Gene skill is gene future

Ogene booklet

Ogene
Technology Gene

@ogenetech
www.ogene-tech.com
ogenetech@gmail.com

آدرس: تهران فلکه دوم صادقیه، خیابان مرودت ، پلاک ۲۰ف طبقه ۲واحد ۶

تلفن: ۰۲۱۴۴۲۴۸۳۸۸-۰۹۰۳۷۵۵۵۴۰

Principles of Biosafety

In Molecular Genetic laboratory

مقدمه:

"ایمنی آزمایشگاهی "به مجموعه ای از قوانین و روشهای کار در آزمایشگاه گفته می شود که با هدف محدود شدن نشت آلودگی و کاهش موارد مواجهه ناخواسته با عوامل پاتوژن، سموم و ترکیبات مضر وضع می شوند .
شناسایی کامل نمونه ها و عوامل آسیب رسان موجود در آزمایشگاه، نحوه صحیح کار با آنها، اقدامات ایمنی هنگام کار، گزارش موارد نشت یا مواجهه با آلودگی، راههای حذف آلودگی و اقدامات جبرانی و درمانی پس از مواجهه، همگی در مبحث ایمنی آزمایشگاهی قرار می گیرند. اقدامات ایمنی باید به عنوان یک جز ثابت و همیشگی کار آزمایشگاهی قرار گیرد و اهمیت آن به اندازه سایر مراحل کار است.

سطوح ایمنی آزمایشگاههای زیستی:

آزمایشگاههای زیستی از نظر امکانات و تجهیزات به چهار سطح ایمنی تقسیم می شوند: سطح 1ایمنی ابتدایی، سطح 2ایمنی ابتدایی، سطح 3ایمنی و بالاترین سطح محدود سازی یا سطح 4ایمنی. این سطوح با توجه به ساختار، نحوه طراحی، امکانات و تجهیزات، نوع فرآیندهای قابل انجام روی ارگانیسم های مختلف تعیین می شوند . حفظ ایمنی در آزمایشگاه وظیفه ی همه پرسنل آزمایشگاهی است.

دسترسی و ورود به آزمایشگاه:

از آنجاکه خطرات به صورت بالقوه در هر آزمایشگاه شایع است، بایستی افرادی که داخل آزمایشگاه میشوند، ازخطرات موجود در آن اطلاع داشته باشد و همچنین ورود پرسنل غیر مسئول محدود گردد.

علایم آزمایشگاهی:

در حال حاضر، علائم آزمایشگاهی بر روی درب تمام آزمایشگاه های سطح 2و سطح 3نصب می گردد .این علائم به بازدید کنندگان، در مورد راههای انتقال عوامل مورد استفاده در داخل آزمایشگاه و همچنین سطح محدودیت بیولوژیکی اطلاع می دهد. این علائم در مورد خطرات رادیاسیون و خطرات مواد شیمیایی موجود در آزمایشگاه اطلاعاتی نمی دهد.

این علائم شامل اطلاعات زیر است:

- خطرات موجود در آزمایشگاه: بیولوژیکی، شیمیایی وپرتوی
- اقدامات احتیاطی ویژه و PPEمتناسب برای کار داخل آزمایشگاه
- تماس های اورژانسی و خارج از ساعات کاری

نگهداری مناسب آزمایشگاه:

بی نظمی در آزمایشگاه هم باعث اختلال بازده و بهره دهی شده و همچنین به عنوان خطرجدی ایمنی بالقوه برای پرسنل پژوهشی میباشد. محدوده آزمایشگاهی باید تمیز و عاری ازمواد شیمیایی ودستگاههای غیر ضروری باشند و همه مواد غیرضروری و تجهیزات راباید به طور صحیح نگهداری شود.

سطح 1ایمنی آزمایشگاهی:

این آزمایشگاهها برای کار با میکروارگانیسم های کاملا شناخته شده که دارای خطرات بسیار اندک بوده یا کاملا بی خطرند، تجهیز شده اند. این آزمایشگاهها دارای مشخصات زیر می باشند:

1-از سایر بخش های ساختمان جدا نشده اند.

2-دارای پیپت های مکانیکی هستند: کشیدن مایعات با دهان ممنوع است.

3-اکثر کارها با حفظ استانداردهای اولیه مانند استفاده از روپوش و دستکش، روی میزها انجام می شود.

4-هودهای زیستی برای انجام کار با نمونه های عفونت زا و کارهایی که سبب تولید آیروسل ها می شوند مانند خردکردن بافت ها، شیک کردن، سونیکاسیون و بازکردن ظروفی که فشار درون آنها کمتر است،استفاده می شود.

5-اتوکلاو وسایر وسایل استریل سازی موجود می باشد .

کارکنان اینگونه آزمایشگاهها بهتر است قبل از شروع کار خود آزمایشات کامل پزشکی ارائه دهند و سابقه پزشکی آنها ثبت شود. کار در چنین آزمایشگاههایی گرچه شامل میکروارگانیسم های بسیار خطرناک نمی شود، اما برای زنان باردار خطرآفرین است.

سطح 2ایمنی آزمایشگاهی:

این آزمایشگاهها برای کار با ارگانیسم های بیماریزایی تجهیز می شود که راههای درمانی همچنین واکسن جهت پیشگیری از ابتلا به آنها موجود می باشد. به عنوان مثال در این آزمایشگاهها می توان با بافتها و مایعات بدنی انسان، عوامل عفونت زایی مانند ویروس هپاتیت Bو ،Cآدنوویروس ها، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آیروژینوزا کار کرد.

-اکثر کارها بر روی میزهای آزمایشگاهی انجام می گیرد.

-در صورتیکه کار بر روی نمونه سبب ایجاد آیروسل شده یا استریل ماندن نمونه مهم باشد از هودهای زیستی استفاده می شود.

-افراد مشغول به کار در این آزمایشگاهها باید از خطرات کار با ارگانیسم های موجود و نحوه کار با آن کاملا اطلاع داشته و آموزش های لازم را دیده باشند.

-ورود حیوانات و گیاهانی که در ارتباط با تحقیق در حال انجام نیستند به آزمایشگاه ممنوع است.

-در صورتیکه هنگام کار قطرات آلوده به اطراف پرتاب می شود بایستی از عینک و یا ماسک صورت استفاده نمود.

-کار با وسایل تیز و برنده با حفظ احتیاط بسیار زیاد انجام شود.

-این آزمایشگاهها مجهز به اتوکلاو و دستگاه چشم شور هستند.

سطح 3ایمنی آزمایشگاهی:

این آزمایشگاهها جهت کار با میکروارگانیسم های گروه خطر 3و یا حجم زیادی از میکروارگانیسم های گروه خطر 2می باشد. میکروارگانیسم های بومی و ناشناخته یا عوامل عفونت زایی که از راه تنفسی منتقل می شوند و ممکنست بیماریهای کشنده یا بسیار جدی ایجاد نمایند، بایستی در این آزمایشگاهها مورد مطالعه قرار گیرند. به عنوان مثال مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، کوکسیلا بورنتی و ... در این دسته قرار می گیرند.

-این آزمایشگاهها از سایر راهروهای ساختمان جداشده اند به طوری که رفت و آمد افراد و جریان هوای کمتری وجود داشته

باشد. به عنوان مثال ممکنست در انتهای راهروها قرار داشته یا دارای دو درب ورودی باشند .

-قبل از ورود به فضای اصلی آزمایشگاه باید لباسهای آلوده را با لباسهای تمیز تعویض نمود .

-دیوارها، کف و درها مقاوم به آب هستند و به طور مرتب ضد عفونی می شوند.

-پنجره ها همواره بسته است و منفذی به بیرون ندارد.

-دارای اتوکلاو برای استریل سازی مواد آلوده می باشند.

-کلیه کارها زیر هود انجام می شود.

-زباله ها قبل از خروج، آلودگی زدایی می شوند.

-شیر دستشویی موجود در این آزمایشگاهها باید به صورت اتوماتیک کنترل شده و نزدیک به درب خروجی باشد.

تمام افراد قبل از شروع کار، آزمون های پزشکی کامل را می گذرانند و به طور مرتب نیز از نظر سلامت کنترل می شوند.

سطح 4ایمنی آزمایشگاهی:

این آزمایشگاهها بیشترین ایمنی را فراهم می کند و خطرات را بسیار محدود می سازند. عوامل به شدت عفونت زا و کشنده، عوامل بسیار مهاجم تنفسی، عوامل بیماریزایی که راه انتقالشان شناخته نشده و عواملی که هیچ واکسن و راه درمانی ندارند، در این آزمایشگاهها مورد مطالعه قرار می گیرند. ابولا، ویروس Sin Nombre، عامل تب Rift Valley از جمله این میکروارگانیسم ها هستند. علاوه برمشخصات آزمایشگاههای ایمنی سطح 3این آزمایشگاهها باید معیارهای زیر را رعایت نمایند:

-این آزمایشگاهها از سایر نقاط ساختمان جدا هستند.

-ورود و خروج افراد کاملا کنترل می شود.

-قبل از درب اصلی آزمایشگاه حداقل دو درب دیگر وجود دارد و هودهای بیولوژیک در داخل چنین فضایی قرار می گیرند.

-برای کارکنان چنین آزمایشگاه ها یی دوش در نظر گرفته شده که بین درهای ورودی قرار می گیرد.

-اتوکلاو این آزمایشگاهها دارای دو درب می باشد که مواد و وسایل مورد نیاز از خارج آزمایشگاه وارد اتوکلاو می شوند و وقتی که درب خارجی بسته بود، کارکنان درب داخلی را باز کرده و وسایل را بر می دارند.

-لباسهای کارکنان این آزمایشگاهها با سایرین متفاوت است و از ماسکهای تنفسی خاصی استفاده می کنند.

-تمام زباله ها و پساب آزمایشگاهی قبل از خروج، آلوده زدایی می شوند.

مقررات ایمنی کار با DNAنوترکیب:

تکنولوژی DNAنوترکیب شامل تلفیق ماده ژنتیکی از منابع مختلف و ایجاد یک ارگانیسم تغییر یافته ژنتیکی(GMO) است که تا کنون در طبیعت وجود نداشته است. همواره نگرانی هایی در مورد خصوصیات نامطلوب و غیرقابل پیش بینی چنین ارگانیسم هایی به خصوص در صورت آزاد شدن ناگهانی آنها در طبیعت وجود دارد. ازتکنولوژی DNAنوترکیب برای کلون نمودن ژنها درون میزبانهای بیان پروتئین، مهندسی متابولیک، تولید گیاهان وجانوران ترانسژنیک و جانداران Knock-outاستفاده می شود. ماهیت ارگانیسم دستورزی شونده، ماهیت قطعه ژنی منتقل شده، خصوصیات و شرایط نگهداری و کار با ارگانیسم جدید بسیار مهم می باشد. دستورزی ژنتیکی ممکنست خصوصیات جدید و ناشناخته ای را به ارگانیسم میزبان بدهد. بنابراین رعایت اصول ایمنی در تمام مراحلدستورزی ژنتیکی ضروری است تا اثرات منفی این مطالعات به حداقل برسد.

کار با سیستم های بیانی جهت تولید پروتئین نوترکیب:

سیستم های بیانی شامل یک ارگانیسم میزبان و یک وکتور یا ناقل است. ژنهای مورد نظر در ناقل کلون شده و وارد میزبان می شود. E. coliیکی از معمول ترین باکتریهایی است که به عنوان میزبان بیانی استفاده می شود. این باکتری غیر پاتوژن بوده و نمی تواند برای انسانها و حیوانات سالم بیماریزا باشد. بعد از انجام دستورزی های مهندسی ژنتیک، لازمست اصول ایمنی رعایت شود.

-چنانچه ژن ورودی از یک باکتری یا ارگانیسم دیگر پاتوژن، جداسازی شده باشد، ممکنست باعث افزایش حالت تهاجمی و بیماریزایی در باکتری میزبان شود.

-چنانچه اطلاعات دقیق و درستی از قطعه DNAورودی وجود نداشته باشد باید در نهایت دقت و احتیاط با آن کار کرد. به عنوان مثال زمانیکه کتابخانه ژنتیکی از ژنوم یک ارگانیسم پاتوژن ساخته می شود.

-چنانچه محصول ژن ورودی سمی است و یا اثرات دارویی و درمانی دارد باید احتیاطهای بیشتری در نظرگرفته شود.

کار با وکتورهای ویروسی جهت انتقال ژن:

وکتورهای ویروسی مانند آدنوویروس ها، لنتی ویروس ها و... برای انتقال ژن به سلول ها بسیار به کار گرفته می شوند. چنین ویروسهایی فاقد برخی ژنهای دخیل در تکثیر و همانندسازی می باشند و در سلولهایی که این نقص را جبران می کنند، قابل تکثیر هستند. چنین ویروس هایی ممکنست در اثر نوترکیبی با سایر ویروس ها یا سلولهای میزبان توانایی از دست رفته خود را بازیابند. بنابراین لازمست همواره تمام اصول ایمنی کار با ویروسهای کامل رعایت شود.

جانوران ترانسژن و Knock-out:

جانورانی که حاوی یک ژن خارجی هستند)ترانسژن(باید کاملا محافظت شوند. با توجه به نوع ژن ورودی و محصول آن اقدامات ایمنی متفاوت خواهد بود. حیواناتی که یک ژن در آنها حذف شده است(Knock-out) از نظر ایمنی، خطرناک محسوب نمی شوند.

به عنوان مثال جانوران ترانسژنی تولید شده اند که رسپتور ویروسهایی را که به طور طبیعی قادر به آلوده سازی آن گونه نبودند، بیان می کنند. چنانچه چنین جانورانی از آزمایشگاه فرار کنند و ژن خارجی خود را به حیوانات وحشی منتقل کنند، ممکنست جمعیت جدیدی از حیوانات وحشی میزبان آن ویروس به وجود بیایند.

تهران، فلکه دوم صادقیه، خیابان مرودشت، پلاک ۲۰، طبقه ۲، واحد ٦

تلفن تماس : ۰۲۱۴۴۲۴۸۳۸۸-۰۹۰۳۳۷۵۵۵۴۰

@ogenetech www.ogene-tech.com ogenetech@gmail.com

مثال دیگر از جانوران ترانسژن تولید موشهایی است که رسپتور ویروس پولیو انسانی را بیان می کنند. این موشها برای انجام مطالعات بافت شناسی و پاتولوژیک بیماری فلج اطفال انسانی تولید شدند. اما موشهای مدل برخلاف انسان در اثر ورود ویروس از راه دهان به این بیماری مبتلا نمی شوند. به نظر نمی رسد فرار چنین موشهایی از آزمایشگاه سبب ایجاد مخزن جدیدی از ویروس پولیو شود.

بنابراین با توجه به مثالهای فوق باید ذکر کرد که تصمیم گیری در مورد هر رده از جانوران ترانسژن تازه تولید شده نیازمند مطالعات مستقل جهت ارزیابی خطرات احتمالی آنست. راههای ایجاد عفونت در حیوان ترانسژن، میزانی از عامل پاتوژن که برای آلوده سازی حیوان لازمست و میزانی از ویروس که توسط حیوان ترانسژن ممکنست به محیط و سایر حیوانات منتقل شود، باید مورد بررسی دقیق و اختصاصی قرار بگیرد.

گیاهان ترانسژن:

گیاهان ترانسژنی که ژن مقاومت به علف کش یا مقاومت به حشرات را بیان می کنند، نگرانی های بسیاری را به دنبال آورده اند. میزان ایمنی غذاهای تهیه شده از این گیاهان، تبعات اکولوژیک این گیاهان در دراز مدت، خطر انتقال این ژنها به حشرات و سایر گونه های گیاهی از طریق پراکنده شدن دانه های گرده و ... از جمله مباحث نگران کننده تولید این گیاهان است.

همچنین گیاهان ترانسژنی تولید شده اند که ژنهایی با منشا انسانی یا حیوانی را بیان کرده و محصول آنها درصنایع غذایی و پزشکی دارای اهمیت فراوانی است. ریسک تولید و تکثیر چنین گیاهانی با توجه به نوع ژن انتقال یافته باید به صورت جداگانه برای هر گیاه مورد سنجش قرار بگیرد.

سنجش خطر ارگانیسم های تغییر یافته ژنتیکی:

ریسک هر ارگانیسم GMOبستگی به خصوصیات ارگانیسم دهنده ژن و ارگانیسم میزبان دارد. در زیر مثالهایی ذکر شده است:

1-خطراتی که مستقیما از ژن ورودی ارگانیسم دهنده ایجاد می شود.

گاه ژن ورودی محصولی تولید می کند که از نظر بیولوژیک یا دارویی فعال است و ممکنست سبب آسیب شود. به عنوان مثال می توان به ژن مولد:

- سموم
- سیتوکین ها
- هورمون ها
- تنظیم کننده های بیان ژن
- فاکتورهای ویرولانس و تهاجم
- انکوژن ها
- ژن های مقاومت به آنتی بیوتیک
- آلرژن ها

باید توجه کرد که میزان بیان ژن ورودی در فعالیت بیولوژیک یا دارویی آن دخیل است.

2-خطراتی که از ارگانیسم گیرنده میزبان ایجاد می شود.

- میزان آسیب پذیری میزبان
- میزان بیماریزایی گونه میزبان شامل ویرولانس، عفونت زایی و تولید سموم
- میزان تغییر ایجاد شده در میزبان
- وضعیت سیستم ایمنی میزبان
- تبعات مواجهه با GMOایجاد شده

3-خطراتی که از تغییر صفات بیماریزایی میزبان حاصل می شود .

گاهی محصول یک ژن به تنهایی آسیب رسان نیست ولی اثرات منفی آن زمانی ایجاد می شود که خصوصیات بیماریزایی میزبان را تغییر می دهند. به عبارت دیگر ممکنست ورود یک ژن طبیعی سبب افزایش بیماریزایی میزبان گردد. برای سنجش چنین خطراتی باید به نکات زیر توجه نمود:

- آیا تغییری در عفونت زایی و ایجاد بیماری توسط میزبان به وجود آمده است؟
- آیا ممکنست ورود ژن جدید سبب بازگشت یک موتاسیون ناتوان کننده جهش معکوسشده باشد؟
- آیا ژن ورودی کدکننده یک فاکتور بیماریزایی در ارگانیسم دهنده بوده است؟
- اگر ژن ورودی مسوول بیماریزایی در ارگانیسم دهنده بوده، آیا همچنان می تواند در میزبان سبب بیماریزایی شود؟
- آیا ابتلا به این عفونت، درمانی هم دارد؟
- آیا حساسیت ارگانیسم میزبان نسبت به آنتی بیوتیک ها تغییر کرده است؟
- آیا راهی برای نابودی و ریشه کنی ارگانیسم تغییر یافته وجود دارد؟

اقدامات فوریتی:

در تمام آزمایشگاههایی که با نمونه های زیستی اعم از میکروارگانیسم های بیماریزا، حیوانات آزمایشگاهی یا نمونه های بافتی و مایعات بدن انسان و حیوانات و... انجام می شود، ممکنست مواردی از انتقال آلودگی به کارکنان به وجود بیاید. درچنین مواقعی لازمست اقدامات کمک رسان به صورت صحیح و به موقع انجام بگیرد تا تبعات مواجهه با عوامل پاتوژن به حداقل برسد.

•زخمهای باز، بریده شدن پوست و خراشهای سطحی

ابتدا لباس یا پوشش ناحیه آسیب دیده خارج شده سپس سطح زخم را با محلول ضد عفونی کننده مناسب شستشو دهید. فرد آسیب دیده را باید به سرعت به مراکز درمانی انتقال داده و اطلاعات کامل نحوه بروز آسیب و نوع عامل پاتوژن موجود در نمونه به پزشک گزارش شود.

•بلع مواد آلوده به پاتوژن:

روپوش و سایر پوشش های ایمنی از بدن فرد آسیب دیده خارج گردد. نوع ماده بلعیده شده و تبعات آلودگی با عامل پاتوژن موجود در آن ضمن انتقال بیمار به مراکز درمانی، گزارش داده شود.

•آزاد شدن آیروسلها از مایعات آلوده

تمام پرسنل باید سریعا فضای آلوده شده را ترک نموده و افرادی که در معرض آلودگی بوده اند به مراکز درمانی مراجعه کنند. هیچکس تا یک ساعت پس از آزاد شدن آیروسلهای آلوده حق ورود به اتاق را ندارد تا ذرات بسیار ریز در فضا پراکنده شده و تراکمشان کاهش یافته و ذرات بزرگتر و سنگین تر بر روی سطوح رسوب نمایند. اگر اتاق آلوده شده فاقد سیستم تهویه مرکزی است ورود به اتاق باید با تاخیر بسیار طولانی تر 24 ساعت انجام گیرد. در این حال لازمست علائم هشدار دهنده بر روی درب اتاق نصب شود. پس از اتمام این زمان عملیات ضد عفونی کردن با پوشش مناسب و با استفاده از ماسکهای تنفسی صورت گیرد.

•شکسته شدن ظروف و پخش شدن نمونه های آلوده

در صورت شکسته شدن ظرف حاوی مواد آلوده یا پاتوژن و پخش شدن آن بر روی سطوح باید بلافاصله سطح مایعات آلوده را با پارچه یا حوله های کاغذی پوشاند. مواد ضد عفونی کننده باید بر روی این لایه ها ریخته شوند و برای مدت زمان کافی باقی بمانند. پس از گذشت زمان کافی می توان قطعات ظروف شکسته و لایه های جاذب را جمع آوری نمود. سطح آلوده را باید مجددا با مواد ضدعفونی کننده شستشو داد. وسایلی که حین فرآیند پاکسازی آلوده شده اند باید ابتدا توسط مواد مربوطه ضدعفونی شده و در آخر اتوکلاو شوند. در تمام مراحل پوشیدن دستکش ضروری است.

•شکسته شدن لوله های حاوی نمونه های آلوده هنگام سانتریفوژ نمودن

چنانچه حین حرکت سانتریفوژ یکی از لوله ها شکسته یا حتی احتمال می رود چنین اتفاقی افتاده باشد، باید بلافاصله دستگاه را خاموش نمود و درب آنرا حداقل به مدت نیم ساعت بسته نگه داشت تا ذرات معلق رسوب نمایند. چنانچه بعد از باز نمودن درب مشخص شد یکی از لوله ها واقعا "شکسته شده باید درب سانتریفوژ را برای مدت نیم ساعت دیگر بسته نگه داشت. برای عملیات پاکسازی بهتر است از دستکش های ضخیم لاستیکی که بر روی آنها دستکش های یکبار مصرف پوشیده شده است، استفاده شود. به کمک پنس و پنبه قطعات لوله شکسته شده و مایعات ریخته درون سانتریفوژ را جمع آوری گردد. قطعات لوله های شکسته شده، روتور و درب آن و سایر اجزا متحرک دستگاه در مایع ضد عفونی کننده قرار داده شود. سایر لوله های سالم نیز به طور جداگانه در ظرف دیگری در همان ماده ضد عفونی کننده قرار داده می شوند. سطح داخلی دستگاه

باید با دستمال آغشته به ماده ضد عفونی کننده با غلظت مناسب شسته شود. سپس با آب پاک شده و در آخر خشک شود.

ضد عفونی کردن و استریلیزاسیون:

در هر آزمایشگاهی لازمست اصول اولیه ضدعفونی کردن و استریل سازی رعایت شود. با توجه به نوع آزمایش و ماهیت عامل عفونت زا، راه رفع آلودگی متفاوت است.

تعاریف :

Antimicrobial:عاملی که بتواند میکروارگانیسم ها را بکشد یا رشد و تکثیرشان را محدود نماید .

Antiseptic:ماده ای که می تواند جلوی رشد و تکثیر میکروارگانیسم ها را بگیرد اما لزوما آنها را نمی کشد. این مواد برای ضدعفونی کردن سطح بدن استفاده می شوند.

Biocide:یک واژه عمومی است و برای هر ترکیبی که می تواند ارگانیسمی را از بین ببرد، به کار می رود.

Chemical germicide:یک ماده شیمیایی یا ترکیبی از مواد شیمیایی که می توانند میکروارگانیسم ها را از بین ببرند.

Decontamination:هر فرآیندی که سبب حذف یا از بین رفتن میکروارگانیسم ها می شود. از همین واژه برای فرآیندهایی که سبب حذف یا خنثی سازی مواد شیمیایی خطرناک یا رادیواکتیو می شوند نیز استفاده می شود.

Disinfectant:یک ماده شیمیایی یا ترکیبی از مواد شیمیایی که می توانند میکروارگانیسم ها را از بین ببرند ولی لزوما تاثیری بر اسپورهای آنها نمی گذارد.

Disinfection:یک روش فیزیکی یا شیمیایی که سبب کشته شدن ارگانیزم ها می شود ولی اثری بر روی اسپورها ندارد.

Microbicide:یک ماده شیمیایی یا ترکیبی از مواد شیمیایی که سبب کشته شدن میکروارگانیسم ها می شود

Antimicrobial و Chemical germicide، Biocideاین لغت معادل است.

Sporocide:یک ماده شیمیایی یا ترکیبی از مواد شیمیایی که سبب کشته شدن میکروارگانیسم ها و اسپورهایشان می شود.

Sterilization:فرآیندی که طی آن تمام انواع میکروارگانیسم ها و اسپورهایشان از بین رفته و حذف می شوند.

راه های استریل سازی:

برای جلوگیری از انتقال آلودگی های آزمایشگاهی لازمست تعداد میکروارگانیسم ها در فضای آزمایشگاه کاهش داده شود. سه مکانیزم عمومی برای کاهش تعداد میکروارگانیسم ها وجود دارد: حرارت، مواد شیمیایی و پرتودهی. از حرارت برای استریل سازی و تخریب تمام میکروارگانیسم ها و اسپورهایشان استفاده می شود. مواد شیمیایی و پرتودهی تنها عوامل و میکروارگانیسم های زنده را از بین برده و اثری روی اسپورها ندارند.

1-حرارت:

حرارت یک عامل فیزیکی است که می توان از آن برای از بین بردن عوامل پاتوژن استفاده کرد. حرارت می تواند به دو صورت خشک و مرطوب باعث رفع آلودگی شود - .حرارت مرطوب بخار حرارت مرطوب اثر قوی تری برای حذف آلودگی نسبت به حرارت خشک دارد و در اتوکلاوها از آن استفاده می شود.

اتوکلاو

در اتوکلاو بخار فراوان و فشار زیاد همزمان وجود دارند و می توانند به طور مناسبی سبب استریل شدن مواد و وسایل شوند. به طور کلی اتوکلاوهای آزمایشگاهی در دمای 121درجه سانتیگراد) ۲۵۰درجه فارنهایت(و فشار 15 psiعمل می کنند. زمان این نوع استریلیزاسیون با توجه به نوع ماده، مقدار و خصوصیات فیزیکی آن تعیین می شود. فشار زیاد و بخار شدید می تواند بسیار خطرناک باشد بنابراین باید در استفاده از این روش دقت کافی به خرج داد.

-حرارت خشک

این نوع حرارت اثرات خورنده نداشته و از آن برای استریل سازی سطوح سخت و لوازم آزمایشگاهی شیشه ای استفاده می شود. استریل سازی در دمای 160-170درجه سانتیگراد و به مدت 2الی 4ساعت رخ می دهد. اما از آنجا که در هر بار استریل نمودن مقدار و نوع وسایل یا مواد آلوده متفاوت است، زمان حرارت دادن نیز تغییرخواهد کرد. از اسپورهای باسیلوس استئاروترموفیلوس برای کنترل مناسب بودن زمان و دمای استریل سازی میتوان استفاده کرد.

-سوزاندن

سوزاندن نوعی حرارت خشک است و روش مناسبی برای دفع زباله های بیولوژیک مانند لاشه حیوانات، نمونه های بافتی و ... می باشد. در این روش نه تنها زباله های بیولوژیک از بین می روند بلکه حجم آنها به طور قابل ملاحظه ای کاهش می یابد. گاه عوامل عفونی موجود در چنین نمونه هایی به طور کامل از بین نمی روند و خاکستر حاصل ممکنست همچنان آلوده باشد. کوره های مخصوص چنین عملیاتی بین 800- 1000درجه حرارت دارند.

-جوشاندن:

جوشاندن نیز یک راه کاهش تعداد میکروارگانیسم هاست ولی الزاما "تمام میکروارگانیسم ها و یا پاتوژن ها را نمی کشد. در عدم حضور وسایل دیگر) مانند مواد شیمیایی مناسب یا اتوکلاو(می توان از این روش استفاده نمود.

2-پرتودهی

اشعه ماورا بنفشUV) (می تواند جهت غیر فعال نمودن میکروارگانیسم های هوا و سطوح)مانند هودهای زیستی(مورد استفاده قرار گیرد. طول موج مورد استفاده برای چنین مصارفی 210-310نانومتر می باشد. اگرچه این پرتو علیه بسیاری از میکروبها موثر است، اما دارای محدودیت هایی نیز می باشد. نفوذ پذیری این اشعه محدود بوده و تنها علیه میکروبهای موجود در سطوح باز و هوا اثر می کند. اشعه UVنمی تواند عوامل موجود در خاک و غبار غلیظ را غیرفعال کند. میزان تاثیر اشعه به فاصله از منبع آن بستگی دارد. هر چه از منبع اشعه دورتر شویم، با توجه به کاهش شدت اثر آن لازمست زمان پرتودهی افزایش یابد. همچنین گرد و غبار روی لامپ UVبه شدت بر روی کارایی پرتو آن موثر است. لامپهای UVرا باید به طور مرتب با دستمال نرم گردگیری کرد.

3-مواد شیمیایی:

تعداد زیادی از مواد شیمیایی وجود دارند که می توان از آنها برای رفع آلودگی میکروبی استفاده نمود. این مواد می توانند به صورت مایع و یا گاز)بخار(مورد استفاده قرار گیرند. فعالیت بسیاری از این مواد در دماهای بالاتر، بهتر و سریعتر انجام می گیرد. اگرچه افزایش دما سبب تبخیر سریعتر و تجزیه شدن آنها نیز می گردد. بسیاری از مواد کشنده میکروارگانیسم ها بر انسان و محیط زیست اثرات منفی می گذارند. بنابراین انتخاب، ذخیره سازی، نحوه کار با آنها، دور ریختن مقادیر اضافی باید با دقت و طبق دستورالعمل درج شده بر روی ظروف آنها باشد. هنگام کار پرسنل باید مجهز به پوشش ایمنی، دستکش، پیش بند و عینک ایمنی باشند. در زیر به تعدادی از معمول ترین مواد شیمیایی ضد عفونی کننده اشاره شده است. لطفا به رقتهای اشاره شده برایهر ترکیب دقت نمایید.

- Chlorin (Sodium hypochlorite):

کلرین یک اکسید کننده بسیار سریع است که به وفور برای عملیات ضد عفونی کردن استفاده می شود. مایع سفید کننده خانگی یک کلرین یا به طور دقیق تر فرم محلول سدیم هیپوکلریت می باشد. این مایع را می توان با آب رقیق کرده و با غلظت های متفاوت برای ضد عفونی کردن استفاده نمود. کلرین و به خصوص سفید کننده خانگی بسیار قلیایی است و برای فلزات اثر خورندگی دارد. فعالیت این ماده در حضور مواد آلی مانند پروتئین ها محدود می شود. ذخیره سازی طولانی مدت یا در دمای بالای این مواد سبب می شود بخشی از کلرین موجود در آنها به صورت گاز متصاعد شده و اثرات ضدمیکروبی ماده را کاهش دهد. برای کارهای معمول آزمایشگاهی و استفاده روزمره از این ماده می توان غلظت 0.1%کلرین را تهیه نمود. چنانچه حجم زیادی از ماده آلاینده بر روی سطوح پخش شده باشد یا نمونه آلوده دارای پروتئین زیادی باشد، بهتر است غلظت 0.5%کلرین تهیه شود. مایع سفید کننده خانگی دارای کلرین 5%است بنابراین کافیست این مایع را 1:50یا 1:10رقیق نموده تابه غلظت مطلوب 0.1%و 0.5%برسیم.

استفاده از مایع سفید کننده به عنوان یک عامل ضد میکروبی در آزمایشگاه توصیه نمی شود بلکه می توان از آن به عنوان یک ضدعفونی کننده عمومی برای نظافت آزمایشگاه و دستگاهها یا وسایل فاقد قطعات فلزی استفاده نمود. کلرین همچنین برای رفع آلودگی آبهای آشامیدنی در غلظت های بسیار کمتر (۱میلی گرم/لیتر) در مواقع ضروری به کار می رود. توجه داشته باشید که گاز کلرین بسیار سمی است، به همین دلیل بایستی مایع سفید کننده را در فضاهایی با تهویه مناسب قرار داد. هیچگاه نباید مایع سفید کننده را با اسیدها مخلوط نمود.

- Formaldehyde:

فرمالدهید(HCHO) (گازی است که تمام میکروارگانیسم ها و اسپورهایشان را در دماهای بالاتر از 20درجه می کشد. اما نمی تواند سبب از بین رفتن پریون ها شود. فرمالدهید کند عمل می کند و نیاز به رطوبت حدود ٪۷۰ دارد. این ماده به فرم جامد و گاه به صورت قرص به فروش می رسد. محلول گاز در مایع آن) (٪۳۷نیز موجود است. برای استفاده از این ماده آنرا حرارت می دهند تا گاز آن متصاعد شود. فرمالدهید برای ضد عفونی کردن فضاها با حجم های محدود مانند هودهای بیولوژیک آلوده و یا اتاق ها به کار می رود. برای فرمالدهید اثرات کارسینوژنی نیزگزارش شده است. این ماده بسیار خطرناک بوده و تحریک کننده است. استشمام گازهای آن سبب التهاب شدید مخاطهای تنفسی و چشمها می گردد.

- Glutaraldehyde:

گلوتارآلدهید(OHC(CH2)3CHO) (مانند فرمالدهیدمی تواند سبب از بین رفتن عوامل پاتوژن فعال مانند باکتری ها و حتی اسپورهایشان، قارچ ها و ویروسهای لیپیدی و غیر لیپیدی شود. این ماده خورنده نیست و سریعتر از فرمالدهید اثر می کند. اما برای از بین بردن اسپورها چند ساعت زمان لازم است. گلوتارآلدهید معمولا به صورت محلول 2%موجود است و برخی از آنها را باید قبل از مصرف با افزودن یک قلیا مانند بیکربنات فعال نمود. محلول فعال را برای مدت 1-4هفته می توان استفاده کرد. در صورت کدر شدن باید کل محلول را دور ریخت. گلوتارآلدهید سمی است و باعث التهاب پوست و غشاهای موکوسی می شود، بنابراین باید از تماس مستقیم با آن پرهیز نمود.

- Alcohols:

اتانول(C2H5OH) (و -۲پروپانول((CH3)2CHOH) (اثرات ضد میکروبی مشابهی دارند. الکل ها را می توان علیه باکتری ها، قارچ ها و ویروسهای لیپیدی استفاده کرد اما اثری بر اسپورها ندارد. اثر الکل ها بر ویروسهای غیر لیپیدی متغیر است. بیشترین اثر مهاری این مواد در غلظت 70%در آب دیده می شود و غلظت های بالاتر و پایین تر آنها اثر کشندگی بر میکروبها ندارد. مهمترین فایده الکل ها آنست که محلولهای آبی آنها باقیمانده یا رسوبی بر روی سطوح باقی نمی گذارد. ترکیب سایر مواد ضد عفونی کننده با الکل بسیار کاراتر خواهد بود. به عنوان مثال با افزودن فرمالدهید 10%به الکل 70%و یا الکل حاوی کلرین 0.2%پاک کننده هایی بسیار کارا تولید می شود. از محلول 70%اتانول می توان برای تمیز کردن سطح

تهران، فلکه دوم صادقیه، خیابان مرودشت، پلاک ۲۰، طبقه ۲، واحد ٦

تلفن تماس : ۰۲۱۴۴۲۴۸۳۸۸-۰۹۰۳۳۷۵۵۵۴۰

@ogenetech www.ogene-tech.com ogenetech@gmail.com

پوست، سطوح میز ازمایشگاهی، هودهای بیولوژیک همچنین وسایل کار استفاده نمود. باید توجه داشت که اتانول برای از بین بردن اسپورها و ویروسهای غیر لیپیدی اصلا مناسب نمی باشد. الکل ها سریع تبخیر می شوند و اشتعال پذیرند و نباید در کنار شعله مورد استفاده قرار بگیرند.

- Iodine and iodophors:

عمل این مواد مشابه اثر کلرین هاست با این تفاوت که ترکیبات آلی اثر مهاری کمتری بر آنها می گذارند. از آنجا که ید سبب رنگ گرفتن پارچه ها و سطوح می شود استفاده از آن به عنوان یک ماده ضدعفونی کننده غیرمعمول و نامناسب است. این ماده سمی است و باید در 10-4درجه سانتیگراد نگهداری شود تا باکتریهای مقاوم و خطرناک در آن رشد نکنند.

تمیز کردن وسایل آزمایشگاهی:

برای تمیز کردن وسایل و ابزار موجود در آزمایشگاه لازمست ابتدا گرد و خاک نشسته بر سطوح جمع آوری گردد. بنابراین در مرحله اول جارو کردن، دستمال کشیدن، شستشو با آب یا استفاده از دستمالهای مرطوب شده با آب و صابون یا هر شوینده دیگری می توانند غبار را از سطح دستگاهها و وسایل پاک کند. گرد و خاک و چرک جمع شده می تواند مانند لایه ای، از میکروارگانیسم ها در برابر مواد ضدعفونی کننده حفاظت نماید پس از مرحله غبار روبی می توان از ماده ضدعفونی کننده مناسب مطابق دستورالعمل ذکر شده بر روی آناستفاده نمود.

ضدعفونی کردن محیط و فضای آزمایشگاه

ضدعفونی کردن فضای آزمایشگاه، میز ها و صندلی ها و تجهیزات نیاز به مخلوطی از مواد ضدعفونی کننده مایع و گازی شکل دارد.. سطوح را می توان با محلول هیپوکلریت سدیم(NaOCl) که حاوی 1گرم کلرین در هر لیتر آب است، ضدعفونی کرد. ولی در شرایط پرخطر مانند زمانیکه یک ظرف حاوی محیط کشت آلوده شکسته و فضا را آلوده می سازد، بهتر است از محلول ۵گرم/لیتر آن استفاده نمود. فضای اتاق و سایر تجهیزات را می توان با بخار فرمالدهید ضد عفونی نمود. برای تولید این بخار یا باید پارافرمالدهید را حرارت داده یا فرمالین را جوشاند. تولید گاز فرمالدهید بسیار خطرناک است و باید توسط افراد مجرب انجام شود. درب ها و پنجره ها را باید قبل از تولید بخار کاملا پوشاند. دمای 21درجه سانتیگراد و رطوبت 70%برای ضدعفونی کردن با این بخار مناسب است. پس از اتمام زمان ضدعفونی کردن و قبل از ورود پرسنل، باید هوای اتاق به طور کامل تهویه شود. فردی که برای اولین بار وارد اتاق می شود تا راههای خروجی را باز نماید، باید از ماسکهای فیلتر دار مناسب استفاده کند. همچنین می توان از گاز بیکربنات امونیوم برای خنثی سازی فرمالدهید استفاده کرد.

ضد عفونی کردن هودهای بیولوژیک:

برای ضدعفونی کردن هودهای کلاس I وIIبیولوژیک باید از بخار پارافرمالدهید استفاده نمود. میزان کافی از پارافرمالدهید)با غلظت نهایی 0.8%در هوا(را در یک ظرف فلزی زیر هود قرار داده و آنرا روی یک hot plate قرار می دهند. بخار پارافرمالدهید برای مدت 6ساعت باید زیر هود تولید شود و در تمام این مدت هود خاموش می باشد. سپس ظرف فلزی دیگری حاوی بیکربنات آمونیوم 10%را بر روی hot plate قرار داده تا بخار شود. پس از اتمام تبخیر شدن بیکربنات آمونیوم، هود را دو بار و هر بار برای مدت بسیار اندک 2ثانیه 60

روشن نمایید تا بخار بیکربنات وارد فیلتر هود شود. سپس هود را برای مدت 30دقیقه خاموش نگهدارید تا فرمالدهید را غیر فعال نماید. در آخر سطح هود را از باقیمانده مواد شیمیایی پاک کنید

ضد عفونی کردن دستها:

لازمست هنگام کار با مواد آلوده حتما از دستکش مناسب استفاده شود. پوشیدن دستکش به معنی تمیز ماندن دائمی دستها نیست و لازمست به طور مرتب دستها شسته شوند. بعد از اتمام کار و قبل از ترک آزمایشگاه شستن دستها الزامی است. در اکثر مواقع شستشوی دستها با آب و صابون معمولی کافیست ولی در شرایط خطرناک لازمست از صابونهای آنتی میکروبیال استفاده شود. دستها را باید با مقادیر کافی از صابون حداقل برای مدت 10ثانیه شستشو داد، سپس با آب تمیز و کافی شست و در آخر با دستمالهای یک بار مصرف خشک نمود. بهتر است شیرهای آب طوری باشند که با آرنج یا پا کنترل شوند تا دستهای شسته شده در اثر تماس با شیرهای آب مجددا آلوده نشوند. در صورت نبود شوینده مناسب می توان از الکل برای تمیز کردن دستها استفاده نمود