

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



بسمه تعالی

دانشگاه پزشکی اصفهان



DEPARTMENT OF GENETIC AND BIOLOGY, MEDICAL UNIVERSITY OF ISFAHAN

کتاب راهنمای ایمنی و حفاظت در آزمایشگاههای گروه ژنتیک و بیولوژی  
مولکولی

دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

تهیه کننده: گیلدا امینی

با همکاری: بتول دایی غفاری

## ● فهرست مطالب

4.....	اهداف گروه.....
5.....	تلفن های داخلی گروه.....
5.....	فعالیت های گروه.....
6.....	مقررات ایمنی زیستی در آزمایشگاه.....
8.....	هودهای بیولوژیک.....
8.....	مقررات ایمنی کار با مواد بیولوژیک.....
9.....	مقررات سطح ایمنی زیستی سطح ۲ برای کار با حیوانات آزمایشگاهی.....
10.....	ایمنی کار با نمونه های دارای DNA نوترکیب.....
12.....	وسایل کوچک آزمایشگاهی.....
15.....	PH مترونگات ضروری کار با آن.....
18.....	اصول ایمنی و دانستنی های کار با دستگاه میکروویو.....
19.....	نکاتی در ارتباط باتوزین و استفاده از دستگاه ترازو.....
20.....	اتوکلاو ونکات ایمنی کار با آن.....
21.....	نکات ایمنی کار با دستگاه اون.....
23.....	الکتروفورز.....
27.....	سانتریفیوژ.....
31.....	PCR.....
32.....	انکوباتور.....
33.....	نکات ضروری در هنگام کار با هود.....
35.....	نکات ایمنی در رابطه با نیتروژن مایع.....
37.....	موارد ایمنی و کار بادستگاه مولد نور ماوراء بنفش.....
38.....	پرتوهای ماوراء بنفش.....
39.....	مواد شیمیایی داخل آزمایشگاه احتیاطها و کمکهای اولیه.....
43.....	توضیح علائم روی بسته مواد.....
46.....	اطلاعات ایمنی مواد شیمیایی.....
62.....	مدیریت پسماندهای آزمایشگاهی.....
65.....	دفع ضایعات آزمایشگاهی.....

## اهداف گروه

### ۱- حیطه نیروی انسانی:

- تقویت کادر هیئت علمی گروه (بازبینی چارت)
- توسعه فردی و توانمندسازی در حیطه‌های مختلف
- تدوین شرح وظایف

### ۲- حیطه امور آموزشی:

- تبیین اهداف آموزشی هر یک از دروس
- تکمیل course syllabus های دروس گروه
- تهیه جدول رتبه‌بندی سؤالات آزمونهای دروس گروه
- تدوین شرح وظایف دانشجویان تحصیلات تکمیلی

### ۳- امور پژوهشی:

- تلاش در جهت تأمین منابع مالی از طریق همکاریهای فرا دانشگاهی
- لحاظ نمودن دیدگاههای کاربردی در امور پژوهشی
- تعدیل دانشجویان تحصیلات تکمیلی
- ارتقاء همکاری درون گروهی بین اساتید و تعریف حیطه‌های خاص که همه همکاران بتوانند در آن مشارکت داشته باشند.

### ۴- لجستیک

- رسیدگی به کمبودهای تجهیزاتی گروه
- رسیدگی به کمبود فضای فیزیکی گروه
- بهینه‌سازی استفاده از تجهیزات و فضای فیزیکی موجود در گروه
- لازم به ذکر است که موارد فوق جنبه پیشنهادی دارد و مسلماً با نقطه نظرات همکاران بایستی ارتقاء یابد. همچنین نیاز است برای اهداف تبیین شده راهکارهای مناسب و شفاف و زمان‌بندی شده اجرایی طراحی و پیشنهاد گردد.

### مسئول کنترل کیفیت

- مسئول کنترل کیفیت با همکاری مستقیم مدیر گروه ، مسئول بازرگری و به روز نگه داشتن تمامی مستندات در تمامی فرآیندهای آزمایشگاه، کنترل مدارک و سوابق درون آزمایشگاه ، ملزم نمودن پرسنل و دانشجویان به رعایت اصول کنترل کیفی در آزمایشگاه از جمله مهمترین وظایف ایشان می‌باشد.

## لیست تلفن‌های داخلی گروه و تلفن‌های ضروری دانشکده:

تلفن داخلی	قسمت	تلفن داخلی	قسمت
۹۱۴۲	اتاق دکتر منصور صالحی (مدیر گروه) دکتر کاظمی	۹۰۲۳	دفتر گروه
۹۰۱۵	اتاق کارشناسان گروه	۹۰۸۷	دکتر رسول صالحی دکتر قیصری
۹۱۴۴	اتاق دکتر طباطبائی فر دکتر خان احمد	۹۰۸۶	دکتر مجید خیراللهی دکتر زینعلیان
۳۱۴۴	تاسیسات	۹۱۴۳	دکتر پروانه نیکپور
۹۱۰۶-۹۱۰۷-۹۱۰۸	تحصیلات تکمیلی	۹۱۴۸	آبدارخانه
۳۱۱۰-۳۱۱۱	نگهبانی		

فضای فیزیکی موجود:

- اتاق کشت سلول (۱ عدد)
- اتاق میکروسکوپ (۱ عدد)
- آزمایشگاه تخصصی (۲ عدد)
- اتاق PGD (۱ عدد)
- اتاق تحصیلات تکمیلی (۱ عدد)
- آبدارخانه (۱ عدد)
- دفتر گروه (۱ عدد)
- اتاقهای کار (۷ عدد)

### سوپروایزر آزمایشگاهها

مسئولیت نظارت مستقیم بر ارائه خدمات و فرآیندها و نظارت بر اجرای امور آزمایشگاه بر تمامی فرآیندهای فنی و غیر فنی ، اطلاع دادن هر گونه مشکل در رابطه با آزمایشگاه به مدیر گروه

### فعالیت‌های گروه

شامل: فعالیت‌های آموزشی

- آموزش دروس نظری: (۶۵ واحد)
- آموزش دروس عملی: (۱۲ واحد)
- ارائه کارگاهها: (۵۵ واحد)

### فعالیت‌های پژوهشی

- اجرای پایان‌نامه‌ها
- اجرای طرحهای تحقیقاتی

- چاپ مقالات داخلی
- چاپ مقالات خارجی
- چاپ کتابهای تخصصی
- ارائه سمینارها
- سرویس‌های درمانی
- سرویس‌های پیشگیری

### «مقررات ایمنی زیستی در آزمایشگاه‌ها»

#### مقررات ایمنی زیستی ۱ (bio safety level 1)

- برای کار با عوامل ناشناخته و یا عواملی که حداقل میزان خطر را برای افراد آزمایشگاه و محیط دارند وضع شده است.
- آزمایشگاه از سایر بخش‌های ساختمان که محل عبور و مرور است جدا نشده است.
  - کارهای آزمایشگاهی عموماً بر روی میزها انجام می‌گیرد.
  - معمولاً وسایل و دستگاه‌های خاص (نظیر هودهای بیولوژیک) استفاده نمی‌شود.
  - کارکنان آزمایشگاه تحت آموزش‌های خاصی در ارتباط با آزمایش‌های انجام شده قرار می‌گیرند و همگی با نظارت یک فرد که در زمینه‌ی میکروبیولوژی یا یکی از علوم مرتبطه تخصص دارد هدایت می‌شوند.

#### مقررات ایمنی زیستی ۲ (bio safety level 2)

- مقررات ایمنی زیستی ۲ مشابه با نوع ۱ بوده و برای آزمایشگاه‌هایی است که با عوامل نسبتاً خطرناک کار می‌شود.
- کارکنان آزمایشگاه برای حمل عوامل بیماری‌زا آموزش‌های خاصی را گذرانده‌اند.
  - حضور در آزمایشگاه محدود بوده و فقط در هنگام انجام کار می‌باشد.
  - اگر کار آزمایشگاهی همراه با تولید آئروسول‌های آلوده در محیط باشد، باید در زیر هود انجام گیرد.

#### مقررات ایمنی زیستی ۳ (bio safety level 3)

- مقررات ایمنی زیستی ۳ برای آزمایشگاه‌های پزشکی، تشخیصی، آموزشی، تحقیقاتی یا تولیدی است که در آنها با عوامل بیماری‌زا خطرناکی که می‌تواند مرگبار نیز باشند کار می‌شود. علاوه بر مقررات ایمنی سطوح ۱ و ۲:
- کارکنان آزمایشگاه تحت آموزش‌های خاصی در زمینه‌ی نحوه‌ی حمل عوامل بیماری‌زا و مرگ‌آور قرار می‌گیرند.
  - کارکنان آزمایشگاه تحت هدایت فردی که تجربه کار با عوامل خطرناک را دارد کار می‌کنند.
  - تمام مراحل کار با عوامل آلوده کننده زیر هود انجام می‌گیرد و افراد باید پوشش‌های محافظتی مناسب را در حین کار داشته باشند.
  - آزمایشگاه دارای طراحی خاصی است.

#### مقررات ایمنی زیستی ۴ (bio safety level 4)

- مقررات ایمنی زیستی ۴ برای آزمایشگاه‌هایی که با عوامل مرگبار نظیر ویروس ایدز و هپاتیت کار می‌شود وضع شده است. علاوه بر مقررات ایمنی سطوح ۱ و ۲ و ۳:
- کارکنان آزمایشگاه از لباس‌ها و پوشش‌های خاصی استفاده می‌کنند.

- جهت آلودگی زدایی از وسایل و مواد از یک اتوکلاو با دو درب که یک درب آن داخل آزمایشگاه و درب دیگر آن در خارج است استفاده میشود. مواد آلوده پس از آلودگی زدایی از درب دیگر خارج میشوند.
  - تهویه آزمایشگاه توسط فیلتر های خاصی صورت میگیرد.
  - کارکنان آزمایشگاه بیش از خروج جهت آلودگی زدایی با مواد شیمیایی خاصی دوش میگیرند.
- عملیات پیشگیری از آلودگی های میکروبی
- حضور در آزمایشگاه فقط در موقع انجام کار و زیر نظر مسئول آزمایشگاه باشد.
  - سطوح کار، هرروز یک مرتبه آلودگی زدایی شوند.
  - تمام پس ماندهای مایع یا جامد قبل از دور ریختن، آلودگی زدایی شوند.
  - دستگاه های pipetting مکانیکی استفاده شود. pipetting با دهان اکیدا ممنوع است.
  - خوردن، نوشیدن، سیگار کشیدن و استفاده از هرگونه وسیله ی آرایشی در محیط ممنوع است. مواد خوراکی فقط در کابینت ها یا یخچال های مخصوص مواد غذایی که در خارج از آزمایشگاه میباشد، نگه داری میشوند.
  - افراد باید دست های خود را پس از حمل مواد و قبل از ترک آزمایشگاه و با استفاده از ماده ی ضدعفونی بشویند.
  - باید تلاش زیاد در جهت حداقل تولید آئروسول صورت گیرد.

#### • عملیات ویژه

- مواد آلوده ای که جهت آلودگی زدایی به مکان دور از آزمایشگاه برده میشوند، باید در ظروف با دوام قرار گرفته و قبل از خروج از آزمایشگاه درب آن بسته شود.
- با توجه به اینکه تعدادی از آلودگی ها برای بعضی از افراد معمولا خطرناک است میباشد، ورود افراد به آزمایشگاه و کار آنها در آزمایشگاه با تشخیص مسئول آزمایشگاه میباشد.
- هرگاه عوامل عفونی جهت استفاده در آزمایشگاه نیاز به تدارکات خاصی مانند واکسیناسیون داشته باشد، باید علائم اخطار دهنده بر روی در آزمایشگاه نصب گردد. علائم اخطار دهنده باید نوع عفونت، نام مسئول آزمایشگاه، نام فرد استفاده کننده و تجهیزات خاص وارد شده به آزمایشگاه را نشان دهد.
- در هنگام حضور در آزمایشگاه باید روپوش آزمایشگاه و چکمه پوشیده شود. قبل از خروج از آزمایشگاه، پوشاک نام برده را از تن درآورده و در آزمایشگاه گذاشته شود. در صورت آلودگی، روپوش تمیز پوشیده و پوشاک آلوده، آلوده زدایی شود.
- حیواناتی که در کار پژوهشی در نظر گرفته نشده اند، حق ورود به آزمایشگاه را ندارند.
- باید دقت کافی جهت اجتناب از آلودگی پوستی با مواد عفونی صورت بگیرد. در هنگام حمل و نقل حیوانات آلوده و هنگام تماس پوست با مواد عفونی حتما از دستکش استفاده کنید.
- تمام پس ماند های آزمایشگاه و حیوانخانه باید قبل راز خروج آلوده زدایی شوند.
- سوزن ها و سرنگ های زیر جلدی فقط برای تزریق و خالی کردن مایعات از حیوانات آزمایشگاهی استفاده شود. برای تزریق یا خالی کردن مایعات عفونی از سرنگ های متصل شده به سوزن یا سرنگ یک بار مصرف استفاده شود. باید دقت کافی هنگام استفاده از سرنگ و سوزن صورت گیرد تا از خود تلقیحی اجتناب گردد. نباید سوزن را پس از استفاده خم کرد، شکست یا در غلاف سوزن قرار داد. و سوزن و سرنگ باید سریعا در ظرف مخصوص ظروف تیز و برنده قرار میگیرند و آلوده زدایی شوند (ترجیحا با اتوکلاو)

- ریخته شدن مواد آلوده و سوانح باید سریعاً به مسئول آزمایشگاه گزارش شود. کمک ای اولیه، مراقبت و درمان باید بدون دربرداشتن هزینه ای برای افراد صورت گیرد. گزارش سوانح باید ثبت شده و حداقل ۴۰ سال بایگانی گردد.
- افرادی که با عفونت زای انسانی کار میکنند، باید نمونه های سرم آنها جمع آوری و نگه داری شود. هر ۵ سال و یا پس از در معرض آلودگی قرار گرفتن نمونه ی سرم تهیه شود. داشتن حداقل یک تاریخچه ی پزشکی از کارمندان ضروری است.

#### • هودهای بیولوژیک

هودهای بیولوژیک دسته ی I یا II یا سایر تجهیزات فردی مناسب در موارد زیر مورد استفاده قرار میگیرد:

- ۱- در صورتی که در مراحل کار ذرات آئروسول آلوده تولید شود باید از این کابینت ها استفاده کرد
- ۲- در صورتی که غلظت های بالا یا حجم های بزرگ از عوامل عفونی و یا DNA نو ترکیب استفاده شود، در صورتی که در ب ظروف آنها خوب بسته شده باشد میتوان در هوای آزاد آزمایشگاه استفاده کرد ولی اگر ظروف بدون درب باشند کار فقط در هود های بیولوژیک مجاز میباشد.

#### • تسهیلات آزمایشگاهی

- آزمایشگاه باید به گونه ای طراحی شده باشد که به راحتی تمیز شود. کف پوش یک پارچه توصیه میشود. برای دیوار ها رنگ روغنی پیشنهاد میشود کف پوش ها باید یک پارچه و بدون درز و شکاف باشند تا به راحتی تمیز شوند.
- روی میز کار باید نسبت به اب غیر قابل نفوذ و مقاوم به اسید، قلیا، حلال های آلی و حرارت باشد.
- فضای بین میز کارها، کابینت ها و وسایل باید نحوی باشد که آزمایشگاه به راحتی قابل تمیز کردن باشد.
- در هر آزمایشگاه دست شویی جهت شست و شوی دست ها موجود باشد
- پنجره هایی که باز میشوند دارای توری باشند.
- در آزمایشگاه اتوکلاو جهت استریل کردن پس ماند های آلوده موجود باشد.

#### «مقررات ایمنی کار با مواد بیولوژیک»

##### • مقررات ایمنی کار با سیستم میزبانی E.coli

E.coli k12 از مرسوم ترین سیستم های مورد استفاده در آزمایش های مهندسی ژنتیک میباشد. در صورتی که از این باکتری به عنوان میزبان پلاسمیدهای غیر قابل انتقال استفاده گردد، ایمنی سطح ۱ برای کار با باکتری فوق در آزمایشگاه کافی است که نکات کلیدی آن به صورت زیر است:

- ۱- کار با میزبان فوق روی میزهای معمولی آزمایشگاه و کنار شعله امکان پذیر است.
- ۲- سطوح کاری روزی یک بار و بعد از هر بار کار با این میزبان باید ضد عفونی گردد. عمل ضد عفونی کردن توسط ساو لن ۱۰٪ یا وایتکس صورت میگیرد.
- ۳- در هنگام کار با باکتری فوق، ظرف های حاوی ساو لن ۱۰٪ را برای انتقال تیوب ها و سر سمپلر های آلوده به کار ببرید.
- ۴- بعد از ضد عفونی کردن مواد آلوده و حذف ساو لن ۱۰٪ وسایل آلوده اتوکلاو شوند.
- ۵- پی پت کردن محلول باکتری توسط سمپلر های خودکار صورت گیرد.
- ۶- بعد از کار با ارگانیزم های فوق، شست و شوی دست ها حتما انجام شود. برای این کار صابون مایع و شست و شوی ۲۰ ثانیه ای کافی به نظر میرسد.



در صورتی که از این میزبان برای تولید مواد توکسیک مضر برای انسان و یا کلون سازی ژنوم های ویروسی استفاده گردد. در این صورت ایمنی زیستی سطح ۲ بایستی به صورت زیر رعایت گردد:

- ۱- دسترسی به عامل فوق محدود گردد و توسط علایم هشدار دهنده مشخص گردد.
- ۲- کار با میزبان فوق در زیر هودهای بیولوژیک ۱ و ۲ صورت گیرد.
- ۳- لباس های مخصوص کار در آزمایشگاه نظیر روپوش باید هنگام ترک آزمایشگاه تعویض گردد
- ۴- در هنگام کار باین موجود از دستکش استفاده گردد و از آلودگی پوست با ارگانیزم های حاوی مولکول های DNA نو ترکیب جلوگیری به عمل آورده شود.
- ۵- تمای ضایعات ناشی از کارهای آزمایشگاهی قبل از دفع توسط مواد ضد عفونی کننده (ساو لن ۱۰٪) و اتوکلاو حذف شود.
- ۶- آلودگی های اتفاقی یا پاشیده شدن ارگانیزم های آلوده کننده یا حاوی DNA نو ترکیب به سرعت به مقامات مسئول گزارش داده شود و برای رفع آلودگی آن اقدام شود.

#### • مقررات سطح ایمنی زیستی سطح ۲ برای کار با حیوانات آزمایشگاهی

- ۱- محل نگهداری حیوانات باید مجهز به قفل باشد.
- ۲- محل نگهداری حیوانات به تناوب مورد بازرسی قرار گیرد.
- ۳- در ساختمانی واقع باشد که قابل کنترل و قفل کردن باشد.
- ۴- تنها اشخاصی که از خطرات احتمالی داشته و واجد شرایط هستند (نظیر دریافت کردن واکسن های مناسب) میتوانند وارد حیوان خانه شوند.
- ۵- حیواناتی که در کار پژوهشی در نظر گرفته نشده اند نباید در حیوانخانه نگهداری شوند.
- ۶- مواد آلوده ای که در محلی به دور از آزمایشگاه آلودگی زدایی میشوند باید قبل از خروج در ظروف درب دار با دوام حمل شوند.
- ۷- سرنگ ها و سرسوزن ها باید بلافاصله در ظروف مقاوم قرار گرفته و آلودگی زدایی شوند (ترجیحا با اتوکلاو).
- ۸- هنگامی که کار پژوهشی با حیوان، نیازمند آمادگی های قبلی است (نظیر تزریق واکسن) برای علائم هشدار دهنده ایمنی زیستی بر روی تمام درب های منتهی به حیوانخانه نصب شوند. این علائم باید نشان دهنده ی گونه ی حیوانات، عاملی که با آن کار میشود، نام و شماره مسئول حیوانخانه و سایر موارد مورد نیاز جهت ورود به آزمایشگاه باشند.
- ۹- در هنگام حضور در آزمایشگاه باید از روپوش استفاده کرد، اما پیش از ورود در نواحی آزمایشگاهی نظیر رستوران، کتابخانه و اتاق استراحت آن را خارج نموده و در آزمایشگاه قرار داد.
- ۱۰- مراقبت خاصی جهت جلوگیری از آلوده شدن به میکرو ارگانیزم های نو ترکیب باید به عمل آورد و در موقع کار با حیوانات و هنگامی که تماس با عوامل آلوده کننده اجتناب ناپذیر است باید از دستکش استفاده کرد.
- ۱۱- هراتفاقی که منجر به رها شدن ارگانیزم های حاوی DNA نو ترکیب در محیط و یا آماده شدن حیوانات و کارکنان آزمایشگاه با آنها گردد باید بلافاصله به مسئول حیوان و یا مسئول ایمنی گزارش شود.
- ۱۲- تمام پس ماند های بیولوژیکی باید در دو ظرف مقاوم که درون هم قرار میگیرند ریخته شوند و پیش از دور ریختن آلودگی زدایی شوند.

۱۳- تمام نوزادانی که به نوعی مهندسی ژنتیک بر روی آنها انجام شده باید تا ۷۲ ساعت پس از به دنیا آمدن علامت گذاری شوند.

۱۴- برای انجام تزریقات یا کشیدن مایعات از بدن حیوانات از سرنگ های یک بار مصرف و متصل به سوزن استفاده شود و باید دقت کافی به منظور جلوگیری از خود تلقیحی و ایجاد آئروسول انجام گیرد. نباید سوزن را پس از مصرف خم کرد، شکست یا در غلاف آن قرار داد. سوزن و سرنگ باید سریعاً در ظرف مخصوص ظروف تیز و برنده قرار گیرند و آلودگی زدایی شوند.

۱۵- در صورتی که امکان انتقال آلودگی (میکروارگانیزم، DNA، نوترکیب و...) توسط عواملی نظیر بندپایان و یا سایر سایر راه ها وجود دارد باید دقت کافی جهت جلوگیری از انتشار آن به عمل آید.

۱۶- خوردن، آشامیدن و سیگار کشیدن در آزمایشگاه ممنوع است.

۱۷- افرادی که با مواد و حیوانات دارای DNA نوترکیب کار میکنند باید پیش از خروج دست های خود را بشویند.

۱۸- شرایط نگه داری حیوانات باید مطابق با قوانین حمایت حیوانات باشد.

۱۹- باید یک دستور کار رعایت نکات ایمنی زیستی در آزمایشگاه وجود داشته باشد و همه ملزم به مطالعه و رعایت آن دستورات باشند.

۲۰- سطوح کار باید نسبت به آب غیر قابل نفوذ و مقاوم به اسید، قلیا، حلال های آلی و حرارت باشند.

۲۱- محل نگه داری حیوانات باید به راحتی قابل تمیز کردن باشد.

۲۲- پنجره هایی که باز میشوند دارای توری باشند.

#### • ایمنی کار با نمونه های دارای DNA نوترکیب

اسیدهای نوکلئیک که در مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی مورد استفاده قرار میگیرند را میتوان به صورت زیر دسته بندی کرد:

۱- اسید های نوکلئیک با ساختار DNA

- CDNA: ژنوم های RNA ویروسی

- پلاسمید ها

- ترانس پوزون

- ناقل های مصنوعی

- واکسن های DNA

۲- اسید های نوکلئیک با ساختار RNA

- آنتی سنس RNA

- ریبوزیم ها

- واکسن های RNA

- ناقل های RNA ویروسی

۳- DNA-RNA هیبرید ها

رها سازی اسید های نوکلئیک در محیط از روش های مختلفی صورت میگیرد:

۱- زباله های میکروارگانیزم های تراریخت

۲- زباله های کشت سلولی و محصولات گیاهی تراریخت

۳- زباله های جانوران تراریخت

۴- غذای مهندسی شده

۵- نسوج گیاهی مهندسی شده نظیر کتان

۶- گردوخاک و دانه گرده محصولات مهندسی شده

اسیدهای نوکلئیک در محیط های طبیعی قدرت بقا داشته در ضمن بعضی از انواع آنها قادر به انتقال یک ارگانیزم به یک ارگانیزم دیگر میباشند. اسیدهای نوکلئیک میتوانند ۶ خطرات احتمالی به صورت زیر داشته باشند:

۱. ایجاد شوک توکسیک در زمان استفاده از ناقل های ویروسی

۲. واکنش ایمونولوژیکی در زمان استفاده از ناقل های ویروسی

۳. ایجاد واکنش های اتوایمن توسط DNA دورشته ای و RNA

۴. تولید ویروس های نوترکیب بیماری زا

۵. ایجاد موتاسیون « insertion mutagenesis »

۶. inscrtion oncogencsis

آلودگی ژنتیک سلول های زایشی

بسته به نوع کار پژوهشی با اسیدنوکلییک مقررات ایمنی اعمال خواهدشد که مجری پروژه های تحقیقاتی ملزم به آموزش نکات ایمنی اختصاصی کار خویش می باشندمقررات کلی ایمنی زیستی در سطح آزمایشگاه های مرکز «ایمنی زیستی ۲» برای کار با DNA به صورت زیر است:

۱. پوشیدن روپوش آزمایشگاه ودستکش درحین کاربا نمونه های DNA ضروری است

۲. زباله های الوده به DNA باید از زباله های غیرالوده جداشده وزباله های الوده درنهایت اتوکلاو شوند

۳. از ریختن محلول های الوده به DNA در سینک های ظرف شویی به شدت خودداری گردد

۴. در صورت الوده شدن سطوح آزمایشگاه با DNA نوترکیب سطوح توسط اسید رقیق شسته شده پس از شستشوی اسید با اب ضدعفونی کردن سطوح بالکل صورت میگیرد

۵. پیشنهادمی گردد که قبل از کار با DNA سطوح آزمایشگاهی توسط پوشش های دو قسمتی «پلاستیک-بخش قابل نفوذروی» پوشیده گردد ودرانتهای کارجمع شده واتوکلاوشود

مسلمارعايت نکات ذکرشده می توانداحتمال وقوع خطررا به حداقل برساند

### مقررات ایمنی کار باخون وفرآورده های آن:

۱. نمونه های خونی مورد آزمایش ازجهت همراه بودن بانواع ویروس های بیماری زای انسانی بسیار خطرناک است مشخص شده است که در 1ml ازخون ۵۰-۱۵ ویروس HIV وحدود ۱۰<sup>۶</sup> تا ۱۰<sup>۹</sup> ذره ویروسی هپاتیت B وجود دارد. این ذرات ویروسی HBV برخلاف ذرات ویروسی HIV قادرند درخارج بدن موجود زنده به مدت چندین روز زنده باشند. تعداد ذرات ویروسی HCV ۱۰ برابر ذرات ویروسی HIV است. مسلمارعايت نکات ایمنی در آزمایشگاه های فوق ضروری بوده وهرگونه بی احتیاطی می تواند خطرات بالقوه جبران ناپذیری رادریب داشته باشد.

۲. آزمایشگاه تحقیقاتی مربوط به نمونه های خونی باید در مکان مشخص وجدا از سایر بخش های آزمایشگاهی ساخته شود.

3. افراد در ارتباط با این نمونه ها بایستی واکسینه شده و در مواقع بروز حادثه فرم های مخصوصی را پر کنند و در فرم های مذکور علل بروز حادثه ذکر گردد
4. پوشیدن دستکش ، لباس های مناسب آزمایشگاهی، شستشوی مداوم دست ها، عدم استفاده از کفشهای روباز و عدم استفاده از لنز و لوازم آرایشی به شدت توصیه می گردد.
5. استفاده از هود های بیولوژیک در حین کار توصیه می گردد. سطح کاری توسط bench-cove «که متشکل از یک لایه پلاستیک و بخش جاذب رویی» پوشیده شود تا بعد از اتمام کار پوشش فوق جمع شده و اتوکلاو گردد.
6. در صورت الوده شدن میز های آزمایشگاه توسط خون، میز و یا جایگاه الوده توسط ماده ضد عفونی کننده اب ژاول ۱۰٪ سود، ۵٪ مولار و SDS ۵٪، ضد عفونی شده و سپس اب کشی گردد
7. نمونه های الوده پس از علامت گذاری اتوکلاو گردند.
8. پاکسازی منظم و دوره ای در محوطه های فوق بایستی انجام گیرد

### «وسائل آزمایشگاهی کوچک»

#### میکروپیپت

برای برداشتن حجم مورد نظر خود توسط میکروپیپت به نکات زیر توجه فرمایید:

- ۱- میکروپیپت را به آرامی و با دقت بر روی حجم مورد نظر تنظیم کنید.
  - ۲- تیپ یکبار مصرف را به میکروپیپت متصل نمایید بطوریکه از جایگیری درست و محکم آن مطمئن باشید
  - ۳- دکمه عملگر ( operating botton ) را تا اولین ایست ( first stop ) ان فشار دهید
  - ۴- نوک تیپ را درست زیر سطح مایع ( 2-3mm ) قرار دهید و دکمه ی عملگر را به آرامی و بطوریکه نواخت آزاد کنید. میکروپیپت را در طی کشیدن مایع عمود نگه دارید. در مورد مایعاتی که ویسکوزیته و دانسیته ی آنها باب متفاوت می باشد بهتر است که با پروخالی کردن تیپ، درون انرا با ان مایع مرطوب نمایید
  - ۵- سرتیپ را به دقت از درون مایع بیرون آورده به کناره ی درون ظرف بکشید تا مقادیر اضافی به جدار بیرونی ان باقی نمانده باشد
  - ۶- مایع کشیده شده با فشار آرام دکمه عملگر تا اولین ایست خارج می شود. پس از توقف کوتاهی در اولین ایست ، دکمه ی عملگر را تا دومین نقطه ی ایست فشار دهید تا از تخلیه ی کامل ان مطمئن شوید
- هرگز از میکروپیپت در خارج از محدوده ی مشخص شده برای ان استفاده نکنید
  - پیشنهاد می شود که در هنگام عدم استفاده از میکروپیپت، انرا در وضعیت عمودی نگهدارید
  - برای تمیز کردن میکروپیپت از اب یا اتانول ۷۰٪ و یک پارچه ی نرم یا دستمال بدون پرز استفاده کنید. پیشنهاد می شود که محل اتصال تیپ به میکروپیپت بطور منظم تمیز شود
  - هرگز برای پاک کردن سطوح خارجی میکروپیپت از موادی نظیر گزبلول یا سایر حلال های مواد پلاستیکی استفاده نکنید\*مراقب باشید هنگام برداشتن مواد شیمیایی تنهاتیپ با انها تماس یابد و خود میکروپیپت الوده نشود
  - مایع نباید وارد میکروپیپت شود. بنابراین هرگز هنگامیکه تیپ حاوی مایع می باشد انرا سرورته یا به طور افقی نگه ندارید
  - همیشه حجم کشیده شده توسط میکروپیپت را با چشم کنترل کنید تا مطمئن شوید حجم مورد نظر شما کشیده شده است

- در هنگام کشیدن مواد باچگالی بالا مثل گلیسرول و تریتون، علاوه بر رعایت آرامش در کار همیشه پس از آزادی کامل دکمه عملگر نوک تیپ راتاچند لحظه در مایع نگه دارید تا حجم مورد نظر شما بطور کامل کشیده شود در صورتیکه نیاز به برداشتن حجم های بیشتری از این مواد باشد می توان برای سهولت کار سر تیپ راچید. این مورد برای برداشتن سوسپانسیون هایی مثل سوسپانسیون سلولی نیز صادق است
- تا حد امکان از کشیدن مواد خورنده ای مثل اسید و بازهای قوی با استفاده از میکروپیپت خودداری کنید زیرا بخارات این مواد باعث خوردگی وزنگ زدن فنر میکروپیپت می شود بهتر است در این موارد از پیپت های شیشه ای استفاده شود در صورت اجتناب نا پذیر بودن استفاده از میکروپیپت برای این مواد، پیشنهاد میشود که پس از اتمام کار میکروپیپت باز شده، پیستون و اجزای درونی آن شسته و تمیز گردد
- در صورت الوده شدن میکروپیپت به خون، فرآورده های خونی یا سوسپانسیون میکروبی، اگر میکروپیپت قابل اتوکلاو کردن است از این روش استفاده کنید در غیر این صورت قسمت الوده را با دقت از میکروپیپت جدا کرده و به مدت یک ساعت در ساولن ۱۰٪/۱۰٪ و پس از شستشو با آب به مدت ۱۰ دقیقه در الکل ۷۰٪ قرار دهید در نهایت وسیله را با مقادیر فراوانی آب شستشو داده و در هوا خشک کنید

### وسایل شیشه ای

- از گذاشتن وسایل شیشه ای درجه بندی شده ای که به منظور حجم سنجی های دقیق به کار می رود در آون خودداری کنید زیرا گرم و سرد شدن های متوالی از دقت درجه بندی آنها می کاهد
- از نوشتن یادداشت روی درجه بندی ها اجتناب کنید زیرا ممکن است هنگام پاک کردن یادداشت ها، درجه بندی ها نیز پاک شود
- پس از اتمام کار ظرف مورد استفاده را با روش مناسب کاملاً تمیز نموده و یادداشت روی آنرا پاک کنید
- برای شستشوی ظروف شیشه ای از اسفنج یا پارچه نرم استفاده کنید تا روی آنها شکاف یا خشی ایجاد نشود
- هنگامیکه در نظر دارید از یک ظرف شیشه ای تحت شرایط خلا استفاده کنید یا آنرا حرارت دهید ابتدا از سالم و بدون ترک بودن آن اطمینان حاصل کنید. در غیر این صورت خطرات جدی شما و اطرافیان را تهدید خواهد کرد
- برای شستشوی ظروف خیلی کثیف باید از خیساندن شبانه در محلول اسید کرومیک استفاده کرد
- اگر احتمال می دهید که یک ظرف شکسته یا ترک خورده قابل تعمیر است با رعایت نکات ایمنی آنرا به بخش شیشه گری منتقل کنید و در غیر این صورت آنرا در ظرف مخصوص اجسام نوک تیز و برنده قرار دهید

### ورتکس

- پیش از استفاده از دستگاه های ورتکس-اسپین رومیزی، از محکم بودن بخش چرخنده ی آن اطمینان حاصل کنید
- سعی کنید حتی الامکان به صورت تراز از آن استفاده کنید. به طور مثال اسپین کردن یک ویال که در مقابل آن یک ویال دیگر قرار نداده اید خودداری فرمایید
- استفاده از ورتکس تنها برای موارد خاصی همچون مخلوط کردن بافرها مناسب است DNA های بزرگ و... در اثر ورتکس آسیب خواهد دید

- در هنگام ورتکس کردن از محکم بودن درویال ها و غیر قابل نشست بودن آنها مطمئن شوید، زیرا نشست مواد باعث ایجاد اشکال در آزمایش شما و بروز مشکلات ایمنی می گردد

## ویال

قبل از شروع کار از سالم بودن (سوراخ نبودن) و تمیز بودن ویال اطمینان حاصل کنید  
سعی کنید در هر آزمایش از ویال مناسب آن کار استفاده کنید  
در هنگام کار خصوصا در مورد مواد فرآر سمی و خطرناکی مثل فنل از محکم بودن و عدم نشست در ویال مطمئن شوید  
برای باز کردن در ویال از روش مناسبی استفاده کنید تا محتویات آن یکباره به بیرون پاشیده نشود  
در هنگام استفاده از ظروف یکبار مصرف مثل ویال، فالکون، پلیت و... به جنس پلیمر سازنده ی آن توجه داشته باشید. برخی از آنها مثل پلی پروپیلن (polypropylene) قابل اتوکلاو کردن هستند و برخی دیگر مثل پلی اتیلن (polyethylene) رانمی توان اتوکلاو کرد  
ضمنا این ظروف نسبت به تمامی مواد مقاوم نبوده با برخی از آنها واکنش می دهند. برای مثال پلی کربنات ها نسبت به انواع الکل ها مقاوم نیستند

## صفحه گرم کننده ( hot plate )

- این دستگاه یک وسیله ی الکترونیکی است که استفاده از آن در محدوده ی دمایی مشخصی مجاز می باشد (۸۰-۱۵ درجه سانتیگراد) بنابراین از تنظیم آن روی دماهای بالاتر از مجاز خودداری کنید زیرا باعث ایجاد آسیب در سیستم الکترونیکی زیر آن می شود .
- برای تنظیم دمای آن از اجسام نوک تیز مثل خودکار و ناخن استفاده نکنید زیرا باعث خراب شدن تکه های حساس می شود.
- برای سرد کردن دستگاه جدا از خیس کردن آن به هر صورت اجتناب نمایید.
- در صورتی که حجم ماده درون یک ویال زیاد باشد دمای بالا باعث ایجاد فشار در باز شدن خودبه خود ی درب و بیرون پاشیدن محتویات آن می شود در این موارد یک منفذ خروجی برای آن تعبیه کنید یا حجم کمتری در ویال بریزید.

## بن ماری (حمام آب)

- محفظه ی بن ماری باید همیشه حاوی مقداری آب مقطر تمیز باشد بنابراین قبل از روشن ساختن آن از کافی بودن حجم آب اطمینان حاصل کنید خصوصا زمانی که می خواهید شبانه یا برای مدت طولانی دستگاه را روی دمای بالایی روشن بگذارید. بدیهی است که کم شدن آب باعث بروز آسیب در دستگاه و آتش سوزی خواهد شد
- برای پر کردن بن ماری از آب یکبار تقطیر استفاده کنید مراقب باشید که نمونه های شما به آب نفوذ نکنند در صورت مشاهده الودگی در آب بن ماری بلافاصله آب آنرا به طور کامل تخلیه و پس از شستشوی محفظه آنرا از آب تمیز پر کنید.
- در صورت استفاده بلند مدت خصوصاً دماهای بالا در محفظه را بسته نگه دارید تا از تغییر بیش از حد، فشار آمدن به دستگاه و کثیف شدن احتمالی آن جلوگیری شود.

- اگر می خواهید از سرد کننده ی ( chiller ) استفاده کنید ,حتما لازم است بن ماری را هم روی دمای مورد نظر تنظیم وان را روشن نمایید توجه داشته باشید که هنگام قراردادن سر ماریچ در آب دمای آب بالاتر از دمای اتاق نباشد.
- از بن ماری های دقیق برای دماهای بالاتر از ۵۵ درجه سانتیگراد استفاده شود

### «PH متر»

PH هر محلول با بدست آوردن لگاریتم غلظت یون هیدرونیوم و تغییر علامت ان بدست می آید  
انواع الکتروود:

از نظر نوع عملکرد مورد انتظار ساختمان , الکتروود ها بسیار متنوعند . در جدول زیر نوع کاربرد برخی الکتروود ها خلاصه شده است:

نوع الکتروود	نمونه مورد ازمون
کالومل یا DOUBLE junction	نمونه های بیولوژیکی , پروتئینها , TRIS بافر
کالومل یا DOUBLE junction	نمونه های دارویی
الکتروود انتیموان یا HF	اسید های هیدرو فلوریک
الکتروود نقره با SINGLE junction	اب آشامیدنی
DOUBLE junction	پساب
DOUBLE junction	محلولهای با فلزات سنگین
الکتروود خاک یا DOUBLE junction	نمونه های خاک
حباب شیشه ای یا Ag/AgCl	PH بالاتر از ۹ و یون Na <sup>+</sup> زیاد
نوک های نیزه ای , Ag/AgCl	نمونه های نیمه جامد

الکتروود های SINGLE junction کاربرد های عمومی دارند اما الکتروود های DOUBLE junction جهت تعیین PH محلول های ویسکوز یا محلول های دارای سولفید ها , فلزات سنگین , Tris بافرها به کار میروند. الکتروود مرجع نقره استفاده های عمومی دارد و گستره ی هایی تا ۸۰ درجه سانتیگراد را در بر میگیرد. الکتروود کالومل در مواردی که محلولهای مورد ازمون با یونهای نقره واکنش داده و موجب انسداد junction میشوند کاربرد دارد.

### نحوه استفاده نمونه ای از دستگاه PH متر

- ۱- الکتروود PH متر را با اب مقطر شسته (شکل) و اب اضافی دور الکتروود را با تماس آرام دستمال کاغذی خشک کنید . مراقب باشید حتی به مدت کوتاه نباید الکتروود کاملا خشک شود.
- ۲- الکتروود را درون محلول استاندارد ۱ (PH=4) قرار دهید.
- ۳- کلید C را فشار دهید.
- ۴- کلید PH را فشار دهید و صبر کنید تا چشمک زن دستگاه خاموش شود (شکل)

- ۵- کلید STD را فشار دهید و تا خاموش شدن چشمک زن دستگاه صبر کنید.
  - ۶- الکتروود را از محلول استاندارد ۱ خارج و با اب مقطر بشویید.
  - ۷- الکتروود را درون محلول استاندارد ۲ (PH=7) قرار دهید.
  - ۸- کلید STD را فشار دهید و صبر کنید تا چشمک زن دستگاه خاموش شود
  - ۹- الکتروود را از محلول استاندارد ۲ خارج و با اب مقطر بشویید
  - ۱۰- الکتروود را داخل محلول مجهول قرار داده و کلید PH را فشار دهید. (شکل)
  - ۱۱- پس از ثابت شدن چشمک زن دستگاه PH را ثبت بنمایید.
  - ۱۲- الکتروود را از محلول خارج نموده با اب مقطر بشویید. اب اضافی آن را خشک کرده و الکتروود را در ویال محافظ دستگاه که دارای محلول کلرید پتاسیم (KCL) اشباع است قرار دهید و در پوش آن را در جای خود محکم نمایید.
- خطا های PH متر:

- ۱- خطاهای قلیایی: در محلول های با PH=9 یا بزرگتر، بعضی از غشاهای شیشه ای نه تنها تغییرات غلظت یون هیدروژن بلکه تغییرات غلظت یونهای فلزات قلیایی (مثل  $Na^+$  و  $K^+$ ) را نیز نشان میدهد. خطای PH در PH های بالا منفی است و قرائتها کمتر از مقدار واقعی هستند. تمام کاتیونهای تک بار کم و بیش خطای قلیایی بوجود می آورند.
- ۲- خطاهای اسیدی: الکتروود شیشه ای در محلول های با PH کمتر از ۰/۵ خطایی نشان میدهند که علامت آن در جهت مخالف خطای قلیایی است. در این جا قرائتها زیاد تر از مقدار واقعی است.
- ۳- اب زدایی: خشک کردن الکتروود باعث عملکرد ناپایدار و خطا میگردد.
- ۴- خطا در محلول های غیر بافری و خنثی: تعادل بین سطح الکتروود و اینگونه محلول ها به کندی صورت میگردد. برای رفع این خطا باید تا برقراری تعادل (چند دقیقه) صبر نمود.
- ۵- خطا در PH بافر استاندارد: عدم دقت در تهیه بافر استاندارد یا تغییر ترکیب آن در اثر نگهداری طولانی مدت و یا فساد آن توسط باکتری در اندازه گیری PH ایجاد خطا مینماید.

#### موارد احتیاط:

- ۱- هیچ گاه دستگاه PH متر را پس از اتمام کار خاموش نکنید.
- ۲- هرگز الکتروود را حتی در حد کمتر از یک دقیقه کاملاً خشک نکنید.
- ۳- بعد از اتمام کار از قرار گرفتن کامل الکتروود در ویال حاوی KCl اشباع مطمئن شوید.
- ۴- در صورت عدم دسترسی به KCl اشباع هرگز الکتروود را در اب مقطر قرار ندهید. در این حال نخست از محلول استاندارد PH=2 و در درجه بعدی از اب لوله کشی استفاده نمایید.
- ۵- از یکنواخت بودن محلول مورد بررسی اطمینان حاصل نمایید در صورت لزوم از کاغذ صافی برای جدا کردن ذرات معلق بهره بگیرید.
- ۶- از تنظیم PH محلول های محیط کشت همراه با اگر جامد یا ذوب شده اکیدا خودداری فرمایید.



۷-PH های بالاتر از ۱۲ و پایین تر از ۳ دارای خطای قلیایی و اسیدی است در PH های فوق alarm دستگاه فعال خواهد شد. با شنیدن بوق دستگاه به سرعت الکتروود را از محلول خارج ساخته و با آب مقطر بشویید. قبل از اینکه مجددا الکتروود را در محلول قرار دهید حتما با کمک NAOH غلیظ با نرمالیتت بالا PH را به محدوده ۱۲-۳ نزدیک نمایید.

۸- مشخصات محلول و PH آن را به همراه تاریخ و نام خود در دفتر دستگاه ثبت نمایید.

مشخصات محلول و PH آن را به همراه تاریخ و نام خود در دفتر دستگاه ثبت نمایید.

### پیغام های خطا در دستگاه PH متر

- ۱- High slope: این پیغام وقتی ظاهر می شود که در استاندارد کردن، شیب خط نمودار mv، ۱۲PH، /و یا بیشتر از آن باشد.
  - ۲- Low slope: این پیغام وقتی ظاهر میشود که در استاندارد کردن، شیب خط نمودار mv، ۱۲PH، /و یا کمتر از آن باشد.
  - ۳- Negative slope: این پیغام وقتی ظاهر میشود که در استاندارد کردن STD1، STD2 طبق تعریف قبلی برای دستگاه استفاده نشود.
- در همه حال با نمایش پیغام های خطا قبل از شروع هر عملیاتی باید از صحت اتصالات دستگاه و الکتروود اطمینان حاصل کرد سپس سطح محلول داخل الکتروود مورد بررسی قرار گیرد و در صورت کمبود، محلول اضافه شود.
- پس از بررسی های فوق برای رفع خطاهای ۱ و ۲ باید به ترتیب مراحل زیر انجام گیرد:
- ۱- الکتروود به مدت ۱ ساعت در IN HCL، شناور می شود.
  - ۲- پس از شست و شو، الکتروود به مدت ۱ ساعت در بافر ۲/ قرار گیرد.
  - ۳- مراحل استاندارد کردن انجام شود، در صورتی که مجددا پیغام خطا ظاهر شد، الکتروود بعد از قرار گرفتن در IN HCL، چندین بار به طور متوالی و بمدت ۱ دقیقه در IN NAOH IN HCL شناور شود.
  - ۴- مرحله ۲ و سپس استاندارد کردن تکرار گردد. در صورت نمایش پیغام خطا، این بار پس از انجام مراحل فوق از مخلوط استن و ایزوپروپیل الکل (۱:۱) بمدت ۳ تا ۵ دقیقه استفاده شود.
- برای رفع خطای ۳ باید عملیات استاندارد کردن را با جابجایی ترتیب بافر ها، تکرار نمود.



دستگاه PH متر

شکل- نحوه استفاده از

## «اصول ایمنی و دانستنی های کار با دستگاه مایکروویو»

دستگاه مایکروویو با استفاده از انرژی امواج بسیار کوتاه رادیویی یا مایکروویو، حرارت مورد نیاز برای گرم کردن اجسام و مواد را در مدت زمان کوتاهی تأمین می نماید.

در کار با این دستگاه دو عامل اصلی قدرت و زمان استفاده از امواج، قابل کنترل است.

انرژی الکترومغناطیس در فرکانس مایکروویو یکی از پاکیزه ترین و بی زیان ترین منابع ایجاد گرما می باشد ولی در کار با دستگاه باید نکات زیر را رعایت نمود.

- هرگز دستگاه را بدون آن که چیزی در آن باشد مورد استفاده قرار ندهید، زیرا انرژی گرمایی جذب دیواره های داخلی آن شده و باعث صدمه به دستگاه میگردد. حتما در هنگامی که دستگاه کار می کند باید جسمی یا مایعی در آن باشد تا انرژی گرمایی جذب آن شود.
  - به هیچ وجه نباید وسایل و ضمایم فلزی مانند فویل آلومینیومی را داخل دستگاه نمود زیرا به محض شروع به کار دستگاه باعث ایجاد جرقه و صدمه زدن به دستگاه می گردد. در پوش آلومینیومی را قبل از گرم کردن باید از ظرف جدا کرد.
  - از گرم کردن ظروف در بسته، خشک کردن کاغذ و پارچه توسط دستگاه اجتناب نمایید.
  - دریچه های تهویه دستگاه باید آزاد باشند و راه آنها نباید مسدود گردد.
  - برای خارج کردن ظروف گرم شده توسط دستگاه حتما باید از دستکش یا دستگیره پارچه ای استفاده نمود.
  - پس از گرم کردن مایعات و خاموش کردن دستگاه چند دقیقه صبر نمایید تا حرارت آن یکنواخت شود و سپس با احتیاط آن را از دستگاه خارج نمایید.
  - درب دستگاه قبل از شروع به کار باید کاملا بسته باشد و از کار کردن دستگاه با درب باز یا نیمه باز جدا خودداری شود.
  - در صورتی که در اثر اشتباه دستگاه بدون بار کار نماید، برق آن به طور خودکار قطع می گردد؛ در این صورت حداقل نیم ساعت دستگاه را روشن نکنید.
  - اگر از کیسه نایلونی برای گرم کردن جسمی استفاده می نمایید، دقت فرمایید که منافذی برای خروج بخار آب در کیسه ایجاد نمایید.
  - کلید ها را آرام و تک به تک فشار دهید. هرگز به طور همزمان چند کلید را باهم فشار ندهید.
  - هیچ گاه دستگاه را بدون سینی استفاده ننمایید.
  - سطوح داخلی و خارجی، درب و نوارهای حاشیه و سینی گردان و غلط گر را باید همواره تمیز نگه داشت زیرا در صورت آلودگی دستگاه به مواد شیمیایی و حتی پاک کننده کارایی آن پایین می آید.
  - نظافت دستگاه
- برای برطرف کردن لکه ها و جرم ها از داخل مایکروویو، حدود ۱ لیتر آب در یک ظرف شیشه ای قرار داده و دستگاه را به مدت ۶ تا ۸ دقیقه با بالاترین قدرت روشن نمایید. آب به جوش می آید و بخار آن باعث می شود که لکه ها و جرم ها نرم شده و به راحتی برطرف شوند. این کار باعث می شود که بوی نامطبوع که در اثر گرم کردن بعضی مایعات در داخل دستگاه ایجاد می گردد، برطرف گردد. مایعات نیز نباید بر روی سینی و داخل محفظه ریخته شوند و برای شست و شو دستگاه نیز حتما آب را در یک ظرف ریخته و سپس از آن بجوشانید.

مشکلات احتمالی کار با دستگاه مایکروویو

اشکال	توصیه و راه حل
-تراکم بخار در داخل دستگاه -جریان هوا در اطراف درب و پوشش خارجی -انعکاس نور از اطراف درب و پوشش خارجی -آزاد شدن بخار از اطراف درب و یا منافذ	طبیعی است
در هنگام فشار دادن کلید Start دستگاه کار نمی کند.	از بسته بودن درب دستگاه اطمینان یابید.
امکان وارد کردن هیچ تنظیمی نیست.	اشتباهها برای توقف موقت کلید Stop را فشار داده اید. کلید Reset را فشار دهید تا برنامه تنظیمی کاملاً لغو شود.
شنیدن صدای اضافه با جرقه	آیا ظروف با تزئینات فلزی است؟ آیا ظروف فلزی در دستگاه باقی نمانده است؟ آیا فویل آلومینیومی در مجاورت دیواره ها قرار دارد؟

«نکاتی در ارتباط با توزین و استفاده از دستگاه ترازو»

برای تهیه مواد و محلول های مربوط به آزمایش نیاز به توزین دقیق موادی است که مورد استفاده قرار می گیرد. با توجه به محدوده دقت وزن ترازو، دو ترازو در آزمایشگاه وجود دارد ترازوی غیر حساس که تا حد  $0.1\text{gr}$  و ترازوی حساس که تا  $0.01\text{mg}$  را وزن می کند.

• محدوده وزن ترازو

در هنگام توزین به محدوده وزن ترازو دقت کنید. برای توزین وزن های بیش از  $1\text{gr}$  از ترازوی حساس و برای توزین وزن های کمتر از  $0.1\text{gr}$  از ترازوی غیر حساس استفاده نکنید.

• انتخاب موقعیت مناسب برای ترازو

- سطحی که ترازو روی آن قرار می گیرد بایستی تا جای ممکن افقی باشد.
- مکان قرارگیری ترازو در معرض نور مستقیم خورشید نباشد.
- تغییرات درجه حرارت در این مکان گسترده نباشد.
- در جهت جریان شدید هوا قرار نگیرد.

• تراز کردن ترازو

بعد از هر جابه جایی بایستی ترازو را تراز کرد. صفحه ترازو دو دایره است که در مورد ترازوی حساس در جلو و در مورد ترازوی غیر حساس در عقب ترازو قرار دارد در حالت بالانس دایره کوچک باید در وسط دایره بزرگتر قرار گیرد که این عمل توسط پیچ های بالانس صورت می گیرد.

• طرز جابه جا کردن ترازو

دو دست خود را در جلو و عقب ترازو جای دهید و آن را جابه جا کنید (یعنی از سمت عقب و سمت کلید Re Zero)

جابه جایی نباید از دو پهلوی ترازو صورت گیرد.

- نظافت ترازو

بعد از هر توزین بایستی صفحه توزین ترازو پاک شود و حتی الامکان اطمینان داشت که بین کفه ترازو و کفه نگهدارنده ترازو ماده ای ریخته نشده باشد، زیرا وجود هر نوع جسم خارجی سیار کوچک منجر به خطای ترازو در خواندن وزن میگردد. استفاده از حلال های الکلی نظیر اتانول برای تمیز کردن ترازو توصیه نمیشود، برای پاک کردن ترازو از آب و شوینده ها استفاده کنید.

- طرز کالیبره کردن ترازو

قبل از استفاده از ترازو برای اولین بار یا هر چند مدت یکبار ترازو بایستی کالیبره شود.

۱- کلید Control bar تا صفحه نمایش روشن شود، با ادامه فشار نشانه -Cal- ظاهر می شود.

۲- برای کالیبره کردن وزنه ۱۰۰۰gr نیاز است وزنه را روی ترازو قرار دهید. وزن وزنه روی صفحه نمایش ظاهر می شود.

۳- فوراً وزنه را بردارید، بعد از برداشتن وزنه (... ) ظاهر میشود.

۴- زمانی که صفر روی صفحه نمایش مشخص شود، ترازو کالیبره شده است.

- خاموش کردن دستگاه

برای خاموش کردن ترازو کلید on/off را کمی به سمت بالا بیاورید، بعد از این عمل ترازو روی Stand by قرار می گیرد.

### «نکات ایمنی کار با اتوکلاو»

اتوکلاو دستگاهی است که با استفاده از بخار آب تحت فشار عمل استریلیزاسیون را انجام می دهد. در هنگام کار با این دستگاه به نکات زیر توجه نمایید:

- بهتر است جهت جلوگیری از تشکیل رسوب در دستگاه اتوکلاو از آب مقطر استفاده نمایید.
- سطح آب درون دستگاه نباید از انتهای پائین دیگ بالاتر رود.
- پیچ های درب را باید کاملاً محکم بست. برای این منظور باید پیچ های روبروی هم بسته شود تا درب دستگاه به طور یکنواخت محکم شده و بخار آب از آن خارج نشود.
- استفاده از دماهای بیشتر از میزان لازم و مدت زمانی طولانی تر تفاوتی در نتیجه حاصل ندارد. بهتر است از دما و زمانی که مطابق دستورالعمل لازم است پیروی گردد. به طور معمول برای استریلیزاسیون محلول ها و تیپ ها و ویال های کار با DNA ۲۰ دقیقه دمای ۱۲۱ درجه کافی است. برای وسایل و مواد کار با RNA ۴۵ دقیقه دمای ۱۲۱ درجه و در صورت اطمینان بیشتر تکرار این برنامه کافی می باشد.
- ظروف دارای محلول را نباید پر کرد و حداقل  $\frac{1}{3}$  ظرف باید خالی باشد.

- درب ظروف، مخصوصا آنهایی که حاوی محلول هستند را کاملا ببندید، بلکه مقدار آن را شل نموده تا بخار آب ایجاد شده از آن خارج گردد.
- پس از اتمام زمان لازم برای استریل کردن نمونه ها، جهت باز کردن درب اتوکلاو به صورت زیر عمل کنید:  
منبع حرارت را خاموش کنید و دریچه خروج بخار را باز نمایید(دریچه خروج بخار را آهسته باز کنید مخصوصا اگر محلول داخل اتوکلاو دارید این عمل خیلی به آهستگی باید انجام گیرد)تا فشار داخل دستگاه به صفر برسد و پس از آن درب دستگاه را باز نمایید.



دستگاه اتوکلاو

#### «نکات ایمنی کار با دستگاه آون»

- آون یا فور دستگاهی است که به کمک آن میتوان درجه حرارتهای مختلف،مخصوصا دماهای بالا جهت ضدعفونی کردن وسائل آزمایشگاهی ایجاد نمود:
- از ریختن هر نوع مایعات داخل دستگاه خودداری نمایید و در صورتی که این اتفاق افتاد، بلافاصله دستگاه را از برق کشیده و با پارچه نخی مرطوب سینی ها و جداره ها را پاک نمایید.
  - هنگامی که دستگاه روشن است از حرکت دادن آن خودداری نمایید.
  - دستگاه بر روی سطح صاف قرار گیرد.

- حتما توجه داشته باشید که در هنگام کار با دستگاه درب آن بسته باشد.
- بهتر است پس از ضد عفونی کردن وسایل آزمایشگاهی مدتی صبر نمایید تا دمای وسایل کاهش یابد. در صورتی که میخواهید وسایلی که هنوز داغ هستند، از آن خارج نمایید، حتما از دستکش محافظ استفاده نمایید و هنگام انتقال وسایل آنها را در یک سینی گذاشته و جابه جا نمایید.
- برای ضد عفونی کردن وسایل حتما به حجم مفید دستگاه توجه نموده و از قرار دادن وسایل بیش از ظرفیت دستگاه خودداری کنید. در این وضعیت ممکن است وسایل کاملا استریل نگردند.
- پس از تنظیم درجه حرارت دستگاه جهت اطمینان از عدم تغییر درجه تنظیم شده، درجه تنظیم حرارت را با پیچ مخصوص آن قفل نمایید.

### «نکات ایمنی و نحوه کار با آون هیبریداسیون»

آون هیبریداسیون دستگاهی است که همزمان با ایجاد دمای لازم و حرکت دورانی، شرایط را برای واکنش های دورگ سازی مهیا می سازد.

- مکان دستگاه:
- دستگاه باید در مکانی قرار گیرد که در اطراف آن فضای کافی برای کار با آن وجود داشته باشد.
- چون درب دستگاه رو به بالا باز میشود، بالای آن به اندازه ای که درب دستگاه به طرف بالا باز میشود، نباید مانعی قرار گرفته باشد.

دستگاه باید در مکانی صاف قرار گرفته و ترازوی که پشت آن قرار دارد تنظیم گردد.

- نحوه کار با دستگاه:
- غشا و محلولهای مربوط به واکنش دورگ سازی را درون لوله های مخصوص قرار دهید.
- لوله ها را در سبد چرخنده قرار دهید و آن را درون محفظه دستگاه بگذارید.
- پیچ تنظیم سرعت چرخش و دما را در پایین ترین میزان قرار دهید.
- دستگاه را روشن کنید.
- کلید مربوط به دستگاه چرخنده را روشن کرده و میزان چرخش با پیچ کنترل آن را تنظیم کنید.
- دما را به حد نیاز افزایش دهید.
- پیچ تنظیم دمای ایمنی را چند درجه بیشتر از دمایی که موردنظرتان است، برای اطمینان از عدم افزایش دمای بی رویه، تنظیم کنید.

- نکاتی دیگر پیرامون کار با دستگاه آون هیبریداسیون:
- لازم است که درب لوله های مخصوص کاملا محکم شود و از بیرون ریختن مایعات جلوگیری شود. در صورتی که درکاملا محکم نمی شود و مایعات از آن خارج میگردد حتما باید واشر و درصورت لزوم لوله جدیدی مورد استفاده قرارگیرد.
- ۱۰ تا ۱۵ دقیقه پس از قراردادن لوله ها در دمای ۶۰ تا ۶۸ درجه، پس از قطع کردن چرخش دستگاه درب لوله ها را کمی باز نمایید تا بخار آب ایجاد شده از آن خارج شود. سپس دوباره درب آنها را ببندید و درون دستگاه قرار دهید.

-موقع قرار دادن لوله ها در سبد چرخنده حتما باید تقارن حفظ شود. اگر از یک لوله استفاده می کنید آن را در وسط سبد و اگر از دو لوله استفاده می کنید آن ها را روبروی هم قرار دهید.  
-از ریخته شدن محلول در سینی ثابت دستگاه جلوگیری نمایید. در صورت آلوده شدن دستگاه با مایعات، پس از خاموش کردن دستگاه آن را با پارچه نرم که سایش ایجاد نکند تمیز نمایید.

### «الکتروفورز»

تعریف: به حرکت یون های کوچک و مولکول های باردار در محلول که تحت تأثیر میدان الکتریکی انجام می گیرد، الکتروفورز گفته می شود. میزان حرکت ذرات بستگی به اندازه و شکل و مقدار بار مولکول، جریان الکتریکی و مقاومت محیط دارد.  
الکتروفورز پروتئین ها

- محیط های زمینه برای الکتروفورز پروتئین ها
  - ۱- کاغذ استات سلولز و موادی که به صورت لایه های نازک استفاده می شوند که جداسازی بر اساس بار الکتریکی است.
  - ۲- ژل های آگارز، نشاسته و پلی اکریلامید که جداسازی بر اساس اندازه مولکول و بار الکتریکی است.
- ژل آگارز
  - ۱- قطر منافذ ژل زیاد است.
  - ۲- جداسازی بر اساس بار الکتریکی است.
  - ۳- مولکول های بزرگ تر مانند اسید های نوکلئیک و نوکلئوپروتئین ها را هم تفکیک می کند.
- ژل نشاسته
  - ۱- قطر منافذ ژل کم است.
  - ۲- جداسازی بر اساس اندازه مولکولی است.
  - ۳- کیفیت نشاسته بسیار مهم است و باید خالص باشد.
- ژل پلی اکریلامید
  - ۱- قطر منافذ ژل مشابه اندازه پروتئین ها است.
  - ۲- از نظر شیمیایی خنثی است.
  - ۳- شفاف و بیرنگ است.
  - ۴- جداسازی بر اساس اندازه مولکول انجام می گیرد.
  - ۵- پلی مری از مونومرهای اکریلامید است که توسط  $N^1-N$  متیلن بیس اکریلامید به هم اتصال متقاطع دارند.
  - ۶- قطر منافذ، نرمی و شفافیت ژل بستگی به غلظت بیس اکریلامید دارد.
  - ۷- آمونیوم پرسولفات (APS) عامل پلی مریز کننده بود و TEMED تسریع کننده (کاتالیزور) است.
  - ۸- ریبوفلاوین پلیمریزه کننده و TEMED تسریع کننده (کاتالیزور) است.

### انواع دستگاه های الکتروفورز

۱- ژل لوله ای tube gel

۲- ژل صفحه ای Slab gel با قطر ۰/۷۵-۱/۵ میلی متر

ژل صفحه ای نسبت به لوله ای ارجحیت دارد چون در ژل صفحه ای تمام نمونه ها و مارکر ها در شرایط یکسانی تفکیک می شوند و حرارت ایجاد شده در تمام سطح ژل پراکنده شده و تغییر شکل بند ها کمتر است. به علاوه زمان کمتری برای تهیه آن لازم است.

#### موارد مورد استفاده:

۱- اکریلامید و بیس اکریلامید: نوروکسین قوی هستند. هنگام کار با آن ها حتما باید دستکش و ماسک استفاده کرد. هرچند که پس از پلی مریزه شدن بی خطر هستند اما هیچگاه ژل را با دست بدون دستکش نگیرید چون احتمال اینکه مونومر های پلی مریزه نشده هنوز در ژل باشند وجود دارد. محلول ذخیره در ۲ درجه سانتی گراد بمدت ۲-۱ ماه پایدار است (در تاریکی). در مدت طولانی تر مونومر های اکریلامید، اسید اکریلیک و آمونیوم آزادی می کنند.

۲- SDS: نوروکسین قوی است. هنگام کار باید از دستکش و ماسک استفاده کرد. محلول آن در یخچال بلوری است اما در دمای اتاق مجددا مایع می شود.

۳- اوره: محلول آن باید تازه تهیه شود چون با گذشت زمان مشتقات خاصی تولید میشود که بر بار الکتریکی پروتئین ها مؤثر است.

۴- TEMED: در ۴ درجه سانتی گراد و تاریکی نگه داری می شود.

۵- آمونیوم پرسولفات (APS): چون بلافاصله پس از افزودن آب به پودر آن رادیکال های آزاد تولید میشود باید محلول تازه تهیه شده آن استفاده شود. در مورد ژل های *cominuous and native* برای خروج رادیکال های اضافی از ژل و جلوگیری از اثر آنها بر پروتئین چند دقیقه ژل پیش از بردن نمونه باید چند دقیقه به دستگاه مولد برق وصل شود..

#### • نکات مهم در برقراری اتصال به منبع تولید جریان

- حباب هوای زیر ژل باید خارج شود چون مانع برقراری جریان بین ژل و بافر میشود.
- برای SDS-PAGE و پروتئین های با ابر منفی آند (+) به مخزن پایین و کاتد (-) به مخزن بالا وصل میشود. برای پروتئین ها با بار مثبت برعکس.
- در حین کار میتوان از ولتاژ ثابت و یا شدت جریان ثابت استفاده کرد اما ولتاژ ثابت توصیه میشود.
- مولد جریان را پس از اتصال ژل به دستگاه روشن کرده و ولتاژ یا جریان را از صفر افزایش دهید. هیچگاه ژل را به مولد روشن وصل نکنید.
- معمولا ولتاژ در ژل **Stacking** کمتر و در ژل **resolving** زیاد میشود  
توجه کنید:  
افزایش ولتاژ --> افزایش جریان --> افزایش حرارت  
افزایش جریان --> افزایش سرعت حرکت --> کاهش زمان الکتروفورز --> کاهش تفکیک بندها  
کاهش جریان --> کاهش سرعت حرکت --> افزایش زمان الکتروفورز --> افزایش تفکیک بندها
- وقتی جریان زیاد باشد حرارت نیز افزایش می یابد. در این حالت دمای وسط ژل بیشتر از کناره ها بوده و بند ها به شکل نیم دایره دیده میشوند. به علاوه پروتئین های حساس نیز غیر فعال میشوند. راه حل مشکل:
- کاهش قدرت یونی بافر (افزایش غلظت بافر)
- نازک بودن ژل (۰/۵ تا ۱ میلی متر)



- افزایش زمان الکتروفورز
- اگر بلایید با جریان زیاد کار کرد بهتر است از دستگاه خنک کننده استفاده کرد.
- در مورد پروتئین های native ژل در 2-0 درجه سانتی گراد رانده میشود.

### الکتروفورز مولکول DNA

- تعریف: در محیطی با PH خنثی به حرکت مولکول DNA با بار منفی (به علت فسفات) از کاتد(-) به سمت آند(+)) گفته میشود.
- محیط های انجام الکتروفورز: الکتروفورز DNA به طور عمده یا افقی و در ژل های پلی اکریلامید، آگارز و یا پلی اکریلامید-آگارز انجام میگردد.
- ژل پلی اکریلامید عمودی بوده و برای جدا کردن قطعات ۶ (ژل ۲۰٪) تا ۱۰۰۰ (ژل ۳۰٪) جفت بازی به کار میرود.
- ژل آگارز افقی بوده و برای جدا کردن قطعات ۷۰ (ژل ۳٪) تا ۸۰۰۰۰۰ (ژل ۱٪) جفت بازی به کار میرود.
- بافرها: معمولاً از بافر بورات (TBE) استفاده میشوند بافر های استات یا فسفات هم به کار میروند.
- جهت denature کردن DNA از بافر های حاوی اوره، NaOH، فورماماید یا متیل مرکوریک هیدروکساید استفاده میشود اما:
- فورماماید در ژل آگارز به کار نمیروند و به جاتی آن از NaOH استفاده میشود.
- متیل مرکوریک هیدروکساید مانع پلی مریزه شدن پلی اکریلامید میشود.
- اوره بر بستن آگارز اثر دارد.
- NaOH باعث دآمین شدن پلی اکریلامید میشود.
- قطر: مناسب ژل آگارز ۳ میلی متر و پلی اکریلامید ۱ میلی متر است.
- پلی اکریلامید رقیق شکننده است و میتوان برای استحکام به آن مقداری آگارز اضافه کرد.
- بردن نمونه در ژل: مقدار نمونه بستگی دارد به:
- اندازه چاهک
- اندازه قطعه، هرچه قطعه DNA بزرگتر باشد مقدار کمتری باید برد.
- پراکندگی اندازه قطعات DNA هرچه پراکندگی کمتری داشته باشند باید مقدار بیشتری برد.
- ولتاژ بالا که موجب تمایز کتری در قطعات میشود و باید مقدار DNA کمتری برد.

### • شرایط الکتروفورز DNA:

- معمولاً در دمای آزمایشگاه انجام میگردد
- هرچه ولتاژ بالاتر باشد حرارت ایجاد شد و در نتیجه کشیدگی در بندها بیشتر خواهد بود.
- با افزایش غلظت بافر شدن جریان کاهش میابد و گرمایی تولید شده کم میشود
- قطعات بزرگ با کاهش ولتاژ و افزایش زمان بهتر تفکیک میشوند.
- قطعات کوچک با ولتاژ بالا و زمان کوتاه بهتر تفکیک میشوند.
- معمولاً ولتاژ به کار رفته ۱-۱۰ ولت به ازای هر سانتی متر از طول ژل میباشد.
- عموماً بندها در ژل های غلیظ تر بهتر تفکیک میشوند اما باید زمان را افزایش داد.
- همواره باید تعادلی بین غلظت طول ژل زمان و ولتاژ برقرار میشود.

- هنگام رنگ آمیزی ژل مراقب ایتدیم برومایدباشید زیرا موثاژن بسیار قوی است .
- نورماناید در ژل های denaiming رسمی و خطرناک است و باید مراقب بود.

## الکتروفورز RNA

- تعریف : حرکت مولکول RNA که دارای بار منفی است به سمت آند.
- در مورد عوامل مؤثر در الکتروفورز RNA به بخش الکتروفورز DNA مراجعه شود.
- علاوه بر موارد ذکر شده در بخش الکتروفورز DNA توجه به نکات زیر در مورد الکتروفورز RNA ضروری است:
  - مولکول RNA دارای ساختارهای ثانویه است از جمله بخشهای سنجاق سری و نواحی مکمل در تک رشته که دورشته هارامی سازند (t RNA) این عوامل بر حرکت RNA بر روی ژل اثر می گذارند.
  - به دلیل وجود ساختارهای ثانویه RNA راپیش از بردن در ژل denature میکنند تا تخمین وزن مولکولی آن صحیح تر باشد.
  - عوامل denature کننده که استفاده می شوند عبارتند از:
    - فورماماید که بسیار رسمی و خطرناک است .
    - اوره
    - متیل مرکوریک هیدروکساید که فقط در ژل آگارز استفاده شده و بسیار رسمی و فرار است.

## «نکات ایمنی کار با منبع تغذیه والکتروفورز»

- منبع تغذیه رادرووی یک سطح صاف و در ارتفاع مناسب قرار دهید و در اطراف دستگاه فاصله کافی در نظر گرفته شود تا هوا در گردش بوده و تبادل حرارتی به آسانی صورت پذیرد
- برای تمیز کردن سطوح خارجی دستگاه هیچگاه از دستمال زبر یا مواد اسیدی یا قلیایی و یا حلال هایی که باعث از بین رفتن رنگ دستگاه می گردد استفاده نشود.
- دقت گردد که آب بر روی دستگاه نریخته و یا دستگاه داخل آب قرار نگیرد. همیشه قبل از تمیز کردن دستگاه، دوشاخ آن از پریز برق خارج گردد.
- قبل از انجام الکتروفورز دقت گردد که قطبها مثبت و منفی به تانک صحیح متصل شده باشد. سطح با فدر داخل تانک به اندازه کافی باشد و جهت صفحه نمونه صحیح قرار گرفته باشد.
- منبع تغذیه دارای ولتاژ بالا بوده که می تواند بسیار خطرناک باشد، همیشه به هنگام تمیز کردن دستگاه دقت شود که دوشاخ از پریز برق کشیده شده باشد. هرگز در هنگام باز بودن قلب دستگاه از آن استفاده نگردهد.
- برای خاموش کردن اضطراری دستگاه دوشاخه را از پریز برق مورد نظر دارای سیم حفاظتی زمین باشد.
- سیم های رابط نامک و پاور سوپلای را حداقل هر یک ماه یک بار کنترل نمائید. چنانچه به دلایلی (خشک شدن و ترک خوردن در اثر نور آفتاب) روکش عایق آنها صدمه دیده باد باید این سیمها تعویض گردند.

## دستور العمل کار با منبع تغذیه جهت الکتروفورز

- ولوم های دستگاه را کاملاً به طرف چپ پیچانده و آنها را در حالت Min قرار دهید.

- توسط کلید POWER دستگاه را روشن نمائید. در این حالت باید نمایشگر ولتاژ مقدار مصرف و نمایشگر جریان هم مقدار صفر را نشان دهد. چنانچه حالتی به غیر از موارد فوق مشاهده گردید، به قسمت عیب یابی رجوع نائید.
- تانگ الکترو فورزر برای انجام آزمایش آماده نمائید و نمونه ها را بار گذاری کنید.
- بعد از تمام شدن آزمایش ولومهای دستگاه را کاملاً به سمت چپ بچرخانید تا ولتاژ جریان مقدار حداقل خود (حدود صفر) برسند.
- در آخرین مرحله، توسط کلید POWER دستگاه را خاموش نمائید و فیشها را ترمینالهای پاور سوپلای خارج نمائید.

اشکال	دلیل احتمالی	رفع عیب
۱- بعد از روشن کردن دستگاه نمایشگرهای ولتاژ و جریان روشن نمی شوند.	دوشاخه دستگاه به پریز برق متصل نشده است.	دوشاخه را به پریز برق متصل نمائید.
باروشن کردن دستگاه نمایشگرهای ولتاژ و جریان روشن می شوند ولی ولتاژ خروجی با چرخاندن ولومها بالا نمیرود و نمایشگر ولتاژ همواره عدد صفر را نشان می دهد.	۱- فیوز خروجی سوخته است.	آزمایشگاه با مسئول فنی جهت تعویض فیوز خروجی هماهنگی نمائید.
۳- نمایشگر جریان حتی پس از وصل تانک به دستگاه همچنان صفر نشان می دهد.	۱- سیم های ارتباطی بین تانک و دستگاه وصل نیستند یا اشکال دارند. ۲- ارتباط بین بافر و نمونه های آزمایش قطع شده است (سطح بافر کم است)	۱- سیم های ارتباطی را کنترل کنید. ۲- سطح بافر در تانک کنترل کنید.

### «سانتریفوژ»

سانتریفوژها بر اساس ویژگی های گوناگونی از جمله وزن مولکولی، ساختار فضایی و دانسیته ی مولکولی و بر مبنای نیروی گریز از مرکز جداسازی بیومولکول ها را میسر می سازند. در ذیل به برخی از آنها پرداخته میشود.

#### Beckman XL-90 ultracentrifuge

این تکنیک برای اولین بار اندازه گیری وزن مولکولی بیومولکولی ها را میسر ساخت. در حال حاضر از این دستگاه برای جداسازی و تخلیص ماکرومولکول ها، آنالیز مخلوط ها و برای اندازه گیری وزن مولکول و قطر مولکول ها استفاده میشود. یک بخش اصلی این دستگاه **control panel** میباشد در این قسمت دکمه هایی جهت انتخاب سرعت، زمان، درجه ی حرارت و نوع روتور وجود دارد. کلید های فعالسازی **Printer, vacuum, start** و **stop** نیز در این بخش هستند. دکمه هایی هم برای وارد کردن اطلاعات عددی وجود دارد. اتاقکی که روتور در آن قرار میگیرد **rotor chamber** نام دارد که درب آن از جنس استیل بسیار محکم ساخته شده است. درب تنها در حالتی باز میشود که دکمه اصلی دستگاه روشن و خلاء سیستم خاموش باشد. این محفظه از جنس آلومینیوم است که به وسیله ی یک پوشش مقاوم از جنس اپوکسی پوشیده شده است.

#### نامگذاری روتورها

نام گذاری بر اساس نوع موتور، ماکزیمم سرعت مجاز آن و جنس مواد سازنده آن میباشد. روتورها به چهار نوع **swing out (sw)** , **fixed angle (vertical type)** , **near vertical (nv)** تقسیم میشوند.

برای مثال روتور **type65** یعنی روتور از نوع زاویه ثابت با ماکزیمم سرعت مجاز ۶۵۰۰۰ است. روتورهای **type** دارای زاویه ثابت ۳۰-۲۰ درجه نسبت به محور دوران هستند. روتورهای **sw** در حین حرکت کاملاً افقی قرار میگیرند و در روتورهای **V** لوله ها به موازات محور دوران هستند. جنس روتورهای **Beckman** از نوع آلومینوم و یا تیتانیوم است. اگر تیتانیوم باشد **Ti** یا **Ti** در نام روتور می آید برای مثال **sw55Ti**.

### انتخاب روتور

انتخاب روتور بسته به حجم نمونه ، تعداد نمونه هایی که قرار است سانتریفوژ شوند، سایز ذرات ، زمان سانتریفوژ مورد نظر، کیفیت تکنیک ، روش جداسازی و دستگاهی که در دسترس باشد، می باشد. عموماً روتورهای **swinging** برای جداسازی بر اساس چگالی استفاده میشود که در آنها به ماده ی زمینه با شیبی از چگالی های مختلف در لوله ریخته میشود. نمونه مورد نظر بر روی شیب قرار داده و سانتریفوژ آغاز میگردد. وقتی هر ماده به ماده ی هم چگالی خودش رسید در آن لحظه سرعت حرکت ذره صفر شده و همان جا متوقف می شود.

### انواع لوله های سانتریفوژ

الف) **Polyallomer**: کوپلمیری از اتیلن و پروپیلن است. این لوله ها هرگز نمی بایستی در زیر ۲ درجه سانتی گراد سانتریفوژ گردند. لوله های پلی آلومر چند نوع هستند:

الف) **thinwail open-top**: حتماً میبایستی این لوله ها با درپوش استفاده گردند و می بایستی از محلول پر باشند. (۳-۲ میلی متر فاصله از لبه)

ب) **quick - scal**: این لوله ها در تمام انواع روتور ها قابل استفاده هستند. بالای این لوله ها با حرارت قابل **scal** میباشند. کاربرد این لوله ها عمدتاً برای مواقعی است که نمونه ها آلودگی به مواد رادیواکتیو، مواد شیمیایی خطرناک و یا به عوامل پاتوژن دارند.

ج) **konical**: این لوله ها با اداپتورهای **Konical** قابل استفاده هستند که به منظور بهبود رسوب دهی از این نوع لوله ها استفاده میگردد.

ب) **ultra-clear**: این لوله ها دارای دیواره های بسیار نازک و شفاف هستند که دو نوع **open-top** و **quick-scal** از آن موجود است. به لحاظ شفافیت زیاد دیواره این لوله ها، محل باند ها به خوبی قابل رؤیت هستند. غیر قابل اتوکلاو هستند و هرگز برای محلول های **ph>8** توصیه نمیشوند. این لوله ها در محدوده دمایی ۲۰-۴ درجه سانتی گراد مناسب کار هستند.

ج) **polycarbonate**: لوله هایی بسیار محکم، خشک، غیر قابل انعطاف و قابل اتوکلاو هستند که البته اتوکلاو عمر آنها را کم میکند. این لوله ها به **Ph>9** حساس هستند.

د) **stainless steel**: مقاوم به حلال های آلی و حرارت هستند. به سانتریفوژ در دمای بالا، فشار زیاد و زمان سانتریفوژ بالا مقاوم میباشند.

ه) **polypropylene**: از نظر ظاهر کمی کدر هستند و قابل استفاده مجدد می باشند مگر اینکه در حین سانتریفوژ تغییر شکل یافته باشند.

ی) **pyrex**: قابل استفاده مجدد هستند مگر اینکه علائمی از خراشیدگی در آنها مشاهده شود. به طیف وسیعی از مواد و محلول ها مقاوم هستند.

### نکاتی در رابطه با دستگاه اولتراسانتریفوژ:

- ۱- بسته به هدف آزمایش، نوع روتور را (اعم از **swing out , fixed angle , vertical**) مناسب انتخاب نمایید.
- ۲- بهترین راه تفکیک بیومولکول ها از هم (پروئین ، **RNA ، DNA**) به لحاظ تفاوت چگالی قابل توجهی که از هم دارند، استفاده از گرادینت سزیم کلراید می باشد.
- ۳- دستگاه اولتراسانتریفوژ در طیف حرارتی صفر تا چهل درجه ی سانتیگراد قابل استفاده است. در صورتی که در برنامه دما داده نشود ، **default** دمایی آن ۲۵ درجه ی سانتیگراد است.
- ۴- **Accel and deccl time** : زمان مورد نظر برای بالا رفتن و پایین آمدن سرعت را تعیین میکند. اعداد ۹-۱ را میتوان انتخاب کرد که ۶-۲ دقیقه زمان رسیدن به سرعت مورد نظر و زمان کاهش آن در پایان سانتریفوژ می باشد.
- ۵- برای توقف هر برنامه اولترا، به هر دلیلی، دکمه **stop** را باید فشار دهید.
- ۶- اینکه **Run** چگونه به اتمام برسد بسته به نوع **mode** زمانی است که انتخاب شده است. اگر مد **time** انتخاب شده باشد گه راس زمان مقرر سرعت شروع به کاهش میکند ولی در مد **hold** کاربر خودش باید دکمه **stop** را فشار دهد ، چون زمان نامتناهی است.
- ۷- در هنگام **precool** و **preheat** خلاء دستگاه شروع به کار میکند و درب دستگاه قفل میشود.
- ۸- اگر از شیب سزیم کلراید و یا سوکروز استفاده میکنید برای تهیه لوله بالانس نیز بایستی از ماده -ای با همان حدود چگالی استفاده گردد.
- ۹- ترجیحا در هنگام کار با اولتراسانتریفوژ چون می بایستی لوله ها کاملا پر باشند اگر حجم نمونه محدود است چند راه حل زیر پیشنهاد می شود:  
الف) انتقال به لوله های کوچکتر و تغییر روتور  
ب) استفاده از ادابتور  
ج) استفاده از **mineral oil** یا هر نوع ماده خنثی دیگر با چگالی کم در سطح نمونه.
- ۱۰- روتورهای دستگاه **bechman** نیاز به نظافت منظم دارند. جهت شستشو از دترجنت های ضعیف، ترجیحا محلول ۵۵۵ که همراه دستگاه می باشد استفاده گردد. **o-ring** ها باید در آورده شده و خیلی دقیق شست و شو گردند.
- ۱۱- در صورت مشاهده آلودگی در روتور که به هیچ با هیچ ماده ی شیمیایی قابل تمیز کردن نباشد امکان اتوکلاو هست روتور ولی تا آنجا که ممکن است از این کار اجتناب گردد.
- ۱۲- هر روتور به طور متوسط **1000rpm** (در حدود **2500** ساعت ) در ماکزیمم سرعت مجازش میتواند داشته باشد. بعد از آن بهتر است تا ۹۰٪ سرعت مجازش استفاده گردد.

### نکات ایمنی کار با انواع سانتریفوژ:

- ۱- لوله های مقابل هم به طور دقیق بالانس وزنی شده باشند خصوصا هنگامی که با دستگاه اولتراسانتریفوژ کار میشود در حد میلی گرم نیز بایستی لوله ها بالانس گردند.
- ۲- متقارن قرار دادن لوله ها در روتور بسیار مهم است.

- ۳- پس از هر بار سانتریفوژ، کنترل دستگاه از نظر احتمال آلودگی امری ضروری است.
- ۴- انتخاب سنجیده دستگاه سانتریفوژ و روتور مناسب براساس شرایط کار(از نظر سرعت، زمان، دما و حجم و تعداد نمونه)
- ۵- برای تبدیل **g** به **rpm** در صورت عدم دسترسی به شعاع دقیقتر روتور ، به مسؤول دستگاه جهت اندازه گیری شعاع میانگین (**Rav**) مراجعه فرمایید .
- ۶- بسته به نوع حلالی که استفاده می شود و دور سانتریفوژ مورد نظر، توجه به جنس لوله ضروری است.
- ۷- در صورت شنیدن صدای نامتعارف از دستگاه ، سریعاً سرعت را به صفر رسانده و به بالانس وزنی لوله ها توجه فرمایید.
- ۸- در ابتدای **setting** یک دستگاه سانتریفوژ، تراز دستگاه بایستی به طور دقیق انجام شود و فاصله از دیوار مجاور نیز بسیار حائز اهمیت است.
- ۹- در هنگام روشن بودن سانتریفوژهای یخچال دار، چون کمپرسور در حال کار می باشد، درب دستگاه حتما بسته باشد.
- ۱۰- در دستگاه هایی که **accel** و **decal** قابل تنظیم نیستند، کاربر میبایستی به آرامی سرعت را بالا ببرد.
- ۱۱- تا زمانی که سانتریوژ به **rpm** مورد نظر نرسیده است، کنار سانتریفوژ بمانید و در صورت ایجاد صدای غیر عادی یا هرگونه اشکال دیگر در دستگاه فوراً دکمه ی **Stop** را فشار دهید.
- ۱۲- سانتریفوژ نباید در یک محیط دارای خطر یا قابل اشتعال کار کند.
- ۱۳- لطفاً هرگز دستگاه های سانتریفوژ رومیزی را از محل خود تکان ندهید.
- ۱۴- اگر به خاطر قطع شدن برق و یا هرگونه اشکال دیگر، درب ..... سانتریفوژ قفل شده و نمونه ها در داخل سانتریفوژ جا مانده باشند، باید قفل آن به طور مکانیکی باز شود که برای این منظور با مسؤول دستگاه تماس بگیرید.
- ۱۵- اگر مایع وارد روتور با **bucket** اولتراسانتریفوژ می شود، آن را فوراً خارج کنید. برای این کار فقط عوامل تمییزکننده خنثی و **disinfectant**ها (مثال اتانول ۷۰ درصد،.....) باید استفاده شود.
- پس از تمییز کردن ، آن را با آب مقطر شسته و کاملاً خشک کنید. به طور خاص مایعات قلیایی و محلول های غلیظ سالیین، اجسام **aluminum anodized** را مورد حمله قرار میدهند و نباید برای این سانتریفوژ استفاده شوند.
- ۱۶- در صورت و یا شکستن لوله ها در سانتریفوژ مسؤول دستگاه را آگاه سازید.
- ۱۷- برای تبدیل **rpm** و **g** سانتریفوژ به یکدیگر از فرمول زیر استفاده کنید.

$$g = RCF = 1.12r \text{ (RPM/1000)} \dots\dots$$

- ۱۸- اگر ماکزیمم توانایی دستگاه شما کمتر از **rpm** مورد نظرتان است می توان با استفاده از فرمول زیر زمان سانتریفوژ را افزایش داد.

۱۹- دستگاه های سانتریفوژی که با خلاء کار می کنند. اگر خلاء به طور مناسب افزایش نمی یابد به چند نکته باید توجه گردد:

الف) توجه به **o-ring** های درب دستگاه از لحاظ سلامت و تمیزی.

ب) چک کردن فضای محفظه روتور از نظر رطوبت اضافی.



ج) توجه به **o-ring** های درب روتور اگر هیچ یک از موارد فوق مشکلی نداشته باشد، جهت کنترل روغن پمپ خلاء به مسؤول دستگاه مراجعه نمایید.

## PCR

با ابداع تکنیک **PCR** توسط **Mullis** (برخی از محققین **saiki** را مبدع این تکنیک میدانند. تحولات شگرفی در تحقیقات زیست شناسی مولکولی صورت گرفت. اولین واکنش های **pcr** توسط **klenow fragment** آنزیم **DNA** پلی مرز باکتری **Ecoli** انجام می شد که با توجه به غیر مقاوم بودن آن به حرارت، در هر سیکل پس از هر دناتوراسیون، افزودن آنزیم ضروری بود. البته این آنزیم حداکثر بازده را برای قطعات تا ۲۰۰ جفت باز دارد ولی برای قطعات بزرگتر چندان مناسب کار نمیکند.

### ۱- نکات مهم پیشرفت در تکنیک PCR

- کشف آنزیم های مقاوم به حرارت نظر **Taq DNA polymerase** و جداسازی آنها از ارگانسیم های ساکن آب های گرم
- اختراع دستگاه ترموسایکلر قابل برنامه ریزی خصوصا دستگاه های چند بلاکه که توان انجام چندین برنامه را با هم دارند.
- استفاده از پلیت های ۹۶ خانه ای به جای ویال **PCR**
- تغییر در سیستم های سرد کننده و گرم کننده و کاهش زمان **RAMP**
- کاربرد های تکنیک **PCR** در عرصه های مختلف بیولوژی، بیوتکنولوژی، مهندسی ژنتیک، جرم شناسی، تشخیص سریع عوامل بیماری های عفونی، تشخیص قبل از تولد امراض ژنتیکی، تجزیه و تحلیل مولکولی نمونه های تاریخی، تعیین جنسیت جنین، تشخیص جهش، سرطان ها و... می باشد.
- امروزه ابداع روش های **Nested – PCR, RACE-PCR, ARMs – PCR, RT-PCR, multiplex PCR, Assymetric-PCR, Competitive PCR** قابلیت و کاربرد های این تکنیک را بسیار گسترش داده است.

### ۳- نکاتی در رابطه با نهمیه واکنش PCR

- ✓ نگهداشتن ویال بر روی یخ در طول زمان افزودن اجزا واکنش و مخلوط کردن آنها
- ✓ تهیه واکنش در زیر جریان هوای یک هود لامینار استریل (در مواردی که در محل آزمایشگاه از نوع **DNA** الگوی مورد نظر کار ما زیاد استفاده می شود.
- ✓ در ترتیب افزودن مواد واکنش توجه به چند نکته ضروری است:
  - بهتر است ابتدا واکنش در ویال ریخته شود.
  - ترجیحا پس از افزودن هر یک از مواد واکنش با آب **resuspend** گردد.
  - به حداقل رساندن شانس اتصال پرایمر به **DNA** (ترجیحا **DNA** الگو آخرین افزودنی قبل از آنزیم باشد)
  - افزودن آنزیم پلیمرز به عنوان آخرین ماده واکنش
  - (در صورت امکان) افزودن آنزیم پس از اولین مرحله دناتوراسیون

### ۴- طراحی یک واکنش اولیه PCR

First den.	94°C	Optional
Den.	94°C	30-60 sec

anncal	54°C	30-60 sec
Ext.	72°C	30-90 sec
Last ext.	72°C	optimal

#### «نکات ضروری در هنگام کار با انکوباتورها»

- ۱- انکوباتورها تا حد امکان باید در نزدیکی هودهای کشت سلولی یا هودهای میکروبی قرار داده شوند.
- ۲- انکوباتور را در سطحی مطمئن قرار دهید.
- ۳- انکوباتور را بر روی سطحی صاف و در حالت تعادل قرار دهید.
- ۴- از قرار دادن انکوباتور در جای مرطوب و خیلی گرم که محل مناسبی برای رشد باکتریها است خودداری کنید. دمای محیط بین ۵ تا ۲۰ درجه سانتی گراد بوده و حداکثر رطوبت ۸۰ درصد در دمای ۳۱ درجه سانتیگراد و یا ۵۰ درصد در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد باشد.
- ۵- انکوباتور را در نزدیک درهای اصلی یا جریانات هوایی و هواکش ها قرار ندهید.
- ۶- در صورت امکان انکوباتور کشت سلولی در اتاق کشت و انکوباتور میکروبی در محل مناسب خود قرار گیرد.
- ۷- بعد از مشخص کردن مکان انکوباتور باید تمام محل های اتصال گاز و آب را در دستگاه که موجب شوک و صدمه به می گردد را کنترل کنید.
- ۸- هنگامی که سیلندر متصل می باشد، از کار کردن با سیفون سیلندر خودداری کنید.
- ۹- بعد از وصل کردن تنظیم کننده سیلندر گاز CO<sub>2</sub>، فشار گاز در مانومتر اولیه (طرف سیلندر گاز) باید در حدود ۲۵۰ Kg/cm<sup>2</sup> یا ۲۴/۵ MPaG و در طرف دیگر ۱۹۶ kPaG یا ۲ kg/cm<sup>2</sup> باشد.
- ۱۰- هنگامی که درجه حرارت انکوباتور بر روی ۳۷ تنظیم می باشد درجه حرارت محیطی نباید از ۳۲ درجه بیشتر باشد.
- ۱۱- از گذاشتن مواد فرار یا قابل اشتعال (اتر، بنزن، الکل، پروپان) در انکوباتور خودداری کنید.
- ۱۲- از آب تقطیر شده یا خالص برای پر کردن محفظه آب جهت ایجاد رطوبت استفاده کنید.
- و سطح اب را در محل ذخیره همیشه کنترل شود. استفاده از مقادیر کم سولفات مس و یا سولون برای جلوگیری از رشد قارچ ها و کپک ها در اب داخل انکوباتور مناسب است.
- ۱۳- ظروف کشت سلول یا پلیت های باکتری ها را با فاصله از یکدیگر قرار دهید تا جریان هوا به خوبی صورت گیرد. اگر فاصله این ظروف کم باشد تعدیل دما و گاز CO<sub>2</sub> در بین آن ها به خوبی صورت نمی گیرد.
- ۱۴- همیشه مراقب باشید که درب داخلی انکوباتور خوب بسته شده است.
- ۱۵- قبل از برداشتن فلاسک های کشت سلول یا پلیت ها باکتری ها از دستکش های لاتکس استفاده نموده و حتما دست ها را ضدعفونی نمایید.
- ۱۶- برای تمیز کردن دستگاه از ریختن آب روی آن خودداری کنید.
- ۱۷- هنگامی که می خواهید انکوباتور را تمیز کنید از برس، اسید، بنزن و تینر استفاده نکنید، این عمل باعث از بین رفتن رنگ دستگاه و صدمه به پوشش آن می شود. همچنین قسمت های پلاستیکی ممکن است دچار تغییر شکل گردند. هیچ وقت از مواد شیمیایی فرار مانند بنزن در قسمت های پلاستیکی استفاده نکنید. مواد درجنت بهترین انتخاب برای شستشوی دستگاه می باشند.



- ۱۸- برای تمیز کردن داخل دستگاه از محلول سدیم کلراید یا محلول های هالوژن دار استفاده نکنید که باعث خوردگی دیواره دستگاه می شود.
- ۱۹- از محلول های قلیایی یا اسیدی قوی استفاده نکنید.
- ۲۰- سنسور CO<sub>2</sub> در انکوباتورهای کشت سلولی تحت تاثیر میزان رطوبت بوده و پایین آمدن رطوبت باعث بالا رفتن میزان گاز CO<sub>2</sub> در دستگاه می شود. تمیز نمودن مرتب این سنسور با الکل ۷۰٪ یا ایزوپروپیل الکل ضروری است.
- ۲۱- هنگام استفاده از الکل جهت تمیز نمودن داخل انکوباتور دقت لازم را به عمل بیاورید به ویژه اگر انکوباتور با الکل در درجه حرارت های بالا تمیز شود در این شرایط الکل بخار شده تمام فضای داخل انکوباتور را فرا گرفته و ممکن است خطر انفجار روی دهد بنابراین تمام الکل باقی مانده را به خوبی پاک کنید.
- ۲۲- برای جلوگیری از آلودگی در انکوباتورها، قفسه ها و دیواره دستگاه همواره باید خشک باشد. در اثر باز ماندن دستگاه به مدت طولانی رطوبت موجود در انکوباتور به صورت قطرات آب در آمده و این قطرات روی قفسه و دیواره ها باعث رشد باکتری ها، قارچ ها و مخمرها می شود در این موارد آب موجود را کاملا خشک کنید و محل را به خوبی ضد عفونی نمایید به خصوص اگر مقداری از محیط کشت روی قفسه یا داخل انکوباتور ریخته است. به همین خاطر بیش از اندازه فلاسک های کشت را با محیط پر نکنید زیرا در اثر تکان خوردن این محیط ها داخل انکوباتور ریخته و محل مناسبی را جهت رشد عوامل آلوده کننده به وجود می آورد.
- ۲۳- در صورت دیدن آلودگی در فلاسک های کشت بلافاصله تمام کشت ها را خارج نموده و داخل انکوباتور را به خوبی با الکل ۷۰٪ ضد عفونی نمایید قفسه ها را نیز می توانید در داخل فور قرار داده تا استریل گردند.
- ۲۴- تعویض به موقع ظرف آب داخل دستگاه، در انکوباتورهای کشت سلولی بسیار ضروری است.
- ۲۵- بهترین انواع انکوباتورهای CO<sub>2</sub> آن هایی هستند که محفظه داخلی انکوباتور به قسمت های کوچکتری با درب های جداگانه تقسیم شده اند که در صورت آلودگی در یک قسمت از انتشار آن به سایر قسمت های دیگر جلوگیری شود. همچنین این نوع دستگاه ها دارای سیستم خودکار استریلیزاسیون بوده که در هنگام ضد عفونی و تمیز کردن دستگاه می توان از آن استفاده نمود. همچنین دارای دو ورودی گاز CO<sub>2</sub> از دو سیلندر بوده تا در هنگام تمام شدن یک سر سیلندر از دیگری استفاده کند.

#### «نکات ضروری در هنگام کار با هود»

- هودهای میکروبی و کشت سلول
  - ۱- مطمئن شوید که محیط داخل هود از کار قبلی تمیز شده است. برای اطمینان بیشتر یک بار دیگر به طور کامل داخل هود را با الکل ۷۰٪ با دستمال بدون کرک پاک کنید.
  - ۲- به مدت حداقل ۱۵ دقیقه چراغ UV داخل هود را روشن نمایید. (مرطوب بودن سطح داخل هود با الکل اثر اشعه را بیشتر می نماید. این نکته بسیار دارای اهمیت است که اثر UV در هنگامی که چراغ داخل هود خاموش بوده موثرتر است همچنین در اتاق های کشت در هنگام استفاده از UV محیط باید کاملا تاریک باشد.)

- ۳- بعد از خاموش کردن چراغ UV هود را روشن نموده و ۵ دقیقه صبر نمایید.
- ۴- باید توجه داشت که برای جلوگیری از آلودگی در هود شاید به یک تکنیک بسیار دقیق آسپتیک خوب نیاز است نه کاملا به یک عملکرد معجزه آسای هود.
- ۵- اعتماد به عمل فیلتراسیون هوا در جهت عملکرد موثر هودها کمی قابل تامل است و همیشه درصدی خطا وجود خواهد داشت. بنابراین این هودها هرگز نمی توانند به طور کامل و ۱۰۰٪ موثر بوده ولی می توانند احتمال آلودگی را به میزان بسیار زیادی کاهش دهند، در نتیجه وجود هوای تمیز با تهویه مناسب در اتاق یا آزمایشگاهی که این هودها کار گذاشته شده اند و سایر تمهیداتی نظیر استفاده صحیح، کنترل و تعویض به موقع فیلترها و جلوگیری از انتشار و پخش گرد و غبار در آزمایشگاه از عواملی است که می تواند ضریب اطمینان عملکرد این هودها را بالا برد.
- ۶- جهت رسیدن به حداکثر راندمان کاری و اطمینان مستمر از عملکرد یک هود، کنترل مرتب آن بسته به شرایط استفاده، تعداد استفاده کننده ها لازم و ضروری است.
- ۷- هودهای مذکور باید در محلی ایزوله و جدا از سایر قسمت های آزمایشگاه و جریانات شدید هوایی کار گذاشته شوند (دور از درها و پنجره ها، هواکش ها، خنک کننده ها و همچنین به دور از رفت و آمدهای زیاد کارکنان)
- ۸- برنامه های مدون تمیز نمودن و ضدعفونی کردن هود از موارد بسیار ضروری است.
- ۹- جهت جلوگیری از هر گونه رفت و آمدهای اضافی در هنگام کار، وسایل و مواد مورد احتیاج را قبلا در اتاق کشت و در کنار هود آماده نمایید.
- ۱۰- از جمع نمودن وسایل در زیر هود برای جلوگیری از ایجاد اختلال در جریانات هوایی خودداری کنید.
- ۱۱- تمام وسایلی که لازم است به داخل هود برده شوند باید با الکل ضدعفونی شوند و به خوبی با یک دستمال تمام سطوح وسایل و ظروف با الکل تمیز گردند.
- ۱۲- هرگز از وسایلی که مربوط به به اتاق کشت نمی باشد استفاده نکنید. همچنین وسایل اختصاصی مربوط به اتاق کشت را نیز برای کارهای دیگر به کار نبرید.
- ۱۳- از کار کردن همزمان با نفر دیگر در مواقع غیر لازم خودداری کنید. تعداد عاملین بیشتر نیاز به وسایل بیشتر بوده و باعث ایجاد اختلال در جریان هوایی می شود.
- ۱۴- ناحیه مجاز در زیر هودها ۱۰ سانتی متر پس از منفذها مکش هوا در جلوی هود است.
- ۱۵- از انجام حرکات سریع و ناگهانی دستها در داخل هود خودداری کنید.
- ۱۶- پوشیدن دستکش های لاتکس در هنگام کار ضروری است زیرا می توانید به راحتی این دستکش ها را به علت نداشتن خلل و فرج با الکل ضدعفونی کنید و متعاقبا الکل برای دست ها نیز ضروری به دنبال نخواهد داشت.
- ۱۷- در صورت ریخته شدن مواد و محیط های کشت حتما ناحیه مزبور را بلافاصله با دستمال آغشته به الکل خوب تمیز و پاک کنید.
- ۱۸- پس از اتمام کار تمام فضای داخل و سطوح را با الکل ۷۰٪ تمیز کنید.
- ۱۹- در مواقعی که از هود استفاده نمی کنید حتما درب پایین هود را ببندید. بسته بودن درب اتاق کشت نیز بسیار مهم است.
- ۲۰- جدا نمودن هودها برای فعالیت های مختلف بسیار ضروری است.

۲۱- در مواردی که با سیتوتوکسیک کار می کنید استفاده از عمل تدخین یا دودزایی (Famington) با یکی از مواد ضد عفونی کننده مانند فرمالین مناسب است.

۲۲- روپوش آزمایشگاهی باید از جنسی باشد که از خود فیبرهای کمتری آزاد کند تا وارد هود نشود.

۲۳ - به دلیل استفاده از انواع رده های سلولی در کشت سلول ممکن است میزبان طبیعی یا آلوده به میکروارگانسیم های خطرناک باشند. حتما وسایل مصرفی و زباله های باقی مانده ی محیط یا reagent را بطور جداگانه اتوکلاو نمایی و از انباشته شدن آنها در اتاق کشت خوداری کنید.

### • هود های شیمیایی

- ۱ - در ابتدا برنامه کاری خود را تنظیم نموده و تمام وسایلی که مورد نیاز است در هود قبل از شروع کار قرار دهید .
- ۲ - خوب کار کردن هود بستگی به سرعت جریان هوا در داخل هود دارد و فاکتورهای مختلفی در سرعت هوای قسمت جلوی هود و داخل آن موثر است .
- ۳ - مطمئن باشید که هود در جای مناسب و بدور از جریان های هوا قرار گرفته باشد .
- ۴ - درب جلوی خود را همیشه در پایین ترین سطح خود نگهدارید که در این صورت بهترین محافظت در برابر خارج شدن هوای داخل هود به بیرون است .
- ۵ - تمامی وسایل غیر لازم شیشه های حاوی مواد شیمیایی را از درون هود خارج نموده و در قفسه های تعبیه شده در قسمت پایین هود قرار دهید. نگهداری و ذخیره سازی شیشه ها در زیر هود باعث تجمع بخارات سمی و اختلال در جریان های طبیعی هود می شود . البته ممکن است هودها را فقط برای ذخیره ی مواد در نظر بگیرند که به طور مداوم تولید بخارات سمی می کند .
- ۶ - به خاطر داشته باشید که در هر زمان از انجام حرکات سریع در زیر هود خوداری نمایید زیرا حرکات ناگهانی و سریع دست ها یا جابجا نمودن وسایل باعث اختلال در جریان هوای داخل هود می گردد .
- ۷ - وسایل مورد نیاز به گونه ای درون قرار دهید که محل های جریان هوا را مسدود نکرده باشند و همچنین از قسمت انتهایی هود که محل خروج هوا بوده دور باشد .
- ۸ - حداکثر ۸ سانتی متر از داخل لبه ی خارجی هود به بعد کار نمایید و در هنگام استفاده از مواد شیمیایی و یا وزن کردن آنها دست ها در حد امکان در آخرین وضعیت در داخل خود قرار دهید .
- ۹ - در مواقعی که اطمینان کامل به کارائی مناسب هود ندارید می توانید با یک تکه یخ خشک هود را مورد امتحان قرار دهید در این حالت درب جلوی هود را در پایین ترین وضعیت خود قرار دهید . هنگامی بخارات متساعد شده از یخ خشک کمتر در محوطه داخلی هود پخش و بیشتر به طرف مجاری خروج هوا حرکت کنند می توانید از کارائی هود مطمئن باشید .

### «نکات ایمنی در رابطه با نیتروژن مایع (LN2)»

- ۱ - دانستن ۲ نکته ی مهم با نیتروژن مایع بسیار ضروری :  
الف: نیتروژن مایع بینهایت سرد است و نقطه جوش آن  $196^{\circ}\text{C}$  است که می توانند در صورت تماس مستقیم با پوست یا هر نقطه ی دیگر از بدن انسان نوعی سوختگی شدیدی ایجاد نماید .  
ب : نیتروژن مایع مقادیر زیادی گاز تولید می نماید . یک لیتر نیتروژن مایع تقریباً ۷/۰ متر مربع گاز نیتروژن تولید می کند . بنابراین در هنگامی که نیتروژن مایع را در ظروف دربسته ریخته اید هنگام باز نمودن آن احتیاط نمایید .

- ۲- به علت اختلاف دمای زیادی که نیتروژن مایع با محیط اطراف دارد باز گذاشتن درب ظرف باعث بخار شدن سریع نیتروژن شده به همین علت برای صرفه جویی بهتر در سردخانه از نیتروژن مایع استفاده کنید. البته اتاق ( $20^{\circ}$ -) بهترین مکان برای نگهداری نیتروژن مایع است.
- ۳- هرگز اجازه ندهید تسایلی که با نیتروژن مایع در تماس بوده با پوست شما تماس یابد.
- ۴- پوشیدن دستکش های محافظت کننده در هنگام کار با نیتروژن مایع از صدمات احتمالی جلوگیری می کند.
- ۵- برای حمل و نقل نیتروژن مایع از ظروف مخصوص حمل نیتروژن مایع استفاده نمایید که برای حمل و نگهداری نیتروژن مایع طراحی شده اند. این ظروف را باید به آهستگی از نیتروژن مایع پر نمود تا از وارد شدن شوک شدید سرما به ظرف که ممکن است باعث صدماتی شود جلوگیری گردد.
- ۶- هرگز درب ظرفی که نیتروژن مایع را در آن حمل می نمایید یا نگهداری می کنید کاملاً محکم نبندید. زیرا به علت گاز نیتروژنی که تولید می شود فشار درونی بسیار بالا رفته علاوه بر ایجاد صدمه به ظروف امکان زیادی وجود دارد که انفجار صورت پذیرد و هرگز ظروف را از نیتروژن پر ننمایید.
- ۷- هنگام ریختن نیتروژن مایع از ظرفی به درون ظرف دیگر احتیاط نمایید و این کار را با آهستگی انجام دهید زیرا این ماده بسیار استعداد **splashing** دارد. استفاده از قیف های مخصوص این احتمال را کاهش می دهد.
- ۸- از ظروف آهنی یا چوبی برای نگهداری نیتروژن مایع یا حمل و نقل آن استفاده ننمایید.
- ۹- نیتروژن مایع بی رنگ، بی بو، بی مزه و کشنده است. نیتروژن مایع به سرعت میزان اکسیژن محیط و بافت و هر قسمتی که روی آن ریخته شود را کاهش داده و باعث ایجاد **sa** می گردد. بنابراین هرگز نباید برای کنترل آن داخل ظرف را دید. مزه یا بو نموده زیرا نموده زیرا به سرعت استنشاق می گردد. به همین خاطر نیتروژن مایع باید در مکان هایی نگهداری شود که دارای تهویه می باشد. هنگامی که نیتروژن مایع بخار می شود با کاهش شدید غلظت اکسیژن هوا شده و ممکن است باعث سرگیجه، بی هوشی و حتی مرگ شود.
- ۱۰- نیتروژن مایع بی نهایت سرد است و یکی از مهمترین و حساس ترین نقاط بدن چشم ها است که به سرعت پس از تماس کوچک با نیتروژن مایع صدمات جدی می بیند.
- ۱۱- نیتروژن مایع مشاهده شدنی نیست. وقتی در معرض هوا قرار می گیرد ابر بخار تشکیل می شود فقط رطوبت است در حالی که گاز نیتروژن به تنهایی قابل دیدن نیست.
- ۱۲- پس از استفاده باقی مانده نیتروژن مایع را فقط در محیط های سرباز و فقط روی زمین خالی ننمایید.
- ۱۲- ظروف نگهداری نیتروژن مایع در جای تمیز و خشک بدور از رطوبت مواد تمیز کننده و مواد شیمیایی یا سایر خوردنده های شیمیایی نگهداری کنید. این ظروف را فقط با آب یا محلول های دترجنت ضعیف بشویید و سپس خشک نمایید.
- ۱۴- میزان بخار شدن نیتروژن مایع بسته به زمان، موقعیت و شکل ظروف نگهداری و نحوه استفاده از آن متفاوت است. باز و بسته نمودن مستمر یا حرکت دادن ظرف حاوی نیتروژن از میزان اثر سرما زائی نیتروژن می کاهد. سطح نیتروژن مایع را در ظرف هر هفته باید اندازه گیری شود و مطمئن باشید که به اندازه کافی بوده تا به مواد نگهداری شده در آن صدمه وارد نشود.
- ۱۵- اگر نیتروژن مایع از سریع تر از حد معمول بخار می شود باید نسبت به تغییر ظرف نگهداری و محیط نگهداری آن اقدام نمود.
- ۱۶- در مواقعی که شخصی به وسیله ی نیتروژن مایع دچار سرگیجه شد یا کمی بی هوش گردید او را به محیطی که کاملاً باز باشد ببرید و از یک پزشک کمک بگیرید. اگر تنفس برای او مشکل است از اکسیژن استفاده نمایید و در صورت قطع آن از تنفس مصنوعی استفاده کنید، او را گرم نگهدارید تا پزشک از راه برسد.

۱۷- اگر نیتروژن مایع روی دست و پا و یا صورت بریزد باید محل آسیب دیده را با دمای طبیعی بدن به سرعت هر چه بیشتر گرم نگهداشت. پوشش ناحیه را باید از پوست جدا کرد و ناحیه را در حمام آب ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی گراد غوطه ور کرد

#### «موارد ایمنی و کار با دستگاه مولد نور ماورابنفش (UV)»

از نور ماورابنفش ( ultra violet ) برای مقاصد مختلفی از جمله مشاهده باند های DNA جدا شده روی ژلهای تیمار شده با محلول اتیدیوم بروماید استفاده می شود. اثرات UV بر پوست شامل ایجاد شیار، لکه های پوستی و همچنین سرطان پوست می باشد و در چشم ورم، آب مروارید و سوختگی شبکیه ایجاد می کند. هنگام کار با دستگاه های مختلف مولد نور UV موارد ایمنی زیر را باید رعایت کرد:

- پوشاندن تمامی قسمت های پوست با استفاده از روپوش های بلند و دستکش های محافظ مخصوصا زمانی که از UV دستی استفاده می نمایید.
- استفاده از عینک محافظ
- ابتدا ژل را بر روی صفحه دستگاه قرار دهید و پس از گذشتن شیشه محافظ دستگاه را روشن نمایید. در هنگامی که دستگاه روشن است از جابجا کردن ژل خودداری نمایید. در این وضعیت ابتدا دستگاه را خاموش نمایید و بعد ژل را جابجا کنید.
- شیشه و اشیا کدر نور UV را جذب می نماید. دقت کنید حتما بین پوست و چشم شما حتما مانع شیشه ای یا کدر قرار داشته باشد تا از اثرات مستقیم نور UV بر آنها جلوگیری شود.
- هنگام کار با دستگاه UV مواظب باشید که از زوایای کناری شیشه محافظ در معرض نور UV قرار نگیرید. اغلب در هنگام کار با دستگاه اگر به طرفین دستگاه حرکت نمایید به علت فاصله شیشه از دستگاه در معرض نور UV قرار می گیرید.
- بهتر است پس از استفاده از دستگاه و پس از خاموش کردن آن شیشه آن را با آب مقطر و دستمال کاغذی تمییز نمایید.
- از باز کردن و دستکاری لامپ مولد نور UV جدا خودداری نمایید. در صورت لزوم باز کردن این لامپ ها دست ها نباید چرب باشند و لامپ باید کاملا خنک شده باشد. حرکت دادن لامپ های داغ باعث انفجار و خروج بخار جیوه داخل آنها می شود.

## پرتوهای ماوراء بنفش (100-400nm)

اثرات بیولوژیکی پرتوهای ماوراء بنفش بر پوست بدن و چشم محدود میگردد ، میزان نفوذ این پرتوها در پوست بدن 0/101nm است .

### نحوه کار با لامپ UV

- ۱- از آنجا که پرتو ماوراء بنفش بر روی پوست و چشم اثر میگذارد ، پوشیدن روپوش و استفاده از عینک محافظ و دستکش هنگام کار با لامپ UV دستی (یا Transilluminator) الزامی است.
- ۲- ابتدا درب دستگاه Transilluminator را گذاشته ، سپس دستگاه را روشن کنید.
- ۳- در موقع بریدن قطعه ای از ژل ، دستگاه را طوری قرار دهید که درب آن به طرف شما باز شود و صورت خود را پشت شیشه قرار دهید به گونه ای که پرتو ماوراء بنفش به پوست شما نتابد.
- ۴- حتماً در هنگام جابجا کردن ژل دستگاه خاموش باشد.
- ۵- پس از پایان کار ، حتماً روی شیشه Transilluminator را با استفاده از دستمال کاغذی خشک کنید.

### حفاظت در برابر پرتوهای ماوراء بنفش

- ۱- انواع شیشه پرتوهای ماوراء بنفش با طول موج های کمتر از 300nm را به خوبی جذب می کنند.
- ۲- اغلب اجسامی که در برابر نور معمولی کدر هستند ، پرتوهای ماوراء بنفش به خصوص UV-A را جذب میکنند.
- ۳- در مواردی که شدت پرتوهای ماوراء بنفش زیاد می باشد استفاده از عینک مخصوص ضروری است .
- ۴- استفاده از لباس های آستین بلند و کاملاً پوشیده برای کار با پرتوهای ماوراء بنفش توصیه شده است.

### «مواد شیمیایی»

مواد شیمیایی موجود در آزمایشگاه به سه حالت جامد ، مایع و یا گاز موجود می باشند . هر کدام از حالات فوق آثار مختلفی بر فیزیولوژی موجود زنده دارند.

الف- مواد شیمیایی به حالت گازی ، بخار و یا ذرات معلق دارند که از راه تنفس وارد ریه ها می شوند و آثار فیزیولوژیک خود را به صورت زیر ظاهر می کنند :

- ۱- مواد التهاب آور و محرک (مثل آمونیاک و اسید هیدروکلریک)
- ۲- مواد خفگی آور (ساده مثل دی اکسید کربن ، شیمیایی مثل منواکسید کربن ، اسید سیانیدریک)
- ۳- مواد بیهوش کننده و مخدر (مثل اتانول و دی اتیل اتر)
- ۴- سموم سیستمیک (متانول ، فنول ها ، بنزن ، کربن دی سولفید)
- ۵- ذرات معلق (آزبست و سیلیس)

ب- مواد شیمیایی مایع نیز به اشکال زیر آثار خود را بر فیزیولوژی موجود زنده بروز می دهند:

- ۱- حلال های آلی نظیر استون ، کلروفرم ، سیکلو هگزان ، دی اتیل اتر ، دی متیل سولفوکسید ، اتیل الکل ، هگزان ، متانول ، تولوئن ، متیلن کلراید و ... که علاوه بر اشتعال پذیری آثار مسموم کنندگی دارند و برخی نیز خاصیت سرطان زدایی و نابارور کنندگی نشان می دهند.
- ۲- معرفی های معدنی محلول مانند اسید سولفوریک ، اسید هیدروکلریک ، آمونیاک ، آب اکسیژنه و ... این ترکیبات همگی سوزاننده و برخی خورنده می باشند و هر کدام اثر فیزیولوژیکی متفاوتی دارد.

- ج- مواد شیمیایی جامد نیز می توانند باعث مسمومیت یا آثار دیگر شوند.
- طبق قوانین مصوب جامعه ی سلطنتی شیمی بریتانیا مواد شیمیایی از لحاظ سمیت و زیان به یکی از چهار دسته زیر تقسیم می شوند :
- ۱- مواد با زیان بسیار زیاد : شامل مواد سرطان زا ، جهش زا یا مسموم کننده در تولیدمثل و حساسیت زا های تنفسی
  - ۲- مواد با زیان زیاد : مواد بسیار سمی، مولد سوزاننده و حساسیت زهای پوستی
  - ۳- مواد با زیان متوسط: مواد مضر ، مواد محرک و سوزش آور.
  - ۴- مواد با زیان کم : موادی که به عنوان مواد خطرناک شناخته نمی شوند.
- به منظور دستیابی به ایمنی بیشتر در آزمایشگاه عوامل چندی را می توان در نظر داشت از جمله :
- الف- آموزش افراد نسبت به نوع مواد شیمیایی مورد تماس و مصرف و ویژگی های آنها به صورت کلی و تدریجی
- ب- تجهیز آزمایشگاه به وسایل و مواد ضروری مورد نیاز سوانح و آموزش کاربرد صحیح آنها
- ج- آموزش کمک های اولیه
- د- تهیه دستورالعمل های مدون ایمنی

### کلروفرم :

کلروفرم ماده سرطان زا ست و سمیت تنفسی کلروفرم زیاد و سمیت پوستی آن کم است. علائم مسمومیت با کلروفرم تهوع ، سرگیجه ، خواب آلودگی ، کاهش سطح هوشیاری می باشد.

### احتیاط های لازم و کمک های اولیه

- در صورت پاشیدن به چشم ، چشم را با آب فراوان به مدت حداقل ۱۵ دقیقه شست و شو دهید.
- در صورت آغشته شدن پوست فوراً آن را با آب و صابون بشویید. اگر لباس به کلروفرم آغشته باشد آن را عوض کنید.
  - در صورت بروز علائم مسمومیت با کلروفرم که معمولاً به سبب تنفس آن پدید می آید فرد فوراً به هوای آزاد رسانده در صورت اشکال تنفسی کمک های اولیه را اجرا نمایید.
- در مواردی که مقداری کلروفرم به طور اتفاقی خورده شود باید فرد آسیب دیده را در صورتی که کاملاً هوشیار باشد وادار به استفراغ کرد.
- موارد نشت ماده در محیط آزمایشگاه یا ریختن اتفاقی ماده به مقدار زیاد
- افراد باید محوطه اطراف را به سرعت ترک کنند و تهویه مناسب برقرار شود. افرادی که مسئول تمیز کردن ماده هستند حتماً باید ماسک تنفسی و پوشش مناسب داشته باشند.

### گوانیدین تیوسیانات :

- این ماده در تماس با اسید ها ، عوامل اکسید کننده و گرما ، گاز بسیار سمی سیانید هیدروژن را آزاد می نماید. گرد گوانیدین تیوسیانات به مخاط تنفسی و چشم آسیب می رساند.
- برای وزن کردن و کار با گرد ماده ، زیر هود با پوشیدن دستکش و ماسک کار شود.
  - هرگز محلول گوانیدین تیوسیانات را محلول های اسیدی مخلوط نشود.
  - جهت دور ریختن محلول های واجد گوانیدین ، با سود غلیظ مخلوط شوند.
- ماده ی دیگری به نام گوانیدین هیدروکلراید نیز وجود دارد که کاربرد و خطراتی مشابه ماده گوانیدین تیوسیانات دارد.

## کمک های اولیه

- هنگام تماس اتفاقی با پوست یا چشم با مقدار فراوان آب حداقل به مدت ۱۵ دقیقه شست و شو شود.
- در صورت استنشاق اتفاقی پودر یا گاز متصاعد شده از محلول های حاوی تیوسیانات ، فرد را فوراً به هوای آزاد برسانید.
- در صورت بلع اتفاقی ماده ، فرد آسیب دیده را وادار به استفراغ کنید.
- فرد آسیب دیده را فوراً به مرکز فوریت های پزشکی رسانیده و مسئول آزمایشگاه را در جریان بگذارید.

## اکریل امید:

این ماده به شدت نوروٹوکسین است و از راه پوست و تنفس به سرعت جذب می شود. اکریل امید بر تولید مثل اثر سوء دارد و ممکن است سبب بروز ناهنجاری هایی در جنین شود. همچنین امکان دارد سرطان زا باشد. علائم مسمومیت با اکریل امید عبارتند از : منگی و گیجی ، سوزن سوزن شدن ، ضعف ، عدم تعادل در راه رفتن ، اختلال تکلم و لرز.

## کمک های اولیه

- برای محلول سازی و توزین پودر اکریل امید حتماً زیر هود شیمیایی با استفاده از دستکش و ماسک کار شود.
- در صورت تماس محلول یا پودر اکریل امید با پوست محل را با آب فراوان و صابون به مدت ۱۵ دقیقه شست و شو دهید . مسئول ایمنی را در جریان قرار دهید .
- هنگام کار با محلول اکریل امید حتماً دستکش لاتکس بپوشید . بهتر است دستکش به صورت دو لایه استفاده شود .
- در صورت خورده شدن اتفاقی محلول اکریل امید فرد آسیب دیده را در صورتی که هشیار باشد وادار به استفراغ کنید و در اسرع وقت به مرکز فوریت های پزشکی برسانید .
- در صورت تنفس ذرات اکریل امید فرد آسیب دیده را به فضای آزاد برسانید و فرد را به مرکز فوریت های پزشکی انتقال دهید .
- هنگام ریختن ژل محل کار خود را روزنامه با لایه جذب کننده (مانند دستمال کاغذی) بپوشانید .
- گیره ها ، شیشه ها و spacer های ژل را بعد از استفاده کاملاً بشویید .
- ژل غیر قابل استفاده را بعد از بستن کامل ، با استفاده از دستکش در کیسه ای جداگانه قرار داده و بعد دور بریزید ( اکریل امید به صورت ژل کاملاً بسته شده اثر سمی کمتری دارد).
- بهتراست به جای پودر اکریل امید محلول های آماده خریداری و مصرف شوند.

## مرکاپتواتانل:

این ماده سمی بوده و از راه تنفس و پوست جذب می شود . علائم مسمومیت ناشی از مرکاپتواتانل عبارتند از : حالت گیجی ، لرز ، گرفتگی گلو ، سردرد ، تهوع و استفراغ .

## احتیاط های لازم و کمک های اولیه

- در صورت آلودگی چشم یا پوست محل را ۱۵ دقیقه با آب فراوان شست و شو دهید .
- هنگام بروز مسمومیت از راه تنفس فرد را به هوای آزاد انتقال دهید و به مسئول ایمنی اطلاع دهید .
- زیر هود شیمیایی و با استفاده از دستکش و عینک محافظ با ۲-مرکاپتواتانل کار کنید .



## اتیدیوم بروماید:

این ماده موتازن و سرطان زاست . از طریق پوست ، چشم و دستگاه تنفسی می تواند نفوذ کند.

احتیاط های لازم و کمک های اولیه

هنگام کار با اتیدیوم بروماید از دستکش های پلاستیکی و عینک های محافظ و ماسک

- توزین اتیدیوم بروماید حتما باید در مکان بسته بدون جریان شدید هوا با استفاده از ماسک و دستکش دو لایه انجام شود.

- زباله ای آلوده به اتیدیوم بروماید ، با فرها و ژل های آلوده به طور مجزا دفع شود.

- دستکش و سایر لوازم آلوده به اتیدیوم بروماید را هرگز از اتاق UV خارج نکنید.

- در صورتی که لباس یا پوست به اتیدیوم بروماید آغشته شود ، باید فوراً لباس آلوده را از تن خارج کرده و پوست را با مقدار فراوان آب و صابون شستشو داد.

- در صورت آلوده شدن چشم باید آن را با آب فراوان به مدت حداقل ۱۵ دقیقه شستشو داد.

- در صورت بروز هر حادثه ای در حین کار با اتیدیوم بروماید مسئول ایمنی یا مس‌ول آزمایشگاه را در جریان قرار دهید.

## **فنل:**

فنل ماده ای سمی و فرّار است که از راه پوست و استنشاق بخارات آن وارد بدن می شود.

فنل به شدت سوزاننده است. سوختگی های ناشی از فنل به سبب خاصیت بی حس کنندگی موضعی ، علیرغم وسعت آسیب و عمق سوختگی ممکن است درد چندانی نداشته باشند. فنل و بخارات آن آتش گیر است. علائم مسمومیت با فنل عبارت است از درد شکم ، سرگیجه ، سردرد ، تهوع و استفراغ ، تپش قلب و سرانجام کما و مرگ . در صورتی که فنل روی پوست بریزد ، سوختگی های شدید بدون درد ایجاد می کند. مناطقی که فنل به آنها رسیده باشد رنگ پریده می شوند.

سوختگی % ۲۵ از سطح بدن با فنل می تواند کشنده باشد.

## **کمک های اولیه :**

- فردی را که با بخار فنل مسموم شده باشد فوراً باید از محل دور کرد و به فضای آزاد رسانید تا به راحتی تنفس کند و در صورت نیاز تنفس مصنوعی انجام بگیرد.

- در صورت ریختن اتفاقی فنل ، لباس آلوده به فنل باید فوراً از تن خارج شده و محل تماس با مقدار زیاد آب شستشو شود. شستشو باید آنقدر ادامه یابد تا رنگ پوست محل آسیب دیده از حالت رنگ پریده به صورت کم رنگ تغییر دهد.

- در صورت پاشیدن اتفاقی فنل به چشم باید چشم فرد آسیب دیده با جریان مداوم آب حداقل به مدت ۲۰ دقیقه شستشو شود و فرد آسیب دیده پس از شستشو چشم باید به چشم پزشک مراجعه کند.

- نکته مهم اینکه در صورت بروز هر یک از موارد فوق پس از اقدام اولیه ، فرد آسیب دیده باید به مرکز فوریت های پزشکی منتقل شود.

## **نکات عملی کار با فنل در آزمایشگاه :**

به دلیل انتشار بخارات سمی فنل در هوا عمل اشباع و موارنه کردن این ماده و نیز استفاده از آن برای استخراج DNA یا RNA حتماً باید زیر هود شیمیایی با تهویه مناسب انجام بگیرد.

- هنگام کار با این ماده حتی الامکان از روپوش آزمایشگاه و دستکش محافظ ( حداقل لاتکس ) و در صورت امکان از عینک محافظ ، پیش بند و کفش های پوشیده استفاده شود.

- هنگام کار با فنل باید از هر نوع منبع اشتعال دور باشیم.
- جهت رفع آلودگی فنل از هوای محیط کار باید با حوله مرطوب ( برای جلوگیری از ایجاد جرقه) هوای آغشته به فنل را از فضا بیرون کنیم.
- برای به حداقل رساندن میزان آلودگی در محیط کار ، بهتر است که مقادیر کم این محلول از تیوب ها به ظرف مخصوص پسماند فنل تخلیه نشود بلکه لوله پلاستیکی ( تیوب ) یا شیشه محتوی فنل به داخل ظرف انداخته شود.
- در صورت آلودگی محیط کار (سطح میز یا زمین ) با محلول فنل یاید :
  - ۱- هر نوع منبع اشتعال را از محیط دور کرد .
  - ۲- فضای آلوده را هر چه سریع تر تهویه نمود.
  - ۳- جهت خنثی کردن فنل از آهک خشک یا جوش شیرین ( محلول های قلیایی ضعیف ) استفاده نمود.
  - ۴- چون فنل بسیار در آب محلول است ، می توان سطح آلوده را مقدار فراوانی آب شستشو داد.
- از نکات قابل توجه آنست که در چیدمان مواد شیمیایی در آزمایشگاه باید نهایت دقت به عمل بیاید مثلا ترکیبات شیمیایی مایع و فرار در زیر هود های شیمیایی با تهویه ی مناسب قرار گرفته و در قفسه های عمومی از چیدن ترکیباتی که سریع وارد برهم کنش با سایر مواد می شوند کاملاً اجتناب نمود. همچنین قفسه حتی المقدور واجد در بوده و هوای آزمایشگاه نیز تهویه ی مناسب داشته باشد. همچنین پوستر های نشان دهنده ی علائم کشتار دهنده مواد شیمیایی در مکان های مناسب و در معرض دید افراد نصب شوند. همچنین افراد باید جهت دفع مواد شیمیایی بسیار زیان آور، آموزش دیده و تجهیزات و امکانات ضروری ، در آزمایشگاه ها برای این امور اختصاص یابد.
- جدول برخی از مواد شیمیایی ناسازگار که باید از یکدیگر دور نگه داشته شوند.

Acetic Acid	Chromic Acid , Nitric Acid, Permanganates
Acetone	Concentrated Nitric Acid & Sulfuric Acid Mixtures Hydrogen Peroxide
Alkali & Alkaline	Carbon Dioxide , Carbon tetrachloride , other Chlorinated Hydrocarbons , Erath Metals such As Sodium ,potassium, ...
Sulfuric Acid	Chlorates perchlorates , permanganates

- چند نکته ایمنی در کار با مواد شیمیایی :
- هیچگاه در آزمایشگاه به تنهایی کار نکنید .(مگر با اطلاع سرپرست)
- هیچگاه کیف و وسایل شخصی خود را در محیط آزمایشگاه نگذارید.
- به مقررات و قواعد نگهداری مواد شیمیایی مختلف دقت کنید.
- قبل از شروع کار با مواد به خواص و خطرات آنها آگاه شوید.
- قبل از توزین یا برداشتن یک ماده برچسب ایمنی آن را مطالعه کنید.
- هیچگاه ماده ای را مستقیماً با دست بردارید . ضمناً از وسایلی نظیر اسپاجول استفاده کنید.
- در شکستن و خرد کردن مواد جامد تمرین و دقت کامل به عمل آورید ، ممکن است پاشیدن و پرتاب شدن ذرات جامد به صورت شما یا اطراف و خطر انفجار شما را تهدید کند.

- از مزه کردن و چشیدن هر نوع ماده خودداری کنید.
- از برداشتن مایعات با پی پت توسط دهان خودداری کنید.
- از هود و دستکش و کلاوباکس و ماسک برای کار با مواد خورنده یا سمی استفاده کنید.
- هیچگاه یک حلال یا مایع اشتعال پذیر را روی شعله قرار ندهید.
- هیچگاه اسید ها ، قلیا ها ، مایعات سمی و یا اشتعال پذیر را در دستشویی خالی نکنید.

توضیح علائم روی بسته مواد :



۱- E (Explosive) : در جایی غیر از انبار مواد نگهداری شود.



۲- O (oxidizing-fire promoting) : (اکسید کننده - قابل اشتعال) تماس با مواد قابل اشتعال به حداقل برسد.



۳- T+ ( Very toxic) : (بسیار سمی) تماس با بدن به هر شکلی محدود شود. (رعایت حداکثر موارد ایمنی)



۴- T(toxic) : سمی



۵- : Xn(harmful) (مضر) نباید با دست تماس پیدا کند.



۶- : F+(extremely flammable) (به شدت قابل اشتعال) در دمای زیر صفر نگهداری شود.



۷- : F(highly flammable) نگهداری در دمای زیر ۲۱ درجه سانتی گراد.



۸- : C(corrosive) (خورنده) از تماس با کلیه سطوح بدن جلوگیری شود.



Xi (irritant) کم خطرترین

فهرست:

### هشدارها و علائم ایمنی

برای اینکه بتوانیم در برخورد با مواد خطرناک، بخوبی از برجسب های ایمنی الصاق شده بر روی آنها استفاده کنیم باید با مفهوم شکل ها و حروف نشان داده شده در جدولهای زیر آشنا باشیم:



Oxidizing  
اکسید کننده



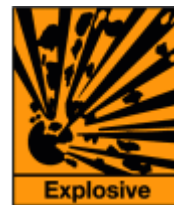
Corrosive  
خورنده



Highly  
Flammable  
قابلیت اشتعال زیاد



Extremely  
Flammable  
بشدت قابل اشتعال



Explosive  
قابل انفجار



Dangerous For  
The Environment  
خطرناک  
برای محیط زیست



Irritant  
تحریک کننده



Harmful  
مضر



Very Toxic  
خیلی سمی



Toxic  
سمی



# اطلاعات ایمنی مواد شیمیایی

## برگ اطلاعات ایمنی مواد شیمیایی

یک ماده شیمیایی از طریق لینکهای موجود در وب سایت واحد ایمنی و سلامت امکان پذیر است MSDS. دسترسی به آن با خطرات و نکات ایمنی مربوطه باید آشنا شد MSDS. قبل از کار کردن با هر ماده شیمیایی ابتدا با استفاده از برگه های اطلاعات ایمنی مواد شیمیایی حاوی اطلاعاتی است که عبارتند از: نام ماده شیمیایی - خصوصیات فیزیکی و شیمیایی سمیت آن - شیوه صحیح جابجایی و نگهداری آن - روشهای صحیح اقدامات اورژانسی اولیه و...  
به طور کلی MSDS یک حاوی اطلاعات گوناگونی می باشد که تعدادی از آنها عبارتند از:

- هویت ماده شیمیایی

- ترکیب یا اطلاعات مربوط به اجزاء سازنده آن

- آشنایی با خطرات احتمالی

- اقدامات اولیه اورژانسی

- اقدامات اولیه در مواجهه با حریق

- اقدامات اولیه در صورت ریختن اتفاقی ماده شیمیایی

- شیوه صحیح حمل و نقل و نگهداری

- روشهای مهار کردن سرایت آن / محافظت افراد در برابر ماده شیمیایی

- خواص فیزیکی و شیمیایی

- پایداری و واکنش پذیری

- اطلاعات سمیت ماده شیمیایی

- اطلاعات اکولوژیکی

- اصول صحیح معدوم کردن پسماندهای آن

- اطلاعات لازم در مورد جابجا کردن آن

- سایر اطلاعات

- کار کردن با پودرهای شیمیایی

بعضی از مواد شیمیایی که برای تهیه محلول استفاده می شوند به شکل پودر هستند. به منظور کاهش خطرات ناشی از استنشاق

گرد و غبار این مواد و جلوگیری از آلودگی سطوح آزمایشگاه نکات ذیل توصیه می شود.

• در صورت امکان، ماده شیمیایی موردنیاز به صورت محلول های آماده خریداری گردد.

• در صورت امکان، پودر موردنظر به شکل بسته بندی شده و با وزن مشخص در ویالها یا شیشه های درب بسته ای که بتوان

حلال را به داخل آن تزریق کرد، تهیه گردد.

• در صورتیکه توزین پودر شیمیایی در فضای آزمایشگاه باید انجام شود، نکات زیر رعایت گردد.

الف - در صورت امکان از ترازویی که در محفظه سر بسته است استفاده شود، تا گردوغبار در هوا پخش نگردد.

ب - در صورت امکان با انتقال ترازو به هود شیمیایی یا هود بیولوژیک، توزین در زیر هود انجام گیرد.

ج - برای انتقال ماده شیمیایی از ظرف به ترازو اسپاتول مناسب استفاده شود.

از ریختن یا پاشیدن پودر هنگام توزین اجتناب کنید

د - همیشه هنگام کار با مواد شیمیایی خطرناک از تجهیزات محافظت شخصی استفاده شود.

ه - بعد از اتمام کار سطوح آغشته به مواد شیمیایی را به طرز صحیح تمیز نمائید. تمیز نگه داشتن سطوح کار علاوه بر اینکه خطر سرایت مواد به دیگران را کاهش می دهد، از ایجاد خطا در سایر آزمایشات نیز می ک انبار کردن مواد شیمیایی شیوه صحیح نگهداری مواد شیمیایی در آزمایشگاه همیشه یکی از مطالب بسیار با اهمیت است. مواد شیمیایی که به شیوه ناصحیح در کنار همدیگر نگهداری می شوند ممکن است با همدیگر واکنش داده و محصولات خطرناک تولید کنند.

گاهی اوقات نگهداری ناصحیح مواد شیمیایی علاوه بر آلودگی، باعث هدررفتن مواد و کاهش خواص و اثرات مواد شیمیایی می شود.





رعایت نکات ذیل می توان خطرات ناشی از ناسازگاری مواد را حذف کند.

- از نگهداری اسیدها در مجاورت بازها یا فلزات فعال مانند سدیم -پتاسیم و منیزیم خودداری کنید.
- از نگهداری جامدات یا اسیدهای اکسیدکننده در مجاورت اسیدهای آلی و مواد قابل اشتعال اجتناب نمائید.
- از نگهداری موادی که با آب واکنش می دهند در اطراف سینک دستشویی یا نزدیکی محلولهای آبی خودداری کنید.

## فرمالدئید

فرمالدئید	نام شیمیایی
فرمالین، متیلن فرمالدهید، آلدئیدفرنیک، متیل آلدئید، اکسومتان اکساید	نامهای مترادف
H <sub>2</sub> Co	فرمول شیمیایی

### اطلاعات عمومی (علائم حفاظتی)

ماده سمی	خورنده	آتش گیر	خطرناک برای محیط زیست
			

### هشدارهای حفاظتی


تماس با چشم	تماس با این ماده میتواند باعث سوزش، سوختگی، درد و قرمزی چشم باشد. تاثیرات شدید این ماده بستگی به فاکتورهای متعدد از قبیل مقدار و مدت تماس با این ماده دارد.
تماس با پوست	این ماده می تواند به راحتی از طریق پوست جذب شود. تماس با این ماده باعث خارش، قرمزی و درد می شود.
بلعیدن و خوردن	خوردن این ماده بسیار خطرناک و صدمات شدید ایجاد می کند.
تنفس	استنشاق این ماده بسیار خطرناک و می تواند باعث ایجاد سرفه، تنگی نفس، سردرد، تهوع، استفراغ و گیجی شود. کار با این ماده بایستی در زیر هود و یا محیطی با تهویه مناسب انجام شود.




## کمک‌های اولیه

<p>پلک چشم را کاملاً باز کرده و سریعاً چشم را به مدت ۱۵ دقیقه با آب شستشو دهید ( از چشم شوی استفاده کنید) در صورت مشاهده عوارض، به پزشک مراجعه نمائید.</p>	<p>تماس با چشم</p>	
<p>ناحیه آلوده را در حالی که با آب و صابون به مدت ۱۵ دقیقه شستشو داده، لباس آلوده را خارج کنید و در صورت مشاهده عوارض، به پزشک مراجعه نمائید.</p>	<p>تماس با پوست</p>	
<p>هرگز به فردی که بیهوش است چیزی نخورانید، در صورت مشاهده هوشیاری فرد دهان او را با آب تمیز شستشو داده ۲۴۰ تا ۳۰۰ سی سی ( ۲ تا ۴ لیوان) آب یا شیر به او داده و فرد را وادار به استفراغ نکنید. اگر به طور طبیعی استفراغ اتفاق افتاد دوباره به فرد آب یا شیر بدهید و فوراً به پزشک مراجعه نمائید.</p>	<p>بلعیدن و خوردن</p>	
<p>فرد را به هوای آزاد برده، اگر تنفس قطع شده بود به وی تنفس مصنوعی بدهید در صورت ایست قلبی ، احیاء قلبی ریوی انجام دهید.</p>	<p>تنفس</p>	

## اطفاء حریق

<p>این ماده به شدت قابل اشتعال بوده و باید در کنار منابع تولید شعله و جرقه قرار نگیرد. بخارات حاصل از این ماده نیز قابل انفجار می باشد.</p>	<p>خطر آتش گیری</p>	
<p>در صورت بروز حریق باید تمام منابع تولید جرقه را قطع نمود سپس با رعایت فاصله ایمن و تجهیز خود با وسایل حفاظت فردی مناسب از کپسول پودر خشک شیمیایی (CO<sub>2</sub>) و یا اسپری آب استفاده نمائید.</p>	<p>نحوه مناسب اطفاء</p>	
<p>سیگار کشیدن یا استفاده از شعله در نزدیکی این محل ممنوع می باشد.</p>	<p>سایر توضیحات</p>	

## احتیاطات شخصی

<p>پوشیدن وسایل مناسب حفاظتی ، دستکش، لباس و کفش مقاوم به مواد شیمیایی</p>	<p>حفاظت پوست</p>	
<p>استفاده از عینک با حفاظ کناری الزامی است.</p>	<p>حفاظت چشم</p>	
<p>دستکش، لباس، پیش بند، کفش مقاوم در برابر مواد شیمیایی، دوش و چشم شوی ایمنی در محیط های کار با این ماده الزامی است.</p>	<p>حفاظت بدن</p>	
<p>وجود تهویه محیطی مناسب و هود مخصوص الزامی است. از ماسک مناسب استفاده شود ( این ماده در برخی منابع سرطانزا معرفی شده است و مشکوک به ایجاد سرطان بینی می باشد)</p>	<p>حفاظت تنفسی</p>	

### خصوصیات فیزیکی و شیمیایی

حالت فیزیکی	محلول و یا گاز
شکل فیزیکی	محلول فرار
رنگ	بیرنگ
بو	دارای بوی تند و زننده
حلالیت در آب	قابل حل

### کاربرد

جهت ثبوت بافت و پروسسینگ بافتی در آزمایشگاه بافت شناسی استفاده می شود.



### اثرات زیست محیطی

نحوه دفع فرمالین	برای محیط زیست خطرناک می باشد. محلول غلیظ این ماده در سیستم فاضلاب نباید دفع شود اما دوریز روزانه یک لیتر محلول فرمالدئید ۱۰ درصد در فاضلاب با مقدار زیاد آب بلامانع است. دستکش های آلوده به این ماده ابتدا به طور کامل و مناسب شسته شده و سپس در زباله های معمولی دفن گردند.
خنثی کردن فرمالدئید	در صورت ریخته شدن ماده با زدن علامت خطر بر روی درب آزمایشگاه افراد دیگر را مطلع نمایید. افراد با پوشیدن وسایل مناسب حفاظتی منابع قابل اشتعال و محترق را از محل دور نموده و سپس آنها را با مواد خنثی مثل ورمیکولیت، خاک، شن و ماسه جمع آوری نمایند.

## گزیل

نام شیمیایی	گزیل ( زایلن )
نامهای مترادف	1,3-Dimethylbenzen .Meta=xylene
فرمول شیمیایی	C8H10

### اطلاعات عمومی (علائم حفاظتی )

ماده سمی	آتش گیر	خطرناک برای محیط زیست
		


### هشدارهای حفاظتی

تماس با چشم	تماس با این ماده باعث تحریک، سوزش و قرمزی چشم می شود. استفاده از عینک با حفاظت کناری الزامی است.
تماس با پوست	تماس با پوست باعث ایجاد قرمزی، درد و تحریک می شود. استفاده از دستکش حفاظتی مناسب الزامی است.
بلعیدن و خوردن	خوردن این ماده باعث تهوع و استفراغ، گیجی، تحت تاثیر قرار گرفتن سیستم اعصاب مرکزی می شود.
تنفس	بخارات این ماده سمی و بایستی کار با این ماده در زیر هود شیمیایی به همراه استفاده از وسایل حفاظت فردی مناسب انجام شود.


### کمکهای اولیه

تماس با چشم	پلک چشم را کاملاً باز کرده و سریعاً چشم را به مدت ۱۵ دقیقه با آب شستشو دهید. در صورت مشاهده عوارض، در حین انتقال به پزشک شستشو را ادامه دهید.	
تماس با پوست	سریعاً لباسهای آلوده را خارج کنید. ناحیه آلوده را با آب و صابون به مدت ۱۵ دقیقه شستشو داده، و در صورت مشاهده عوارض، به پزشک مراجعه نمایید.	
بلعیدن و خوردن	هرگز به فردی که بیهوش است چیزی نخورانید، در صورت مشاهده هوشیاری فرد دهان او را با آب تمیز شستشو داده. فرد را وادار به استفراغ نکنید. به فرد هوشیار ۲ تا ۴ لیوان آب یا شیر بدهید. در صورتی که فرد استفراغ نمود دوباره به فرد آب یا شیر بدهید و فوراً به پزشک مراجعه نمایید.	
تنفس	فرد را به هوای آزاد برده، اگر تنفس قطع شده بود به وی تنفس مصنوعی بدهید در صورت ایست قلبی، احیاء قلبی ریوی انجام دهید.	

### اطفاء حریق

خطر آتش گیری	این ماده قابل اشتعال می باشد. بخارات این ماده در دمای ۱۷ درجه سانتیگراد می تواند با هوای اتاق مخلوط قابل انفجار تشکیل دهد.	
نحوه مناسب اطفاء	در صورت بروز حریق باید تمام منابع تولید جرقه را قطع نمایید. سپس با رعایت فاصله ایمن و تجهیز خود به وسایل حفاظت فردی مناسب جهت اطفاء حریق از کپسول پودر خشک شیمیایی CO2 استفاده نمایید.	
سایر توضیحات	استفاده از آب ممکن است مفید نباشد، زیرا توانایی خنک کردن این ماده را تا زیر نقطه اشتعال ندارد.	

## احتیاطات شخصی

حفاظت پوست	استفاده از دستکش ، لباس و کفش مقاوم در برابر مواد شیمیایی.	
حفاظت چشم	استفاده از عینک با حفاظ کناری	
حفاظت بدن	دستکش ، لباس و کفش مقاوم در برابر مواد شیمیایی، دوش و چشم شوی در محیط های کار با این ماده الزامی است.	
حفاظت تنفسی	از ماسک مناسب استفاده شود.	

## خصوصیات فیزیکی و شیمیایی

حالت فیزیکی	مایع
شکل فیزیکی	مایع فرار
رنگ	بیرنگ
بو	بوی تند
حلالیت در آب	غیر قابل حل

## کاربرد

در مراحل پروتوسپینگ بافتی، جهت شفاف سازی و پارافین زدایی بافتها و رنگ آمیزی در آزمایشگاه استفاده میگردد.

## اثرات زیست محیطی

نحوه خنثی کردن گزبلل	در صورت کم بودن حجم : آن را با مواد خنثی مثل ورمیکولیت ، خاک، شن و ماسه و یا هر ماده جاذبی که با آن واکنش نمی دهد جمع آوری نمائید ( از خاک اره استفاده نکنید) ماده را در ظروف دربسته جهت دفن نگهداری کنید. محیط را با آب بشوئید. در صورت زیاد بودن حجم: افراد را با زدن علامت خطر بر روی درب آزمایشگاه مطلع کنید. محیط را سریعاً تخلیه نمائید. این کار باید توسط فرد آموزش دیده با وسایل حفاظت فردی مناسب انجام شود. دفع آن بعد از خنثی سازی در فاضلاب بلامانع است.
احتیاط	این ماده قابلیت اشتعال بالایی دارد و فوق العاده سمی است.

## متانول

نام شیمیایی	متانول
نامهای مترادف	متیل الکل، الکل چوب، متیل هیدروکسید، مونوهیدروکسی متان
فرمول شیمیایی	CH <sub>3</sub> OH


### اطلاعات عمومی ( علائم حفاظتی )

مواد محرک	مواد قابل اشتعال	مواد قابل انفجار
		


### هشدارهای حفاظتی

تماس با چشم	در ابتدا لکه های تیره ای دیده می شود و بعد کورنگی اتفاق می افتد. در ادامه نور ترسی و کوری چشم را به همراه دارد. همچنین سبب ورم ملتحمه و التهاب غشای چشم می شود.
تماس با پوست	در اثر تماس مستقیم با بخارات ، خشکی و ترک پوست دیده شده ، در اثر تماس مجدد و طولانی مدت امکان ایجاد درماتیت پوستی شایع است در صورتیکه از راه پوست جذب شود می تواند روی دستگاه عصبی اثر گذاشته و سبب کاهش کارایی آن و کوری چشم شود.
بلعیدن و خوردن	سبب تحریک موکوس غشایی دهان و گلو شده
تنفس	می تواند سبب تحریک چشم، بینی، گلو و دستگاه تنفسی شود.


### کمکهای اولیه

تماس با چشم	چشم ها را به مدت ۲۰ دقیقه با آب شستشو دهید. به پزشک مراجعه کنید.	
تماس با پوست	فوراً لباسهای آلوده را در آورده و موضع را با آب و صابون شستشو دهید.	
بلعیدن و خوردن	در صورتی که فرد هوشیار بوده و تشنج نداشته باشد به او یک یا نصف لیوان آب با مواد معدنی رقیق بدهید. سریعاً به مرکز کنترل سم یا پزشک مراجعه کنید.	
تنفس	فرد مصدوم را به هوای آزاد برده و در صورت قطع تنفس به وی تنفس مصنوعی بدهید. سریعاً به پزشک مراجعه کنید.	

### اطفاء حریق

<p>بخارات آن به راحتی در هوا پخش و با کوچکترین شعله، مستقل شده و تولید گازهای CO و CO<sub>2</sub> می کند در برابر تخلیه الکتریسیته ساکن می تواند منفجر شود.</p>	<p>خطر آتش گیری</p>	
<p>برای خاموش کردن آتش نباید از جریان مستقیم آب استفاده گردد زیرا آتش منتشر می شود. از اسپری یا مه آب یا از کپسولهای پودر شیمیایی خشک (CO<sub>2</sub>) میتوان استفاده کرد.</p>	<p>نحوه مناسب اطفاء</p>	

### احتیاطات شخصی

<p>استفاده از دستکش، روپوش، کفش مقاوم</p>	<p>حفاظت پوست</p>	
<p>محافظ صورت و عینک مناسب ضروری است.</p>	<p>حفاظت چشم</p>	
<p>دستکش، روپوش، دوش و چشم شوی ایمنی در محیط کار با این ماده الزامی است.</p>	<p>حفاظت بدن</p>	
<p>از ماسک مناسب استفاده شود.</p>	<p>حفاظت تنفسی</p>	

### خصوصیات فیزیکی و شیمیایی

<p>مایع</p>	<p>حالت فیزیکی</p>
<p>مایع فرار</p>	<p>شکل فیزیکی</p>
<p>بیرنگ</p>	<p>رنگ</p>
<p>قابل حل است</p>	<p>حلالیت در آب</p>


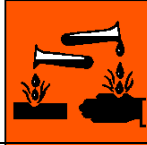


### کاربرد:

محلولی است که در مراحل پروسسینگ بافتی و طی مراحل رنگ آمیزی در آزمایشگاه بافت مورد استفاده قرار می گیرد و نیز به عنوان ضد عفونی کننده کاربرد دارد.

## وایتکس

نام شیمیایی	هیپوکلریت سدیم
نامهای مترادف	ماده سفیدکننده ( وایتکس ) ، اسید هیپوکلروس، نمک سدیم، سدیم اکسی کلرید، هیپوکلریت دی سدیم
فرمول شیمیایی	CLNaO

### اطلاعات عمومی (علائم حفاظتی)

ماده سمی	خورنده	محرک	خطرناک برای محیط زیست
			

### خصوصیات فیزیکی و شیمیایی

حالت فیزیکی	محلول
شکل فیزیکی	محلول فرار
رنگ	سبز تا زرد
بو	دارای بوی تند
حلالیت در آب	قابل حل


### هشدارهای حفاظتی

تماس با چشم	بخارات این ماده سبب تحریکات شدید چشمی می شود به طور کلی گازهای کلردار اکثراً سبب تحریکات چشمی می شود.
تماس با پوست	بخارات این ماده سبب تحریکات شدید پوستی شده و در موارد شدیدتر ممکن است سبب سوختگی های شدید پوستی شود.
بلعیدن و خوردن	خوردن این ماده ممکن است سبب تحریکات شدید، درد و سوزش دهان و شکم ، اسهال، استفراغ، شوک، بی هوشی، هزیان گویی، کما و در موارد بسیار شدید مرگ می شود.
تنفس	این ماده وقتی در معرض حرارت و یا مواد اسیدی قرار میگیرد گازهای مضر تولید می شودموجب سوختگی در دستگاه تنفسی می شود.


## کمک‌های اولیه

از عینک‌هایی با قاب دور چشم استفاده شود. در اکثر مواقع محافظ صورت ضروری است در صورت داشتن از چشمی آن را در آورید، سریعاً چشم آلوده را به صورتیکه پلکها باز است با مقدار زیادی آب ولرم به مدت ۱۵ دقیقه شستشو داده تا آلودگی برطرف شود. دوش و چشم شوی ایمنی در محیط کار با این ماده الزامی است. به پزشک مراجعه کنید.	تماس با چشم	
لباس یا کفش ناحیه آلوده را سریعاً خارج نمائید. موضع آلوده را با مقدار زیادی آب ولرم به مدت ۱۵ دقیقه شستشو دهید تا آلودگی برطرف شود. سریعاً به پزشک مراجعه نمائید.	تماس با پوست	
هرگز به کسی که بیهوش است چیزی نخورانید. فرد را وادار به استفراغ نکنید. سریعاً به پزشک مراجعه نمائید.	بلعیدن و خوردن	
فرد را به هوای آزاد برده، اگر تنفس قطع شده بود به وی تنفس مصنوعی بدهید (از تنفس دهان به دهان خودداری شود) سریعاً به پزشک مراجعه کنید.	تنفس	

## اطفاء حریق

قابل احتراق و انفجار نیست. این ماده تا دمای ۲۹۰ درجه سانتیگراد مقاوم و پایدار است.	خطر آتش‌گیری	
در دمای بالاتر بخارات آن به گازهای سمی و خورنده، کلر، هیدروژن کلراید و ... تبدیل و تجزیه می‌شود.	سایر توضیحات	

## احتیاطات شخصی

از عینک ایمنی و محافظ صورت استفاده کنید. لنز چشمی را در آورید.	حفاظت چشم	
از دستکش، لباس، و کفش مقاوم برابر مواد شیمیایی استفاده شود.	حفاظت پوست	
از لباس و پیش‌بند، دستکش و کفش مقاوم استفاده کنید.	حفاظت بدن	
در شرایط عادی نیاز به استفاده از ماسک نیست مگر اینکه وایتکس در معرض گرما و یا مواد اسیدی قرار بگیرد. برای کمک به مصدوم از ماسک مناسب استفاده شود.	حفاظت تنفسی	

## اثرات زیست محیطی

برای محیط زیست خطرناک است در صورتی که مقدار کم باشد آن را با موادی که با این ماده واکنش نمی‌دهند (مانند خاک و شن) جمع کنید و به بیرون از محل کار ببرید. اگر مقدار آب ژاول ریخته شده زیاد باشد بایستی از پمپ‌های خلاء استفاده و آنرا جمع‌آوری و به بیرون از محل کار ببرید.	نحوه خنثی کردن و دفع هیپوکلریت سدیم
در محیط خشک و خنک با تهویه مناسب به دور از اشعه مستقیم آفتاب، گرما و سایر منابع مشتعل و محترق دیگر نگهداری شوند. از تماس ازن ماده با اسیدهای قوی اجتناب شود. در معرض نور و دمای زیاد قرار نگیرد.	احتیاط

## کاربرد:






محلولی است که به عنوان ضد عفونی کننده کف، سطوح کار در گروه‌های آموزشی (آزمایشگاهها) استفاده می‌شود.



## اسید کلریدریک

اسید کلریدریک	نام شیمیایی
هیدروژن کلراید، اسید کلروهیدریک، تیرک	نامهای مترادف
CL-H	فرمول شیمیایی

اطلاعات عمومی (علائم حفاظتی)

لوزی خطر	ماده سمی	مواد خورنده	محرک	خطرناک برای محیط زیست
				

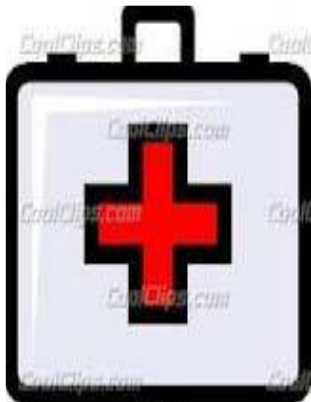
خصوصیات فیزیکی و شیمیایی

حالت فیزیکی	مایع
شکل فیزیکی	مایع فرار
رنگ	بی رنگ یا زرد کم رنگ
بو	دارای بوی تند
حلالیت در آب	قابل حل

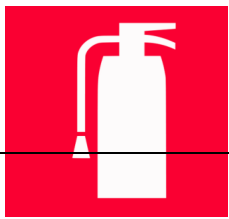
### هشدارهای حفاظتی

تماس با چشم	غلظت بخارات، میست و قطرات این ماده می تواند سبب تحریکات شدید، سوختگی و کوری چشم شود.
تماس با پوست	بخارات این ماده سبب تحریکات شدید پوستی شده ( قرمزی ، تاول و درد) و در موارد شدیدتر ممکن است سبب سوختگی های شدید پوستی شود.
بلعیدن و خوردن	خوردن این ماده ممکن است سبب زخم های خورنده در دهان، گلو، مری و شکم می شود. علائم آن شامل سختی در قورت دادن، عطش، استفراغ و حالت تهوع ، اسهال ، صدمات شدید، اغما و مرگ است.
تنفس	محلول این ماده بسیار خورنده است. تاثیرات آن بستگی به غلظت و مدت زمان تماس دارد. بخارات ومیست این ماده می تواند سبب تحریکات شدید بینی، زخم گلو، انسداد، سرفه وسختی شود. در مدت مواجهه با این ماده زخم و اولسره در بینی و گلو ایجاد می شود.


## کمکهای اولیه

تماس با چشم	سریعاً چشمهای آلوده را با آب ولرم به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه شستشو داده تا آلودگی برطرف شود. پلک ها باز نگه داشته شوند. به پزشک مراجعه کنید.	
تماس با پوست	سریعاً موضع آلوده را با آب ولرم به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه شستشو داده تا آلودگی برطرف شود. به پزشک مراجعه کنید.	
بلعیدن و خوردن	هرگز به کسی که بیهوش است چیزی نخورانید. در صورت هوشیاری فرد دهان وی را با آب تمیز شستشو داده و فرد را وادار به استفراغ نکنید. به فرد هوشیار ۲۴۰ تا ۳۰۰ میلی لیتر آب بخورانید. در صورت امکان، پس از خوردن آب به فرد شیر دهید. اگر استفراغ به صورت طبیعی اتفاق افتاد دوباره به فرد آب داده به پزشک مراجعه نمائید.	
تنفس	منبع مولد آلودگی یا فرد را به هوای آزاد برده، اگر علائم مسمومیت با این ماده ۴۸ ساعت پس از مواجهه نمایان می شود به پزشک مراجعه کنید.	

## اطفاء حریق

خطر آتش گیری	قابل احتراق و انفجار نیست. تماس با فلزات، تولید گاز هیدروژن کرده که مخلوط این گاز با خطر آتش گیری هوا م میتواند سبب انفجار شود.	
نحوه مناسب اطفاء	از اسپری آب برای خنک کردن ظروف محتوای این ماده استفاده شود.	
سایر توضیحات	از اسپری یا مه آب برای کاهش بخارات این ماده استفاده شود. از اسپری کردن آب به منبع نشت این ماده خودداری شود.	

## احتیاطات شخصی

حفاظت چشم	محافظ صورت ضروری است.	
حفاظت پوست	دستکش، لباس و کفش مقاوم در برابر مواد شیمیایی.	
حفاظت بدن	دستکش، لباس و کفش مقاوم در برابر مواد شیمیایی، دوش و چشم شور ایمنی در محیط های کار با این ماده الزامی است.	
حفاظت تنفسی	از ماسک مناسب استفاده شود.	

کاربرد

در رنگ آمیزی بافتها جهت اسید شوی نمودن وسایل شیشه ای مورد استفاده قرار میگیرد .
---

در جدول ذیل اسامی تعدادی از مواد شیمیایی که با یکدیگر ناسازگاری دارند و نباید در مجاورت هم نگهداری شوند آمده است.

ناسازگار با...	ماده شیمیایی
عوامل اکسیدکننده : مانند اسید کرمیک- اسید نیتریک - ترکیبات هیدروکسیل دار - اتیلن گلیکول - پرکلریک اسید- پراکسیدها - پرمنگناتها	اسید استیک
اسید نیتریک- اسید سولفوریک- سایر عوامل اکسیدکننده	استون
کلر- برم- مس- فلنور- نقره- جیوه	استیلن
آب- تتراکلرید کربن- سایر ترکیبات هیدروکربنی کلردار- دی اکسید کربن- هالوژنها	فلزات قلیایی و قلیایی خاکی مانند: پودر آلومینیوم - منیزیم- کلسیم- لیتیم- سدیم- پتاسیم
جیوه (مثلاً در فشارسنج جیوه ای)- کلر- هیپوکلریت کلسیم- ید- برم- هیدروفلوریک اسید	آمونیاک (بی آب)
اسیدها- پودر فلزات- محلولهای قابل اشتعال- کلراتها- نیتريت ها- گوگرد- ترکیبات آلی ریز یا مواد قابل احتراق	نیترات آمونیوم

انیلین	اسید نیتریک- پراکسید هیدروژن
مواد حاوی آرسنیک	عوامل کاهنده
آزیدها	اسیدها
برم	عوامل مربوط به کلر را مشاهده کنید
اکسید کلسیم	آب
کربن فعال	هیپوکلریت کلسیم- سایر عوامل اکسیدکننده
کلراتها	تمکهای آمونیوم- اسیدها- پودر فلزات - گوگرد- ترکیبات آلی ریز یا مواد قابل احتراق
کلر	آمونیاک- استیلن- بوتادین - بوتان- متان- پروپان (یا سایر گازهای بدست آمده از نفت) - هیدروژن - سدیم کاربید-بزن - پودر فلزات-ترباتین
دی اکسید کلر (ClO2)	آمونیاک- متان- فسفین - (PH3) سولفید هیدروژن
اسید کرمیک (کرومیوم تری اکسید)	اسید استیک- نفتالین- کامفور- گلیسرول- الکل - محلولهای قابل اشتعال
مس	استیلن- پراکسید هیدروژن
سیانیدها	اسیدها
محلولهای قابل اشتعال	نیترات آمونیوم- اسید کرمیک - (H2CrO4) پراکسید هیدروژن - اسید نیتریک- سدیم پراکسید- هالوژنها
هیدروکربن ها (مانند: بوتان- پروپان- بنزین)	فلئور- کلر- برم- اسید کرمیک- پراکسید سدیم- سایر عوامل اکسید کننده
اسید هیدروسیانیک	قلیا
اسید هیدروفلئوریک	پرمنگنات پتاسیم- اسید سولفوریک
سولفید هیدروژن	اکسیدهای فلزی - پودر مس- عوامل اکسیدکننده
هیپوکلریت ها	اسیدها- زغال فعال- آمونیاک
ید	استیلن- آمونیاک (گاز یا محلول آبی)- (هیدروژن
جیوه	استیلن- فولمینیک اسید- آمونیاک
نیترات ها	پودرهای فلزی و غیرفلزی- سولفید های فلزی- محلولهای قابل احتراق
اسید نیتریک	استیک اسید- آنیلین- اسید کرمیک- هیدروسیانید اسید- سولفید هیدروژن- گازها و محلولهای قابل اشتعال- مس- آلیاژ برنج-فلزات سنگین- قلیایی ها
نیتریت ها	تمکهای آمونیوم- آمیدها- فسفیدها- عوامل کاهنده
نیتره پرافین ها	اسیدها- بازها- آمین ها- هالیدها
اسید اگزالیک	نقره- کلریت ها- اوره
اکسیژن	روغنها- گریس- هیدروژن- سایر عوامل کاهنده شامل گازها، محلولها و مواد جامد قابل اشتعال

## اصول پاکسازی، ضد عفونی و استریلیزاسیون

مقدمه:

میکروارگانیسمهای موجود در محیط منابع بالقوه عفونت برای بیمار ان و پرسنل می باشند. این عوامل در محیط و یا بر روی وسایل و تجهیزات ساکن شده و ممکن است از طریق تماس مستقیم یا غیر مستقیم منتقل شده و در کسانی که ضعف سیستم ایمنی داشته عفونت ایجاد کنند.

هر گونه نقص در ضد عفونی یا استریل نمودن مناسب تجهیزات؛ نه تنها خطر شکستن موانع دفاعی میزبان بلکه خطر انتقال فرد به فرد (مانند: ویروس هپاتیت ب (و یا انتقال پاتوژنهای محیطی) مانند: سودوموناس آئروجینوزا (را نیز به همراه دارد). جهت کاهش انتقال میکروارگانیسمها از وسایل و محیط انجام اقدامات و بکار بستن روشهای پاکسازی، ضد عفونی و استریلیزاسیون از طریق استفاده از مواد پاک کننده، ضد عفونی کننده و فرآیندهای استریلیزاسیون مورد نیاز می باشد

## اصول ضد عفونی و استریلیزاسیون

نظافت یا پاکسازی:

این واژه به معنی حذف تمام آلودگیها مانند مواد آلی و معدنی از اجسام و سطوح می باشد. طبیعتاً این عمل توسط زدودن و یا استفاده از آب با ترکیبات آنزیمی یا دترجنتها امکان پذیر می باشد. پاکسازی قبل از روشهای ضد عفونی و استریلیزاسیون الزامی است، زیرا مواد آلی و معدنی که بر روی سطوح وسایل باقی می مانند در کارایی این روشها تأثیر گذار می باشند. آلودگی زدای روشی است که باعث حذف

میکروارگانیسمهای بیماریزا از اجسام و در نتیجه باعث ایمنی در کار می شود.

ضد عفونی:

ضد عفونی فرآیندی را توصیف می کند که در آن تمامی میکروارگانیسمهای بیماریزا به جز اسپور باکتریها بر روی اجسام بی جان از بین می روند

. در مراکز بهداشتی درمانی معمولاً ضد عفونی توسط محلولهای شیمیایی پاستوریزاسیون مرطوب انجام می شود

. کارایی روش ضد عفونی تحت تأثیر عواملی است که هر کدام از آنها می توانند این کارایی را خنثی یا محدود نمایند برخی از عواملی که هم بر روی کارایی استریلیزاسیون و هم بر روی ضد عفونی تأثیر گذار میباشند عبارتند از:

پاکسازی اولیه وسایل و اجسام؛ میزان مواد آلی و معدنی؛ نوع و سطح آلودگی میکروبی؛ غلظت و مدت زمان تماس با ماده ضد عفونی کننده؛ ماهیت جسم (مانند درزها، لولاها و حفرات کوچک)؛ روش ضد عفونی و در بعضی موارد رطوبت نسبی روش استریلیزاسیون (مانند PH وجود بیوفیلیم؛ درجه حرارت واتیلن اکساید). (با این تعاریف، ضد عفونی به علت نداشتن خاصیت اسپوریسیدال از استریلیزاسیون متمایز میشود، اما این تفاوت به صورت بسیار ساده ای بیان شده است. تعداد کمی از مواد ضد عفونی کننده در زمانهای تماس طولانی 3-12 ساعت (قادر می باشند که اسپور باکتریها را از بین ببرند که به اینها مواد استریل کننده شیمیایی گفته می شود در غلظت مشابه اما دوره زمانی کوتاهتر 45) دقیقه یا کمتر (همین مواد ضد عفونی کننده توانایی از بین بردن همه میکروارگانیسمها به غیر از اسپور باکتریها را دارند که در این صورت به آنها مواد ضد عفونی کننده سطح بالا گفته می شود. مواد ضد عفونی کننده سطح پایین ممکن است اغلب باکتریهای وژتاتیو، بعضی از قارچها و بعضی از ویروسها را در یک دوره زمانی کاربردی کمتر از 10 دقیقه از بین ببرند، در حالی که مواد ضد عفونی کننده سطح متوسط برای میکوباکتریها،

باکتریهای وژتاتیو، اغلب ویروسها و اغلب قارچها کشنده می باشند اما لزوماً اسپور باکتریها را نابود نمی سازد . ژرمیسیدها از نظر طیف ضد میکروبی و سرعت عمل متفاوتند

### مدیریت پسماندهای آزمایشگاهی

برنامه مدیریت پسماند شامل مراحل تفکیک (جداسازی) درمبداء تولید، جمع آوری و نشانه گذاری، حمل و نقل تامحل بی خطر سازی، مرحله بی خطر سازی یا آمایش (Treatment)، بسته بندی و نشانه گذاری، ذخیره ( انباشت ) موقت، حمل و نقل از محل تولید و بارگیری و مرحله دفع نهایی می باشد که باید اجرای برنامه در تمام مراحل مستند شود.

نحوه مدیریت پسماندهای عفونی، شیمیایی، پرتوزا به تفصیل در مستند دیگری آمده است و در این مبحث ما فقط به مرحله آمایش و دفع نهایی از مراحل مدیریت پسماند می پردازیم.

### انواع پسماندهای آزمایشگاهی:

۱- **پسماندهای عادی و یا خانگی** : این گروه از پسماندها باید در محل تولید از پسماندهای عفونی جدا شوند، در غیر این صورت در گروه پسماندهای عفونی قرار می گیرند. همچنین این نوع پسماندها باید از انواع پسماندهای تیزوبرنده، شیمیایی، پرتوزا و نظایر آن درمبداء تولید تفکیک شوند و گرنه تمامی حجم پسماند، آلوده تلقی می شود. این گونه پسماندها در کیسه های ضخیم سیاه رنگ دفع می شوند.

۲- **پسماندهای عفونی** : حاوی تعداد کافی باکتری، ویروس، قارچ، انگل و غیره برای ایجاد بیماری می باشند. مانند سرم و سایر مایعات آلوده بدن، مدفوع، کشتهای میکروبی، اجسام تیزوبرنده آلوده، وسایل مصرفی آلوده (سواب) ، حیوانات آزمایشگاهی آلوده در آزمایشگاههای تحقیقاتی و غیره

### آمایش و دفع پسماندهای آلوده :

به طور کلی، باید پسماندهای عفونی مانند پلیت های کشت میکروبی را در کیسه مخصوص اتوکلاو قرار داد و در محل تولید پسماند اتوکلاو نمود. در مواردی تحت شرایط استاندارد انتقال نمونه های عفونی، ممکن است کیسه های مخصوص اتوکلاو حاوی پسماند عفونی را به محل آمایش یا بی خطر سازی بیمارستان که دارای امکانات استفاده از اتوکلاو یا دستگاه بی خطر ساز پسماندهای پزشکی باشد، انتقال داد. همچنین می توان بعضی از پسماندهای عفونی مانند سواب های میکروبی را در محلول سفید کننده خانگی با رقت ۱/۱۰ حداقل به مدت نیم تا یک ساعت قرار داد تا بار میکروبی کاهش یابد.

تمامی ظروف یک بار مصرف حاوی محیط های کشت میکروبی باید در کیسه مخصوص اتوکلاو (ترجیحاً زرد رنگ و با علامت خطر زیستی) قرار داده شده و تحت شرایط استاندارد آنها را اتوکلاو نموده و سپس در کیسه زباله ضخیم سیاه رنگ دفع نمود.

طبق شرایط استاندارد، می توان خون، مایعات بدن و دیگر پسماندهای عفونی مایع را بعد از آمایش از طریق خالی کردن در دستشویی هایی که به فاضلاب با سیستم بهداشتی متصل می باشند، دفع نمود. در صورت نبودن فاضلاب با سیستم بهداشتی باید در مخازن مخصوص جمع آوری، سترون سازی و به صورت ایمن برای دفع ارسال گردد. این عمل باید با احتیاط و رعایت کامل موارد ایمنی برای جلوگیری از پخش و یا پراکنده شدن در هوا انجام شود. در طی تخلیه خون و یا مایعات بدن در دستشویی نباید همزمان آب را جاری نمود ولی پس از آن، باید با مقدار فراوانی آب، عمل دفع پسماند را تکمیل کرد. باید توجه نمود که باید حداقل نمونه های شناخته شده حاوی ویروس، باکتری و... را قبل از دفع اتوکلاو نمود.

عمل تخلیه باید در دستشویی مخصوص انجام گرفته و شخص برای جلوگیری از انتقال آلودگی باید از وسایل حفاظت شخصی استفاده کند. ممکن است که با توجه به شرایط و امکانات این گونه پسماندها در شرایط استاندارد توسط شهرداری حمل و در پسماند سوز آمایش

گردیده و یا در زیر زمین دفن بهداشتی شود. در این صورت باید وسایل و محفظه های حاوی مواد فوق جهت حمل در کیسه زباله زرد رنگ (با علامت خطر زیستی) قرار گرفته و طبق روش استاندارد انتقال نمونه های عفونی حمل شوند.

دستکش آلوده به خون و یا سرم، پنبه آغشته به خون، سواب و اپلیکاتور آلوده، نوار ادرار استفاده شده و نظایر آن را در کیسه مخصوص اتوکلاو، قرار داده و تحت شرایط استاندارد اتوکلاو نموده و در کیسه زباله ضخیم سیاه رنگ دفع می نماییم و یا در کیسه زباله زرد رنگ (با علامت خطر زیستی) جهت حمل در شرایط استاندارد توسط شهرداری قرار داده و در پسماند سوز استاندارد آمایش شده و یا در زیر زمین دفن بهداشتی می شود. (در مورد سواب، اپلیکاتور، نوار ادرار استفاده شده و نظایر آن می توان قبل از حمل توسط شهرداری آنها را در محلول سفید کننده خانگی با رقت ۱/۱۰ قرار داد).

از آنجا که مدفوع می تواند به عنوان یک منبع مهم ویروس، باکتری و انگل وغیره محسوب شود، معمولاً جهت آمایش نمونه های مدفوع باید از روش سوزاندن استفاده شود. بنابراین ترجیحاً باید ظروف حاوی نمونه های مدفوع در شرایط استاندارد توسط شهرداری حمل و در پسماند سوز آمایش شود. در غیر این صورت به منظور جلوگیری از ایجاد آلودگی در زمان حمل و نقل و دفع، محلول فرمالین ۵ یا ۱۰ در صد در ظروف مدفوع (به خصوص نمونه هایی که حاوی انگل می باشند) به نسبت سه حجم فرمالین و یک حجم مدفوع ریخته و به مدت حداقل نیم ساعت آن را نگهداری می نماییم و سپس آنها را جهت حمل توسط شهرداری در کیسه زباله زرد رنگ (با علامت خطر زیستی) قرار می دهیم .

نباید بیش از سه چهارم حجم کیسه های حاوی پسماند پر شود، تا بتوان به آسانی در آنها را بست. بدیهی است که مایعات نباید مستقیماً در داخل کیسه ریخته شوند، بلکه باید ظروف حاوی آنها در کیسه قرار گیرد. در صورت لزوم جهت دفع پسماند، می توان از دو کیسه استفاده نمود.

باید بوسیله استفاده از اندیکاتورهای شیمیایی و بیولوژیکی از صحت عملکرد دستگاه اتوکلاو در مورد پارامترهای زمان، درجه حرارت و فشار اطمینان حاصل نمود.

**۳- پسماندهای تیز و برنده :** این گونه پسماندها می توانند در بدن ایجاد جراحت نمایند مانند سرسوزن، لانت، تیغه اسکالپل، تیغه میکروتوم، شیشه های شکسته، لوله های موینه (میکروهماتوکریت)، سرسپلر، لام، اسلایدهای رنگ آمیزی شده و غیره که می توانند آلوده و یا غیر آلوده باشند. این گونه پسماندها باید در ظروف ایمن (Safety Box) ریخته شوند. این ظروف باید در برابر ضربه و سوراخ شدگی مقاوم باشند. در آنها کاملاً بسته شده و نشد ناپذیر بوده و قابل اتوکلاو شدن باشند. وقتی که سه چهارم محفظه پر شد، اتوکلاو و سپس به طریقه بهداشتی دفع شوند.

سرسوزن ها ترجیحاً همراه با سرنگ ها در محفظه مقاوم (ظروف ایمن) قرار داده شوند. در غیر این صورت جهت جدا نمودن سرسوزن از سرنگ باید از محل های تعبیه شده در قسمت در این ظروف استفاده کرد و سرنگ ها را در کیسه مخصوص اتوکلاو قرار داده و اتوکلاو نموده و در کیسه زباله ضخیم سیاه رنگ دفع می نماییم.

همچنین نباید اقدام به شکستن، بریدن و یا خم کردن سر سوزن ها نمود، زیرا خطر فرورفتن سر سوزن و ایجاد آئروسل وجود دارد.

نحوه دورریز تیغ های برنده در تجهیزاتی مانند میکروتوم و کرایوستات نیز باید مورد توجه قرار گیرد و تیغ های غیر قابل استفاده در ظروف ایمن قرار داده شده و دفع گردد.

● نکته مهم : پسماندهای تیز و برنده نباید در کیسه های پلاستیکی جمع آوری شوند. پسماندهای تیز و برنده آلوده علاوه بر خطر بریدگی و ایجاد جراحت، خطر انتقال آلودگی را نیز به دنبال دارند.

**۴- پسماندهای شیمیایی :** شامل انواع مواد و معرف های آزمایشگاهی، کیت های تشخیصی، مواد ضد عفونی کننده، مواد خورنده و سوزاننده، مواد آتش زا، سمی ، سرطان زا، واکنش زا، قابل انفجار و غیره می باشند.

پسماندهای شیمیایی در سه گروه کم خطر و پرخطر و بی خطر قرار می گیرند و مرحله تفکیک باید در باره این پسماندها نیز به خوبی اجرا شود.

پسماندهای کم خطر : حاصل کار با برخی از محلول ها و کیت های تشخیصی بوده و همچنین کیت های تاریخ گذشته را نیز شامل می شود. که باید طبق توصیه شرکت سازنده ویا وارد کننده با توجه به برگه اطلاعات ایمنی مواد شیمیایی

#### ( Material Safety Data Sheet = MSDS)

موجود در کیت عمل نمود ویا جهت آمایش پسماندهای شیمیایی حاصل از کار با کیت های تشخیصی می توان آنها را بامقادیر زیادی آب رقیق کرده ودر فاضلاب دفع نمود. باید توجه نمود که قبل از این عمل نباید پسماندها باهم مخلوط شوند. ترجیحاً یک سینک مخصوص به این امر اختصاص داده شود.

پسماندهای شیمیایی پرخطر : حاصل کار با مواد شیمیایی قابل انفجار، قابل اشتعال، خورنده، سوزاننده، سمی ، بسیار سمی ،واکنش زا، سرطان زا ،التهاب زاو مضر می باشد. که برای دفع آنها باید طبق توصیه شرکت سازنده ویا وارد کننده با توجه به برگه اطلاعات ایمنی مواد شیمیایی (MSDS) مربوطه عمل نمود. همچنین آزمایشگاه ها می توانند با توجه به نوع پسماند، آنها را در ظروف شیشه ای و یا پلاستیکی مقاوم به طور جداگانه جمع آوری نموده و سپس طبق توصیه مراکز تولیدکننده، توزیع کننده ویا واردکننده مواد شیمیایی اقدام به رقیق سازی با آب، خنثی سازی با مواد خنثی کننده وروش های دیگر بر حسب نوع ماده نمایند. اجرای این مراحل نیاز به برنامه های آموزشی ویژه دارد.

پسماندهای بی خطر : حاصل کار با موادی مانند اسیدهای آمینه، قندها و غیره می باشند که خصوصیات پسماندهای کم خطرو پرخطر را ندارند.

#### ۵- پسماندهای پرتوزا

پسماندهای پرتوزا شامل مواد و وسایلی هستند که آلوده به مواد پرتوزا می باشند. مسئولیت برنامه ریزی در مورد چگونگی مدیریت پسماندهای پرتوزا و حمل و نقل و دفع این مواد به عهده سازمان انرژی اتمی ایران است.

میزان ونحوه دفع پسماندهای پرتوزا باید طبق قوانین سازمان باشد و اگر میزان پسماند تولیدی بسیار زیاد باشد، طبق دستورالعمل وارهایی، سازمان در ارتباط با نوع وحجم این گونه پسماندها، خودرا موظف به حمل آنها می داند.

نکته مهم این است که پسماندهای آلوده به مواد پرتوزا باید در مبدأ تولید، از سایر پسماندها تفکیک شوند، زیرا در غیر این صورت کلیه پسماندهای تولید شده جزء پسماندهای پرتوزا تلقی می گردند. بسته بندی و جمع آوری پسماندهای پرتوزا باید با استفاده از ظروف مورد تایید سازمان انرژی اتمی ایران باشد که این ظروف باید دارای برچسب مخصوص حاوی علامت خطر اشعه وهمچنین نوع پسماند باشند.

در آزمایشگاههای تشخیص پزشکی ایران از روش های دفع در فاضلاب، ذخیره جهت تجزیه و یا حمل توسط سازمان انرژی اتمی استفاده می شود. معمولاً دفع پسماندهای مایع پرتوزا در فاضلاب انجام می شود که باید از سینک مخصوص این کار استفاده شود و قبل از دفع، متناسب با میزان و غلظت پسماند ، با آب رقیق گردد . این سینک باید با علائم هشدار دهنده خطر اشعه مشخص شود.

باید توجه نمود که اگر نیمه عمر ماده پرتوزا کوتاه بوده و با نگهداری صحیح تجزیه می گردد، نباید پسماندها از طریق سیستم فاضلاب دفع شود، بلکه باید مطابق با استانداردهای سازمان در محل مخصوصی جهت فرآیند تجزیه ذخیره شوند.

باید بوسیله استفاده از اندیکاتورهای شیمیایی و بیولوژیکی از صحت عملکرد دستگاه فوردر مورد پارامترهای زمان ودرجه حرارت اطمینان حاصل نمود.



### دفع ضایعات آزمایشگاهی:

سعی کنید ضایعات آزمایشگاهی را از ابتدا با محدود کردن مقادیر مواد خریداری شده به حداقل برسانید .  
ضایعات شیمیایی را تفکیک کرده و برای دفن آماده نمایید.  
همه ضایعات را با بسته بندی مناسب دفن کنید .

### دفع پس مانده‌های مواد شیمیایی سمی

قبل از دفع ، لازم است با به کارگیری شیوه های مختلف ، مواد شیمیایی فعال و خطرناک را بی اثر کرد . به طور مثال : محلول 11 تا 21 درصدی اکریل امید که در آزمایشگاههای مولکولی به کار میرود سمی بسیار قوی به خصوص برای سیستم اعصاب مرکزی است ( Neurotoxic) محلول های اضافه آنرا میتوان با افزودن ترکیبات خاصی ، مثل بیس اکریل امید .TEMED نوع ژل آن که غیر سمی است تبدیل و آنرا در سیکل زباله های شهری قرار داد

برای سم زدایی ترکیبات آلی محلول و سمی، به خصوص محلول اتیدیوم بروماید (Et-Br) و ژل های حاوی این محلولها ، میتوان از زغال فعال حیوانی استفاده نمود که روش آن به شرح ذیل میباشد

سم زدائی اتیدیوم بروماید (Et-Br) و ژل های حاوی این محلولها :ژل های حاوی این محلولها را میتوان به مدت یک شبانه روز در ظرف حاوی یک تا دو لیتر آب قرار داد تا مواد سمی آن وارد فاز آبی گردد . پس از اسکن کردن ژل آگارز و حصول اطمینان از نبودن ترکیبات آلی در ژل ، به محلول رقیق شده از ماده سمی یک قاشق چارکول اضافه نموده پس از یک ساعت ، محلول سوسپانسیون آن را از یک صافی معمولی میتوان گذراند

در این صورت محلول زیرصافی که عاری از ماده سمی است را میتوان دور ریخت و کاغذ صافی حاوی چارکول و ماده سمی را در کوره لاشه سوز قرار داد این ماده سمی در 650 درجه تجزیه خواهد شد

### دفع پس ماند های مواد شیمیایی سرطانزا

قبل از دفع ، لازم است با به کارگیری شیوه های مختلف ، مواد شیمیایی فعال و خطرناک را بی اثر کرد . به طور مثال : پسماند های ماده بسیار خطرناک و واکنش دهنده اسمیوم تتراکساید را میتوان در روغن مایع قرار داد تا توان اکسید کنندگی این ماده کاهش یابد . اسید پیکریک از مواد بسیار فعال و سرطانزا به شمار می آیند و نباید در تماس مستقیم با هوا قرار گیرند .بدین منظور همواره باید مقدار آبی بر روی این ترکیب قرار داد .

فنل و فرم آلدئید نیز از مواد نافذ ، سمی و سرطانزا محسوب می شوند و برای کاستن اثرات سو این ترکیبات ، پسماند های محدود این ترکیبات را می توان در دترژنت هائی با همین ساختار مثل دتول قرار داد تا سمیت آن کاسته شود و سپس آنها را دور ریخت .

### دفع پس مانده‌های مواد خطرناک زیست محیطی

مواد بیولوژیک مخاطره آمیز : نمونه های بیولوژیک مشکوک به داشتن عوامل بیماری زا ، می تواند شامل نمونه های خون، ادرار و مدفوع، خلط، مایع مغزی نخاعی، مایع منی و دیگر مایعات بدن انسان یا حیوان ، بافت های مختلف حیوان آلوده و کلیه مواد زاید بیولوژیک باشند .

نمونه های بیولوژیک و ظروف پلاستیکی آلوده را در میتوان در اتوکلاو استریل نمود و پس از این امر، تمام نمونه ها و ظروف را در سیکل عمومی زباله، قرار داد .

استفاده از ضد عفونی کننده های جدید در حذف ترکیبات آلاینده مختلف ( محلول های دترژنت قوی مثل دی کانکس ) نیز ضروری است.

دانشجویان را باید آموزش داد که از کاتر برای حذف سوزن سرنگ استفاده کنند و پس از تشریح حیوانات آزمایشگاهی مورد مطالعه را که مواد سمی، کشنده و غیره به آنها تزریق کرده اند ، امعاء و احشای آنها را با دقت از آزمایشگاه خارج و در کوره های لاشه سوز قرار دهند تا نابود شوند.

### دفع پس مانده های مواد رادیو اکتیو

آزمایشگاه ها و مراکز تحقیقاتی که با مواد پرتوزا (رادیواکتیو) کار می کنند باید با کسب اجازه از مسئول بهداشت فیزیک آن مجموعه و تحت نظارت نماینده معرفی شده از طرف وی که معمولاً از سازمان انرژی اتمی است شروع به فعالیت نمایند در چنین آزمایشگاه هایی، افراد موظفند یک دستگاه حساس به تشعشعات مواد پرتوزا (Film bag) به خود نصب کنند دریافتی آنان از تشعشعات مختلف مواد پرتوزا در این دستگاه ثبت شود.

برای حفظ سلامتی افراد، یک حد مجازی از طرف سازمان انرژی اتمی برای این مواد پرتوزا تعیین شده است. این افراد باید هر شش ماه یکبار به آزمایشگاه های تشخیص طبی مراجعه و یک آزمایش کاملی را بدهند. در صورت ریخت و پاش (Splash) مواد پرتوزا در محیط آزمایشگاه، ضمن شناسایی محل ریزش مواد توسط دستگاههای حساس گایگ (Gigar) با اسپری کردن مواد پاک کننده بسیار قوی در محل آلودگی، با دستمال های مخصوص جاذب رطوبت (Pad) مواد آلاینده را پاک کرده، پس از اطمینان از رفع آلودگی توسط دستگاه گایگر، آن پدها را به سازمان انرژی اتمی انتقال می دهند تا با تدابیر ویژه ای آن مواد پرتوزا بی اثر شوند

### دفع پس مانده های مواد شیمیائی اشتعال زا

حلالهای آلی مانند الکل های سبک، اتر، استن را میتوان به طور مجزا در انبارهای خنک حفظ کرد و کم کم از آنها استفاده نمود و پسماند های محدود آنها را در ظروف مقاومی انباشته به منظور سوزاندن در اختیار مسئولین ایمنی دانشکده قرار داد. برای انواع حلال های سنگین آلی ، فنل ، پروپیلن اکساید، گلو تار آلدهید ، فرم آلدهید ، پارا فرم آلدهید ، زایلین و ..... جمع آوری کنترل شده ای در محیط و مکان های متفاوت باید صورت گیرد وبا همکاری سازمان های تحت قرارداد با سازمان محیط زیست و انرژی اتمی، آنها را از محل آزمایشگاه دور ساخت

### مواد شیمیائی واکنش گر

ردیف	نام ماده شیمیایی	مواد شیمیایی ناسازگار با اثرات متقابل
1	اسید سولفوریک	کلرات، پرکلرات، پرمنگنات و آب
2	نیتریک اسید	استیک اسید، کرومیک اسید، آنیلین، کربن، هیدروژن سولفید
3	استن	مخلوط اسید سولفوریک و اسید نیتریک
4	هیدروژن پراکساید	غالب فلزات و املاح آن، مواد آلی مثل آنیلین و نیترومتان
5	آنیلین	نیتریک اسید، پراکسید هیدروژن
6	گلیسیرین	آمونیاک، استیلن، بوتادین، بوتادین، مشتقات نفتی

7	سدیم، پتاسیم و لیتیم	تتراکرید کربن ، انیدرید کربنیک و آب
8	جیوه	استیلن، هیدروژن
9	ید	استیلن و آمونیاک

### دفع پس مانده‌های مواد شیمیائی خورنده

این مواد شامل ترکیبات ذیل میتوانند باشند: مواد معدنی ( اسید های غلیظ نیتریک و سولفوریک، سود، آمونیاک و ...) و مواد آلی فرمالدئید، اسید پیکریک و ..

در جداول پیوست نحوه پاکسازی سریع آنها از محیط های آزمایشگاهی آورده شده است

مواد شیمیائی پاشیده ش	نحوه پاکسازی
اسیدها، مواد آلی	از بی کربنات سدیم استفاده کنید، همچنین از اکسید کلسیم یا بی کربنات سدیم می توانید استفاده کنید
اسیدها، مواد غیرالی	بوسیله یک اسفنج یا ابر ماده را جمع آوری کنید ( اسید هیدروفلوئوریک یک ماده مستثنی است)
اسید کلریدها	از آب استفاده نکنید بوسیله شن یا بیکربنات سدیم جمع آوری و جذب کنید.
آلدئیدها	بوسیله یک ابر یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید آورده شده است
آمین های آلیفاتیک	از بی سولفیت سدیم استفاده کنید بوسیله یک ابر یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید
آمین های آروماتیک	بوسیله یک ابر یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید از تماس پوستی یا استنشاق اجتناب کنید
آمین های آروماتیک هالوژن دار	بوسیله یک ابر یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید از تماس پوستی یا استنشاق اجتناب کنید
ترکیبات N3 قابلیت انفجار	بوسیله یک ابر یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید با استفاده از محلول 10 درصد نیترات آمونیوم آلودگی زدایی کنید
بازها ( قلیاها ) با اسید	یا خنثی کننده های شیمیایی خنثی سازی کنید و به وسیله یک ابر یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید
کربن دی سولفاید (قابل اشتعال وسمی)	بوسیله یک ابر یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید
کلروهیدرین ها	بوسیله یک ابر یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید از تماس پوستی یا استنشاق اجتناب کنید
سیانیدها	قبل از جارو کردن حتماً آنها را مرطوب کنید و یا از جارو برقی با فیلترهای هپا استفاده کنید .مواد مرطوب

را بوسیله یک ابر یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید	
از بی کربنات سدیم استفاده کنید	هالیدها ( آلی یا غیر آلی)
بوسیله یک ابر یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید	هیدروکربنهای هالوژن دار
بوسیله یک ابر و یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید از مواد آلی اجتناب کنید	هیدرازین ها
جذب بوسیله کربنات کلسیم یا اکسید کلسیم نسبت به بی کربنات سدیم ترجیح داده می شود .استفاده کربنات سدیم منجر به تشکیل سدیم فلوراید می شود که به طور قابل ملاحظه ای از کلسیم فلوراید سمی تر است .مراقب باشید اسفنج مورد استفاده برای جذب ماده را درست انتخاب کنید .اسفنجهای خاصی که ترکیبات سیلیکات هستند با اسید هیدروفلوئوریک ناسازگار می باشند	اسید هیدروفلوریک
از سودا استفاده کنید	محلولهای نمکهای غیر آلی
با محلول هیپوکلریت کلسیم خنثی سازی کنید .بوسیله یک ابر یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید	مرکاپتان ها (سولفیدهای آلی)
مواد جامد را جارو کنید .به وسیله یک ابر یا اسفنج جذب و جمع آوری کنید	نیتریل ها
به وسیله یک ابر و اسفنج جذب و جمع آوری کنید .از تماس پوستی و استنشاق اجتناب کنید	ترکیبات نیترو
از بی سولفیت سدیم استفاده کنید به وسیله یک ابر و اسفنج جذب و جمع آوری کنید	عوامل اکسید کننده
به وسیله یک ابر و اسفنج جذب و جمع آوری کنید	فسفاتها
از سودا و بی کربنات سدیم استفاده کنید.	مواد احیا کننده