمنی سیستم حامل

• بهبود هدف‌گیری انتقال ژن

• افزایش کارایی بیان ترانس ژنهای دلخواه

در مقالات اغلب به نسل‌های حامل‌های آدنووایروس اشاره می‌شود که در زیر توضیح داده شده است: حامل‌های آدنووایروس نسل اول: در این حاملها، کاست‌های ژنی E1 و E3 حذف شده است. حذف این ژنها به دو منظور انجام شده است: اجازه ورود DNA خارجی و نقص در تکثیر DNA ویروسی و تولید پروتئین‌های کپسید ویروسی می‌باشد. نواحی E1 و E3 مسئول رونویسی اولیه ژن در ژنوم آدنووایروس است.

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

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

«محققین باید از نوع حامل‌های آدنووایروس که در گروه تحقیقاتی استفاده می‌کنند آگاه باشند تا وقایع بالقوه‌ای که منجر به تولید ویروس دارای عملکرد و قدرت تکثیر می‌شود، را بدانند.»

سیستم‌های حامل لنتی ویروسی و رتروویروسی

سیستم‌های حامل رتروویروسی

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

ارتورتریورینه (Orthoretrovirinae) و اسپومارتروویرینه (Spumaretrovirinae). خانواده ارتو رتروویرینه به شش گروه تقسیم می‌شوند که به خانواده ارتو رتروویرینه پرداخته می‌شود. 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 - مورین (MoMuLV)، ویروس تومور پستان موش (MMTV) و ویروس فلین لوکمی (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) می‌باشند. این ویروس‌ها قادر به ایجاد مرگ و بیماری مهمی در میزبانان هستند.

ثابت شده است که لنتی ویروس‌ها به عنوان سیستم‌های حامل، ابزار مفیدی برای رساندن مولکول DNA نوترکیب به سلول‌های میزبان می‌باشند. 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 ایجاد می‌کند. 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 سرطان‌زایی

✓ جهش‌زایی 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 بسته‌بندی، شامل ژن‌های فرعی HIV است که می‌تواند منجر به تولید RCVs 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 (تیتراژ 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 افزایش‌دهنده 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 را کاهش می‌دهد

• ایجاد سل‌لاین‌های پایدار بسته‌بندی‌کننده - که بصورت پایدار توالی بسته‌بندی‌کننده را بیان و موجب کاهش احتمال تولید RCVs می‌شود

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 ژن درمانی استفاده کنیم.

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

همانند حامل های آدنوویروسی، بایستی پرسنل از سیستم های حاملی که با آن کار می کنند آگاه بوده و وقایع ضروری برای تولید ویروس های قابل تکثیر را بفهمند.

ارزیابی خطر سیستم های حامل ویروسی

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

ترانس ژن

● ماهیت ترانس ژن ورودی: انکوژن های شناخته شده یا ژن های با پتانسیل سرطان زائی بالا نیاز به مراقبت خاصی دارند. همچنین فاکتورهای رشد و سیتوکین ها، نگرانی های ایمنی را افزایش داده است.

● حضور عناصر غیرکدکننده: گاهی مواقع این عناصر برای افزایش بیان ژن استفاده می شوند، اما در بعضی موارد یک پروتئین به طور بالقوه انکوژنیک را بیان می کنند. رایج ترین مثال، عنصر تنظیم کننده 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

● تیتراژ حامل و مقدار کلی حامل

● پتانسیل ایجاد ویروس های قادر به تکثیر (RCVs) از اجزاء حامل.

● تعداد وقایع نوترکیبی که برای ایجاد RCV ضروری خواهد بود.

● تعداد ژن های اساسی که از سیستم بسته بندی حامل حذف شده اند.

میزبان

● در افراد HIV مثبت، امکان نوترکیبی ویروس بومی با حامل، وجود دارد (این مشکل با حامل های نسل آخر کاهش پیدا کرده است).

● استفاده از میزبان های حیوانی: آدرس محل نگهداری پس از تزریق حامل باید مشخص شود.

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

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

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

استانداردهای محدودیت برای سیستم‌های حامل ویروسی

PHAC (قوانین آژانس بهداشت عمومی کانادا) بدون توجه به نسل سیستم حامل، همه این سیستم‌ها 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 آئروسول را محدود می‌کند، انجام گردد. از روتورهای سانتریفیوژ 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 جایی 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 بی‌اهمیت 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 باید 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 پوشانند 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 زیبایی داشته‌اند (البته فقط به تاتو یا پیلینگ محدود نمی‌شود) یا صدمات فیزیکی (بریدگی‌ها، سائیدگی‌ها 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. هرنشستی 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.

- آلودگی زدائی همه سطوح کار و تجهیزات استفاده شده با سیستم حامل، روزانه با یک ضد عفونی کننده موثر بر علیه ویروس های پوشش دار و بدون پوشش صورت گیرد. دستها حتی در صورت دستکش، باید بطور منظم در طول کار و قبل از خروج از BSC آلودگی زدائی 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 کار نزدیکترین 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 کنترل آلودگی برای کار با سیستم های حامل دارند باید با محقق اصلی یا با اداره ایمنی زیستی جهت دریافت توصیه و اطلاعات بیشتر تماس بگیرند.

سیستم های حامل ویروسی: نکات خلاصه

- سیستم های 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 می کنند، آگاه باشند.
- هنگام کار با سیستم های حامل ویروسی، بایستی ارزیابی خطر صورت گیرد.
- بخش ایمنی زیستی به سیستم های حامل ویروسی که طبق بایگانی ایمنی زیستی گروه لیست شده، نیاز دارد.