



دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

دانشکده پزشکی

گروه علوم تشریحی

عنوان:

آزمایشگاه بافت‌شناسی

و

دستورالعمل ایمنی کار در آن

گردآورنده:

فاطمه آموزگار

صلى الله عليه وسلم

فهرست مطالب

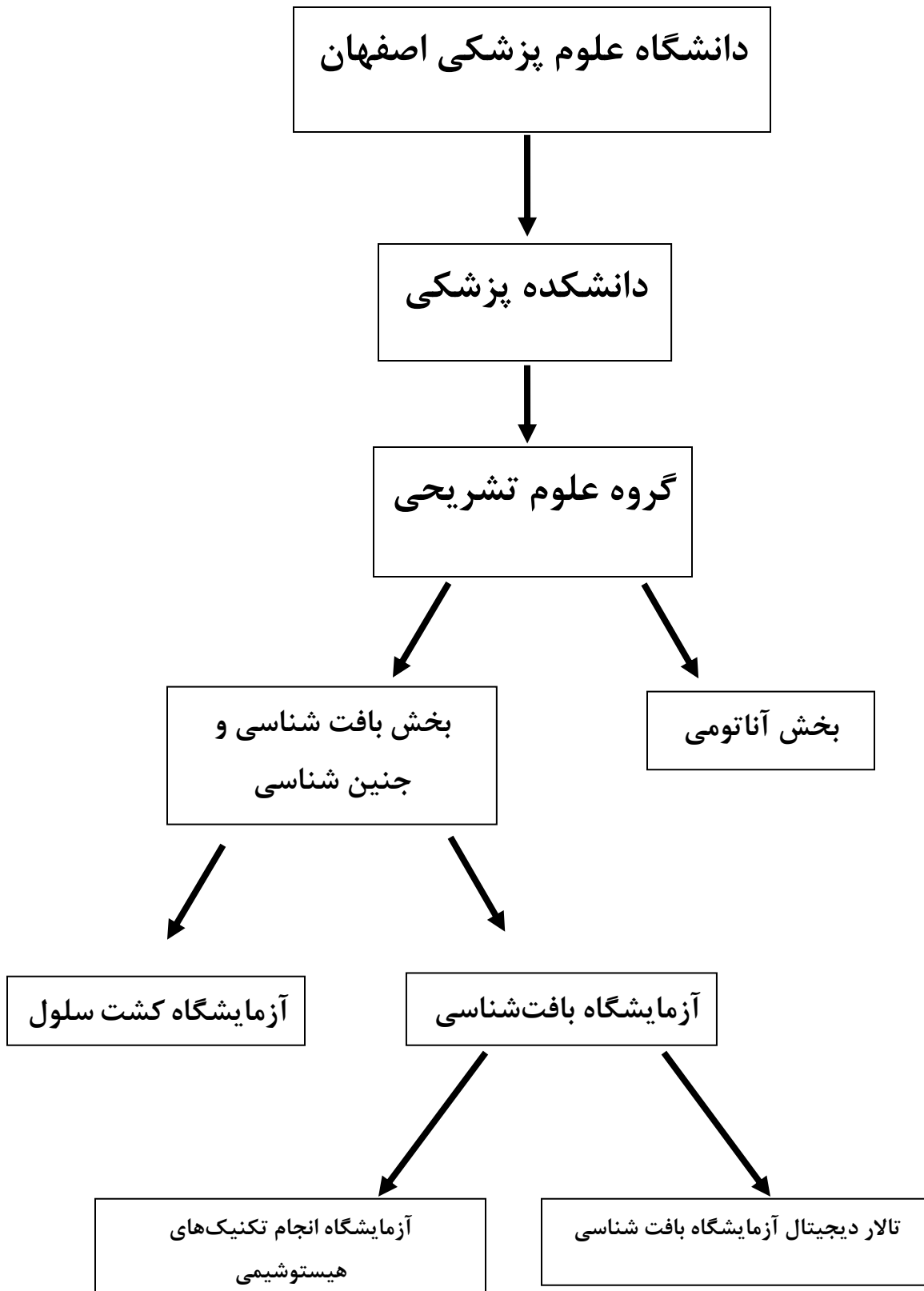
۱۰.....	فصل اول) معرفی آزمایشگاه بافت شناسی
۱۱.....	تالار دیجیتال بافت شناسی
۱۲.....	آزمایشگاه بافت شناسی (انجام تکنیک‌های هیستوشیمی)
۱۳.....	فصل ۲) دستور العمل ها و روش های اجرایی انجام آزمایشات
۱۳.....	مقدمه
۱۳.....	هدف بافت شناسی
۱۳.....	معرفی فرایندهای آزمایشگاه (انجام تکنیک‌های هیستوشیمی)
۱۴.....	هدف از پردازش بافت
۱۴.....	مرحله پردازش بافت
۱۵.....	مرحله قبل از پردازش بافت
۱۶.....	فرایند پردازش بافت (آماده سازی نمونه) با استفاده از دستگاه اتوتکنیکون (TP)
۱۶.....	مرحله پس از پردازش بافت
۱۷.....	مرحله برش بافت (Sectioning)
۱۸.....	مرحله رنگ آمیزی بافت (Staining)
۱۹.....	رنگ آمیزی معمولی بافت (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین H&E)
۱۹.....	فرآیند رنگ آمیزی معمولی بافت (H&E)
۲۲.....	فصل ۳) دستور العمل فنی تجهیزات آزمایشگاه بافت شناسی
۲۲.....	مقدمه
۲۲.....	دستگاه پردازش بافت Tissue processor (TP)
۲۴.....	اصول عملکرد دستگاه TP
۲۵.....	نگهداری دستگاه TP
۲۶.....	کالیبراسیون
۲۶.....	ایمنی کار با دستگاه
۲۷.....	دستور العمل فنی میکروتوم
۲۷.....	کلیات

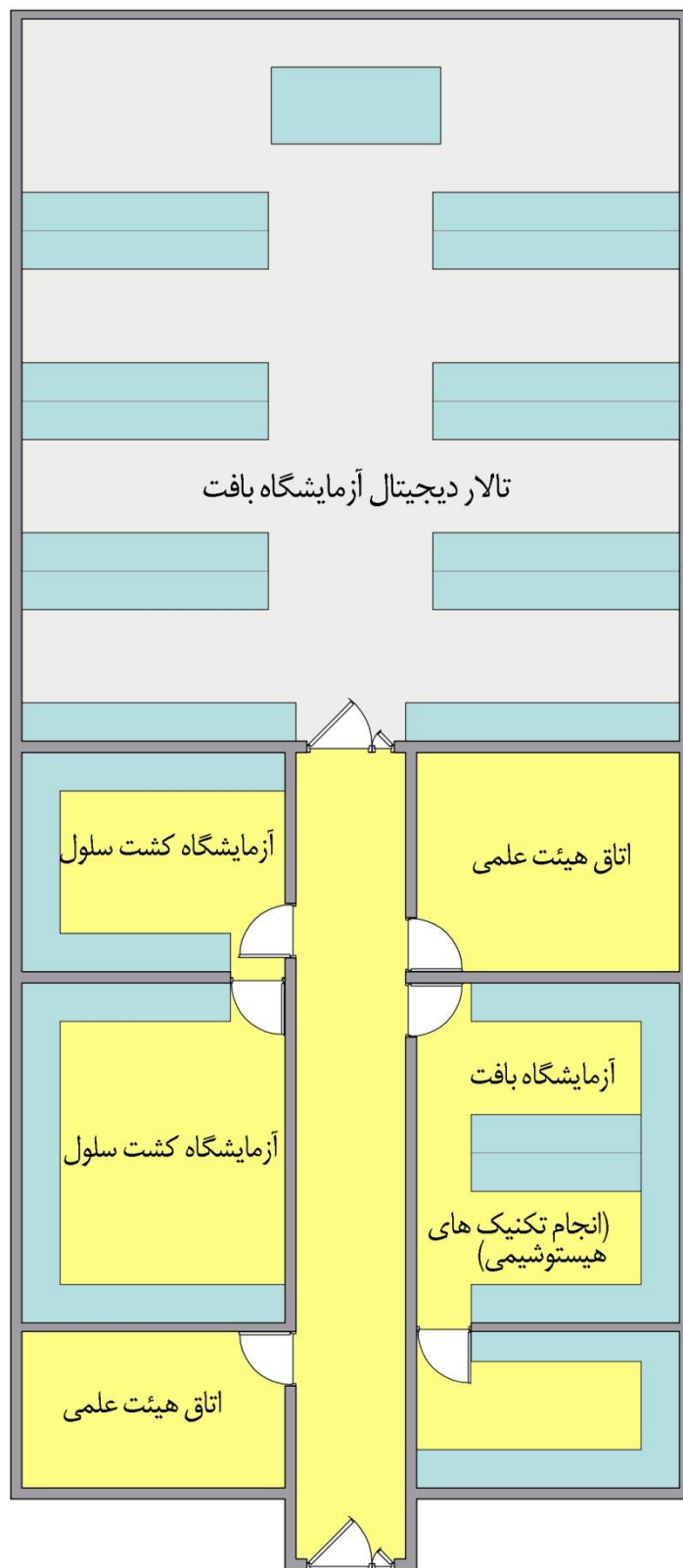
۲۷.....	چگونگی کاربری.....
۲۹.....	نگهداری.....
۲۹.....	کنترل کیفیت.....
۳۱.....	ملاحظات ایمنی در هنگام کار با میکروتوم (و کرایواستات).....
۳۳.....	دستورالعمل فنی انکوباتور.....
۳۳.....	کلیات.....
۳۳.....	چگونگی کاربری.....
۳۴.....	نحوه نگهداری.....
۳۴.....	کنترل کیفیت.....
۳۴.....	ایمنی.....
۳۵.....	دستورالعمل فنی مایکروویو.....
۳۶.....	ایمنی کار با مایکروویو.....
۳۷.....	دستورالعمل فنی هودهای زیستی.....
۳۸.....	هود زیستی کلاس I.....
۳۹.....	دستورالعمل فنی میکروسکوپ نوری معمولی.....
۳۹.....	چگونگی کاربری.....
۳۹.....	نحوه نگهداری.....
۴۰.....	کالیبراسیون.....
۴۱.....	روشن سازی.....
۴۲.....	ایمرسیون با روغن.....
۴۲.....	ایمنی.....
۴۳.....	دستورالعمل فنی پیپت و میکروپیپت.....
۴۳.....	پیپت.....
۴۳.....	برداشت مایعات با پیپت.....
۴۳.....	روش شستشوی پیپت.....
۴۴.....	نکات ایمنی هنگام کار با میکروپیپت.....
۴۵.....	دستورالعمل فنی ترازوی الکترونیک.....

۴۵.....	کلیات
۴۶.....	چگونگی کاربری
۴۶.....	نحوه نگهداری
۴۷.....	کنترل کیفیت
۴۷.....	ایمنی
۴۸.....	فصل چهارم) دستورالعمل مدیریت ایمنی در آزمایشگاه
۴۸.....	بخش اول:
۴۸.....	مقدمه : ایمنی و سلامت شغلی
۴۹.....	اصول کلی در برخورد با مواد شیمیایی
۴۹.....	روش های ایجاد آسیب توسط عوامل شیمیایی
۴۹.....	رهنمودهای کار با مواد شیمیایی
۵۰.....	نگهداری مواد شیمیایی
۵۰.....	مواد شیمیایی منفجره
۵۰.....	مواد شیمیایی عامل سوختگی
۵۱.....	اصول مدیریت درمان در موارد سوختگی شیمیایی
۵۲.....	بخش دوم:
۵۲.....	اصول کلی در برخورد با مواد شیمیایی خاص در آزمایشگاه بافتشناسی
۵۲.....	فرمالدئید (HCHO)
۵۴.....	گزیلول (C ₈ H ₁₀)
۵۵.....	الکل
۵۶.....	اسیدها
۵۶.....	اسید استیک (CH ₃ COOH) و اسید نیتریک (HNO ₃)
۵۶.....	اسید پیکریک
۵۷.....	اسید کلریدریک (HCl)
۵۷.....	دی آمینو بنزویک DAB
۵۹.....	بخش سوم:
۵۹.....	اصول کلی حفاظت و پیشگیری از آلودگی کارکنان و محیط آزمایشگاه

۵۹.....	مقدمه
۵۹.....	نکات عمومی
۵۹.....	تماس دست
۶۰.....	خوردن غذا، آشامیدنی ها و غیره
۶۰.....	برداشت مایعات با پیپت
۶۰.....	شستشوی چشم
۶۱.....	وسایل تیز و برنده
۶۱.....	عدم قرار دادن درپوش سرسوزن روی آن
۶۱.....	وسایل و دستگاه های کمک تنفسی
۶۲.....	دوش اضطراری
۶۲.....	وسایل و تجهیزات حفاظتی مورد استفاده در آزمایشگاه
۶۲.....	پوشش و تجهیزات ایمنی شخصی
۶۲.....	لباس کارکنان
۶۳.....	استفاده از دستکش
۶۴.....	شستشوی دست
۶۶.....	محافظت از چشم و صورت
۶۶.....	نمونه هایی از دستورالعمل های ضد عفونی و شستشو در آزمایشگاه
۶۶.....	دستورالعمل نحوه ضد عفونی در موارد ریختن و یا شکستن ظروف محتوی مواد آلوده
۶۷.....	دستورالعمل نحوه شستشوی لوازم شیشه ای
۶۸.....	شستشوی وسایل شیشه ای با شوینده ها
۶۸.....	روش ضد عفونی نمودن و استریل کردن وسایل شیشه ای
۶۹.....	نکات ایمنی هنگام کار با وسایل شیشه ای
۶۹.....	دستورالعمل نحوه ضد عفونی نمودن کف، سطوح و وسایل آزمایشگاه
۶۹.....	نگهداری مواد خطرناک
۷۱.....	بخش چهارم:
۷۱.....	فرایند کار در آزمایشگاه بافت شناسی
۷۱.....	فرایند کار در آزمایشگاه

۷۱.....	ایمنی در آزمایشگاه
۷۱.....	پوشش آزمایشگاه
۷۲.....	نقاط مهم آزمایشگاه
۷۵.....	بخش پنجم:
۷۵.....	روش های بی خطر سازی و دفن پسماندهای آزمایشگاهی
۷۵.....	دفع پسماندهای آزمایشگاهی





پلان بخش بافت شناسی

فصل اول) معرفی آزمایشگاه بافت‌شناسی

آزمایشگاه بافت‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان با هدف پیشبرد فعالیت‌های آموزشی و پژوهشی در جهت برآورده ساختن بخشی از نیازهای اعضای هیئت علمی و دانشجویان تاسیس گردید. آزمایشگاه بافت‌شناسی شامل دو قسمت می‌باشد:

۱) تالار دیجیتال آزمایشگاه بافت‌شناسی

مساحت: ۱۹۲ متر مربع

۲) آزمایشگاه (انجام تکنیک‌های هیستوشیمی)

مساحت: ۴۵ متر مربع

کارشناس آزمایشگاه: فاطمه آموزگار

تلفن آزمایشگاه: ۳۷۹۲۹۱۶۱

فاکس: ۳۷۹۲۹۱۰۵

تالار دیجیتال بافت شناسی

مساحت تالار : ۱۹۲ متر مربع

در این آزمایشگاه امکان آموزش لام‌های آموزشی بافت شناسی عمومی و بافت شناسی اختصاصی به دانشجویان

پزشکی، دندانپزشکی، پیراپزشکی (علوم آزمایشگاهی، مامایی، فیزیوتراپی و دانشجویان تحصیلات تکمیلی

(کارشناسی ارشد و دکترای تخصصی Ph.D) وجود دارد.

تجهیزات این تالار شامل :

- میکروسکوپ سه چشمی دوربین دار (مورد استفاده اساتید)
- میکروسکوپ معمولی نوری (مورد استفاده دانشجویان)
- مانیتور (جهت نمایش لام‌های آموزشی به دانشجویان) فوق الذکر
- رایانه جهت استفاده از نرم افزارهای مورد نیاز آموزشی
- میکروسکوپ پنج دید استاد و دانشجو

آموزش، بررسی و تشخیص لام‌های بافت عمومی و تخصصی توسط اساتید بافت شناسی به دانشجویان ارشد و

دکتری (با میکروسکوپ فوق الذکر)

آزمایشگاه بافت شناسی (انجام تکنیکهای هیستوشیمی)

مساحت آزمایشگاه: ۴۵ مترمربع

در این آزمایشگاه امکان انجام روش‌های متنوع هیستوتکنیک برای تهیه برش‌های پارافینی و نیز انواع رنگ آمیزی‌های عمومی و اختصاصی (جهت آموزش به دانشجویان تحصیلات تکمیلی) و ایمنوهیستوشیمی (جهت کارهای تحقیقاتی اساتید و یا پایان نامه دانشجویان) وجود دارد.

تجهیزات موجود در این آزمایشگاه:

۱- دستگاه پردازش بافت Tissue processor (آماده سازی بافت)

۲- میکروتوم روتاری (دوار)

۳- حمام بافت Tissue Bath

۴- پارافین دیسپنسر

۵- هود معمولی کلاس I

۶- فور

۷- انکوباتور

۸- مایکروویو

۹- ترازوی دیجیتالی

۱۰- میکروسکوپ نوری معمولی (دوچشمی)

۱۱- یخچال

۱۲- میکروپیپت ثابت، پیپت و دماسنج

۱۳- ظرف شیشه ای شامل ارلن مایر، قیف شیشه ای ، مزور، بشر، بالن ژوژه

۱۴- زمان سنج، قلم الماس، جعبه لام و لامل

فصل ۲) دستور العمل ها و روش های اجرایی انجام آزمایشات

مقدمه

هدف بافت شناسی

بافت شناسی (Histology) به معنی مطالعه و بررسی بافت است. ریشه این لغت یونانی (بافت Histos و شناختن Logos) است این واژه:

اولاً به معنی شناخت ارتباطات و ساختار بافت های گوناگونی است که در کنار یکدیگر قرار گرفته اند.

ثانیاً به معنی شناخت جزئی اجزاء تشکیل دهنده بافت یا سلول است.

روش های بافت شناسی بر پایه تهیه بافت و ثابت نگه داشتن شرایط ساختمانی آن بگونه ای نزدیک به حالت طبیعی و زنده بافت قرار دارند.

جهت دریافت، نگهداری و ثبوت نمونه نیاز به یکسری مقدماتی است که بهتر است این وسایل را مجموعاً در آزمایشگاهی قرار داد که شرایط زیر را دارا باشد:

۱- دارای تهویه مناسب باشد(چرا که اکثر موارد بخارات سمی و مضر در آزمایشگاه وجود دارد که با تهویه

مناسب مقدار این مواد سمی کاهش می یابد.

۲- میز تشریح مناسب داشته باشد که بهتر است این میز دارای سطوح مفید $45\text{ cm} \times 35\text{ cm}$ باشد و

جنس این میز از ساج یا چوب های سخت باشد.

۳- دستشویی مناسب جهت شستشوی بافت

معرفی فرایندهای آزمایشگاه (انجام تکنیک های هیستوشیمی)

این آزمایشگاه شامل سه فرآیند کلی می باشد:

I- مرحله آماده‌سازی بافت (پردازش بافت)

II- مرحله برش بافت

III- مرحله رنگ‌آمیزی بافت

می‌توان گفت پردازش بافت (آماده‌سازی بافت) جهت تهیه یک نمونه بافتی مطلوب در درجه اول اهمیت قرار دارد.

هدف از پردازش بافت

- محکم و متراکم نمودن بافت
 - امکان انجام برش‌های بسیار نازک با میکروتوم بدون تخریب فیزیکی
 - تسهیل رنگ‌آمیزی بافتی
 - افتراق بهتر سلولی هنگام مشاهده با میکروسکوپ
- بدون پردازش بافت، تغییرات فیزیکی و یا شیمیایی می‌توانند ساختمان سلول‌ها را تغییر داده و اثرات نامطلوبی در بررسی میکروسکوپی ایجاد نمایند.

I) مرحله پردازش بافت

این مرحله را می‌توان به سه بخش تقسیم نمود:

(A) قبل از پردازش بافت

(B) مرحله پردازش بافت

(C) مرحله بعد از پردازش بافت

A) مرحله قبل از پردازش بافت

فرآیند آماده سازی مواد و وسایل تشریح بافت

- ساختن محلول فرمالین ۱۰٪ به عنوان ثابت کننده بافتی
- آماده کردن ظروف در گشاد حاوی فرمالین ۱۰٪ و برچسب نمودن آنها
- آماده نمودن میکروفوم
- آماده نمودن میز تشریح
- آماده نمودن قیچی مخصوص تشریح، انواع پنس‌ها، پنبه، دستکش، ماسک

فرآیند تشریح حیوان آزمایشگاهی

- هماهنگی دانشجویان با کارشناس آزمایشگاه و مسئول لانه حیوانات
- گرفتن حیوان آزمایشگاهی (موش، Rat، ...) از لانه حیوانات
- استفاده از کلروفوم و بیهوش نمودن حیوان برای تشریح
- برش بافت‌های مورد نظر در ابعاد کوچک و قطر کم (قطر ۳-۵ mm و اندازه ۱ cm)

فرآیند ثابت سازی نمونه

مرحله ثابت سازی نمونه

- قراردادن نمونه برش بافتی در ظروف در گشاد حاوی فرمالین ۱۰٪ در سریع‌ترین زمان جهت جلوگیری از اتولیز و فساد بافت
- مدت زمان قراردادن نمونه بافت در فرمالین ۱۰٪
(۲۴-۷۲ ساعت جهت نفوذ بهتر و کامل محلول فیکساتیو در بافت)
- تعویض فرمالین بافت‌ها روزانه
- توجه به میزان حجم فرمالین ۱۰٪ مورد استفاده در ظروف حدود ۴-۵ برابر حجم نمونه بافتی

(B) فرایند پردازش بافت (آماده سازی نمونه) با استفاده از دستگاه اتوتکنیکون (TP)

- تهیه و ساخت محلول‌های مورد نیاز دستگاه اتوتکنیکون
- استفاده از ظروف متخلخل درب‌دار مخصوص به نام کاست و قرار دادن بافت برش خورده در داخل آن‌ها
- نوشتن شماره یا نام بافت با مداد و قرار دادن در کاست حاوی بافت مورد نظر و بستن درب آن
- قراردادن کاست‌ها در سبد فلزی مخصوص دستگاه TP
- وصل کردن سبد فلزی به دستگاه TP
- تنظیم زمان تعویض محلول‌های مختلف
- روشن نمودن دستگاه اتوتکنیکون (TP)

(C) مرحله پس از پردازش بافت

قالب گیری

جهت استحکام بافت و سهولت برش بایستی طی انجام مراحل یک قالب پارافینی یا یک بلوک از بافت مورد نظر تهیه شود.

فرایند قالب گیری و تهیه بلوک پارافینی

- روشن نمودن حمام پارافین
- آماده نمودن قالب های L شکل فلزی (لوکهارت)
- تنظیم و کنترل دمای پارافین مذاب ($56 \pm 2^{\circ}\text{C}$)
- پر کردن قالب با پارافین مذاب
- منتقل کردن بافت با پنس نسبتاً داغ به داخل پارافین با جهت دلخواه
- وارد کردن برچسب نام نمونه در پارافین

- جامد شدن پارافین در دمای اتاق
- جدا کردن قالب از نمونه (تهیه بلوک پارافینی)
- قرار دادن بلوک پارافینی در یخچال تا زمان برش

(II) مرحله برش بافت (Sectioning)

برای برش گیری از بلوک (قالب) پارافینی از دستگاهی به نام میکروتوم (دوار) استفاده می شود.

فرآیند برش گیری

- آماده کردن دستگاه میکروتوم دوار
- آرایش دادن (trimming) قالب (برداشتن اضافه های پارافینی اطراف بافت با یک اسکالپل گرم در حدی که در اطراف بافت حدود ۳mm پارافین باقی بماند و سطح برش به شکل دوزنقه ای وار نمای روبرو به شکل هرم باشد.
- قرار دادن بلوک در محل هولدر بلوک و محکم کردن آن
- قرار گرفتن سطح نمونه به طور موازی با سطح تیغ میکروتوم
- تنظیم ضخامت برش (حدود ۳-۵ μC)
- برش گیری نمونه ها به صورت نواری
- قرار دادن نوارهای بافتی روی حمام بافت با دمای $40-45^{\circ}\text{C}$ (باز شدن چروک های بافت)
- نوشتن نام نمونه یا شماره نمونه بر روی لام تمیز
- فروبردن لام تمیز داخل آب و زیر نمونه
- بیرون کشیدن لام همراه نمونه به آرامی
- قرار دادن لامها در جا لامی (rock)
- ۱- به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق

۲- یا به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C در انکوباتور

۳- یا به مدت ۴۵ دقیقه در دمای 60°C در فور با توجه به اضطراب انجام آزمایش

برش های سریال

عبارت از تهیه برش‌هایی با تناوب مشخص و با ضخامت یکسان از نمونه بافتی است بیشتر برای کارهای تحقیقاتی و جنین شناسی استفاده می‌شود فواصل برداشت نمونه معمولاً ۵ یا ۶ را انتخاب می‌کنند. یعنی پس از برداشت برش اول بشمارید و ۵ برش بعد را رها کرده و برش شماره ۶ را انتخاب و برداشت کنید.

برش‌های انتخابی روی حمام بافت قرار می‌گیرد و ادامه مراحل مثل قبل انجام می‌شود.

III) مرحله رنگ آمیزی بافت (Staining)

بافت بدون رنگ آمیزی شفاف و ترانسپارانت است و جهت بررسی زیر میکروسکوپ باید رنگ آمیزی گردد. روش رنگ آمیزی موفق روشی است که هم اختصاصی باشد هم حساس. روش‌های گوناگونی جهت رنگ آمیزی تا به حال به کار گرفته شده است که یکی از مهمترین روش‌ها رنگ آمیزی با ترکیبات شیمیایی که ایجاد رنگ در بافت‌ها می‌کند است.

با استفاده از ترکیبات رنگی، در اثر واکنش مواد رنگین در بافت بوجود می‌آیند و این رنگ‌ها خود باعث تغییر در طول موج نوری می‌شود که به بافت برخورد کرده و از آن عبور می‌نماید. مثلاً رنگ زرد ایجاد شده در سطح بافت به دلیل جذب نورهای قرمز و آبی توسط بافت و عبور نور زرد از بافت می‌باشد.

رنگ هایی که در بافت شناسی به کار برده می‌شود دو نوع هستند:

۱- رنگ های طبیعی مثل هماتوکسیلین که از یک نوع درخت بدست می‌آید.

۲- رنگ های سنتتیک که در صنعت از نفت خام (زغال سنگ) بدست می‌آید. بیشتر رنگ ها

ساختمان بنزینی دارند. (ائوزین رنگ اسیدی ساختمان گزانتن و حلقه کینوئید)

رنگ آمیزی معمولی بافت (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین H&E)

هماتوکسیلین یکی از پر مصرف ترین رنگ‌ها در روش کارهای بافت شناسی است و بیشتر به عنوان رنگ هسته به کار برده می‌شود. (هسته به رنگ آبی تا بنفش) ائوزین رنگ قرمزی است که اساساً برای بافت همبند و سیتوپلاسم به کار برده می‌شود و به درجات مختلف آن‌ها را رنگ می‌کند.

فرآیند رنگ آمیزی معمولی بافت (H&E)

- آماده نمودن مواد و وسایل موردنیاز برای رنگ‌آمیزی
- حذف واکس پارافین از بافت توسط محلول گزیلول
- حذف گزیلول با الکل مطلق
- استفاده از الکل‌هایی با درجات پایین‌تر (الکل‌های نزولی)
- آب دهی بافت
- قرار دادن برش‌ها در محلول رنگ هماتوکسیلین
- شستشوی برش‌ها در آب جاری
- دیفرانسیه شدن بافت توسط اسید الکل ۱٪ (گرفتن رنگ اضافی بافت)
- شستشو بافت در آب جاری قلیایی (توقف رنگ‌زدایی بافت)
- مشاهده زیر میکروسکوپ (خوب رنگ گرفتن هسته)
- قرار دادن برش‌ها در محلول ۱٪ ائوزین
- شستشوی کوتاه در آب مقطر
- مشاهده لام زیر میکروسکوپ (خوب رنگ گرفتن سیتوپلاسم)
- آب‌گیری برش‌ها (در الکل‌های صعودی ۷۰، ۹۰، ۱۰۰)
- شفاف نمودن برش‌ها در گزیلول با حداقل دو تغییر

- مانته کردن لام ها باجهت اینتلان (برای جلوگیری از نفوذ هوا و حفظ بافت برای مدت زمان طولانی
- مشاهده و بررسی لام ها با میکروسکوپ

نتیجه:

هسته: آبی تا بنفش

سیتوپلاسم و سلول های عضلانی: رنگ صورتی پر رنگ

کلاژن: صورتی کم رنگ

گلبول های قرمز: رنگ نارنجی تا قرمز

رنگ های افتراقی

در بیشتر موارد علاوه بر نشان دادن هسته و سیتوپلاسم (با رنگ H&E) جهت تمایز اجزاء بافتی و افتراق آن ها از رنگ های متفاوتی استفاده می شود که به عنوان رنگ افتراقی معروفند و طیف وسیعی دارند که معمول ترین آن ها با توجه به رنگی که تولید می کنند عبارتند از رنگ های سیتوپلاسمی و رنگ های هسته ای

رنگ آمیزی اختصاصی

تمام اجزاء بافت ممکن است با رنگ آمیزی H&E مشخص نشود. لذا برای مشخص نمودن آنها باید رنگ اختصاصی مناسب اجزاء بافت به کار برده شود برای مثال :

رنگ آمیزی وان گیسون (جهت رنگ آمیزی کلاژن)

رنگ آمیزی پروسیان بلو (جهت رنگ آمیزی گرانول های آهن)

رنگ آمیزی ورهوف (جهت رنگ آمیزی رشته های الاستیک)

رنگ آمیزی تری کروم ماسون (جهت رنگ آمیزی کلاژن)

رنگ آمیزی رتیکولن (جهت رنگ آمیزی رتیکولین)

کنترل کیفیت محلول‌های رنگ‌آمیزی

هنگام تهیه محلول‌های رنگ‌آمیزی نکات زیر قابل توجه است:

- ۱- بیشتر مواد رنگی توکسیک و سمی هستند و از تماس مستقیم با بدن باید جلوگیری شود.
- ۲- ظرفی که در آن محلول رنگ تهیه می‌شود باید شیشه‌ای باشد درپوش آن نیز باید شیشه‌ای یا پلاستیکی باشد.
- ۳- بر روی تمام محلول‌ها باید کاملاً برچسب زده شود و بر روی آن‌ها مشخصات محلول و زمان ساخت آن را قید نمود.
- ۴- پس از ساختن محلول بهتر است در جای خنک نگهداری شود.
- ۵- در پوش محلول‌ها را کاملاً بر روی آن‌ها قرار داده و مانع از تبخیر آن شوید.
- ۶- بعضی از محلول‌ها را باید به دور از نور نگهداری کرد.
- ۷- در صورتی که ماده رنگی محلول در آب است بهتر است از آب مقطر استفاده شود البته بعضی نیز در الکل محلول هستند.
- ۸- بعضی از محلول‌ها را باید قبل از استفاده و یا درست پس از تهیه محلول، آن‌ها را صاف نمود.
- ۹- در صورتی که طول عمر محلول رنگی کوتاه باشد میزان محلول ساخته شده باید کم و حتی بعضی از مواد را باید دقیقاً قبل از استفاده ساخت پس مدت زمان طولانی نمی‌توان آن‌را حفظ نمود از این جهت میزان مورد نیاز را در ابتدای محاسبه نموده و سپس محلول تهیه شود.

فصل ۳) دستور العمل فنی تجهیزات آزمایشگاه بافت شناسی

مقدمه

وجود و بکارگیری تجهیزات مناسب از فاکتورهای موثر در فرآیندهای قبل از آزمایش، انجام آزمایش و پس از آزمایش می باشد.

مسئولان فنی و کاربران این تجهیزات در موقع کار با آنها بایستی از صحت عملکرد دستگاه مطمئن بوده و آموزش لازم را کسب نمایند.

دستور العمل فنی تجهیزات حاوی تمام اطلاعات ضروری مربوط به دستگاه و نحوه کاربرد آن است که با استفاده از دستور العمل سازنده و نیز مطابق با مراجع علمی معتبر تهیه شده که این اطلاعات عبارتند از :

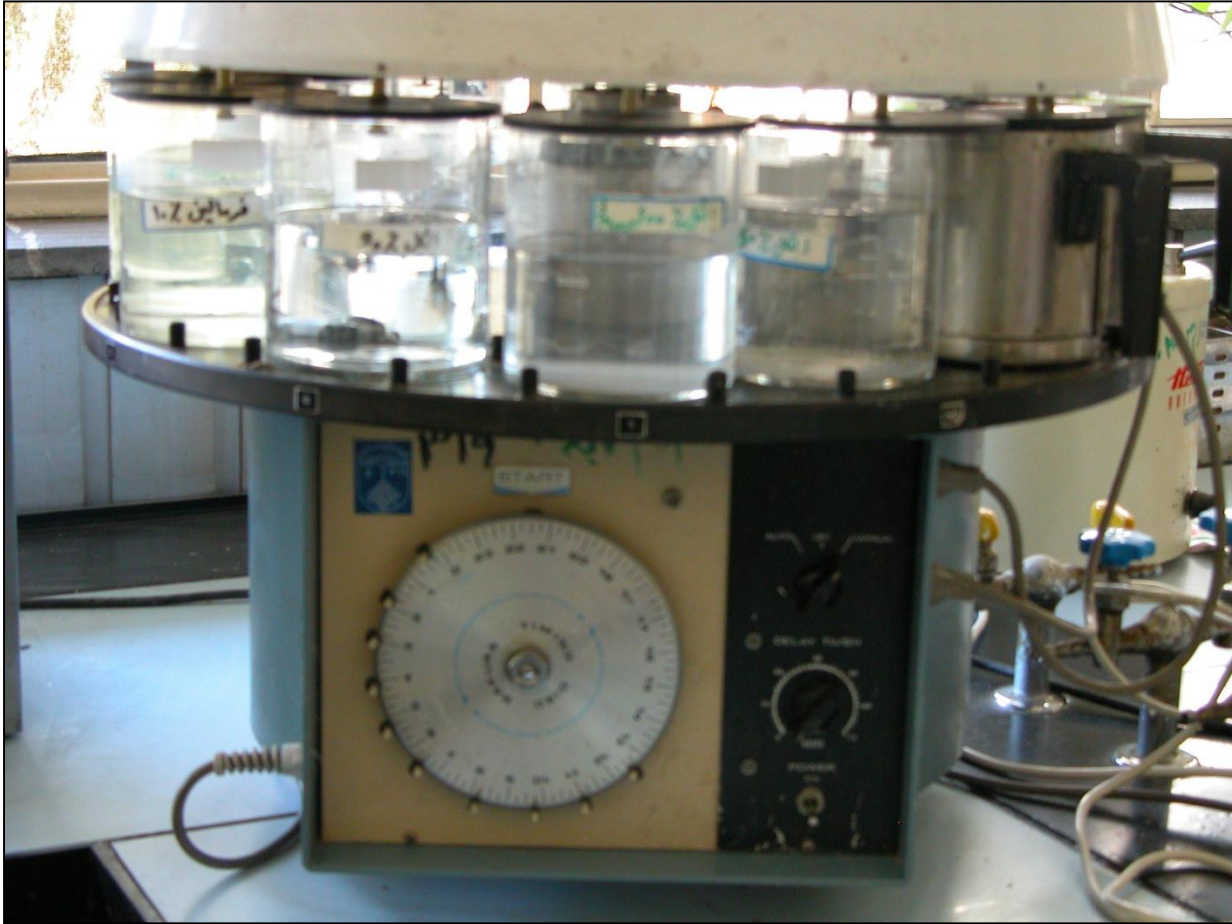
- چگونگی کاربری : شرح مرحله به مرحله نحوه کار با دستگاه
- نحوه کنترل و نگهداری
- مراحل اقدامات در صورت نیاز به تعمیر و سرویس
- ملاحظات ایمنی

دستگاه پردازش بافت (TP) Tissue processor

این دستگاه نمونه‌های بافتی را برای مرحله بعد یعنی انجام قالب‌گیری و تهیه برش‌های بسیار نازک با میکروتوم آماده می کند.

قسمت‌های مختلف دستگاه TP عبارتند از :

- ۱- ظروف شیشه‌ای به تعداد ده عدد حاوی محلول‌های مختلف (فرمالین ۱۰٪ الکل‌های صعودی و گزبلول)
- ۲- دو ظرف فلزی گرم شونده (حمام پارافین Paraffin Bath) جهت پارافین مذاب
- ۳- سبد فلزی مخصوص کاست های محتوی نمونه بافتی
- ۴- اهرمی که مرتباً بطور دورانی سبد فلزی را درون محلول‌های مختلف حرکت می دهد.



دستگاه اتوتکنیکون

اصول عملکرد دستگاه TP

دستگاه TP به طور خودکار تغییرات لازم در بافت‌ها را طی مراحل زیر :

- ۱- ثبوت Fixation با فرمالین ۱۰٪
- ۲- آبگیری Dehydration با استفاده از اتانول
- ۳- شفاف سازی Cleating با استفاده از گزیلول
- ۴- نفوذ (آغشتگی) Impregnation با استفاده از پارافین مذاب

به ترتیب زیر ایجاد می نماید:

- ثبوت بافت با عبور از یک ظرف فرمالین ۱۰٪
- آبگیری با عبور از هفت ظرف اتانول صعودی به ترتیب ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰، ۹۶، ۱۰۰ درجه
- شفاف سازی با عبور از دو ظرف گزیلول
- نفوذ با عبور از دو ظرف پارافین مذاب با دمای $(56 \pm 2^{\circ}\text{C})$

زمان بندی قرار گرفتن بافت که در ظرف حاوی محلول‌ها

- ظرف فرمالین دو ساعت
- ظروف الکل هر کدام به مدت ۱ ساعت به جز ظروف الکل ۱۰۰ درجه هر کدام دو ساعت
- ظرف گزیلول اول ۱/۵ ساعت و گزیلول دوم ۲ ساعت
- ظرف پارافین اول به مدت ۱/۵ ساعت و دوم به مدت ۲ ساعت

البته با توجه به کیفیت لام‌های تهیه شده این زمان‌بندی را می‌توان کمی تغییر داد و کالیبره نمود.

کنترل کیفیت پردازش بافت

- ۱- تنظیم دمای حمام پارافین $(56 \pm 2^{\circ}\text{C})$ با یک دماسنج (روزانه) دماهای بالاتر سبب سختی و تخریب

بافت می‌شود

- ۲- تعویض منظم محلول‌ها بسته به حجم و تعداد بافت‌ها و حجم کاری
- ۳- حفظ فاصله ۲/۵ سانتی‌متری سطح محلول‌های داخل ظروف از قسمت فوقانی آن‌ها
- ۴- کامل و کافی بودن زمان آبیگری با اتانول
- اگر زمان کوتاه باشد انتقال مواد می‌تواند محلول بعدی را آلوده و نیاز به تعویض مکرر گزیلول یا پارافین گردد.
 - زمان طولانی باعث خشک شدن نمونه‌ها و چروکیدگی آن‌ها می‌شود.
- ۵- کامل بودن زمان شفاف سازی
- زیاد ماندن در گزیلول بافت را سخت می‌کند
- ۶- تنظیم زمان مناسب آغشتگی به پارافین
- زمان کوتاه: وسط بافت نرم و بوی ماده شفاف کننده را می‌دهد
 - زمان طولانی: بافت‌ها سخت می‌شوند.
- ۷- قرار دادن مجدد نسوج چرب و غیر قابل برش در گزیلول و سپس ادامه مرحله پردازش بافت

نگهداری دستگاه TP

- الف) پاک کردن (Cleaning) و مراقبت از دستگاه
- قطع برق دستگاه در هنگام تمیز کردن آن
 - تمیز کردن ظروف ، کاست ها و سبد فلزی با استفاده از آب گرم و پاک‌کننده های معمولی
 - تمیز کردن روزانه قطرات پارافین ریخته شده روی سطوح
 - کنترل قطعات مکانیکی دستگاه هر ۶ ماه یکبار
 - کنترل قطعات الکتریکی توسط کارشناسان فنی آشنا به سیستم
- ب) دمای حمام پارافین

▪ کنترل روزانه دمای حمام پارافین که معمولاً $2^{\circ}\text{C} \pm 56$ باید توجه شود که دمای حمام

پارافین با نقطه ذوب پارافین خریداری شده بایستی متناسب باشد.

کالیبراسیون

تنظیم کردن زمان قرارداد بافت ها در ظرف های حامل محلول ها با توجه به کیفیت لام های تهیه شده صورت می گیرد لذا به صورت تجربی می توان این زمان ها را تا رسیدن به کیفیت مطلوب تغییر داد. کالیبر کردن دستگاه در صورت نیاز با هماهنگی با کارشناسان فنی مجرب و آشنا به سیستم صورت می گیرد (یا شرکت مربوطه)

ایمنی کار با دستگاه

- استفاده از دستکش لاتکس و ماسک مناسب در حین انجام کار (با توجه به عوارض مواد شیمیایی مصرفی مانند فرمالین و گزیلول)
- برقراری تهویه مناسب در محل استقرار دستگاه
- اجتناب از قرار دادن شعله باز یا عوامل احتراق زا در نزدیکی دستگاه (بدلیل استفاده از محلول هایی با قابلیت اشتعال)
- زمان لازم برای ۱۲ مرحله نفوذ بافتی در دستگاه TP به طور متوسط ۱۲ ساعت و تا ۷۲ ساعت متغییر است و به نوع بافت ، ضخامت بافت، نوع مواد و میزان اضطراب کار بستگی دارد.

دستور العمل فنی میکروتوم

کلیات

این دستگاه برای تهیه برش‌های بافتی بسیار نازک از بلوک‌های پارافینی کاربرد دارد.



دستگاه میکروتوم

چگونگی کاربری

به طور کلی دستگاه میکروتوم از دو قسمت تقسیم شده است: یک قسمت که بر روی آن بلوک تهیه شده را ثابت می‌نمایند و دیگری تیغ برش.

قسمتی که بر روی آن بلوک ثابت است، مرتبط با یک دسته (چرخه) میکرومتری است که در هر گردش دسته میکروتوم، به اندازه چند میکرون به جلو و عقب می‌رود. میکروتوم انواع مختلفی دارد ولی بهترین نوع آن به صورتی است که بلوک بر روی چرخ میکروتوم ثابت و در نتیجه مرتباً در مقابل تیغ در یک جهت حرکت می‌کند و بدین ترتیب برش‌ها تشکیل نوارهای باریکی را می‌دهند.

برای تهیه برش از بلوک‌های پارافینی ابتدا باید بلوک‌ها را تهیه نمود و سپس میکروتوم را به صورت صحیح تنظیم کرد.

میکروتوم چرخشی رایج‌ترین وسیله مورد استفاده در تهیه برش‌ها است. قبل از تهیه برش‌ها باید بلوک‌های پارافینی را مرتب کرد. سپس بلوک‌ها با استفاده از چاقوی استیل یا تیغ یک‌بار مصرف از قالب جدا می‌گردند به طوری که در آن‌ها فقط پارافین به ضخامت سه میلی‌متر در اطراف بافت وجود داشته باشد. سطوح قالب‌ها باید با یکدیگر موازی باشند و علاوه بر آن بافت به صورت کامل و مساوی داخل بلوک قرار گرفته باشد. در هنگام برش باید تیغ کاملاً تیز باشد تا از ترک خوردگی و شکستن بلوک‌ها جلوگیری شود. باید بلوک‌ها روی پایه میکروتوم به طریقی ثابت شود که محور بلند (طولی) بلوک‌ها به موازات تیغ قرار گیرند. باید تیغ را در محل مورد نظر به طور ثابت و محکم قرار دهیم و درجه انحراف آن به دقت تعیین شده و مناسب باشد. تمام پیچ و مهره‌های مربوط به تیغ باید محکم باشند. آنقدر از سطح بلوک باید بریده شود تا تمام سطح بافت بر برابر تیغ برش قرار گیرد و سپس برش نهایی داده شود.

معمولاً برای بافت‌های معمولی ضخامت برش دستگاه بین سه الی پنج میکرون تنظیم می‌شود. بافت‌های بریده شده را در هنگام برش با دست چپ نگاه می‌داریم ولی از پنس هم می‌توان استفاده کرد. برش‌ها باید نواری، صاف و بدون چین و چروک باشند. قطعات بریده شده پس از آن که پهن و صاف شدند روی ورقه یا روی لام قرار داده می‌شوند. تهیه برش خوب به تجربه شخصی و آشنایی کامل فرد کارشناس به وسایل مورد استفاده بستگی دارد، بنابراین کارشناس‌ها برای این کار باید بخوبی آموزش داده شوند. از آنجایی که نتایج کار عمدتاً به حساسیت و عملکرد تیغ بستگی دارد، هر کارشناس باید بخوبی با نحوه استفاده از تیغ و نگهداری آن آشنا باشد. از مهم‌ترین نکات در هنگام برش حفظ زاویه مناسب برش یا $\text{cutting clearance angle}$ است. معمولاً این زاویه بین پنج الی ده درجه است.

هنگامی که برش‌ها رضایت‌بخش نباشند و نمونه‌ها بخوبی پروسس نشده باشند، بلوک و تیغ را می‌توان با یخ، سرد کرد. در مورد نمونه‌های مشکل مثل ناخن و تاندون‌ها و یا نمونه‌های سفت می‌توان از یک عامل نرم‌کننده استفاده نمود. لازم به ذکر است که در حال حاضر اسپری‌هایی برای این منظور مورد استفاده قرار می‌گیرد که به راحتی در دسترس می‌باشد.

نگهداری

- بدنه، پایه و تیغ میکروتوم باید هر روز بعد از هر دوره کاری تمیز گردد.
- دستگاه در هنگامی که استفاده نمی‌شود باید بدون تیغ و در حالت قفل باشد.
- روغن کاری مربوط به دستگاه، توسط کارشناس مربوطه و در فواصل مشخصی انجام گردد.
- تیغ‌ها باید همیشه در جعبه مخصوص خود حمل و نگهداری شوند تا به لبه‌های آن صدمه وارد نشود.
- تیغ‌ها در صورتی که یک‌بار مصرف نیستند باید به‌صورت دوره‌ای و در هنگام لزوم تیز شوند.

کنترل کیفیت

در هنگام برش، بافت باید به‌صورت نواری شکل از بلوک‌ها بیرون آید و کاملاً مسطح و بدون چروک و پارگی باشند (مانند خارج شدن کاغذها از یک چاپگر). در مطالعه میکروسکوپی برش‌ها نباید دچار خراش‌های طولی و یا عدم یکنواختی‌ها به‌صورت عرضی باشند و علاوه بر آن ضخامت نسوج تعیین شده باید برای روش مطالعه و درجه تنظیم میکروتوم تناسب داشته باشد.

به عنوان یک قانون کلی تیغ‌های میکروتوم باید همیشه کاملاً تمیز باشند.

در جدول زیر برخی از اشکالات در هنگام کار با میکروتوم و تهیه برش‌ها و نحوه رفع آن توضیح داده شده است.

موارد نقص در تهیه برش‌های بافتی و راه‌حل‌های پیشنهادی مربوط به رفع آن‌ها

نقص مورد مشاهده	علت یا علل نقص	طرق رفع نقص
نوار برش‌ها به دور خود می‌پیچد بجای اینکه مستقیم باشد.	۱- لبه‌های قالب بافت با یکدیگر و نیز با سطح تیغ موازی نیست. ۲- اگر یک سمت برش بافت جمع می‌شود، لبه تیغ در آن نقطه کند شده‌است.	۱- زاویه قالب را تغییر داده تا دو لبه آن موازی یکدیگر شود. ۲- تیغ را جابجا کنید تا سطح تیزتری در مقابل قالب قرار بگیرد.
در حین برش‌گیری برش‌ها به سمت بالا می‌پیچند.	زاویه‌ی tilt تیغ زیاد است	زاویه‌ی tilt را کم می‌کنند.
برش‌ها به شکل نواری در نمی‌آید بلکه جدا جدا بدست می‌آید.	۱- واکس انتخاب شده نسبت به درجه حرارت آزمایشگاه سخت است ۲- سرعت برش‌گیری را زیاد کنید	۱- سطح قالب را با واکس نرمی (با درجه 45°C -۴۰) بپوشانید. ۲- درجه حرارت آزمایشگاه را زیادتر کنید و یا لامپی را در محل میکروتوم روشن نمایید. ۳- سرعت برش‌گیری را زیاد کنید.
برش‌ها جمع می‌شود.	۱- پارافین بسیار نرم است. ۲- تیغ کند است.	۱- با استفاده از یخ پارافین را خنک کنید. ۲- تیغ را تیز کنید.
در طول نوار برش‌ها خط ایجاد می‌شود.	۱- سطح تیغ دنداندار شده‌است. ۲- در سطح تیغ پارافین جمع شده‌است. ۳- بافت دارای بخش‌های کلسیفیه است.	۱- تیغ را تیز کنید. ۲- تیغ را تمیز کنید. ۳- کلسیم‌زدایی سطحی انجام دهید.
برش‌ها گاهی اوقات ظریف و گاهی اوقات ضخیم می‌باشند.	۱- نقص دستگاه میکروتوم است که احتمالاً روغن- کاری نیاز دارد. ۲- تیغ به شکل صحیحی محکم نشده است و یا اینکه در جای خود خوب قرار داده نشده است. ۳- قالب پارافین در محل خود خوب محکم نشده و در اثر فشار وارد شده از طرف تیغ جابجا شده و مرتعش می‌شود.	واضح است.
مناطق ظریف و ضخیم در سطح یک برش دیده می‌شود.	تیغ مرتعش می‌شود یا ناشی از سختی بافت است و یا زاویه‌ی tilt زیاد است.	۱- در صورت امکان قالب پارافین را نرم‌تر کنید. ۲- تیغ سنگین‌تری را انتخاب نمایید. ۳- میکروتوم بهترین که دچار فرسودگی کمتر شده باشد انتخاب نمایید.

تیغ را مجدداً تیز کرده تا زاویه سطح برش تیغ کاهش یابد.	سطح برش تیغ پهن شده است.	پهنای برش کمتر از پهنای قالب است.
۱- مجدداً پاساژ دهید. ۲- ورقه نازکی از سلونیدین رقیق بر سطح قالب بکشید جهت هر بار برش زدن.	۱- عمل پاساژ بافت مناسب و خوب نبوده. ۲- ترکیب مناسبی را برای قالب‌گیری انتخاب نکرده‌اند.	برش تکه‌تکه می‌شود.

ملاحظات ایمنی در هنگام کار با میکروتوم (و کرایوستات)

تفاوت اصلی این دو دستگاه آن است که در میکروتوم، بافت‌هایی مورد برش قرار می‌گیرند که ثابت شده در بلوک‌های پارافینی بوده و عموماً آلوده کننده نیستند، اما در کرایوستات به علت اینکه بافت مورد استفاده بافت منجمد فیکس نشده است، خطر آلودگی با عوامل عفونی نیز وجود دارد. به همین منظور باید توصیه‌های ایمنی زیر شامل پیشگیری از ایجاد عفونت و صدمات مکانیکی در مورد آن‌ها رعایت گردد.

پیشگیری از ایجاد عفونت

- گیره نگهدارنده بلوک و برس باید جهت آلودگی زدایی در محلول ضدعفونی کننده مناسب قرار داده شود.
- بعد از اتمام کار با کرایوستات، دستگاه به دفعات با الکل ۷۰٪ ضدعفونی گردد.
- باید حداقل هفته‌ای یک‌بار یخ دستگاه آب گردد و اگر احتمال آلودگی بافت به مایکوباکتریوم توبرکولوزیس وجود دارد بلافاصله دستگاه با یک ماده موثر بر علیه عامل توبرکولوز ضدعفونی گردد.
- هنگام کار باید از دستکش و سایر وسایل حفاظتی استفاده نمود.
- هنگام برش، دریچه دستگاه بسته باشد.
- باید دستورالعمل‌های مربوط به روش‌های آلودگی‌زدایی مکتوب شده، در اختیار کارکنان مرتبط قرار داده شود و سوابق مربوط به اجرای آن نگهداری گردد.

ایمنی کار با دستگاه میکروتوم

این دستگاه‌ها به سبب دارا بودن تیغه برنده ممکن است موجب بریدگی و آسیب پوستی گردند به منظور جلوگیری از آسیب‌های مکانیکی باید به نکات زیر توجه شود:

وسایل فوق به علت استفاده از تیغ خطرناک هستند، لذا باید توصیه‌های زیر را هنگام کار با آن‌ها بکار بست:

- تیغ بدون محافظ رها نگردد.
- تیغ یک‌بار مصرف در محفظه مقاوم مخصوص وسایل برنده قرار گیرد.
- اگر بدون برداشتن تیغ، نمونه‌ها تعویض می‌گردند، تیغ را باید با محافظ انگشتان پوشاند و در این هنگام دسته آن باید قفل شده باشد.
- باید از قفل بودن ضامن مربوطه در هنگامی که از دستگاه میکروتوم استفاده نمی‌گردد، مطمئن گردید.

دستورالعمل فنی انکوباتور

کلیات

انکوباتور برای نگهداری سوسپانسیون یا محیط‌های کشت حاوی میکروب یا نگهداری مواد در برخی آزمایش‌ها که نیاز به حرارت خاص دارند، استفاده می‌گردد.



چگونگی کاربری

انکوباتور محفظه عایق‌بندی شده‌ای است که برای نگهداری دما و رطوبت تنظیم شده محیط برای رشد میکروارگانیسم‌ها مورد نیاز است. بعضی انکوباتورها برای نگهداری میزان دلخواه از CO₂ برای میکروارگانیسم‌هایی که دی‌اکسیدکربن دوست (Capnophilic) هستند، تجهیز شده‌اند.

الف- انکوباتورهای بدون CO₂:

- تنظیم کننده دما را روی دمای مورد نظر قرار دهید.

- وقتی درجه حرارت به دمای مورد نظر رسید، دما را در هر روز استفاده روی برگه کنترل کیفی (QC) ثبت کنید.
- نمونه‌ها را به‌طور ایمن روی سینی‌ها یا قفسه‌ها قرار دهید.
- می‌توانید با قرار دادن یک تشتک پر از آب متناسب با اندازه اتاقک در کف انکوباتور، محیط مرطوب ایجاد نمایید.

ب- انکوباتورهای CO₂ دار:

- سطح دما و CO₂ در برگه QC در زمان استفاده از آن، ثبت می‌شوند.
- در صورت اتمام کپسول گاز CO₂، تا زمان شارژ مجدد آن می‌توانیم جهت نگهداری نمونه‌های نیازمند CO₂ از محفظه حاوی شمع (candle jar) به صورت جایگزین استفاده نماییم.

نحوه نگهداری

- تمامی انکوباتورها باید به‌طور ماهانه با محلول صابون ملایم تمیز و در صورت لزوم ضدعفونی شوند.
- زمانی که دمای انکوباتورهای بدون CO₂ خارج از محدوده قابل قبول برای واحد مورد نظر باشد، باید به سوپروایزر فنی اطلاع داده شود. اقدامات اصلاحی مطابق موارد ذیل انجام شود:
 - منبع برق، پریز برق و کلیدهای روشن/ خاموش بررسی شود.
 - دمای تنظیمی (Set Point) بررسی گردد.
 - اگر دستگاه هنوز درست کار نمی‌کند، باید به نماینده سرویس دهنده اطلاع داده شود.
 - تمام عملیات نگهداری، تمیز کردن و تعویض سیلندر باید در جداول مربوطه ثبت گردد.

کنترل کیفیت و ایمنی

- حرارت انکوباتور با دماسنج کالیبره، اندازه‌گیری و به‌طور روزانه و در دو نوبت بر روی منحنی حرارت ثبت می‌گردد.

- سیستم برق‌رسانی مطابق توان و ولتاژ مصرفی باشد تا احتمال وقوع هرگونه حادثه مخاطره‌آمیز کاهش یابد.
- در موقع تنظیم فشار و دما به نکات مندرج در دفترچه راهنما و زمان مربوطه توجه گردد.
- در زمان اتمام کار با دستگاه، رعایت نکات ایمنی از جمله استفاده از دستکش و خروج تدریجی بخار و در صورت لزوم استفاده از محافظ صورت ضروری می‌باشد.

دستورالعمل فنی مایکروویو

از دستگاه مایکروویو جهت حرارت دادن و گرم کردن اجسام و مواد در زمان کوتاه استفاده می‌شود. این دستگاه با استفاده از انرژی امواج رادیویی کوتاه سبب گرم شدن اجسام می‌شود. استفاده از این دستگاه می‌تواند خطرات زیادی به همراه داشته باشد بنابراین بهتر است قبل از کار با این وسیله دستورالعمل آن مطالعه شود.



ایمنی کار با مایکروویو

- هیچگاه دستگاه را در حالیکه خالیست نباید روشن نمود زیرا امواج مایکروویو می تواند سبب آسیب به دیواره های داخلی دستگاه شود.
- به طور مرتب نوارهای لاستیکی دور درب از نظر سالم بودن و تمیزی مورد واریسی قرار بگیرد.
- به هیچ وجه نباید از دستگاهی که درب یا نوارهای لاستیکی دور آن آسیب دیده استفاده نمود. چنین دستگاهی سبب پراکنش امواج خطرناک رادیویی در محیط می شوند.
- هیچگاه و به هیچ وجه با فشار دادن ضامن درب، نباید دستگاه را با درب باز روشن نمود.
- هنگام روشن بودن دستگاه بهتر است از نزدیک شدن زیاد به آن خودداری نموده و فاصله ایمنی با آن رعایت شود.
- چنانچه ماده درون دستگاه شروع به جرقه زدن نموده و شعله ور شود، باید به سرعت دستگاه را خاموش نموده و کابل آن را از برق کشید. بهتر است درب آن نیز برای مدتی بسته نگهداشته شود.
- نباید ظروف با درب کاملاً بسته و بدون منفذ درون دستگاه قرار داده شوند. همچنین اگر جسم یا ماده مورد نظر درون کیسه های نایلونی قرار دارد، باید منافذی برای خروج بخار در آن تعبیه شود.
- ظروف فلزی و وسایل دارای اجزا فلزی و حتی فویل های آلومینیوم را نباید درون دستگاه قرار داد زیرا سبب جرقه زدن و آسیب به دستگاه می شود.
- نباید در زمانهای طولانی به مایعات یا سایر مواد حرارت داد. این کار سبب سوختگی مواد و گاه پرتاب شدن قطرات و ذرات آن به اطراف می شود.
- برای خروج وسایل باید از دستکش استفاده نمود.
- چنانچه پس از خروج ظرف، مایع درون آن در حال جوشش باشد بهتر است قبل از برداشتن درب ظرف

چند دقیقه صبر نمود تا مایع از جوشش افتاده و به تعادل برسد.

دستورالعمل فنی هودهای زیستی

هودهای زیستی برای حفاظت کارکنان، محیط آزمایشگاه و ابزار کار از آلوده شدن توسط ذرات آيروسل و قطرات ریزی است که هنگام کار با مواد حاوی عوامل پاتوژن مانند محیط های کشت و نمونه های تهیه شده از بیماران ممکنست ایجاد شوند. ذرات آيروسل توسط هر فرآیندی که سبب ورود انرژی به مواد محلول یا نیمه محلول می شود، تولید می گردند. به عنوان مثال شیک کردن، انتقال مایعات از یک ظرف به ظرف دیگر، مخلوط کردن مواد توسط چرخاندن با مگنت و ...همگی می توانند سبب تولید ذرات آيروسل و قطرات ریز شوند.

آيروسلهایی با قطر کمتر از ۵ میکرومتر و قطرات ریز مایع با قطر ۵ تا ۱۰۰ میکرومتر توسط چشم غیر مسلح قابل رویت نیستند. کارکنان یک آزمایشگاه معمولا از وجود چنین ذراتی که می توانند سطوح کار و ابزار آزمایشگاه را آلوده نموده یا مستقیما توسط کارکنان تنفس شوند، آگاهی ندارند. هودهای زیستی چنانچه درست استفاده شوند، می توانند تا حد زیادی سبب کاهش موارد ابتلا به عفونتهای آزمایشگاهی و انتقال آلودگی به افراد یا محیط کار شوند.

طی سالیان متمادی هودهای زیستی تغییرات تکاملی زیادی یافته اند که یکی از مهمترین این موارد پیدایش فیلترهای HEPA (فیلتر های جذب کننده ذرات هوا با کارایی بالا) بوده است. این فیلترها قادرند ۹۹.۹۷٪ ذرات با قطر ۰/۳ میکرومتر و ۹۹.۹۹٪ ذرات با قطر بیشتر یا کمتر از این حد را جذب نمایند. این فیلترها با کارایی بالا تمام عوامل عفونی که تا کنون شناسایی شده اند را جذب کرده و تنها هوای سالم و عاری از هر آلودگی را بیرون می دهند.

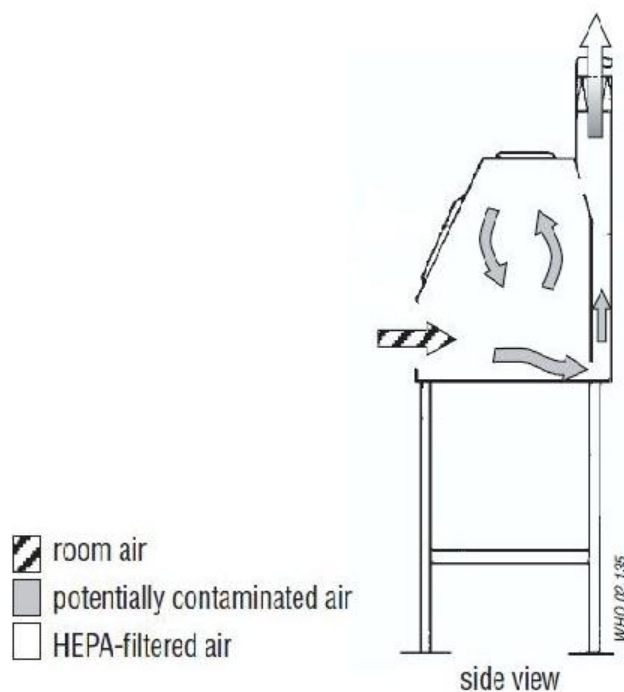
هود ها به سه گروه تقسیم می شوند و هر کدام قادرند سبب حفاظت نسبت به دسته بخصوصی از پاتوژن ها شوند.

جدول زیر این دسته بندی را نشان می دهد.

نوع ایمنی مورد نیاز	نوع هود بیولوژیک
حفاظت از پرسنل، میکروارگانیسم های گروه خطر ۱، ۲، ۳	کلاس I، II، III
حفاظت از پرسنل، میکروارگانیسم های گروه خطر ۴	کلاس III
حفاظت از نمونه هنگام کار	کلاس II، III

هود زیستی کلاس I

در آزمایشگاه بافت شناسی از هود کلاس I استفاده می شود.



هود زیستی کلاس I

هوای اتاق از شکاف جلوی هود وارد شده، از سطح کار رد می شود و در نهایت از قسمت فوقانی خارج می گردد. چنانچه هنگام کار با نمونه، ذرات آبروسل یا قطرات آلاینده ایجاد شوند، جریان هوا آنها را به سمت کانال خروجی برده و مانع آلوده شدن فرد هنگام کار می شود. از این هودها می توان هنگام کار با عوامل پاتوژن باکتریایی و مواد شیمیایی سمی با تبخیر پذیری سریع استفاده نمود. اما از آنجا که هوای اتاق به طور مستقیم وارد فضای کار می شود ممکنست نمونه مورد مطالعه آلوده شود. به عبارت دیگر این نوع از هودها تنها سبب حفاظت افراد و فضای کار می شوند.

دستورالعمل فنی میکروسکوپ نوری معمولی

چگونگی کاربری

پس از گذاشتن لام بافتی روی صفحه مخصوص میکروسکوپ و روشن نمودن دستگاه از عدسی (لنز) X10 به منظور بررسی کل لام از نظر بافت شناسی؛ از عدسی X40 برای بررسی اجزاء بافتی، شناسایی مرفولوژی سلول طبیعی، از عدسی X100 برای دیدن لام خون محیطی (گلبولهای قرمز، شناسایی نوع و تعیین مرفولوژی گلبول سفید) استفاده می شود. استفاده از این عدسی جهت کار روزمره سرعت کار را کند می کند و نیاز به روغن دارد.

نحوه نگهداری

- میکروسکوپ باید در یک محیط تمیز نصب شود که دور از مواد شیمیایی، نور مستقیم خورشید، منبع حرارت یا رطوبت باشد. اگر صفحه لام با سالین یا KOH آلوده شود باید فوری تمیز گردد تا از خوردگی جلوگیری شود. رطوبت و دمای بالا باعث رشد قارچها شده که می تواند به سطوح اپتیک آسیب برسانند. نگهداری در یک محیط بسته باعث رشد قارچ می شود. در آب و هوای مرطوب نیاز به مصرف مواد خشک کننده مثل کلرید کلسیم در یک محیط کوچک است.

- بعد از استفاده از عدسی ایمرسیون باید آن را توسط ورقه‌های مخصوص پاک کردن عدسی (Lens papers) یا کاغذ جاذب یا پارچه نرم یا پنبه بدون کرک پاک کنید. سایر عدسی‌ها (چشمی و شیئی) را که آلوده به روغن شدند باید با کمی محلول تمیز کننده شامل دی اتیل اتر ۷۰٪ و اتانول ۳۰٪ پاک گردند. عدسی‌ها نباید در الکل گذاشته شوند چون داربست آن‌ها حل می‌شود. سایر قسمت‌ها با یک دترژان خفیف پاک شود. روغن و چربی ابتدا توسط اتریپترولئوم و سپس محلول ۴۵٪ اتانول در آب مقطر تمیز شود. اگر داخل عدسی چشمی نیز غبار رفته باشد باید باز و تمیز گردد.
- در صورت نیاز، کندانسور و عدسی دیافراگم با پارچه نرم آغشته به گزیلول یا تولوئن تمیز شود. آینه با پارچه آغشته به الکل ۹۵٪ تمیز شود. مراقب باشید دیافراگم بسیار حساس بوده و اگر آسیب ببیند معمولا تعمیر نمی‌شود.
- بخش‌های مکانیکی متحرک باید به سهولت حرکت کنند. هر قسمتی که به سختی کار کند، نیاز به روغن کاری دارد. باید از روغن مناسب استفاده شود و توجه به این نکته ضروری است که روغن گیاهی خشک شده و سفت می‌گردد. این عمل برای پیچ تنظیم coarse، پیچ تنظیم fine، حرکت کندانسور و صفحه لام انجام می‌گیرد. توصیه می‌شود به طور مرتب قسمت‌های متحرک تمیز و روغن کاری شود. این لغزندگی نه تنها باعث حرکت روان قسمت‌ها شده بلکه ساییدگی را کاهش داده و از خوردگی جلوگیری می‌کند. سطح ثابت صفحه لام باید خشک نگه داشته شود. اگر لامی خیس باشد به سختی حرکت می‌کند و به صفحه لام فشار آورده و به آن صدمه می‌زند.

کالیبراسیون

معمولا پس از خرید دستگاه جدید و توسط شرکت پشتیبان صورت می‌گیرد ولی در صورتی که کاربر در کالیبراسیون دستگاه مهارت داشته باشد می‌تواند به روش زیر عمل نماید:

روشن‌سازی

یک لام (با لامل) روی صفحه لام قرار داده عدسی X10 را انتخاب کرده و مراحل زیر را انجام دهید:

۱- تمرکز منبع نور

- با آینه:

از سطح صاف آینه استفاده کنید. دیافراگم را حداکثر باز کنید. کندانسور را بالا ببرید. یک تکه کاغذ سفید نازک در بالای کندانسور روی عدسی قرار دهید. این کاغذ باید تصویری از لامپ الکتريکی را نشان دهد که توسط حلقه‌ای از نور احاطه شده باشد. آینه را طوری تنظیم کنید تا تصویر لامپ درست در مرکز حلقه نور قرار بگیرد. در صورتی که از روشنایی استفاده می‌شود آینه را طوری تنظیم کنید که روشن‌ترین قسمت نور در مرکز قرار بگیرد.

- با توکار (لامپ):

نور را با پیچ تنظیم در وسط قرار دهید تا نتایج بالا به دست آید.

۲- تمرکز کندانسور

کندانسور را پایین قرار دهید. دیافراگم را باز کنید. لام را با عدسی X10 امتحان کنید. تصویر را میزان کنید. دیافراگم را ببندید. یک حلقه کدر نور که توسط دایره‌ای تاریک احاطه شده در میدان ظاهر می‌شود. به-آهستگی کندانسور را بالا ببرید تا حلقه نور میزان شده و لبه آن کاملاً واضح و شارپ شود. اگر لازم است محل آینه را تنظیم کنید تا حلقه نور درست در وسط یا روی منطقه روشن محاط با تاریکی بیافتد. پیچ کندانسور را بالا ببرید تا حلقه نور درست در مرکز میدان باشد. در برخی از میکروسکوپ‌ها صفحه لام (stage) توسط پیچ بالا و پایین می‌رود که در این صورت لازم است با حرکت صفحه لام تصویر را میزان کنید.

۳- تنظیم دیافراگم

دیافراگم را به طور کامل باز کنید. عدسی چشمی را در آورده و از لوله نگاه کنید. میدان را با یک حلقه نور می بینید. دیافراگم را آهسته ببندید تا حلقه نور فقط دو سوم میدان را بپوشاند.

ایمرسیون با روغن

وقتی پرتو نور از هوا گذر کرده و به شیشه می رسد می شکند و وقتی از شیشه به هوا برمی گردد دوباره پرتو نور شکسته و به جای اول خود بر می گردد. این موضوع در درشت‌نمایی کم اثر زیادی ندارد اما در درشت‌نمایی بالا این شکست نور نه تنها باعث محدودیت میزان نوری است که به عدسی می رسد بلکه باعث محدودیت قدرت عدسی می شود. این شکست نور و محدودیت‌های آن را با کمک روغن و حذف هوای بین عدسی شیئی و لام کنترل می کنیم چون خاصیت اپتیک روغن مثل شیشه است. بدین ترتیب به جای اینکه نور از شیشه به هوا رفته و بشکند و دوباره از هوا به شیشه برگردد گویی تماما از شیشه عبور کرده است.

ایمنی

سیم برق دستگاه پس از استفاده و خاموش کردن آن از پریز جدا گردد.



میکروسکوپ نوری

دستورالعمل فنی پیپت و میکروپیپت

پیپت

از پیپت برای برداشتن مایعات استفاده می گردد. باید توجه کرد که در هیچ حالتی نباید با دهان مایعات را کشید زیرا ممکنست سبب ورود مایعات آلوده و مواد خطرناک به دهان فرد شود. علاوه بر خطر ورود مستقیم مایعات، ذرات آبروسل تولید شده نیز در این حالت تنفس می گردند. قرار دادن پنبه یا اجسام جاذب دیگر در نوک پیپت ها خطر ورود آلودگی به دهان را کاهش نمی دهد. بنابراین لازمست برای جابه جا نمودن مایعات از پیپت های مکانیکی استفاده شود. جهت برداشتن حجم اندک از مایعات از پیپت های دقیق (میکرو پیپت) استفاده نمایید.

برداشت مایعات با پیپت

هرگز عمل برداشت مایعات با پیپت را بوسیله دهان انجام ندهید. در این مورد در رابطه با اهداف مختلف، وسایل متفاوتی جهت برداشت مایعات بوسیله پیپت وجود دارد.

همچنین نباید قطرات انتهایی نمونه با فشار زیاد خارج شود زیرا ممکن است باعث ایجاد قطرات بسیار ریز یا آئروسل گردد.

روش شستشوی پیپت

- ۱- پیپت ها را به مدت یک شب در محلول تمیز کننده قرار دهید.
- ۲- سپس آن ها را کاملا با آب لوله کشی شستشو دهید. ترجیحا آن ها را یک شب در آب قرار داده سپس با آب مقطر آبکشی کنید. (می توان از وسایل مخصوصی که جهت شستشوی پیپت وجود دارد، استفاده نمود که در این حالت ابتدا با آب لوله کشی و سپس دو یا سه بار با آب مقطر داغ عمل شستشو انجام می شود.)

۳- خشک کردن پیپت ها را با کشیدن و خالی کردن حجم کمی استون و هوا به تناوب و بصورت پی در پی انجام دهید (می توان از وسایل پیپت خشک کن برقی که ایجاد حرارت می نمایند، استفاده نمود).

۴- قسمت بیرونی پیپت ها را باید با پارچه تمیز خشک نمایید.

۵- جهت جلوگیری از شکستن پیپت ها، آن ها را در ظروف مخصوصی که با اندازه های مختلفی (جهت پیپت های با حجم های مختلف) وجود دارد، قرار دهید.

فورا بعد از استفاده پیپت ها، باید آن ها را با آب لوله کشی آبکشی نمایید . مخصوصا زمانی که با آن ها مایعات پروتئینی مانند خون کشیده، می توان جهت تمیز نمودن آن ها در محلول غلیظ هیدروکسید سدیم (سود سوزآور) قرار داد. اما باید توجه نمود که مدت زمان تماس با این ماده خیلی کم باشد چون مواد قلیایی شیشه را حل می کنند و ممکن است سبب ایجاد تغییراتی در حجم برداشتی گردد.

۶- پیپت های که جهت تهیه رنگ مورد استفاده قرار می گیرند، باید بلافاصله با اسید کلریدریک شسته شوند. در صورت کشیدن مواد آلوده با این وسایل، باید آن ها را بلافاصله در یک محلول ضد عفونی کننده قرار داد. (جهت ضد عفونی می توان از محلول هیپوکلریت سدیم به میزان ۵ گرم در لیتر و یا ۷.۵ گرم درصد و یا هرگونه محلول سفیدکننده خانگی که نسبت ۱:۱۷ رقیق شده باشد، استفاده نمود).

نکات ایمنی هنگام کار با میکروپیپت

- ابتدا یک تیپ را به سر میکروپیپت متصل نمایید و از اتصال درست و محکم آن مطمئن شوید. عدم اتصال درست سبب اشتباه در برداشتن حجم مایعات و همچنین احتمال ریزش نابجای مایعات می شود.
- تنها نوک تیپ را وارد مایع کرده و دقت نمایید بدنه میکروپیپت با قطرات ماده به جا مانده بر روی جداره ظروف آلوده نگردد
- هنگام خروج پیپت از ظرف، نوک تیپ را به دهانه ظرف بمالید تا مقادیر اضافی از آن ماده منتقل نگردد و دقت کار از بین نرود.

- در صورتیکه ویسکوزیته (چسبندگی) مایع مورد نظر از آب بیشتر است بهتر است هنگام پر کردن تیپ با حوصله و صبر عمل کرده و پس از آزاد کردن پیستون برای چند ثانیه نوک تیپ را در مایع نگه دارید تا حجم درستی از مایعات چسبنده در زمان کافی وارد پیپت شود.
- قبل از شروع کار با نمونه های حساس بدنه پیپت را با دستمال و الکل ۷۰٪ تمیز کنید.
- در صورتیکه مقداری از مایع آلوده در اثر رها کردن ناگهانی پیستون و یا فروبردن بیش از حد پیپت در نمونه آلوده شد، حتما عملیات ضد عفونی کردن پس از باز کردن پیپت انجام گیرد. چنانچه پیپت ها قابل اتوکلاو باشند می توان آنها را به این طریق استریل نمود. در غیر این صورت با توجه به نوع آلاینده و خصوصیات پیپت از ماده ضد عفونی کننده مناسب استفاده گردد.
- هنگام پر کردن پیپت باید به آرامی پیستون را بالا آورد تا از پرتاب قطرات به درون کانال پیپت و آلوده شدن آن جلوگیری شود.
- هنگام خالی کردن مایعات ممکنست قطرات ریزی به اطراف پرتاب شده و آبروسلها نیز تولید گردند. بنابراین جهت حفظ ایمنی لازمست از جلو بردن بیش از حد سر هنگام انتقال مایعات خودداری شود.
- با توجه به خطرات مایع یا نمونه موارد ایمنی از قبیل پوشیدن دستکش، عینک ایمنی و ماسک صورت رعایت گردد.

دستورالعمل فنی ترازوی الکترونیک

کلیات

این ترازو یک کفه‌ای بوده و از نیروی الکترومغناطیسی برای توزین استفاده می‌شود. حسن این نوع ترازو سرعت و دقت در توزین با حساسیت یک هزارم گرم است.

دستورالعمل فنی ترازوی الکترونیک



ترازوی الکترونیکی

چگونگی کاربری

بعد از قرار دادن ترازو در یک سطح تراز و به برق وصل کردن، تراز کردن آن با استفاده از پایه‌های پیچی دستگاه انجام می‌شود. دستگاه قبل از توزین باید به مدت حداقل ۳۰ دقیقه روشن باشد. برای توزین، نمونه در وسط کفه ترازو قرار گرفته و سپس وزن نمونه از روی صفحه دیجیتال قرائت می‌شود باید از پایین آوردن سریع کفه یا عوض کردن سریع وزنه‌ها هنگامی که ترازو قفل نباشد خودداری کرد. اصل توزین بر اساس مقایسه وزن مورد نظر با یک وزنه شناخته شده است.

نحوه نگهداری

از به کار بردن محلول‌های پاک‌کننده که به دستگاه صدمه می‌زند خودداری کنید. برای تمیز کردن، با یک پارچه آغشته به مایع پاک‌کننده معمولی، ترازو را تمیز کرده و با پارچه خشک دیگر آن را خشک نمایید.

کنترل کیفیت

مشابه ترازوی مکانیکی است. دقت توزین در صورت لزوم با روش احتساب وزن خالص (Tare) انجام می‌شود.

ایمنی

برای اتصال به برق فقط از آداپتور AC خود دستگاه استفاده شود.

فصل چهارم) دستورالعمل مدیریت ایمنی در آزمایشگاه

بخش اول:

مقدمه : ایمنی و سلامت شغلی

نیروی کار سالم و فعال می تواند یک جامعه سالم و پویا را تشکیل دهد لذا تامین و حفظ و ارتقاء سطح سلامت شاغلین و رعایت استانداردهای سلامت در محیطهای کاری از اهمیت فوق العاده برخوردار می باشد. کارکنان آزمایشگاه در معرض آلودگی به انواع عوامل بیماری زای بیولوژیک با منشاء خون و سایر مایعات بدن، مواد شیمیایی و غیره قرار دارند.

در آزمایشگاه بافت شناسی نیز کارکنان با مواد شیمیایی مختلف (اسیدها، بازها) حلالهای آلی، گزیلول، آمونیاک، فرمالین (بنزین، استون) مواد و محلولهای رنگی (که به شکل گاز، مایع و یا جامد طبیعی و یا سینتیک (معدنی یا آلی) هستند سر و کار دارند که هر یک از این مواد دارای خطرات و زیانهای مختص به خود است که در صورت تماس فرد با آن ایجاد می گردد.

در آزمایشگاه علاوه بر خطرات مواد شیمیایی ذکر شده خطراتی مانند جریان الکتریسته ، آتش سوزی و غیره نیز وجود دارند که در صورت عدم رعایت صحیح اصول ایمنی می تواند سلامت افراد را تهدید نمایند.

اصول کلی در برخورد با مواد شیمیایی

روش های ایجاد آسیب توسط عوامل شیمیایی

عوامل و مواد شیمیایی خطرناک از طریق روش های زیر به کارکنان آزمایشگاه و دانشجویان می توانند آسیب برسانند .

- تنفس و استنشاق
- تماس با سطح پوست
- بلعیدن
- ورود مواد شیمیایی از پوست سالم به دنبال بریدگی یا فرورفتگی سوزن
- ورود این مواد از طریق پوست آسیب دیده

رهنمودهای کار با مواد شیمیایی

- برای آگاهی از خطرات مواد شیمیایی و به کارگیری اقدامات احتیاطی در هنگام کار با آنها، برچسب روی مواد شیمیایی و برگه اطلاعات ایمنی و بهداشتی توسط کارکنان و دانشجویان بایستی مطالعه گردد.
- منظم و مرتب نگاه داشتن محل کار و مشخص بودن مواد شیمیایی با برچسب مناسب و قابل رویت و محل نگهداری ظروف
- تفکیک نمودن مواد شیمیایی فرار و قابل اشتعال و دور قرار دادن آنها از میز کار آزمایشگاه
- استفاده نمودن کامل از اقدامات کنترلی موجود مانند تهویه و هودهای مناسب برای کنترل بخارات ناشی از مواد شیمیایی مورد استفاده
- گزارش سریع هر گونه نقص و اختلال در سیستم تهویه
- بستن کامل درب ظروف مواد شیمیایی جهت جلوگیری از تبخیر و رها شدن آنها در محیط

- استفاده از تجهیزات حفاظتی مثل دستکش ، عینک، ماسک و ...
- خودداری از تماس پوستی (تا حد امکان) با هر نوع ماده شیمیایی
- استفاده از تهویه طبیعی برای کنترل بخارات مواد شیمیایی (با باز کردن درب و پنجره در برخی موارد)
- جلوگیری از ورود افراد متفرقه غیر حرفه‌ای به محیط کار آزمایشگاه
- شستشوی کامل دست‌ها پس از کار با مواد شیمیایی و قبل از خوردن و آشامیدن

نگهداری مواد شیمیایی

- فقط مقداری از مواد شیمیایی که برای استفاده روزانه (یا دوره زمانی کوتاه) لازم است در آزمایشگاه نگهداری شوند.
- بهتر است انبار نمودن مقادیر زیاد مواد شیمیایی در ساختمان‌ها و فضاهایی با طراحی ویژه انجام گیرد.
- نحوه نگهداری مواد شیمیایی باید بر اساس روش‌های توصیه شده توسط شرکت های سازنده انجام گیرد و حتماً دقت گردد که چیدمان مواد صرفاً بر اساس حروف الفبا بسیار نادرست است.

مواد شیمیایی منفجره

بهتر است که در آزمایشگاه ضمن تهیه فهرستی از مواد شیمیایی منفجره بر روی تمامی ظرف‌ها علامت خطر یا انفجار نصب گردد تا کارکنان در موقع کار با آنها اقدامات ایمنی بیشتری را رعایت کنند برای مثال در آزمایشگاه بافت از اسید پیکریک استفاده می‌شود که ممکن است در اثر حرارت خشک شدن و یا ضربه منفجر شود.

اتر چنانچه خشک و کریستالیزه شود بسیار پایدار بوده و دارای قابلیت انفجار می‌باشد.

مواد شیمیایی عامل سوختگی

- سوختگی شیمیایی به دنبال تماس با مواد اسیدی ، قلیایی و مواد واکنش زا ایجاد خواهد شد.
- صدمات ایجاد شده به پوست ، چشم و ریه و ... بوده و می تواند تهدیدکننده حیات باشد.

- این مواد عبارتند از اسید هیدروکلریک، اسید فورمیک، آمونیوم، آمونیاک، فنل، نیترات، اسید سولفوریک، هیدروکسید سدیم و پتاسیم.

اصول مدیریت درمان در موارد سوختگی شیمیایی

مدیریت درمان در ضایعات پوستی

- شروع خنثی سازی در همان دقیقه اول (تاخیر حتی بیش از ۳ دقیقه با افزایش چشمگیر صدمات وارده)
- درمان اولیه تغییر PH پوست به نرمال

مدیریت درمان در ضایعات چشمی

- شست و شوی بسیار سریع چشم
- شست و شو با محلول نرمال سالین با جریان آهسته و به طور مداوم باز و بسته کردن چشم
- رساندن سریع مصدوم به فوریت چشم پزشکی

بخش دوم:

اصول کلی در برخورد با مواد شیمیایی خاص در آزمایشگاه بافت‌شناسی

در آزمایشگاه بافت‌شناسی در طی مراحل پروسسینگ بافتی از مواد شیمیایی خاص و رایجی استفاده می‌گردد

که به اختصار مطالبی در مورد آنها ذکر می‌گردد:

این مواد عبارتند از فرمالدئید، گزیلول، اتانول، متانول و اسید

فرمالدئید (HCHO)

- گازی بیرنگ دارای بوی تند و نامطبوع نوع تجاری آن با نام فرمالین با غلظت ۳۷-۴۰٪
- ماده‌ای سمی و سرطان‌زا (در مطالعات آزمایشگاهی بر روی حیوانات)
- OSHA (Occupational safety and health administration) حد مجاز برخورد با این ماده ۰/۷۵ ppm در طی ۸ ساعت کار روزانه را تعیین نموده است.
- قابل اشتعال و مخلوط آن با هوا قابلیت انفجار دارد.
- نگهداری در فرمالین
 - در محیط خشک، خنک و با تهویه مناسب
 - دور از شعله و نور مستقیم افتاب و سایر منابع محترق

نکات ایمنی کار با فرمالین

- کار با فرمالین حتماً در فضایی با تهویه مناسب
- پیت کردن فرمالین با دهان ممنوع
- در هنگام کار با فرمالین غلیظ استفاده از دستکش های پلاستیکی ضخیم، روپوش آزمایشگاه، کفش های جلوبسته و عینک محافظ یا محافظ صورت
- خوردن، آشامیدن در محل نگهداری فرمالین ممنوع
- در برخوردچشمی یا پوستی با فرمالین شستشوی چشم یا محل مورد نظر حداقل به مدت ۱۵ دقیقه با مقادیر زیاد آب
- شستن کامل دستکش های آلوده به فرمالین قبل از دور انداختن در زباله معمولی
- نگهداری فرمالین به دور از اسید کلریدریک (بدلیل ایجاد یک ماده کارسینوژن بسیار قوی به نام بیس (کلرومتیل) اتر با ترکیب بخار فرمالین با اسید کلریدریک
- ریختن فرمالین زائد در ظروف شیشه ای نشت ناپذیر
- دفع فرمالین مانند بقیه مواد شیمیایی و جدا از پسماندهای بیمارستانی

اثرات فرمالین بر سلامت

- سوزش چشم ، آسیب غشایی مخاطی ، سردرد
- احساس سوزش در نای
- ایجاد مشکلات تنفسی شدید مثل سرطان های پیشرفته نای و گلو
- غلظت بیش از ۲ ppm درهوا باعث سوزش و آبریزش از چشمها و بینی، تهوع، تنگی تنفس
- غلظت بیش از ۲۰ ppm کدورت دائم قرینه
- غلظت بیش از ۲۵ ppm ایجاد ادم ریوی

گزیلول (C₈H₁₀)

گزیلول مایع بدون رنگ و غیر محلول در آب است. این ماده ممکن است حاوی اتیل بنزن به عنوان یک ناخالصی باشد که کارسینوژن است.

محدودیت

- قابل اشتعال و بسیار آتش‌زا
- نگهداری در محیط خشک و خنک با تهویه مناسب
- نگهداری دور از اشعه مستقیم آفتاب و سایر منابع مشتعل
- استفاده از دستکش مناسب و محافظ صورت در موقع مصرف

اثرات سلامتی

- تماس طولانی سبب اختلال در اعضاء خونساز و دستگاه عصبی می‌گردد.
- گزیلول مایع و بخار آن موجب تحریک چشم‌ها، پوست، مخاط و مجاری تنفسی می‌شود.
- علائم مسمویت حاد با گزیلول: گیجی، خستگی، تهوع، استفراغ و تنگی نفس.

اثر بر محیط زیست

- قابلیت اشتعال شدید
- نکته بسیار مهم برقراری تهویه مناسب در فضای کار با گزیلول می‌باشد.

الکل

• اتانول C_2H_5OH

ماده‌ی سرکوب کننده‌ی دستگاه اعصاب مرکزی

• متانول CH_3OH

متیل الکل یا الکل چوب از مواد مسموم کننده‌ی خطرناک

محدودیت الکل

- اجتناب از تماس با پوست، چشم یا تنفس بخارات آن در هنگام استفاده
- نگهداری دور از مواد آتش‌زا و در محیط با تهویه مناسب
- نگهداری دور از نور و منابع حرارتی
- بستن کامل درب شیشه‌ای بعد از مصرف و فقط جهت استعمال خارجی

در صورت بروز حادثه

- در صورت استنشاق بخارات الکل سریعاً به محیط آزاد رفته و از ماسک تنفس اکسیژن استفاده شود.
- در صورت تماس با پوست، شستشوی محل سریعاً با آب و صابون
- در صورت تماس با چشم شستشو با آب سریعاً به مدت حداقل ۱۵ دقیقه

اثر بر سلامتی

- ایجاد حالت خواب آلودگی در سیستم اعصاب مرکزی
- محرک دستگاه تنفسی و چشم (شدید) و پوست
- آسیب جدی در تماس مزمن به سیستم اعصاب مرکزی، قلب، کبد و کلیه‌ها

اثر بر محیط زیست

- شدیداً قابل اشتعال

اسیدها

اسید استیک (CH_3COOH) و اسید نیتریک (HNO_3)

محدودیت

- قابلیت احتراق در دمای بالای ۳۹ درجه سانتی‌گراد یا مخلوط شدن با هوا
- نگهداری در محیط خنک و خشک با تهویه مناسب
- استفاده از دستکش و عینک و ماسک
- نگهداری در ظروف دربسته و تیره

اثر بر سلامتی

- تماس با پوست باعث آسیب شدید پوست
- استنشاق بخارات آن باعث سوزش دستگاه تنفسی می‌شود.

اثر بر محیط زیست

- قابلیت اشتعال

اسید پیکریک

محدودیت

- شدیداً سمی
- شدیداً قابل انفجار در صورت خشک شدن
- استفاده از دستکش و ماسک در هنگام کار با اسید

- جلوگیری از خشک شدن اسید پیکریک
- نگهداری در محیط خنک با تهویه مناسب و ظروف در بسته

اثر بر سلامتی

- در صورت تماس با پوست آسیب‌های شدید پوستی برجای می‌گذارد.

اثر بر محیط زیست

- قابلیت انفجار بالا

اسید کلریدریک (HCl)

محدودیت

- خورنده شدید، بهتر است در ظروف شیشه‌ای نگهداری شود.
- بخارات سمی
- استفاده از دستکش و ماسک در هنگام کار

اثر بر سلامتی

- ایجاد ناراحتی‌های تنفسی با استنشاق بخارات اسید
- ایجاد آسیب‌های شدید پوستی در صورت تماس با پوست

اثر بر محیط زیست

- قابل اشتعال

دی آمینو بنزویک DAB

محدودیت

- بخارات این ماده سرطان‌زا است.

- استفاده از دستکش و ماسک
- استفاده از هود موقع انجام آزمایش

انجمن تحقیقات سرطان دنیا این ترکیب را دارای درجه ۱ سرطان معرفی نموده است.

اثر بر سلامتی

- تماس طولانی مدت با ترکیبات بنزن تاثیرات مخربی روی بافت‌های سازنده سلول‌های خونی مخصوصاً مغز استخوان می‌گذارد.
- ایجاد سرطان خون، صدمه به کبد
- ناباروری و تولید تومورهای غدد لنفاوی

اثر بر محیط زیست

انجمن حفاظت اداره محیط زیست آمریکا ترکیبات بنزن را عامل سرطان خون معرفی کرده است.

بخش سوم:

اصول کلی حفاظت و پیشگیری از آلودگی کارکنان و محیط آزمایشگاه

مقدمه

در آزمایشگاه انواع عوامل بیماریزای بیولوژیک با منشاء خون، مایعات بدن و غیره وجود داشته و همچنین در محیط آن خطراتی مانند مواد عفونی، مواد رادیواکتیو، مواد شیمیایی، جریان الکتریسیته، وسایل مکانیکی، مواد آتش زا، مواد سرطان زا، پسماند خطرناک و غیره موجود بوده که در صورت عدم رعایت صحیح اصول ایمنی می تواند سلامت را تهدید نماید. بنابراین اجرای برنامه دارای اهمیت ویژه ای می باشد.

در طراحی فضای آزمایشگاه ها، علاوه بر وسعت کاری، بررسی و تعیین تعداد و ابعاد تجهیزات و نیز نیروی کاری مورد نیاز، به این موضوع باید توجه نمود که یک محیط کاری ایمن در ارتباط با محیط های اداری و عمومی ایجاد شود که خطر سرایت عوامل بیماریزا را به اجتماع محدود نماید.

از آنجا که آزمایشگاه های داخل بیمارستان، دانشگاه، مرکز تحقیقات و غیره قرار دارند، در طراحی فضاها باید توجه گردد که به علت ورود و مراجعه دانشجو، محقق، و غیره به آزمایشگاه باید بخش های اداری کاملاً از بخش های آزمایشگاهی مجزا باشد و افراد برای دسترسی به این نواحی، مجبور نباشند از بخش های دیگر عبور نمایند.

همچنین باید محل پذیرش و نمونه گیری در فضای کاملاً جدا در نظر گرفته شده و فضای آبدارخانه نیز با فاصله مناسب از قسمت های آزمایشگاهی قرار داشته باشد.

نکات عمومی

تماس دست

باید از تماس دست با صورت، چشم، گوش، بینی و غیره خودداری کرد. همچنین باید از فروردن قلم در دهان، جویدن ناخن و نیز آدامس خودداری نمود.

خوردن غذا، آشامیدنی ها و غیره

باید در تمامی بخش های آزمایشگاه (مکان های که پوشیدن روپوش الزامی است)از غذا خوردن، آشامیدن و یا انجام سایر اعمالی که سبب تماس دست با دهان می گردد، اجتناب نمود.

به هیچ وجه نباید مواد غذایی را در یخچال بخش های آزمایشگاه نگهداری نمود.

باید یخچال های مخصوص مواد غذایی را در فضای آبدارخانه قرار داد. تنها با این روش می توان مطمئن شد که مواد غذایی با نمونه های آزمایشگاهی در یک یخچال نگهداری نمی شوند.

برداشت مایعات با پیپت

هرگز عمل برداشت مایعات با پیپت را بوسیله دهان انجام ندهید. در این مورد در رابطه با اهداف مختلف، وسایل متفاوتی جهت برداشت مایعات بوسیله پیپت وجود دارد.

همچنین نباید قطرات انتهایی نمونه با فشار زیاد خارج شود زیرا ممکن است باعث ایجاد قطرات بسیار ریز یا آئروسل گردد.

شستشوی چشم

باید مخصوصا در بخش های که اسید، مواد سوزاننده، مواد خورنده و یا دیگر مواد شیمیایی مورد استفاده قرار می گیرند، جایگاه و محل ثابتی را جهت شستشو چشم در نظر گرفت. علاوه بر واحدهای ثابتی که اقدامات درمانی فوری را فراهم می نمایند، ممکن است از سیستم شستشو چشم که قابل حمل نیز می باشد، استفاده نمود. عملکرد این وسایل را باید هر هفته بررسی نمود تا از کارکرد صحیح آن ها و پاشیدن آب مطمئن شویم.

همچنین باید بطور مرتب محتویات این وسایل را از نظر خلوص شیمیایی و بیولوژی بررسی نمود.

وسایل تیز و برنده

باید در مواقع کار با وسایل تیز و برنده شامل سوزن ها، اسکالپل، شیشه های شکسته نهایت دقت و احتیاط بکار بست.

باید در صورت امکان تمام وسایل تیز را با استفاده از روش های مکانیکی (مانند فور سپس هایی که تیغه اسکالپل را برداشته و یا وسایلی که سوزن و اکوتیز را بر می دارد) جابجا نمود.

نباید سوزن های استفاده شده، قیچی و بریده، خم و شکسته شوند. باید فوراً وسایل تیز را در محفظه های مقاوم مخصوص ترجیحا ظروف ایمنی (Safety Box) قرار داد و آن محفظه ها نیز بقبل از اینکه بطور کامل پر شوند، مطابق بر اصول صحیح دفع نمود (به دستورالعمل دفع صحیح مواد آلوده مراجعه شود).

عدم قرار دادن درپوش سرسوزن روی آن

به هیچ وجه نباید بوسیله دست، سوزن های استفاده شده از سرنگ یکبار مصرف جدا گردد و یا درپوش سرسوزن روی آن قرار گیرد. در مواقعی که ناگزیر به انجام این کار شدید، باید درپوش را روی سطح قرار داده و با کمک دست این کار را انجام دهید.

وسایل و دستگاه های کمک تنفسی

باید وسایل کمک تنفسی مناسب در دسترس کارکنان باشد تا آن ها را در مقابل تنفس مواد آلوده، گرد و غبار مضر، میکروارکانیسم ها، گاز ها و بخارات مضر حفاظت نمود، مخصوصاً در مواردی که کنترل فنی مناسبی برای جلوگیری از ورود این مواد خطرناک انجام نشده و یا اقدامات کافی نبوده و یا اینکه نمی توان وجود این مواد خطرناک را بوسیله حواس درک نمود.

در موارد ضروری وسایل مختلفی مانند ماسک های گرد و غبار، ماسک های گاز و ... و نیز وسایل پیشرفته ای مانند وسایل کمک تنفسی با ذخیره هوای زیاد، ممکن است مورد استفاده قرار گیرد.

دوش اضطراری

باید در آزمایشگاه دوش های اضطراری، در محل مناسب نصب شوند، مخصوصا در بخش هایی از آزمایشگاه که از مواد شیمیایی سوزاننده استفاده می شود. تعداد این دوش ها بستگی به وسعت کاری و فضای آزمایشگاه دارد. حتی الامکان درجه حرارت آب مورد استفاده در دوش ها معتدل باشد.

همچنین عملکرد دوش ها و سیستم فاضلاب آن ها بطور متناسب بررسی شود. به علت استفاده کم از چنین فاضلاب هایی، می توان کمی روغن معدنی در آن ریخت و طبق برنامه ای منظم آب را با فشار وارد نمود.

وسایل و تجهیزات حفاظتی مورد استفاده در آزمایشگاه

پوشش و تجهیزات ایمنی شخصی

لباس کارکنان

معمولا مسئول آزمایشگاه پوشش مشخصی را برای کارکنان در نظر می گیرد. این لباس باید تمیز و مرتب بوده و از کیفیت مناسبی برخوردار باشد. این لباس ها که جهت محافظت از آلودگی و کثیف شدن دیگر لباس ها پوشیده می شود، شامل گان ها، کت های آزمایشگاهی، پیش بند، شل و یا لباس های مشابه می باشد. هنگام کار در آزمایشگاه همه کارکنان باید حداقل از یک روپوش آستین بلند که جلوی آن کاملا بسته شود و یا یک کت آزمایشگاهی بلند با آستین های بلند که سر آستین آن کاملا بسته باشد، استفاده نماید. در مواقعی که مواد بسیار خطرناک و آلوده مورد استفاده قرار می گیرند، می توان از پیش بندهای پلاستیکی یکبار مصرف یا روپوش یکبار مصرف غیر قابل نفوذ به مایعات نیز استفاده نمود که حفاظت کافی را در مقابل ترشح خون و مواد شیمیایی ایجاد کند. در مواقع استفاده از این پیش بند ها، می توان از محافظ های آستین دار جهت حفاظت بازو استفاده نمود.

هنگام ترک محل های فنی و مخصوصا حضور در محل های عمومی (آبدارخانه) باید روپوش را از تن خارج نمود. باید در فواصل زمانی مناسب روپوش ها را تعویض نمود تا از آن ها مطمئن بشویم. اگر این لباس ها با مواد

خطرناک آلوده شوند، باید بلافاصله تعویض گردند.

کت های آزمایشگاهی آلوده، گان ها و را باید در کیسه های مشخص و مناسب که غیر قابل نفوذ باشند، قرارداد و سپس در حرارت مناسب و مدت زمان کافی شست تا عدم آلودگی آن ها مطمئن شویم. باید پوشش های یکبار مصرف بعد از استفاده بلافاصله تعویض گردند.

نباید این گونه لباس ها جهت شستشو از آزمایشگاه خارج نمود (عدم انتقال به منزل و یا خشک شویی).

باید لباس های بیرونی در قفسه های شخصی مخصوص در بیرون از نواحی آزمایشگاه قرار داده شوند. باید توجه نمود که استفاده از روپوش آزمایشگاهی جهت نمونه گیری و خون گیری الزامی است. در مواردی باید در فواصل زمانی مناسب روپوش ها را تعویض نمود تا از آن ها مطمئن بشویم. اگر این لباس ها با مواد خطرناک آلوده شوند، باید بلافاصله تعویض گردند.

کت های آزمایشگاهی آلوده، گان ها و را باید در کیسه های مشخص و مناسب که غیر قابل نفوذ باشند، قرارداد و سپس در حرارت مناسب و مدت زمان کافی شست تا عدم آلودگی آن ها مطمئن شویم. باید پوشش های یکبار مصرف بعد از استفاده بلافاصله تعویض گردند.

نباید این گونه لباس ها جهت شستشو از آزمایشگاه خارج نمود (عدم انتقال به منزل و یا خشک شویی).

باید لباس های بیرونی در قفسه های شخصی مخصوص در بیرون از نواحی آزمایشگاه قرار داده شوند.

استفاده از دستکش

باید همیشه دستکش در اندازه های متفاوت و از مواد مناسب و مرغوب، در تمام بخش های در دسترس باشد دستکش هایی از جنس لاتکس، نیتریل و یا وینیل، محافظت کافی می نماید. دستکش هایی که از جنس لاتکس یا وینیل نازک شده باشد، محافظت کافی را در مقابل سوراخ شدن بوسیله وسایل تیز، ایجاد نمی نمایند. دستکش ها باید در اندازه های تا مچ، آرنج و شانه در دسترس باشند.

نباید دستکش ها را هنگام انجام کار تعویض نمود بلکه باید بعد از اتمام کار این عمل را انجام داد (مگر اینکه

آسیبی در آن‌ها ایجاد گردد.) کارکنان آزمایشگاه باید اقدامات حفاظتی لازم را جهت جلوگیری از آلودگی محیط و پوست در مورد دستکش‌های آلوده انجام دهند.

جهت اهداف مختلف باید از دستکش‌های متفاوتی استفاده نمود، شامل:

- دستکش‌های لاستیکی یا چرمی که در هنگام کارهای سنگین، سروکار داشتن با وسایل داغ و یا هنگام خالی کردن محفظه‌های محتوی مواد خطرناک استفاده می‌شود.
- دستکش‌های خانگی که جهت تمیز نمودن، شستن وسایل شیشه‌ای و ضد عفونی کردن مورد استفاده قرار می‌گیرند.

- دستکش‌های جراحی (لاتکس) که در مواقع کار با خون، مواد خطرناک و غیره استفاده می‌شود.
- دستکش‌های پلاستیکی یکبار مصرف که در مواقع اضطراری مورد استفاده قرار می‌گیرد
- دستکش‌ها را باید بعد از پوشیدن و قبل از کار از نظر نقایص مرئی بررسی نمود.

استفاده از دستکش در موارد زیر الزامی است:

هنگام نمونه‌گیری، نقل و انتقال نمونه‌ها و انجام مراحل آزمایش و همچنین زمانی که دست‌ها با مواد آلوده، سطوح آلوده و یا وسایل آلوده در تماس هستند و نیز در موارد تماس با بافت، خون، سرم، پلاسما، مایع آمنیوتیک، مایع نخاع، ترشحات واژن، مایع منی، مایع حاصل از شستشوی برنش، مایع سینوویال، جنب، پریوتان، پریکارد، شیر پستان و یا دیگر مایعات بدن که ممکن است با خون آلوده شوند، باید از دستکش نمود. طبق توصیه CDC^۱ باید در موارد تماس با نواحی از بدن بیمار که بطور طبیعی استریل هستند، از دستکش استریل استفاده نمود. در مواقع تماس با مخاط و یا فعالیت‌های آزمایشگاهی، استفاده از دستکش استریل ضرورتی ندارد. همچنین در فواصل تماس با بیمار جدید باید دستکش‌ها تعویض گردند.

شستشوی دست

مهمترین اقدام پیشگیرانه و ایمنی، شستشوی مکرر دست می‌باشد که باید همیشه صابون (ترجیحا صابون

مایع) و مواد ضد عفونی کننده جهت تمیز نمودن پوست در دسترس کارکنان قرار گیرد.

شستشوی دست ها در موارد زیر الزامی است:

- فوراً بعد از تماس اتفاقی پوست با خون، مایعات بدن و یا بافت باید دست ها یا دیگر نواحی پوست کاملاً ضد عفونی و شسته شوند. اگر تماسی با مواد آلوده از طریق پاره شدن دستکش ها بوجود آید، باید بلافاصله دستکش ها را بیرون آورده و دست ها را کاملاً شست.
 - قبل و بعد از تماس با بیماران و یا تماس با نمونه های آزمایشگاهی
 - بعد از اتمام کار و قبل از ترک آزمایشگاه
 - بعد از در آوردن دستکش ها و یا قبل از آنکه دستکش جدیدی پوشیده شود.
- باید قبل از خوردن، آشامیدن، سیگار کشیدن، آرایش کردن، تعویض لنزهای تماسی چشمی و قبل و بعد از توالی رفتن دست ها را شست. همچنین قبل از هرگونه فعالیتی که در آن دست با مخاط چشم ها یا خراش های پوستی در تماس کامل است، شستشو دست با آب جاری و صابون توصیه می گردد. به هر حال استفاده از هر ماده شوینده استاندارد قابل قبول می باشد. در مناطقی که دسترسی به آب امکان پذیر نیست، می توان از ژل های مایع دارای پایه الکل استفاده نمود. می توان دست ها را با دستمال کاغذی تمیز کرده و سپس آن ها را با کف های تمیز کننده شست. نباید از محصولات صابونی که ممکن است سلامت پوست را به خطر بیندازد، استفاده نمود. استفاده از یک گرم دست مرطوب کننده، ممکن است التهاب پوست را که بوسیله شستشوی مکرر دست ایجاد شده، کاهش دهد.
- باید توجه نمود که بریدگی ها، زخم ها و جراحات پوستی (اگزما) با پانسمان غیر قابل نفوذ به آب پوشانده شوند.

محافظت از چشم و صورت

باید در مواقع کار با مواد سوزاننده، مواد خطرناک شیمیایی و بیولوژی و یا هماهنگی که امان ترشح و یا پاشیدن خون و مایعات بدن وجود داشته و نیز هنگام تخلیه اتوکلاو و ... از عینک های محافظتی (حفاظ دار) یا ماسک های چشم و صورت استفاده نمود.

استفاده از عینک های حفاظ دار مخصوصا هنگام کار با مواد شیمیایی خطرناک نسبت به عینک های حفاظتی که روی عینک های معمولی قرار می گیرد، ترجیح داده می شود.

استفاده از ماسک ها و حفاظ هایی که از جنس پلاستیک شفاف بوده (مانند ماسک های جوشکاران) و تمام صورت و گردن را می پوشاند، توصیه می گردد. این ماسک ها جهت استفاده طولانی مدت مانند اتوپسی نیز مناسب بوده و به راحتی آلودگی زدایی می گردند.

لنزهای چشم مخصوصا لنزهای نوع نرم (soft) می توانند حلال های و بخار حاصل از مواد را به خود جذب نمایند. بنابراین استفاده از آن ها در این موارد خطرناک می باشد، لنزهای تماسی باعث تجمع مواد فوق در محل قرنیه شده و در عین حال مانع خروج اشک می گردند، در حالیکه اشک، مواد فوق را بوسیله شستشو از چشم خارج می نماید. باید به کارکنان سفرش نموده که در این گونه بخش ها، لنزهای تماسی را بکار نبرند مگر اینکه از عینک های حفاظ دار و یا ماسک های صورت استفاده کنند.

نمونه هایی از دستورالعمل های ضد عفونی و شستشو در آزمایشگاه

دستورالعمل نحوه ضد عفونی در موارد ریختن و یا شکستن ظروف محتوی مواد آلوده

- نفس خود را تا زمان خروج از محل نگه دارید.
- لباس ها و پوشش های محافظتی را بپوشید.
- مدتی صبر کنید آئروسل ها ته نشین حاصل کنند. (حداقل ۱۵ دقیقه)
- محل را با حوله کاغذی و یا تنزیف بپوشانید.

- محلول ضد عفونی کننده مناسب را به آرامی در محل بریزید.
- مدتی صبر نمایید. (بسته به نوع محلول)
- بوسیله پنس و یا فور سپس پارچه و قطعات شیشه را در داخل ظروف ایمن (Safety Box) قرار دهید.
- سپس محل را تمیز نموده و در صورت لزوم مجدداً با ماده ضد عفونی عمل فوق را تکرار نمایید.

دستور العمل نحوه شستشوی لوازم شیشه‌ای

- باید بلافاصله بعد از استفاده از وسایل شیشه‌ای، آن‌ها را با آب لوله کشی معمولی کامل شستشو داد.
- بدیعی است که باید همیشه در ابتدا وسایل آلوده را قبل از شستشو، ضد عفونی نمود.
- ترکیبات قلیایی موجود در سطح وسایل شیشه‌ای آغشته به سود، باید با قرار دادن آن‌ها در محلول اسیدکلریدریک ۵٪ خنثی گردد و سپس چند مرتبه با آب لوله کشی و در انتها با آب مقطر آب کشی شود.
- وسایل شیشه‌ای نو که برای اولین بار مورد استفاده قرار می‌گیرند، باید با شوینده‌ها شستشو داده شده و سپس با آب لوله کشی آبکشی شوند.
- جهت خنثی نمودن ترکیبات قلیایی که روی ظروف شیشه‌ای نو وجود دارد، باید آن‌ها را در اسیدکلریدریک ۱٪ به مدت چندین ساعت قرار داده و سپس آن‌ها را کاملاً با آب معمولی و آب مقطر آبکشی نموده و جهت خشک کردن در فور قرار داد. جهت کنترل و اطمینان از خنثی شدن مواد قلیایی آزاد و موجود بر روی شیشه، وسایل شیشه‌ای را در آب مقطر خنثی اتوکلاو کرده و سپس PH آب را اندازه‌گیری نمود. اگر به علت وجود مواد قلیایی، PH آب بالا بود دوباره وسایل در محلول اسید کلریدریک قرار داده می‌شوند.

- اگر بعد از چند مرتبه شستشو و کنترل آن، باز هم مواد قلیایی آزاد شده وجود داشت، آن وسایل می بایست دورریخته شوند و مورد استفاده قرار نگیرند.

شستشوی وسایل شیشه ای با شوینده ها

موقع استفاده از شوینده ها مانند مایع ظرفشویی جهت شستشو وسایل شیشه ای باید به نکات زیر توجه گردد:

- تمام وسایل شیشه ای بطور کامل در آب سرد لوله کشی قرار داد.
- سپس وسایل فوق را در محلول شوینده قرار داده شده و کاملا به آن برس کشیده شود.
- سپس وسایل را با آب لوله کشی جاری کاملا شستشو داد.
- پس از شستشو با آب لوله کشی، سه مرتبه با آب مقطر آبکشی گردد. (در هر سری آبکشی از آب مقطر تازه استفاده شود).
- بمنظور گرفتن آب اضافه وسایل، آن ها را در فور خشک گردند.
- وسایل شیشه ای را بطور روزانه وارونه داخل سبدهای فلزی گذاشته و ته سبدها چندین لایه کاغذ خشک کن ضخیم گذاشته شود.

روش ضد عفونی نمودن و استریل کردن وسایل شیشه ای

کلیه وسایل آلوده حداقل به مدت ۳۷ دقیقه در محلول سفیدکننده خانگی (حاوی کلر) با رقت ۱/۱۰ تهیه شده با آب معمولی قرار داده و سپس طبق دستورالعمل شستشو، شسته و جهت اطمینان خاطر در فور با درجه حرارت $160-180^{\circ}\text{C}$ بمدت ۲ تا ۴ ساعت قرار می دهیم تا استریل گردد.

اسید شوی کردن وسایل به روش صحیح

اسید کلریدریک ۱۲ نرمال را به نسبت ۱/۳ رقیق می نماییم . وسایل یک روز در محلول فوق قرار می گیرد سپس محلول ۳ مرتبه با آب مقطر آب کشی می گردند.

نکات ایمنی هنگام کار با وسایل شیشه ای

موارد ایمنی زیر را هنگام کار با وسایل شیشه ای رعایت نمایید:

- ظروف شیشه ای شکسته یا ترک خورده را دور بریزید.
- هرگز در ظروف شیشه ای را با قدرت و فشار باز نکنید، در هایی که چسبیده یا فرو رفته اند، باید بریده شوند.
- باید قبل شستشو، وسایل شیشه ای آلوده ضد عفونی نمود.
- باید قطعات شکسته و یا دور ریختنی را در یک محفظه مقاوم به حرارت جابجا نمود.
- حتی الامکان از ملزومات آزمایشگاهی یکبار مصرف استفاده نمایید.

دستورالعمل نحوه ضد عفونی نمودن کف، سطوح و وسایل آزمایشگاه

- جهت نظافت کف آزمایشگاه می توان از رقت $1/50$ محلول سفیدکننده خانگی به شرط اینکه دارای کلر فعال 5% باشد، و یا از محلول های تجاری استفاده نمود.
- جهت ضد عفونی نمودن سطوح می توان از رقت $1/10$ محلول سفید کننده خانگی به شرط اینکه دارای کلر فعال 5% باشد، و یا از محلول های تجاری استفاده نمود.
- جهت ضد عفونی نمودن وسایل قبل از سرویس یا تعمیر آن ها در داخل آزمایشگاه و یا قبل از ارسال آن ها به خارج از آزمایشگاه می توان از محلول 70% و یا محلول های تجاری استفاده نمود.

نگهداری مواد خطرناک

باید معرف ها، مواد شیمیایی (اسید ها، بازها و ...) و یا رنگ های دارای خواص سمی را در قفسه یا محفظه های عایق از نظر خارج شدن بخار قرار داد. س چیدمان محلول های فوق نباید بر اساس حروف الفبا انجام گیرد. باید مایعات خطرناک مانند اسیدها یا قلیلهها در قفسه هایی با ارتفاع زیر سطح چشمی ذخیره شوند. ذخیره سازی محفظه های بزرگ باید نزدیک زمین باشد (نگهداری مواد خطرناک باید مطابق با اطلاعات موجود در برگه

شناسایی ایمنی مواد شیمیایی یا Material Safety Data Sheet = MSDS (باشد).

بخش چهارم:

فرایند کار در آزمایشگاه بافت‌شناسی

فرایند کار در آزمایشگاه

- ۱) معرفی دانشجویان به آزمایشگاه توسط استاد راهنما با تکمیل فرم مربوطه
 - ۲) مطالعه دقیق مقررات و نکات ایمنی مربوط به آزمایشگاه
 - ۳) شروع به کار در آزمایشگاه با حضور کارشناس آزمایشگاه
 - ۴) تحویل تجهیزات و مواد مصرفی در پایان اتمام طرح یا پایان نامه
- تذکر: ساعات کاری دانشجویان در روزهای شنبه الی چهارشنبه از ساعت ۸ لغایت ۱۵

ایمنی در آزمایشگاه

رعایت اصول ایمنی در آزمایشگاه اهمیت بسیار زیادی دارد. در بسیاری از مراکز آموزشی دنیا فراگیری مسایل ایمنی پیشنیاز ورود دانشجویان به آزمایشگاه می باشد. در این راستا رعایت موارد زیر برای هر دانشجوی در بدو ورود و در طول زمان حضور ایشان در آزمایشگاه ضروریست.

پوشش آزمایشگاه

پوشیدن روپوش آزمایشگاه و پوشش پاها بوسیله کفش مناسب ضروریست. پوشش دست ها و صورت و چشم ها نیز بر اساس نیاز در شرایط کار با مواد مضر ضرورت پیدا خواهد کرد.

نقاط مهم آزمایشگاه

نقاطی از آزمایشگاه که از نقطه نظر ایمنی اهمیت دارند مانند شیرهای آب ، کپسول آتش نشانی و درهای خروج اضطراری باید در بدو ورود به دقت مکان یابی شده و در نظر گرفته شوند. باید به خاطر سپرد که در زمان وقوع حادثه دیگر زمانی برای جستجوی این نقاط نیست.

اگر می خواهید با مواد شیمیایی کار کنید به موارد زیر دقت کنید:

- وقتی در کنار میز آزمایش قرار گرفتید از تماس با موادی که درباره ماهیت آن‌ها اطلاعی

ندارید خود داری نمایید.

- **MSDS**: Material Safety Data Sheet عبارت است از اطلاعات ایمنی مربوط به هر ماده

شیمیایی که کاربر با مراجعه به آن‌ها می تواند اطلاعاتی در زمینه خطرات احتمالی، طریقه استفاده،

موارد ایمنی، روش کار با آن ماده، آدرس شرکت تولید کننده و تلفن تماس اضطراری را بدست

آورد. اغلب شرکت‌های تولید کننده مواد را به همراه ماده فروخته شده توزیع نمایند. با این حال این

MSDS شیمیایی موظفند اطلاعات در سایت شرکت‌ها نیز وجود دارد.

- به علائم هشدار دهنده بر روی ظروف توجه کنید. این علائم می توانند پیش از آنکه آنها را مورد

استفاده قرار دهید نکات مهمی را در زمینه طریقه استفاده هشدار دهند.

برخی از علائم رایج و توضیحات مرتبط با آن‌ها در تصویر زیر آمده است:



علائم استاندارد هشدار دهنده که بصورت معمول بر روی ظروف حاوی مواد شیمیایی ثبت می گردد.

- به عنوان یک اصل عمومی از تماس، چشیدن و بوییدن مواد شیمیایی باید اجتناب کرد
- با مواد تبخیر شونده درزیر هود کار کنید
- به هنگام کار با مواد شیمیایی حتما از دستکش استفاده کنید.
- استفاده از عینک حافظ چشمان شما خواهد بود.
- در صورت تماس مواد شیمیایی با بدن یا چشم حد اقل به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با آب جاری شستشو داده شود.

اگر می خواهید از شعله استفاده کنید به نکات زیر توجه کنید:

- هرگز شعله را بی توجه رها نکنید.
- اگر وسیله ای را داغ کرده اید هرگز آنرا بی توجه رها نکنید. دیگران ممکن است با برداشتن آن ها آسیب ببینند.
- هرگز دهانه لوله ای را که مشغول گرم کردن آن هستید به سمت کسی نگیرید.
- داخل ظرف ماده در حال جوش را نگاه نکنید.
- ظروف در بسته را هرگز حرارت ندهید.
- اگر بخارات ماده در حال جوش برای استنشاق مضر است حرارت دادن را در زیر هود انجام دهید.

اگر با لوازم تیز کار می کنید به موارد زیر توجه کنید:

- هرگز آن ها را بی توجه بر روی میزرها نکنید.
- دست را به سمت وسیله تیز در حال سقوط دراز نکنید.
- وسایل تیز را از طریق ظروف زباله معمولی دفع نکنید. این کار ممکن است به کارگران دفع زباله آسیب برساند. برای این منظور ظروف مخصوصی وجود دارد.

- خوردن و آشامیدن در آزمایشگاه ممنوع است.
- از شوخی‌های بی مورد در محیط آزمایشگاه بپرهیزید.
- پیش از انجام هرکاری به درست یا غلط بودن آن فکر کنید.

در صورت بروز حادثه اینگونه عمل کنید:

- در صورت تماس با مواد شیمیایی شستشو با آب به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه لازم است برای اینکار از شیر یا چشم شوی می توانید استفاده کنید.
- در صورت وقوع آتشسوزی، در صورت امکان نسبت به اطفای آن اقدام کنید.
- هر گونه اتفاقی را فارغ از بزرگ یا کوچک بودن به مسئول آزمایشگاه گزارش دهید.
- در مواردی که لازم باشد مانند آتشسوزی ها و موارد اورژانسی تماس با مراکز آتش نشانی یا بیمارستانی و پلیس ممکن است ضرورت داشته باشد در این مورد شماره های ضروری (که در زیر آمده) را به خاطر بسپارید.

پس از اتمام کار و پیش از خروج از آزمایشگاه موارد زیر را رعایت کنید:

- لوازم استفاده شده و جابجا شده را به حالت و جایگاه اولیه بر گردانید.
- ظروف آلوده را در جایگاه مخصوص که قبلا مشخص شده قرار دهید (در صورت نیاز آن‌ها را بشوید).
- از خاموش بودن دستگاه های مورد استفاده اطمینان حاصل کنید.
- روپوشتان را در آورده و پس از شستن دست ها آزمایشگاه را ترک نمایید.
- شماره‌های ضروری در مواقع اضطراری

آتش نشانی: ۱۲۵

اورژانس: ۱۱۵ پلیس: ۱۱۰

بخش پنجم:

روش‌های بی خطر سازی و دفن پسماندهای آزمایشگاهی

دفع پسماندهای آزمایشگاهی

بمنظور حفظ سلامت افراد و جلوگیری از اثرات زیان آور پسماندهای آزمایشگاهی باید دستورالعمل ویژه ای در مورد مدیریت پسماند آزمایشگاهی مکتوب شده و جزو مستندات آزمایشگاه قابل ارائه باشد. مدیریت ایمن و صحیح پسماند ها در مراحل جداسازی، بی خطر سازی، جمع آوری، بسته بندی، حمل و نقل و دفع پسماند می-بایست اعمال گردد.

پسماند هایی که در آزمایشگاه تولید می شود شامل موارد زیر می باشند:

۱- پسماندهای عادی و غیر آلوده

۲- پسماندهای عفونی مانند سرم و سایر مایعات بدن، کشت های میکروبی و غیره

۳- پسماندهای تیز و برنده مانند سرسوزن، تیغه اسکالپل، شیشه های شکسته، سرسمپلر و غیره

۴- پسماندهای شیمیایی شامل انواع مواد و معرف های آزمایشگاهی (کیت های مورد استفاده)

۵- پسماندهای آسیب شناسی تشریحی و بافت شناسی

۶- پسماندهای پرتوزا

- باید پسماندهای عادی و غیر آلوده را در محل تولید از پسماند آزمایشگاهی جداسازی نمود. دفع پسماندهای عادی و غیر آلوده مانند پسماندهای خانگی انجام می شود.
- وسایلی که پس از سترون سازی دوباره وارد چرخه کاری می گردند که در کیسه های مخصوص اتوکلاو و جدا از وسایلی که پس از سترون سازی دفع می گردند، قرار داده شوند.

- کلیه پسماندهای عفونی آزمایشگاهی باید ابتدا اتوکلاو شده و سپس به طریق بهداشتی دفع گردد.
- دستگاه های فور و اتوکلاو باید عملکرد مطلوب داشته باشد جهت بررسی صحت عملکرد اتوکلاو باید از اندیکاتورهای شیمیایی و بیولوژیک استفاده نمود و مستندات کنترل کیفی مربوطه باید موجود باشد.
- پسماندهای بافت‌شناسی باید با رعایت موارد ایمنی و بهداشتی در سطل‌های مخصوص جمع‌آوری و سپس در مکان‌های مخصوص دفن یا سوزانده شوند.
- پسماندهای تیز و برنده مانند سرسوزن، وسایل شیشه‌ای شکسته، تیغ اسکالپل، نوک سمپلر و غیره در ظروف ایمن (Safety Box) قرار گرفته و زمانی که سه چهارم محفظه پر شد، اتوکلاو شده و سپس به طریق بهداشتی دفع گردند.
- در موقع جمع‌آوری، حمل و نقل و دفع پسماندها باید از وسایل و پوشش‌های حفاظتی لازم استفاده شود.
- تمامی مراحل جمع‌آوری و حمل و نقل کیسه‌های پسماندها باید با دست انجام پذیرد، زیرا استفاده از وسایل مکانیکی سبب پاره شدن کیسه‌ها و ترشح و پاشیدن مواد آلوده می‌گردد. سطل‌های محتوی کیسه‌های پسماند برای اجتناب از واژگونی باید توسط گاری چرخدار جابجا شود.
- جمع‌آوری و دفع پسماندها باید طبق برنامه زمانبندی مشخص و متناسب با میزان تولید پسماند بوده و حداقل به طور روزانه انجام پذیرد.

منابع:

- ۱- راهنمای ایمنی زیستی ، دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس
- ۲- دستور العمل الزامات ایمنی و بهداشت در آزمایشگاه، مرکز توسعه پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی
- ۳- آزمایشگاه بیوتکنولوژی ، دانشکده فن آوریهای نوین دانشگاه علوم پزشکی گلستان
- ۴- مستندات سیستم مدیریت کیفیت در آزمایشگاه پزشکی، آزمایشگاه مرجع سلامت
- ۵- ایمنی و سلامت شغلی و بهداشت محیط ، مرکز پزشکی آموزشی درمانی الزهرا(س)