

وسایل آزمایشگاهی و اصول ایمنی در آزمایشگاه

مقدمه

هدف از درس آزمایشگاه میکروبیولوژی پزشکی یادگیری تکنیک های پایه آزمایشگاهی برای مشاهده، رشد، شناسایی و تشخیص میکروارگانیسم هایی است که در انسان بیماری زا هستند. با استفاده از میکروسکوپ های گوناگون و روش های رنگ آمیزی مختلف می توان مورفولوژی (شکل و ساختمان) باکتری ها را شناخت و با استفاده از انواع متفاوت محیط های کشت، باکتری ها را کشت داده و رفتار این ارگانیسم های بسیار کوچک که در سلامتی و بیماری انسان دارای اهمیت هستند را مطالعه نمود.

هشدار

در برخی از آزمایش هایی که در این آزمایشگاه انجام می شود موادی به کار می رود که در صورت کاربرد بدون رعایت موارد ایمنی می تواند بسیار خطرناک باشد. هنگام کار با میکروارگانیسم، مواد شیمیایی، لوله های شیشه ای، بن ماری، وسایل تیز و موارد مشابه باید اصول ایمنی کاملاً رعایت گردد.

در طول دوره در صورت برخورد با موارد آسیب زننده مانند شکستن پلیت ها و یا ظروف حاوی محیط کشت دارای باکتری و یا هر نوع ماده دیگر، لازم است که سوپروایزر آزمایشگاه را مطلع نمایید تا اقدام لازم صورت گیرد.

روش ها و اصول ایمنی

آزمایشگاه میکروب شناسی مکانی است که در آن میکروارگانیسم ها مورد کشت و آزمایش قرار می گیرند. روش های عملی میکروب شناسی باید در آزمایشگاهی کاملاً پاکیزه که مواد و وسایل به گونه ای منظم طبقه بندی شده اند انجام گیرد. روش های آزمایشگاهی به صورت آسپتیک انجام می پذیرند. در این گونه روش ها تمامی وسائل مورد استفاده استریل بوده و نهایت مراقبت انجام می گیرد که میکروارگانیسمی وارد آن ها نشود.

لازم است که تمامی میکروارگانیسم هایی که مطالعه می شوند بیماری زا تلقی شده و در نتیجه تمام موارد ایمنی رعایت گردد چرا که حتی باکتری های غیر بیماری زا نیز در صورتی که به بدن فردی با سیستم ایمنی ضعیف وارد گردد می توانند بیماری زا شوند.

لازم است که دانشجویان روش های آزمایشگاهی آسپتیک را فرا گرفته و به طور مداوم به کار بندند. این روش ها در صورتی که به خوبی فرا گرفته شوند می توانند در تمامی مراحل نمونه گیری، ارسال نمونه به آزمایشگاه و کار با مواد عفونی در آزمایشگاه به کار روند.

اصول کار در آزمایشگاه

باید توجه نمود که میکروارگانیسم از محیط به نمونه های مورد آزمایش و از مواد آلوده (نمونه بیمار، محیط کشت و ...) به محیط آزمایشگاه و بدن افراد وارد نشود. برای نیل به این دو منظور:

الف- رعایت اصول کار در آزمایشگاه

۱- پیش از ورود به آزمایشگاه، لباس اضافه، کتاب و دیگر وسایل غیر ضروری را بیرون آزمایشگاه در یک مکان مناسب قرار داده و تنها با وسایل ضروری وارد آزمایشگاه شود.

۲- در هنگام ورود به آزمایشگاه پوشیدن روپوش سفید بلند به گونه ای که روی زانو را بپوشاند با دکمه های بسته کاملاً ضروری است.

۳- خوردن و آشامیدن در محیط آزمایشگاه ممنوع است.

۴- در محیط آزمایشگاه از لنزهای تماسی و جوهرآلات استفاده نشود.

۵- در صورت وجود زخم تازه، بریدگی، سوختگی و یا هر زخم دیگری در دست و یا مناطق باز بدن، زخم را پوشانده و سوپروایزر آزمایشگاه را مطلع نمائید.

۶- پس از پایان آزمایش، دست ها نخست ضد عفونی و سپس به مدت 30 ثانیه به طور کامل با آب و صابون شسته شوند.

۷- هیچ وسیله ای نباید با دهان و یا پوست زخمی تماس یابد.

ب- کار در آزمایشگاه

۸- همیشه پیش از ورود به آزمایشگاه و شروع کار، روش کار مطالعه شود.

۹- از شوخی کردن و مکالمات غیر ضروری پرهیز شود.

۱۰- در زمان انجام کشت، سکوت کامل ضروری است.

۱۱- میز آزمایشگاه در پایان کار با مواد ضد عفونی کننده تمیز شود.

۱۲- وسایل قابل استریل شدن با شعله در هنگام و پس از آزمایش استریل شوند.

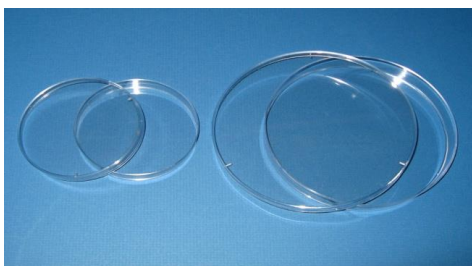
۱۳- پس از انجام رنگ آمیزی، تشتک رنگ آمیزی تخلیه و شسته شود.

۱۴- مواد و ظروف آلوده به باکتری در مکان های از پیش تعیین شده قرار داده شوند.

وسایل آزمایشگاهی

پلیت یا پتری دیش (Plate or Petri dish)

ظروف شیشه ای یا پلاستیکی (یک بار مصرف) هستند که در داخل آنها محیط های کشت جامد (آگار) ریخته می شود. پلیت دارای دو کفه بوده و محیط کشت همیشه در کفه با قطر کمتر ریخته می شود، پس از کشت پلیت ها به صورت وارونه داخل انکوباتور قرار داده می شوند به گونه ای که کفه با قطر کمتر و دارای محیط کشت در بالا قرار می گیرد تا از تبخیر آب موجود در محیط کشت و خشک شدن آن جلوگیری گردد. هم چنین از برگشت قطرات آب ایجاد شده ناشی از متابولیسم باکتری داخل درب پلیت به سطح محیط کشت و تداخل کلنی ها جلوگیری می نماید. پلیت های شیشه ای را می توان چندین بار به کمک فور و یا اتوکلاو استریل نمود اما پلیت های پلاستیکی توسط شرکت سازنده فقط یک بار با اشعه گاما استریل می شوند. در پایان هر آزمایش، اطلاعات مورد نظر (نام بیمار- تاریخ- شماره گروه و) بر روی کفه دارای محیط کشت با ماژیک مارکر نوشته می شود.



انواع لوله:

الف- لوله های آزمایش

انواع متفاوتی از لوله های آزمایش وجود دارد. لازم است لوله های آزمایشگاهی نسبت به حرارت بالا مقاوم باشند. این لوله ها به منظور تهیه محیط کشت، رشد میکروارگانیسم ها و مشاهده واکنش های بیوشیمیایی به کار می روند. لوله ها در پیچ دار یا معمولی (که با پنبه درب آن بسته می شود) هستند.

ارلن (Erlen Meyer)

ارلن های مدرج برای ساخت و نگهداری محیط های کشت استفاده می شود. ارلن ها از نظر اندازه و حجم متفاوت بوده و معمولاً نسبت به اتوکلاو مقاومند.



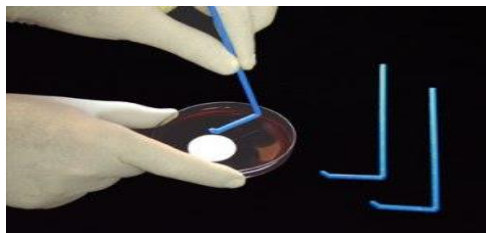
بشر:

بشر جهت اندازه گیری و تهیه محلول ها با دقت کمتری نسبت به مزور، در آزمایشگاه میکروب شناسی استفاده می شود.



پخش کننده شیشه ای (Glass Spreader)

این وسیله از یک میله شیشه ای به قطر 4-5 mm که یک سر آن به شکل حرف L خم شده، تشکیل شده است. به کمک این وسیله می توان میکروارگانیزم تلقیح شده را در سطح محیط کشت جامد به صورت یکنواخت پخش کرد.



پی پت:

پی پت وسیله ای برای انتقال مایعات است که در آزمایشگاه میکروب شناسی دو نوع دارد:

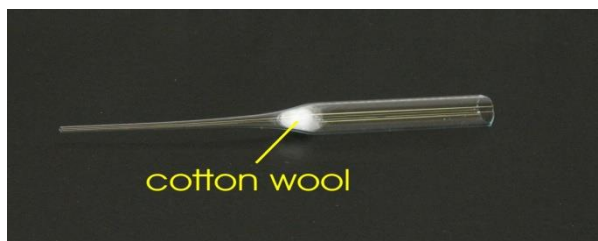
الف- پی پت معمولی

لوله مدرجی است که برحسب مقدار حجمی که می توان با آن کشید درجه بندی شده است. در آزمایشگاه میکروب شناسی در انتهای پی پت مورد استفاده پنبه ای قرار داده می شود تا از ورود مواد مورد آزمایش به درون دهان و برعکس جلوگیری شود و سپس استریل می گردد. پی پت ها درون ظروف مخصوص فلزی به نام (PIPETTE CAN) استریل و نگه داری می شوند.



ب- پی پت پاستور

پی پت پاستور لوله شیشه ای باریکی است که در انتها کاملاً باریک می شود. در قسمت گشاد پی پت پاستور پنبه قرار داده و قسمت باریک آن را با حرارت مسدود کرده و سپس استریل می نمایند. در موقع استفاده سر باریک مسدود را در مجاورت حرارت شکسته و استفاده می کنند. با پی پت پاستور حجم نامشخصی از مایع را می توان جابجا کرد. امروزه به منظور رعایت اصول ایمنی پیشنهاد می گردد که هرگز مایع درون پیپت با دهان کشیده نشود و باید از Bulb یا پوار استفاده نمود.



پوار (Bulb)

وسیله ای پلاستیکی می باشد که آن را در قسمت سر پی پت قرار داده و به کمک آن بدون تماس دهان با پی پت مایع مورد نظر را کشیده و خالی می نماییم.



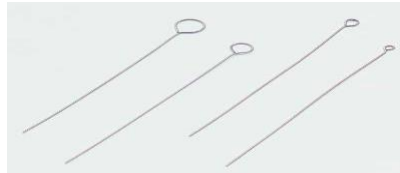
لام و لامل:

لام قطعه شیشه ای مستطیل شکل بوده و جهت رنگ آمیزی و مشاهده میکروارگانیسم ها و یا بررسی برخی واکنش های بیوشیمیائی توسط میکروسکوپ به کار می رود.

لامل قطعه شیشه ای نازک بوده و برای قرار دادن بر روی لام به کار می رود. لامل تنها در لنزهای خشک کاربرد دارد (4, 10, 40).

فیلد و پلاتین:

وسیله ای که دارای سیمی از جنس آلیاژ نیکروم بوده و با شعله دادن سریع داغ و به همان نسبت سریع خنک می شود. سر سیم یا به صورت حلقه است که به آن (Loop) گفته می شود. در صورتی که سر آن نوک تیز باشد آن را نیدل یا آنس (Needle) می گویند. به کمک فیلدوپلاتین می توان مقادیر کمی باکتری (Inoculums) را از یک محیط جامد یا مایع واجد باکتری به محیط دیگر انتقال (پاساژ Passage) داد.



دستگاه همزن - هیتر (Heater-stirrer)

دستگاهی است که سبب گرم و مخلوط شدن محیط های کشت و یا محلول ها می شود. می توان با تنظیم دما و دور دستگاه به میزان دلخواه و قرار دادن یک قطعه آهن ربا (Magnet) در محیط کشت یا محلول و روشن نمودن قسمت همزن، محیط را مدام هم زده و حرارت داد تا از ته نشین شدن و در نتیجه سوختن محیط کشت جلوگیری و محیط یک نواختی تهیه نمود.



حمام آب گرم (بن ماری یا Water bath):

حمام آب گرم برای ایجاد دماهای متغیر و انجام کارهای مختلف آزمایشگاهی کاربرد دارد. بن ماری درجه حرارت ثابتی را در یک دامنه تغییرات نگه داری می نماید.



دستگاه آون (Oven).

دستگاه آون در واقع کوره هوای گرم است که جهت خشک کردن تجهیزات آزمایشگاهی و وسایل پزشکی به کار برده می شود. از این دستگاه ها جهت استریل کردن به روش حرارت خشک نیز استفاده می شود. اگر چه باکتری در دمای بالای حرارت خشک از بین می رود اما برخی اسپورها در این شرایط تنها غیر فعال شده و احتمال زنده ماندن دارند. همچنین آندوتوکسین های باکتریائی نیز تا حدی غیر فعال می گردند.

درجه حرارت مناسب برای استریل کردن به روش خشک (در Oven) به صورت عملی، 160°C به مدت 3 ساعت است. با افزایش دما این زمان کاهش می یابد. (170°C به مدت 2 ساعت و یا 180°C به مدت 30-60 دقیقه)



دستگاه انکوباتور (Incubator).

محفظه ای است که دمای مناسب برای رشد باکتری ها و ارگانسیم کشت داده شده را فراهم می کند. باکتری های بیماری زا به طور متوسط در دمای $35-37^{\circ}\text{C}$ (دامنه دمای $4-42^{\circ}\text{C}$) و قارچ ها در دمای $22-25^{\circ}\text{C}$ رشد می نمایند. با اتصال سیلندر CO_2 به انکوباتور (گرم خانه) می توان شرایط رشد برای باکتری هائی که نیاز به CO_2 دارند را فراهم نمود. همچنین در صورت نبود سیستم مرطوب کننده می توان با قرار دادن یک بشر حاوی آب، میزان رطوبت لازم را نیز فراهم نمود.

