

مقررات ایمنی زیستی در آزمایشگاهها
ژنتیک پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی تهران

گرد آورندگان:

دکتر منصور حیدری، استادیار گروه ژنتیک پزشکی

و

سرکار خانم زهرا اوسطی آشتیانی مربی گروه ژنتیک پزشکی

مقررات ایمنی زیستی سطح ۱ 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 می گیرد.

معمولاً از وسایل و دستگاههای خاصی (نظیر هودهای بیولوژیک) استفاده نمی شود.

کارکنان آزمایشگاه تحت آموزشهای خاصی در ارتباط با آزمایشهای انجام شده قرا می گیرند و

همگی با نظارت یک فرد که در زمینه میکروبیولوژی یا یکی از علوم مرتبته تخصص دارد هدایت

می شوند.



Biosafety Level 1

Safety Equipment (Primary Barriers)

Protective clothing

- Lab coat
- Gloves



مقررات ایمنی زیستی سطح ۲

Biosafety Level ۲

مقررات ایمنی زیستی سطح ۲ مشابه با نوع I بوده و برای آزمایشگاههایی است که با عوامل نسبتاً خطرناک کار می شود.

کارکنان آزمایشگاه برای حمل عوامل بیماریزا آموزشهای خاصی را گذرانده اند.

حضور در آزمایشگاه محدود بوده و فقط در هنگام انجام کار می باشد.

اگر کار آزمایشگاهی همراه با تولید آئروسولهای آلوده در محیط باشد. باید در زیر هود انجام گیرد.

این نوع از آزمایشگاهها برای کار با عوامل نسبتاً خطرناک طراحی شده است. علاوه بر مقررات سطح ایمنی زیستی ۱

افردی که در آزمایشگاه کار می کنند باید نسبت به نحوه حمل و نقل عوامل پاتوژنیک آموزش ببینند.

حضور در آزمایشگاه فقط در مواقع کار باشد.

اگر روش کار مورد استفاده همراه با تولید آئروسولهای آلوده باشد، باید در زیر هودهای ایمنی بیولوژی و یا در زیر سایر هودهای فیزیکی کار شود.



Biosafety Level 2

Immunization or antibiotic treatment is available

Examples:

- Measles virus
- Salmonellae
- Toxoplasma spp
- Hepatitis B virus

● عملیات پیشگیری از آلودگی های میکروبی

حضور در آزمایشگاه فقط در مواقع انجام کار و زیر نظر مسئول آزمایشگاه باشد.
سطوح کار هر روز یک مرتبه آلودگی زدائی شود.

تمام پس مانهای مایع یا جامد قبل از دور ریختن ، آلودگی زدائی شوند.

دستگاههای Pipetting مکانیکی استفاده شود. Pipetting با دهان اکیدا ممنوع است.

خوردن ، نوشیدن، سیگار کشیدن و استفاده از هرگونه وسیله آرایشی در محیط ممنوع است مواد خوراکی فقط در کابینت ها یا یخچالهای مخصوص مواد غذایی که در خارج از آزمایشگاه می باشند، نگهداری شوند.

افراد باید دستهای خود را پس از حمل مواد و قبل از ترک آزمایشگاه با استفاده از ماده ضد عفونی بشویند.

باید تلاش زیاد در جهت حداقل تولید آئروسول صورت گیرد.



Biosafety Level 2

Special Practices

Needles & Sharps Precautions

DON'T

Break, bend, resheath or reuse syringes or needles

DO

Use sharps containers





Biosafety Level 2

Special Practices (cont.)

Needles & Sharps Precautions

So someone won't be injured later





Biosafety Level 3

- Exposure potential to pathogens spread by aerosol
- Infection serious, possibly lethal
- Examples:
 - ◆ *M. tuberculosis*
 - ◆ St. Louis encephalitis virus
 - ◆ *Coxiella burnetii*



Biosafety Level 3

Safety Equipment (Primary Barriers)

BSL-1 and 2 Safety Equipment PLUS:

- Respiratory protection may be indicated



مقررات ایمنی کار با مواد بیولوژیک

مقررات ایمنی کار با سیستم میزبانی E-coli

- E.coli از مرسوم ترین سیستم های مورد استفاده در آزمایش های مهندسی ژنتیک می باشد. 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 امکانپذیر است.
 - ۲- سطوح کاری روزی یکبار و بعد از هر بار کار با این میزبان باید ضد عفونی گردد. عمل ضد عفونی کردن توسط ساولن ۱۰٪ یا وایتکس صورت می گیرد.
 - ۳- در هنگام کار با باکتری فوق ظرف حاوی ساولن ۱۰٪ را برای انتقال تیوب ها و سرسمپلرهای الوده بکار برید.
 - ۴- بعد از ضد عفونی کردن موارد آلوده و حذف ساولن ۱۰٪ وسایل آلوده اتوکلاو شوند.
 - ۵- پی پت کردن محلول باکتری توسط سمپلرهای خودکار صورت گیرد.
 - ۶- بعد از کار با ارگانیزم های فوق شستشوی دست ها حتماً انجام شود. برای این کار صابون مایع و شستشوی ۲۰ ثانیه کافی به نظر می رسد.

- 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 II بایستی به صورت زیر رعایت گردد:
- ۱- دسترسی به عامل فوق محدود شده و توسط علائم هشدار دهنده مشخص گردد.
 - ۲- کار با میزبان فوق در زیر هود های بیولوژیک II و I صورت گیرد.
 - ۳- لباس های مخصوص کار در آزمایشگاه نظیر روپوش، باید هنگام ترک آزمایشگاه تعویض گردد.
 - ۴- در هنگام کار با این موجود از دستکش استفاده گردد و از آلودگی پوست با ارگانیزم های حاوی مولکول های DNA نو ترکیب جلوگیری به عمل آورده شود.
 - ۵- تمامی ضایعات ناشی از کارهای آزمایشگاهی قبل از دفع توسط مواد ضد عفونی کننده (ساولن 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 گردد.

ایمینی کار با نمونه های دارای DNA نو ترکیب

اسیدهای نوکلئیک که در مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی مورد استفاده قرار می گیرند را می توان به صورت زیر دسته بندی کرد:

۱- اسیدهای نوکلئیک با ساختار DNA

cDNA ژنوم های RNA ویروسی

پلاسمیدها

ترانسپوزون ها

ناقل های مصنوعی

واکسن های DNA

۲- اسیدهای نوکلئیک با ساختار RNA

آنتی سنس RNA

ریبوزیم ها

واکسن های RNA

ناقل های RNA ویروسی

۳- RNA-DNA هیبریدها

رها سازی اسیدهای نوکلئیک در محیط از روشهای مختلفی صورت می گیرد:

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- گرد و خاک و دانه گرده محصولات مهندسی شده

اسیدهای نوکلئیک در محیط های طبیعی قدرت بقا داشته ، در ضمن بعضی از انواع آن ها قادر به انتقال از یک ارگانیزم به ارگانیزم دیگر می باشند. اسیدهای نوکلئیک می توانند 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 دو رشته RNA

۴- تولید ویروس های نو ترکیب بیماریزا

۵- ایجاد موتاسیون (Insertion Mutagenesis)

۶- Insertion Mutagenesis

۷- آلودگی ژنتیکی سلولهای زایشی

بسته به نوع کار پژوهشی با اسیدهای نوکلئیک مقررات ایمنی اعمال خواهد شد که مجری پروژه های تحقیقاتی ملزم به آموزش نکات اختصاصی کار خویش می باشند.

مقررات کلی ایمنی زیستی در سطح آزمایشگاههای مرکز (ایمنی زیستی II) برای کار با DNA به صورت زیر است:

- ۱- پوشیدن روپوش آزمایشگاه و دستکش در حین کار با نمونه های DNA ضروری است.
- ۲- زباله های آلوده به DNA باید از زباله های غیر آلوده جدا شده و زباله های آلوده در نهایت اتوکلاو شوند.
- ۳- از ریختن محلولهای آلوده به DNA در سینک های ظرفشویی به شدت خودداری گردد.
- ۴- در صورت آلوده شدن سطوح آزمایشگاه با DNA نو ترکیب، سطوح توسط اسید رقیق شسته شده ، پس از شستشوی اسید با آب، ضد عفونی کردن سطوح با الکل صورت گیرد.
- ۵- پیشنهاد می گردد که قبل از کار با DNA، سطوح آزمایشگاهی توسط پوشش های دو قسمتی (پلاستیک- بخش قابل نفوذ رویی) پوشیده گرددو در انتهای کار جمع شده و اتوکلاو شود. مسلمان" رعایت نکات ذکر شده می تواند احتمال وقوع خطر را به حداقل برساند.

وسایل 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) آن فشار دهید.
 - ۴- نوک تیپ را درست زیر سطح مایع (۲-۳mm) قرار دهید و دکمه عملکرد را به آرامی و به طور یکنواخت آزاد کنید. میکروپیپت را در طی کشیدن مایع عمود نگه دارید. در مورد مایعاتی که ویسکوزیته و دانسیته آنها با آب متفاوت می باشد بهتر است که با پرو خالی کردن تیپ، درون آنرا با آن مایع مرطوب نمایید.
 - ۵- سرتیپ را به دقت از درون مایع بیرون آورد، به کناره درون ظرف بکشید تا مقادیر اضافی به جدار بیرونی آن باقی نمانده باشد.

۶- مایع کشیده شده با فشار آرام دکمه عملکرد تا اولین ایست خارج می شود. پس از توقف کوتاهی در اولین ایست دکمه عملکرد را تا دومین نقطه ایست فشار دهید تا از تخلیه کامل آن مطمئن شوید.

هرگز از میکروپیپت در خارج از محدوده مشخص شده برای آن استفاده نکنید.

پیشنهاد می شود که در هنگام عدم استفاده از میکروپیپت، آنرا در وضعیت عمودی نگهدارید.

برای تمیز کردن میکروپیپت از آب یا اتانول ۷۰٪ و یک پارچه نرم یا دستمال بدون پرز استفاده کنید. پیشنهاد می شود که محل اتصال تیپ به میکروپیپت به طور منظم تمیز شود. هرگز برای پاک کردن سطوح خارجی میکروپیپت از موادی نظیر گزیلول یا سایر حلالهای مواد پلاستیکی استفاده نکنید.

مراقب باشید هنگام برداشتن مواد شیمیایی تنها تیپ با آنها تماس یابد و خود میکروپیپت آلوده نشود.

مایع نباید وارد میکروپیپت شود بنابراین هرگز هنگامیکه تیپ حاوی مایع می باشد. آنرا سروته 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 با چگالی بالا مثل کلیسرول و تریتون؛ علاوه بر رعایت آرامش در کار، همیشه پس از آزادی کامل دکمه عملکرد نوک تیپ را تا چند لحظه در مایع نگه دارید تا حجم مورد نظر شما به طور کامل کشیده شود. در صورتیکه نیاز به برداشتن حجمهای بیشتری از این مواد باشد، می توان برای سهولت کار، سر تیپ را چید. این مورد برای برداشتن 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 و زنگ زدن فنر میکروپیپت می شود. بهتر است در این موارد از پیپت های شیشه ای استفاده شود. در صورت اجتناب ناپذیر بودن استفاده از میکروپیپت برای این مواد، پیشنهاد می شود که پس از اتمام کار میکروپیپت باز شده، پیستون و اجزای درونی آن شسته و تمیز گردد.

در صورت آلوده شدن میکروپیپت به خون، فرآورده های خونی یا سوسپانسیون میکروبی، اگر میکروپیپت قابل اتوکلاو کردن است از این روش استفاده کنید. در غیر اینصورت قسمت آلوده را با دقت از میکروپیپت جدا کرده و به مدت یکساعت در ساولن ۱۰٪ و پس از شستشو با آب به مدت ۱۰ دقیقه در SDS ۱۰٪ و پس از شستشوی مجدد 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.

Waste handle

Waste materials can be classified into six types:

- ۱ Regular garbage
- do not place anything in the this garbage bags that is:
- ۱) a hazardous product as defined
- ۲) that might cause injury to the building services people who will move the bags to the loading dock.
- ۲. Glass waste (clean, not contaminated with hazardous material)
- ۳. Plastic pipettes and micropipette tips
- ۴ Paper/cardboard for recycling
- ۵ Biohazardous (infectious material) includes living things that are pathogenic such as: bacteria, viruses, mycoplasmas, protozoans, fungi as well as their genetic material and gene products (like bacterial toxins).
- -Modified organisms using recombinant DNA technology
- ۶. Animal parts

ورتکس

پیش از استفاده از دستگاه های ورتکس- اسپین رومیزی، از محکم بودن خش چرخنده آن اطمینان حاصل کنید.

سعی کنید حتی امکان به صورت تراز از آن استفاده کنید. به طور مثال از اسپین کردن یک ویال که در مقابل آن یک ویال دیگری قرار نداده اید خودداری فرمایید.

استفاده از ورتکس تنها برای موارد خاصی همچون مخلوط کردن بافرها مناسب است. DNA های بزرگ در اثر ورتکس آسیب خواهند دید.

در هنگام ورتکس کردن از محکم بودن در ویال ها و غیر قابل نشت بودن آنها مطمئن شوید، زیرا نشت 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 فرار سمی و خطرناکی مثل فنل از محکم بودن و عدم نشستن 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، فالكون، پلیت و ... به جنس پلیمر سازنده آن توجه داشته باشید. برخی از آنها مثل پلی پروپیلن (Polypropylene) قابل اتوکلاو کردن هستند و برخی دیگر مثل پلی اتیلن (Polyethylene) را نمی توان اتوکلاو کرد. ضمنا" این ظروف نسبت به تمامی مواد مقاوم نبوده با برخی از آنها واکنش می دهند، برای مثال پلی کربناتها نسبت به انواع الکها مقاوم نیستند.

صفحه گرم کننده (Hot Plate)

این دستگاه یک وسیله الکترونیکی است که استفاده از آن در محدوده دمایی مشخصی مجاز می باشد ($80-150^{\circ}C$) بنابراین از تنظیم آن روی دماهای بالاتر از مجاز خودداری کنید. زیرا باعث ایجاد آسیب در سیستم الکترونیکی زیر آن می شود.

برای سرد کردن دستگاه جدا" از خیس کردن آن به هر صورت اجتناب نمایید.

در صورتیکه حجم ماده درون یک ویال زیاد باشد، دمای بالا باعث ایجاد فشار و باز شدن خود به خودی درب و بیرون پاشیدن محتویات آن می شود. در این موارد یک منفذ خروجی برای آن تعبیه کنید یا حجم کمتری در هر ویال بریزید.

بن ماری (حمام آب)

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، خصوصا" زمانیکه می خواهید شبانه یا برای 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 به طور کامل تخلیه و پس از شستشوی محافظ آنرا از آب تمیز پر نمایید.

در صورت استفاده بلند مدت خصوصا" در دماهای بالا، در محفظه را بسته نگهدارید تا از تغییر بیش از حد، فشار آمدن به دستگاه و کثیف شدن احتمالی آن جلوگیری شود.

اگر می خواهید از سرد کننده (chiller) استفاده کنید، حتما" لازم است بن ماری را هم روی دمای مورد نظر تنظیم و آنرا روشن نمایید. توجه داشته باشید که هنگام قرار دادن سر ماریچ در آب، دمای آب بالاتر از دما اتاق نباشد.

از بن ماری های دقیق برای دماهای بالاتر از $55^{\circ}C$ استفاده نکنید.

اصول ایمنی کار با دستگاه مایکروویو

دستگاه مایکروویو با استفاده از انرژی امواج بسیار کوتاه رادیویی یا مایکروویو، حرارت مورد نیاز برای گرم کردن اجسام و موارد 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 آنکه چیزی در آن باشد مورد استفاده قرار ندهید، زیرا انرژی گرمایی جذب دیواره های داخلی آن شده و باعث صدمه به دستگاه می گردد. حتماً 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 یا 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. درپوش 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 حتماً 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 کاملاً بسته باشد و از کار کردن دستگاه بادرب باز یا نیمه باز جدا خود داری 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.

کلیدها را آرام و تک به تک فشار دهید، هرگز به طور هم زمان چند کلید را با هم 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 نگهداشت زیرا در صورت آلودگی دستگاه به مواد شیمیایی و حتی مواد پاک کننده کارایی آن پایین می آید.

نظافت دستگاه

برای برطرف کردن لکه ها و جرم ها از داخل میکروویو، 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 جرمها نرم شده و به راحتی برطرف شوند. این کار باعث میشود 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 شستشو دستگاه نیز حتماً آب را در یک ظرف ریخته و سپس از آن بجوشانید.

مشکلات احتمالی کار با دستگاه میکروویو

توصیه و راه حل	اشکال
طبیعی است	تراکم بخار در داخل دستگاه جریان هوا در اطراف درب و پوشش خارجی انعکاس نور از اطراف دربو پوشش خارجی آزاد شدن بخار از اطراف درب و یا منافذ
از بسته بودن درب دستگاه اطمینان یابید.	در هنگام فشار دادن کلید <Start> دستگاه کار نمی کند.
اشتباهها" برای توقف موقت کلید <Stop> را فشار داده اید. کلید <Reset> را فشار دهید تا برنامه تنظیمی کاملاً لغو شود.	امکان وارد کردن هتچ تنظیمی نیست.
آیا ظروف دارای تئینات فلزی است؟ آیا ظروف فلزی در دستگاه باقی مانده است.	شنیدن صدای اضافه یا جرقه

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 اب درون دستگاه نباید از انتهای پایین دیگ بالاتر رود. پیچهای درب را باید کاملاً محکم بست. برای این منظور باید پیچهای 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 زمان طولانی تر تفاوتی در نتیجه حاصل ندارد. بهتر است از دما و زمانی که طبق دستورالعمل لازم است پیروی گردد. به طور معمول برای استریلیزاسیون محلولها و تیپها و ویالهای کار با DNA ۲۰ دقیقه دمای ۱۲۱ درجه کافی است. برای وسایل و مواد کار با RNA ۴۵ دقیقه دمای ۱۲۱ درجه در صورت اطمینان بیشتر تکرار این برنامه کافی می باشد. ظروف دارای محلول را نباید پر کرد و حداقل بخشی از ظروف باید خالی باشد. 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 شود. پس از اتمام زمان لازم برای استریل کردن نمونه ها، جهت بازکردن درب دستگاه به صورت زیر عمل کنید:

منبع حرارت را خاموش کنید و دریچه خروج بخار را باز نمائید(دریچه خروج بخار را آهسته باز کنید 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.

نکات ایمنی ونحوه کار با آون هیبریداسیون

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

مکان دستگاه:

دستگاه باید درمکانی قرار گیرد که در اطراف ان فضای کافی برای کار با ان وجود داشته باشد. چون درب دستگاه روبه بالا باز می شود ، بالای آن به اندازه ای که درب دستگاه به طرف آن با باز می شود ، 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:

غشاء 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 مورد نظرتان 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 کاملاً محکم شود و از بیرون ریختن مایعات جلوگیری

شود. در صورتی که در کاملاً محکم نمی شود و مایعات از آن خارج می گردد حتماً باید واشر و

در صورت لزوم لوله جدیدی مورد استفاده قرار گیرد.

۱۰ تا ۱۵ دقیقه پس از قرار دادن 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 حتماً باید تقارن حفظ شود. اگر از یک لوله استفاده

می کنید آن را در وسط سبد ، و اگر از دو لوله استفاده می کنید، آنها 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 یونهای کوچک و مولکولهای باردار در محلول که تحت تأثیر میدان الکتریکی انجام

می گیرد الکتروفورز گفته می شود میزان حرکت ذات بستگی به اندازه و شکل و مقدار بار مولکول،

جریان الکتریکی و مقاومت محیط دارد.

الکتروفورز پروتئین ها

محیطهای زمینه برای الکتروفورز پروتئین ها

۱- کاغذ استات سلولز و موادی که به صورت لایه های نازک استفاده می شوند که جداسازی براساس

بار الکتریکی است.

۲- ژل های آگارز، نشاسته و پلی اکریلامید که جداسازی براساس اندازه مولکول و بار الکتریکی است.

ژل نشاسته

قطر منافذ ژل کم است.

جداسازی براساس اندازه مولکولی است.

کیفیت نشاسته بسیار مهم است و باید خالص باشد.

ژل پلی اکریلامید

قطر منافذ ژل مشابه اندازه پروتئینها است.

از نظر شیمیایی خنثی است.

شفاف و بیرنگ است.

ژل پلی اکریلامید باید پیش از افزودن عوامل پلی مریزه کننده degas شود.

به ژل های رقیق پلی اکریلامید مقداری آگارز اضافه می شود تا استحکام داشته باشد.

اگر ژل آگارز بارها جوشانده و استفاده شود تغلیظ می گردد و بافر آن نیز غلیظ می شود بهتر

است که یا در مقادیر کم تهیه شود و یا مقداری آب (نه بافر) به آن اضافه گردد.

پیش از هر بار استفاده از تانک افقی بهتر است بافر آن را به هم زد تا یونها به طور یکنواخت در آن

پراکنده شوند.

ارتفاع بافر روی ژل نباید زیاد باشد (چند میلی لیتر) در غیر اینصورت جریان بیشتر از بافر عبور

می کند تا از ژل و زمان الکتروفورز افزایش می یابد.

اگر به هنگام خارج کردن شانه از درون ژل روی آنرا بافر پوشانده باشد شانه راحت تر خارج

می شود.

هیچگاه به دستگاه مولد برق که روشن است سیم های تانک را وصل نکنید بلکه ابتدا دستگاه را

خاموش کرده و سپس سیم ها را وصل نموده و ولتاژ را بالا ببرید.

هیچگاه هنگام برقرار جریان انگشت خد را درون بافر وارد نکنید چون امکان برق گرفتگی وجود

دارد.

هنگام رنگ آمیزی ژل مراقب اتیدیم بروماید باشید زیرا موتاژن بسیار قوی است.

فورمامید در ژل های denaturing

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 دو رشته ها را می سازند (tRNA) این عوامل بر حرکت RNA بر روی ژل اثر می گذارند.

به دلیل وجود ساختارهای ثانویه RNA را پیش از بردن در ژل denature می کنند تا تخمین وزن مولکولی آن صحیح تر باشد.

عوامل دناتور کننده که استفاده می شوند عبارتند از: فورمامید که بسیار سمی و خطرناک است. اوره

متیل مرکوریک هیدروکساید که فقط در ژل آگارز استفاده شده و بسیار سمی و فرار است.

آزاد تولید می شود باید محلول تازه تهیه شده آن استفاده شود. در مورد ژل های native و Continues 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 تهیه ژل

اطمینان از تمیز بودن شیشه ها، مراحل شستشو به ترتیب عبارتند از:

اسید کرومیک (بمدت ۱۲-۱۳ ساعت) - شستشو با آب - شستشو با اتانل - شستشو با استن

Spacer ها باید همه قطر یکسان داشته و مشابه شانه باشند.

شیشه ها به یکدیگر و به تانک توسط آگار، و یا چسب مخصوص چسبانده می شود و از لین توصیه نمی شود.

Degas کردن ژل که بیش از افزودن عامل پلی مریزه کننده انجام می گیرد چون اکسیژن مانع پلی مریزه شدن می شود.

ریختن ایزوبوتانل بر روی ژل Resolving به منظور عدم تماس ژل با اکسیژن هوا و نیز صاف شدن ژل انجام می گیرد.

بهتر است که ژل Resolving یک شب تا صبح بماند تا پلی مری شدن کامل شود و بعد ژل Stacking ریخته شود.

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 در 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 باید بین ۵ تا ۴۰ درجه سانتی گراد بوده و حداکثر رطوبت ۸۰ درصد، در دمای ۳۱ درجه سانتیگراد و یا ۵۰ درصد در دما ۴۰ درجه سانتی گراد باشد.
- ۵- انکوباتور را در نزدیک درهای اصلی یا جریان‌ات هوائی و هواکش‌ها 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 محل‌های 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 خود داری کنید.
- ۹- بعد از وصل کردن تنظیم کننده سیلندر گاز CO_2 ، فشار گاز در مانومتر اولیه (طرف سیلندر گاز) باید در حدود $250 \text{ kg/cm}^2\text{G}$ یا $24/5 \text{ MPaG}$ و در طرف دیگر 196 kPaG یا $2 \text{ kg/cm}^2\text{G}$ باشد.
- ۱۰- هنگامیکه 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، بنزین، 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 آب را در محل ذخیره همیشه کنترل شود. استفاده از مقادیر کم سولفات مس و یا ساولون برای جلوگیری از رشد قارچها و کپک‌ها در آب داخل انکوباتور مناسب است.
- ۱۳- ظروف کشت سلول یا پلیت‌های باکتریها 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_2 در بین آنها 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 باکتریها از دستکش های لاتکس استفاده نموده و حتماً دست ها را ضد عفونی نمائید.
- ۱۶- برای تمیز کردن دستگاه از ریختن آب روی آن خود داری کنید.
- ۱۷- هنگامی که می خواهید انکوباتور را تمیز کنید از برس ف اسید، بنزین ، 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. هیچوقت از مواد شیمیایی فرار مانند بنزین در قسمت های پلاستیکی استفاده نکنید. مواد دترجنت 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 قلیائی یا اسیدی قوی استفاده نکنید.
- ۲۰- سنسور CO_2 در انکوباتورهای کشت سلولی تحت تاثیر میزان رطوبت بوده و پایین آمدن رطوبت باعث بالارفتن میزان گاز CO_2 در دستگاه می شود. تمیز نمودن مرتب این سنسور با الکل ۷۰ درصد یا ایزوپروپیل الکل ضروری است.
- ۲۱- 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 و 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 انکوباتور ها ؛ قفسه ها و دیواره دستگاه همواره باید خشک باشد در اثر باز ماندن درب دستگاه به مدت طولانی رطوبت موحود در انکوباتور به صورت قطرات آب در آمده و این قطرات روی قفسه و دیواره ها باعث رشد باکتریها، قارچها ، و مخمرها می شود در این موارد آب موجود را کاملاً 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 زیار در اثر تکان خوردن این محیط ها داخل انکوباتور ریخته و محل مناسبی را جهت رشد عوامل آلوده کننده بوحود می آورد.
- ۲۳- در صورت دیدن آلودگی در فلاسک های کشت بلافاصله تمام کشت ها را خارج نموده و داخل انکوباتور ا به خوبی با الکل ۷۰ درصد ضد عفونی نمایید قفسه ها را نیز می توانید در داخل فورقرار داده تا استریل کردند.
- ۲۴- تعویض به موقع ظرف آب داخل دستگاه، در انکوباتور های کشت سلولی بسیار ضروری است.
- ۲۵- بهترین انواع انکوباتورهای CO_2 آنهایی هستند که محفظه داخلی انکوباتور به قسمت های کوچکتری با دربهای 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 خود دار استریلیزاسیون

بوده که در هنگام ضد عفونی و تمیز کردن دستگاه می توان از آن استفاده نمود. همچنین دارای دو ورودی گاز CO₂ 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 هود از کار قبلی تمیز شده است. برای اطمینان بیشتر یکبار دیگر به طور کامل داخل هود را با الکل ۷۰ درصد بادستمال بدون کرک پاک کنید.
- ۲- به مدت حداقل ۱۵ دقیقه چراغ UV داخل هود را روشن نمائید(مرطوب بودن سطح داخل هود با اکل اثر اشعه را بیشتر می نماید. این نکته بسیار دارای اهمیت است که اثر UV در هنگامی که چراغ داخل هود خاموش بوده و مؤثرتر است همچنین در اتاق های کشت در هنگام استفاده از UV محیط باید کاملاً تاریک باشد).
- ۳- بعد از خاموش کردن چراغ UV هود را روشن نموده و ۵ دقیقه صبر نماید.
- ۴- باید توجه داشت که برای جلوگیری از الودگی در هود شاید به یک تکنیک بسیار دقیق آسپتیک خوب نیاز است نه کاملاً" به یک عملکرد معجزه آسای هود.
- ۵- اعتماد به عمل فیلتراسیون هوا در جهت عملکرد موثر هودها کمی قابل تامل است و همیشه در صدی خطا وجود خواهد داشت. بنابراین این هودها هرگز نمی توانند به طور کامل و ۱۰۰٪ موثر بوده ولی می توانند احتمال الودگی را به میزان بسیار زیادی کاهش دهند. در نتیجه وجود هوای تمیز با تهویه مناسب در اتاق
- 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 دها و پنجره ها ، هواکش ها،خنک کننده ها و همچنین بدور از رفت و آمدهای زیاد کارکنان)
- ۸- از ظروف آهنی یا چوبی برای نگهداری نیتروژن مایع یا حمل و نقل آن استفاده نماید.

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 کاهش داده و باعث ایجاد Saffocation می گردد. بنابراین هرگز نباید برای کنترل آن داخل ظرف را دید. مزه یا بو نمود زیرا به سرعت استنشاق می گردد. به همین خاطر نیتروژن مایع بخار می شود باعث کاهش شدید غلظت اکسیژن هوا شده و ممکن است باعث سرگیجه، بی هوشی و حتی مرگ گردد.

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 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 محیطهای سرباز و فقط روی زمین خالی نماید.

۱۳- ظروف نگهداری نیتروژن مایع در جای تمیز و خشک بدور از رطوبت، مواد تمیز کننده و مواد شیمیایی یا سایر خورنده های شیمیایی نگهداری کنید. این ظروف را فقط با آب یا محلولهای دترجنت ضعیف بشوئید و سپس خشک نمائید.

۱۴- میزان بخار شدن نیتروژن مایع بسته به زمان، موقعیت و شکل ظروف نگهداری و نحوه استفاده از آن متفاوت است. بازو بسته نمودن مستمر یا حرکت دادن ظرف حاوی نیتروژن از میزان اثر سرمائی 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 سریعتر از حد معمول بخار می شود باید نسبت به تغییر ظرف نگهداری و محیط نگهداری آن اقدام نمود.

۱۶- در مواقعی که شخصی بوسیله 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 نماید 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، 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 باید از پوست جدا کرد و ناحیه را در حمام آب ۴۲ تا ۴۵ درجه سانتی گراد غوطه ور کرد.

موارد ایمنی و کار با دستگاه مولد نور ماوراء بنفش (UV)

از نور ماوراء بنفش (Ultra Violet) برای مقاصد مختلفی از جمله مشاهده باندهای DNA جدا شده روی ژلهای تیمار شده با محلول اتیدیوم برومید استفاده می شود. اثات UV بر پوست شامل ایجاد شیار، لکه های پوستی و همچنین سرطان پوست می باشد و در چشم ورم، آب مرواید و سوختگی شبکیه ایجاد م نماید. 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، مخصوصاً " زمان که از UV دستی استفاده می نمایید.

استفاده از عینک محافظ

ابتدا ژل را بر روی صفحه دستگاه قرار دهید و پس از گذاشتن 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 اشیاء کدر نور UV را جذب می نمایند. دقت نمایید حتماً " بین پوست و چشم شما مانع شیشه ای یا کدر قرار داشته باشد تا از اثر 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.

بهرتر است پس از استفاده از دستگاه و پس از خاموش کردن آن، شیشه آن را با آب مقطر و دستمال کاغذی تمیز نمایید.

از باز کردن و دستکاری لامپ مولد نور UV جدا خودداری نمایید. در صورت لزوم 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.

مواد شیمیایی

مواد شیمیایی موجود در آزمایشگاه به سه حالت جامد، گاز و یا مایع 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 اکسیدکربن، شیمیایی مثل: منواکسید کربن، اسید سیانیدریک)

۳- مواد بیهوش کننده و مخدر (مثل : اتانول و دیاتیل 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- حلالهای آلی نظیر استون، کلروفرم، سیکلوهگزان، دی اتیل اتر، دی متیل سولفوکسید، اتیل الکل، هگزان، متانول، تولوئن، متلین کلراید و ... که علاوه بر اشتعال پذیری آثار مسموم کنندگی دارند و برخی نیز خاصیت سرطان زایی و ناباورکنندگی نشان می دهد.

۲- معرفهای معدنی و 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 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 تولید مثل و حساسیت زهای 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 مد نظر داشت از جمله:

الف- آموزش افراد نسبت نوع مواد شیمیایی مورد تماس و مصرف و ویژگیهای آنها به صورت کلی و

تدریجی

ب- تجهیز آزمایشگاه به وسایل و مواد ضروری مورد نیاز سوانح و آموزش کاربرد صحیح آنها

ج- آموزش کمکهای اولیه

د- تهیه دستورالعمل های مدون ایمنی

کلروفرم

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

احتیاطهای لازم و کمکهای اولیه

در صورت پاشیدن به چشم، چشم را با آب فراوان به مدت حداقل ۱۵ دقیقه شستشو دهید. در صورت آغشته شدن پوست فوراً "ان را با آب و صابون بشوئید. اگر لباس به کلروفرم آغشته باشد آنرا عوض کنید.

در صورت بروز علائم مسمومیت با کلروفرم که معمولاً به سبب تنفس آن پدید می آید فرد در صورت بلع اتفاقی ماده، فرد آسیب دیده را وادار به استفراغ کنید.

فر آسیب دیده را فوراً به مرکز فوریتهای پزشکی رسانیده و مسئول آزمایشگاه را در جریان بگذارید.

اکریل آمید

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

کمکهای اولیه

برای محلول سازی و توزین پودر اکریل آمید حتماً زیر هود شیمیایی با استفاده از دستکش و ماسک کار شود.

در صورت تماس محلول یا پودر اکریل آمید با پوست محل تماس را با آب فراوان و صابون به مدت ۱۵ دقیقه شستشو دهید. مسئول ایمنی را در جریان قرار دهید.

هنگام کار با محلول اکریل آمید حتماً دستکش لاتکس بپوشید. بهتر است دستکش به صورت دو لایه استفاده شود.

در صورت خورده شدن اتفاقی محلول اکریل آمید فرد آسیب دیده را در صورتی که هشیار باشد وادار به استفراغ کنید و در اسرع وقت به مرکز فوریتهای پزشکی برسانید.

در صورت تنفس ذرات اکریل آمید فرد آسیب دیده را به فضای آزاد برسانید و فرد را به مرکز فوریتهای پزشکی انتقال دهید.

هنگام ریختن ژل محل کار خود را روزنامه یا لایه جذب کننده (مانند دستمال کاغذی) بپوشانید.

گیره ها، شیشه ها و spacer های ژل را بعد از استفاده کاملاً بشوئید.

ژل غیر قابل استفاده را بعد از بستن کامل، با استفاده از دستکش در کیسه ای جداگانه قرار داده و بعد دور بریزید (اکریل آمید به صورت ژل کاملاً بسته شده اثر سمی کمتری دارد).

بهتر است به جای پودر اکریل آمید محلولهای 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

احتیاطهای لازم و کمکهای اولیه

در صورت آلودگی چشم یا پوست محل را ۱۵ دقیقه با آب فراوان شستشو 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 موتاژن و سرطانزاست. از طریق پوست، چشم و دستگاه تنفسی می تواند نفوذ کند.

احتیاطهای لازم و کمکهای اولیه

هنگام کار با اتیدیوم بروماید از دستکشهای پلاستیکی و عینکهای محافظ و ماسک استفاده کرد. توزین اتیدیوم بروماید حتما" باید در مکان بسته بدون جریان شدید هوا با استفاده از ماسک و دستکش دولایه انجام شود. زباله های آلوده به اتیدیوم بروماید، بافرها و ژلهای 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 اغشته شود باید فوراً" لباس آلوده را از تن خارج کرد 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 مسئول آزمایشگاه را در جریان قرار دهید.

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 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 مرکز، 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٪ سطح بدن با فنل می تواند کشنده باشد.

کمکهای 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 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 داده شود. شستشو باید آنقدر ادامه یابد تا رنگ پوست محل آسیب دیده از حالت رنگ پریده به صورتی کم رنگ تغییر رنگ دهد.

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

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.

نکات عملی کار با فنل در آزمایشگاه

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 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 تیپها به ظرف مخصوص پسمان فنل تخلیه نشود بلکه لوله پلاستیکی (تیوپ) یا شیشه محتوی فنل به داخل ظرف انداخته شود.

در صورت آلودگی محیط کار (سطح میز یا زمین) با محلول فنل باید:

۱- هر نوع منبع اشتعال را از محیط دور کنید.

۲- فضای آلوده را هر چه سریعتر تهویه نمود.

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

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

از نکات قابل توجه آنست که در چیدمان مواد شیمیایی در آزمایشگاه باید نهایت دقت به عمل بیاید مثلاً ترکیبات شیمیایی با تهویه 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 ها حتی المقدور واجد در بوده و هوای آزمایشگاه نیز تهویه مناسب داشته باشد. همچنین پوستره‌های نشان دهنده علائم هشدار دهنده مواد شیمیایی در مکانهای مناسب و در معرض دید افراد نصب شوند. همچنین افراد باید جهت

دفع مواد شیمیایی بسیار زیان آور و زیان آور آموزش دیده و تجهیزات و امکانات ضروری در آزمایشگاهها 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 and Sulfuric acid Mixtures, Hydrogen Peroxide
Alkali and Alkaline	Carbon dioxide, Carbon tetrachloride, Other Chlorinated hydrocarbons, earth Metals such as sodium, potassium...
Sulfuric acid	Chlorates, Per chlorates, Permanganates

توضیح علائم روی بسته مواد

- ۱- E (Explosive) در جایی غیر از انبار مواد نگهداری شود (قابل انفجار)
- 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 هرشکلی محدود شود (رعایت حداکثر موارد ایمنی).
- ۴- T (Toxic) سمی.
- ۵- Xn (Harmful) (مضر) نباید با دست تماس پیدا کند.
- ۶- F ϵ (Exteremch Namable) (بشدت قابل اشتعال در دمای زیر صفر نگهداری شود).
- ۷- F (Highly Namable) نگهداری در دمای زیر $21^{\circ}C$
- ۸- C (Corrosive) (خورنده) از تماس با کلیه سطوح بدن جلوگیری شود.
- ۹- Xi (Irritant) کم خطر ترین