



مرکز تحقیقات پزشکی بازساختی

راهنمای کاربرد آزمایشگاه

پژوهشگر گرامی، این راهنما با هدف ارتقای ایمنی زیستی و بهره‌وری آزمایشگاه تهیه شده است. رعایت اصول آن می‌تواند تجربه‌ای خوشایند و موثر از حضور شما در این مرکز فراهم کند. بنابراین ضمن پایبندی به اصول آن، چنانچه نقایص و اشکالاتی در آن می‌بینید با ما در میان بگذارید تا در ویرایش‌های بعدی اصلاح شود.

توصیه‌های عمومی

- در حفظ نظافت آزمایشگاه دقت کامل داشته باشید.
- هنگام ورود به آزمایشگاه روپوش و کفش مخصوص پوشیده و بعد از خروج آنها را بصورت مرتب در سر جای خود قرار دهید. برای جلوگیری از انتشار آلودگی روپوش‌ها در فواصل مناسب شسته شوند.
- با روپوش آزمایشگاه وارد آبدارخانه نشوید.
- از خوردن، آشامیدن و وارد کردن هر گونه مواد غذایی به داخل آزمایشگاه (بجز آبدارخانه و فضای مطالعه) اکیداً خودداری فرمایید.
- با توجه به اینکه از فضای آزمایشگاه برای مطالعه، جستجو و نوشتن هم استفاده می‌شود، بجز در زمان‌های استراحت و ناهار، سکوت را رعایت فرمایید تا در کار دیگران اختلال ایجاد نشود.
- در صورت ریختن هر گونه مایع بر روی زمین یا میز سریعاً پاک شود.
- باقیمانده‌های خوراکی، کاغذ، وسایل کار و ... را از روی میزها جمع آوری و تمیز کنید.
- ظروف غذا و لیوان چای را پس از استفاده بشوید و در آبدارخانه رها نکنید.
- از گذاشتن وسایل آزمایشگاه اعم از جعبه‌های مواد، رک‌ها و ... بر روی میزهای مطالعه خودداری کنید.
- پس از اتمام کار، میز کار را تمیز و کلیه وسایل را در سر جای خود بگذارید. وسایل مصرفی و غیر مصرفی خود را اعم از waste، دستکش، گاز و دستمال کاغذی و ... را از کنار هودها و میزها جمع آوری کنید.

- خارج کردن وسایل آزمایشگاه هرچند به صورت موقت صرفاً با هماهنگی رئیس آزمایشگاه امکان پذیر است.
- برای استفاده از مواد و ابزارهایی که از آزمایشگاه های دیگر به این مرکز آورده می شود با رئیس آزمایشگاه هماهنگی کنید.
- پس از پایان کار، ظروف آزمایشگاهی را شسته، در آبچکان قرار داده و پس از خشک شدن در کمد مخصوص قرار دهید.
- در هنگام استفاده از ساتریفوژها به متعادل بودن محتوای آن توجه کنید و تا رسیدن به حداکثر دور تنظیم شده در کنار آن بمانید. در صورت آلوده شدن ساتریفوژ به محتوای لوله ها، سریعاً با دستمال آغشته به آب (یا در صورت لزوم ماده ضد عفونی کننده) آن را تمیز کنید.
- جریان کار (Pre-PCR → PCR → Post-PCR) را در نظر بگیرید و از انتقال مواد و ابزارها از هر فضا به فضای دیگر خودداری فرمایید. پیشگیری از انتقال آلودگی میکروبی و اسیدنوکلئیکی باید به صورت جدی مورد توجه قرار گیرد. از این رو کار با باکتری، پلاسمید و محصول PCR باید منحصر به فضای مهندسی ژنتیک و Post-PCR باشد.
- برای هر قسمت آزمایشگاه یک ست سمپلر مخصوص در نظر گرفته شده است. از جابجا کردن آنها پرهیزید و برای کار در هر فضا از ست سمپلر همان قسمت استفاده شود.
- از جابجا کردن رکها، جعبه ها و ظروف مخصوص هر اتاق به اتاق دیگر خودداری فرمایید.
- از بیرون آوردن سمپلرها و وسایل از زیر workstationها و هودها جدا خودداری فرمایید.

- حین استفاده از سمپلر و پیپت فیلر باید به این نکته توجه شود که ورود مایعات و رنگها به داخل فیلتر آنها منجر به آلودگی و کاهش دقت آنها خواهد شد. در صورت آلوده شدن این ابزارها با محلولها، خون یا سوسپانسیون باکتری و ... حتماً به مسئول کنترل کیفی یا رئیس آزمایشگاه اطلاع دهید تا اصلاح شود.
- درهای تمام اتاقها را همیشه بسته نگهدارید تا ضمن جلوگیری از انتقال آلودگی، دما و فشار هوای تنظیم شده برای هر اتاق به هم نخورد.
- از جعبه کلید برق، فقط برای خاموش و روشن کردن روشناییها استفاده کنید و به سایر کلیدها دست نزنید.
- حضور در آزمایشگاه هر چند به صورت موقت یا به صورت مهمان نیازمند هماهنگی قبلی و کسب مجوز از رئیس آزمایشگاه می باشد.
- اگر آخرین فردی هستید که آزمایشگاه را ترک می کنید، طبق چک لیست خروج عمل نمایید.

نکات ایمنی

- قبل از کار با مواد با خطر شیمیایی یا زیستی نکات ایمنی مربوطه را مطالعه کرده و حین کار دستکش مقاوم بپوشید. در صورت آلوده یا سوراخ شدن دستکش بلافاصله آن را عوض کنید.
- بر اساس نوع کار برای محافظت از خود یا انجام بهینه فرایند، از دستکش مناسب استفاده کنید. دستکش بایستی به محض احتمال آلودگی تعویض شود.
- برای پیشگیری از ایجاد رادیکال آزاد از روشن کردن لامپ UV هودها و workstationها در طول روز حتی الامکان خودداری کنید. لامپهای UV در پایان هر روز توسط آخرین نفر روشن می شود و پس از زمان مشخصی به صورت خودکار خاموش می شود.
- در صورت شنیدن آژیر اعلام حریق و بروز آتش سوزی، همه افراد باید سریعاً آزمایشگاه را ترک کنند و نگهبانی دانشکده را مطلع نمایند.
- اطمینان حاصل کنید که روش استفاده از کپسولهای آتش نشانی را فرا گرفته اید.
- در صورت بروز آتش سوزی (چنانچه آژیر اعلام حریق فعال نشده است) یا هر حادثه غیر مترقبه دیگر برای دریافت کمک، شستی اعلام حریق در مجاورت اتاق تعویض روپوش را فشار دهید.
- در صورت برق گرفتگی یا هر حادثه مشابه، قبل از هر کاری شستی دایره زرد رنگ قطع برق را فشار دهید. در شروع کار در آزمایشگاه محل این شستی را شناسایی کنید.

- در صورت تماس پوست، مخاط یا چشم با مواد سمی بلافاصله با آب فراوان شسته شود و چنانچه لباس شما به آن ماده آغشته شده است آن را تعویض کنید. پس از اقدامات اولیه ممکن است نیاز به ویزیت پزشک وجود داشته باشد.
- قبل از استفاده از هر ماده بالقوه سمی از نکات ایمنی در استفاده و دفع ضایعات آن مطلع شوید.
- در صورت بروز هر حادثه‌ای، در اولین فرصت ممکن رئیس آزمایشگاه را مطلع فرمایید.

برچسب‌گذاری (Labeling) :

- تمام مواد (آب، الکل، دکونکس، ضایعات، آنزیم‌ها، فاکتورهای رشد، ...) باید به صورت صحیح برچسب‌گذاری شوند. برچسب باید به گونه ای باشد که با توجه به قدرت حلالیت ماده، دمای نگهداری، تماس مکرر با دست و ... پایدار باشد.
- بسته به نوع ماده، برچسب‌ها علاوه بر محتوای ظرف، در صورت لزوم باید دارای اطلاعات دیگری مانند تاریخ، غلظت، کد کالا، شرکت سازنده، نام پژوهشگر و ... نیز باشد.
- مواد خود را صرفاً در محل‌ها مشخص شده برای شما در یخچال‌ها و فریزرها نگهداری کنید و به گونه‌ای برچسب‌گذاری کنید (یا در کیسه‌های مشخص و نامدار قرار دهید) که چنانچه نیاز به تخلیه دستگاه یا انتقال به محل دیگری باشد، به آسانی مواد شما شناسایی شوند.

شیوه دفع ضایعات

- ضایعات آزمایشگاه به سه دسته تقسیم می شوند:
 ۱. ضایعات قابل بازیافت: (کاغذ و پلاستیک) این ضایعات منحصر به فضای اداری است و از داخل آزمایشگاه هیچ نوع ضایعاتی بازیافت نمی شود. سبد مخصوصی برای این منظور در آبدارخانه قرار داده شده است که پس از پر شدن محتوای آن به محل های بازیافت منتقل می شود.
 ۲. ضایعات معمولی غیر قابل بازیافت: در سطل های کرمی رنگ جمع آوری و در سطل های بزرگ جمع آوری زباله در مجاور خیابان کنار دانشکده دفع می شوند.
 ۳. ضایعات با خطر زیستی: (مانند مواد و وسایل آغشته به خون یا باکتری و مشتقات آن ها، آلودگی های و کتورهای ویروسی و رده های سلولی نامیرا شده با آنکوویروس ها) این ضایعات خود به سه دسته تقسیم می - شوند:
 - a. ضایعات آلوده جامد و غیر نوک تیز: (مانند فلاسک، پلیت، لوله های فالکون و پیپت های یکبار مصرف پلاستیکی) در سطل های طوسی رنگ که با علامت خطر زیستی مشخص شده اند دفع می شوند. در داخل این سطل ها باید حتماً کیسه مخصوص اتوکلاو قرار داده شده باشد و پس از پر شدن ابتدا اتوکلاو و سپس مانند ضایعات معمولی دفع شوند. چنانچه تا نوبت بعدی کار چند روز فاصله دارید، حتی اگر سطل پر نشده است، ضایعات را اتوکلاو و دفع کنید. لطفاً دقت فرمایید که از اتوکلاو موجود در آزمایشگاه به هیچ وجه برای این

منظور استفاده نشود. این امر می‌تواند باعث اختلال جدی در فرایندهای آزمایشگاه شود.

b. مواد نوک تیز و برنده: (مانند نوک سمپلر، سوزن سرسرنگ و پیپت پاستور شیشه‌ای) این اشیا باید در ظرفهای زردرنگ مخصوص (Safety Box) دفع شوند. سر سوزن سرسرنگ باید به صورت مستقیم در این سطل‌ها دفع شود و نباید تلاش کرد درپوش آن گذاشته شود. لطفاً دقت فرمایید که به هیچ وجه انگشتان خود را وارد سطل ضایعات نوک تیز نکنید و درب آنها را باز نکنید. این ظروف یکبار مصرف هستند و پس از پر شدن به همراه سایر ضایعات، اتوکلاو و دفع می‌شوند. توجه داشته باشید که دفع ضایعات نوک تیز به صورت مستقیم در سطل‌های طوسی رنگ می‌تواند خطرناک باشد.

c. مایعات آلوده: (مانند محیط کشت روی سلول، لیز باکتری و خون) این مایعات در بطری‌های پلاستیکی درپیچ دار جمع‌آوری شوند و سپس در سطل‌های طوسی رنگ ذکر شده دفع شوند. ابتدا مقدار کمی مایع سفیدکننده (Bleach) در بطری بریزید و سپس مایعات را در آن دفع کنید. از بطری‌های شیشه‌ای یا بطری‌هایی که در آنها به خوبی بسته نمی‌شود برای این منظور استفاده نکنید و حتماً روی بطری را به خوبی برچسب گذاری کنید. دقت کنید که در مورد ظروف آزمایشگاهی محتوی مایعات با خطر زیستی (همچون فلاسک سلولی که با ویروس ترانسداکت شده است) باید ابتدا مایع داخل آن در بطری‌های مذکور ریخته شود و سپس خود ظرف در درون سطل طوسی رنگ دفع شود.

راهنمای کار در اتاق‌های RNA/DNA isolation, Pre-PCR

- هنگام تهیه محلول واکنش PCR، از اضافه کردن Template در اتاق Pre-PCR خودداری فرمایید. Template را در اتاق DNA/RNA Isolation اضافه کنید و از سمپلرهای همین فضا برای این منظور استفاده نمایید.
- DNA و RNAهای استخراج شده را در فضای مشخص شده در فریزر -۷۰ در اتاق کشت سلول نگهداری کنید.
- برای نگهداری PCR Product از یخچال فریزر اتاق Post-PCR استفاده کنید. برای این منظور از رک‌های دردار استفاده شود، نام پژوهشگر و تاریخ روی آن‌ها نوشته شود و بعد از گرفتن نتیجه دور ریخته شوند تا بیهوده در یخچال نگهداری نشوند.
- قبل از کار و بعد از کار سطح station و هود را با اسید کلریدریک ۰/۱ مولار تمیز نمایید.
- از آغشته نمودن دیواره و سقف Stationها با اسید و الکل جدا خودداری فرمایید و در صورت لزوم فقط از گاز مرطوب با آب برای تمیز کردن این سطوح استفاده شود.
- پس از پایان کار، در workstationها را ببندید.

راهنمای کار در اتاق Post PCR و مهندسی ژنتیک

- بعد از اتمام کار و مرتب کردن وسایل، سطح میز را با الکل تمیز کنید.
- در فاصله کارها و زمانی که به شعله نیاز ندارید شعله را خاموش کنید و شیر اصلی گاز را ببندید. در استفاده از شعله دقت فرمایید که کابینت بالای آن داغ نشود چون خطر آتش سوزی وجود دارد.
- بعد از اتمام کار حتماً "در اسرع وقت ظروف شیشه‌ای آلوده را اتوکلاو نمایید و سپس شستشو داده و به کمد نگهداری ظروف شیشه‌ای منتقل کنید.
- پلیت‌ها و لوله‌های کشت باکتری فقط در یخچال اتاق مهندسی ژنتیک نگهداری شوند و به سایر فضاها منتقل نشوند.
- لامپ UV دستگاه ژل داک نباید بیش از چند ثانیه روشن باقی بماند.
- ژل‌های خود را پس از مشاهده دور بیندازید و آن را در داخل دستگاه باقی نگذارید. پس از دور ریختن ژل باید سطح ترانس ایلومینیتور را با دستمال مرطوب تمیز نمایید.
- برای استفاده از ترانس ایلومینیتور جهت بریدن ژل، نباید سطح آن با تیغ خراش یابد.
- در تهیه ژل الکتروفورز ژل‌های اضافی را در ارلن‌های مربوطه بیندازید و از چسبیدن خرده‌های ژل به گردن ارلن جلوگیری کنید و در صورت وجود تکه‌های نازک ژل آن‌ها را دور بیندازید.
- بعد از پایان کار الکتروفورز، کست و سینی تهیه ژل را بشویید و پس از خشک شدن در جعبه جلوی دستگاه بگذارید.
- بعد از استفاده از ترازو، آن را خاموش کنید. اگر پودری روی آن ریخت، تمیز کنید و تکه‌های کاغذ را از اطراف آن جمع کنید.

راهنمای کار در اتاق کشت

- حتی الامکان روپوش مخصوص اتاق کشت را در فضاهای دیگر آزمایشگاه استفاده نکنید.
- پس از استفاده از تانک نیتروژن، از بسته بودن در آن اطمینان حاصل کنید و در حین کار بیش از چند ثانیه آن را باز نگذارید.
- در هنگام استفاده از تانک نیتروژن، از دستکش و محافظ صورت یا عینک ایمنی استفاده کنید.
- پس از گذاشتن و برداشتن سلول، میله محافظ را به درستی قرار دهید تا بقیه جعبه‌ها در تانک نریزند. رعایت این نکته فوقالعاده ضروری و حائز اهمیت است. هر گونه سهل انگاری در این مورد می تواند ضررهای جدی به کار دیگران وارد کند.
- موقع قرار دادن جعبه‌ها در تانک، میله را به آرامی وارد تانک کنید و در محل خود قرار دهید تا سیستم خلا تانک آسیب نبیند.
- برای قرار دادن سلول و سایر مواد خود در تانک ازت و فریزر ۷۰- فقط از فضای اختصاص داده شده به خود استفاده کنید و اصول برچسب گذاری را رعایت فرمایید.
- به هیچ وجه تنظیمات فریزر ۷۰- را تغییر ندهید.
- در فریزر ۷۰- را بیش از چند ثانیه باز نگذارید. چون علاوه بر بالا رفتن دمای دستگاه منجر به برفک زدن می شود.
- در صورتی که دمای فریزر بالاتر از ۷۰- است به هیچ وجه در آن را باز نکنید.
- در یک مرحله بیش از یک چهارم حجم فریزر نباید پر شود و تا رسیدن فریزر به دمای ۷۰- از گذاشتن مواد دیگر در آن خودداری شود.

- برای جلوگیری از آلودگی، موقع مشاهده سلول زیر میکروسکوپ، فلاسک‌ها و پلیت‌ها را در سینی مخصوص کنار میکروسکوپ بگذارید.
- پس از استفاده از میکروسکوپ آن را خاموش کرده و روکش آن را بکشید.
- برای تمیز کردن لنزها و سایر اجزای آن فقط از دستمال مخصوص آن و به صورت خشک استفاده شود. از تماس الکل یا سایر محلول‌ها و استفاده از گاز و پنبه برای تمیز کردن آن خودداری فرمایید.
- در هنگام استفاده از میکروسکوپ، تنظیمات آن را تا حد ممکن تغییر ندهید.
- پس از اتمام کار با بن‌ماری، هود و سانتریفیوژ از خاموش بودن آن‌ها اطمینان حاصل کنید.
- در صورت اعلام هشدار فریزر 70- و انکوباتور حتماً به مسئول کنترل کیفی یا رئیس آزمایشگاه اطلاع دهید.
- قبل از استفاده از بن‌ماری و اتوکلاو از کافی بودن سطح آب اطمینان حاصل نمایید و در صورت آلوده شدن تعویض شود. برای پر کردن مخزن اتوکلاو از آب شیر و برای پر کردن بن‌ماری از آب مقطر استفاده شود.
- فضای داخل هود کشت سلول را پس از هر مرتبه استفاده با الکل تمیز کنید و اشیاء مورد استفاده را از آن خارج کرده و در جای خود بگذارید. در صورت کار با وکتورهای ویروسی، پس از پایان کار سطح هود و تمام وسایل به کار رفته را با دکونکس تمیز کنید و چند دقیقه صبر کنید تا خشک شود.
- کار با وکتورهای ویروسی مستلزم رعایت دستورالعمل ایمنی جداگانه‌ای است که در صورت لزوم در اختیار پژوهشگر گذاشته می‌شود. صرفاً افرادی مجاز به کار با وکتورهای ویروسی هستند که این دستورالعمل را مطالعه کرده باشند و سایر آموزشهای لازم (از جمله نحوه استفاده از کیت رفع آلودگی

اضطراری) را دریافت کرده باشند. در هر صورت، برای کار با این وکتورها یا کشت سلول‌هایی که قبلاً با اینها ترانسداکت شده‌اند لازم است از رئیس آزمایشگاه مجوز گرفته شود.