



آزمایشگاه مرجع سلامت

دستورالعمل اجرای برنامه ایمنی در انجام آزمایش های ملکولی

اداره مدیریت تضمین کیفیت

بهمن 1387

بسمه تعالی

این راهنما ارائه اطلاعات علمی و فنی لازم بر اساس اصول و استانداردهای بین المللی است که در کمیته ویروس شناسی و بیولوژی ملکولی تهیه و تنظیم گردیده است.

اعضا کمیته ویروس شناسی و بیولوژی ملکولی آزمایشگاه مرجع سلامت به ترتیب حروف الفبا عبارتند از:

دکتر امینی عضو هیأت علمی انستیتو پاستور - بخش هپاتیت و ایدز
دکتر حاجیا عضو هیأت علمی آزمایشگاه مرجع سلامت
دکتر سمیعی عضو هیأت علمی معاونت دارو و غذا و آزمایشگاه مرجع سلامت
دکتر شاهرخی عضو هیأت علمی انستیتو انیستیتو پاستور - بخش بیولوژی ملکولی
دکتر صباحی عضو هیأت علمی دانشگاه تربیت مدرس - دانشکده پزشکی
دکتر مختاری آزاد عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی تهران دانشکده بهداشت
دکتر ناجی عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی - مرکز پزشکی مسیح دانشوری

مقدمه:

آزمایشگاه هایی که در آنها آزمایش های مولکولی انجام میگردد نیازمند اتخاذ تدابیر ایمنی ویژه ای در مقایسه با سایر بخش های آزمایشگاه های تشخیص طبی می باشند.

در حال حاضر به نظر می رسد این آزمایشها در زمینه تشخیص عوامل ویروسی بویژه عواملی که واجد ریسک خطر بالاتری میباشند، از کاربرد وسیع تری برخوردار گشته اند. لذا این امر سبب گشته است تا آزمایشگاه ملزم به اتخاذ تدابیر حفاظتی ویژه ای برای پرسنل باشد. بدیهی است تنها آزمایشگاه هایی مجاز به انجام کار با عوامل ویروسی و بکارگیری روشهای ملکولی می باشند که شرایط ایمنی لازم برای کار با این عوامل را تأمین نموده و استانداردهای مورد نیاز را داشته باشند.

متن حاضر این تدابیر را در محورهای سطوح ایمنی زیستی، مواد شیمیایی خطرناک، پرتو ماوراء بنفش و حفاظت فردی مورد بحث قرار داده است.

دستورالعمل اجرای برنامه ایمنی در انجام آزمایشهای ملکولی

1- سطوح ایمنی - زیستی

به منظور تضمین انجام صحیح آزمایشها و ایمنی پرسنل از عوامل بیماریزای موجود در نمونه های بالینی ضروری است آزمایشگاههای تشخیص طبی ساز و کار لازم برای کار با عوامل خطر ساز را در اختیار گرفته و دستورالعمل های خاصی را جهت به حداقل رساندن خطرات کاری اتخاذ نمایند. جلوگیری از انتشار عوامل عفونی و در نتیجه کاهش آلودگی کارکنان آزمایشگاه و یا افراد مرتبط در محدوده آزمایشگاه از طریق بکارگیری رویه صحیح آزمایشگاهی¹ و وجود تجهیزات لازم و تعریف دقیق شرایط کاری بدست خواهد آمد.

در آزمایشگاه تشخیص طبی ضروریست در هنگام کار با عوامل عفونی مقررات سطح ایمنی - زیستی سطح 2 بطور کامل رعایت شده و متناسب با ویژگی های عوامل مورد نظر تدابیر حفاظتی تکمیلی مورد نیاز تأمین گردد. لذا ضروریست علاوه بر تأمین کلیه تجهیزات مورد نیاز (در آزمایشگاه)، شرایط لازم فیزیکی آزمایشگاه را نیز مورد توجه دقیق قرار داد. همچنین کلیه مقررات کاری به پرسنل آموزش داده شده و رعایت آنها توسط پرسنل آزمایشگاه به طور پیوسته مورد توجه قرار گیرد. با توجه به خطرات کاری با عوامل عفونی مورد آزمایش، اجرای یک برنامه منظم دوره ای جهت اطمینان از کیفیت و کارایی تجهیزات حفاظتی مورد استفاده، لازم می باشد. ایمنی زیستی، ضوابط و مقررات کاری سطح اول و دوم به همراه شرایط فیزیکی و تجهیزات مورد لزوم در ذیل تشریح می گردد.

ایمنی زیستی سطح اول

ایمنی زیستی سطح اول برای عواملی در نظر گرفته می شود که خطر شناخته شده ای برای افراد آزمایشگاه یا محیط نداشته، یا زیان بالقوه آنها حداقل می باشد.

سویه های مربوط به میکروارگانیسمهای مورد استفاده در آزمایشگاهها را که به طور مکرر کشت داده می شوند، نباید بعنوان یک سویه غیر بیماریزای ساده در نظر گرفت زیرا دارای توانایی بیماری زایی می باشند.

ایمنی زیستی سطح اول بعنوان سطح پایه در آزمایشگاه در نظر گرفته می شود که بر پایه روشهای استاندارد میکروبی شناسی استوار بوده و نیاز به سدهای اولیه و ثانویه خاصی ندارد. در این حالت آزمایشگاه از محل های پر رفت و آمد عمومی داخل ساختمان جدا نمی شود. کار معمولاً بر روی میزهای روباز آزمایشگاهی انجام می گیرد و تجهیزات خاصی مورد نیاز نبوده، یا معمولاً مورد استفاده قرار نمی گیرند.

¹ Good Laboratory Practice یا GLP

با توجه به توضیحات فوق سطح ایمنی اول طبعا نمی تواند انتظارات مورد نیاز برای کار با عوامل پاتوژن در آزمایشگاه تشخیص طبی را فراهم نماید و به طور عمده تنها برای آزمایشگاه های آموزشی توصیه می گردد.

ضوابط و مقررات کاری در سطح اول ایمنی زیستی:

- 1- در هنگام اجرای آزمایشها، ورود به آزمایشگاه منوط به اجازه کتبی مسئول آزمایشگاه است.
- 2- سطوح میز کار روزی یک بار و یا هر بار پس از ریخته شدن هر گونه ماده بالقوه عفونی باید آلودگی زدایی شود.
- 3- فضای کاری باید مجهز به شیر آب و مواد ضد عفونی کننده مناسب، جهت شستشوی دستها باشد و پرسنل باید قبل و بعد از کار دستهای خود را بطور کامل بشویند.
- 4- هرگونه ماده مایع یا جامد آلوده ای باید قبل از دور ریختن آلودگی زدایی شود.
- 5- عمل برداشت مایعات با پیپت را نباید بوسیله دهان انجام داد، بلکه این کار باید با استفاده از وسایل مکانیکی انجام شود.
- 6- خوردن، آشامیدن، سیگار کشیدن و استفاده از مواد آرایشی در محل کار مجاز نیست. مواد غذایی باید در قفسه ها یا یخچال هایی که برای این منظور اختصاص یافته اند و در خارج از محوطه آزمایشگاه نگهداری شوند.
- 7- کلیه روش های توصیه شده باید با دقت کامل انجام شوند تا تولید ذرات ریز معلق در هوا (آئروسول) به حداقل کاهش یابد.
- 8- تسهیلات لازم جهت ایمنی کار با وسایل تیز و برنده باید در نظر گرفته شود.
- 9- تمام کشت ها، مواد ذخیره و سایر مواد دفعی و پسماندها باید قبل از دور ریختن با یکی از روشهای مناسب همانند اتوکلاو نمودن، آلودگی زدایی شوند. مواد اتوکلاو شده جهت حمل به خارج از آزمایشگاه در بسته ها و ظروف غیر قابل نفوذ قرار داده شوند و جهت خروج از محوطه اصلی ساختمان آزمایشگاه، بر طبق دستورالعمل های موجود بسته بندی شده و سپس دفع گردند.
- 10- افراد آزمایشگاه جهت جلوگیری از آلودگی یا کثیف شدن لباس هایشان باید روپوش یا لباس های یکسره آزمایشگاهی بپوشند.
- 11- محل آلودگی زدایی باید مستقر در آزمایشگاه باشد تا از حمل و نقل مواد آلوده کاسته گردد. مواد آلوده باید در ظروف محکم و غیر قابل نفوذ ریخته شوند. درب این ظروف باید قبل از خارج کردن آنها از آزمایشگاه بسته شود. تدارکات وجود یک برنامه مؤثر جهت کنترل حشرات و جوندگان ضروری است.

شرایط فیزیکی آزمایشگاه

- 1- آزمایشگاه بایستی طوری طراحی شود که به آسانی قابل تمیز کردن باشد.
- 2- سطوح میزها باید غیرقابل نفوذ به آب و مقاوم به اسید، قلیا، حلال های آلی و حرارت نسبتاً بالا باشند.
- 3- تجهیزات آزمایشگاه باید محکم باشند. فاصله بین میزها، قفسه ها و تجهیزات باید به اندازه ای باشد که تمیز کردن آنها به آسانی امکان پذیر باشد.

4- هر آزمایشگاه باید دارای مکانی برای شستشوی دستها باشد.

5- پنجره های آزمایشگاه باید دارای توری باشد.

ایمنی زیستی سطح دوم

ایمنی زیستی سطح دوم برای کار با پاتوژنهایی است که برای کارکنان آزمایشگاه دارای خطر متوسط می باشند. با رعایت روش های استاندارد میکروب شناسی² می توان با این دسته از عوامل خطر ساز، با اطمینان خاطر و امنیت کافی حتی بر روی سطوح میزهای باز آزمایشگاه کار نمود. در مواردی که احتمال انتشار ذرات ریز معلق وجود دارد استفاده از کابینت های ایمنی ضروریست.

ویروس هایی مانند هپاتیت B, C, آنفلوانزا، HIV، همچنین سالمونلا و توکسوپلازما نمونه هایی از میکروارگانیسم هایی هستند که در این سطح از ایمنی زیستی قرار می گیرند و می توان با آنها کار نمود. ایمنی زیستی سطح دوم برای کار با هر گونه نمونه خونی یا ترشحات بدن انسان یا بافتها یا رده های سلولی اولیه انسانی، که امکان حضور یک عامل ناشناخته در آنها وجود دارد، ضروری است. خطر اولیه این دسته از عوامل خطر ساز برای کارکنان آزمایشگاه معمولا از طریق تماس با سطح پوست یا مخاطات، و یا تزریق اتفاقی نمونه آلوده به خود، بوجود می آید.

علاوه بر کلیه احتیاط های اشاره شده در ایمنی زیستی سطح یک ضروریست از اقدامات تکمیلی دیگر و تجهیزات مخصوص استفاده گردد. این موارد شامل استفاده از هود های ایمنی بیولوژیک و سانتریفیوژهای درب دار می باشد و سایر اقدامات شامل محافظ صورت و سطوح باز بدن، استفاده از دستکش و سایر پوشش های محافظتی است. اقدامات ثانویه که باید در آزمایشگاه اعمال شوند، شامل سیستم های شستشو و آلودگی زدایی می باشد که در جهت کاهش گسترش آلودگی محیط، ضروریست در نظر گرفته شود. بدین ترتیب تفاوت های آن با ایمنی زیستی سطح اول عبارتند از:

1- افراد آزمایشگاه آموزشهای مخصوص و لازم برای کار با عوامل بیماریزا را فرا گرفته و زیر نظر یک متخصص کار می کنند.

2- ورود به آزمایشگاه در هنگام اجرای کار محدودیت دارد.

3- در مواردی که آئروسول ممکن است تولید شود، استفاده از هود های ایمنی زیستی یا سایر تجهیزات فیزیکی مناسب ضروریست.

4- نصب علامت خطر زیستی بر روی درب ورودی آزمایشگاهی که در آنجا با عوامل بیماریزا کار می شود، ضروری است.

تجهیزات لازم برای ایمنی زیستی سطح دو:

1- هودهای ایمنی زیستی کلاس 1 برای تهیه محلول ها، work station برای تخلیص ژنومیک، هود ایمنی زیستی کلاس 2 جهت آماده سازی نمونه هایی نظیر TB، مورد استفاده قرار می گیرند.

² Laboratory Biosafety Manual, World Health Organization; Third Edition edition (February 2005)

2- نصب هودهای ایمنی بیولوژیک در مکانهایی که تغییرات جریان هوا بر روی عملکرد آنها تاثیر نگذاشته در این سطح از ایمنی زیستی توصیه می شود. هودهای مذکور باید دور از درها، پنجره ها، یا مکانهای پر رفت و آمد قرار داشته باشند.

3- روشهایی که منجر به تولید ذرات ریز معلق در هوا می شوند، باید تحت شرایط کنترل شده کار شوند.
آسیاب کردن، مخلوط کردن، تکان دادن یا به هم زدن شدید، تجزیه صوتی (Sonication) ، باز کردن درب ظرفی که فشار داخلی آنها با فشار هوای اطراف متفاوت است، باید در زیر هود انجام شوند. سانتریفیوژ باید دارای روتور مجهز به درپوش مناسب باشد.

4- محافظ های صورت (همانند عینک های محافظ، ماسک، پوشش صورت) و روپوش کفش باید مورد استفاده قرار گیرد. محافظ صورت برای جلوگیری از پاشیده شدن یا اسپری شدن عوامل عفونی یا مواد خطر ساز بر روی صورت در هنگام کار در خارج از هود های ایمنی بیولوژیک می باشد.

5- پوشیدن دستکش آزمایشگاهی در مواقعی که با عوامل بالقوه عفونی یا سطوح آلوده یا تجهیزات آلوده کار می شود، الزامی است. پوشش دو جفت دستکش مناسب تر است. دستکش ها باید به محض آلوده شدن، در پایان انجام آزمایشها، بعد از آسیب دیدن و یا پاره شدن و یا سوراخ شدن تعویض شوند. دستکش های یکبار مصرف را نباید شست و یا بیش از یکبار استفاده کرد. سطوح تمیز همانند صفحه کلید کامپیوتر یا تلفن و غیره را نباید با دستکش لمس نمود. قبل از خروج از آزمایشگاه باید دستکش های آلوده را از دست خارج نمود. دستها را باید بعد از خارج کردن دستکش ها کاملاً شستشو داد (جهت توضیحات بیشتر به دستورالعمل الزامات ایمنی و بهداشت در آزمایشگاه رجوع شود).

ضوابط و مقررات کاری سطح دو ایمنی زیستی:

علاوه بر مقررات کاری سطح یک، ضروریست کلیه پرسنل برای کار در سطح ایمنی زیستی دو ضوابط و مقررات ویژه ای را رعایت نمایند:

- 1- پرسنل آزمایشگاه باید با تمام اصول ایمنی زیستی کار با عوامل عفونی آشنا باشند.
- 2- پرسنل برای کار با عوامل بیماریزا ضروریست امکانات ایمنی لازم را در اختیار داشته باشند.
- 3- تمامی افراد باید قبل از شروع کار، واجد ایمنی لازم برای کار با عوامل بالقوه خطر ساز بوده و آزمایشهای ضروری را (نظیر هپاتیت B) انجام داده باشند.
- 4- توصیه می شود آزمایشگاه یک نمونه سرم از پرسنل در بدو ورود به آزمایشگاه تهیه نموده و در فریزر نگاه دارد.
- 5- افراد به هنگام کار در آزمایشگاه باید روپوش، لباس های یکدست آزمایشگاهی یا البسه ویژه کار بپوشند. افراد قبل از ترک آزمایشگاه و رفتن به محل های غیر آزمایشگاهی (سالن غذاخوری، بخش های اداری) باید لباس های ویژه کار خود را در آورده و در آزمایشگاه بگذارند.
- 6- تمامی مراحل کار تا زمانی که امکان انتشار آن در محیط وجود داشته باشد باید داخل کابینت ایمنی مناسب انجام گیرد.

7- وسایل و تجهیزاتاتی که برای کار با این عوامل عفونی استفاده میشود باید بصورت دوره ای ضد عفونی گردند.

8- پروتکل آزمایشگاه جهت ضد عفونی نمودن، دفع پسماندهای عفونی، و تیز و برنده باید مشخص باشد. توصیه می شود که از سرنگ جهت برداشت و نقل و انتقال مواد استفاده نشود. در صورت نیاز به استفاده، سوزنها و سرنگهای تزریقی باید فقط برای یکبار تزریق و کشیدن مایعات از بطری های دارای درپوش لاستیکی مورد استفاده قرار گیرند. در هنگام کار با سرسوزن و سرنگ ها و یا دور ریختن آنها باید از تزریق ناخواسته و تولید ذرات ریز معلق در هوا جداً اجتناب شود. سرسوزن ها را پس از مصرف نباید کج کرده یا برید. همچنین نباید آنها را مجدداً در غلاف خود قرار داده یا از سر سرنگ جدا نمود. سرسوزن و سرنگ را باید به دقت در ظروف غیر قابل سوراخ شدن (Safety Box) قرارداده و قبل از دور ریختن یا مصرف مجدد، آنها را با اتوکلاو کاملاً ضد عفونی نمود.

2- مواد شیمیایی خطرناک

کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمایشگاه و آزمایشهای ملکولی باید از جنبه های مختلف، مانند اثرات بالقوه خطرناک آنها برای سلامتی پرسنل، شرایط آزمایشگاهی لازم برای کار با آنها، نحوه نگهداری، دفع آنها و اقدامات اضطراری مورد توجه اکید قرار گیرند. لذا ضروریست اطلاعات لازم ذیل را برای کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده، مشخص نموده و در دسترس پرسنل قرار گیرد. تمامی پرسنل باید در ارتباط با استفاده صحیح، نحوه نگهداری، کار کردن و چگونگی دفع مواد شیمیایی آموزش لازم را دیده باشند. دستور العمل نحوه غیر فعال سازی باید در دسترس کارکنان باشد و در فواصل زمانی مشخص اقدامات لازم صورت پذیرد. دستورالعمل نحوه دفع صحیح کلیه موادی که امکان غیر فعال نمودن اثرات سمی آنها وجود نداشته باشد، باید در دسترس باشد. این اطلاعات عبارتند از: اطلاعات لازم در ارتباط با نوع محصول و خصوصیات آنها، نحوه نگهداری، مشتقات خطرناک آنها، احتمال آتش زایی، اطلاعات لازم در ارتباط با واکنش پذیری، خصوصیات سمی و اقدامات پیشگیرانه. از نکات قابل توجه آن است که در چیدمان مواد شیمیایی در آزمایشگاه باید نهایت دقت به عمل آید. مثلاً ترکیبات شیمیایی در محلی با تهویه مناسب قرار گرفته و در قفسه های عمومی از چیدن ترکیباتی که سرعت با سایر مواد واکنش می دهند، کاملاً اجتناب شود. همچنین قفسه ها حتی المقدور دارای درب بوده و هوای آزمایشگاه نیز تهویه مناسب داشته باشد. علائم هشدار دهنده مواد شیمیایی در مکانهای مناسب و در معرض دید افراد نصب شوند. افراد باید جهت دفع مواد شیمیایی زبان آور، آموزش دیده و تجهیزات و امکانات ضروری در آزمایشگاهها برای این امور اختصاص یابد و از مخلوط نمودن موادی که با یکدیگر واکنش میدهند اجتناب گردد. در موقع استفاده از مواد اسیدی لازم است که از ظرفی که مقاومت داشته باشند نظیر ظروف از جنس پلی اتیلن استفاده شود.

1-2 اتیدیوم بروماید

این ماده موتازن و سرطانزا است. از طریق پوست، چشم و دستگاه تنفسی می تواند نفوذ کند. کار با پودر آن بسیار خطرناک بوده و نیازمند تأمین شرایط ویژه در آزمایشگاه و مدیریت صحیح مواد آلوده به پودر اتیدیوم بروماید می باشد. بر این اساس به آزمایشگاهها توصیه میشود که اکیدا از

تهیه پودر آن اجتناب نموده و در صورت نیاز به تهیه محلول آن در آزمایشگاه، تمامی مراحل کار حتی توزین پودر در کابینت ایمنی مخصوص مواد شیمیایی (Fume Hood) انجام شود تا احتمال انتشار ذرات معلق، از آن وجود نداشته باشد. بر این اساس توصیه میشود آزمایشگاههای تشخیص طبی از محلول های آماده استفاده نمایند.

کمکهای اولیه:

1- در صورتیکه لباس یا پوست به اتیدیوم بروماید آغشته شود باید فوراً لباس آلوده را از تن خارج کرد و پوست را با مقدار فراوان آب و صابون شستشو داد.

2- در صورت آلوده شدن چشم باید آن را با آب فراوان به مدت حداقل 15 دقیقه شستشو داد.

3- در صورت بروز هر حادثه ای در حین کار با اتیدیوم بروماید باید مسئول ایمنی یا مسئول آزمایشگاه در جریان قرار داده شود.

احتیاط های لازم:

1- هنگام کار با اتیدیوم بروماید باید از دستکش های مناسب، عینکهای محافظ و ماسک استفاده شود.

2- پسماند های آلوده به اتیدیوم بروماید، بافرها و ژلهای آلوده باید به طور مجزا دفع شود.

3- تجهیزات و سایر لوازم آلوده به اتیدیوم بروماید نباید قبل از آلودگی زدایی از اتاق الکتروفورز خارج شود.

نحوه خنثی سازی صحیح محلول های اتیدیوم بروماید: برای خنثی سازی اثرات سمی اتیدیوم بروماید پروتکل های متفاوتی در دسترس می باشد³. در ذیل یکی از روشها توضیح داده می شود:

در این روش به پرمنگنات پتاسیم (M 0.25) اسید هیدروکلراید (1.25 N) و هیدروکسید سدیم (2.5 N) نیاز می باشد.

روش کار:

1- ابتدا محلول اتیدیوم بروماید استفاده شده که در نظر است برای خنثی نمودن آن اقدام گردد، در حجم 2 لیتر به یک ظرف مناسب در زیر fume hood انتقال داده می شود.

2- چهار میلی لیتر از محلول پرمنگنات پتاسیم در زیر هود به ظرف حاوی اتیدیوم بروماید اضافه می شود.

3- چهار میلی لیتر اسید کلریدریک به محلول بالا اضافه می گردد.

4- محلول فوق را باید یک شب در زیر هود نگهداری نمود.

5- سپس به آرامی 2 میلی لیتر هیدروکسید سدیم به مخلوط فوق اضافه نمایید تا pH آن به 5 الی 9 برسد.

6- در انتها مخلوط مذکور را می توان در فاضلاب تخلیه نمود.

³ کتاب Molecular Cloning تالیف Sambrook J, Russell DW.

نحوه دفع دستکش ها و سایر موادی که به اتیدیم بروماید آغشته شده اند: در صورتیکه ژل ها پس از رنگ آمیزی در ظرف آب قرار داده شوند میزان آلودگی دستکش و سایر وسایلی که با اتیدیم بروماید تماس داشته اند بسیار پایین خواهد بود. در غیر اینصورت ضروریست این وسایل پس از قرار گرفتن در محلول سفید کننده خانگی یا هیپوکلریت سدیم، جهت دفع سوزانده شوند.

2-2 آکريل آميد

این ماده به شدت نورو توكسين بوده و از راه پوست و تنفس به سرعت جذب می شود. آکريل آميد بر تولید مثل اثر سوء دارد و ممکن است سبب بروز ناهنجاریهایی در جنین شود. همچنین امکان دارد سرطانزا باشد. علائم مسمومیت با آکريل آميد عبارتند از: منگی و گیجی، سوزن سوزن شدن، ضعف، عدم تعادل در راه رفتن، اختلال تکلم و لرز.

کمکهای اولیه:

- 1- برای محلول سازی و توزین پودر آکريل آميد باید حتما " زیر هود شیمیایی، با استفاده از دستکش و ماسک کار شود.
- 2- در صورت تماس محلول یا پودر آکريل آميد با پوست، محل تماس را با آب فراوان و صابون به مدت 15 دقیقه شستشو داده و مسئول ایمنی را در جریان قرار دهید.
- 3- هنگام کار با محلول آکريل آميد حتما " دستکش لاتکس استفاده شود. بهتر است از دو جفت دستکش استفاده شود.
- 4- در صورت بلعیده شدن اتفاقی محلول آکريل آميد، فرد آسیب دیده را در صورتی که هوشیار باشد وادار به استفراغ کنید و در اسرع وقت به مرکز فوریتهای پزشکی برسانید.
- 5- در صورت تنفس ذرات آکريل آميد، فرد آسیب دیده را به فضای آزاد برسانید و او را به مرکز فوریتهای پزشکی انتقال دهید.

احتیاط های لازم

- 1- در صورت ریختن ژل، میز کار خود را با حوله کاغذی، کاغذ خشک کن یا لایه جذب کننده دیگری بپوشانید.
- 2- گیره ها، شیشه ها و سایر لوازم جانبی سیستم الکتروفورز را بعد از استفاده کاملا " بشوئید.
- 3- ژل استفاده شده و اضافی را بعد از بستن کامل، با استفاده از دستکش در کیسه ای جداگانه قرار داده و بعد دور بریزید (آکريل آميد به صورت ژل کاملا " بسته شده اثر سمی کمتری دارد).
- 4- بهتر است به جای پودر آکريل آميد، محلولهای آماده خریداری و مصرف شوند.

دفع پسماند های آکريل آميد:

مواد زائد آکريل آميد شامل ژل و حوله کاغذی آلوده باید در یک کیسه زیپ دار قرار داده شود و برای سوزاندن ارسال گردد. جهت رفع آلودگی سطوح کار آلوده شده باید به طریق ذیل اقدام نمود:

1- ابتدا از محلول 1/6% potassium persulfate در سطح آلوده شده استفاده شود.

2- سپس محلول 1/6% sodium metabisulfate به آن اضافه نموده و پس از 30 دقیقه با آب کافی شستشو داده شود.

3-2 فنل و سایر محلولهای با پایه فنل

فنل ماده ای سمی و فرار 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 باشد. فنل و بخارات آن آتش گیر است. علائم مسمومیت با فنل عبارتست 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 25٪ از سطح بدن با فنل می تواند کشنده باشد.

کمکهای اولیه:

1- 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. در صورت نیاز باید تنفس مصنوعی انجام شود.

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

3- در صورت پاشیدن اتفاقی فنل به چشم، باید چشم فرد آسیب دیده با جریان مداوم آب حداقل به مدت 20 دقیقه شستشو شود و فرد آسیب دیده پس از شستشوی چشم باید به چشم پزشک مراجعه نماید.

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

احتیاط های لازم:

1- بدلیل انتشار بخارات سمی فنل در هوا، عمل اشباع و موازنه کردن این ماده و نیز استفاده از آن برای استخراج DNA یا RNA حتماً باید زیر هود شیمیائی با تهویه مناسب انجام گیرد.

2- هنگام کار با این ماده باید از روپوش آزمایشگاه، دستکش محافظ، عینک محافظ، پیش بند و کفش های پوشیده استفاده شود.

3- هنگام کار با فنل باید از هر نوع منبع آتش زا و شعله دور باشیم.

4- جهت رفع آلودگی فنل از هوای محیط کار باید با حوله مرطوب (برای جلوگیری از ایجاد جرقه) هوای آغشته به فنل را از فضای اتاق خارج کنیم.

5- برای به حداقل رساندن میزان آلودگی در محیط کار، بهتر است که مقادیر کم این محلول از لوله ها (تیوب ها) به ظرف مخصوص پسماند فنل تخلیه نشود، بلکه لوله (تیوب) پلاستیکی یا شیشه محتوی فنل به داخل ظرف انداخته شود.

6- جهت خنثی کردن فنل از آهک خشک و یا جوش شیرین (محلولهای قلیایی ضعیف) استفاده شود.

7- چون فنل بسیار در آب محلول است. می توان سطح آلوده را با مقدار فراوان آب شستشو داد.

کارکنان باید جهت دفع مواد شیمیایی بسیار زیان آور آموزش دیده و تجهیزات و امکانات ضروری در آزمایشگاه برای این امور اختصاص یابد.

دفع مواد آلوده شده: مواد پسماند حاصل از آزمایش که به میزان کمی با فنل آلوده شده اند را می توان در محفظه بدون نشتی قرار داده و برای سوزاندن ارسال نمود.

4-2 کلروفرم:

کلروفرم یکی از خطرناکترین هیدروکربنهای کلردار فرآر می باشد. تنفس، بلع و تماس آن با پوست زیان آور است ممکن است سبب بیهوشی، فلج دستگاه تنفسی، توقف ضربان قلب و مرگ دیر رس به علت ضایعات کبدی و کلیوی شود. علائم مسمومیت با کلروفرم عبارت است از : تهوع، سرگیجه، خواب آلودگی، و کاهش سطح هوشیاری.

کمکهای اولیه:

- 1- در صورت پاشیدن به چشم، چشم را با آب فراوان به مدت حداقل 15 دقیقه شستشو دهید.
 - 2- در صورت آغشته شدن پوست فوراً آن را با آب و صابون بشوئید. اگر لباس به کلروفرم آغشته شده، آنرا عوض کنید.
 - 3- در صورت بلع اتفاقی ماده، فرد آسیب دیده را وادار به استفراغ کنید.
 - 4- فرد آسیب دیده را فوراً به مرکز فوریتهای پزشکی رسانیده و مسئول آزمایشگاه را در جریان بگذارید.
- دفع پسماند:** از تخلیه محلول های استفاده شده کلروفرم به داخل فاضلاب باید اکیدا اجتناب شود. کلیه مواد پسماند باید بدقت در محفظه های مسدود شده قرار گرفته و برای سوزاندن ارسال گردند.

3- پرتو ماورای بنفش

دستگاه تولید کننده اشعه ماورای بنفش در مراحل مختلف آزمایش مورد استفاده قرار می گیرد. لذا ضروریست زمان استفاده و فاصله تنظیم شده مناسب باشد، و لامپ با طول موج مفید مورد استفاده قرار گیرد. همچنین اطلاعات لازم برای ایمنی پرسنل و اجتناب از تأثیرات مخرب آن بر واکنش در دسترس باشد. لامپ UV باید در فواصل زمانی منظم تمیز شده تا گرد و غبار موجود بر سطح، مشکلی بر اثر بخشی آن نداشته

باشد. جهت حفاظت پرسنل از تأثیرات مضر اشعه UV، ضروریست از وسایل حفاظتی مناسب بهره گیری شود. برای توضیحات بیشتر به دستورالعمل "اصول کلی حفاظت و پیشگیری از آلودگی کارکنان و محیط آزمایشگاه" که قبلا تنظیم گردیده است، رجوع شود.

موارد ایمنی و کار با دستگاه مولد پرتو ماوراء بنفش (UV): از پرتو ماوراء بنفش (Ultra Violet) برای مقاصد متفاوتی از جمله مشاهده باندهای DNA جدا شده روی ژلهای رنگ آمیزی 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، التهاب، آب مروارید و سوختگی شبکیه ایجاد می نماید. هنگام کار با دستگاه های مختلف مولد پرتو UV پس از انجام الکتروفورز، موارد ایمنی زیر را باید رعایت نمود:

1- پوشاندن تمامی قسمتهای پوست با استفاده از روپوشهای بلند، دستکش و عینک محافظ، مخصوصاً زمانی که از UV دستی استفاده می شود، ضروریست.

2- ابتدا ژل را بر روی صفحه دستگاه قرار داده، پس از گذاردن صفحه محافظ، دستگاه را روشن نمایید.

3- در هنگامی که دستگاه روشن است از جابجا کردن ژل خودداری نمایید. در این وضعیت ابتدا دستگاه را خاموش نموده و بعد ژل را جابجا کنید.

4- شیشه، پرتو UV را جذب می نماید. دقت نمایید حتماً "بین پوست و چشم شما مانع شیشه ای قرار داشته باشد تا از اثر مستقیم پرتو UV بر آنها جلوگیری شود.

5- هنگام کار با دستگاه UV مواظب باشید که از زوایای کناری شیشه محافظ در معرض پرتو UV قرار نگیرید. اغلب در هنگام کار با دستگاه اگر به طرفین دستگاه حرکت نمایید به علت فاصله شیشه از دستگاه در معرض پرتو UV قرار می گیرید.

6- پس از استفاده از دستگاه و خاموش کردن آن، سطح آن را با آب مقطر و دستمال کاغذی تمیز کنید.

7- از باز کردن و دستکاری لامپ مولد پرتو UV جدا خودداری نمایید. 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.

4- حفاظت فردی:

کلیه ضوابط و مقررات دستورالعمل الزامات ایمنی و بهداشت در آزمایشگاه که تحت عنوان اصول کلی حفاظت و پیشگیری از آلودگی کارکنان و محیط آزمایشگاه توسط آزمایشگاه مرجع سلامت اعلام گردیده است باید بطور کامل رعایت گردد. علاوه بر این با توجه به ویژگی های آزمایشهای ملکولی باید به دستورالعمل های حفاظتی در ارتباط با مواد شیمیایی و پرتو UV توجه دقیق شود.

اقدامات حفاظتی

- 1- وسایل حفاظتی فردی: پرسنل آزمایش کننده باید پیوسته اصول کلی حفاظت و پیشگیری از آلودگی کارکنان و محیط آزمایشگاه در دستورالعمل ایمنی و بهداشت در آزمایشگاه را رعایت نمایند.
- 2- اقدامات حفاظتی در ارتباط با محیط کار
 - a. لامپ UV:
 - i. لامپ UV متحرک و سقفی جهت از بین بردن اجرام و قطعات احتمالی ژنتیکی منتشر شده در محیط، تنها در ساعاتی که پرسنل حضور ندارند باید روشن گردد.
 - ii. برای مشاهده محصول واکنش توسط ترانس ایلومیناتور، استفاده از حفاظ ضروری است. دستها باید بطور کامل با دستکش پوشانیده شده و برای محافظت صورت نیز از حفاظ هایی استفاده شود که بطور کامل صورت را بپوشاند.
 - iii. قبل از استفاده از کابینت ایمنی و اتاقک کاری ضروریست از عدم انتشار اشعه UV توسط این تجهیزات، اطمینان کامل بدست آید.
 - b. فرمالین: در صورت استفاده از فرمالین باید نسبت به عدم تداخل آن با سایر اقدامات، اطمینان لازم حاصل شود.
- 3- اقدامات حفاظتی در ارتباط با مواد شیمیایی
 - a. ضروریست در هنگام استفاده از مواد شیمیایی از دستکش مناسب یکبار مصرف استفاده شود و پس از اتمام کار دستکش ها تعویض شده و به طریق صحیح دفع گردند.
 - b. در صورت آغشته شدن روپوش به محلول های شیمیایی باید در اسرع وقت نسبت به تعویض آن اقدام گردد.
- 4- اقدامات حفاظتی در ارتباط با عوامل عفونی
 - a. در هنگام کار با نمونه های بالینی باید از روپوش، دستکش و وسایل حفاظت فردی مناسب استفاده نموده و در صورتیکه نمونه مشکوک به عوامل خطرناک باشد توصیه میگردد از دو جفت دستکش استفاده شود. از برگشت نمونه به ظرف اصلی پس از اتمام کار باید اکیدا خودداری گردد.
 - b. در هر مرحله از کار باید از دستکش جدید استفاده نمود. پس از اتمام کار باید دستکش تعویض شده، به طریق صحیح دفع گردد.
- 5- اقدامات حفاظتی در ارتباط با اسید ها: در صورتیکه در نظر باشد از اسید استفاده شود ضروریست به نکات ذیل توجه گردد:
 - a. هر قسمت از بدن که با اسید تماس پیدا کند باید فوراً با آب شستشو داده شود و یا اسید توسط بی کربناتها بخصوص بی کربنات سدیم خنثی شود تا زمانی که حباب کف تشکیل شده از بین برود، سپس مواد خنثی کننده را پاک نماید. سپس محل آسیب دیده را بایدها آب شستشو داد.
 - b. اگر اسیدی بر روی لباس ریخته شود ابتدا باید لباس را خارج نموده، محل آلودگی را با آب فراوان شستشو داده و با برس پاک نمود. در موقع رقیق نمودن اسید، باید **حتماً** اسید را به آب اضافه نمود. عکس این حالت خطرات جدی به همراه دارد.

c. منابع مطالعاتی:

- Patrinos GP, Ansorge W. Molecular diagnostics. Elsevier UK 2005. Springer Science 2007.
- Gerrit J, Viljoen J, Nel LH, Crowther JR. Molecular diagnostic PCR handbook. Springer 2005 IAEA.
- Cann AJ. Principles of Molecular Virology. 4th Edition. Elsevier. University of Leicester, UK. 2005.
- Coleman WB, Tsongalis GJ, Silverman LM. MOLECULAR DIAGNOSTICS for the Clinical Laboratorian. Second Edition. Totowa, New Jersey. 2006 Humana Press Inc.
- Davis FA. Molecular diagnosis. Davis Co. Philadelphia, 2007.
- Jochen Decker J, Reischl U. Molecular Diagnosis of Infectious Diseases. *Second Edition* Human Press.
- Sambrook J, Russell DW. Molecular Cloning. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York , 2001. Vol: 3, Appendix 8: 8.20- 821.
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health . Fifth Edition. U. S. Government Printing Office Washington: 2007.
- Preparedness for the deliberate use of biological agents A rational approach to the unthinkable. World Health Organization. Geneva, May 2002.
- Primary Containment for Biohazards. Centers for Disease Control and Prevention and Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Atlanta, GA. This page last reviewed May 18, 2001.
- Primary Containment for Biohazards: Selection, Installation and Use of Biological Safety Cabinets. 2nd Edition. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Centers for Disease Control and Prevention *and* National Institutes of Health. Washington. September 2000.
- Laboratory Biosafety Manual. WHO. Third Edition Geneva 2004