

## بنام خدا

مراقبت‌های ویژه برای جلوگیری از ایجاد آلودگی‌های ناشی از مصرف مواد شیمیایی و بیولوژیک خطرناک در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی

دانشکده پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی شیراز

تدوین: کمیته علمی "بهداشت و ایمنی کار دانشکده پزشکی"

دکتر زهره مصطفوی پور

دکتر حسین میرخانی

دکتر فخرالدین نقب‌الحسینی

دکتر نهال هادی

مدیریت و تصحیح: دکتر فخرالدین نقیب‌الحسینی

تابستان ۱۳۸۵

تحقیقات مولکولی در دهه های اخیر موجب تحول در تمام زمینه های علوم زیستی و پزشکی شده است. انجام اینگونه آزمایشات اغلب نیازمند استفاده از مواد شیمیایی، بیولوژیک و یا رادیواکتیو می باشد که بعضاً یا خود سمی بوده و برای سلامتی مضر میباشند و یا پس مانده های حاصل از آنها می تواند موجب آلودگی محیط زیست شده و سلامتی افراد جامعه را به خطر اندازد. محققین باید همواره در نظر داشته باشند هدف از انجام اینگونه آزمایشات که گسترش مرزهای دانش و یا شناخت بیماریها و یافتن راههای جدید برای درمان آنهاست خود موجب به خطر انداختن سلامت دیگران و یا آسیب به محیط زیست نشود. اکثر دانشگاهها و مؤسسات تحقیقاتی معتبر دنیا دارای سیاست مدون در استفاده و نگهداری از مواد شیمیایی و بیولوژیک خطرناک و پس مانده های حاصل و دفع آنها هستند که رعایت و اجرای آنها بطور جدی کنترل و مراقبت می شود. با گسترش تحقیقات مولکولی در دانشگاهها و آزمایشگاههای تحقیقاتی و حرفه ای در کشور ما اجرای چنین سیاستها و نظارت بر آن ضروری می باشد. در جزوه حاضر که به مرور تکمیل خواهد شد راههای صحیح و ایمن بکارگیری از مواد شیمیایی و بیولوژیک در آزمایشگاهها شرح داده شده و بطور اختصار در مورد نحوه درست استفاده-نگهداری بعضی از این مواد شیمیایی و بیولوژیک خطرناک و راههای صحیح دفع پسمانهای حاصل از آنها بحث خواهد شد. رعایت این دستورالعملها برای حفظ سلامتی محققین و محیط زیست ضروری می باشد. لازم به تذکر است که ورود اینگونه مواد هر چند به مقدار اندک ولی مداوم به محیط سبب آلودگی تدریجی آبهای زیر زمینی گشته و در طولانی مدت سلامت حیات را به خطر می اندازد. از طرف دیگر بسیاری از اینگونه مواد در برابر تجزیه بیولوژیکی توسط میکروارگانیسمها مقاومت کرده و زمان ماند نسبتاً طولانی خواهند داشت. در مواردی نیز تجزیه اینگونه آلاینده ها یا ترکیب آنها با عناصر و عوامل دیگر ممکن است باعث افزایش ویژگی سمی آنها گردد. بنابراین احساس مسئولیت و عدم سهل انگاری در این خصوص مشارکت آگاهانه در حفظ محیط زیست و حیات نیز محسوب میگردد. بدیهی است در مواردی که استفاده از اینگونه مواد اجتناب ناپذیر است آزمایشات را باید طوری طراحی کرد که تولید پس مانده های شیمیایی و یا بیولوژیک خطرناک حداقل باشد. با امید به مفید بودن راهنمای حاضر آگاهی از نظرات و راهنماییهای صاحب نظران محترم برای تکمیل و رفع اشکالات مورد امتنان خواهد بود.

فصل اول: مراقبت‌های عمومی در برابر مواد شیمیایی.....۴

دکتر فخرالدین نقیب الحسینی

فصل ۲: مراقبت‌های ویژه برای جلوگیری از ایجاد آلودگی‌های ناشی از مصرف مواد

شیمیایی و بیولوژیک خاص در آزمایشگاه‌های زیست مولکولی.....۱۹

دکتر فخرالدین نقیب الحسینی

فصل ۳: مراقبت‌های عمومی در برابر عوامل عفونی.....۳۷

خانم نهال هادی

فصل ۴: مراقبت‌های عمومی برای کشت سلولی.....۵۶

دکتر زهره مصطفوی پور

فصل ۵: مراقبت‌های عمومی برای نمونه گیری از بیماران.....۶۱

دکتر حسین میرخانی

فصل ۶: مراقبت‌های عمومی برای کار با حیوانات آزمایشگاهی.....۶۳

دکتر حسین میرخانی

## فصل اول : مراقبت‌های عمومی در برابر مواد شیمیایی

برای داشتن محیطی سالم و ایمن در محیط کار، تمام دانشجویان و کارکنان آزمایشگاه باید با اصول ایمنی و روش‌های استاندارد استفاده و نگهداری مواد شیمیایی و دفع زباله‌های حاصله و مقابله با خطرات احتمالی آشنایی داشته باشند.

تمام افرادی که با مواد شیمیایی خطرناک سروکار دارند باید در برنامه آموزش شرکت نموده و اطلاعات آموزش داده شده را بکار ببرند.

- تمام مواد شیمیایی موجود در آزمایشگاه در هر گونه ظرف یا لوله باید دارای برچسب باشند و برگه اطلاعات ایمنی برای مواد شیمیایی خطرناک در محیط کار برآحتی در دسترس باشد.
- افراد با خطرات ناشی از کار کردن با هر یک از مواد شیمیایی باید آشنا بوده و قبل از استفاده برچسب اطلاعات روی ظرف ماده شیمیایی را مطالعه کنند.
- روش‌های مقابله با موارد و وضعیت‌های اضطراری را بدانند.
- محل نگهداری تجهیزات حفاظتی مانند دوش اضطراری، چشم شور، ماسک، وسایل اطفاء حریق، زنگ خطر وقوع آتش سوزی و شماره تلفن‌های اضطراری را بدانند.

### مراقبت‌های فردی

- حتی الامکان از کار کردن به تنهایی در آزمایشگاه اجتناب کنید.
- از خوردن، نوشیدن، جویدن آدامس یا استفاده از مواد آرایشی، لنزهای چشمی در محیط‌هایی که مواد شیمیایی آزمایشگاهی نگهداری و استفاده می‌شوند اجتناب کنید.
- از تجهیزات حفاظتی مناسب مانند روپوش آزمایشگاه، دستکش و عینک حفاظتی استفاده کنید. روپوش و دستکش استفاده شده را در خارج از آزمایشگاه نپوشید.
- از بویدن و یا چشیدن مواد شیمیایی خودداری کنید.
- از پی پت کردن و یا سیفون نمودن مایعات با دهان خودداری کنید.

- دستهای خود را همیشه بعد از هر دفعه استفاده از مواد شیمیایی بشوید.

## استفاده از مواد شیمیایی

- بعد از دریافت مواد شیمیایی و بعد از باز نمودن روی آنها تاریخ بگذارید.
- نام ماده شیمیایی را در لیست مواد وارد کنید.
- برای مواد شیمیایی که به مرور زمان تجزیه و یا فاسد می شوند تاریخ خاتمه عمر مفید آنها را نیز یادداشت کنید.
- برای باز نمودن در ظروف از نیرو و فشار زیاد و یا ضربه استفاده نکنید.
- محیط کار را همیشه تمیز نگه دارید.
- تمام کارهایی که منجر به آزاد شدن بخارات سمی ، دود و یا باعث ایجاد گرد و غبار می شوند را در زیر هود شیمیایی انجام دهید.
- در هنگام انجام آزمایشات با مواد شیمیایی خطرناک حتما در محل حضور داشته و پروسه انجام آزمایش را تحت نظارت داشته باشید.
- ظروف شیشه ای را با احتیاط استفاده کنید. وسایل شیشه ای شکسته را در ظرف مخصوص وسایل تیز قرار دهید و در ظروف زباله معمولی آزمایشگاه دور نریزید.
- همیشه وسایل شیشه ای و پلاستیکی استفاده شده را قبل از دادن به مسئول شستشو و یا گذاشتن در سطل زباله آبکشی نمایید.
- در صورتی که هود قادر به مهار کامل پخش شدن بخار و گرد ماده شیمیایی نیست از تجهیزات تنفسی مناسب ( ماسک) استفاده کنید.

## انبار کردن مواد شیمیایی

- مواد شیمیایی خطرناک را در محیطی امن که تنها کارکنان مجاز آزمایشگاه به آن دسترسی دارند نگهداری کنید.

- ظروف بزرگ مواد شیمیایی مایع را در قفسه های پایینی نزدیک به کف آزمایشگاه ولی در ارتفاعی که راحتی بتوان آن را جابجا کرد نگهدارید. برای استفاده از آنها از ظروف ثانویه استفاده کنید.
- مقدار حداقل اینگونه مواد را در محیط کارنگه دارید.
- مواد شیمیایی را که با نگهداری در زمان طولانی ممکن است تغییر کرده و تبدیل به مواد خطر زا شوند (مانند اتر و پیکریک اسید) را قبل از تغییر دور بریزید.

### مواد شیمیایی باید:

- در درجه حرارت و رطوبت مناسب نگهداری شوند.
- از منبع حرارت مانند آون و بخاری دور باشند.
- محیط نگهداری خشک و تهویه کافی داشته باشد.
- دور از نور مستقیم خورشید و یا موتورهای برقی باشند.
- در قفسه و کابینتهای محکم که از کج شدن و افتادن آنها ممانعت کند نگهداری شوند.
- مواد شیمیایی مایع را در ارتفاعی بالاتر از چشم قرار ندهید.
- مواد شیمیایی را بر حسب درجه خطر آنها دسته بندی و جداگانه نگهداری کنید ( برای مثال: مایعات قابل اشتعال ، اسیدهای آلی ، اکسید کننده ها ، مواد واکنش کننده سریع)
- محل نگهداری مواد خطرناک باید حداقل یک ساعت مقاومت در صورت نشت در برابر آن مواد را داشته باشند.

### مواد شیمیایی خطرناک آزمایشگاهی را به ۶ گروه می توان دسته بندی کرد:

- ۱- گازهای فشرده
- ۲- مواد قابل اشتعال
- ۳- اکسید کننده ها
- ۴- مواد سمی و عفونت زا ( مواد خطرناک بیولوژیک )
- ۵- مواد خوردنده

نحوه بکار گیری و حفاظت در برابر هر یک از دسته های مواد فوق در زیر شرح داده میشود.

### ۱- گازهای فشرده

گازهای فشرده به هر ماده ای گفته میشود که تحت فشار بیشتر از فشار اتمسفر نگهداری می شود. اینها شامل گازهای مایع شده بوسیله فشار یا سرما است. گازهای فشرده بر حسب نوع گاز خطرات زیادی می توانند داشته باشند. مانند سمی بودن، اشتعال، خورندگی، اکسید کننده گی.

سیلندر گازهای فشرده اگر بطریق درست استفاده نشوند ممکن است باعث ایجاد خطرات فیزیکی جدی شوند. سیلندرهایی گازپرت شده و صدمه دیده اگر در بدنه آنها آسیب باشد و یا در آنها ناگهانی برداشته شوند ممکن است مانند موشک عمل کنند.

### مراقبتهای عمومی برای سیلندرهایی گاز فشرده

- محتویات هر سیلندر را بطور واضح روی سیلندر باید نوشته شود.
- از کدها و در بهای رنگی برای مشخص نمودن نوع سیلندر استفاده نکنید.
- روی سیلندر بر چسب بگذارید تا نام مصرف کنندگان و تاریخ های مصرف را بتوان بر روی آن نشان داد.
- اگر بر چسب روی سیلندر کنده و یا نامشخص باشد روی سیلندر علامت نامعلوم بگذارید و با شرکت فروشنده تماس بگیرید.

### حمل و نقل سیلندرهایی گاز

- قبل از جابجایی شیر آن را ببندید. رگولاتور آن را برداشته و سرپوش محافظ را روی آن بگذارید.
- سیلندر را همراه با رگولاتور متصل به آن جابجا نکنید.
- سرپوش محافظ را تا به آخر به گردن سیلندر بپیچانید.
- سیلندر را با تسمه یا زنجیر به چرخ حمل سیلندر ببندید.

- از سرپوش محافظ برای حرکت دادن یا بلند کردن سیلندر استفاده نکنید.
- از به هم خوردن شدید یا پرت شدن به زمین آنها جلوگیری کنید.
- سیلندرها دارای نشطی را به بیرون و مکان امن منتقل کنید.
- اگر محتویات آن قابل اشتعال است از هر گونه منبع آتش و جرقه آن را دور کنید.
- شیر سیلندر را در حالت پرتعمیر نکنید. به شرکت برای بردن سیلندر تماس بگیرید.

## نگهداری سیلندرهاى گاز

- سیلندرهاى پر و خالى را همیشه به یک تکیه گاه ثابت مانند دیوار یا ستون نگهدارنده با زنجیر یا تسمه محکم ببندید.
- مکان اختصاصی که تهویه مناسب دارد برای نگهداری سیلندرها استفاده کنید.
- مکان مورد استفاده باید از شعله ، جرقه یا هر منبع حرارت و اشتعال و مدار برقی دور باشد.
- سیلندرها باید سر پا و ایستاده نگهداری شوند.
- سیلندرها را بدور از رطوبت ، نمک ، مواد شیمیایی یا بخارهای مواد شیمیایی خورنده نگهدارید. خوردگی موجب آسیب به سیلندر و یا دریچه آنها می شود.
- در صورت نگهداری در فضای بیرون ته آنها روی زمین نباید قرار گیرد. تماس با زمین باعث خورده و خراب شدن ته سیلندر می شود. از تابش مستقیم نور خورشید به آنها نیز جلوگیری کنید.
- سیلندرها را بصورت دسته بندی شده نگهداری و روی آنها علامت گذاری کنید.
- سیلندرهاى آتش زا را از اکسید کننده ها جدا نگه دارید.
- سیلندرهاى گازهاى خورنده را از اشتعال زا جدا نگه دارید.
- سیلندرهاى پر و خالى را جدا بگذارید.
- سیلندرهاى خالى را علامت بگذارید.
- سرپوش محافظ را موقعی که از سیلندر استفاده نمی شود روی آن بگذارید.



- سیلندره‌های گاز قابل اشتعال را در کنار سیلندره‌های اکسیژن و یا اکسید نیتروژن قرار ندهید.
- سیلندر گاز اکسیژن باید حداقل ۶ متر از سیلندر گاز یا سایر مواد قابل اشتعال دور باشد. اگر این کار امکان پذیر نیست با یک دیوار غیر قابل اشتعال که حداقل ۱/۵ متر ارتفاع داشته باشد آنها را از هم جدا کنید.

### استفاده از سیلندره‌های گاز فشرده

- سیلندرها را روی زمین نگه‌تانید. بعنوان تکیه گاه و برای هر منظور دیگری بجز انتقال و مصرف گاز از آن استفاده نکنید.
- قبل از وصل نمودن اتصالات یا رگولاتور قسمت خروجی گاز را با پارچه ای تمیز و خشک پاک کنید.
- همیشه از رگولاتور درست برای هر سیلندر استفاده کنید. قبل از استفاده رگولاتور را خوب بررسی کنید. اگر اتصال آن به سیلندر براحتی انجام نمی شود رگولاتوری درست انتخاب نشده است.
- اجازه ندهید سیلندر و خروجی گاز با روغن و گریس آغشته شود.
- قبل از باز نمودن خروجی گاز رگولاتور را محکم به سیلندر متصل کنید.
- هنگام باز کردن شیر سیلندر به طرف کنار سیلندر بایستید و صورت خود را از خروجی گاز دور نگه دارید.
- خروجی گاز را به آرامی باز کنید. از آچار برای باز و بسته کردن شیر سیلندر استفاده نکنید. اگر با دست باز و بسته نمی شود برای تعمیر آن را به شرکت برگردانید.
- نشطی گاز را با ریختن صابون مایع در اطراف شیر و اتصالات بررسی کنید.
- شیر سیلندر را موقعی که گاز استفاده نمی شود بسته نگه دارید.

## نیتروژن مایع

نیتروژن مایع برای انجماد سریع و نگهداری نمونه های آزمایشگاهی (سلولها) برای مدت طولانی استفاده می شوند. درجه برودت نیتروژن مایع  $196^{\circ}\text{C}$  - است. خطر اولیه تماس چشم و پوست افراد با نیتروژن مایع و مواد ننگه داری شده در لوله ها است. درجه انبساط نیتروژن وقتی از حالت مایع به گاز در درجه حرارت اتاق تبدیل می شود  $1:696$  است. بخارهای حاصله معمولاً سمی نیستند اما در صورت کمبود اکسیژن احتمال خفگی زیاد است. در طی انبساط خطر پاشیده شدن نیتروژن نیز وجود دارد. در هنگام ذوب شدن احتمال نشت یا ترکیدن لوله های ننگه داری نمونه های حاوی نیتروژن نیز وجود دارد. مراقبتهای زیر را برای استفاده از نیتروژن مایع به عمل آورید:

- قبل از انجام کار با مایعات سرمازا با کمکهای اولیه مربوط به آن باید آشنا باشید.
- لوله های ذخیره نمونه ها برای ننگه داری در فاز گاز نیتروژن مایع طراحی شده اند. بنابراین این لوله ها را باید در بخار فوق العاده سرد بالای نیتروژن مایع موجود در ته تانک نگهداری نمود.
- تانک را از نیتروژن مایع لبریز نکنید. نمونه ها را در رک یا قوطی های فلزی در ردیفهای تحتانی نگذارید.
- هنگام برداشتن نمونه ها از تانک از دستکش - روپوش آزمایشگاه و محافظ صورت و گردن استفاده کنید. از دستکش ضخیم با عایق بندی کافی استفاده کنید. دستکش باید به اندازه کافی گشاد باشد تا در صورت پاشیده شدن نیتروژن بتوان به آسانی آن را در آورد.
- تمام قسمتهای پوست که ممکن است در تماس با نیتروژن مایع قرار گیرند باید پوشیده شوند. کفشهای جلو باز یا دمپایی نپوشید. از وسایل زینتی استفاده نکنید.
- لوله های پلاستیکی گاهی اوقات ممکن است بترکند که معمولاً در همان ابتدای گرم شدن این اتفاق میافتد. لوله ها را قبل از قرار دادن نمونه ها در آن بدقت برای وجود هر گونه آسیب و نقص واریسی کنید. لوله ها را زیر هود بیولوژیک آب نموده تا در صورت نشتی یا ترکیدن از خطر جلوگیری شود.

## ۲- مواد شیمیایی قابل اشتعال

مواد قابل اشتعال و قابل احتراق موادی هستند که تحت شرایط معمول بخار زیاد تولید می کنند که در صورت وجود جرقه آتش می گیرند. موادی که در درجه حرارت  $38^{\circ}\text{C}$  به اندازه کافی تولید بخار کرده و آتش بگیرند را مواد شیمیایی قابل اشتعال می گوئیم موادی که در درجه حرارت بالای  $38^{\circ}\text{C}$  تولید بخار کرده و آتش می گیرند را مواد قابل احتراق می نامیم.

موادی که زیر  $38^{\circ}\text{C}$  آتش می گیرند بیشترین خطر آتش سوزی یا انفجار را دارند زیرا در مواقع گرم سال مانند تابستان درجه حرارت محیط ممکن است به بالاتر از این میزان نیز برسد. مواد قابل اشتعال را نباید در حجمهای زیاد نگهداری نمود و در آزمایشگاه حداقل مقدار آنها را باید نگه داشت.

### مراقبتهای عمومی در برابر مواد قابل اشتعال در آزمایشگاه

نمونه اینگونه مواد شامل استون، اتانول و اسید استیک خالص است.

#### برای استفاده :

- موقعیت و محل کپسول آتش نشانی و زنگ خطر را بدانید.
- از این مواد فقط در محیطهای دارای تحویه کافی و یا در زیر هود شیمیایی استفاده کنید.
- منابع تولید جرقه یا شعله، مواد دودزا، سطوح داغ، تجهیزات الکتریکی یا وسایلی که تولید الکتریسیته ساکن می کنند را از محل نگهداری مواد قابل اشتعال بیرون ببرید.
- مطمئن شوید که وسایل خاموش کردن آتش در دسترس است.
- هرگز اینگونه مواد را در دستشویی و فاضل آب عمومی نریزید.

### نگهداری مواد قابل اشتعال در آزمایشگاه

- در محل کار حداقل مقدار اینگونه مواد را نگه دارید.

- از ظروف مجاز دارای در پوش فنر دار برای نگهداری آنها استفاده کنید. اینگونه ظروف طوری طراحی شده اند که در صورت وجود آتش در مجاورت آن فشار داخل ظرف افزایش نمی یابد.
- این مواد را در کف آزمایشگاه یا در مسیر خروج نگذارید. آنها را در کابینتهای فلزی و یا زیرهود شیمیایی نگه داری کنید.
- هرگز اینگونه مواد را در مجاورت مواد اکسید کننده قرار ندهید.
- روی کابینت و یا محل نگهداری این مواد برچسب خطر - قابل اشتعال بزنید.

### ۳- مواد اکسید کننده

- شامل ترکیباتی هستند که در درجه حرارت اتاق یا با کمی حرارت بطور خود بخود تولید اکسیژن می کنند. اکسید کننده ها در حضور مواد قابل اشتعال ایجاد حریق یا انفجار کرده و بسیار خطرناک هستند. خیلی از مواد اکسید کننده ممکن است سمی و یا دارای خاصیت خوردندگی نیز باشند.

### مراقبتهای عمومی در برابر مواد اکسید کننده در محیط آزمایشگاه

- اکسید کننده های قوی شامل اسید کرومیک - پراکسیدها مانند هیدروژن پراکسید و بنزویل پراکسید - اسید نیتریک - اسید پرکلریک - پتاسیم پرمنگنات - سدیم پرکلرات - سدیم هیپرکلریت و اسید سولفوریک می باشند.
- اکسید کننده ها را از مواد قابل اشتعال دورنگه دارید.
- آنها را در محیط خشک و خنک نگهداری کنید.
- از حرارت و منابع احتراق دور نگه دارید.
- برای کار همیشه از تجهیزات حفاظتی مناسب چشم، دست و صورت استفاده کنید.
- مثالهای مواد شیمیایی ناسازگار با اکسید کننده ها عبارتند از: مایعات قابل اشتعال مثل متانول و اسیدهای آلی مانند اسید استیک



## الف - مواد شیمیایی سمی

اینگونه مواد اگر خورده شوند و یا از طریق تنفس و تماس پوستی وارد بدن شوند می توانند کشنده یا موجب آسیبهایی دائمی شوند. حتی الامکان از مواد جایگزین که سمیت کمتری دارند استفاده کنید. نمونه این دسته از مواد عبارتند از : اگزالات آمونیوم - کلروفوم - کریستال و یولت - اتانول - رنگ گیمسا - اسید هیدروکلریک - ید - متانول - اگزالیک اسید دی هیدرات - هیدروکسید پتاسیم - اسید سولفوریک

## مراقبتهای عمومی در برابر مواد سمی آزمایشگاهی

- با احتیاط با این مواد کار کنید. همیشه از تجهیزات مناسب مانند روپوش - دستکش حفاظ چشم و ماسک استفاده کنید.
- از تنفس این مواد خودداری کنید. در محیط دارای تهویه خوب و در زیر هود شیمیایی کار کنید.
- مواد تحت کنترل مانند داروها ، سیانید و مواد مخدر و مواد بیهوش کننده تنفسی را در کمد قفل دار مطمئن نگه داری کنید.
- سطح محل کار را با کاغذهای جاذب که در زیر دارای پلاستیک هستند بپوشانید.

## ب۴ - مواد عفونت زا و خطرناک بیولوژیک

اینها شامل ارگانیسرها یا سم آنها که بیماری زایی آنها به اثبات رسیده و یا مشکوک هستند که در انسان و حیوان می توانند ایجاد بیماری کنند می باشند. برای مراقبتهای ویژه در برابر اینگونه مواد به بخش حفاظت در برابر عوامل عفونت زا در این دستورالعمل مراجعه کنید.

## ۵ - مواد خورنده Corrosives

مواد شیمیایی خورنده corrosive آنهایی هستند که pH آنها کمتر یا مساوی با ۲ یا بزرگتر و یا مساوی با ۱۲/۵ باشد. برای مثال اکثر اسیدها و بازهایی که در آزمایشگاهها استفاده می شوند و هم چنین بعضی

از آمینها و محلولهای بعضی از نمکهای فلزی مانند محلول ۰،۱M فریک کلراید (FeCl<sub>3</sub>) دارای pH ۲ = هستند. مایعاتی که باعث خوردگی استیل با سرعتی بیش از ۶/۳۵ میلی متر در سال در درجه حرارت ۵۵°C شوند نیز جزو اینگونه مواد شیمیایی محسوب می شوند. این مواد در محل تماس با بدن واکنش کرده و باعث آسیب قابل مشاهده به بافتها (اغلب شبیه سوختگی) می شوند. نمونه این گونه مواد شامل اسیدها و بازها هستند.

### مراقبتهای عمومی برای استفاده از مواد خورنده در آزمایشگاه

- از وسایل مناسب آزمایشگاهی شامل روپوش، دستکش و ... استفاده کنید.
- مقدار ماده خورنده را روی میز کار در حد مورد نیاز برای انجام آزمایش نگه دارید.
- در آنها را محکم ببندید و مواد خورنده خیلی قوی را زیر هود شیمیایی استفاده کنید.
- همیشه اسید را به آب اضافه کنید (نه بر عکس) و این کار را به آرامی انجام دهید تا از واکنش شدید و پاشیده شدن به اطراف جلوگیری شود.
- مطمئن شوید که محلول شستشوی چشم و دوش اضطراری براحتی در دسترس می باشد.
- به محض تماس چشم یا پوست با مواد خورنده بلافاصله به محل تماس مقدار زیادی آب سرد برای ۱۵ دقیقه بپاشید.
- لباسهای آلوده را در آورید.
- بلافاصله کمک پزشکی درخواست کنید.

### طرز نگهداری مواد شیمیایی خورنده

- مواد خورنده قوی را در محلی با تهویه خوب و دور از مواد شیمیایی قابل اشتعال و اکسید کننده ها نگهدارید.
- روی کابینت را برچسب خطر - مواد شیمیایی خورنده بچسبانید.

- چون اسید استیک خالص قابل اشتعال است آن را از سایر اسیدها مانند اسید هیدروکلریک - اسید نیتریک و اسید سولفوریک جدا نگهدارید. اسیدهای آلی و غیر آلی را از هم جدا کنید.

## ۶- مواد واکنش کننده خطرناک

مواد واکنش کننده خطرناک ترکیباتی هستند که به سرعت با خودشان یا با سایر مواد واکنش کرده و مقدار نسبتاً زیادی انرژی آزاد می کنند. در بعضی موارد واکنش ممکن است آنقدر شدید باشد که موجب انفجار شود.

از مثالهای اینگونه مواد شامل مواد شیمیایی زیر است:

- ۱- مواد پیروفریک ( جرقه زا): فلزات قلیایی - فسفر - پودرهای منیزیم ، آلومینیوم و روی
  - ۲- مواد اکسید کننده : پرکلریک اسید - کرومیک اسید و اسید نیتریک غلیظ ( دود کننده)
  - ۳- مواد تولید کننده پراکسید: دی اتیل اتر - تتراهیدروفوران Tetrahydrofuran
- ایزوپروپیل اتر
  - ۴- واکنش کننده ها با آب : فلزات قلیایی مثل لیتیوم، سدیم ، پتاسیم و اسید انیدریدها مانند استیک انیدرید.
- اسیدها و بازها را جدا از هم نگه دارید. اسیدها را از مواد شیمیایی که موجب تولید گازهای سمی می شوند مانند سیانید سدیم و سولفید آهن جدا کنید.
- پیکریک اسید حداقل باید ۱۰٪ آب داشته باشد تا از انفجار ممانعت شود.

## مراقبتهای عمومی برای استفاده از مواد واکنش کننده خطرناک در محیط آزمایشگاه

- زمان خرید و زمان باز کردن ظرف ماده شیمیایی تولید کننده پراکسید را روی ظرف آن یادداشت کنید.
- اینگونه مواد را در محلی خنک، با تهویه کافی و دور از مواد قابل اشتعال و اکسید کننده ها و مواد شیمیایی خورنده نگهدارید.



## دفع پسمانده های شیمیایی

دفع زباله ها و پسمانده های شیمیایی باید بطریق ایمن که موجب آلودگی محیط زیست نشود انجام گیرد. دفع باید به صورتی انجام پذیرد که باعث آسیب به کسانی که با این زباله ها سروکار دارند و آنها را منتقل و یا دفع می کنند نشود و با حداقل هزینه دفع زباله های شیمیایی انجام گیرد.

### دستور العمل عمومی برای جمع آوری پس مانده های شیمیایی در آزمایشگاه

- پسمانهای شیمیایی را در فاضل آب و یا سطل زباله عمومی نریزید.
- نگذارید که پس مانده های شیمیایی در آزمایشگاه انباشته شوند. وقتی چند لیتر ( ۵ - ۳ لیتر ) از این پسمانها جمع شدند در بشکه های قابل حمل آن را خارج کنید.
- بطور واضح محتویات هر بشکه و آزمایشگاهی که این پسمانها از آنجا جمع آوری شده اند را روی آن بنویسید.
- بشکه ها را از پسمانهای مایع کاملاً پر و لبریز نکنید.
- مقادیر کم اسیدها و بازها را می توانید با آب رقیق کرده و بعد در فاضلاب بریزید.
- حجمهای زیاد اسیدها و بازها را در بشکه های پلاستیکی جمع آوری کنید.
- در صورت وجود هر گونه سؤال و ابهام با مسئول آزمایشگاه تماس بگیرید.

### دستورات لازم برای جمع آوری و پاک نمودن مواد شیمیایی ریخته شده

الف- مقادیر کم مواد شیمیایی ریخته شده را احتمالاً خودتان می توانید تمیز کنید. مقدار کم به میزانی

از مواد شیمیایی گفته می شود که در مدت ۵-۱۰ دقیقه بتوانید آن را جمع آوری و تمیز کنید. از لحاظ حجمی این شامل ۱ لیتر یا کمتر از مواد شیمیایی زیر است.

- اسیدها و بازهای رقیق

- اکثر حلالها

- موادی که سمیت آن را میدانید

-جیوه ریخته شده از دماسنجهای شکسته

۲- شما باید لوازم محافظت کننده و وسایل لازم برای تمیز کردن را داشته باشید.

۳- ابتدا به کسانی که آلوده شده اند کمک کنید. با استفاده از چشم شور و دوش اضطراری برای حداقل

۱۵ دقیقه چشمها و پوست فرد آلوده را تمیز کنید. برای کمکهای پزشکی درخواست کمک نمایید.

۴- افراد اضافی را از محل آلوده دور کنید. در میان محل آلوده قدم نزنید.

۵- وسایل برقی و منابع آتش و شعله را خاموش کنید.

۶- از پخش شدن آلودگی ممانعت نموده و آن را در ناحیه ای کوچک محدود کنید. آب به ماده شیمیایی پاشیده شده اضافه نکنید.

۷- از تنفس بخار مواد خودداری کنید.

۸- به کمک فرد دیگر منطقه آلوده را تمیز کنید. به تنهایی اینکار را انجام ندهید

۹- مواد شیمیایی ریخته شده را به وسیله مواد جاذب (اسفنج- پارچه - ورمیکولیت- خاک خشک) بردارید. و در کیسه پلاستیکی گذاشته و روی آن مشخص کنید.

### **ب- مقادیر زیاد و موارد زیر مواد شیمیایی ریخته شده را خودتان تمیز نکنید.**

- وقتی احساس می کنید که با انجام آن خودتان ایمن نیستید.

- اگر نمی دانید که ماده شیمیایی ریخته چیست.

- وسایل لازم برای رفع آلودگی در اختیار ندارید.

- اگر ماده شیمیایی سطح وسیعی را پوشانیده است.

افراد آسیب دیده یا آلوده را از محل خارج کنید. اگر عملی است از گسترش آلودگی جلوگیری کرده و سطح آلوده را محدود کنید. کسی را خارج محل آلوده بگذارید تا از ورود افراد به محل جلوگیری کند. تهویه را در محل روشن نمایید. اگر ماده شیمیایی قابل اشتعال است در صورت امکان تمام وسایل شعله دارو حرارتی و الکتریکی را در محل خاموش نمایید. واحد بهداشت و ایمنی را مطلع نمایید.

**مواد شیمیایی و بیولوژیک خاص در آزمایشگاه‌های زیست مولکولی**

طرح‌های تحقیقاتی که در آن از عوامل عفونت زه، حیوانات آزمایشگاهی و یا DNA نوترکیب Recombinant DNA استفاده میشوند باید ثبت شده و به تایید کمیته مراقبت و ایمنی دانشکده برسند. برای اطلاعات بیشتر از دستورالعمل‌های لازم برای کار کردن با اینگونه عوامل در آزمایشگاه به فصل ۶۳ مراجعه کنید.

**زباله های شیمیائی خطرناک (Hazardous chemical waste)**

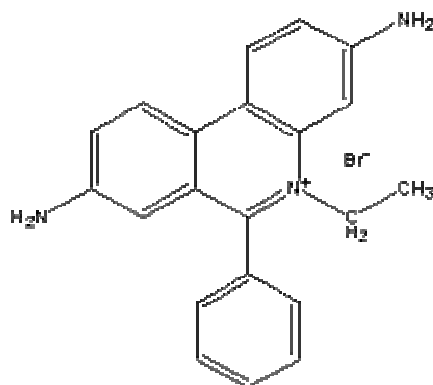
پس مانده های موادی مضر در نظر گرفته می شوند که به علت مقدار ماده ، غلظت و یا خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بتوانند باعث بیماری و یا افزایش مرگ و میر شده و در صورتیکه بطور صحیح استفاده یا نگهداری و حمل و نقل نشوند برای سلامتی انسان و یا محیط زیست خطرناک باشند.

چهار خصوصیت اصلی پس مانده های شیمیایی مضر شامل قابلیت احتراق ، خوردگی (\*Corrosivity) ، قابلیت فعل و انفعال شیمیایی و سمیت آنها است.

در ادامه دستورالعمل لازم برای مراقبت و نحوه درست استفاده از چند ماده شیمیایی رایج بسیار خطرناک آزمایشگاهی شرح میشود.

## اتیدوم بروماید (E.Br)

فرمول شیمیایی:



**LD<sub>50</sub>** در موش صحرایی (rat) از طریق خوردن: ۱۵۰۳ mg/kg

**LC<sub>50</sub>** در rat از طریق استنشاق: ۰،۰۱۱۸-۰،۱۳۴۰ ppm

خصوصیت ظاهری: پودر قرمز تیره رنگ

حلالیت: ۵ گرم در ۱۰۰ گرم آب

نگهداری: در شرایط معمولی پایدار است. باید دور از اکسید کننده های قوی و حرارت و شعله نگهداری شود. در نتیجه سوختن در آتش تولید بخار و گازهای سمی مانند اکسیدهای نیتروژن، اکسیدهای کربن و هیدروژن برمید میشود.

کاربرد: استفاده از E.Br در آزمایشات زیست مولکولی برای رنگ کردن و مشاهده اسیدهای نوکلئیک (RNA, DNA) در ژلهای الکتروفورسیس (پلی اکریل آمید و آگارز) بطور وسیع رایج است. E.Br ایجاد کمپلکس فلورسانت با اسیدهای نوکلئیک می کند که زیر نور ماورا بنفش قابل مشاهده است.

عوارض:

بدلیل اتصال به ماده ژنومی بسیار موثرژنیک بوده و نیز ممکن است دارای خواص کارسینوژنیک و تراژنیک باشد. تنفس گرد E.Br بسیار سمی بوده و باعث تحریک دستگاه تنفسی می گردد. تماس مداوم ممکن است منجر به تغییرات ژنتیکی وراثتی گردد. E.Br اگر در سیستم فاضل آب و یا زباله شهری قرار داده شود برای محیط زیست نیز خطرناک خواهد بود.

### **نکات ایمنی:**

برای کار کردن با E.Br باید نکات ایمنی لازم مانند استفاده از روپوش آزمایشگاهی ، دستکش، عینک محافظ و جلوگیری از ایجاد غبار رعایت شود. از تماس با پوست، چشم، و لباس جلوگیری و از تنفس گرد ناشی از E.Br خودداری کنید. در مواردی که امکان تولید گردو غبار از E.Br است، بایستی در زیر هود شیمیایی کار کرد (برای مثال هنگام وزن کردن). پس از کار دستها را با آب و صابون بشوئید.

پس مانده های آلوده به E. Br را در زباله دان عمومی آزمایشگاه قرار ندهید و از ریختن پس مانده های آلوده مایع در فاضل آب شهر خودداری کنید. اینگونه مواد زائد را با زدن برچسب در کیسه یا ظروف اختصاصی جمع آوری کنید تا تحویل نمایندگان مخصوص جمع آوری زباله های شیمیایی خطرناک گردد. اگر امکان استفاده از یک ماده شیمیایی جایگزین کم خطرتر مانند Methylene blue یا Acridine Orange وجود دارد از آن استفاده کنید.

### **کمکهای اولیه در هنگام وقوع آلودگیهای اتفاقی:**

اگر غبار E. Br استنشاق شده باشد فرد را به هوای تازه منتقل کرده در صورتی که تنفس نمی کند به او تنفس مصنوعی بدهید. اگر بسختی تنفس می کند به او اکسیژن داده و در هر حال پزشک را خبر کنید اگر E. Br خورده شده باشد بلافاصله او را وادار به استفراغ کنید و دهانش را با آب بشویید. هرگز به شخص بیهوش از راه دهان چیزی ندهید

تماس با پوست: لباس و کفش آلوده را از تن درآورید. بلافاصله مقداری زیاد آب به محل آلوده بپاشید و با صابون به مدت ۱۵ دقیقه بشویید. اگر ایجاد هرگونه تحریک و قرمزی دیده شود به پزشک مراجعه کنید.

آلودگی چشم: در حالیکه پلکهای بالا و پایین چشم را بلند می کنید به مدت ۱۵ دقیقه به چشم آب بپاشید و به چشم پزشک مراجعه کنید.

### رفع آلودگیهای حاصل از E. Br:

پس مانده های آلوده به **E.Br** را به سه دسته می توان تقسیم و برای دفع آنها بصورت زیر اقدام کرد.

الف - ژلهای الکتروفورسیس

ب - محلولهای حاوی **E. Br**

ج - وسایل و پس مانده های جامد آلوده

### الف - ژلهای الکتروفورسیس (Agarose , Acrylamid)

ژلهای حاوی مقادیر بسیار کم E.Br ( کمتر از ۰,۵ mg/L ) را میتوان در زباله عمومی آزمایشگاه قرار داد. اما ژلهای حاوی مقادیر بیشتر یا مساوی با ۰,۵ mg/L را باید در کیسه های مخصوص قرار داده تا در کوره سوزانده شود.

همانگونه که قبلا ذکر شد در نتیجه سوختن E. Br گازها و بخارات سمی آزاد میشوند که تنفس آنها خطرناک است. بنابر این در هنگام سوزاندن اینگونه زباله ها مراقبتهای لازم باید بعمل آید.

### ب - محلولهای آبی حاوی E.Br

محلولهای آبی رقیق حاوی E.Br با غلظت کمتر از ۰,۵ mg/L ( ۰,۵ µg/ml ) را می توان در فاضل آب ریخت\*

محلولهای حاوی بیش از ۰,۵ mg/L E.Br را می توان ابتدا با یکی از طرق که در زیر توضیح داده می شود رفع آلودگی کرد و اگر حاوی آلاینده های دیگر نباشد سپس در فاضل آب ریخت\*\*.

\* محلولهای زاید حاوی مقادیر زیادتیر E. Br را نمی توان رقیق نمود و سپس در سیستم فاضل آب شهری رها کرد.

\*\* محلولهای حاوی فلزات سنگین ( Heavy metals ) ، مواد ارگانیک، سیانید یا سولفید را نمی توان در فاضل آب شهر رها کرد

### ب-۱) رفع آلودگی محلولهای رقیق E. Br (تا غلظت ۱۰۰ ug/ml)

روش بن سعود ، فیلتر کردن با چارکول فعال (activated charcoal) (۱)

۱- به ازای هر ۱۰۰ ml محلول حاوی E. Br تا غلظت ۱۰ ug/ml ، ۳۰۰ mg پودر چارکول فعال اضافه کنید.

۲- محلول را به مدت یک ساعت در درجه حرارت اتاق نگه داشته و گاه گاهی بهم بزنید.

۳- محلول را توسط کاغذ صافی whatman No.۱ فیلتر کنید. فیلتر و چارکول استفاده شده را در کیسه پلاستیکی قرار داده تا سوزانده شود. محلول فیلتر شده را می توان در فاضل آب رها کرد.

۴- فیلترهای چارکول بصورت تجاری نیز از کمپانی های Schleicher and Schuell, VWR و Merck در دسترس هستند.

### روش Lunn and Sanson (۲)، جذب E. Br توسط رزین آمبرلایت Amberlite

Amberlite XAD-۱۶ یک پلیمر غیر یونی جاذب است و از کمپانیهای مختلف مانند سیگما قابل تهیه است.

۱- ۲/۹ گرم آمبرلایت به ازای هر ۱۰۰ میلی لیتر محلول حاوی E. Br تا غلظت ۱۰۰ ug/ml اضافه کنید.

- ۲- محلول را تا ۱۲ ساعت در درجه حرارت اتاق نگه داشته و گاه گاهی هم بزنید.
- ۳- محلول را توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر کنید. مایع فیلتر شده را در فاضل آب بریزید.
- ۴- فیلتر و آمبرلایت مصرف شده را در کیسه پلاستیکی قرار دهید تا به نمایندگان جمع آوری زباله های شیمیایی خطر ناک تحویل داده شود.

### ب-۲) غیر فعال نمودن محلولهای غلیظ E.Br (بیش از ۵ mg/ml) بطریق شیمیایی

محلولهای حاوی E.Br را با یکی از طرق زیر می توان غیر فعال نمود و سپس همراه با مقدار زیادی آب در سیستم فاضل آب شهر رها کرد. غیر فعال شدن E.Br را می توان با تاباندن نور U.V به محلول پس از غیر فعال کردن مشخص کرد. در صورت غیر فعال شدن E.Br نور فلورسانس ساعت نمی گردد.

### روش Lunn and Sansone method (۲)

در این روش E.Br در نتیجه واکنش با Sodium nitrite و Hypophosphorous acid غیر فعال می شود. هنگام تهیه محلول رفع آلودگی مقدار کمی دی اکسید نیتروژن ممکن است آزاد شود. بنابراین این عمل باید در زیر هود انجام شود.

ابتدا به محلول حاوی E.Br آنقدر آب اضافه کنید تا غلظت E.Br به ۵ mg/ml یا کمتر کاهش

یابد و به ازای هر ۱۰۰ میلی لیتر محلول حاوی E.Br به طریق زیر عمل کنید:

(۱) ۲۰ میلی لیتر اسید هیپوفسفریک (Hypophosphorous acid) ۵٪ تازه اضافه کنید.

(۲) ۱۲ میلی لیتر نیتريت سدیم ۵٪ مولار اضافه کنید.

(۳) محلول را بهم زده (pH محلول باید کمتر از ۳ باشد) و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق

نگهداریید .

(۴) PH آن را با سود به ۹-۴ برسانید.



۵) همراه با مقدار زیاد آب در فاضل آب بریزید.

\*محلول غلیظ هیپو فسفریک اسید بسیار خورنده Corrosive است و باید با احتیاط استفاده شود. درست قبل از استفاده در زیر هود شیمیایی آنرا با آب رقیق کرده و استفاده کنید. محلول ۰/۵ مولار نیتريت سدیم را بطور تازه با حل کردن ۳/۴۵ گرم نیتريت سدیم در ۱۰۰ میلی لیتر آب در زیر هود شیمیایی آماده کنید.

### روش Quillardet & Hoffnung method (۳)

از آنجایی که در این روش در نتیجه انجام واکنش گاز کلر به میزان زیاد آزاد می شود استفاده از این متد توصیه نمی شود.

۱- با افزودن آب به محلول E. Br غلظت آنرا به ۰/۵ mg/ml یا کمتر رسانده و در زیر هود به طریق زیر عمل کنید.

۲- به ازای هر ۱۰۰ ml از محلول E. Br ، ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۰/۵ مولار پرمنگنات پتاسیم و ۱۰۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲/۵ نرمال اضافه کنید. آنرا خوب بهم زده و سپس محلول را برای چند ساعت در دمای اتاق و در زیر هود نگهدارید.

۳- به آرامی سود ۲/۵ نرمال به آن اضافه کنید تا pH محلول به ۹-۵ برسد.

۴- محلول را در فاضل آب بریزید.

### ج- وسایل و پسی مانده های جامد آلوده

دستکش، دستمال کاغذی و سایر مواد جامد دور ریختنی که آلوده به E. Br شده باشند را باید در کیسه های مخصوص قرار داده تا سوزانده شوند. اگر میزان آلودگی خیلی زیاد باشد باید قبل از سوزاندن با یکی از روشهایی که شرح داده شد غیر فعال شوند.

اجسام تیز مانند سوزن، اسکالپل، پی پت پاستور آلوده را در ظروف مخصوص اجسام تیز جداگانه جمع آوری کنید.

تجهیزات آزمایشگاهی، کف و میز آزمایشگاه را به روش Lunn and Sansone رفع آلودگی کنید. به این منظور ۱- ابتدا برق دستگاهها را قبل از شروع انجام رفع آلودگی قطع کنید. از پوششهای حفاظتی مناسب مانند روپوش، دستکش و عینک محافظ استفاده کنید.

۲- با حوله کاغذی مایع اضافی روی سطح را جذب کرده و بردارید.

۳- ناحیه آلوده را ۶ بار و هر بار با استفاده از دستمال کاغذی نو و آغشته به محلول رفع آلودگی که تازه آماده شده باشد بدقت پاک و رفع آلودگی کنید. دستمالهای آلوده را در کیسه مخصوص برای سوزاندن جمع آوری کنید.

۴- برای اطمینان از رفع آلودگی، فلورسانس محلول رفع آلودگی را که از فشردن حوله کاغذی مصرف شده در مراحل آخر جمع آوری می شود را با اسپکتروفتومتری آزمایش کنید.

۵- pH حوله کاغذی و محلول را با بیکربنات سدیم به ۹-۵ برسانید. مایع را در فاضل آب ریخته و حوله های مصرف شده را می توانید در ظرف زباله عمومی آزمایشگاه قرار دهید.

۶- لوازم شیشه ای و غیر شیشه ای آلوده مورد نیاز را در محلول رفع آلودگی به مدت ۲۰ ساعت گذاشته و سپس آبکشی نموده و استفاده کنید.

محلول رفع آلودگی را با اضافه کردن ۲۰ میلی لیتر از محلول ۵۰٪ Hypophosphorous acid به محلول حاوی ۴/۲ گرم نیتريت سدیم در ۳۰۰ میلی لیتر آب در زیر هود شیمیایی آماده کنید. pH محلول باید ۱/۸ باشد.

### وسایل و سطوح آلوده را به روش بن سعود (۱) نیز می توانید به طریق زیر رفع آلودگی کنید.

ابتدا مایع اضافه روی سطح آلوده را با دستمال کاغذی خشک کنید. سپس سطح آلوده را با اتانول خیس کرده و روی آن چارکول فعال بپاشید. مخلوط اتانول و چارکول را با دستمال کاغذی خشک و تمیز کرده

و دستمالها را در کیسه پلاستیکی جمع آوری و به نمایندگان جمع آوری کننده مواد زائد خطرناک جهت دفع صحیح تحویل دهید.

۱. Bensaude O. Ethidium bromide and safety-readers suggest alternative solutions.

Trends Genet. ۴: ۸۹; ۱۹۸۸

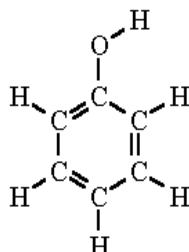
۲. Lunn, G. and Sansone EB, Ethidium bromide: destruction and decontamination of solutions. Analytical biochemistry, ۱۶۲: ۴۵۳; ۱۹۸۷.

۳. Quillardet P. and Hofnung M. Ethidium bromide and safety-readers suggest

alternative solutions. Trends Genet. ۴: ۸۹; ۱۹۸۸

## فنل (Carbolic Acid) Phenol

فرمول شیمیایی:



LD<sub>50</sub> از طریق خوردن در انسان: ۵۰-۵۰۰ mg/kg

خصوصیات فیزیکی: در درجه حرارت اطاق و به صورت خالص جامد بی رنگ و یا صورتی است و با جذب رطوبت از هوا به صورت مایع در می آید.

دارای بوی تند اسیدی است که در غلظت پایین (۰,۰۵ ppm) در هوا براحتی قابل تشخیص است.

فنل در مجاورت اکسید کننده ها یا حتی بطور خودبخود در هوا براحتی اکسیده میشود و اگر بطور صحیح نگهداری نشود (در درجه حرارت و pH بالا و یا در مجاورت نور) اکسیده شده و وقتی آب یا بافر به آن اضافه شود به رنگ زرد یا قرمز خواهد بود.

حلالیت: در حلالهای آلی مثل اتانول، گلیسرول، اسید استیک و کلروفرم بخوبی حل می شود. حلالیت آن در آب کمتر بوده و در ۲۵ درجه سانتیگراد بمیزان ۰,۹٪ (۸۲ گرم در لیتر) حل می شود.

نقطه انجماد: ۴۳ °C

نقطه جوش: ۱۸۲ °C

قابلیت اشتعال Flammability: ۷۹ °C و در غلظت ۰,۸/۶-۱/۷٪ در هوا

**کاربرد:** فنل بطور معمول در آزمایشگاههای زیست مولکولی برای استخراج و خالص کردن اسیدهای نوکلئیک (DNA و RNA) استفاده میشوند. در نتیجه استخراج با فنل پروتئینها و آنزیمها تخریب Denature شده و مابین دو فاز آبی و فنل جمع می شوند. فنل اغلب همراه با کلروفرم برای جدا سازی پروتئین از اسیدهای نوکلئیک مورد استفاده قرار می گیرد. فنل به عنوان ضد عفونی کننده Antiseptic نیز کاربرد دارد

عوارض: فنل بسیار سمی بوده و جزو مواد بسیار خطرناک دسته بندی می شود. استنشاق، خوردن و یا تماس آن با پوست بسیار زیان آور است. فنل بسرعت از طریق پوست جذب می شود. مرگ بعد از ۳۰ دقیقه پس از تماس و جذب فنل از ناحیه نسبتاً کوچکی مانند پوست دست گزارش شده است. مرگ و مسمومیت شدید معمولاً در نتیجه اثر روی سیستم اعصاب مرکزی، قلب، رگهای خونی، ریه و کلیه اتفاق می افتد. مقادیر کم روی پوست می تواند موجب بیحسی موضعی شده و در نتیجه قبل از اینکه دردی حس شود ضایعات زیادی را موجب شود(۱).

خوردن به مقدار کم (یک گرم) برای انسان می تواند کشنده باشد. فنل برای تمام بافتهای بدن اثر بسیار مخرب Corrosive دارد.

در تماس با چشم و پوست ایجاد سوختگی شیمیایی می شود. مسمومیت با میزان زیاد فنل موجب ایجاد شوک، بیهوشی، اختلال تنفسی و مرگ می گردد. تماس کم و تدریجی باعث سردرد، اسهال، تهوع، تشنج و ایجاد ضایعات عمده به کبد، کلیه و چشم می شود. استنشاق فنل موجب اختلال تنفسی و ادم می گردد. فنل اثر منفی روی تولید مثل در Rat و دارای اثرات جهشزایی در Salmonella, Drosophila و E.Coli بوده است. اگر چه اثرات تومورزایی آن در پوست موش نشان داده شده است اما فنل به عنوان ماده سر طانزا شناخته نمی شود(۲). تماس مداوم و مزمن با مقادیر کم فنل باعث ایجاد بیماری قلبی و ضعف سیستم ایمنی می شود.

## اثرات محیطی:

اگر مقدار زیادی از فنل در یک زمان یا بطور مداوم وارد محیط شود بمدت طولانی باقی میماند. اما مقدار کم آن به صورت بخار در هوا نیمه عمر کوتاه (۱۵-۱۲ ساعت) دارد. در طول روز با واکنش با رادیکالهای هیدروکسیل که در نتیجه واکنشهای فتوشیمیایی در جو تولید می شوند و در طول شب با رادیکالهای نیترات تجزیه میشوند. فنل در آب توسط میکروارگانیسمها تجزیه میشود. تجزیه بیولوژیک biodegradation در آب از ۹-۱ روز و بطور متوسط ۵۵ ساعت طول می کشد. بنابر این اگر غلظت آن در منابع آب زیاد نباشد توسط میکروارگانیسمها تجزیه می گردد. ماند فنل در آبهای سطحی کمتر از یک روز است. فنل در بدن موجودات آبی ذخیره نمی شود. تجزیه بیولوژیک فنل در خاک سریعتر بوده و دارای نیمه عمر کمتر از ۵ روز است. در شرایط بی هوازی تجزیه فنل کندتر و زمان سازگار شدن میکربها طولانی تر است. ماند و انتقال فنل در محیط تحت تاثیر pH است.

یون Phenolate راحت تر از فنل غیر یونیزه اکسید می شوند. بنابراین اکسیده شدن فنل در pH بالا سریعتر انجام می شود.

## نکات ایمنی:

افرادی که دارای بیماریهای کبدی یا کلیوی هستند نباید در تماس با فنل و بخارات آن حتی برای مدت کوتاه قرار گیرند. استفاده کنندگان باید از خطرات کار کردن با فنل کاملاً آگاه باشند و افراد کم تجربه باید تحت نظارت قرار داشته باشند.

- از کار کردن در محیط بسته خودداری کرده و هیچگاه فنل را در انکوباتور، میکروفر و وسایل مشابه گرم یا ذوب نکنید. حمام آب گرم water bath برای این منظور بهتر است. موقع ذوب کردن فنل در بطری را شل کنید تا از افزایش فشار و در نتیجه ترکیدن بطری جلوگیری شود. نکنید
- در آزمایشگاه در زیر هود کار کنید ( بخصوص هنگام گرم کردن فنل).

- از تماس با چشم، پوست و لباس جلوگیری کنید. از روپوش آزمایشگاهی و برای اطمینان از دو لایه دستکش استفاده کنید. دستکشهای نیتریل برای کار با فنل مناسب نبوده و دستکشهای جنس لاتکس برای مدت کوتاه قابل استفاده هستند. دستکشهای از جنس PVC یا Neoprene به این منظور مناسبتر میباشند.
- اگر احتمال پاشیده شدن فنل در ضمن کار وجود دارد از محافظ صورت استفاده کنید و مطمئن باشید که دسترسی سریع به آب در محل کار وجود دارد.
- در آزمایشگاههایی که از فنل استفاده می شود مواد جاذب مانند ور میکولیت vermiculite نیز برای رفع آلودگی باید وجود داشته باشد.
- فنل قابلیت اشتعال داشته و در نزدیکی شعله نباید استفاده شود.
- بعد از کار با فنل دستها را بشوئید حتی اگر ضمن کار دستکش پوشیده اید.

### نگهداری و ذخیره سازی فنل:

فنل را در ظرفهای شیشه ای و یا جنس پلی پروپیلن و در حرارت ۴ یا ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری کنید. برای حفاظت از نور دور ظرف فویل آلومینیوم بپیچید. تماس با اکسید کننده های قوی بخصوص هیپوکلریت کلسیم و کلرید آلومینیوم منجر به آتش سوزی و انفجار میشود بنابراین فنل را بدور از اکسید کننده ها مانند کلر، برم، و هیپوکلریت و همچنین دور از اسیدها و بازها نگهداری کنید.

### کمکهای اولیه در هنگام وقوع آلودگیهای اتفاقی:

آلودگی پوستی میتواند کشنده باشد. بدلیل ایجاد بیحسی موضعی توسط فنل در ابتدا شخص ممکن است متوجه آلودگی پوستی نباشد. بلافاصله روی پوست آلوده محلول رقیق شده (۵۰٪) پلی اتیلن گلیکول با وزن ( PEG۳۰۰ یا PEG۴۰۰ ) مولکولی کم بریزید و تمیز کنید. فنل از پوست به پلی اتیلن گلیکول جذب می شود. اینکار را آنقدر تکرار کنید تا بوی فنل از بین برود. اگر پلی اتیلن گلیکول در دسترس نباشد از گلیسرین و یا مقدار زیاد آب استفاده کنید. ناحیه آلوده را محکم نمالید اینکار موجب گسترش ناحیه

آلوده و همچنین باعث نفوذ فنل به درون پوست می گردد. ناحیه آلوده را بلافاصله با آب و صابون بمدت ۱۵ دقیقه بشوئید. از آب داغ استفاده نکنید. رفع آلودگی از پوست هر چه سریعتر باید انجام شود تا جذب فنل به حد اقل برسد.

PEG۳۰۰ را روی چشم بکار نبرید.

در صورت زیاد بودن آلودگی با در آوردن لباس و کفش در ضمن بسته بودن چشم از دوش آب سرد یا ولرم استفاده کنید. بعد از پاشیدن آب اگر لباسها به پوست چسبیده باشند آنها را از پوست جدا نکنید.

هنگام وقوع آلودگی چشم بلافاصله با بلند کردن پلکهای بالا و پایین مقدار زیادی آب بمدت ۱۵ دقیقه به چشم بپاشید. شخص مصدوم ممکن است بخاطر درد شدید چشمهایش را بسته نگه دارد اما برای جلوگیری از صدمات دائمی چشمهای او را باز نگه داشته و آب پاشی کنید. به پزشک مراجعه کنید.

اگر میزان زیادی از بخار فنل استنشاق شده باشد شخص را به هوای تازه منتقل کرده و به او تنفس مصنوعی بدهید و اکسیژن به او بدهید و بلافاصله برای مراقبتهای لازم پزشکی اقدام کنید.

در صورت خورده شدن فنل اگر شخص به هوش است ابتدا به او آب برای نوشیدن داده و بگذارید چندین بار دهان را با آب شسته و بیرون بریزد. در صورت وجود رفلکس در مصدوم دوغاب چارکول به مقدار ۱ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (دوز معمول افراد بالغ ۶۰-۹۰گرم) به او بدهید. به او بیکربنات سدیم ندهید و او را وادار به استفراغ نکنید. بلافاصله او را به بیمارستان ببرید.

سرعت و کاهش زمان شروع کمک به مصدوم عامل مهم در کاهش صدمات حاصل از آلودگی می باشد.

### رفع آلودگیهای فنل:

وقوع آلودگیهای ناشی از پاشیده شدن اتفاقی فنل را باید جدی گرفت و بلافاصله تمیز کرد. فنل ریخته شده اگر بیش از ۵۰ میلی لیتر باشد، منابع احتمالی ایجاد آتش سوزی را دور کنید و جریان هوای تازه را



در محوطه آلوده از طریق باز کردن پنجره ها و یا روشن نمودن هواکش فراهم کنید. تا رسیدن کمک درهای آزمایشگاه را بسته و آزمایشگاه را ترک کنید.

اگر مقدار فنل ریخته شده کمتر از ۵۰ میلی لیتر باشد با حوله کاغذی یا مواد جاذب مانند ورمیکولیت آن را جذب و در ظرف فلزی در بسته یا دو لایه کیسه پلاستیکی قرار داده تا بعنوان مواد زائد خطرناک دفع گردد. در موقع رفع آلودگی حتماً از دستکش و وسایل حفاظتی مناسب استفاده کنید. بخار حاصل از فنل را با اسپری نمودن آب که فنل را در هوا حل می کند می توان کاهش داد. محلول آب آلوده به فنل حاصله را بطریق فوق جمع آوری کرده و محل را تمیز کنید.

پس مانده های فنل را در ظروف درب دار اختصاصی که دارای بر چسب واضح باشد جمع آوری کنید. فنل زائد را از لوله های کوچک مانند لوله های اپندورف در ظرف بزرگتر خالی نکنید بلکه در لوله ها را محکم بسته و به همان صورت در ظرف مخصوص فنل زائد قرار دهید.

مقادیر زیاد فنل زائد را در آزمایشگاه انباشته و نگه ندارید.

### غیر فعال نمودن پس مانده های آبی فنل

با توجه به خطر فنل برای سلامتی انسان و محیط زیست، غلظت فنل در محلولهای آبی برای دفع در فاضل آب شهری نباید بیش از یک میلی گرم در لیتر باشد.

روشهای مختلف فیزیکی و شیمیایی برای غیر فعال کردن فنل پیشنهاد شده است. بکارگیری این روشها اغلب نیاز به ایجاد تسهیلات ویژه و بکارگیری پرسنل مجرب برای جمع آوری و دفع صحیح این گونه مواد دارد.

#### ۱- روش استفاده از گل فعال بیولوژیک – لجن **activated sludge**

در شرایط طبیعی فنل بطریق بیولوژیک بسهولت میتواند تجزیه شود. بدلیل سادگی و نسبتاً ارزان بودن، رایج ترین روش برای غیر فعال کردن و سمزدایی فاضل آبهای آلوده به فنل و سایر آلاینده های آلی کربن دار تجزیه بیولوژیک توسط میکرو اورگانیسرها با استفاده از لجن یا گل فعال بیولوژیک

activated sludge است (۳-۵).

این روش که در پالایشگاههای نفت از آن استفاده می شود قابلیت اجرا در سطح کوچک برای تصفیه و رفع آلودگیهای آلی از فاضل آب یک خانه و دانشگاه تا سطح فاضل آب یک شهر را دارد. گل فعال activated sludge به ماده جامد حاوی میکرواورگانسیمهای مختلف که مواد آلی و غیر آلی را بطریق هوازی می توانند متابولیزه و تجزیه کنند اطلاق می شود. این مواد در نتیجه تجزیه بیولوژیک بفرمی که برای محیط زیست خطرناک نیستند تبدیل می شوند. گل فعال معمولاً شامل ۹۵٪ باکتری و ۵٪ ارگانسیمهای عالی تر مانند پروتوزوا، قارچها، رتیفرها و بعضی بی مهره گان دیگر است. در این روش در یک تانک به مخلوط گل فعال و فاضل آب آلوده هوا یا اکسیژن داده می شود. میکرو اورگانسیمها از مواد آلی آلاینده بعنوان غذا استفاده کرده و رشد می کنند. فنل به آب و دی اکسید کربن تجزیه میشود و میکرو اورگانسیمها بتدریج به هم چسبیده و بصورت گل فعال رسوب می کنند. آب تصفیه شده از تانک خارج گردیده و مقداری از توده گل فعال میکرواورگانسیمها برای تصفیه آبهای آلوده دیگر مجدداً به سیستم برگردانده می شوند و اضافه آنها دور ریخته می شوند. روش فوق در حال حاضر تکنولوژی رایج برای تصفیه آبهای آلوده به مواد آلی در دنیا می باشد.

## ۲- اکسیداسیون فنل بروش فنتون Fenton (۶-۷)

در این روش فنل در اثرواکنش با معرف فنتون ( $Fe^{2+}/H_2O_2$ ) اکسیده و به دی اکسید کربن و آب تجزیه می گردد.

۱- در زیر یک هود شیمیایی در یک فلاسک محلول آبی فنل زائد را با اضافه نمودن اسید سولفوریک بین pH ۳-۵ تنظیم کنید.

۲- سولفات آهن به مقدار ۱۰ میلی گرم در لیتر به آن اضافه کنید.

(برای بدست آوردن نتیجه مطلوب نسبت آهن به سوبسترا (فنل) باید ۵۰-۱۰:۱ باشد)

وجود ترکیباتی که به آهن متصل می شوند (EDTA و اسید سیتریک) باعث کند شدن واکنش می شوند. در این موارد میزان آهن را در محلول باید افزایش داد.

۳. ضمن هم زدن به آرامی هیدروژن پر اکسید به آن اضافه کنید. برای جلوگیری از انجام سریع واکنش و ایجاد حرارت هیدروژن پر اکسید ۶٪ را در سه مرحله به نسبت ۲۰، ۳۰ و ۵۰٪ حجمی اضافه کنید. درجه حرارت مناسب برای انجام واکنش ۴۰- ۲۰ درجه ساتی گراد است.

اگر pH محلول بالا باشد آهن بصورت هیدروکسید رسوب کرده که موجب تجزیه هیدروژن پر اکسید و تولید اکسیژن شده که وضعیت خطرناکی را ممکن است ایجاد کند.

۴- چند ساعت به هم زدن محلول ادامه دهید تا رنگ آن از قرمز ارغوانی به زرد کمرنگ تغییر یابد. زمان لازم برای کامل شدن واکنش به عوامل متعدد از جمله میزان کاتالیزور و فنل موجود بستگی دارد. تجزیه فنل در غلظت های کمتر از ۲۵۰ میلی گرم در لیتر حدود یکساعت و در غلظتهای بیشتر چندین ساعت طول می کشد.

۵- برای تجزیه هیدروژن پر اکسید اضافی pH محلول را با اضافه کردن سود به ۱۰-۷ برسانید و بمدت یکساعت حرارت دهید. با تجزیه هیدروژن پر اکسید رنگ محلول روشن تر می شود.

### ۳- روشهای دیگر برای غیر فعال نمودن فنل

جذب سطحی و رسوب دادن فنل توسط کربن فعال (۸-۹) و رزینهای غیر یونی (۱۰-۱۱) و یا گلهای آلی organoclay (۱۲-۱۳) و ازوناسیون ozonation و اکسیداسیون الکتروشیمیایی (۱۴) و فتو کاتالیز با نور خورشید در حضور کاتالیزور  $TiO_2$  (۱۵) و اکسیداسیون آنزیمی فنل با پراکسیدازها در حضور هیدروژن پراکسید (۱۶) و تجزیه فنل به کاربو کسلیک اسید و  $CO_2$  در مجاورت اکسید نیکل (۱۷) ،

## References

1. Gosselin, R.E., R.P. Smith, H.C. Hodge. **Clinical Toxicology of Commercial Products.** 9th ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1984.,p. III-346
2. **Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man.** Geneva: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, 1972-PRESENT. (Multivolume work).,p. 71 762 (1999)
3. Ejlertsson J, Johansson E, Karlsson A, Meyerson U, Svensson BH. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1996 Jan;69(1):67-74
4. Watanabe K, Hino S. *Appl Environ Microbiol* 1996 Oct;62(10):3901-4
5. Metcalf and Eddy Inc., **Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse,** 3rd Edition, McGraw-Hill, New York, 1992.
6. C.P. Huang, C. Dong, Z. Tang, *Waste Manage.* 13 (1993) 361-387.
7. Osaki S, Sugihara S, Kaji T, Takashima Y. *Radioisotopes* 1990 Apr;39(4):174-7
8. P.O. Nelson, M. Yang, *Water Environ. Res.* 67 (1995) 892-896.
9. S.H. Lin, F.M. Hsu, *Ind. Eng. Chem. Res.* 34 (1995) 2110-2116
10. C.R. Fox, *Hydrocarbon Proc.* 57 (11) (1978) 269-278.
11. E.H. Crook, R.P. McDonnell, J.I. McNulty, *Ind. Eng. Chem. Proc. Res. Dev.* 14 (1978) 113-118.
12. S.K. Dental, J.Y. Bottero, K. Khatib, H. Demougeot, J.P. Doguet, C. Anselme, *Water Res.* 29 (1995) 1273-1279.
13. S.H. Lin, M.J. Cheng, *Environ. Technol.* 21 (2000) 475-487.
14. Wu Z, Zhou M. *Environ Sci Technol* 2001 Jul 1;35(13):2698-703
15. Robert D, Malato S *Sci Total Environ* 2002 May 27;291(1-3):85-97
16. Wagner M, Nicell JA. *Water Sci Technol* 2001;43(2):203-6.
17. Christoskova S, Stoyanova M. *Water Res* 2001 Jun;35(8):2073-7

## مراقبت‌های عمومی در برابر عوامل عفونی

- کلیه نمونه‌هایی که از بیماران گرفته می‌شود بایستی بطور بالقوه آلوده کننده در نظر گرفته شوند و از وسایل حفاظتی شخصی مناسب در اینگونه مورد استفاده شوند .
- حفاظت شخصی عبارت است از سیستمی که با استفاده از یک سد حفاظتی خطر انتقال ارگان‌های را کاهش می‌دهد .

### نکات کلیدی

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

### روش‌ها

- ۱- کلیه نمونه‌ها بایستی آلوده و عفونت‌زا فرض شوند و از هودهای حفاظتی کلاس II\* برای کار با این گونه نمونه‌ها بایستی استفاده شود .
- ۲- دستها را کاملاً بشوئید :

قبل از :	بعد از :
شروع کار	تماس با مواد بیولوژیک
تماس مستقیم با بیمار	خارج کردن دستکش‌ها
ترک آزمایشگاه	تماس مستقیم با بیمار
	گرفتن دستها جلوی دهان یا بینی هنگام عطسه یا سرفه

### ۳- محل‌های شستشو :

- جاهای شستشو نزدیک به محل خروج را به شستشوی دستها اختصاص دهید
- سینک‌های مخصوص شستشوی دست را در آزمایشگاه با برچسب **بصورت " فقط مخصوص"**

#### شستشوی دست " مشخص کنید

- در محل سینک‌ها صابون ، ماده ضدعفونی مناسب و دستمال کاغذی قرار داده شود
  - هرگز از سینک‌های شستشوی دست جهت دور ریختن مواد خطرناک استفاده نشود
  - در محل‌های نمونه‌گیری از بیمار که سینک شستشوی دست وجود ندارد از مواد ضدعفونی‌کننده مانند سیدارین (**Cidarinse**) برای شستشوی دست استفاده شود
- ۴- هنگام کار با نمونه‌ها از دستکش یکبار مصرف استفاده کنید . قبل از ترک آزمایشگاه دستکش‌ها را در آورده و دستها را بشوئید . دستکش‌ها را در کیسه‌های مخصوص دور ریختن زباله‌های خطرناک بیندازید . هرگز با دستکش به سر و صورت ، موها و سایر جاهای تمیز بدن دست نزنید .
- ۵- هنگام کار در آزمایشگاه از روپوش آستین بلند و مناسب استفاده کنید و دکمه‌های آنرا بسته نگه دارید . قبل از خروج از آزمایشگاه یا ورود به سایر قسمتهای ساختمان روپوش را از تن خارج کنید و آنرا به جا لباسی مخصوص نزدیک درب خروج آزمایشگاه و دور از خطر آتش‌سوزی آویزان کنید .
- ۶- اگر احتمال پاشیدن یا ایجاد آئروسول از ترشحات بدن وجود دارد از وسایل حفاظتی اضافی پیش‌بند ، عینک یا محافظ صورت استفاده کنید .
- ۷- برای برداشتن درب لوله‌های حاوی نمونه خون ، به آرامی درب آنرا در داخل یک محفظه شل کنید و یا غیرمستقیم باز کنید .
- ۸- در مواقعی که احتمال آلوده شدن روپوش خود را با مواد خطرناک می‌دهید آنرا عوض کنید و در کیسه مخصوص روپوش‌های آلوده بیندازید .

۹- زمانی که با عوامل عفونی که از طریق هوا منتقل می شوند کار می کنید ( نظیر مایکوباکتریوم توبرکلوزیس ) ، از ماسک مخصوص صورت ( PCM ۲۰۰۰ ) بایستی استفاده شود .

### ۱۰- کار با نمونه ها :

- برای حمل نمونه ها از یک سیستم حمل مطمئن استفاده کنید بطوریکه هیچگونه نفوذ یا احتمال شکستن وجود نداشته باشد ( مثلاً "کیسه های Ziplock پلاستیکی" ).
- به افراد مسئول حمل نمونه ها بایستی آموزش داده شود .
- نمونه های آلوده در دو کیسه محافظ حمل شوند .
- فرد دریافت کننده نمونه بایستی قبل از باز کردن محفظه داخلی جهت رؤیت هرگونه نشستی یا ریخته شدن نمونه محفظه را چک کند .
- در صورت بروز هرگونه نشستی یا وجود شکستگی نمونه ها بایستی دور ریخته شوند .

### مراقبتها در مقابل عوامل میکروبی Microbiological Safety

در آزمایشگاه میکروبیولوژی موارد ایمنی مخصوصی بسته به نوع عوامل عفونی دارد و دستور کار آزمایشگاه مناسب و وسایل و تجهیزات خاصی بایستی در محل فراهم باشد .

### نکات کلیدی :

- بطور کلی ۴ سطح حفاظت بیولوژیک Biosafety وجود دارد که بسته به اینکه عوامل عفونی متعلق به کدام گروه خطر باشند بایستی مورد استفاده قرار گیرند .
- اکثر میکروارگانیسمهای پاتوژن که در آزمایشگاه جداسازی می شود به گروه خطر ۲ تعلق دارند و از سطح محافظتی ۲ ( Biosafety level ۲ ) بایستی استفاده شود .

- کابینت های حفاظتی بیولوژیک اولین ابزار قابل قبول می باشند .

سطح حفاظتی	تکنیکهای مورد استفاده	تجهیزات حفاظتی مورد نیاز
۱	روشهای استاندارد میکروبیولوژیک	غیرضروری : محدوده خاص جهت کار - میز کار باز می تواند مورد استفاده قرار گیرد
۲	<ul style="list-style-type: none"> <li>• روپوش آزمایشگاه</li> <li>• حذف آلودگی از تمام دور ریزهای آلوده</li> <li>• دسترسی محدود</li> <li>• دستکش های حفاظتی</li> <li>• نصب علائم هشداردهنده خطر</li> </ul>	کابینت های حفاظتی کلاس I یا II
۳	لباسهای مخصوص آزمایشگاه همه موارد باید تحت کنترل قرار گیرد	محدودیت جهت کار با عوامل عفونی کابینت های حفاظتی I ، II
۴	ورود از طریق اتاق تعویض لباس ( یعنی جایی که لباسهای مخصوص پوشیده شود ) و قبل از خروج دوش گرفته شود خروج و دفع موارد به روش خاص	کابینت های حفاظتی کلاس III



## روش کار :

- ۱- تمام نمونه ها بایستی در ظروف محکمی که از آنها امکان نشت کردن وجود نداشته باشد قرار گیرند .  
این ظروف می بایستی در طرف دیگری که درب آن کاملاً بسته می شود ( مانند کیسه پلاستیکی )  
قرار داده شوند .
- ۲- از یخ خشک ، pad های فریزر و غیره که برای حمل نمونه ها برای سایر مقاصد بکار می روند استفاده  
نکنید زیرا آنها بالقوه آلوده اند .
- ۳- آزمایشاتی که در آنها امکان بوجود آمدن آئروسول یا قطرات مربوطه وجود دارد ، را در درون کابینت  
های محافظ یا پشت یک پرده محافظ انجام دهید . کابینت های محافظ بیولوژیکی را مرتب نگه دارید.  
۴- کنترل کیفی موادی که بالقوه عفونی می باشند را مد نظر قرار دهید .
- ۵- بر روی صفحات کلید و تلفن هائی که در محوطه آزمایشگاه نمی باشند ، بایستی برچسب تمیز نصب  
نمود . بطور کلی اینگونه دستگاهها را بایستی از دسترسی پرسنل آزمایشگاه و متصدیان حمل  
نمونه ها دور نگه داشت . در مواقعی که افراد فوق نیاز به استفاده از تجهیزات فوق دارند ، بایستی قبل  
از دست زدن به صفحه کلید و دستگاههای مشابه ، دستکش های خود را در آورده و دستان خود را  
بشویند .

### **بر روی کلیه صفحات کلید و تلفن ها بایستی برچسب تمیز یا آلوده را نصب نمود .**

برای استفاده از تلفن ها و صفحات کلیدی که بر روی آنها برچسب آلوده نصب شده است ( شامل تمام  
صفحات کلید آزمایشگاهی و دستگاههای تلفن که مورد استفاده متصدیان حمل مواد خطرزای بیولوژیک  
biohazard قرار می گیرد ) بایستی حتماً دستکش به دست داشت .

علاوه بر آن بایستی اقدامات زیر را انجام داد :

- صفحات کلید بایستی با پوشش های مناسب محافظ ، پوشش گردند .
- پوشش های حفاظ فوق الذکر هر زمان که آلوده گردند ( حتی در صورتی که آلودگی قابل مشاهده  
نباشد ) و حداقل هفته ای یکبار ، با مواد ضدعفونی کننده مناسب ضدعفونی گردند .

- تمام دستکش هائی که به ترشحات بدن آغشته میگردند بایستی تعویض گردند .
- پرسنل خدماتی آزمایشگاه قبل از دست زدن به صفحات کلید بایستی دستکش بپوشند .  
دست ها را قبل از خروج از آزمایشگاه بخوبی بشوئید .
- همیشه دستکش ها را در صورتی که به بدن و یا ترشحات بدن آغشته گردند تعویض نمائید .
- ۶- سانتریفوژها را در درون کابین های محافظ بکار نیاندازید ، زیرا موتور آنها باعث بوجود آمدن جریان قوی هوا شده که حرکت آرام هوای درون کابین را بهم می زند .
- ۷- فقط سانتریفوژهائی را مورد استفاده قرار دهید که باکت های محافظ داشته باشند .
- ۸- در صورتی که چرخاندن و بهم زدن نمونه ها نیاز باشد ( vortexing ) ، آنها را درون لوله های آب بندی شده و یا درون ظرف محافظ ثانویه قرار داده و در فضای باز آزمایشگاه بهم بزنید .  
از پارافیلیم برای بستن درب استفاده ننمائید .
- ۹- روش های تمیز کردن ، آلودگی زدائی و استرلیزاسیون تجهیزات آزمایشگاه ، وسایل و سطوح بایستی مشخص و در دسترس باشند .
- ۱۰- تجهیزاتی مانند حمام های بخار ، راک های حاوی لوله های آزمایش و غیره حداقل ماهی یکبار و هر زمان که با مواد بیولوژیکی آلوده میشوند را بایستی تمیز و ضدعفونی نمود .
- ۱۱- جداره خارجی دستگاههای پیپت کننده را در صورتی که در اثر تماس با نمونه آلوده شده باشد را بایستی را با مواد ضدعفونی کننده مناسب ، تمیز و ضدعفونی نمود . اگر دستگاه فوق از داخل آلوده شده باشد ، بایستی دستگاه باز شده و پس از ضدعفونی کردن ، مجدداً مونتاژ نمود .
- ۱۲- کلیه دستگاههائی که نیاز به تعمیر دارند ، بایستی قبل از تعمیر تمیز و ضدعفونی نمود .
- ۱۳- در صورتی که قصد دارید بوسیله سرنگ ماده ای را درون بطری بریزید ، بطری را به منظور سوراخ نمودن درب آن در دست نگه ندارید . و خون یا هرگونه مواد دیگر را با فشار درون بطری نریزید .

## طبقه بندی عوامل بیولوژیک براساس میزان خطرناک بودن آنها

### عوامل گروه خطر ۱ : سطح پیشگیری ۲

عواملی که در این گروه قرار می گیرند احتمال خطر پائینی دارند و شامل میکروارگانیسم هائی اعم از باکتریها ، قارچها ، ویروسها یا انگل ها که احتمال ایجاد بیماری در حیوانات یا کارکنان را ندارند می باشد.

### عوامل خطر ۲ : سطح پیشگیری ۲

عوامل این گروه از درجه متوسطی از خطر برخوردارند . این گروه شامل عوامل بیماری زایی است که میتوانند در انسان یا حیوانات ایجاد بیماری نمایند اما در شرایط طبیعی احتمال خطر جدی برای پرسنل آزمایشگاه ، اجتماع یا موجودات زنده طبیعی ندارند . در معرض قرار گرفتن آزمایشگاه با این عوامل بندرت باعث ایجاد عفونت یا بیماری جدی می شود ، بر علیه آنها درمان یا موارد پیشگیری وجود دارد و خطر انتشار آنها محدود است .

## گروه خطر ۲ : باکتریها ، کلامیدیا ، مایکوپلاسما

*Actinobacillus* - all species

*Actinomyces pyogenes* (*C. pyogenes*)

*Bacillus cereus*

*Bartonella bacilliformis*, *B. henselae*, *B. quintana*, *B. elizabethae*

*Bordetella pertussis*, *B. parapertussis* and *B. bronchiseptica*

*Borrelia recurrentis* and *B. burgdorferi*

*Campylobacter* spp. (*C. coli*, *C. fetus*, *C. jejuni*)  
*Chlamydia pneumoniae*, *C. psittaci* (non-avian strains), *C. trachomatis*,  
*Clostridium botulinum*, *Cl. chauvoei*, *Cl. difficile*, *Cl. haemolyticum*,  
*Cl. histolyticum*, *Cl. novyi*, *Cl. perfringens*, *Cl. septicum*,  
*Cl. sordellii*, *Cl. tetani*  
*Corynebacterium diphtheriae*, *C. haemolyticum*,  
*C. pseudotuberculosis*, *C. pyogenes* (*A. pyogenes*)  
*Edwardsiella tarda*  
*Erysipelothrix rhusiopathae* (*insidiosa*)  
*Escherichia coli* enterotoxigenic/invasive/hemorrhagic strains  
*Francisella tularensis* Type B, (biovar palaeartica), *F. novocida*  
*Fusobacterium necrophorum*  
*Haemophilus influenzae*, *H. ducreyi*  
*Helicobacter pylori*  
*Legionella* spp.  
*Leptospira interrogans* - all serovars  
*Listeria monocytogenes*  
*Mycobacteria* - all species (except *M. tuberculosis*, and *M. bovis* (non-I are in Risk Group 3)  
*Mycoplasma pneumoniae*, *M. hominis* *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*  
*Nocardia asteroides*, *N. brasiliensis*  
*Pasteurella*, all species (except *P. multocida* type B in Level 3)  
*Pseudomonas aeruginosa*  
*Salmonella enterica* (*S. choleraesuis*)  
*Salmonella enterica* serovar arizonae (*Arizona hinshawii*)  
*Salmonella enterica* ser. gallinarum-pullorum (*S. gallinarum-pullorum*)  
*Salmonella enterica* ser. meleagridis (*S. meleagridis*)  
*Salmonella enterica* ser. paratyphi B (*S. paratyphi B*) (*Schottmulleri*)  
*Salmonella enterica* ser. typhi (*S. typhi*)  
*Salmonella enterica* ser. typhimurium (*S. typhimurium*)  
*Shigella boydii*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei*  
*Staphylococcus aureus*  
*Streptobacillus moniliformis*  
*Streptococcus* spp. (Lancefield Groups A, B, C, D, G)  
*Treponema carateum*, *T. pallidum* (including *pertenue*), *T. vincentii*  
*Ureaplasma urealyticum*  
*Vibrio cholerae* (incl. *El Tor*), *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*  
*Yersinia enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*

Adenoviridae

Adenoviruses, all serotypes

Arenaviridae

Lymphocytic choriomeningitis virus (laboratory-adapted strain

Tacaribe virus complex: Tamiami, Tacaribe, Pichinde

Bunyaviridae\*

Genus Bunyavirus

Bunyamwera and related viruses

California encephalitis group, including LaCrosse, Lumbo and

Genus Phlebovirus

All species except Rift Valley fever virus (see Table 1)

Caliciviridae - all isolates (including Hepatitis E & Norwalk)

Coronaviridae

Human coronavirus, all strains

Transmissible gastroenteritis virus of swine

Hemagglutinating encephalomyelitis virus of swine

Mouse hepatitis virus

Bovine coronavirus

Feline infectious peritonitis virus

Avian infectious bronchitis virus

Canine, Rat and Rabbit coronaviruses

Flaviviridae\*

Yellow fever virus (17D vaccine strain)

Genus Yatapoxvirus  
 Genus Avipoxvirus - all isolates  
 Genus Leporipoxvirus - all isolates  
 Genus Orthopoxvirinae - all isolates (except Variola and  
 Genus Parapoxvirus: all isolates  
 vGenus Suipoxvirus: Swinepox (see Table 1 for restriction  
 All other ungrouped poxviruses of vertebrates  
 Reoviridae  
 Genus Orbivirus - all isolates (see Table 1 for restriction:  
 Genus Orthoreovirus, types 1, 2 and 3  
 Genus Rotavirus - all isolates  
 Retroviridae  
 Oncovirinae  
 Genus Oncornavirus C  
 Subgenus Oncornavirus C avian - all isolates  
 Subgenus Oncornavirus C mammalian - all isolates exce  
 Genus Oncornavirus B - all isolates  
 Lentivirinae - all isolates except HIV-I, HIV-II  
 Spumavirinae - all isolates  
 Rhabdoviridae  
 Genus Vesiculovirus (see Table 1 for restrictions) (All la  
 Genus Lyssavirus: Rabies virus (Fixed Virus)  
 Togaviridae  
 Genus Alphavirus\*  
 Semliki forest virus  
 Sindbis  
 O'Nyong-Nyong  
 Ross river virus  
 Venezuelan equine encephalitis (Strain TC-83 only, no a  
 Genus Rubivirus  
 Rubella virus  
 Genus Pestivirus  
 Hepatitis C virus  
 Bovine diarrhoea virus  
 Border disease virus  
 Genus Arterivirus  
 Equine arteritis virus  
 Unclassified viruses  
 Toroviridae  
 Other Hepatitis Viruses  
 Borna disease virus  
 Astro viruses  
 Chronic infectious neuropathic agents (CHINAs):  
 Scrapie, BSE (except Kuru, CJD, see Risk Group 3)

## گروه خطر ۲ - قارچها

### Cryptococcaceae

*Candida albicans*

*Cryptococcus neoformans*

### Moniliaceae

*Aspergillus flavus*

*Aspergillus fumigatus*

*Epidermophyton floccosum*

*Microsporum* spp.

*Sporothrix schenckii*

*Trichophyton* spp.

## گروه خطر ۲ - انگلیها

### Protozoa

*Babesia microti*

*Babesia divergens*

*Balantidium coli*

*Cryptosporidium* spp.

*Entamoeba histolytica*

*Giardia* spp. (mammalian)

*Leishmania* spp. (mammalian)

*Naegleria fowleri*

*Plasmodium* spp. (human or simian)

*Pneumocystis carinii*

*Toxoplasma gondii*

*Trypanosoma brucei*, *T. cruzi*

### Helminths

#### Nematodes -

*Ancylostoma duodenale*

*Angiostrongylus* spp.

*Ascaris* spp.

*Brugia* spp.

*Loa loa*

*Necator americanus*

*Onchocerca volvulus*

*Strongyloides* spp.

*Toxocara canis*

*Trichinella* spp.

*Trichuris trichiura*

*Wuchereria bancrofti*

#### Cestodes

*Echinococcus* (gravid segments)

*Hymenolepis diminuta*

*Hymenolepis nana* (human origin)

*Taenia saginata*

*Taenia solium*



#### Trematodes

*Clonorchis sinensis*  
*Fasciola hepatica*  
*Opisthorchis spp.*  
*Paragonimus westermani*  
*Schistosoma haematobium*  
*Schistosoma japonicum*  
*Schistosoma mansoni*

#### عوامل متعلق گروه خطر ۳

در این گروه عواملی قرار می گیرند که معمولاً "بیماریهای جدی در انسان یا حیوان یا خطرات جدی از نظر اقتصادی ایجاد می کنند اما خطر انتقال آنها بسهولت از فردی به فرد دیگر صورت نمی گیرد و بیماری ناشی از آنها قابل درمان است .

گروه خطر ۳ - باکتریها ، کلامیدیا ، دیکتوزیا

گروه خطر ۳ : باکتریها ، کلامیدیا ، مایکوپلاسما

*Bacillus anthracis*  
*Brucella* - all species  
*Burkholderia (Pseudomonas) mallei; B. pseudomallei*  
*Chlamydia psittaci* - avian strains only  
*Coxiella burnetii*  
*Francisella tularensis*, type A (biovar tularensis)  
*Mycobacterium tuberculosis; M. bovis* (non-BCG strains)  
*Pasteurella multocida*, type B  
*Rickettsia* - all species (also see Table 1)  
*Yersinia pestis*

گروه خطر ۳ - قارچها

### Moniliaceae

*Ajellomyces dermatitidis* (*Blastomyces dermatitidis*)

*Coccidioides immitis*

*Ajellomyces capsulatum* (*Histoplasma capsulatum* including var. *duboisii*)

*Paracoccidioides brasiliensis*

گروه خطر ۳ - ویروسها

### Arthropod-borne viruses are identified with an asterisk.

#### Arenaviridae

Lymphocytic choriomeningitis virus, neurotropic strains

#### Bunyaviridae

##### Unclassified Bunyavirus

Hantaan, Korean haemorrhagic fever and epidemic nephrosis viruses including virus responsible for Hantavirus pulmonary syndrome)

Rift Valley fever virus

#### Flaviviridae\*

Yellow fever virus (Wild type)

St. Louis encephalitis virus

Japanese encephalitis virus

Murray Valley encephalitis virus

Powassan

#### Herpesviridae

##### Gammaherpesvirinae

Genus Rhadinovirus: *Herpesvirus ateles*; *Herpesvirus saimiri*

#### Retroviridae

##### Oncovirinae

Genus Oncornavirus C

Human T-cell leukemia/lymphoma virus (see note below)

Genus Oncornavirus D

Mason-Pfizer monkey virus

Viruses from non-human primates

#### Lentiviridae

Human immunodeficiency viruses (HIV - all isolates) (see note below)

#### Rhabdoviridae

Genus Vesiculovirus (see Table 1 for restrictions) (wild type strains)

Genus Lyssavirus

## Togaviridae

Genus Alphavirus\*

Eastern equine encephalitis virus

Chikungunya

Venezuelan equine encephalitis (except Strain TC-83)

Western equine encephalitis

## Unclassified Viruses

Chronic infectious neuropathic agents (CHINAs): Kuru, Creutzfeldt-Jakob agent (level of precautions depends on the nature of the manipulations and the amount of sera, bio/necropsy materials handled).

### گروه خطر ۳ - انگلها

وجود ندارد

### عوامل متعلق به گروه خط ۴ :

این گروه شامل عوامل بیماری زایی هستند که بیماریهای انسانی خیلی جدی ایجاد می کنند که اغلب غیر قابل درمان هستند و به آسانی از یک فرد به فرد دیگر یا از حیوان به انسان انتقال می یابند .

### گروه خطر ۴ - باکتریها

وجود ندارد

### گروه خطر ۴ قارچها

وجود ندارد

### گروه خطر ۴ ویروسها

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

Arenaviridae

Lassa, Junin, Machupo viruses, Sabia, Guanarito  
Bunyaviridae\*

Genus Nairovirus

Crimean-Congo hemorrhagic fever

Filoviridae

Marburg virus

Ebola virus

Flaviviridae\*

Tick-borne encephalitis complex, including -  
Russian Spring-Summer Encephalitis

Kyasanur forest virus

Omsk hemorrhagic fever virus

Herpesviridae

Alphaherpesvirinae

Genus Simplexvirus: Herpes B virus (Monkey virus)

Poxviridae

Genus Orthopoxvirinae

Variola

Monkeypox

گروه خطر ۴ انگل ها

وجود ندارد .

**کابین محافظ بیولوژیکی کلاس II**

این کابینی است که جهت محافظت محیطی ، محافظت محصولات و پرسنل بکار می رود بدین صورت که جریان هوا از داخل آن عبور کرده و پس از فیلتر شدن در HEPA به سمت خارج هدایت میشود . کابین های کلاس II برای عوامل بیولوژیکی با خطر کم تا متوسط و مقادیر جزئی مواد شیمیائی سمی بکار برده میشوند .

**روش کار با کابین محافظ بیولوژیکی ( ده فرمان )**

۱- آماده سازی

- لامپ UV را خاموش نموده و لامپ فلورسنت را روشن نمائید .

- دریچه های هوا را برای رفع موانع احتمالی چک نموده و دمنده هوا را روشن نمائید .
- به مدت ۵ دقیقه اجازه دهید تا جریان هوا فضای داخل کابین را تهویه نماید .
- فشار هوای داخل کابین ، بایستی در محدوده مجاز بوده و آن را یادداشت نمائید .

## ۲- ضدعفونی عوزن

- تمام سطوح داخلی کابین را با مواد ضدعفونی کننده مناسب ضدعفونی نمائید ( بوسیله اسپری یا تمیز کردن مستقیم )
- صبر کنید تا سطوح خشک شوند

## ۳- آماده سازی وسائل

- فقط وسائلی که جهت انجام کار لازم می باشند را بداخل کابین بیاورید
- وسایلی را در محلی قرار دهید تا وسایل تمیز و آلوده با یکدیگر تماس نداشته باشند
- ظرف حاوی ماده آلوده را در سمت راست و قسمت پشت قرار دهید
- از قرارگیری صحیح صفحه نمایش کابین اطمینان حاصل نمائید

## ۴- تصفیه ( قبل از استفاده )

- دمنده هوا را روشن نمائید و اجازه دهید تا مدتی بدون اینکه عملیاتی در داخل کابین انجام شود . جریان هوا ، هوای داخل را تصفیه نمائید .

## ۵- اعمال شخصی

- لباس محافظ ، دستکش ، ماسک و غیره را که مناسب می باشد بپوشید

## ۶- انجام آزمایش

- دستها را به داخل فضای کار ببرید ، با دقت و طبق روش کار نمائید ( بطور مثال دستکش ها از فضای تمیز به فضای کار و نهایتاً بدور اندازید )

- قبل از آنکه کلیه مراحل آزمایش تمام نشده باشد و کلیه مواد خطرناک و حساس در فضای

مناسب قرار داده نشوند دستها را از فضای کار بیرون نیاورید

- دستکشها را در ظرف حاوی مواد آلوده بگذارید

۷- تصفیه ( بعد از استفاده )

- دوباره دمنده هوا را روشن نموده و اجازه دهید هوای داخل توسط جریان هوا تصفیه گردد

( در این مدت هیچگونه عملیاتی در داخل کابین انجام نگردهد )

۸- اعمال شخصی

- لباس های محافظ ، دستکشها و غیره را بیرون آورده و هر کدام که دور انداختنی اند را دور

بیاندازید

- دستها را بشوئید

۹- ضد عفونی نهائی

- دستکش بپوشید و وسایل و لوازم را حسب مورد درون انکوباتور ، کیسه های مواد خطرناک

بیولوژیک biohazard ، اتوکلا و غیره قرار دهید

- تمام سطوح داخلی را با ضد عفونی کننده مناسب ، Spray و یا بر روی سطوح بمالید

۱۰- اتمام کار

- دمنده هوا و لامپ فلورسنت را خاموش نمائید

- لامپ UV را روشن نمائید

### دفع ضایعات بیولوژیکی

تمام ضایعات بیولوژیکی بایستی جمع آوری ، جداسازی ، بسته بندی ، شماره گذاری و ثبت شده و

براساس مقررات دفع گردند . روش های دفع می بایست باعث آلودگی هوا ، آب و یا زمین نگردند .

تمام ضایعات بیولوژیکی ( مانند محیط های کشت ، نمونه های دور انداختنی بیولوژیکی ) را در کیسه

های پلاستیکی biohazard قرار دهید .

لوله های شیشه ای ، بطری های کشت حاوی خون ، و غیره را درون کیسه های biohazard قرار داده و سپس درون جعبه های مقوایی که پس از پرشدن و بسته شدن آب بندی میگردند قرار دهید ، جعبه ها را زیاد از حد پر نکنید . جعبه های حاوی محیط های کشت خون بایستی تا نیمه پر شوند . تمام لوازم آلوده نیز ( مانند پیت های تیز ، tip های پلاستیکی یکبار مصرف ، سوزن ها ، شیشه های شکسته و ... ) را در ظرف مخصوص وسائل تیز biohazard که در مقابل سوراخ شدن مقاوم است ، قرار دهید . سوزن ها را قطع و خم نموده و آنها را نشکنید . تمام ظروف فوق را در درون ظرف پلاستیکی بزرگ قرار داده و آن را در اطاق شستشو یا استریلیزاسیون قرار دهید .

## مراقبت‌های عمومی برای کشت سلولی

کشت سلول tissue culture یکی از تکنیک‌های رایج در تحقیقات بیولوژیک است که مورد استفاده کادر هیئت علمی و کارشناسان بخشها و همچنین دانشجویان کارشناسی ارشد و دکترا می باشد. محققین قبل از اقدام به کشت سلولی بایستی دستورالعمل‌های ایمنی در موارد زیر را مطالعه نموده و با آنها آشنایی داشته باشند.

- سانتریفیوژها

- دفع زباله های بیولوژیک

- هود Safety cabinet

- مراقبت در برابر عوامل میکروبی Microbiological safety

- مراقبت در مقابل عوامل بیولوژیک Biological safety

وجود امکانات زیر در محل کشت سلولی ضروری می باشد:

۱- مایع شستشوی چشم eye-wash bottle که در کنار دستشویی های واقع در محل باید وجود داشته باشد .

۲- وجود تلفنهای اورژانس ( در صورت بروز حادثه یا هر اتفاقی ) در کنار تلفن در محل کشت سلول

۳- کپسول آتش نشانی در نزدیکی اتاق کشت سلولی

## شعله Gas Burners

معمولاً از شعله در کابینت های کشت سلولی و میکروبی استفاده نمی شود. اگر در مواردی خاص قرار است از شعله استفاده شود از شعله های مخصوص که به صورت touch burner است استفاده گردد. در کل استفاده از شعله به دلیل انتقال حرارت از طریق هوا بازده دستگاه را پایین می آورد. بیاد داشته باشید که اتانل ۷۰٪ که برای ضد عفونی نمودن استفاده میشود بسیار اشتغالزا بوده و بنابراین مسائل حفاظتی و ایمنی وقتی که شعله در زیر هود مورد استفاده قرار می گیرد، بایستی رعایت شود.



## رفع آلودگی مواد ریخته شده ناشی از کشت

تمام باقیمانده های حاصل از محصولات کشت یا سلول ها اگر باعث آلودگی کابینت شوند بایستی سریعاً توسط ویرکن Virkon (محلول ۲٪ آن نقش پاک کنندگی باقیمانده های حاصل از کشت را دارد) پاک شود. محلول ۲٪ Virkon از پودر قرمز رنگ آن تهیه می شود. اگر برای سطح فلزی بکار برود بایستی حتماً پس از استفاده، با آب پاک گردد. بهتر است از دستمال حوله ای برای پاک کردن استفاده نمود و دستمال نیز باید به داخل کیسه ای که مخصوص زباله های بیولوژیک است انداخته شود. جدول زیر لیست پاک کننده هایی که معمولاً در کشت سلولی مورد استفاده قرار می گیرند می باشد. در هنگام استفاده از این مواد استفاده از دستکش ضروری است.

مورد استفاده	ماده ضد عفونی کننده
برای سطوحی که بوسیله محلول حاصل از کشت و یا بافتهای اضافی آلوده شده است.	Virkon (۲٪ solution)
برای وسایل شیشه ای که آلوده شده اند همینطور برای سطوح آلوده و برای اینکه بیشتر موثر باشد در اتانل ۷۰٪ حل می گردد.	Hibitane ( ۵٪ Solution)
برای پاک کردن باقیمانده ترکیبات حاصل از کشت و برای پاک کردن رنگهای قوی بکار میرود.	Lipsol (۵٪ solution) همینطور
تنها برای سطح زمین و ظرفشویی مورد استفاده قرار می گیرد.	Disinfectant
برای پاک کردن هود و انکوباتورها بکار میرود.	۷۰٪ ethanol

## مراقبتها و نکات ایمنی لازم برای انجام کشت سلولی

۱- اتاق مخصوص کشت سلولی بایستی کاملاً ایزوله بوده حداقل دارای دو درب ورودی که تغییرات هوا و باز و بسته شدن درب اتاق کشت کمترین تاثیر را بر روی اتاق مذکور داشته باشد و ریسک آلودگی به

کمترین مقدار برسد پس همواره بایستی نوشته ای بر روی درب ورودی با مضمون " لطفا درب را ببندید " وجود داشته باشد.

۱- پس از اتمام کار کشت سلولی در یک روز کاری تمام وسایل و موادی که برای کشت سلولی استفاده شده است، بایستی از محل کشت بیرون برده شوند. همچنین مواد زائد در کیسه های قابل اتوکلاو شدن ریخته شده که می بایست از محل خارج گردند. در انتها محل انجام آزمایشات مرتب و تمیز گردد.

## دفع مواد زائد بیولوژیکی

تمام مواد زائد توسط استفاده کننده از امکانات کشت سلولی، باید در شرایط مناسب دفع گردند. در جدول زیر شرایط دفع مواد زائد عنوان شده است.

### نحوه رفع آلوده گی

### نوع پسمان

به محل آزمایشگاه منتقل شده و آلوده گی زدایی انجام شده و سپس در سطل مخصوص شیشه ریخته شود.

پاستور پی پت

در کیسه های مخصوص مواد بیولوژیکی خطرناک Biohazard

مواد پلاستیکی یک بار مصرف

که با چسب اتوکلاو پیچیده شده قرار دهید و سپس بوسیله

اتوکلاو کردن استریلیزه کنید.

در ظرفهای مخصوص قرار داده شوند

کاغذ صافی و لوله های سانتریفوژ

نبایستی پاستور پی پت ها را در این سطل ها ریخت.

اسلایدهای میکروسکوپ ، سوزن ها و

تیغ ها و سایر مواد تیز

## تهیه کشت اولیه Primary Culture از حیوانات

- ۱- اگر تنها از یک اتاق کشت برای این منظور استفاده می شود حتماً بایستی ابتدا محل مناسبی برای کشتن حیوان در کنار محل کشت سلول و ترجیحاً در کنار ظرفشویی در نظر گرفته شود. شرایط انتقال حیوان بایستی طبق ضوابط صحیح و در قفس های مخصوص حمل حیوان صورت گیرد. بهتر است محل کشت سلول های Primary متفاوت از Cell line ها باشد. به عبارت دیگر در هر اتاق کشت دو هود مختلف وجود داشته باشد.
- ۲- پس از هر عمل جراحی بایستی محل جراحی و یا کشتن حیوان کاملاً پاک شود و هر گونه باقیمانده های Cell culture از زمین و دیواره ها پاک گردد که این عمل با محلول ۲٪ از Virkon صورت میگیرد. در هیچ شرایطی ذره ای از خون یا بافت یا ذره ای از حیوان نباید روی میزها و یا در sink باقی بماند.
- ۳- اجساد حیوانات بایستی در پلاستیک های مخصوص قرار داده شده و اسم خود یا آزمایشگاه بر رویش نوشته شده و در فریزر گذاشته شود و بلافاصله پس از اینکه کار تمام شد آن را با بقیه اجزایی از حیوان که احتمالاً در sink موجود می باشد دفع کرد.
- ۴- قفس حیوانات هرگز بایستی به مدت زیادتر از حد معمول در اتاق یا آزمایشگاه باقی بماند.
- ۵- پس از اتمام کار آخرین شخص که از کابینت استفاده کرده است بایستی برای استریل کردن محیط که شامل شیشه ها و تمام سینی های قابل جابجایی کابینت می گردد از الکل ۷۰٪ استفاده نموده و مراحل زیر بایستی انجام گیرد:
  - خاموش کردن Cabinet
  - Tray را با دسته هاش بلند کرده و زیر آن تمیز گردد.
  - Tray را سرجاش برگرداند.
  - و محل جلوی کابینت را بست

## Incubators

- ۱- CO<sub>2</sub> به صورت سیلندر CO<sub>2</sub> به incubator وصل است و همواره بایستی مواظب بود که میزان CO<sub>2</sub> پائین نیاید .
- ۲- tray از آب در داخل تمام incubator ها وجود دارد تا humidity را تامین نماید.
- ۳- برای اینکه آب موجود در tray قارچ نزنند ، بجای آب محلول Hibitane ۵٪ اضافه میگردد.
- ۴- اگر در هنگام کار ذراتی از media یا محلول کشت از فلاسکها محیط را آلوده نمود بایستی سریعاً با الکل ۷۰٪ تمیز گردد.

## Microscopes

- ۱- میکروسکوپ های invert (inverted microscope) در درون اتاق کشت بایستی در شرایط صحیح و با دقت مورد استفاده قرار گیرند.
- ۲- همواره بایستی از وجود مواد زائد پاک گردند.
- ۳- میکروسکوپ ها بایستی خاموش شده و محافظ گرد و غبار بر روی آنها قرار گیرند.

## Centrifuges

- ۱- سانتریفوژ مورد استفاده در اتاق کشت همواره بایستی در شرایط مناسب و تمیز نگهداری شود.
- ۲- محفظه های آن با virkon ۲٪ شسته گردد.

## Water baths

- ۱- یک water bath در اتاق کشت سلولی برای گرم کردن media در اتاق کشت سلولی بایستی وجود داشته باشد.
- ۲- همواره بایستی در درجه حرارت ثابت ۳۷°C باقی بماند.
- ۳- بایستی مراقب بود که هیچ گونه ذره ای از media یا سرم در داخل آب ریخته نشود چون ایجاد infection می کند.
- ۴- آخرین فردی که از water bath استفاده می کند در هر روز کاری بایستی آن را خاموش کند.

## مراقبت‌های عمومی برای نمونه‌گیری بیماران

تجهیزات حفاظتی شخصی (Personal protective equipment) در هنگام خونگیری از بیماران

- ۱- شستشوی دستها
- ۲- استفاده از عینک محافظ ( شیلد صورت)
- ۳- استفاده از ماسک ( پارچه ای یا ویسکوز)
- ۴- استفاده از سرنگ متناسب بامیزان حجم خون مورد نیاز جهت آزمایش
- ۵- خالی نمودن نمونه خون در شیشه سرپوش دار مقاوم
- ۶- عدم استفاده از قرار دادن سر سوزن بر روی آن
- ۷- قرار دادن سر سوزن بلافاصله بعد از مصرف در یک قوطی سخت (غیر قابل سوراخ شدن)
- ۸- خارج نمودن دستکش‌ها
- ۹- شستشوی دستها
- ۱۰- خارج نمودن ماسک و عینک محافظ

### در صورتی که بیمار پر خطر باشد:

- استفاده از آستین ضد آب ( واترپروف)
- استفاده از دو دستکش لاتکس
- استفاده از ماسک ضد آب ( واترپروف) به موارد بالا اضافه می شود.

### نکات قابل توجه ×

- در صورت امکان از تجهیزات یک بار مصرف استفاده کنید.
- تجهیزاتی که برای بیماران مبتلا به HIV یا هیپاتیت B استفاده می شوند باید در دو کیسه گذاشته شوند.

- اگر یونیفرم شما در هنگام خونگیری آلوده شده باید به مدت ۲۵ دقیقه در ماده شوینده غوطه ور گردد و سپس ضد عفونی شود.

### ایمونیزاسیون:

افراد برای ایمونیزاسیون در برابر بیماریهای مختلف به سه دسته تقسیم می گردند:

۱- آنهائیکه به علت نوع فعالیت در معرض خطر قرار دارند و ایمونیزاسیون فعال برای آنها قویا

توصیه می شود ( هپاتیت B ، آنفلوآنزا، سرخک ، سرخچه، ... )

۲- آنهائیکه در موارد خاص انجام ایمنی فعال و یا غیر فعال در آنها توصیه میشود

( سل ، هپاتیت A ، پیشگیری از منتریت منگوکی ، ... )

۳- مواردی که ایمنی در برابر آنها برای تمام افراد بزرگسال توصیه شده است ( کزاز ، دیفتری )

### نکات مهم:

۱- کلیه افرادی که در تماس با خون، مایعات بدن و اجسام برنده و تیز هستند بایستی در برابر ویروس هپاتیت B واکسینه شوند.

۲- افراد غیر واکسینه ای که با ویروس هپاتیت B مواجه شده اند بایستی سریعاً ( ترجیحاً ظرف ۲۴ ساعت) ایمونیزاسیون نیز انجام شود.

۳- در مورد کسانی که به طور مداوم با بیماران و یا نمونه های خون در تماس هستند ۲ ماه پس از تکمیل دوزهای سه گانه واکسن هپاتیت B بایستی از نظر میزان آنتی بادی مورد بررسی قرار گیرند و در صورت عدم کفایت واکسیناسیون بار دیگر طبق برنامه انجام گردد.

۴- واکسیناسیون ضد آنفلوآنزا برای افرادی که با بیماران در معرض خطر در تماس نزدیک هستند، برای افراد دارای سن ۶۵ سال به بالا، افراد دارای بیماریهای مزمن قلبی و ریوی و خانمهای باردار در سه ماه دوم و سوم در فصل آنفلوآنزا توصیه می شود.

## راهنمای انجام آزمایشات بر روی جوندگان وحشی

### مقدمه

متن حاضر، از اطلاعات مرکز ملی بیماری‌های عفونی، مراکز خدمات بهداشت عمومی برای کنترل و پیشگیری بیماری‌ها ( ایالات متحده) اقتباس شده است (Iowa State University (Science and Technology)). جوندگان وحشی، بطور بالقوه ناقل بیماری‌ها و عوامل عفونی زیادی از جمله هانتاویروس (Hantavirus)، لپتوسپیروز (Leptospirosis) سالمونلا، عامل تب گزش موش صحرایی (Rat-Bite Fever) و عامل بیماری طاعون می‌باشند.

- کارکنانی که با جوندگان وحشی سروکار دارند یا در فضاهایی که توسط جوندگان وحشی آلوده شده‌اند کار می‌کنند، باید با روش‌های مناسب، از خود حفاظت کنند.
- کارکنانی که در طی ۴۵ روز پس از تماس با جوندگان وحشی دچار ناخوشی می‌گردند می‌بایست مورد توجهات پزشکی لازم قرار گیرند و پزشک را از احتمال وجود بیماری‌های بامنشا جوندگان آگاه سازند. پزشک می‌بایست در صورت شک به بیماری مرتبط با سندرم تنفسی هانتاویروس، سریعاً با مقامات مسوول محلی تماس حاصل نماید.

راهنمایی‌های مربوط به اقدامات احتیاطی عبارتند از:

### کار میدانی (Field Work)

هنگام ورود به فضاهای محصور یا ساختمان‌هایی که آشکارا توسط جوندگان یا ترشحات آنها آلوده شده‌اند، از تجهیزات محافظ شخصی مناسب استفاده نمایید. در چنین مواردی، حداقل می‌بایست حفاظت دست، چشم و دستگاه تنفسی مد نظر قرار گیرد.

- در مواقع کار در فضاهایی که وجود عفونت هانتاویروس در آنها اثبات شده ممکن است تجهیزات محافظ شخصی دیگری نیز مورد نیاز باشند.
- با استفاده از دستکش های لاستیکی، پلاستیکی یا لاتکس، از تماس پوست با مواد عفونی اجتناب نمایید ( یعنی در هنگام تماس با جوندگان اسیر شده، تله های آلوده یا برهم زدن نقب ها و لانه ها) اقدامات محافظتی تکمیلی به منظور حفاظت در برابر گاز گرفتگی نیز ممکن است ضروری باشد.
- دستکش های چند بار مصرف می بایست قبل از درآوردن، آلودگی زدایی گردند. محلول سفید کننده خانگی ۱۰٪ ( ۱/۵ فنجان محلول سفید کننده به ازای هر ۴ لیتر آب ) و همچنین بیشتر مواد شوینده و پاک کننده خانگی ، آلودگی زدای مناسبی می باشند.
- پس از در آوردن دستکش ها، دستان خود را با آب و صابون، بطور کامل بشویید. اگر امکانات و تسهیلات شستشوی دست موجود نبود، دستکش ها را با آب بشویید یا آنها را با یک دستمال یا پارچه آغشته به ماده ضد عفونی کننده پاک کنید و بمحض دسترسی به امکانات و تسهیلات شستشوی دست، دستانتان را بطور کامل بشویید.
- هیچگاه دستکش های یکبار مصرف را مورد شستشو یا استفاده مجدد قرار ندهید.
- به منظور به حداقل رساندن تماس با ذرات فضولات جوندگان ( بعنوان مثال: در هنگام تماس با جوندگان اسیر شده، تله های آلوده یا برهم زدن نقب ها و لانه ها)، از چشم خود محافظت کنید. محافظت مناسب از چشم ، با استفاده از عینک های ایمنی که اطراف چشم را نیز می پوشانند، امکان پذیر است.
- به منظور به حداقل رساندن تماس با ذرات فضولات معلق در هوا، از تجهیزات محافظ تنفسی استفاده کنید.



- در صورت امکان، حیوانات را قبل از شروع کار، بیهوش نمایید. حیوان اسیر شده را از محفظه به سمت کیسه بیهوشی برانید یا پوست حیوان را از طریق سوراخ محفظه، با فورسپس (Forceps) گرفته و سپس، داروی بیهوشی را تزریق کنید.
- اگر بیهوشی، امکان پذیر یا مناسب نیست، لباس محافظ را پوشیده و از لوازم محدود کننده حیوان استفاده نمایید. از ایجاد ذرات معلق در هوا جلوگیری نمایید.
- حمل و نقل محفظه های حاوی حیوانات زنده را به طریق ایمن و صحیح انجام دهید. اگر حمل و نقل حیوانات زنده می بایست انجام گیرد، حیوانات را داخل محفظه بگذارید و محفظه ها را در کیسه های پلاستیکی با ضخامت حداقل ۴ میلی متر قرار دهید. این کیسه ها باید به اندازه کافی بزرگ باشند تا هوای تنفسی حیوان، تامین شود.
- در صورت حمل و نقل حیوانات در داخل وسیله نقلیه ای با فضای محصور، اگر امکان دارد حیوانات داخل محفظه را از قسمت سر نشین خودرو جدا نمایید.

### نمونه گیری خون و تشریح جوندگان وحشی

تشریح در محل نگهداری و اسکان حیوانات، کار غلطی است. بجای آن، توصیه می شود حیوانات به یک آزمایشگاه با تجهیزات مناسب و کافی منتقل گردند تا تحت شرایط کاری ایمن تر، تشریح شوند. حیوانات را در فضایی ایزوله با استفاده از تجهیزات محافظتی شخصی مناسب و لوازم آزمایشگاهی کافی آماده نمایید.

- برای تمام بافت ها یا نمونه های مایعات بدن، در طی جمع آوری ، کار، آماده سازی یا ذخیره سازی، از محفظه های مقاوم در مقابل نشت استفاده نمایید.
- در موارد حمل و نقل مواد آلوده، محفظه اولیه را داخل یک محفظه ثانویه ضد نشت و قابل بسته شدن (مانند یک یخدان) که علامت خطر زیستی روی آن حک شده قرار دهید.
- به منظور اجتناب از تماس با ذرات معلق در هوا (Aerosols) ، ایجاد آنها را به حداقل برسانید.

- در مورد وسایل آلوده تیز و برنده منجمله سوزن، سرنگ، لام، پپیت، لوله های موینه و اسکالپل، نهایت توجه را به کار بندید. در صورت امکان، پلاستیک را جایگزین شیشه نمایید. تمامی اقلام آلوده برنده را در یک محفظه مقاوم در برابر نفوذ قرار دهید.

## نظافت

- شستشوی کامل دست ها با آب و صابون را در اسرع وقت انجام دهید.
- تعویض لباس های محافظ را در یک فضای با تهویه کافی ( مانند فضای خارج) انجام داده و آنها را در کیسه های پلاستیکی قرار دهید تا در صورت لزوم، برای انهدام یا خشکشویی برده شوند.
- تمامی محفظه ها و تجهیزات آلوده را به وسیله فرورودن در یک محلول عفونت زدای مناسب مانند سفید کننده (Bleach) ۱۰٪ به مدت حداقل ۱۰ دقیقه عفونت زدایی نمایید. آنگاه می توان محفظه ها را دو بار با آب شستشو داده و برای خشک شدن زیر آفتاب قرار داد. اگر عفونت زدایی محفظه ها تا پایان کار انجام نمی شود، هنگام دست زدن به محفظه های آلوده، از دستکش و ماسک استفاده نمایید و محفظه های خالی را در کیسه های پلاستیکی بسته حمل نمایید.

- تمامی مواد زاید را قبل از دور ریختن ، آلودگی زدایی نمایید.
- از بین بردن جوندگان مرده، از طریق قرار دادن لاشه آنها در یک کیسه پلاستیکی مخصوص خطرات زیستی ، که متعاقباً سوزانده می شود، انجام می گیرد.

## راهنمای استفاده از بیهوش کننده های استنشاقی در حیوانات آزمایشگاهی

- ۱- هر گاه گازهای قابل اشتعال یا سمی به منظور بیهوشی یا مرگ آسان حیوانات کوچک آزمایشگاهی ( موش، رت، خرگوش، هامستر، خوکچه هندی، پرندگان) به کار می رود، بایستی سیستم تخلیه هوای بدون جریان مجدد ( مانند هود تخلیه گاز) مورد استفاده قرار گیرد. تراکم و یا تبخیر این گازها به میزان کمتر از آنچه که خطر آتش سوزی را در برداشته باشد نیز می تواند برای سلامت کارکنان مضر باشد. بنابراین پرهیز از استنشاق این ترکیبات ، حتی در مقادیر کم ضرورت دارد.

۲- در صورتیکه گاز استنشاقی قابل اشتعال است ، هر گونه وسیله الکتریکی بایستی خارج از هود قرار داده شود.

۳- لاشه حیوانات و هر نوع ماده ( پنبه، گاز، . . ) در معرض اثر و یا دیگر گازهای استنشاقی بایستی ۳۰- ۱۵ دقیقه قبل از دور انداختن در زیر هواکش روشن قرار داده شوند.