



کمیته سلامت، ایمنی و محیط زیست
دانشگاه خوارزمی

ایمنی زیستی



کار با حیوانات آزمایشگاهی و ارزیابی خطر

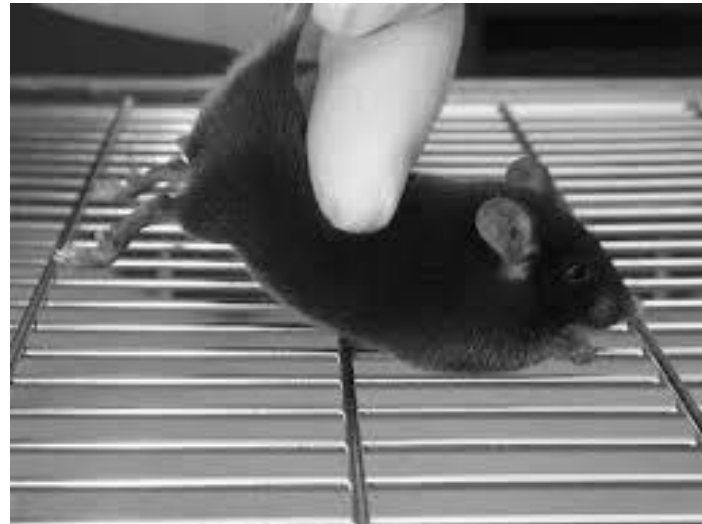


Handling and Restraint

- The use of the mouse in biomedical research can be traced back to the 1600s and since then this species has contributed to a vast number of scientific findings and to progress in basic biological and pharmaceutical Research.

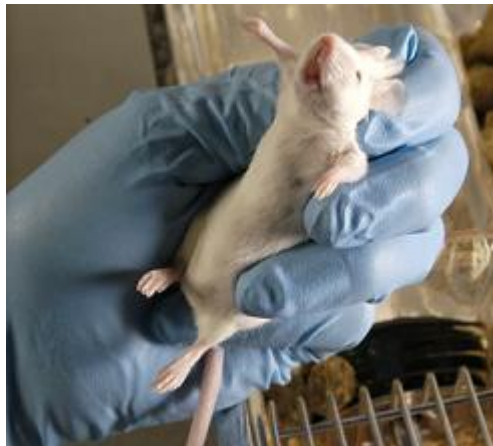


- Work with laboratory mice does not usually bear the risk of severe injuries. Still, minor injuries through mouse bites, mainly into fingers, may occur, especially if the staff is not very experienced and/or adequate protective measures are not properly applied when mice are handled and restrained.



Handling and Restraint

- Such events can be traced back to the fact that mice are extremely fast in their movements and usually tend to escape or defend themselves if they are given the opportunity to do so.
- In addition to proper handling and restraint, the wearing of single layered synthetic hypo-allergenic gloves, or preferentially a double layer of both, cotton and synthetic gloves have considerable potential to reduce the number of mouse bites that perforate gloves and intact skin at the same time.



- Initial reluctance by staff to the use of double gloves is overcome eventually because it can increase comfort and well being of people handling and restraining animals.



- **Restraint** is described as immobilization of an animal by keeping it or parts of it, in a comfortable but safe hold by hand or by means of a physical device.
- Physical restraint is performed on conscious animals undergoing manipulations, which do not require sedation or anaesthesia, but necessitate exact positioning of the animal as well as prevention of unexpected movements during the manipulation.



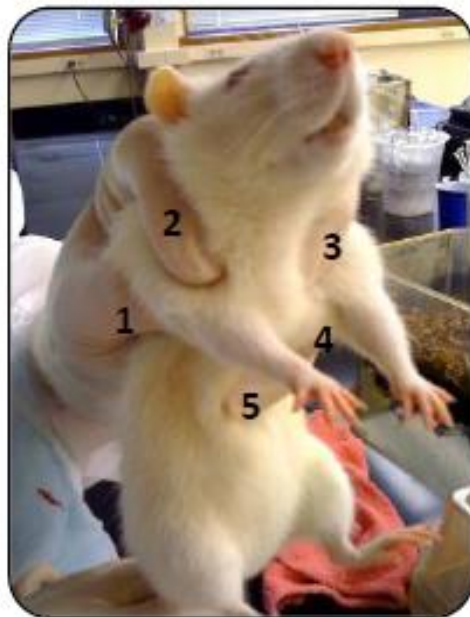
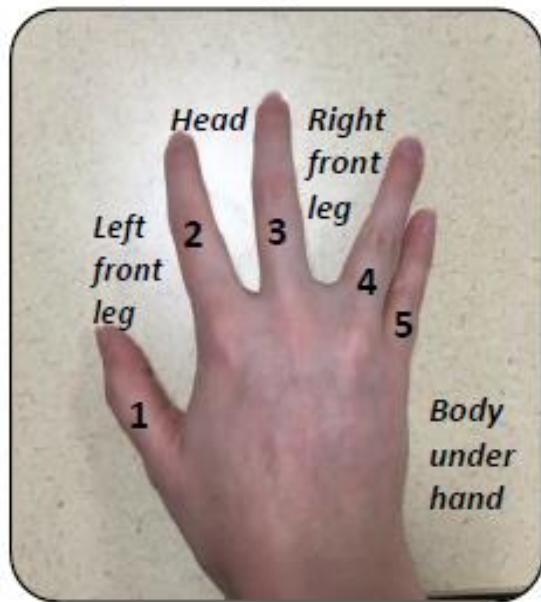


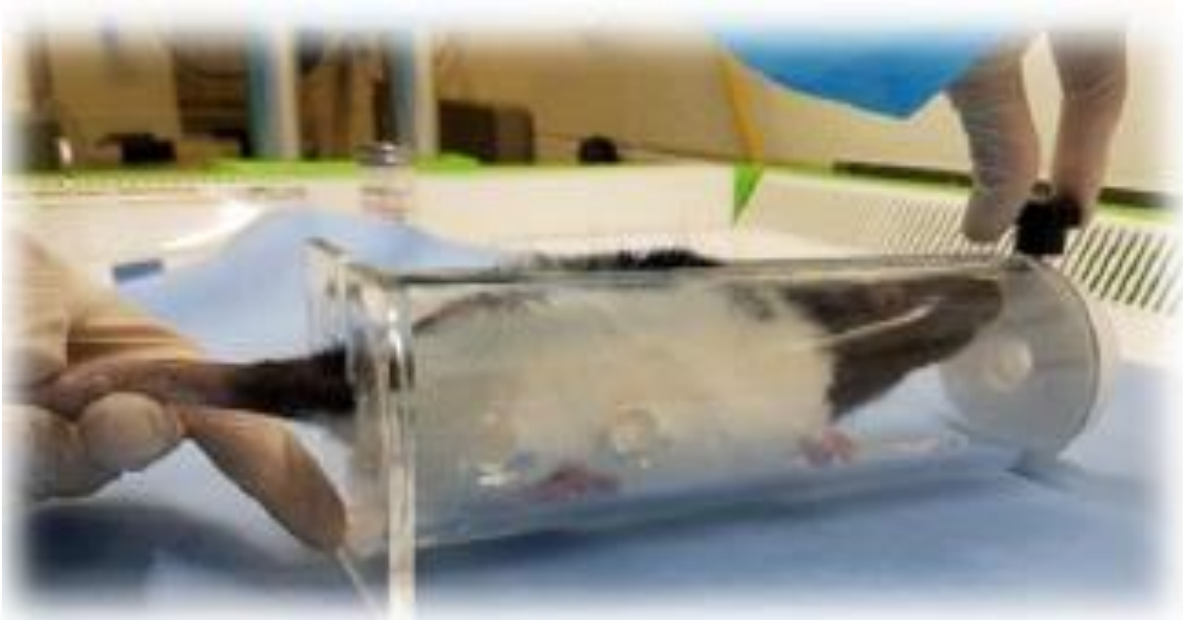
Adult male rat (L). Note greater anogenital distance marked by black line

Adult female rat (R). Note shorter anogenital distance and vulva marked by black line

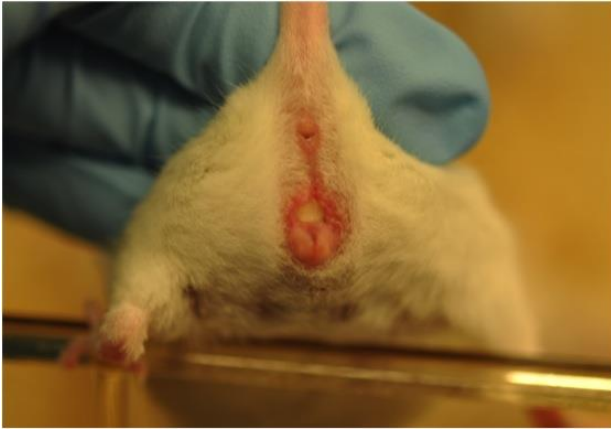






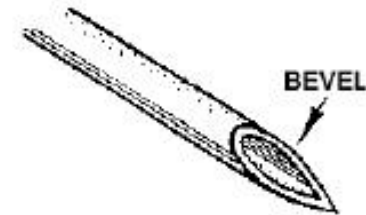
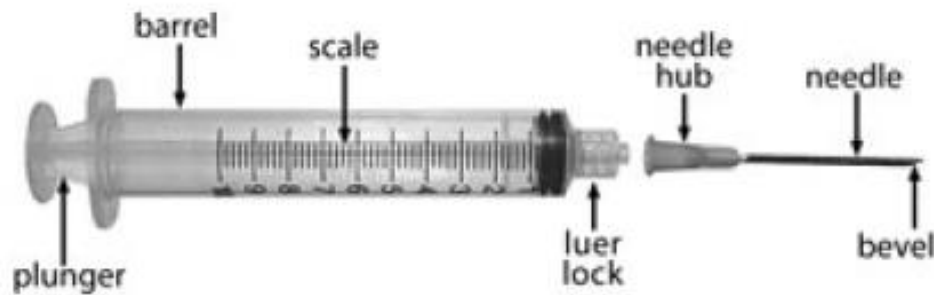






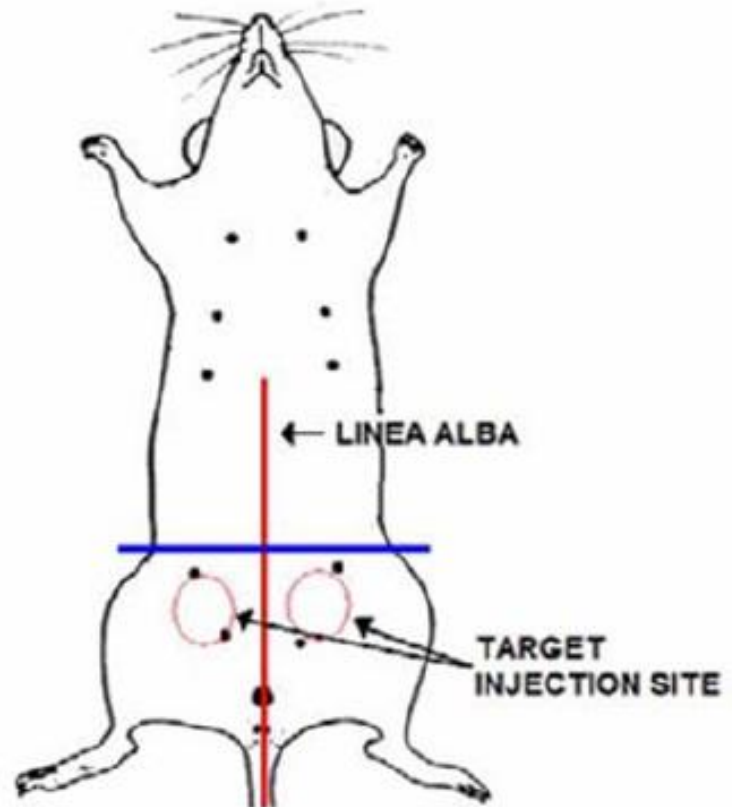
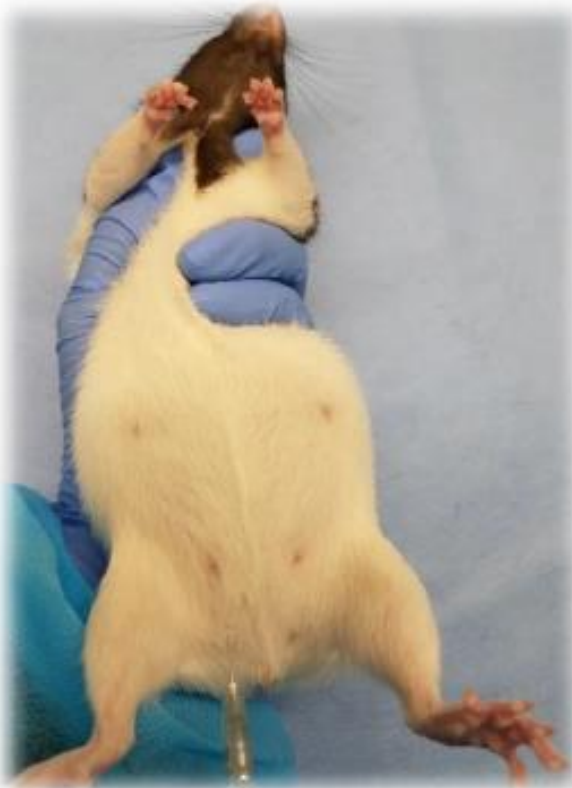
Females that have mated during the night will carry a viscous vaginal plug the following morning. The plug consists of components of the male ejaculate derived from the male's coagulating and vesicular glands. Plugs fill the female's vagina and generally persist for 8-24 hours after mating.





Injection Type	Ideal Needle Size (Gauge)	Recommended Volume	Maximum Volume (in ~ 300 g rat)	Aspiration Required
Intraperitoneal (IP)	23-25G	10 ml/kg	10 ml/kg (3.0 ml)	No
Subcutaneous (SQ, SC)	25G	5.0-10 ml/kg	10 ml/kg/site (3.0 ml) 20 ml/kg total (6.0 ml)	Yes; inject if no blood in the needle hub
Intramuscular (IM)	25G	0.1 ml/site	0.2 ml/site (20 μ l)	Yes; inject <u>slowly</u> if no blood in the needle hub
Intravenous (IV)	21-23G	2.0-4.0 ml/kg/hr	4.0 ml/kg/hr (1.2 ml)	No; inject <u>slowly</u>

Intraperitoneal Injections



Subcutaneous injections



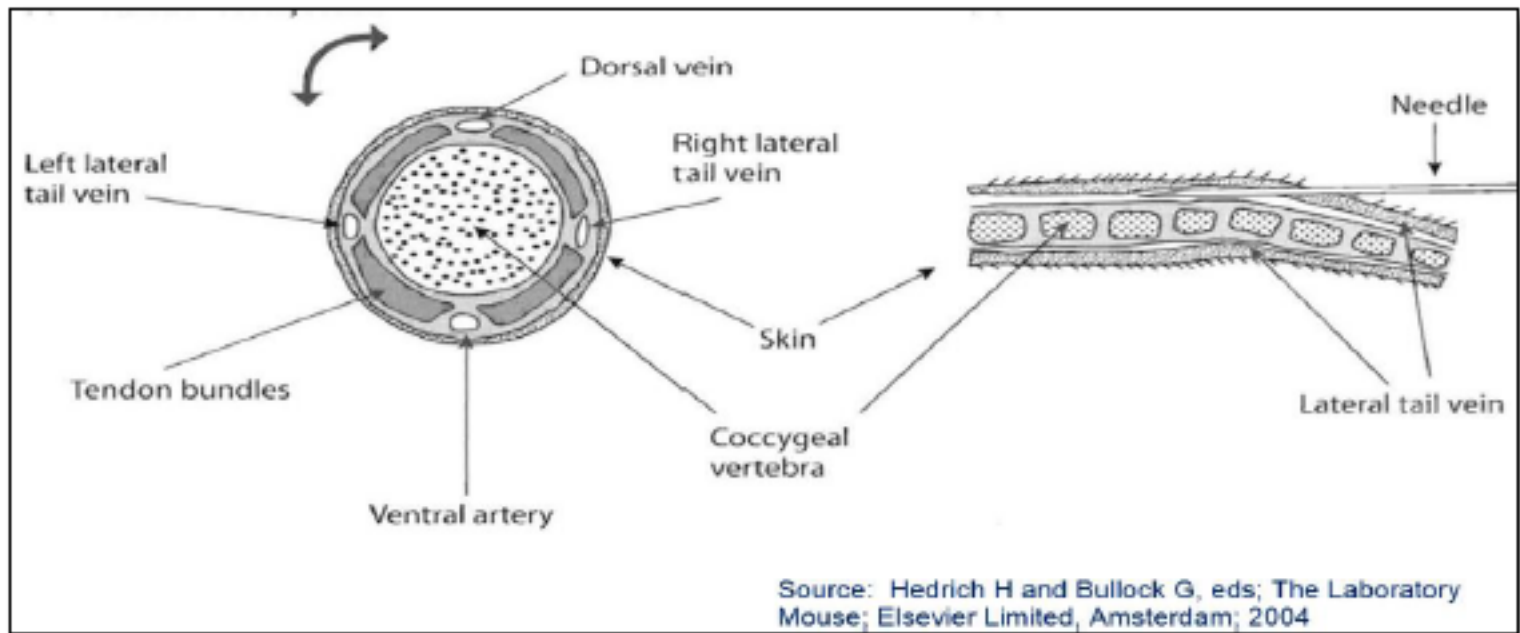
Intramuscular injections



Alternate Restraint Method

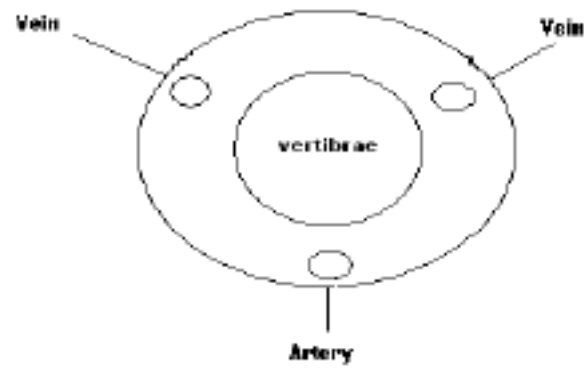


Intravenous injections





Dorsal Side



Ventral Side

Oral Gavage

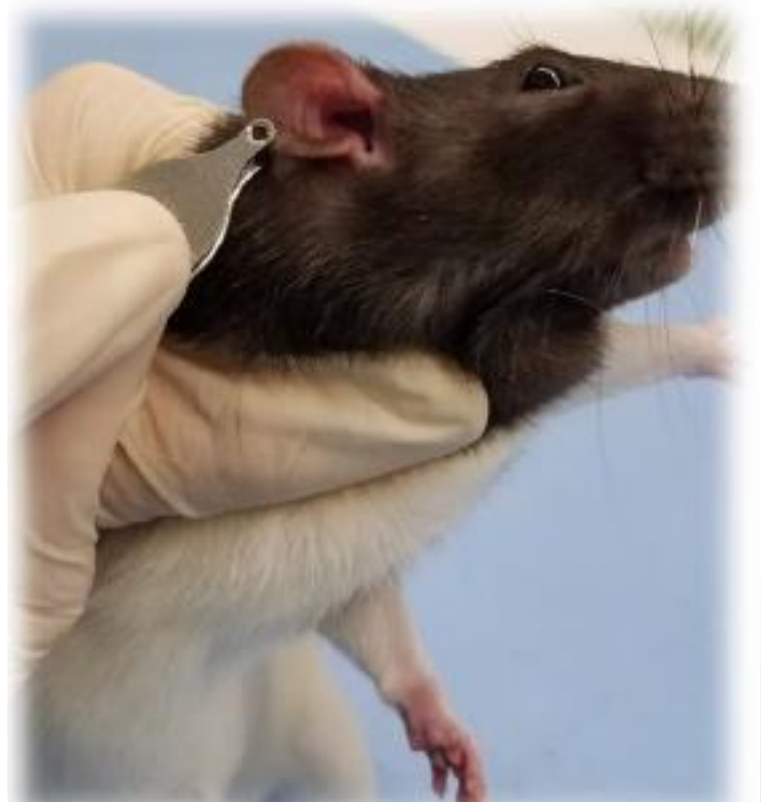
Rat Wt (g)	Gauge	Length (inches)	Ball Diameter (mm)	Oral Gavage Volume per weight (suggested)
50-75 g	20	1" – 3"	1.9 - 2.25	30g: 1mL 50g: 2mL
75-120 g	18	1" - 1.5"	2.0 - 2.25	100g: 3mL
100-200g	18	2" – 3.1"	2.0 - 2.3	200g: 4mL
	17	1" – 3.3"	2.4	
	16	2" – 3"	3.0	
150-300g	15 -16	3" – 4"	2.8 – 3.0	300g: 5mL
200-350g	13 - 14	3" – 5"	2.9 – 4.0	300g: 5mL

*Source for recommended volume: *Krinke, G. J. (2000). The laboratory rat. San Diego: Acad. Press.*

Source for Gavage Needle Sizing; *Braintree Scientific*

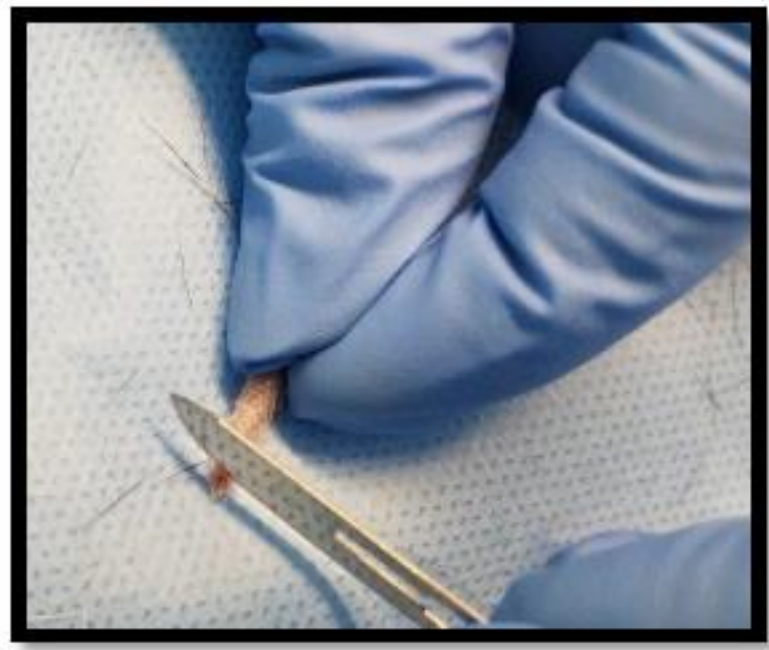


Ear Notch Tools

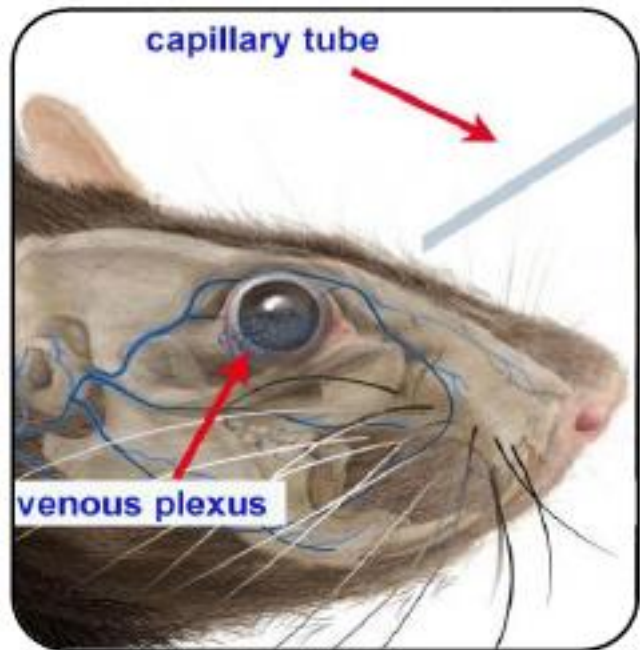


Blood Withdrawal Techniques

Tail Artery / Vein (NICK)



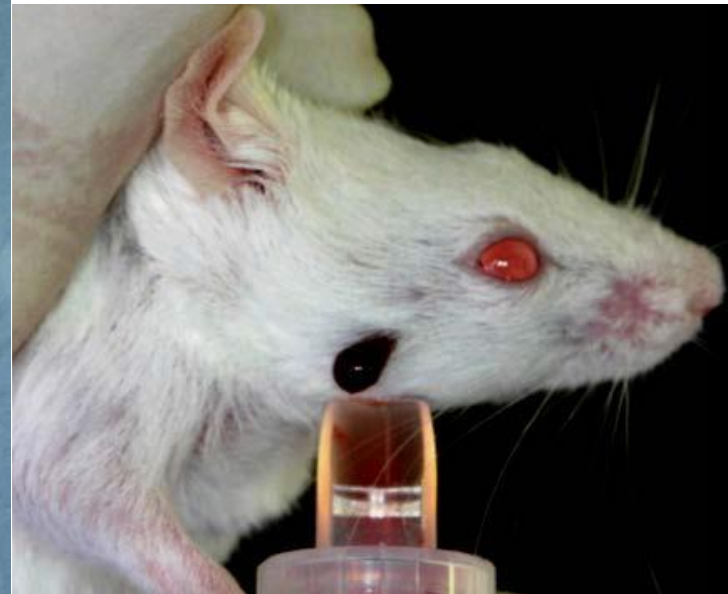




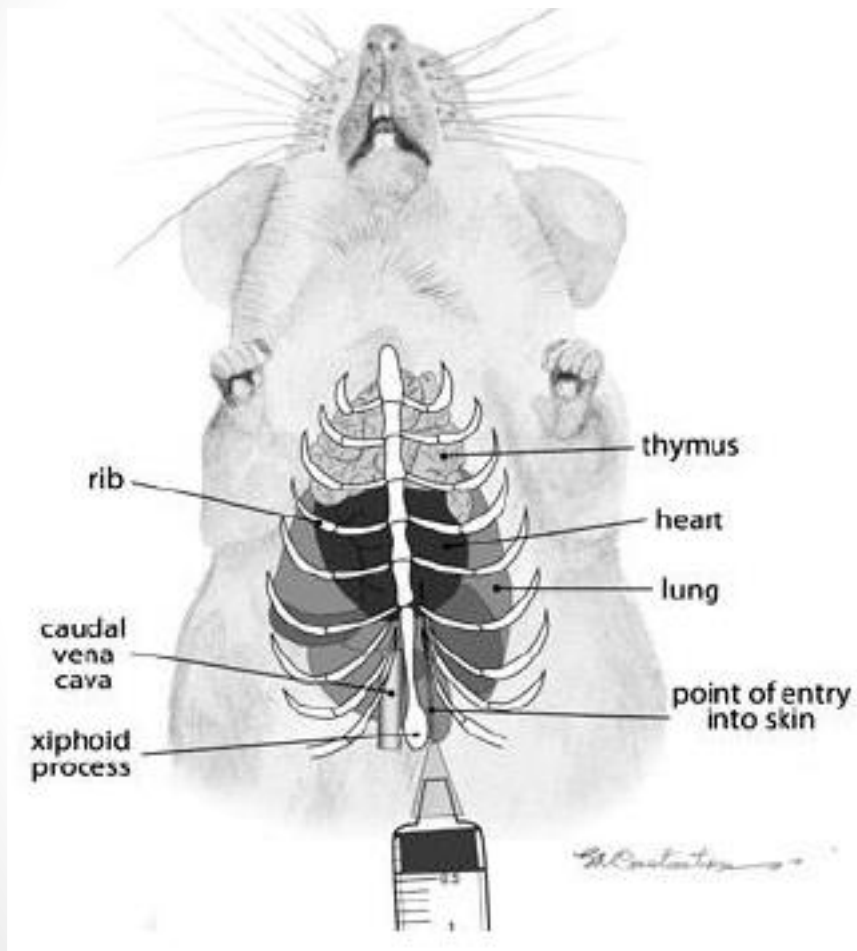
Retro-orbital Bleed



Orbital and Submandibular veins



Cardiac Puncture .



Euthanasia Methods

Gaseous Carbon Dioxide (CO₂)

Step 2: Set Flow Meter to 8 liters per minute (lpm). Do not exceed 8 lpm.



Step 1: Turn on valve on top of the CO₂ tank



Ether is irritant to the mucous membranes and at high concentrations traditionally found in closed containers and jars, it may be stressful to the animals as it elevates catecholamines

Chloroform acts by depression of the central nervous system and causes cardiac and respiratory failure.

Isoflurane Drop Chamber



Isoflurane is a general inhalation anesthetic used for induction and maintenance of general anesthesia. It induces muscle relaxation and reduces pain sensitivity by altering tissue excitability.

Inhalational Vaporizer





Agent

Dosage

Duration of anesthesia

RAT

Ketamine/xylazine

ketamine 40-100 mg/kg IP
xylazine 5-13 mg/kg IP

60-80 minutes

Agent

Dosage

Duration of anesthesia

MOUSE

Ketamine/xylazine*

ketamine 80-100 mg/kg IP
xylazine 10-12.5 mg/kg IP

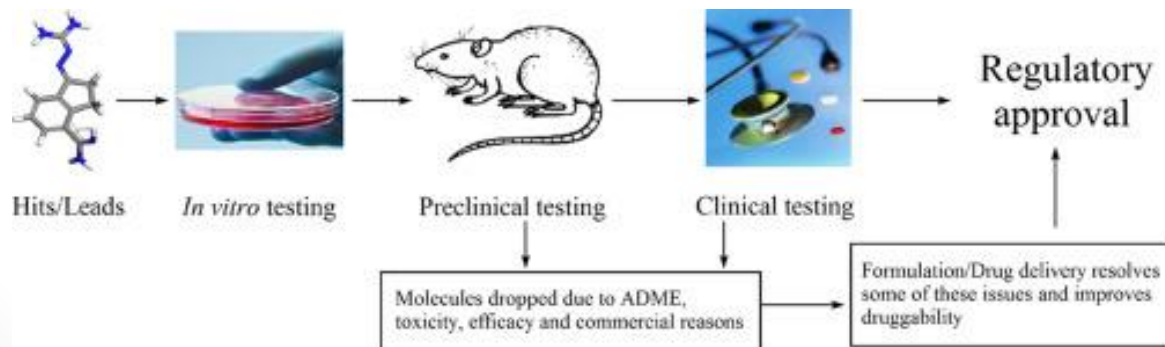
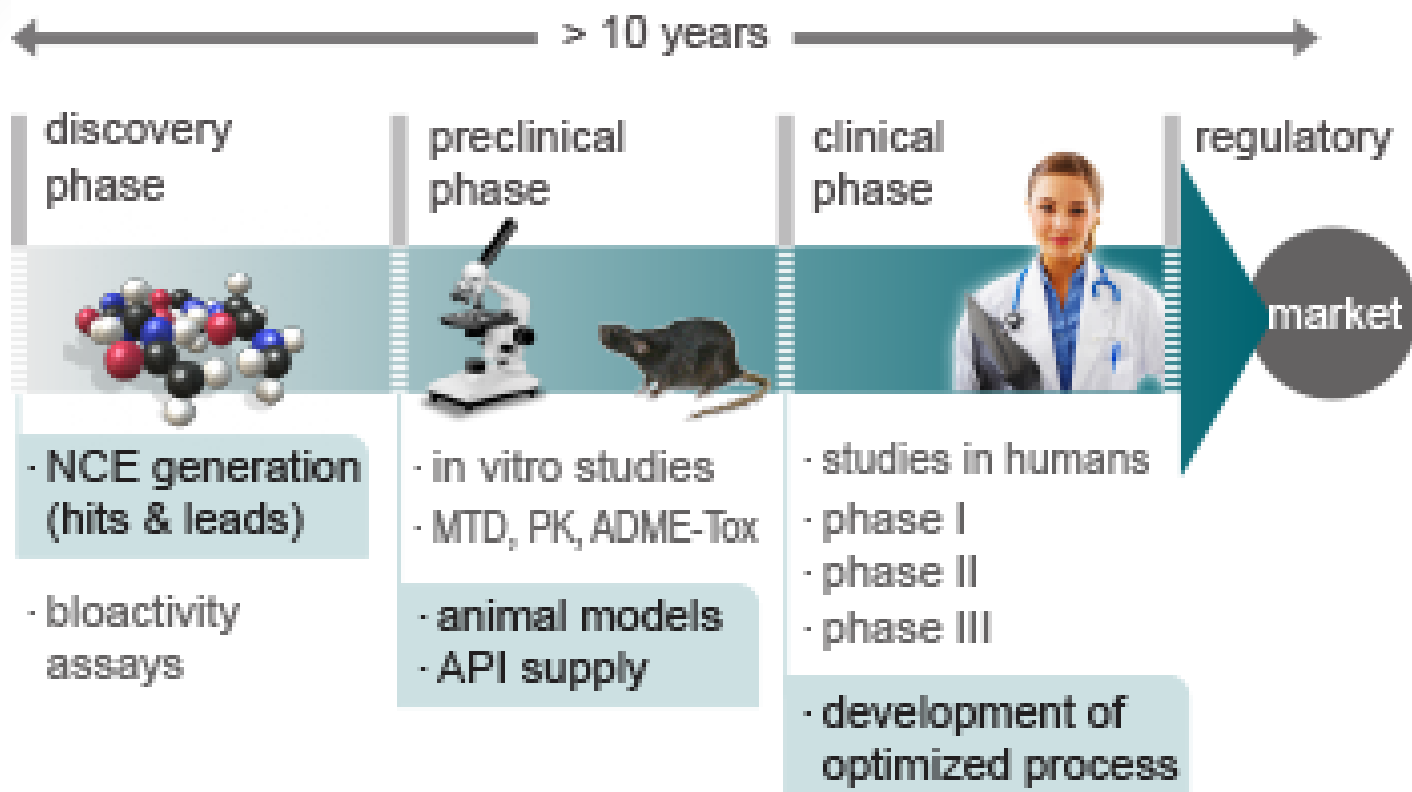
20-30 minutes

ضرورت کار با حیوانات آزمایشگاهی

- پیشرفت علم
- پیش نیاز پژوهش های انسانی
- نیاز به رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی



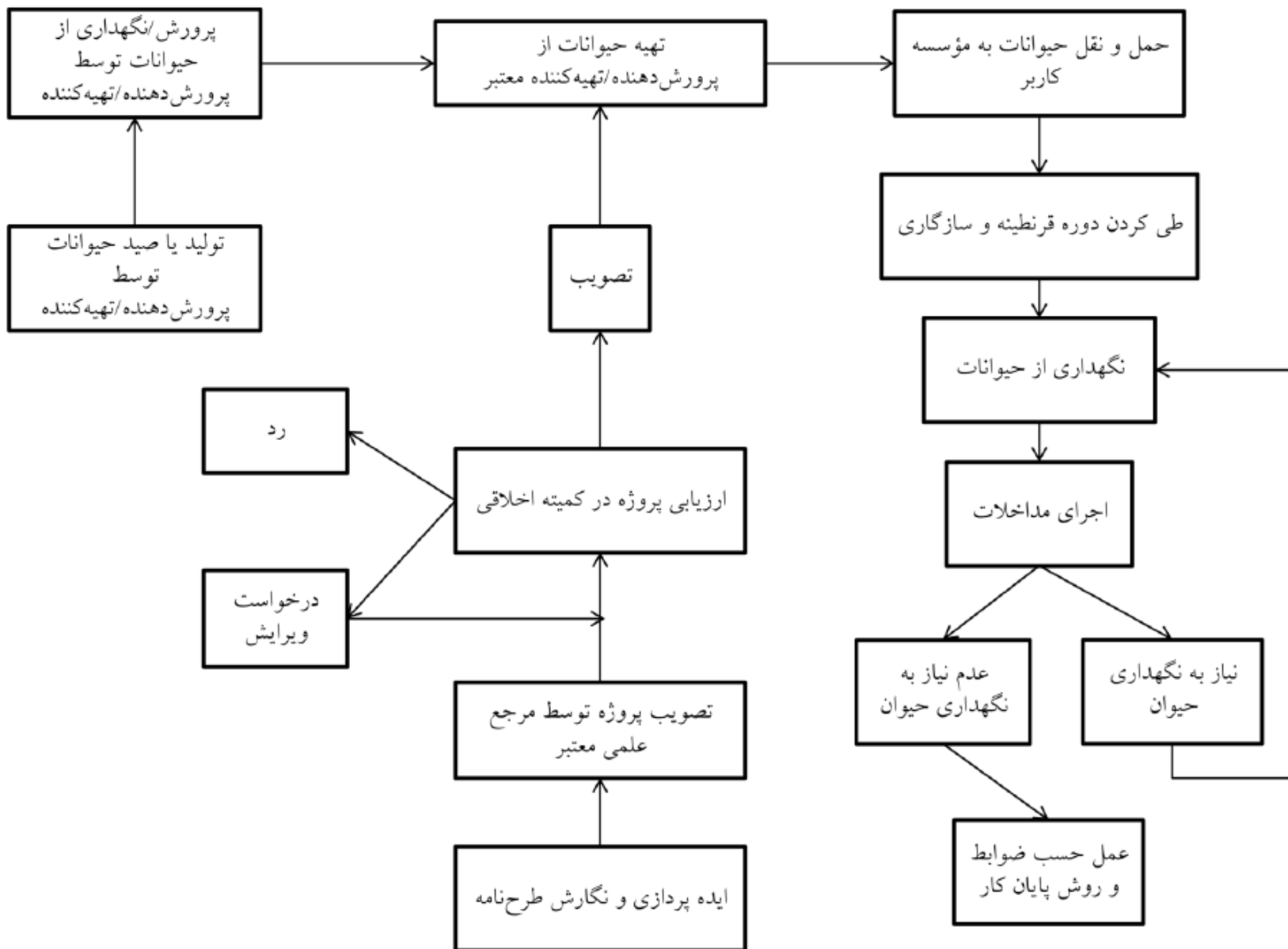
experimental products



اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی

- منشا و نحوه تهیه حیوانات
- حمل و نقل حیوانات
- نگهداری از حیوانات
- اصول استفاده از حیوانات در آزمایشها
- معیارها و روشهای پایان کار با حیوانات
- دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی در امور علمی

روند اجرای یک پروژه حسب ساختار دستورالعمل.



حيوانات آزمايشگاهي

- حد كمينه درد... جلوگيري از درد غير ضروري
- مكان نگهداري... مناسب
- حيوانخانه يا مركز پرورش و تكثير حيوانات... واحد مستقل
- امكان ضد عفوني
- آب و غذاي كافي... استاندارد



سطح ایمنی در اتاق حیوانات

• تقسیم بندی بر اساس ارزیابی خطر و گروههای خطر میکروارگانیسمهای تحت مطالعه

• Animal Facility Biosafety Level (ABSL)

• **ABSL-1**

• **ABSL-2**

• **ABSL-3**

• **ABSL-4**



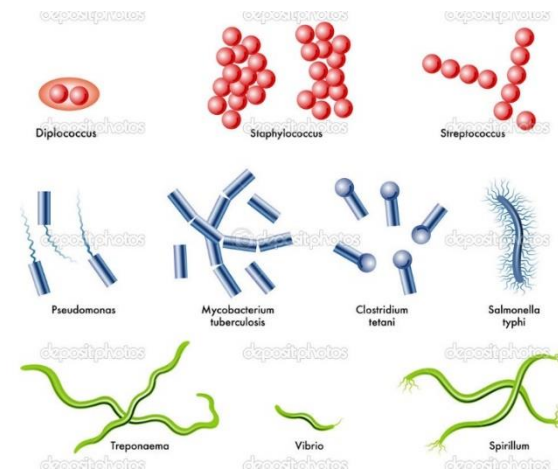
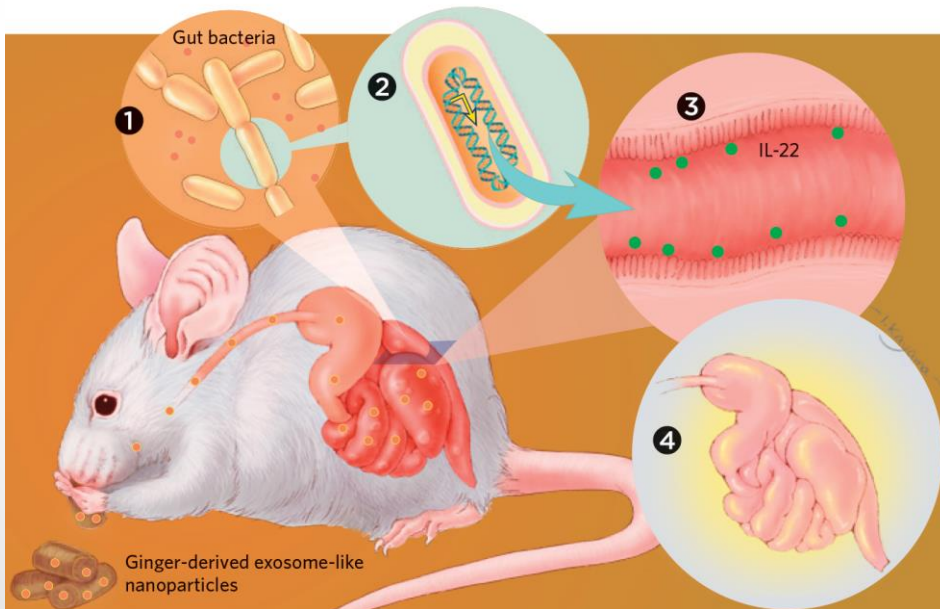
فاکتورهای مهم مرتبط با میکروارگانیسمها در اتاق حیوانات

۱. مسیر عادی انتقال عامل عفونی

۲. حجم و غلظت مورد استفاده

۳. مسیر تلقیح به حیوان

۴. چگونه و از چه مسیری عوامل عفونی ممکن است از بدن حیوان خارج شوند.



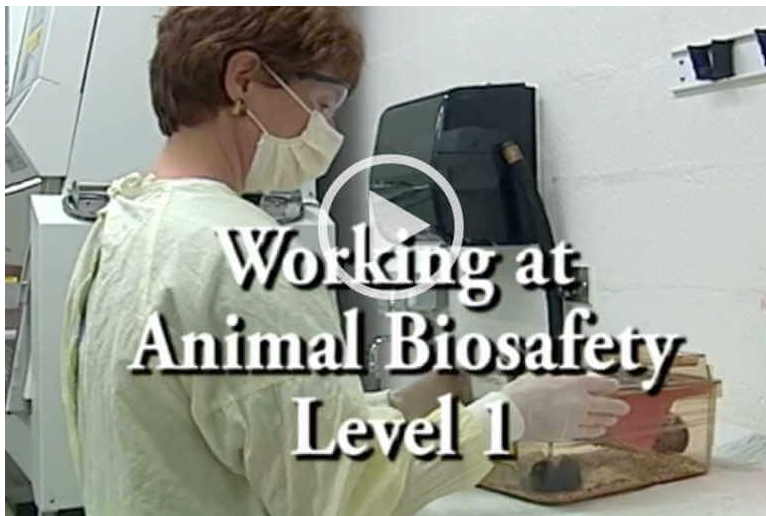
فاکتورهای مهم مرتبط با حیوانات

۱. طبیعت حیوانات مورد مطالعه، به عنوان مثال پرخاشگری و تمایل آنها برای گاز گرفتن و چنگ زدن
۲. انگلهای داخلی و خارج بدن آنها.
۳. بیماری های مشترک بین دام و انسان که بدان حساس هستند.
۴. امکان انتشار آلرژنها توسط حیوانات



ایمنی زیستی سطح ۱ اتاق حیوانات

- نگهداری اکثر حیوانات بعد از قرنطینه
- حیواناتی که عوامل خطر گروه ۱ تلقیح میشوند
- عوامل خطر گروه ۱؟



ایمنی زیستی سطح ۱ اتاق حیوانات

- برنامه نظارت پزشکی
- ارائه روشها و پروتوکل های مناسب برای کارکنان
- لزوم ارائه نحوه کارکرد کارکنان
- لزوم رعایت اصول GMT



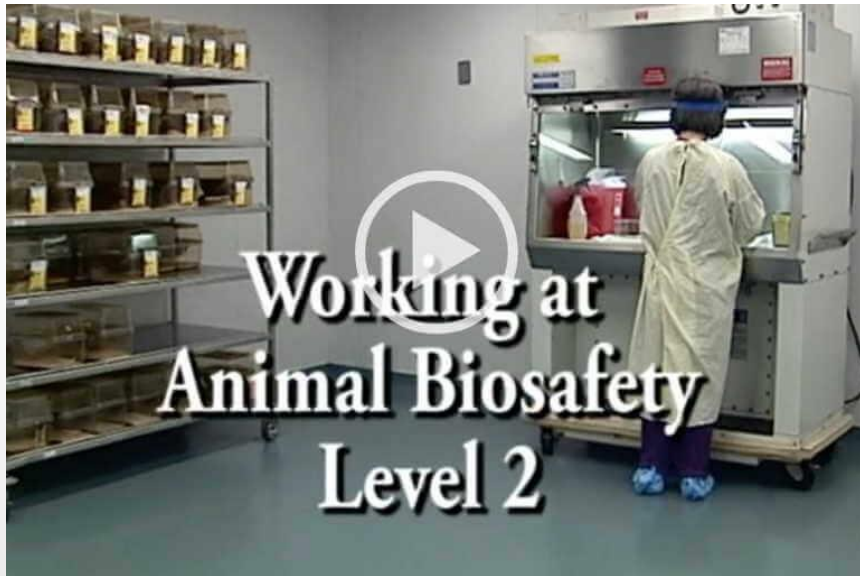
GMT

Good Microbiological Techniques •



ایمنی زیستی سطح ۲ اتاق حیوانات

- کار با حیواناتی که میکروارگانیسمهای گروه خطر ۲ به آنها تلقیح میشود
- میکروارگانیسمهای گروه خطر ۲؟



ایمنی زیستی سطح ۲ اتاق حیوانات

۱. تمامی نیازمندیهای ایمنی سطح ۱ حیوانخانه ۱ باید رعایت شوند.

۲. نصب علائم هشدار دهنده بر روی درها

۳. لزوم جاییابی و تمیزکردن مناسب تجهیزات

۴. لزوم باز شدن درها به سمت داخل

۵. کافی بودن گرمایش، تهویه و روشنایی

۶. لزوم جریان هوا به سمت داخل جهت تهویه

و تخلیه هوای آلوده به سمت بیرون

۱. دسترسی محدود مسئولین فنی







Animal Biosafety Level 2

Building _____ Room _____ Date Posted _____

MINIMUM PPE
to [Enter this Area](#)

ADDITIONAL PPE Required
for highest rated ABSL Agent in this room
AND when handling the ABSL 2 animals
Don't forget to add hazard labels on the animal's cage-cards

CHECK additional PPE that apply

<input type="checkbox"/> LAB COAT 	<input type="checkbox"/> GLOVES <input type="checkbox"/> DOUBLE (2 pair) 	<input type="checkbox"/> BONNET 	<input type="checkbox"/> BOOTIES (2 nd pair) 
<input type="checkbox"/> BOOTIES 	<input type="checkbox"/> TYVEK SLEEVES 	<input type="checkbox"/> SURGICAL MASK 	
<input type="checkbox"/> RESPIRATOR* Type # <input type="checkbox"/> N95  <input type="checkbox"/> N100	EYE PROTECTION MUST CHECK ONE <input type="checkbox"/> SAFETY GLASSES <input type="checkbox"/> GOGGLES (if Hazard is in liquid) OR <input type="checkbox"/> FACE SHIELD (if Hazard is in liquid)		

*Must be Fit Tested & Medically Evaluated. Call 265-5610

ایمنی زیستی سطح ۲ اتاق حیوانات

۱. عدم اجازه ورود حیوانات دیگر
۲. تدوین برنامه کنترلی برای بندپایان و جوندگان
۳. ایمن بودن و مقاوم بودن پنجره ها
۴. ضد عفونی کردن محل کار قبل و پس از اتمام کار
۵. لزوم تهیه هودهای بیولوژیک کلاس ۱ و ۲ جهت منع تولید آئروسول
۶. لزوم قرارگیری یک اتوکلاو در محل مناسب نزدیک به اتاق حیوانات.
۷. پاکسازی به موقع بستر حیوانات و دقت جهت منع تولید آئروسول
۸. لزوم ضد عفونی و آلودگی زدایی مواد زائد و بستر حیوانات قبل از دفع

ایمنی زیستی سطح ۲ اتاق حیوانات

۱. محدودیت در استفاده از وسایل تیز و جمع آوری مواد تیز در ظرفهای مخصوص
۲. -حمل ایمن مواد زائد برای اوتوکلاو یا سوزاندن
۳. -لزوم آلودگی زدایی قفس های حیوانات بعد از استفاده
۴. -لزوم تعویض لباس ها و وسایل محافظ هنگام ترک اتاق حیوانات
۵. -لزوم سوزاندن لاشه حیوانات
۶. -لزوم شستن دست ها قبل از ترک اتاق حیوانات
۷. -لزوم درمان تمامی صدمات و ثبت و ضبط آنها.
۸. ممنوعیت خوردن، آشامیدن، استعمال دخانیات در اتاق حیوانات
۹. -لزوم آموزش مناسب تمامی پرسنل اتاق حیوانات

ایمنی زیستی سطح ۳ اتاق حیوانات

- کار با حیواناتی که عوامل خطر گروه ۳ به آنها تلقیح میشود.
- تمام سیستمها و روشها باید هر سال بازبینی و تأیید مجدد شوند.
- عوامل خطر گروه ۳؟



ایمنی زیستی سطح ۳ اتاق حیوانات

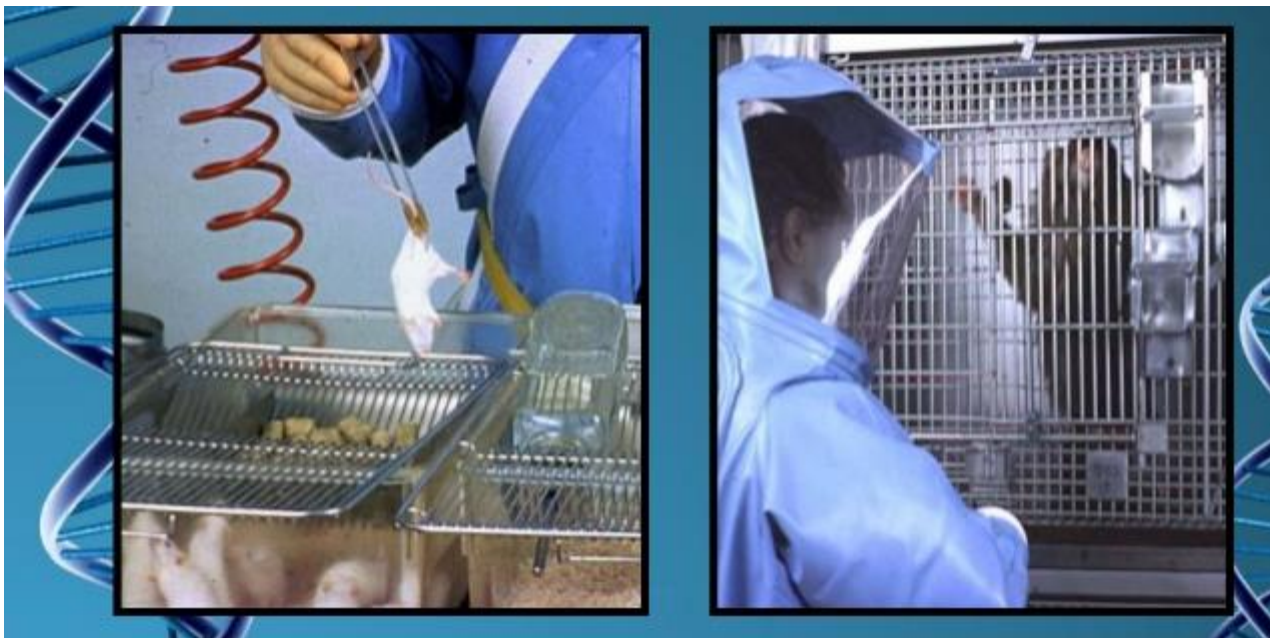
۱. تمام نیازمندیها در ایمنی سطح ۱ و ۲ حیوانخانه باید رعایت شوند.
۲. دسترسی به آن باید به شدت کنترل شود.
۳. فضای این قسمت باید از آزمایشگاه و محل نگهداری حیوانات به وسیله یک اتاق با دو در ورودی به صورت اتاق انتظار جدا شود.
۴. اتاق انتظار باید مجهز به سیستم شستشوی دست باشد.
۵. در اتاق انتظار باید حمام وجود داشته باشد.
۶. باید دستگاه تهویه هوای مکانیکی وجود داشته باشد تا از عبور و مرور جریان هوا در تمام اتاقها مطمئن شویم.
۷. هوای خروجی باید به وسیله فیلترهای HEPA خارج شوند. سیستم باید طوری طراحی شود که از جریان معکوس هوا و فشار بالا در تمام نقاط حیوانخانه جلوگیری کند.

ایمنی زیستی سطح ۳ اتاق حیوانات

- یک اتوکلاو باید در مکان مناسب حیوانخانه در دسترس باشد. مواد عفونی باید قبل از انتقال به جاهای دیگر حیوانخانه اتوکلاو شوند.
- یک زباله سوز باید در محل وجود داشته باشد یا در جای دیگر با نظارت مسئول فنی تعبیه شود.
- حیوانات آلوده به میکروارگانیسمهای گروه خطر ۳ باید در قفس های جدا یا اتاقهایی با تهویه هوا قرار داده شوند.
- محل خواب آنها باید تا حد امکان از گردو غبار پاکسازی شود.
- تمام لباسهای محافظ باید قبل از شستشو، ضدعفونی و پاکسازی گردند.
- پنجره ها باید بسته و درزگیری شده باشند و همچنین در برابر شکستن مقاوم باشند.
- ایمن سازی کارکنان به صورت مناسب باید انجام شود.

ایمنی زیستی سطح ۴ اتاق حیوانات

- کار در این حیوانخانه معمولاً با ایمنی زیستی سطح ۴ همراه خواهد بود و قوانین و مقررات ملی و محلی باید با یکدیگر در این زمینه هماهنگ باشند.



ایمنی زیستی سطح ۴ اتاق حیوانات

۱. تمام نیازمندیهای ایمنی سطح ۱ و ۲ و ۳ باید رعایت شوند.
۲. دسترسی باید به شدت کنترل شود: تنها کارکنانی که توسط مدیر مرکز تعیین شده اند، باید حق ورود داشته باشند.
۳. افراد نباید به تنهایی کار کنند، قانون دو نفره باید اعمال شود.
۴. پرسنل باید بالاترین سطح از تمرینات و آموزش ها را به عنوان میکروبیولوژیست دیده باشند و با خطرات و اقدامات احتیاطی ضروری که در کارشان موجود است، آشنا باشند.
۵. محل نگهداری حیواناتی که عوامل خطر گروه ۴ به آنها تلقیح شده باید محدودیتهای ایمنی زیستی سطح ۴ در آن اعمال شود.
۶. این مکان باید دارای یک اتاق انتظار دارای سیستم کنترل جریان هوا باشد که طرف تمیز آن روبروی فضای محدود شده بوده و دارای امکانات تعویض لباس و استحمام باشد.
۷. کارکنان باید به هنگام داخل شدن، لباس های بیرون خود را خارج کرده و لباس های محافظ مخصوص را بپوشند.

ایمنی زیستی سطح ۴ اتاق حیوانات

- بعد از اتمام کار کارکنان باید لباسهای خود را اتوکلاو کرده و قبل از رفتن، دوش بگیرند.
- مرکز باید دارای سیستم تهویه هوای مجهز به فیلتر هپا برای اطمینان از ایجاد فشار منفی باشد.
- سیستم تهویه باید به گونه ای طراحی شده باشد که از گردش هوای معکوس و فشار مثبت جلوگیری کند.
- لزوم قرارگیری یک اتوکلاو دو طرفه (دو سره)
- لزوم قرارگیری مسیر جداگانه و قابل کنترل برای تبادل مواد غیرقابل اتوکلاو
- تمام فعالیتهای مرتبط با حیوانات تلقیح شده با عوامل خطر گروه ۴ باید تحت شرایط محدودیتهای ایمنی زیستی سطح ۴ انجام شود.
- نگهداری تمامی حیوانات در ایزولاتورها
- اتوکلاو شدن بستر خواب حیوانات و مواد زائدشان باید قبل از خروج از مرکز.
- لزوم نظارت‌های پزشکی روی کارکنان



بی مهرگان

- تهیه اتاقهای جداگانه برای بی مهرگان آلوده و غیر آلوده
- در دسترس بودن اسپری های حشره کش
- تهیه امکانات سرمایشی برای کم کردن فعالیتهای بی مهرگان
- دسترسی از طریق یک اتاق انتظار مجهز به تله حشرات و توریهای ممانعت کننده از ورود بندپایان
- تجهیز خروجی های سیستمهای تهویه و پنجره ها با توریهای ممانعت کننده از ورود بندپایان شود



بی مهرگان

- تله های زائد روی سینکها یا آبگیرها نباید خشک شوند.
- تمام مواد زائد باید اتوکلاو شوند، چرا که بعضی از بی مهرگان به وسیله ضدعفونی کردن از بین نمیروند.
- باید تعداد بندپایان پرنده، خرنده کنترل شوند.
- ظروف مخصوص کنه ها باید در سینی روغنی قرار داده شود.
- حشرات پرواز کننده آلوده شده باید در قفسهای دارای دو توری مشبک نگهداری شوند.
- بندپایان آلوده شده باید در هودهای بیولوژیک و یا ایزولاتور دستکاری شوند.
- بندپایان آلوده شده یا به طور بالقوه آلوده ممکن است در سینک های خنک کننده دستکاری شوند.

روش های آزمایشگاهی و تجهیزات ایمنی	سطح محدودیت	گروه خطر
دسترسی محدود، استفاده از دستکش و لباس محافظ	ABSL ^۲ - 1	۱
بکارگیری شیوه های ABSL-1 به علاوه‌ی: استفاده از علائم هشدار خطر، استفاده از هودهای کلاس یک یا دو برای فعالیت‌هایی که تولید ذرات آئروسول می‌کنند. ضدعفونی کردن مواد زائد و قفس ها قبل از شستشو.	ABSL - 2	۲
شیوه های ABSL-2 به علاوه‌ی: دسترسی کنترل شده به حیوانخانه. استفاده از هودهای آزمایشگاهی و لباس های محافظ مخصوص برای همه‌ی فعالیت‌ها.	ABSL - 3	۳
شیوه‌های ABSL-3 به علاوه‌ی: دسترسی به شدت محدود. تعویض لباس قبل از ورود. استفاده از هودهای کلاس سه. دوش گرفتن به هنگام خروج. ضدعفونی تمام مواد زائد قبل از دفع.	ABSL - 4	۴

(Animal) Biological Safety Levels

