



ISLN

Quarterly, 2018

Volume 2, Number 1

Pages 75 – 83

Print ISSN: 2538-4910

Online ISSN: 2588-641X

Principles of Bisafety in Molecular Genetic Laboratories

Saeid Nikbin^{1*} and Mahdi Davari²

Abstract

Recent developments in molecular genetics have resulted in numerous applications in this and other biological sciences. Consequently, molecular genetics laboratories have been launched in universities, many research institutes and medical research facilities. However, in achieving the very valuable research achievements in this field, work in genetics labs can be very sensitive and risky. Considering the special risks of some materials and equipment, improving the safety of work in these experiments is necessary. Biosafety is the adoption of principles and methods that protect lab workers, students and the environment from hazardous biological agents. Damage and injury to humans and the environment are greatly reduced by observing and enforcing the principles of biological safety when working with pathogens, biological toxins or products containing hazardous substances. The first step is to familiarize researchers, students and experts with the standards of laboratory work, as well as to conduct experiments within the principles of biological safety, under expert supervision. This article introduces the handling of hazardous materials and equipment in the molecular genetics laboratory, addressing level of risk, providing safe methods for their use, and detailing neutralization and disposal procedures.

Key Words

Ethidium bromide,
Acrylamide,
Phenolic compounds,
Chloroform,
Ultraviolet radiation,
Hazardous waste

(*) Coresponding Author.

1. Assistant Professor of Genetics and Animal breeding, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

E-mail: sdnikbin@uma.ac.ir

Tel: 09115505805

2. Associate Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

Email: mdavari@uma.ac.ir

Tel: 09143512880



شاعا
فصلنامه علمی
سال دوم، شماره ۱
صفحات ۷۵ - ۸۳، ۱۳۹۷
شاپای چاپی: ۴۹۱۰-۲۵۳۸
شاپای الکترونیکی: ۶۴۱۸-۲۵۸۸

اصول ایمنی زیستی در آزمایشگاه‌های ژنتیک مولکولی

سعید نیک‌بین^{۱*} و مهدی داوری^۲

با توجه به پیشرفت‌های روزافزون در زمینه ژنتیک مولکولی و کاربردهای بی‌شمار آن در مباحث ژنتیکی و نیز ورود آن به سایر علوم زیستی، آزمایشگاه‌های ژنتیک مولکولی در دانشگاه‌ها و بسیاری از انستیتوهای تحقیقاتی، پزشکی و غیره راه‌اندازی و فعال شده است. علی‌رغم دستاوردهای بسیار با ارزش ناشی از پژوهش‌های انجام شده در این زمینه، کار در آزمایشگاه‌های ژنتیک می‌تواند بسیار حساس و پرخطر باشد. با توجه به خطرات ویژه آزمایشات ژنتیکی در بحث بعضی از مواد و تجهیزات، لزوم ارتقای ایمنی کار در این نوع آزمایشات ضروری به نظر می‌رسد. ایمنی زیستی (Biosafety) عبارت است از اتخاذ اصول و روش‌هایی که سبب حفاظت کارکنان، دانشجویان و محیط از آلوده شدن به عوامل خطرناک زیستی می‌شود. با اجرای مقررات و رعایت اصول ایمنی زیستی در هنگام کار با نمونه‌های آلوده به مواد زیستی بیماری‌زا مانند میکروب‌های بیماری‌زا، زهرابه‌های زیستی و هر نوع محصول و فرآورده انسانی، دامی و گیاهی واجد مواد خطرناک، صدمات و آسیب‌های وارده به انسان و محیط اطراف به شدت کاهش می‌یابد. اولین گام در این مسیر، آشنایی محققین، دانشجویان و کارشناسان با استانداردهای کار در محیط آزمایشگاه و هم‌چنین آزمایش‌هایی است که انجام آن‌ها حتماً با رعایت اصول ایمنی زیستی و تحت نظارت متخصصین خبره صورت گیرد. این مقاله با هدف معرفی مواد و تجهیزات خطرناک در شرایط کار آزمایشگاه ژنتیک مولکولی، میزان خطرات آن‌ها و ارائه راهکارهای ایمن در هنگام کار با آن‌ها و نیز روش‌های خنثی‌سازی و دفع مناسب آن‌ها ارائه شده است.

چکیده



مهدی داوری



سعید نیک‌بین

واژگان کلیدی

اتیدیوم بروماید،
اکریل آمید،
ترکیبات فنل،
کلروفرم،
اشعه ماورای بنفش،
پسماندهای خطرناک

(*): مسئول مکاتبات.

۱. استادیار ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی، ایران.

ایمیل: sdnikbin@uma.ac.ir

تلفن: ۰۹۱۱۵۵۰۵۸۰۵

۲. دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی دانشگاه محقق اردبیلی، ایران.

ایمیل: mdavari@uma.ac.ir

تلفن: ۰۹۱۴۳۵۱۲۸۸۰

سلامتی پرسنل، شرایط آزمایشگاهی لازم برای کار با آن‌ها، نحوه نگهداری و دفع آن‌ها و اقدامات اضطراری مورد توجه اکید قرار گیرند. عمده مواد شیمیایی خطرناک مورد استفاده در آزمایش‌های ژنتیک عبارتند از اتیدیوم بروماید، آکریل آمید، فنل و سایر محلول‌های با پایه فنل. در بسیاری از موارد، استفاده از لامپ‌های ماورای بنفش در آزمایشگاه ژنتیک ضرورت می‌یابد که می‌تواند برای کاربر خطرناک باشد [۳].

۱.۳ اتیدیوم بروماید

اتیدیوم بروماید^۱ یک رنگ فلورسنت کاتیونی قرمز است که برای قابل مشاهده کردن DNA و RNA در ژل الکتروفورز و نیز به عنوان یک مهارکننده سنتز پروتئین استفاده می‌شود. اتیدیوم بروماید به رنگ قرمز تیره، کریستالی، جامد و حلالیت متوسط در آب است و در زیر نور UV به رنگ قرمز فلوروسنس دیده می‌شود [۱]. با توجه به ویژگی‌های خطرناک اتیدیوم بروماید، رعایت نکات ایمنی ضروری است.

۱.۱.۳ خطرات اتیدیوم بروماید برای سلامتی

اتیدیوم بروماید یک ماده موتاژن قوی است و می‌تواند سبب آسیب ژنتیکی شود [۵]. قرار گرفتن در معرض غلظت‌های نسبتاً بالای آن نیز سمی است. این ماده می‌تواند از طریق پوست، چشم، دهان و دستگاه تنفسی جذب شود، بنابراین بایستی از تماس مستقیم با این ماده شیمیایی پرهیز شود [۲].

۲.۱.۳ ملاحظات امنیتی

بهترین توصیه در این مورد، استفاده از یک ماده شیمیایی با سمیت کمتر (به عنوان مثال رنگ ژل SYBR Safe™ DNA) است که موجب کاهش خطر آلودگی و کاهش تولید زباله‌های خطرناک می‌گردد [۶، ۷]. اما در صورت استفاده از اتیدیوم بروماید باید توجهات و ملاحظات لازم اعمال گردد. در محل کار با اتیدیوم بروماید باید عبارت "توجه - اتیدیوم بروماید: موتاژن و سرطان زا" نوشته شود. آزمایشگر باید در مورد خطرات و کنترل‌های قرار گرفتن در معرض اتیدیوم بروماید، آموزش ببیند. برای جلوگیری از قرار گرفتن در معرض استنشاق با پودر یا کریستال اتیدیوم بروماید، مراحل توزین و حل کردن پودر آن در کابینت ایمنی مخصوص مواد شیمیایی انجام شود یا از محلول‌های

آزمایشگاه‌هایی که در آن‌ها آزمایش‌های ژنتیکی انجام می‌گیرد، نیازمند اتخاذ تدابیر ایمنی ویژه‌ای در مقایسه با سایر آزمایشگاه‌ها می‌باشند [۳]. علاوه بر مواد آزمایشی خطرناک مورد استفاده در این نوع آزمایشات، انواع ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و یا حتی نمونه‌های بافتی آلوده به بیماری نیز ممکن است در این نوع آزمایشات استفاده شوند و نیاز به توجه بیشتر و ویژه‌ای دارند [۴]. بدیهی است در چنین آزمایشگاه‌هایی می‌بایست شرایط ایمنی لازم برای کار با این عوامل و استانداردهای مورد نیاز را تأمین نمود. مقاله حاضر مواد شیمیایی خطرناک و ایمنی در استفاده و دفع مناسب پسماند آن‌ها و نیز ایمنی در به‌کارگیری پرتو ماوراء بنفش را مورد بحث قرار داده است.

۲ ضوابط و مقررات کاری برای انجام آزمایشات ژنتیکی

برای شروع کار استفاده از دستکش، روپوش و پاپوش کامل ویژه آزمایشگاه و در دسترس بودن ماسک و عینک حفاظتی ضروری است. فضای کاری باید مجهز به شیر آب و مواد ضد عفونی کننده مناسب جهت شستشوی دست‌ها باشد و آزمایشگر باید قبل و بعد از آزمایش، دست‌های خود را به‌طور کامل بشوید. خوردن، آشامیدن و کشیدن سیگار در محل کار مجاز نیست. مواد خطرناک باید در محل‌های دفع مناسب به‌طور صحیح دفع گردد. سطوح کار باید قبل و بعد از آزمایش تمیز شده و در صورت آلودگی با مواد خطرناک با روش مناسب باید آلودگی زدایی شود. سر سمپلرها، تیوپ‌ها و سایر وسایل مورد استفاده باید استریل بوده و یا قبل از مصرف، اتوکلاو شوند. استفاده از موادی که منجر به تولید غبار یا بخار خطرناک می‌شوند، باید در زیر هود مناسب صورت گیرد [۳]. مامی پرسنل باید در ارتباط با استفاده صحیح، نحوه نگهداری، کار کردن و چگونگی دفع مواد شیمیایی آموزش لازم را دیده باشند.

۳ مواد شیمیایی خطرناک و اشعه ماورای بنفش

کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمایشگاه و آزمایش‌های ژنتیک باید از جنبه‌های مختلف، مانند اثرات بالقوه خطرناک آن‌ها برای

^۱EtBr



مقالات علمی

اتیدیوم بروماید یا قرص‌های پیش‌مخلوط آماده استفاده گردد. برای جلوگیری از انتقال آلودگی به دستگیره‌ها و سطوح دیگر در هنگام استفاده از اتیدیوم بروماید در خارج از منطقه کار یا آزمایشگاه (به عنوان مثال، حمل نمونه‌ها)، باید از دستکش‌های تمیز استفاده شود. در هنگام حمل و نقل، اتیدیوم بروماید در یک مخزن ثانویه حمل شود. ژل‌های آکریل آمید و آگارز حاوی بیش از 10^6 میلی‌گرم بر لیتر اتیدیوم بروماید باید در کیسه‌های پلاستیکی دو جداره بسته‌بندی و داخل یک سطل مناسب و مخصوص دفع شود [۳].

۳.۱.۳ کمک‌های اولیه در صورت تماس با اتیدیوم بروماید

در صورت آلوده شدن لباس یا پوست به اتیدیوم بروماید باید فوراً لباس آلوده را از تن خارج نموده و پوست را با مقدار فراوان آب و صابون شستشو داد. در صورت آلوده شدن چشم نیز باید آن را به مدت حداقل ۱۵ دقیقه با آب فراوان شستشو داد. در صورت بلع یا استنشاق بلافاصله به پزشک مراجعه کنید. اگر فرد در معرض استنشاق گرد و غبار اتیدیوم بروماید قرار گرفته باشد، بیمار را در معرض هوای تازه قرار داده و به پزشک مراجعه کنید [۸].

۴.۱.۳ کنترل و خنثی کردن اتیدیوم بروماید در صورت آلودگی سطح

تمامی کاربران اتیدیوم بروماید، مسئول حفظ پاکیزگی آزمایشگاه هستند. هر ناحیه با احتمال آلودگی باید فوراً تمیز شود. برای بررسی آلودگی می‌توان از نور UV استفاده کرد. در هنگام استفاده از لامپ UV پوست و چشم‌ها با استفاده از دستکش و عینک ایمنی پوشانیده شود. باید توجه نمود که از محلول‌های سفید کننده برای تمیز کردن آلودگی اتیدیوم بروماید استفاده نشود، زیرا موثر نیست.

آلودگی‌های کوچک اتیدیوم بروماید باید توسط کارکنان آزمایشگاه تمیز شود. از دستمال‌های کاغذی برای جذب آلودگی‌های مایع و دستمال‌های مرطوب برای جامدات (کریستال یا پودر) استفاده شود [۱]. پس از تمیز کردن اولیه مواد مایع یا جامد از محل، از روش‌های زیر برای پاکسازی کامل استفاده شده و سپس نور UV برای اطمینان از عدم وجود بقایای اتیدیوم بروماید به‌کار گرفته شود [۳].

روش اول: ابتدا منطقه آلوده را با حوله‌های تمیز و مرطوب و آب و صابون تمیز نموده و برای اطمینان از حذف آلودگی، این مرحله شش بار تکرار می‌شود. تمام حوله‌ها و دستمال‌های کاغذی آلوده باید

به طور مناسب دفع گردد. در پایان، استفاده از یک لامپ UV برای بررسی باقیمانده احتمالی آلودگی توصیه می‌شود. اگر هنوز شواهدی بر آلودگی باقی‌مانده وجود داشته باشد، این روند می‌بایست تا زمانی که منطقه عاری از آلودگی قابل تشخیص باشد، تکرار گردد.

روش دوم: در این روش، یک محلول حاوی $4\% \text{ NaOH}$ گرم نیتريت سدیم و 20 میلی‌لیتر اسید هیپوفسفور (50% درصد) در 300 میلی‌لیتر آب تهیه شده و منطقه مورد نظر با یک حوله خیس شده در محلول فوق شستشو داده می‌شود. سپس محل مورد نظر 5 بار با حوله‌های خیس شده در آب شیرین شسته می‌شود. مانند روش قبل برای بررسی آلودگی باقی‌مانده از یک لامپ UV استفاده گردد. در صورت باقی ماندن آلودگی، این روند می‌بایست تا عاری شدن کامل تکرار شود. در پایان، تمام حوله‌ها و دستمال‌ها را در محلول خنثی کننده برای یک ساعت خیس نموده و همراه با دستکش‌های آلوده و موارد دیگر به درستی دفع نمود.

روش سوم: بهترین راه جهت حذف اتیدیوم بروماید از محیط‌های آبی استفاده از فرایند پرسولفات سدیم با غلظت $0.5g/L$ فعال شده به روش الکتروشیمیایی است.

۲.۳ مدیریت پسماندهای اتیدیوم بروماید

پسماندهای آلوده به اتیدیوم بروماید (بافرها و ژل‌های آلوده) باید به عنوان زباله‌های خطرناک مدیریت شوند. برای این منظور رعایت نکات زیر ضروری است:

تمام محلول‌های حاوی اتیدیوم بروماید در ظروف پلاستیکی با درب امنیتی جمع‌آوری گردد، تمام مواد جامد (ژل، دستکش، دستمال کاغذی و غیره) در سطل پلاستیکی ایمن و فاقد نشی دفع شوند، بر روی ظروف دفع، برچسب عبارت "خطر سمی یا سمی" حک گردد، اجسام تیز آلوده (سوزن، سرنگ، اسلایدها، شیشه‌های شکسته و غیره) باید در یک ظرف با برچسب "مواد جهش‌زا- اجسام تیز و سرطان‌زا" قرار داده شود، بهتر است قبل از پر شدن کامل ظروف دفع اتیدیوم بروماید، درخواست تخلیه و دفع زباله از شرکت‌های دفع صحیح زباله‌ها انجام شود [۹].



۳.۳ آکریل آمید

فرد، بیهوش شده باشد نباید چیزی وارد دهان مصدوم شود. در هر دو صورت، فرد باید در اسرع وقت به مرکز فوریت‌های پزشکی انتقال یابد.

در صورت تنفس ذرات آکریل آمید، فرد آسیب دیده در معرض فضای آزاد قرار گرفته و بلافاصله به مرکز فوریت‌های پزشکی انتقال یابد. در صورت قرار گرفتن در معرض آکریل آمید، پیریدوکسین ممکن است تا حدی اثرات سمی آن را کاهش دهد، البته تاکنون هیچ درمان قطعی برای این مسمومیت ارائه نشده است [۳].

۴.۳.۳ اقدامات بهداشتی

بایستی پس از کار با آکریل آمید، بلافاصله دستکش‌ها را دور انداخته و دست‌ها را با آب و صابون شست.

۵.۳.۳ شرایط ویژه نگهداری، ذخیره‌سازی

منطقه کار با آکریل آمید، باید با علامت "مواد خطرناک، سرطانزا" برچسب زده شود، فضای ذخیره‌سازی (یخچال و فریزر) نیز باید با یک علامت حاوی "مواد خطرناک، سرطانزا" برچسب‌گذاری شود. در حالت نگهداری، آکریل آمید باید در یک ظرف ثانویه ذخیره شود.

۶.۳.۳ کنترل و خنثی کردن آکریل آمید در صورت نشت و آلودگی سطح

در صورت نشت باید با استفاده از دستمال کاغذی یا یک ماده جاذب، منطقه آلوده را به یک منطقه کوچک محدود کرد، از تنفس بخارات و یا غبار آکریل آمید اکیداً اجتناب شود. در صورت ریختن ژل، میز کار با حوله کاغذی، کاغذ خشک کن یا لایه جذب کننده دیگری پوشانیده و سپس تجهیزات حفاظتی و مواد پاک کننده برای خنثی کردن آن استفاده شود. جهت خنثی کردن آلودگی سطوح کار آلوده شده، باید ابتدا از محلول ۱/۶ درصد پرسولفات پتاسیم در سطح آلوده استفاده شود. سپس محلول ۱/۶ درصد سدیم متابی سولفات به آن اضافه شده و پس از نیم ساعت سطح با آب کافی شستشو داده شود. گیره‌ها، شیشه‌ها و سایر لوازم جانبی سیستم الکتروفورز بعد از استفاده باید کاملاً شسته شوند. از نظر آلودگی محیط زیست، خطر اصلی برای انسان مربوط به آلودگی آب‌های زیرزمینی است. بنابراین باید مراقبت‌های ویژه‌ای برای جلوگیری از آلودگی آب‌های زیرزمینی در زمان دفع انجام گیرد [۱۰].

اکریل آمید و بیس اکریل آمید به شکل پلیمریزه برای تجزیه و تحلیل اندازه پروتئین‌ها و قطعات DNA در الکتروفورز ژل آن استفاده می‌شود.

۱.۳.۳ خطرات اکریل آمید برای سلامتی

اکریل آمید علاوه بر شکل پودری، به صورت محلول و مایع نیز عرضه می‌شود که به دلیل پتانسیل بالای جذب از طریق پوست بسیار سمی است. اکریل آمید و بیس اکریل آمید هر دو سرطان‌زا و نورو توکسین هستند. البته زمانی که آکریل آمید در فرم پلیمریزه باشد، سمیت آن به شدت کاهش می‌یابد. اکریل آمید علاوه بر پوست، از طریق استنشاق و چشم‌ها نیز به راحتی جذب می‌شود. اعصاب و کلیه‌ها اندام‌های هدف هستند. آکریل آمید بر تولید مثل هم اثر سوء دارد و ممکن است سبب بروز ناهنجاری‌هایی در جنین شود. منگی و گیجی، سوزن سوزن شدن، ضعف، عدم تعادل در راه رفتن، اختلال تکلم و لرز، علائم مسمومیت با آکریل آمید هستند [۱۰].

۲.۳.۳ تجهیزات حفاظتی برای کار کردن با اکریل آمید

در زمان کار با اکریل آمید، محافظ تنفسی یا ماسک کامل صورت مجهز به کارتریج مناسب باید استفاده شود. توصیه می‌شود از دستکش‌های سازگار با آکریل آمید برای حفاظت دست و عینک ایمنی برای حفاظت از چشم استفاده گردد. محلول‌سازی و توزین پودر آکریل آمید باید در زیر هود شیمیایی، با استفاده از دستکش و ماسک انجام شود، هم‌چنین روپوش آزمایشگاهی، شلوار بلند و کفش کاملاً پوشیده برای حفاظت از پوست و بدن مورد نیاز است [۸].

۳.۳.۳ کمک‌های اولیه در صورت تماس با اکریل آمید

در صورت تماس محلول یا پودر آکریل آمید با پوست، محل تماس با آب فراوان و صابون به مدت ۱۵ دقیقه شستشو داده و مسئول ایمنی در جریان قرار گیرد. در صورت تماس با چشم، بلافاصله چشم‌ها را با مقدار زیادی آب برای حداقل ۱۵ دقیقه شسته شده و بلافاصله به پزشک مراجعه گردد. در صورت بلعیده شدن اتفاقی محلول آکریل آمید، باید فرد آسیب دیده را در صورتی که هوشیار باشد، وادار به استفراغ نموده و سپس دهان را با آب فراوان شستشو داد. در صورتی که



مقالات علمی

۷.۳.۳ مدیریت پسماندهای اکریل‌آمید

برای دفع زباله‌های آلوده به اکریل‌آمید از قبیل ژل، دستمال کاغذی و حوله‌های آلوده بایستی آن‌ها را در پاکت‌های پلاستیکی دوجداره با برچسب مناسب بسته‌بندی نموده و به سطل‌های زباله مخصوص انتقال داد. در نهایت، زباله‌های مربوطه باید به شرکت‌های معتبر دفع مواد شیمیایی و خطرناک تحویل داده شود تا به‌طور مناسبی دفع گردد [۸].

۴.۳ فنل و سایر محلول‌های با پایه فنل

فنل‌ها و مشتقات آن کاربردهای متنوعی در آزمایشگاه ژنتیک دارند. مهم‌ترین آن‌ها در استخراج DNA و RNA است [۱۱]. این مواد به‌شدت فرار، قابل اشتعال و سمی هستند.

۱.۴.۳ خطرات فنل برای سلامتی

فنل ماده‌ای سمی و فرار است که از راه پوست و استنشاق، بخارات آن وارد بدن می‌شود. با تبخیر آرام این ماده در حرارت ۲۰ درجه سانتی‌گراد، هوا در حد خطرناکی آلوده شده و بخارات آن برای چشم‌ها، پوست و مجاری تنفسی سوزاننده می‌باشد. استنشاق بخارات آن ممکن است سبب ادم ریوی شود. این ماده ممکن است سبب تأثیر بر سیستم اعصاب مرکزی، قلب و کلیه‌ها شود. سوختگی‌های ناشی از فنل به سبب خاصیت بی‌حس‌کنندگی موضعی، علی‌رغم وسعت آسیب و عمق سوختگی ممکن است درد چندانی نداشته باشند. مناطقی که فنل به آن‌ها رسیده باشد، رنگ پریده می‌شوند و تماس طولانی مدت یا مکرر با پوست باعث درماتیت می‌شود. سوختگی ۲۵٪ از سطح بدن با فنل می‌تواند کشنده باشد. علائم مسمومیت با فنل عبارت است از درد شکم، سرگیجه، سردرد، تهوع و استفراغ، تپش قلب و سرانجام کما و مرگ [۱۲].

۲.۴.۳ کمک‌های اولیه

فردی را که با بخار فنل مسموم شده، فوراً باید از محل دور کرده و به فضای آزاد رساند تا به راحتی تنفس کند و در صورت نیاز باید تنفس مصنوعی انجام شود. در صورت ریختن اتفاقی فنل، لباس آلوده به فنل باید بلافاصله 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.

در صورت پاشیدن اتفاقی فنل به چشم، باید چشم فرد آسیب دیده با جریان مداوم آب حداقل به مدت ۲۰ دقیقه شستشو داده شود. در صورت بروز هر کدام از موارد فوق پس از اقدام اولیه، فرد آسیب دیده باید به مرکز فوریت‌های پزشکی منتقل شود [۱۳].

۳.۴.۳ احتیاط‌های لازم

از آنجایی که فنل بسیار فرار بوده و بخار آن بسیار سمی است، استفاده از آن برای استخراج DNA یا RNA حتماً باید زیر هود شیمیایی با تهویه مناسب انجام گیرد. هنگام کار با این ماده باید از روپوش آزمایشگاه، دستکش محافظ، عینک محافظ، پیش‌بند و کفش‌های پوشیده استفاده شود. ضمناً هنگام کار با فنل باید از هر نوع منبع آتش‌زا و شعله دور باشیم [۳].

۴.۴.۳ کنترل آلودگی و خنثی کردن فنل

برای رفع آلودگی بخار فنل از هوای محیط کار باید با حوله مرطوب (برای جلوگیری از ایجاد جرقه) هوای آغشته به فنل را از فضای آزمایشگاه خارج نمود. برای به حداقل رساندن میزان آلودگی در محیط کار، بهتر است که مقادیر کم این محلول از لوله‌ها (تیوب‌ها) به ظرف مخصوص پسماند فنل تخلیه نشود، بلکه در داخل لوله پلاستیکی یا شیشه در بسته درون ظرف انداخته شود. جهت خنثی کردن فنل از آهک خشک و یا جوش شیرین (محلول‌های قلیایی ضعیف) استفاده شود. چون فنل بسیار در آب محلول است، می‌توان سطح آلوده را با مقدار فراوان آب شستشو داد [۱۲].

۵.۴.۳ مدیریت پسماندهای فنل

برای دفع مواد آلوده شده و پسماند حاصل از آزمایش که به مقدار کمی فنل آلوده شده‌اند، می‌توان آن‌ها را در محفظه بدون نشستی قرار داده و برای سوزاندن و دفع مناسب به شرکت‌های دفع مواد شیمیایی و خطرناک ارسال نمود. استفاده از ساقه آفتابگردان نیز روش نسبتاً جدیدی برای خنثی‌سازی و خارج کردن فنل از آب آلوده به فنل محسوب می‌شود [۱۴].

۵.۳ کلروفرم

کلروفرم به عنوان یک حلال در آزمایشات ژنتیک در مرحله استخراج DNA کاربرد دارد [۱۱].



۱۰.۵.۳ خطرات کلروفرم برای سلامتی

کلروفرم یکی از خطرناک‌ترین هیدروکربن‌های کلردار فرّار می‌باشد. تنفس، بلع و تماس آن با پوست زیان‌آور است و 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، خواب‌آلودگی و کاهش سطح هوشیاری. خطر ایجاد سرطان در تماس دوره‌ای و طولانی با کلروفرم از موارد قابل توجهی است که به اثبات رسیده است [۱۵].

۲.۵.۳ کمک‌های اولیه

در صورت پاشیدن به چشم، باید چشم را با آب فراوان به مدت حداقل ۵ دقیقه شستشو داده و در صورت آغشته شدن پوست فوراً با آب و صابون شسته شود. در صورت بلع اتفاقی ماده، فرد آسیب دیده را باید وادار به استفراغ نمود. فرد آسیب دیده باید فوراً به مرکز فوریت‌های پزشکی منتقل و مسئول آزمایشگاه در جریان قرار گیرد [۱۵].

۳.۵.۳ مدیریت دفع پسماند کلروفرم

از تخلیه محلول‌های استفاده شده کلروفرم به داخل فاضلاب باید اکیداً اجتناب شود. از آنجایی که کلروفرم در ترکیب با بعضی از مواد مثل استون قابلیت انفجار دارد، دفع آن باید در ظروف مخصوص و مجزا صورت گیرد. کلیه مواد آلوده به کلروفرم باید به‌دقت در محفظه‌های مسدود شده قرار گرفته و برای سوزاندن ارسال گردند [۱۴].

۴.۵.۳ پرتو ماورای بنفش

اشعه ماوراء بنفش یک پرتو الکترومغناطیسی است که در محدوده‌ی طول موج‌های پائین‌تر از ۴۰۰ نانومتر واقع می‌شود. ژل‌داک (ترانس لومیناتور) یک دستگاه تولید کننده اشعه ماورای بنفش است که در مراحل مختلف آزمایش از جمله مشاهده باندهای DNA و RNA بر روی ژل مورد استفاده قرار می‌گیرد. لامپ‌های ماورای بنفش هم‌چنین برای اطمینان از عدم آلودگی سطح به اتیدیوم بروماید نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. بهره‌گیری از پرتو UV برای ضدعفونی وسایل و فضای کار زیر هود نیز از کاربردهای دیگر این پرتو در آزمایشگاه ژنتیک است. از این جهت ضروری است زمان استفاده، فاصله و ایمنی کاربر به‌طور مناسب در نظر گرفته شود و لامپ با طول موج مفید مورد استفاده

قرار گیرد. هم‌چنین اطلاعات لازم برای ایمنی پرسنل و اجتناب از تأثیرات مخرب آن باید در اختیار آزمایشگر قرار گیرد. لامپ UV باید در فواصل زمانی منظم تمیز شود 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 بهره‌گیری شود [۳].

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

اثرات UV بر پوست شامل ایجاد ترک، لکه‌های پوستی، سوزش و خارش می‌باشد. هم‌چنین با تحریک مولکول‌های DNA ممکن است سبب ایجاد سرطان پوست شود [۱۶] در چشم التهاب قرنیه (کراتیت)، آب مروارید (کاتاراکت) و سوختگی شبکیه ایجاد می‌نماید. هنگام کار با دستگاه‌های مختلف مولد پرتو UV پس از انجام الکتروفورز، موارد ایمنی زیر را باید رعایت نمود:

پوشاندن تمامی قسمت‌های پوست با استفاده از روپوش‌های بلند، دستکش و عینک محافظ، مخصوصاً زمانی که از UV دستی استفاده می‌شود، ضروری است. در استفاده از ژل‌داک پس از قرار دادن ژل روی صفحه دستگاه تنظیم آن، در طول مدتی که لامپ UV روشن است از باز کردن دستگاه و جابجا کردن ژل خودداری شود. در استفاده از UV برای ضدعفونی وسایل زمان بیش از ۱۵ دقیقه هیچ تأثیر اضافی در ضدعفونی ابزارآلات و فضای کار ندارد. استفاده از یک حفاظ شیشه‌ای به عنوان مانعی بین لامپ با پوست و چشم در زمانی که لازم است ژل به‌طور مستقیم مشاهده شود، خطر پرتو UV را از بین می‌برد. لامپ UV در حین کار فرد در زیر کابینت PCR باید خاموش باشد. شیشه قادر است پرتو UV را جذب نماید. 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. پس از استفاده از دستگاه ژل‌داک و خاموش کردن آن، سطح آن را باید با آب مقطر و دستمال کاغذی تمیز نمود تا آثار ژل و یا گرد و غبار از روی آن زدوده شود. توصیه می‌شود برای باز کردن و دستکاری لامپ مولد پرتو UV از نیروی متخصص استفاده شود. 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 آن و خروج بخار حیوه داخل آن می‌گردد [۱۷].



مراجع

- [۱] مردانی، حسن. (۱۳۸۴) بررسی روش های دفع اتیدیوم برماید (EtBr) و بیان روش موثر در مراکز تحقیقات شیمیایی و بیولوژیکی. دومین همایش ملی مدیریت پسماند و جایگاه آن در برنامه ریزی شهری.
- [۲] سمرقندی، یوسف پورعشق، محمدرضا، ونایی تبار، محمد، رحمانی، زهرا و احمدی، ستار (۱۳۹۶) بررسی حذف اتیدیوم برماید از محیط آبی با استفاده از پرسولفات فعال شده به روش الکتروشیمیایی. مجله علمی پژوهان. ۱۶(۲)، ۱-۱۰
- [3] Quality & Safety in Genetic Testing: An Emerging Concern. (n.d.) World Health Organization (WHO), from http://www.who.int/genomics/policy/quality_safety/en/index1.html
- [4] Ahmed, S. S., Alp, E., Ulu-Kilic, A., & Doganay, M. (2015). Establishing molecular microbiology facilities in developing countries. *Journal of Infection and Public Health*. 8(6), 513-525.
- [5] McGill, M., Pathak, S., & Hsu, T. C. (1974). Effects of ethidium bromide on mitosis and chromosomes: a possible material basis for chromosome stickiness. *Chromosoma*, 47(2), 157-166.
- [6] Saeidnia, S., & Abdollahi, M. (2013). Are other fluorescent tags used instead of ethidium bromide safer? *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 21(1), 71.
- [7] Singer, V. L., Lawlor, T. E., & Yue, S. (1999). Comparison of SYBR® Green I nucleic acid gel stain mutagenicity and ethidium bromide mutagenicity in the Salmonella/mammalian microsome reverse mutation assay (Ames test). *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 439(1), 37-47.
- [8] MANUAL, A. S. T. (2009). COLBY EMERGENCIES: X4911.
- [9] Lunn, G., & Sansone, E. B. (1987). Ethidium bromide: destruction and decontamination of solutions. *Analytical biochemistry*, 162(2), 453-458.
- [10] Friedman, M. (2003). Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4504-4526.
- [11] Renshaw, M. A., Olds, B. P., Jerde, C. L., McVeigh, M. M., & Lodge, D. M. (2015). The room temperature preservation of filtered environmental DNA samples and assimilation into a phenol-chloroform-isoamyl alcohol DNA extraction. *Molecular ecology resources*, 15(1), 168-176.
- [12] EPA. Toxicological Review of Phenol (CAS No. 108-95-2) In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS) September 2002 U.S. Environmental Protection Agency Washington D.C.
- [13] Lin, T.-M., Lee, S.-S., Lai, C.-S., & Lin, S.-D. (2006). Phenol burn. *Burns*, 32(4), 517-521.
- [14] LaGrega, M. D., Buckingham, P. L., & Evans, J. C. (2010). *Hazardous waste management*: Waveland Press.

مواد شیمیایی ناشناخته در آزمایشگاه‌ها همواره مشکلاتی را ایجاد می‌کنند. این مشکلات از دو جهت حائز اهمیت می‌باشند. یکی از جهت اقتصادی که طبیعتاً مواد با ارزش و گران‌قیمت شیمیایی و آزمایشگاهی به دلیل ناشناخته بودن قابل استفاده نبوده و باید دور ریخته شوند. اما مشکل دوم در بحث نحوه دور ریختن آن‌هاست. از آنجایی که این مواد ناشناخته هستند، نمی‌دانیم آیا به عنوان مواد خطرناک دسته‌بندی و دفع شوند و یا مواد معمولی. هم‌چنین ممکن است مواد فوق در درون ظروف دفع، موجب بروز واکنش‌های خطرناک شده و باعث آتش‌سوزی، انفجار و یا تولید گازهای سمی و خطرناک شوند.

برای پیشگیری از به‌وجود آمدن چنین شرایطی باید تمام ظروف (از جمله بیکرها و لوله‌های آزمایش) به درستی برچسب‌گذاری شوند. این کار حتی برای محلول‌های واکنش که برای استفاده موقت تولید می‌شوند، نیز باید انجام شود. ظروف و برچسب‌ها به صورت دوره‌ای بازمینی شده و برچسب‌های محو شده یا خراب جایگزین شوند. در این بین، مواد شیمیایی منقضی شده نیز به درستی دور ریخته شوند. برچسب‌ها باید حاوی نام شیمیایی، ساختار شیمیایی و یا فرمول باشد و از درج نام اختصاری به تنهایی خودداری شود. لازم است نام و ترکیب شیمیایی، تاریخ تهیه و نام مسئول آزمایش بر روی تمام محلول‌های واکنش ذخیره شده در ظروف آزمایشگاهی درج و هم‌زمان در یک دفتر مخصوص یادداشت شود [۱۸].

۷.۳ نتیجه‌گیری

مواد و تجهیزات مختلفی در آزمایشگاه ژنتیک استفاده می‌شوند که هر کدام به نوبه خود می‌تواند برای سلامتی کاربران و محققین مضر باشد. در این میان، تعداد معدودی از آن‌ها می‌توانند خطرات جدی ایجاد کنند. از جمله این مواد اتیدیوم برماید، اکریل‌آمید، ترکیبات فنل و کلروفرم می‌باشند. علاوه بر توجه ویژه در زمان استفاده از این مواد، دفع آن‌ها نیز باید تحت شرایط ویژه صورت پذیرد. پرتو UV نیز به دلیل کاربرد فراوان در آزمایشگاه ژنتیک و تأثیر مخرب تابش آن بر پوست و چشم کاربر باید با رعایت نکات ایمنی مورد استفاده قرار گیرد.



- [15] Zhou, J., You, Y., Bai, Z., Hu, Y., Zhang, J., & Zhang, N. (2011). Health risk assessment of personal inhalation exposure to volatile organic compounds in Tianjin, China. *Science of The Total Environment*, 409(3), 452-459.
- [16] Levine, J. A., Sorace, M., Spencer, J., & Siegel, D. M. (2005). The indoor UV tanning industry: A review of skin cancer risk, health benefit claims, and regulation. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 53(6), 1038-1044.
- [17] Panel, B. B. R. (2012). Guidelines for safe work practices in human and animal medical diagnostic laboratories. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 61.
- [18] Unknown Chemical Procedures. (n.d.) ESD. University of Georgia. from https://esd.uga.edu/sites/default/files/unknown_chemicals_procedures.pdf