

# دستور العمل کار و اصول ایمنی در آزمایشگاه کشت سلول

گردآورنده :  
مریم علی اکبری  
کارشناس آزمایشگاه

## فهرست مطالب

1. معرفی آزمایشگاه کشت سلول گروه علوم تشریحی
2. شرایط لازم برای ورود به آزمایشگاه کشت سلول
3. آموزش های لازم برای دانشجویان در بدو ورود به آزمایشگاه کشت سلول
4. استانداردهای کلی کار در آزمایشگاه کشت سلول
5. اصول اولیه کار در آزمایشگاه
6. تجهیزات موجود در آزمایشگاه کشت سلول
7. دستورالعمل ضد عفونی در موارد ریختن یا شکستن ظروف محتوای مواد آلوده
8. روشهای استریلیزاسیون و جلوگیری از آلودگی در آزمایشگاه کشت سلول
9. Log book ها ،چک لیست ها و فرم مخصوص اتاق کشت

## معرفی آزمایشگاه کشت سلول گروه علوم تشریحی

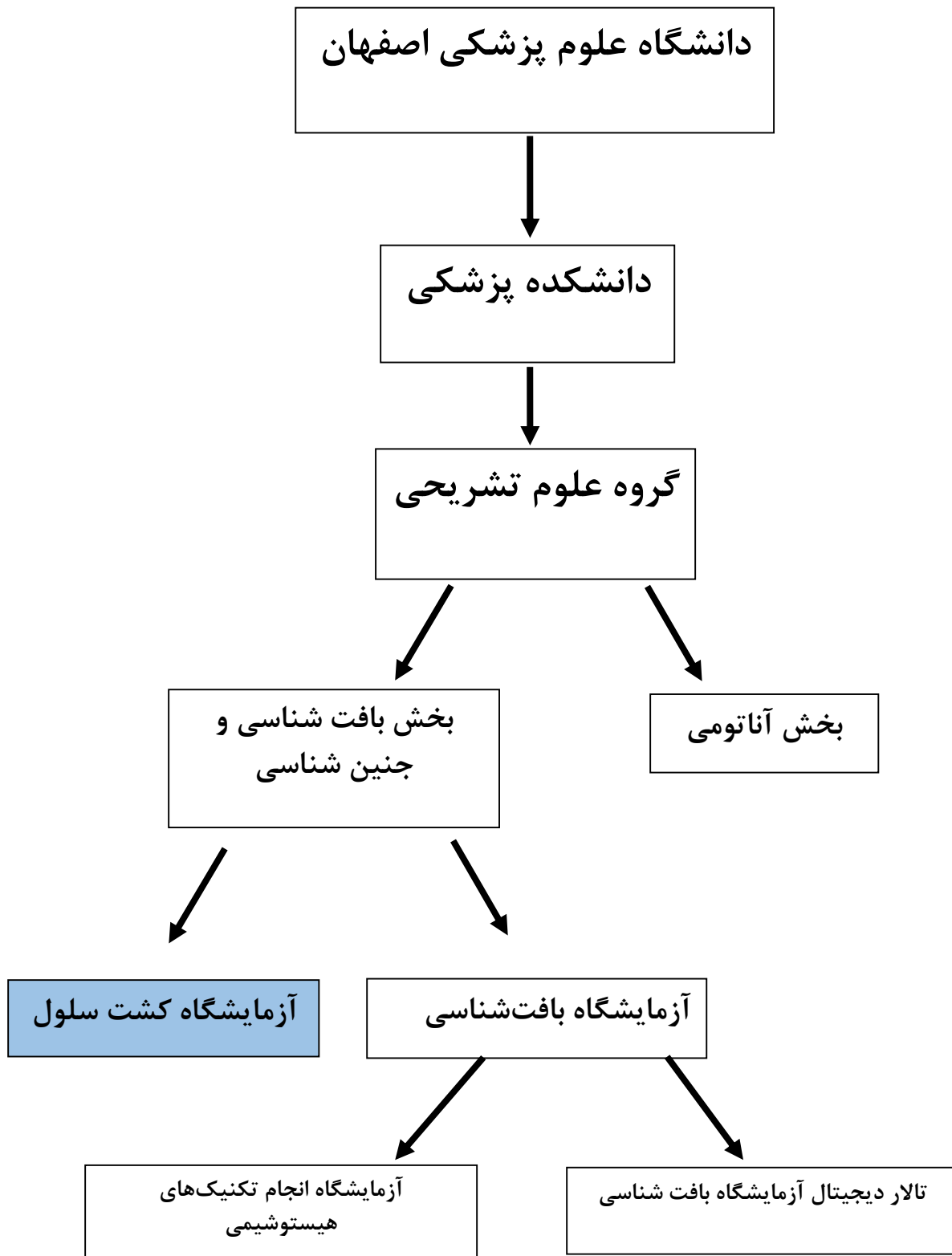
آزمایشگاه کشت سلول گروه علوم تشریحی در بخش بافت شناسی گروه واقع شده است و از دو اتاق مجزا که هر کدام به ترتیب ۳۰ و ۲۰ متر مربع فضا دارند تشکیل شده است. آزمایشگاه کشت سلول کار خود را از سال ۱۳۸۵ با هدف مطالعه و بررسی خواص و عملکرد رده های مختلف سلولی به خصوص سلول های بنیادی مشتق از بافت چربی و تمایز آنها به رده های مختلف سلولی آغاز کرده است. فعالیت های عمده این آزمایشگاه : جداسازی و کشت سلول های بنیادی و انواع سلولهای سرطانی و نگهداری طولانی مدت آنها و سنجش فعالیت های ضد توموری ترکیبات سنتتیک و بیولوژیک و مطالعه و بررسی آپوپتوز با استفاده از روشها و تکنیک های سلولی و مولکولی از جمله MTT فلوسایتومتری، الیزا ، RT-PCR و غیره می باشد.

### رده های سلولی که در آزمایشگاه کشت سلول گروه علوم تشریحی مورد استفاده قرار می گیرند:

- Human Adipose- Derived Stem cell (hADSC)
- Mouse Adipose- Derived Stem cell (mADSC)
- Dog Adipose- Derived Stem cell (dADSC)
- Human lung fibroblast cells (MRC-5)
- Mouse fibroblast cell line (L929)
- Human osteoblast cell line
- Human chondroblast cell line
- Breast cancer cell (MCF-7)
- Human osteosarcoma cell line (MG63)
- Human erythromyeloblastoid leukemia cell line (K562)
- Human lung carcinoma cell line (A549)
- Human Gum fibroblast (HGF)
- Liver cancer cell (HEPG2)

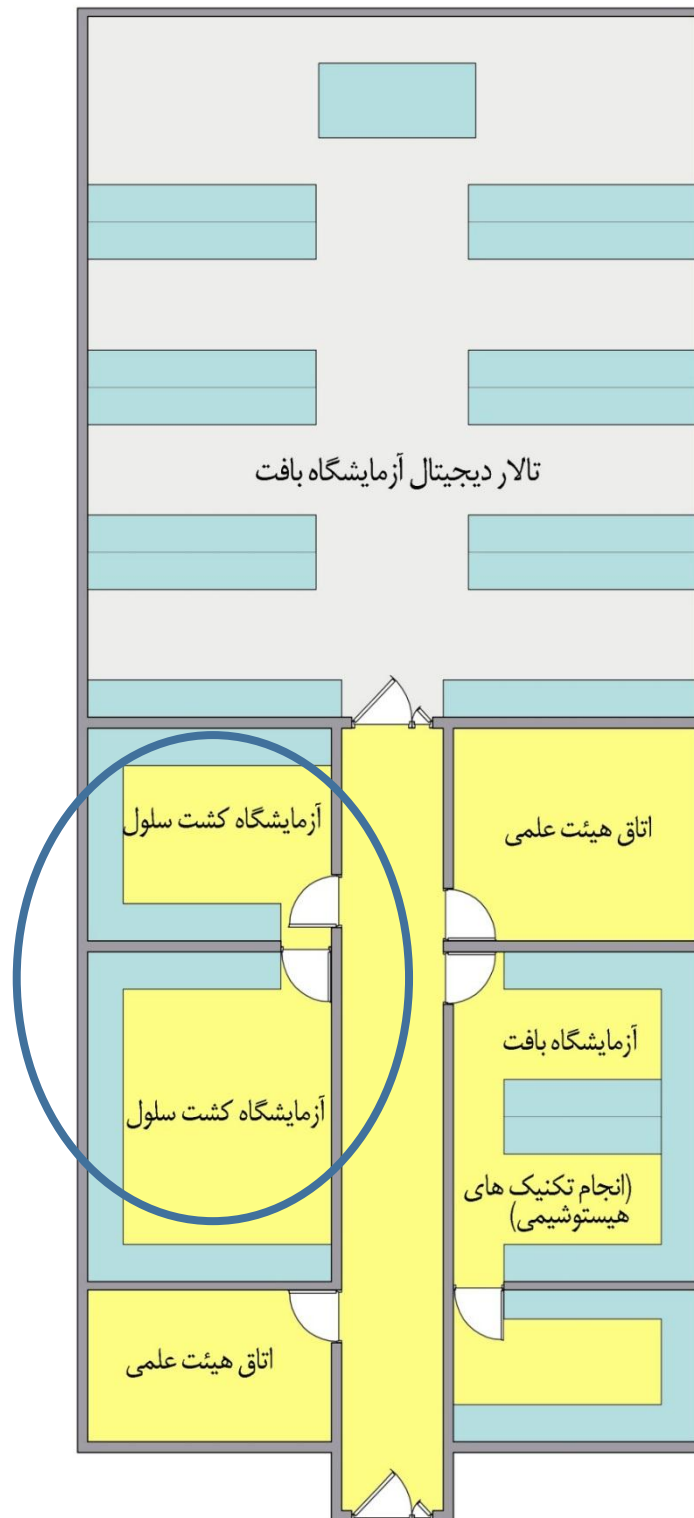
# Cell culture laboratory

## Department of Anatomical Sciences



# Cell culture laboratory

## Department of Anatomical Sciences



پلان بخش بافت شناسی

## شرایط لازم برای ورود به آزمایشگاه کشت سلول

1. داشتن پایان نامه یا طرحی که مرتبط با کشت سلول باشد.
2. گذراندن واحد آموزشی کشت سلول و یا گذراندن آموزشهای لازم و تائیدیه استاد مربوطه .
3. ارائه معرفی نامه از طرف استاد راهنما به مسئول آزمایشگاه کشت سلول .
4. لزوم آشنایی اولیه ( عمومی ) با اتاق کشت گروه و تحویل گرفتن وسایل و کمد.
5. مطالعه قوانین و مقررات ( کتابچه ) آزمایشگاه کشت سلول.
6. امضای فرم مخصوص و تحویل آن به مسئول آزمایشگاه کشت سلول.

## آموزش های لازم برای دانشجویان در بدو ورود به آزمایشگاه کشت سلول:

- ✓ آشنائی با تجهیزات موجود در آزمایشگاه کشت سلول و آموزش دستورالعمل هر دستگاه.
- ✓ آشنائی جامع با اصلاحات به کار رفته در کشت سلولی .
- ✓ آشنایی با انواع محیطهای کشت و مواد و محلول های مرتبط با کشت سلول.
- ✓ آشنائی با انتخاب و تهیه محیط پایه و محلول سازی و موارد احتیاط در تهیه محیط های کشت و نگهداری آنها.
- ✓ آشنائی با روشهای استریل کردن و کنترل آلودگی و نحوه کار کردن در زیر هود لامینار.
- ✓ آشنایی با روشهای جلوگیری از آلودگی سلولی.
- ✓ آشنائی کامل با کشت سلولهای چسبنده.
- ✓ آشنائی با منجمد کردن و آماده سازی برای کشت.

## استاندارد های کلی کار در آزمایشگاه کشت سلول :

- برای انجام کارهای مربوط به کشت سلول یک آزمایشگاه جداگانه و اختصاصی به صورت استریل در نظر گرفته شده است :
- ✓ این اتاق باید عاری از هر گونه شلوغی و تردد غیر ضروری باشد .
- ✓ آزمایش هایی که نیاز به فضای استریل ندارد نباید در آزمایشگاه کشت سلول انجام شود.
- ✓ شستن دست ها و پوشیدن دستکش و روپوش سفید مخصوص قبل از شروع کار در اتاق کشت سلول الزامی است.
- ✓ روپوش مخصوص آزمایشگاه کشت سلول باید در ورودی آزمایشگاه پوشیده شده و روپوشی که از این محیط خارج می گردد نباید مجدداً وارد آزمایشگاه شود.
- ✓ تمام سطوح کار، میز ها و قفسه ها و هود لامینار باید به طور مرتب با اتانول 70% یا یک پاک کننده جایگزین به درستی آلودگی زدایی شود .
- ✓ اگر شیوه های استریلیزاسیون به درستی رعایت گردد و نظافت و نظم محیط حفظ شود، می توان تا حدودی از محیط کار استریل آسوده خاطر بود .



## اصول اولیه کار در آزمایشگاه

- (1) در اولین ورود خود به آزمایشگاه اطلاعات لازم را از مسئول آزمایشگاه یا اساتید راهنما آموزش ببینید.
- (2) با روپوش سفید در آزمایشگاه حاضر شوید .
- (3) پوشیدن دستکش در مواقع کار در اتاق کشت سلول الزامی است.
- (4) هنگام کار با موادی که به پوست شما آسیب می رسانند یا جذب می شوند و هنگام کار با نونه های عفونی از دستکش استفاده کنید.
- (5) افراد کمتر از 16 سال نباید به آزمایشگاه وارد شوند.
- (6) افرادی که دچار ضعف ایمنی بوده و ممکن است در معرض خطر آلودگی با عواملی مثل عفونت قرار گیرند، ورود آنها به آزمایشگاه مجاز نیست.
- (7) نوشیدن، خوردن و جوییدن آدامس در آزمایشگاه ممنوع است .
- (8) آزمایشگاه مکانی برای انجام کار جدی و اصولی است . هر ماده شیمیایی باید سمی تلقی شود مگر اینکه کاملاً معلوم شود سمی نیست . بنابراین در کاربرد موادی که در هر آزمایش با آنها سروکار دارید، باید نهایت دقت را بکار ببرید.
- (9) افراد باید با خطرات ویژه کار آشنا و دستورالعملها و روشهای لازم را مطالعه و بخاطر بسپارند و هر فرد موظف به مطالعه safety data sheet موادی که استفاده میکند، می باشد.
- (10) به کلیه موارد اعلام شده در آزمایشگاه توجه کافی داشته و دستور کارها و اطلاعاتی های نصب شده در آزمایشگاه را رعایت کنید.

## اصول اولیه کار در آزمایشگاه

- (11) آزمایشهای خود را بدون اجازه و هماهنگی قبلی با استاد راهنما انجام ندهید.
- (12) در صورت مشاهده هرگونه خرابی یا مشکل در دستگاهها به اساتید راهنما یا مسئول آزمایشگاه اطلاع دهید.
- (13) در صورت عدم استفاده صحیح از دستگاهها و ایجاد خرابی، مسئول خواهید بود.
- (14) وسایل آزمایش خود را در موقع آزمایش، منظم روی میز قرار داده، جزوه و دست نوشته هایی را که ممکن است خیس یا آلوده گردند در قسمت بالایی میز بگذارید.
- (15) از جابجا کردن و تغییر محل دستگاه ها بدون هماهنگی با مسئول آزمایشگاه خودداری کنید.
- (16) وسایل و موادی را که مشترکاً به کار برده می شوند، بعد از استفاده، فوراً به جای خود برگردانید و به هیچ وجه در کمد شخصی خود نگذارید تا سایرین نیز، از آنها به موقع استفاده نموده و بی نظمی در آزمایشگاه به وجود نیاید.
- (17) چنانچه ظرف محتوی نمونه خود را در یخچال، فریزر، انکوباتور، بن ماری یا زیرهود قرار می دهید برای جلوگیری از اشتباه نام خود را بر روی برچسب آن یادداشت کنید. در غیر این صورت آزمایشگاه مسئولیتی در قبال بیرون ریخته شدن نمونه شما ندارد.
- (18) در صورت گم شدن یا دور ریخته شدن وسایل یا نمونه های جا گذاشته شده بر روی میز، هیچگونه مسئولیتی متوجه مسئول آزمایشگاه نمی باشد.
- (19) هر فرد موظف به رعایت نکات ایمنی حین کار با مواد مورد نظر بوده و در صورت ایجاد هر مشکل احتمالی مسئول خواهد بود. لذا در صورت کار با مواد خطرناک، سایر دانشجویان و مسئول آزمایشگاه را نیز آگاه نماید.
- (20) مراقبت دائم در طی آزمایش از محلول یا موادی که با آن کار می کنید وظیفه شماست. به این نکته توجه داشته باشید که همکار دیگری در طرفین و یا در مقابل شما مشغول کار و آزمایش است.

## اصول اولیه کار در آزمایشگاه

- (21) در هنگام کار با ایتیدیوم برماید یا سایر مواد خطرناک، به منظور جلوگیری از آلوده شدن میز زیر دست خود روزنامه یا دستمال کاغذی پهن کنید.
- (22) هر گونه آسیب یا مشکل موجود در هر آزمایش را فوراً به مسئول آزمایشگاه اطلاع دهید.
- (23) اگر به هر دلیلی چشم ها دچار سوزش شد باید بلافاصله آنها را مستقیماً زیر شیر آب گرفته و یا از چشم شوی استفاده کنید.
- (24) به وسایل برقی با دست های خیس به هیچ وجه دست نزنید و در صورت بروز هر گونه حادثه با وسایل برقی، اول سیم برق آن را از پریز بکشید.
- (25) چنانچه از گرمکن برقی مثل هیتر استفاده می نمایید، اطمینان حاصل نمایید از اینکه سیم های برق آن در اثر بی احتیاطی و چسبیدن به بدنه داغ آن آسیب ندیده و لخت نشده باشند.
- (26) چندین ظرف را همزمان با یک دست جا به جا نکنید.
- (27) در صورت شکسته شدن هر وسیله شیشه ای ابتدا مسئول آزمایشگاه را مطلع سازید و سپس با دقت خرده شیشه ها را در ظرف مخصوص جمع آوری کنید.
- (28) به محض احساس آلودگی محیط تهویه ها را روشن کرده و در صورت احساس ناراحتی، سریعاً آزمایشگاه را ترک و مسئول آزمایشگاه را آگاه سازید.

## اصول اولیه کار در آزمایشگاه

- 29) آزمایش هایی که مواد و بخار و گازهای سمی تولید می کنند، باید در زیر هود آزمایشگاه انجام شود تا آلودگی هوا به حداقل برسد. اسیدهای غلیظ در محفظه هود آزمایشگاه نگهداری شود.
- 30) از مواد شیمیایی به اندازه مورد احتیاج برداشته و هیچگاه بدون مشورت با اساتید راهنما مواد شیمیایی دست خورده را به ظرف اصلی بازنگردانید.
- 31) هیچگاه اسیدها، قلیاها، مایعات سمی و یا اشتعال پذیر را در دستشویی خالی نکنید.
- 32) هر گونه ماده جامد آلوده را در سطل زباله مواد عفونی (زرد رنگ) بریزید و مایعات آلوده را با ساولن و یا هیپوکلریت سدیم خنثی کرده سپس داخل سینک خالی کنید.
- 33) مواد زائد دور ریختنی و کاغذهای باطله و چوب کبریت و اجسام مشابه را در سطلهای مربوطه بریزید و در دستشویی نریزید.
- 34) هرگز ماده اشتعال پذیر را در معرض شعله قرار ندهید. هنگام کار با مایعات اشتعال پذیر، از هود دودکش دار استفاده کنید.
- 35) بخاطر داشته باشید که بخارهای مایعات اشتعالپذیر همواره سنگینتر از هوا هستند، از این روی، در راستای میزها و درون فاضلاب حرکت می کنند و درون دستشویی ها باقی می مانند. به همین دلیل همه شعله های موجود در جوار يك مایع اشتعال پذیر را باید خاموش نمود.
- 36) هر گونه استفاده از حلال های آلی چنانچه شعله ای در آزمایشگاه روشن باشد، هر چقدر هم که منبع حرارتی در فاصله دور باشد، خطرناک و بازی با جان خود است.
- 37) روش صحیح مخلوط کردن محلول های غلیظ اسیدی با آب را بیاموزید. همیشه بایستی اسید غلیظ را به آرامی به آب بیافزاییم و هرگز آب را به حجم زیادی از يك اسید اضافه نکنید. در میان اسیدها، اسید سولفوریک خطرناکترین است.
- 38) توجه داشته باشید تحت هیچ شرایطی، مواد یاد شده را با دهان بوسیله پیت بیرون نکشید. هرگز پیت را وارد ظرف اصلی حاوی اسید غلیظ یا هر ماده دیگری نکنید.

## اصول اولیه کار در آزمایشگاه

- 39) رعایت نظافت در تمامی لحظات حضور در آزمایشگاه مسئله مهمی است. میز کار خود را همواره تمیز نگهدارید.
- 40) وسایل شیشه ای شکسته شده و مواد جامد و مایع زائد و زباله را در جایی که برای آنها تعبیه شده است قرار دهید و هیچ گاه آنها را در درون دستشویی نریزید.
- 41) هنگام کار با مواد فرار در آزمایشگاه عینک بزنید. هر گاه دارویی به چشم شما برسد، زود چشمتان را با آب بشوئید و سریع مسئول آزمایشگاه را آگاه سازید. توجه داشته باشید عینک طبی جای عینک ایمنی را نمی گیرد.
- 42) هرگز از لنز چشمی در آزمایشگاه استفاده نکنید. حتی اگر عینک ایمنی هم به چشم داشته باشید، این لنزها بخارها را جذب می کند و بیرون آوردن آنها در موارد ضروری مشکل است.
- 43) از تماس مستقیم پوست، از تنفس بخار مواد شیمیایی ( علی الخصوص بوکردن مستقیم مواد و بخارات آنها) و همچنین از چشیدن مواد خودداری کنید.
- 44) عنوان روی ظرف هر ماده را قبل از مصرف محتویات آن کنترل نمایید. سهل انگاری در این مورد گاهی فاجعه بار است.
- 45) از دست زدن به مواد شیمیایی یا وسایل و دستگاههایی که خطرات یا طرز کار آنها را نمی دانید، جدا خودداری کرده و از اساتید راهنما، راهنمایی و کمک بخواهید.
- 46) اگر اسید یا مواد خورنده دیگری بر روی میز یا زمین ریخت، فوراً پس از اطلاع به مسئول آزمایشگاه و هماهنگی با وی محل را با آب فراوان شستشو دهید.
- 47) هیچگاه ماده ای را مستقیماً با دست بر ندارید و از وسایلی نظیر اسپاچول استفاده کنید.
- 48) در شکستن و خرد کردن مواد جامد برای وزن کزدن، تمرین و دقت کافی بعمل آورید. ممکن است پاشیدن و پرتاب شدن ذرات جامد به صورت شما یا اطراف موجب خطر گردد.

## اصول اولیه کار در آزمایشگاه

- (49) از گذاشتن وسایل شخصی خود (کیف ، موبایل، جزوه و ...) در آزمایشگاه خودداری کنید. در صورت گم شدن هیچ گونه مسئولیتی متوجه مسئول آزمایشگاه نخواهد بود.
- (50) محل های کپسول آتش نشانی ، جعبه کمک های اولیه و چگونگی استفاده از وسایل ایمنی موجود را بدانید.
- (51) در ساعات غیر اداری مسئول هر گونه حوادث احتمالی و یا گم شدن وسایل میباشید. لذا موظفید در زمانهایی که به هردلیلی در آزمایشگاه حضور ندارید درب آزمایشگاه را قفل نموده و وسایلی مثل هود، ترازو، سانتریفوژ و میکروسکوپ و غیره را خاموش کنید.
- (52) در پایان آزمایش نیز تمامی وسایلی را که استفاده نموده اید و ن مایع شوینده، شسته و در سبد کنار ظرفشویی یا کمد خود قرار داده و میز کار خود را تمیز کنید .
- (53) پس از اتمام کار صندلی ها به جای اول خود برگردانید.
- (54) پیش از ترک آزمایشگاه، کنترل کلیه دستگاهها، خاموش کردن دستگاههای روشن، کشیدن روکش دستگاههایی که با آن کار کرده اید، شستشوی دست ها به صورت تمیز و مطمئن و قفل نمودن درب آزمایشگاه کارهایی است که باید از انجام آن مطمئن شوید.

## تجهیزات موجود در آزمایشگاه کشت سلول :

### 1) بن ماری

**کاربرد دستگاه:** ایجاد حرارت مرطوب در درجات مختلف  
**دستورالعمل کار با دستگاه:** پس از روشن کردن دستگاه دکمه SET را فشار دهید و همزمان پیچ تنظیم دما را بچرخانید تا دمای دلخواه شما را نشان دهد. حالا دکمه SET را رها کنید و منظر بمانید تا دستگاه به دمای تنظیم شده برسد.  
**احتیاطات لازم هنگام کار با دستگاه:**

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

## 2) ترازوی دیجیتال

**کاربرد دستگاه:** توزین مواد

**دستورالعمل کار با دستگاه:**

- پس از روشن کردن دستگاه درب کشویی آن را به آرامی باز کنید.
- کاغذ یا فویل آلومینیومی را روی کفه ترازو قرار دهید.
- دکمه zero را فشار دهید تا دستگاه کالیبره شود.
- حالا دستگاه آماده استفاده است.

**احتیاطات لازم هنگام کار با دستگاه:**

- ✓ مکان قرار گیری ترازو در معرض نور مستقیم خورشید نباشد.
- ✓ در جهت جریان شدید هوا قرار نگیرد.
- ✓ برای جابجا کردن، دو دست خویش را در جلو و عقب ترازو جای دهید و آن را جابجا کنید.
- ✓ جابجایی نایستی از دو پهلو ترازو صورت گیرد.
- ✓ بعد از هر توزین بایستی صفحه توزین ترازو پاک شود و حتی الامکان اطمینان داشت که بین کفه ترازو ماده ای ریخته نشده باشد. زیرا وجود هر نوع جسم خارجی بسیار کوچک منجر به خطای ترازو در خواندن وزن می گردد.
- ✓ استفاده از حلال های آلی نظیر اتانول برای تمیز کردن ترازو توصیه نمی شود برای پاک کردن ترازو از آب و شوینده ها استفاده کنید.





### 3) اتوکلاو

#### کاربرد دستگاه:

اتوکلاو دستگاهی است که با استفاده از بخار آب تحت فشار عمل استریلیزاسیون را انجام می دهد. رایج ترین تنظیم برای اتوکلاو ۱۵ دقیقه در  $121^{\circ}\text{C}$  است.

#### دستورالعمل کار با دستگاه:

- دستگاه را تا روی المنت ها از آب مقطر پر کنید.
- وسایل مورد نظر را داخل دستگاه بگذارید.
- درب دستگاه را ببندید و پیچ های آن را محکم کنید.
- دستگاه را روشن کنید و پس از اتمام زمان تنظیم شده از برق جدا کنید و پس از سرد شدن کامل وسایل خود را خارج کنید.

#### احتیاطات لازم هنگام کار با دستگاه:

- ✓ سطح آب درون دستگاه نباید از انتهای پائین دیگ بالاتر رود.
- ✓ پیچهای درب را باید کاملاً محکم بست. برای این منظور باید پیچهای روبروی همبسته 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 زمان طولانی تر تفاوتی در نتیجه حاصل ندارد.
- ✓ بهتر است جهت جلوگیری از تشکیل رسوب در دستگاه اتوکلاو، از آب مقطر استفاده نمایید.
- ✓ ظروف دارای محلول را نباید پر کرد و حداقل یک سوم ظرف باید خالی باشد.

# Cell culture laboratory

## Department of Anatomical Sciences

- ✓ درب ظروف مخصوصاً آنهایی که حاوی محلول هستند را کاملاً نبندید. 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 دستگاه بصورت زیر عمل کنید:
- ✓ منبع حرارت را خاموش کنید و دریچه خروج بخار را آهسته باز نمایید مخصوصاً 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.



## 4) فور یا اون

کاربرد دستگاه:

ایجاد حرارت خشک برای استریل کردن لوازم شیشه ای و فلزی

دستورالعمل کار با دستگاه:

وسایل مورد نظر را داخل دستگاه قرار دهید

دما و زمان مورد نظر را تنظیم کنید و دستگاه را start کنید

احتیاطات لازم هنگام کار با دستگاه:

- ✓ از ریختن هر نوع مایعات در 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.
- ✓ دستگاه باید بر روی سطح صاف قرار گیرد.
- ✓ حتماً 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 می خواهید وسایلی که هنوز داغ هستند . از آون خارج نمایید .حتماً از دستکش محافظ استفاده نمایید و هنگام انتقال وسایل آنها را در يك سینی گذاشته و جابجا نمایید.
- ✓ برای ضد عفونی کردن وسایل حتماً به حجم مفید دستگاه توجه نموده و از قرار دادن وسایل بیش از ظرفیت دستگاه خود داری نمایید در این وضعیت ممکن است وسایل کاملاً استریل نگردند.



## 5) هود کلاس ۲

### کاربرد دستگاه:

این دستگاه به کمک فیلترهای هپا ذرات و میکروارگانیسم‌های موجود در فضا را گرفته و یک فضای استریل برای کار با سلول ایجاد می‌کند.

### دستورالعمل کار با دستگاه:

پس از روشن کردن هود فن آن را روشن کنید و پس از حدود ۱۰ دقیقه از آن استفاده کنید.

### احتیاطات لازم هنگام کار با دستگاه:

- ✓ دستگاه‌ها و مواد موجود در داخل هود باید در حد حداقل ممکن باشند. نباید جریان گردش هوا به فضای اشغال شده پشتی، مسدود شود.
- ✓ چراغ‌های شعله‌ای نباید در هود استفاده شوند. گرمای تولید شده در جریان طبیعی هوا اختلال ایجاد می‌کند و ممکن است به فیلترها آسیب برساند.
- ✓ کلیه کارها باید در بخش میانی یا عقبی میز کار انجام گیرد و از طریق پانل شیشه‌ای قابل رویت باشد.
- ✓ پشت سر کاربر، نبایستی شلوغ باشد.
- ✓ کاربر نبایستی با جابجایی مکرر دست‌هایش باعث آشفته‌گی جریان هوا شود.
- ✓ شبکه‌های هوا نباید به وسیله اجسامی از قبیل دفترچه یادداشت، پیت‌ها یا سایر اجسام مسدود شوند، چون این حالت جریان هوا را قطع کرده و باعث آلودگی بالقوه مواد و آلودگی در کاربر می‌گردد.
- ✓ سطح هود بایستی با به‌کارگیری یک ماده ضد عفونی کننده مناسب بعد از اتمام کار و پایان روز خشک و تمیز شود.
- ✓ فن هود بایستی حداقل به مدت 5 دقیقه قبل از شروع کار و بعد از اتمام کار در کابینت جریان داشته باشد.
- ✓ قلم و کاغذ حتی الامکان نبایستی داخل هود قرار داده شود.



# Cell culture laboratory

## Department of Anatomical Sciences

- ✓ ظروف کشت سلول را با فاصله از یکدیگر قرار دهید تا جریان هوا به خوبی صورت گیرد. اگر فاصله این ظروف کم باشد تعدیل دما و گاز در بین آنها به خوبی صورت نمی گیرد.
- ✓ -همیشه مراقب باشید که درب داخلی انکوباتور خوب بسته شده است.
- ✓ قبل از برداشتن فلاسک های کشت سلول ، از دستکش های لاتکس استفاده نموده و حتما دست ها را ضد عفونی نمائید
- ✓ در انکوباتورهای کشت سلولی میزان CO<sub>2</sub> تحت تاثیر میزان رطوبت بوده و پائین آمدن رطوبت باعث بالا رفتن میزان گاز در سنسور دستگاه می شود تمیز نمودن مرتب این سنسور با الکل 70 درصد یا ایزوپروپیل الکل ضروری است.
- ✓ هنگام استفاده از الکل جهت تمیز نمودن داخل انکوباتور دقت لازم را بعمل بیاورید. بویژه 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.
- ✓ برای جلوگیری از آلودگی در انکوباتور، قفسه ها و دیواره دستگاه همواره باید خشک باشد.
- ✓ در اثر باز ماندن درب دستگاه به مدت طولانی رطوبت موجود در انکوباتور بصورت قطرات آب در آمده و این قطرات روی قفسه و دیواره ها باعث رشد باکتریها، قارچها و مخمرها می شود و در این موارد آب موجود را کاملا خشک کنید و محل را به خوبی ضد عفونی نمایید .

## 7) میکروسکوپ فاز کنتراست

### کاربرد دستگاه:

برای شمارش سلولی و بررسی مورفولوژی و تعیین حیات سلول وجود یک میکروسکوپ نوری مجهز به فاز کنتراست در اتاق کشت لازم است. سلول های کشت داده شده هر روز باید از نظر میزان رشد ، مورفولوژی سلول و احتمال آلودگی با باکتری ها و قارچ ها با این میکروسکوپ بررسی شوند.

### دستورالعمل کار با دستگاه:

- دستگاه را به کمک دکمه سبز رنگ سمت چپ روشن کنید.
- نور دستگاه را با پیچ مشکی سمت چپ تنظیم کنید.
- بسته به شماره لنز مورد نظر فیلتر متناسب را در مسیر نور قرار دهید.
- حال فلاسک سلول را روی stage قرار دهید و مشاهده کنید.

### احتیاطات لازم هنگام کار با دستگاه:

- ✓ قبل از استفاده و بعد از آن stage را با دتال آغشته به الکل ۷۰ درجه ضد عفونی کنید.
- ✓ پس از پایان کار از خاموش بودن دستگاه مطمئن شوید زیرا لامپ این میکروسکوپ عمر محدودی دارد و روشن ماندن بیش از حد آن باعث داغ شدن شدید و آسیب به دستگاه می شود.
- ✓ در پایان روکش دستگاه را بکشید.



## 8) تانک ازت مایع

کاربرد دستگاه:

ازت مایع با دمایی نزدیک به 196 درجه زیر صفر محیط مناسبی برای نگهداری طولانی مدت سلول ها و اصطلاحاً فریز آنها می باشد. این عمل به منظور ممانعت از جهش سلولی و محافظت از لاین سلولی در مقابل آلودگی و دیگر اتفاقات ناگوار صورت می پذیرد

دستورالعمل کار با دستگاه:

جهت قرار دادن ویال سلول و یا خارج کردن آن از تانک ازت با حتماً با مسئول آزمایشگاه هماهنگ کنید.

احتیاطات لازم هنگام کار با دستگاه:

- ✓ کلیه ویال های سلول که در تانک ازت گذاشته می شوند باید دارای برچسب مشخصات کامل سلول و تاریخ فریز باشند.
- ✓ به علت تبخیر سریع ازت مایع، درب تانک نباید بازماند.
- ✓ چک کردن سطح ازت در تانک ضروری است.
- ✓ ازت مایع، بی رنگ، بی بو، بی مزه ولی کشنده است.
- ✓ ازت مایع بی نهایت سرد و به سرعت میزان اکسیژن محیط و بافت را کاهش می دهد و برای بافت چشم بخصوص بسیار خطرناک است.
- ✓ هنگام کار با تانک ازت پوشیدن دستکش ضخیم و استفاده از ماسک و عینک محافظ ضروری می باشد.
- ✓ اگر شخصی بوسیله ازت مایع دچار سرگیجه شده و یا کمی بی هوش گردید، او را به محیط کاملاً باز برده و گرم نگه دارید.
- ✓ اگر ازت مایع روی دست، پا و یا صورت بریزد باید محل آسیب دیده بلافاصله با آب 35-40 درجه گرم شود.



## 9) PH متر دیجیتالی

کاربرد دستگاه:

PH متر دستگاه الکترونیکی برای محاسبه PH مواد است. این دستگاه متشکل از دو بخش اصلی یعنی میله کاوشگر (probe) و اندازه گیر (meter) است. میله کاوشگر PH محلول را تبدیل به سیگنال الکتریکی کرده و اندازه گیر آن را تحلیل و میزان PH را نمایش می دهد.

دستورالعمل کار با دستگاه:

- دستگاه را به برق ( منحصراً پریزهای متصل به UPS) متصل کنید.
- الکتروود دستگاه را از محل مخصوص آن خارج کرده و با پیست آب مقطر آن را شستشو داده و با دستمال کاغذی به آرامی خشک کنید.
- دکمه ON/OFF را فشار دهید.
- الکتروود را وارد محلول مورد نظر نمائید ( کافی است حلقه سیاه رنگ وارد محلول شود).
- دکمه  $PH/mv/c^{\circ}$  را فشار دهید تا PH محلول نشان داده شود.
- در پایان کار دکمه ON/OFF را فشار دهید.
- الکتروود را از محلول خارج کنید و با آب مقطر شستشو داده و با دستمال خشک کنید و در محل مخصوص خود قرار دهید.

احتیاطات لازم هنگام کار با دستگاه:

- ✓ از این PH متر صرفاً برای سنجش PH با فرهای رایج در آزمایشگاه کشت سلول و یا محیط های کشت سلول استفاده می شود.
- ✓ به هیچ عنوان برای سنجش PH محلولهای دیگر از آن استفاده نکنید.
- ✓ در صورت هر گونه سوال از کارشناس آزمایشگاه کمک بخواهید.



## 10) میکرو پلیت ریدر

### کاربرد دستگاه:

دستگاه میکروپلیت ریدر ( Microplate – Reader ) معمولاً به نام های میکروفتومتریک – پلیت ریدر ، دستگاه الایزا ریدر و خوانش گر الایزا نیز نامیده می شود . یک اسپکتروفتومتر تخصصی بوده که به منظور قرائت نتایج فتومتریک آزمایش ها طراحی شده است .

### دستورالعمل کار با دستگاه:

- دستگاه را به برق ( منحصراً پریزهای متصل به UPS ) متصل کنید .
- دکمه ON/OFF را در پشت دستگاه روشن کنید .
- کمی صبر کنید تا منوی اصلی دستگاه نمایان شود پس پلیت 96 خانه خود را پس از برداشتن درب در قسمت مخصوص فیکس کنید
- با قلم مخصوص دستگاه گزینه test را از منوی اصلی انتخاب کنید .
- پنجره Select plate parameter را OK کنید .
- از گزینه New برنامه مورد نظر خود را انتخاب کنید .
- خانه های حاوی نمونه را روی نقشه پلیت 96 انتخاب کنید .
- گزینه Start را فشار دهید .
- در صورت نیاز به چاپ داده ها گزینه Print را فشار دهید .
- پس از پایان کار از گزینه Exit و بعد Cancel از برنامه خارج شوید .
- پلیت خود را از دستگاه خارج کنید .

# Cell culture laboratory

## Department of Anatomical Sciences

### احتیاطات لازم هنگام کار با دستگاه:

- ✓ هرگز قبل از آمدن Menu اصلی پلیت را داخل دستگاه قرار ندهید.
- ✓ هرگز پلیت را با درب داخل دستگاه قرار ندهید زیرا باعث آسیب جدی به دستگاه می شود.
- ✓ حتماً قبل از شروع کار نحوه قرار دادن پلیت را در محل مخصوص از کارشناس آزمایشگاه آموزش ببینید.
- ✓ برنامه ها توسط کارشناس آزمایشگاه برای دستگاه تعریف شده است، در صورت نیاز به برنامه جدید حتماً از کارشناس کمک بخواهید و از ایجاد تغییرات در برنامه ها خودداری کنید.



## 11) سانتریفیوژ یخچال دار

**کاربرد دستگاه:** ایجاد نیروی گریز از مرکز و جداسازی مواد در یک محلول حساس به حرارت

**دستورالعمل کار با دستگاه:** دکمه ON/OFF کنار دستگاه را فشار دهید تا دستگاه روشن شود.

در کنار پنجره Menu دستگاه دو دکمه در سمت راست یک دکمه در سمت چپ دیده می شود.

دکمه سبز رنگ سمت چپ، دکمه Start و دکمه نارنجی Start برای بازکردن درب دستگاه به کار می رود. دکمه Stop که فعلاً به حالت خاموش است و بعد از Start زدن به رنگ قرمز در می آید برای Stop کردن دستگاه می باشد.

پس از بازکردن درب دستگاه، به کمک آچار مخصوص و با راهنمایی کارشناس آزمایشگاه روتور مورد نظر خود را روی دستگاه نصب کنید.

حالا درب دستگاه را دوباره بسته و تنظیمات مورد نظر را انجام دهید.

با چرخاندن پیچ آبی سمت چپ می توانید کلمه Set را روی قسمت های مختلف Menu جابجا کنید.

ابتدا Set را در کنار قسمت Timer قرار دهید. حالا با یک بار چرخاندن پیچ آبی سمت راست، Set شروع به چشمک زدن می کند و آماده اعمال تغییر می شود. با چرخاندن های بعدی پیچ سمت راست، Time مناسب را انتخاب کنید.

\* نکته: در قسمت Second با هر بار پیچاندن پیچ آبی، 10 ثانیه افزایش زمان خواهید داشت برای تغییر زمانی در حد 1 ثانیه، با یک دست دکمه Start را فشار دهید و با دست دیگر پیچ آبی سمت راست را بچرخانید تا ثانیه دلخواه را به دست آورید.

با یک بار فشار دادن پیچ سمت راست، تغییر ایجاد شده را ثابت کنید.

# Cell culture laboratory

## Department of Anatomical Sciences

- ✓ با چرخاندن دوباره پیچ آبی سمت چپ، Set را جا بجا کرده تا در قسمت Speed یا دور قرار گیرد. بر حسب پروتکل، واحد g یا rpm را انتخاب کرده و مانند قسمت Time تغییرات عددی لازم را انجام دهید.
- ✓ نکته: هرگز دور را تا میزان Max بالا نبرید زیرا باعث آسیب جدی به موتور دستگاه خواهد شد..
- ✓ اگر پروتکل شما نیاز به دمای خاصی دارد با بردن Set در کنار قسمت temperature دمای لازم را انتخاب کنید.
- ✓ نکته 1: در صورت انتخاب دمای پایین (حدود 4 درجه) یخچال دستگاه به کار می افتد. حتماً پس از پایان کار دما را دوباره به حالت دمای اتاق برگردانید.
- ✓ نکته 2: بین 15 تا 30 دقیقه زمان لازم است تا دستگاه به دمای مورد نظر برسد در طول آن زمان حتماً درب دستگاه را به حالت بسته قرار دهید.
- ✓ هر موتور شماره مخصوص خود را دارد که روی آن حک شده است، قبل از Start زدن شماره روتور را با شماره Rotor که در پایین صفحه Menu دستگاه ظاهر شده است چک کنید در صورت مغایرت درب دستگاه را بسته و درحد چند ثانیه دستگاه را Start کنید تا دستگاه روتوری که شما نصب کرده اید شناسایی کند.
- ✓ قبل از اینکه دستگاه را Start کنید، با فشار دادن دکمه Stop می توانید حالت Soft start و یا Soft start را به صورت جداگانه یا هم زمان انتخاب کنید.
- ✓ پس از ایجاد تنظیمات لازم پیچ آبی چپ را چرخانده تا روی حالت قفل قرار بگیرد.
- ✓ حالا می توانید درب دستگاه را باز کرده نمونه های خود را با رعایت بالانس لازم درون دستگاه قرار دهید و پس از بستن درب دستگاه آن را Start کنید.
- ✓ پس از گذشتن زمان داده شده، دستگاه بوق مخصوصی زده و شما می توانید درب دستگاه را باز کرده و نمونه های خود را به آرامی خارج کنید.
- ✓ در پایان کار دکمه ON/OFF کنار دستگاه را فشار داده و دستگاه را از برق خارج کنید.

# Cell culture laboratory

## Department of Anatomical Sciences

### احتیاطات لازم هنگام کار با دستگاه:

- ✓ هرگز دور را تا میزان Max بالا نبرید زیرا باعث آسیب جدی به موتور دستگاه خواهد شد.
- ✓ در صورت انتخاب دمای پایین ( حدود 4 درجه ) یخچال دستگاه به کار می افتد. حتماً پس از پایان کار دما را دوباره به حالت دمای اتاق برگردانید.



## 12) ترموسایکلر

کاربرد دستگاه:

دستگاه ترموسایکلر وسیله ای است که در آزمایش PCR برای ایجاد دماهای مختلف در مدت زمان های مورد نظر، قابل برنامه ریزی می باشد

دستورالعمل کار با دستگاه:

- ✓ دستگاه را به برق ( منحصراً پریزهای متصل به UPS ) متصل کنید.
- ✓ دکمه ON/OFF را سمت چپ پشت دستگاه روشن کنید.
- ✓ روی منوی اصلی دستگاه در سمت چپ گزینه System user را فشار دهید.
- ✓ در پنجره بعدی گزینه Programs را انتخاب کنید و از آنجا برنامه مورد نظر خود را که قبلاً توسط کارشناس آزمایشگاه تعریف شده است را انتخاب کنید و بعد از مشاهده مراحل برنامه مورد نظر و چک کردن دماها و زمان ها ، گزینه RUN را فشار دهید.
- ✓ پنجره Do you wish to log this program? ظاهر می شود گزینه NO را انتخاب کنید.
- ✓ با پیچاندن پیچ نارنجی رنگ روی دستگاه به سمت راست درب دستگاه آزاد شده و به کمک دسته مشکی روی دستگاه درب را باز کنید.
- ✓ در صورت انتخاب حالت Pause before program در برنامه مورد نظر دستگاه قبل از شروع به اجرای برنامه اصلی به حالت pause قرار می گیرد، در این حالت شما فرصت دارید میکروتیوب های خود را در قسمت بالای دستگاه قرار دهید.
- ✓ حالا با پیچاندن پیچ نارنجی به سمت چپ ( فقط در حد 2 یا 3 حرکت) درب دستگاه بسته می شود.
- ✓ حالا روی صفحه Menu گزینه start را انتخاب کنید تا برنامه اصلی اجرا شود.

# Cell culture laboratory

## Department of Anatomical Sciences

- ✓ پس از پایان برنامه دکمه Stop را فشار داده و پس از باز کردن درب دستگاه نمونه ها را خارج کرده و سپس درچند پنجره دکمه Exit را فشار داده تا به منوی اصلی دستگاه برسید (Techne)
- ✓ دکمه ON/OFF پشت دستگاه را فشار داده و دستگاه را حتماً از برق خارج کنید.

### احتیاطات لازم هنگام کار با دستگاه:

- ✓ از پیچاندن زیاد از حد پیچ جداً خودداری کنید زیرا باعث آسیب به درب دستگاه می شود.
- ✓ تنظیماتی که از قبل به دستگاه داده شده است را بدون هماهنگی با کارشناس آزمایشگاه تغییر ندهید.





## 13) کیپسول گاز فشرده CO<sub>2</sub> :

### کاربرد دستگاه:

تامین CO<sub>2</sub> برای انکوباتور

### دستورالعمل کار با دستگاه:

نصب کیپسول توسط تکنسین تاسیسات صورت گیرد.

### احتیاطات لازم هنگام کار با دستگاه:

- ✓ برای جلوگیری از آسیب های مربوط به گازهای فشرده شامل خفگی انفجار و آتش سوزی توجه به نکات زیر ضروری است:
- ✓ در حالی که کیپسول را به کمک تسمه یا زنجیر بسته آید در موقعیت عمودی جابجا کنید.
- ✓ در هنگام جابجایی سرپوش محافظ را در بالای کیپسول قرار دهید.
- ✓ از چرخ های مخصوص برای جابجایی سیلندر استفاده کنید و با تسمه یا زنجیر سیلندر را به چرخ ببندید.
- ✓ هنگامی که از سیلندر استفاده نمی کنید شیر بالای آن را بسته نگاه دارید.
- ✓ سیلندر را در مسیر راه و نزدیک در قرار ندهید.
- ✓ سیلندر را از نور خورشید و منابع گرمایی و رطوبت دور نگه دارید.
- ✓ از وارد شدن ضربه به سیلندر جلوگیری کنید.
- ✓ برای هر گاز از رگولاتور ویژه همان گاز استفاده کنید.
- ✓ برای امتحان نشت احتمالی اتصال ها از آب صابون یا محلول های مناسب دیگر استفاده کنید.

## سیستم های خنک کننده

محیط کشت و بافرها	4°C	یخچال
سرم ها ، آنزیم ها و اسید های آمینه غیر ضروری ، گلوتامین ، پیرووات ، آنتی بیوتیک ها	20°C-	فریزر
انجماد اولیه سلول ها	70°C-	فریزر
نگهداری سلول ها برای مدت زمان طولانی	196°C-	تانک ازت

## روش های استریلاسیون در آزمایشگاه کشت سلول :

### استفاده از حرارت مرطوب (اتوکلاو) :

استفاده از بخار اشباع شده تحت فشار (اتوکلاو کردن) مفیدترین و قابل اعتمادترین روش استریلیزاسیون وسایل آزمایشگاهی است. از امتیازات اتوکلاو سرعت عمل ، قابلیت نفوذ زیاد و درجه رطوبت بالا می باشد که تمامی این ها موجب انعقاد پروتئین در میکروب ها می شود .

### استفاده از حرارت خشک (فور) :

از آن به منظور استریل یا خشک کردن وسایل شیشه‌ای و یا فلزی که در آزمایشگاه به کار می‌رود ، استفاده می‌شود. استریل و خشک کردن وسایل فلزی تمیز شده با کمک حرارت و در دمای 180 درجه سانتیگراد به مدت 1 ساعت صورت می‌گیرد. با افزایش تدریجی دمای آن ، رطوبت موجود در وسایل شیشه‌ای تبخیر شده و بنابراین موجب از بین رفتن هر گونه فعالیت بیولوژیکی خواهد شد.

## استفاده از کلرین (هیپوکلریت سدیم) :

کلرین، يك اكسیدان سریع الاثر، يك میکروبکش شیمیایی موثر بر روی انواع میکرو ارگانیسم ها و به سهولت قابل دسترس است. این ماده به طور معمول به صورت سفیدکننده (وایتکس) فروخته می شود، و در واقع محلول مایع هیپوکلریت سدیم (NaOCl) است و می توان برای دستیابی به غلظت مد نظر آن را با آب رقیق کرد.

- ✓ محلول های هیپوکلریت موجود در بازار حاوی **50000 PPM** کلر می باشند.
- ✓ غلظت های مورد استفاده از این ماده برای مصارف مختلف به شرح زیر میباشد :
  - ظروف آزمایشگاه : 1 به 20 ( 2500PPM )
  - محیط آزمایشگاه : 1 به 50 ( 1000 PPM )
  - وسایل تمیز: 1 به 100 ( 500PPM )
- ✓ به علت ناپایدار بودن محلول هیپوکلریت سدیم باید به صورت روزانه تهیه شود. یک محلول مناسب باید زرد رنگ باشد و بوی کلر به وضوح از آن استشمام شود.

## موارد احتیاط استفاده از هیپوکلریت سدیم :

- ✓ کلرین بخصوص بهصورت سفید کننده دارای خاصیت قلیایی بالایی است که می‌تواند سبب خوردگی فلزات شود. فعالیت آنها به‌طور قابل ملاحظه‌ای به‌وسیله مواد ارگانیک (پروتئین) کاهش می‌یابد.
- ✓ نگهداری محلول‌های استوک سفیدکننده در ظروف باز بویژه در دماهای بالا باعث آزاد شدن گاز کلرین و در نتیجه کاهش قدرت خاصیت میکروب‌کشی آنها شود.
- ✓ گاز کلرین بسیار سمی است، بنابراین باید سفیدکننده فقط در محلی نگهداری شود که دارای تهویه مناسب باشد. همچنین نبایستی سفید کننده را با اسید مخلوط کرد زیرا به سرعت گاز کلرین آزاد می‌شود. بسیاری از محصولات جانبی کلرین برای انسان و محیط زیست مضر است، بنابراین مصرف بی‌ملاحظه ضد عفونی کننده‌های دارای کلرین، بویژه سفیدکننده، بایستی اجتناب شود.

## استریلیزاسیون فیلتری :

- ✓ محیط‌هایی که قابلیت اتوکلاو ندارند باید به واسطه عبور از یک فیلتر غشایی با قطر منافذ 0.22 میکرومتر استریل شوند. این فیلترها در اندازه‌ها مختلف به منظور فیلتراسیون طیف وسیعی از مواد با حجم‌های مختلف طراحی شده‌اند.
- ✓ محیط‌های کشت، آنزیم‌ها، هورمون‌ها، کوفاکتورها و بافرهای بیکربنات نمونه‌ای از این مواد غیر قابل اتوکلاو هستند.

## استفاده از الکل ها :

- ✓ اتانول (اتیل الکل،  $C_2H_5OH$ ) و ۲- پروپانول (ایزوپروپیل الکل،  $(CH_3)_2CHOH$ ) خصوصیات ضد عفونی مشابهی دارند.
- ✓ اینها بر علیه باکتری‌های زنده، قارچ‌ها و ویروس‌های واجد غشای لیپیدی موثر هستند اما بر اسپورها تاثیری ندارند. تاثیر آنها روی ویروس‌های فاقد پوشش لیپیدی متغیر است.
- ✓ موثرترین غلظت مصرفی آنها حدود ۷۰٪ (V/V) در آب است، غلظت‌های بالاتر و پایین‌تر ممکن است میکروب‌کش نباشند.
- ✓ یکی از نکات مثبت این محلول‌های الکلی آن است که بقایای بر روی اجسام ضد عفونی شده باقی نمی‌گذارد.
- ✓ محلول الکل ۷۰٪ در آب می‌تواند روی پوست، میزکاری آزمایشگاه، هود بیولوژیک و همچنین غوطه‌ور کردن وسایل کوچک استفاده شود.

## موارد احتیاط:

- ✓ شستشوی دست‌ها توسط الکل برای آلودگی‌زدایی دست‌هایی که خیلی آلوده نیستند در مواردی که دست‌شویی مناسب در دسترس نباشد، توصیه می‌شود.
- ✓ بایستی به‌خاطر داشت که معرف‌های الکلی در برابر اسپورها غیر موثر هستند و ممکن است کلیه انواع ویروس‌های فاقد پوشش لیپیدی را نکشد.
- ✓ الکل‌ها فرار و قابل اشتعال هستند و نباید نزدیک به شعله‌های روشن استفاده شوند.
- ✓ محلول‌های کاری باید در ظروف مناسب نگهداری شده و از تبخیر الکل‌ها اجتناب شود.
- ✓ بطری‌های حاوی محلول‌های الکلی باید بطور واضح لیبل‌دار باشند و از اتوکلاوینگ آنها اجتناب شود.

## استفاده از اشعه UV :

- ✓ پرتوی فرا بنفش بر علیه آلیه میکروارگانیسم ها شامل باکتریها، ویروس ها، قارچ ها ، مخمرها و جلبکها در آب و هوای وسطوح موثر است.
- ✓
- ✓ این اشعه روی ماده وراثتی میکروارگانیسم شامل DNA و RNA اثر گذاشته و باعث از هم پاشیدن آنها می شود. بنابراین تولید مثل میکروارگانیسم خاتمه می یابد.

## احتیاطات لازم :

- ✓ اثرات UV بر پوست شامل ایجاد لکه های پوستی و سرطان پوست می باشد . همچنین موجب ورم چشم، آب مروارید و سوختگی شبکیه می شود.
- ✓ زمانی که از لامپ UV به صورت دستی استفاده میکنید پوشاندن تمامی قسمتهای پوست با استفاده از روپوشهای بلند و دستکشها الزامی است.
- ✓ استفاده از عینک محافظ در زمان روشن بودن لامپ UV الزامی است.
- ✓ در صورت نیاز به باز کردن این لامپها، دستها نباید چرب باشند و لامپ باید کاملاً خنک شده باشد .
- ✓ حرکت دادن لامپهای داغ باعث انفجار و خروج بخار جیوه داخل آنها می گردد.

## دستور العمل جلوگیری از آلودگی در اتاق کشت سلولی:

- (1) نظافت و تمیزی هفتگی کف آزمایشگاه با هیپوکلریت سدیم
- (2) چک کردن فیلتر های هود لمینار در فواصل زمانی مناسب
- (3) پاک کردن تمام سطح هودبا الکل 70 درصد قبل و پس از کار کشت
- (4) تعویض هفتگی آب انکوباتور
- (5) تمیز نمودن سطوح داخلی انکوباتور با دترجنت و الکل 70 درصد صور ماهیانه
- (6) اتوکلاو ظروف شیشه ای قبل از استفاده
- (7) قراردادن ظروف شیشه ای بدون در پوش و وسایل فلزی در فور به مدت 60 دقیقه و در دمای 180درجه سانتی گراد با پوششی از فویل قبل از استفاده
- (8) بسته بودن درب اتاق
- (9) عدم وجود وسایل غیر ضروری



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

- ✓ ابتدا سریع محل را ترک کنید.
- ✓ نفس خود را تا زمان خروج از محل نگه دارید.
- ✓ روپوش و یا پوششهای حفاظتی را بپوشید و ماسک بزنید.
- ✓ مدتی صبر کنید تا آئروسولها ته نشست حاصل کنند. (حداقل ۱۵ دقیقه)
- ✓ محل را با دستمال کاغذی و یا تنزیب بپوشانید.
- ✓ محلول ضد عفونی کننده مناسب را به آرامی در محل بریزید.
- ✓ مدتی صبر نمائید. (بسته به نوع محلول)
- ✓ بوسیله پنس قطعات شکسته را در داخل ظروف ایمن ( Safety Box ) قرار دهید.
- ✓ سپس محل را تمیز نموده و در صورت لزوم مجدداً با ماده ضد عفونی عمل فوق را تکرار نمائید.

بسمه تعالی  
فرم مخصوص اتاق کشت

اینجانب ..... دانشجوی  
PhD / MSc گروه علوم تشریحی دانشکده  
پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به  
راهنمایی استاد راهنما جناب آقای/ سرکار  
خانم دکتر..... تمام قوانین و  
مقررات اتاق کشت سلول را مطالعه نموده و  
متعهد می شوم جهت استفاده از اتاق کشت  
سلول همه آنها را رعایت نمایم.

امضاء دانشجو:  
تاریخ

امضاء استاد راهنما:  
تاریخ

## Log book دستگاه ها

دفترچه ای میباشد که کاربر هر دستگاه موظف است پس از استفاده از دستگاه نام و نام خانوادگی، تاریخ و ساعت استفاده از دستگاه و نیز وضعیت دستگاه حین استفاده (سالم یا معیوب بودن احتمالی) را در آن یادداشت نماید.



## چک لیست اتاق کشت در پایان هر روز

- 1- نوشتن نام و نام خانوادگی در دفتر مخصوص.....
- 2- جمع آوری وسایل اضافی از زیر هود، روی میزها و خارج کردن کیسه سطل زباله.....
- 3- مرتب کردن وسایل دائمی زیر هود مثل سمپلرها، پایه سمپلر.....
- 4- خاموش کردن هود، سانتریفوژ، میکروسکوپ.....
- 5- خاموش کردن کولر، هواساز، برق.....
- 6- چک کردن CO<sub>2</sub> و دمای انکوباتورها.....
- 7- چک کردن درب یخچال ها.....
- 8- قفل نمودن درب اتاق کشت.....
- 9- نوشتن زمان و تاریخ خروج در دفتر مخصوص.....