Aspergillus

Clinical manifestation: clinical allergies (allergic broncho-pulmonary aspergillosis, rhinitis, Farmers's lung), superficial and local infections (cutaneous infections, otomycosis, tracheobronchitis), infections associated with damaged tissue (aspergilloma, osteomyelitis),

Mode of transmission: Inhalation of airborne conidia, through contaminated water (exposure to conidia during showering), and nosocomial infections (hospital fabrics and plastics)

Infectious dose: Unknown.

Incubation period: 2 days – 3 months

Communicability: No evidence of human to human transmission

Disinfectant: sodium hypochlorite

Physical inactivation: treatment at 60 C for 45 minutes. Microwave irradiation at 800 watts for 90 seconds to 2 minutes is also effective.

Survival outside host: Can survive in soil and decomposing vegetation

Source /specimens: Sputum, biopsy material, trans-tracheal aspirates, blood, soil.

Primary hazards: Inhalation of air contaminated with Aspergillus spores

Brucella

Brucellosis, Undulant fever, Bang's disease, Malta fever, Mediterranean fever

Infectious dose: Unknown

Mode of transmission: Through ingestion, direct contact via skin abrasions and mucous membranes, and inhalation; risk factors include contact with infected tissues, blood, urine, vaginal discharge, aborted fetuses; ingestion of raw milk or cheese from infected animals; ; Laboratory acquired (generally through aerosolization)

Incubation period: Highly variable; 5- 60 days; Occasionally several months

Communicability: No evidence of person to person transmission

Disinfectant: Susceptible to many disinfectants 1% sodium hypochlorite, 70% ethanol.

Physical inactivation: Susceptible to moist heat (121°C for at least 15 min)

Survival outside host: Carcasses and organs - up to 135 days; Paper - 32 days; Soil - 125 days; Blood 4°C - 180 days

Source /specimen: Cultures, blood, tissues, placentas, fetuses, urine, uterine discharges

Primary hazard: Exposure to aerosols; Direct skin contact with cultures of infectious specimens from animals; Ingestion (mouth pipetting); Accidental inoculation; Sprays into eyes, nose and mouth

\

Candida albicans

Clinical manifestation: C. albicans is a commensal pathogen as it is a member of the gastrointestinal, oropharyngeal and female genital flora. Thrush/oral candidiasis, vaginal candidiasis, esophageal candidiasis,

Infectious dose: Unknown

Mode of transmission: Most infections result from the patient's own flora, rather than from cross infection.

Disinfectant: can be killed effectively with sodium hyphochlorite (5% and 0.5%), susceptible to 70% ethanol.

Physical inactivation: Most microorganisms are also inactivated by moist heat 121°C for 15 min- 30 min) (

Survival outside host**:** can survive on inanimate surfaces for 24 hours to 120 days, and on palms for about 45 minutes. Isolated from bed sheets, cots, and wash-basins of nurseries, be able to survive and grow in distilled water at room temperature. The fungus can survive on drying in darkness for 5 hours

Communicability**:** person to person transmission is rare.

Source/specimens: Epithelial scrapings or exudates from lesions; Sputum ; Bronchoalveolar lavage; Blood.

Primary hazards: Accidental parenteral inoculation, direct exposure of the skin to the pathogen .

Cytomegalovirus

Clinical manifestation**:** CMV infection is common and usually asymptomatic in healthy children and adults. CMV is the most common cause of congenital infection

Infectious dose**:** Unknown.

Mode of transmission**:** Transmission can occur through direct contact with infectious tissues, secretions or excretions (urine, saliva, breast milk, cervical secretions, and semen) during blood transfusion; Organ transplantation. Infected mothers can transmit the virus to their fetus *in utero* (transplacental), to newborns at the time of delivery (intrapartum: by contact with the virus in the birth canal), or to infants through breast milk.

Incubation period**:** 1-4 months post implant in the case of organ transplantation or blood transfusion, and 4-12 weeks for perinatal CMV infections.

Communicability**:** CMV virus can persist in body fluids such as urine, saliva, and seminal fluids for many years. Transmission occurs through direct contact with body fluids from symptomatic or asymptomatic persons excreting the virus, thus infection may be transmitted between humans and from adults to children through childbirth and breastfeeding.

Disinfectants**:** 1% sodium hypochlorite, 30% ethanol.

Physical inactivation**:** Inactivated by heat (56 °C for 30 min).

Survival outside host**:** Cytomegalovirus can survive on dry inanimate surfaces (persistence varies from only a few hours up to 7 days) ; Blanket for 2 hours; plexiglass for 4-8 hours.

Sources/specimens**:** Urine, blood, breast milk, tears, stool, semen, respiratory secretions (nasopharyngeal secretions, saliva, throat washings, and broncho-alveolar lavage fluid) and cervical secretions.

Primary hazards**:** Inhalation of concentrated aerosolized materials, droplet exposure of mucous membranes of the eyes, nose, or mouth, ingestion, accidental parenteral inoculation are the primary hazards associated with

herpes viruses including Cytomegalovirus.

Cryptosporidium parvum

Clinical manifestation**:** Infection causes acute gastroenteritis.

Cryptosporidiosis in immune compromised patients may lead to more severe clinical manifestations such as severe weight loss, cholangitis, pancreatitis, sclerosing cholangitis, and liver cirrhosis,

Infectious dose**:** The median infectious dose in healthy adult volunteers is 132 oocytes; the infectious dose for humans is as low as 1-5 oocysts.

Mode of transmission: Transmitted through the fecal-oral route, direct contact with infected humans or animals, contaminated food or water and aerosols.

Incubation period: 7 to 10 days**.**

Communicability: Highly contagious. Human-to-human transmission is common; Oocysts can be excreted up to 50 days after cessation of diarrhea.

Disinfectants**:** *C. parvum* is susceptible to high concentration (> 6%) of hydrogen peroxide and ethylene oxide.

Physical inactivation**:** Inactivated by moist heat (e.g. 121°C for 18 minutes)

Survival outside host**:** Can survive for 6 months at 20°C in the environment.

Sources/specimens: Stool, intestinal biopsy specimens from humans or animals and environmental water.

Primary hazard**:** Ingestion of oocysts , parenteral inoculation, contact with aerosolized droplets.

Escherichia coli

Intestinal pathogenic *E. coli,* bacillary dysentery.

Clinical manifestation: causes bacillary dysentery, an acute ulcerative infection of the large intestine, invade cells of the colon and causes watery diarrhea (might be bloody), fever, and abdominal cramps

Infectious dose**:** 10^6-10^{10} organisms.

Mode of transmission: spread by the fecal/oral route. Contaminated food and water are the usual vehicles for the spread. Foodborne outbreaks have occurred. Person to person transmission can also occur.
Incubation period: The incubation period is between 2-48 hours with an average of about 18 hours.

Communicability: Yes. Person to person transmission is possible.

Disinfectant: Susceptible hypochlorite (0.525%, 20°C, 0.5 min) and ethyl alcohol (70%, 20°C, 0.5 min)

Physical inactivation**:** sensitive to heat treatment, especially at temperatures of 70°C or higher .

Survival outside host: Food and water. *E. coli* can survive for 1.5 hours to 16 months on dry inanimate surfaces.

Sources/specimens: Stool, food, and water.

Primary hazard: Ingestion

Epstein-Barr virus

Human herpesvirus 4 (HHV4) ; EBV, infectious mononucleosis (IM), glandular fever, Burkitt's lymphoma (BL), nasopharyngeal carcinoma (NPC)

Clinical manifestation**:** Most EBV infections are acquired during childhood and are asymptomatic.

infectious mononucleosis , *Burkitt's lymphoma*.

Infectious dose: Not known

Mode of transmission: For infectious mononucleosis**,** transmission occurs mainly via sexual contact or contact with saliva of infected persons (oral route). For Burkitt's lymphoma, EBV transmission occurs early in life through saliva and then the lymphoma develops later.

Communicability**:** The virus is contracted after repeated contact with the infected person, or asymptomatic person shedding the virus. Shedding decreases during the year following infection but persists throughout life.

Incubation period: The incubation for IM is 30-50 days.

For BL is from 4.7-9.2 years

Disinfectant**:** Most herpes viruses are susceptible to 30% ethanol and 200 ppm sodium hypochlorite.

Physical inactivation: Herpes viruses can be inactivated by heating in solution at 60°C to 80°C.

Survival outside host**:** Unknown

Source /specimens: blood, saliva and throat specimens.

Primary hazard: Ingestion, accidental parenteral inoculation, direct exposure of mucous membranes of the eyes,nose, or mouth, or inhalation of aerosolized materials are risks associated with herpes viruses

Entamoeba histolytica

Clinical manifestation: Most infections (90%) with *E. histolytica* are asymptomatic, with just passage of cysts in stools of infected individuals.

Symptomatic patients present mainly with intestinal diseases, Amebic dysentery is characterized by diarrhea with severe cramping، Lower abdominal pain, low-grade fever, and presence of blood or mucous in the stool for long periods of time.

Infectious dose: Average infectious dose is >1000 organisms.

Communicability**:** Amebiases can spread within families. Person-person transmission occurs through fecal oral route under conditions of poor hygiene (45 million cysts are passed in the stool daily) .

Mode of transmission: Transmission can occur through fecal oral route (ingestion of food and water، contaminated with feces containing E. histolytica cysts)

Disinfectant : *E. histolytica* cysts are the most highly resistant to disinfectants, after bacterial spore and are most susceptible to ozone, followed by chlorine dioxide , iodine, and freechlorine

Physical inactivation: Amebic cysts can be killed by heating at 50-56°C.
Pasteurization or brief boiling is sufficient to eliminate the risk of transmission of *E.histolytica.*

Survival outside host**:** Cysts can survive in water and soil for days to weeks and in food. Trophozoites do

not survive well outside the human hosts .
Trophozoites do not survive well outside the human hosts [5].

Source/specimen: Feces; Ulcer secretions, tissue biopsy, abscess aspirates.

Primary hazards: Ingestion

Enterobacter

Clinical manifestation: associated with nosocomial outbreaks, opportunistic pathogens, including cerebral abscess, pneumonia, meningitis, septicemia, and wound, urinary tract (particularly catheter related UTI), and abdominal cavity/intestinal infections and surgical site infections (primarily postoperative or related to devices such as biliary stents).

Infectious dose: approximately 1000 cells have been considered infectious.

Mode of transmission: Transmission is through direct or indirect contact of mucosal surfaces with infectious agent (e.g. bacteria can transfer from contaminated hands in neonatal units or contaminated urinals).

Can also be spread through the fecal oral route.

Incubation period: Unknown.

Communicability**:** Person to person transmission can occur through the fecal oral route.

Disinfectant: susceptible to 70-80 % ethanol ,1% sodium hypochlorite,

Physical inactivation**:** Can be inactivated by moist heat (121 °C for 15 min 30 min)

Survival outside host**:** commonly found in the environment (e.g. soil, water, and sewage).

Sources/specimens**:** Infected urine, feces, respiratory secretions, wound exudates, blood, water, soil, and plants.

Primary hazard: Direct or indirect contact of infected specimens with mucous membranes, parenteral inoculation, aerosols, and ingestion

Giardia lamblia

Clinical manifestation: nausea, chills, low grade fever, epigastric pain, sudden onset of watery diarrhea dehydration and malabsorption.

Infectious dose: infected with as few as 10 cysts.

Mode of transmission: The infectious cysts of *G. lamblia* are excreted in large numbers in feces of infected persons, and they contaminate hands, drinking water, swimming pool, and food. They can be transmitted by the fecal oral route, or contaminated food and water.

Incubation period: 7 to 14 days

Disinfectant: *Giardia* cysts in water can be inactivated with 4 mg/L of chlorine after 60 min at 5°C, at pH levels 6 . 6% H_2O_2 can be used as a surface disinfectant or in disinfection of spills.

Physical inactivation: Cysts are susceptible to boiling and freezing

Sources/specimens: Feces, other body fluids and tissues.

Primary hazards: Ingestion and possible aerosol

Hepatitis C virus (HCV)

Clinical manifestation: *Acute HCV infection*: Asymptomatic in most patients.
right upper quadrant pain, nausea, vomiting , jaundice, mild hepatosplenomegaly, maculopapular rash

Chronic HCV infection: chronic hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma

Infectious Dose: Unknown.

Mode of transmission: HCV is mainly transmitted parenterally by infected needles; blood transfusion, organ transplantation, contaminated medical equipment, and from tattoo and body piercing equipment. The risk of HCV infection through blood transfusion. Less common routes of HCV transmission are via sexual contact, from sharing razors and/or toothbrushes, and from mother to child during pregnancy and childbirth.

Incubation period: Ranges from 2 to 12 weeks.

Communicability: Can be transmitted from person to person.

Disinfectants: HCV RNA is readily degraded by 2% glutaraldehyde when added to biological samples at 37°C, and soaking medical equipment (such as gastro endoscopes) in 3% glutaraldehyde. Phenolic compounds (0.4 to 3%).

Physical Inactivation: HCV is inactivated when incubated at 60°C for 10 hours (pasteurization) .

Survival outside Host: HCV is relatively unstable; In plasma it can survive

drying and environmental exposure to room temperature for at least 16

hours

Sources/Specimens: Blood, blood products, and bodily fluids, tissues, or equipment contaminated with HCV infected blood.

Primary Hazards: Needle-stick injury or cuts with sharp instruments.

Hepatitis B virus (HBV)

Clinical manifestation: *Acute hepatitis B infection*: nausea, abdominal pain, vomiting, fever, jaundice, dark urine, changes in stool colour, and hepatomegaly or splenomegaly as well as signs of liver dysfunction.

Chronic hepatitis B infection: Defined as the persistence of HBsAg for more than 6 months; asymptomatic or may suffer from symptoms such as fatigue, anorexia, nausea, abdominal discomfort and liver dysfunction.

Infectious dose: Unknown.

Mode of transmission: HBV is transmitted by percutaneous or mucosal exposure to infected blood or other body fluid HBV transmission has been observed with numerous forms of human contact such as perinatal/mother to child, household (non-sexual), sexual, needle sharing, and occupational/health care related.

Incubation period: 24-180 days (average 60-90 days).

Communicability: All persons who are HBsAg positive are potentially infectious, and blood can be infectious for several weeks before the onset of clinical symptoms.

Disinfectants: 5,000 ppm available chlorine, alcohols (70-80%).

Physical inactivation: Moist heat at 98°C for 1 minute will partially inactivate HBV in a 1:10 serum dilution, Incubation at 60°C for 10 hours (pasteurisation) will also inactivate HVB.

Survival outside hosts: HBV can survive and remain infectious on environmental surfaces for at least 7 days.

Sources/specimens: Blood, cerebrospinal fluid, saliva, semen, synovial fluid, breast milk, bile, faeces, nasopharyngeal washings, sweat, peritoneal, pleural, pericardial, amniotic, and unfixed tissues and organs.

Primary hazards: Percutaneous (e.g. needle stick) or mucous membrane exposures to blood that might contain HBsAg.

Special hazards: There is a potential for infection via aerosols and HBV contaminated surfaces.

Human immunodeficiency virus (HIV).
HIV, acquired immune deficiency syndrome, AIDS

Clinical manifestation: myalgia, arthralgia, diarrhea, nausea, vomiting, headache, hepatosplenomegaly , weight loss, and neurological symptoms ,orophayngeal and recurrent vulvovaginal candidiasis, bacillary angiomatosis, recurrent herpes zoster, pelvic inflammatory disease.

Infectious dose: Unknown.

Mode of transmission: HIV is transmitted either by exposure of the virus to oral, rectal, or vaginal mucosa during sexual activity; by intravascular inoculation through transfusion of contaminated blood products; by using contaminated equipment during injection drug use; From mother to infant during Pregnancy, delivery or breastfeeding.

Incubation period: generally 1 to 3 months, the time from HIV infection to diagnosis of AIDS had an observed range of less than 1 year to 15 years or longer.

Communicability: blood transfusion from an infected donor, needle sharing by infected injection drug users, sexual intercourse and percutaneous needle injuries.
HIV can also be passed from mother to child *in utero* (vertical) as well as during childbirth, and from breast milk.

Disinfectant: HIV is susceptible to hypochlorite.

Physical inactivation: A temperature of 60°C for 30 minutes

Survival outside host: HIV can remain viable in blood in syringes at room temperature for 42 days,
Cell-free HIV dried onto a glass coverslip in 10% serum can survive for longer than 7 days.

Sources/specimens: Blood, semen, vaginal secretions, cerebrospinal fluid, synovial fluid, peritoneal fluid, pleural fluid, pericardial fluid, amniotic fluid, other specimens containing visible blood, breast milk, unscreened Or inadequately treated blood products, and infected human tissues.

Primary hazards: Needle stick, contaminated sharp objects, and/or direct contact of non-intact skin or Mucous membranes with HIV infected specimens/tissues.

Special hazard: Extreme care must be taken to avoid spilling and/or splashing infected materials. HIV should be presumed to be in/on all equipment and devices coming in direct contact with infected materials .

Herpes simplex virus HSV

Clinical manifestation: HSV-1 is associated mainly with "above the waist" infections involving the mouth, pharynx, face, eye, and central nervous system (CNS), orolabial HSV infection

HSV-2 is associated mainly with "below the waist" infections of the genital region.

Infectious dose: Unknown.

Mode of transmission: Direct contact with infected secretions or mucous membranes/skin with lesions from asymptomatic or symptomatic patients shedding the virus.

Incubation period: range from 1-26 days. Incubation period for orolabial HSV infection is 2 to 12 days, with an average of 4 days. Genital herpes is acquired within 5 days. Oral and genital lesions appear approximately 19 and 24 days following transplantation organ of an infected organ.

Communicability: HSV viruses are passed through close personal contact and mainly oral-genital or genital-genital contact.

Disinfectant: inactivated by lipid solvents. 2,000 ppm (2,000 ul/liter) of bleach in 10 min; by rubbing alcohol (1:1 mixtures). Susceptible to 30% ethanol

Physical inactivation: HSV virus is easily inactivated by exposure to PH <4, temperatures >56°C for 30 min, pasteurization (60°C for 10 h), and microwave heating for 4 min.

Survival outside host: HSV virus survives for short periods of time outside the host (survival ranges from few hours to 8 weeks).

Sources/specimens: Virus is shed from saliva, cervix, and urethra.

Primary hazards: Direct contact with clinical material or viral isolates, inhalation of concentrated aerosolized materials, droplet exposure of mucous membranes of the eyes, nose, or mouth, ingestion, accidental parenteral inoculation are the primary hazards associated with herpes viruses including HSV 1 and 2.

Influenza A virus

influenza virus type A , avian influenza, pandemic influenza

Clinical manifestation: Symptoms of H5N1 range from typical flu-like symptoms (e.g., fever, sore throat, cough, and muscle aches) to pneumonia, acute respiratory distress syndrome, multiple organ failure, lymphopenia, elevated liver enzyme levels and abnormal clotting profiles, diarrhoea, vomiting, abdominal pain, pleuritic pain, and bleeding from the nose and gums.

Infectious dose: Unknown

Mode of transmission: Influenza A infections in humans result predominantly from direct transmission of the virus from birds to humans. human-to-human transmission may have occurred during close unprotected contact with a severely ill patient

Incubation period: Most cases of influenza A (H5N1) occurred within two to four days after exposure.

Communicability: Limited human-to-human transmission reported, whereby transmission probably occurred during close unprotected contact with a severely ill patient

Disinfectant: 1% sodium hypochlorite, 70% ethanol.

Physical inactivation: Incubation at 56ºC to 60ºC for 60 min.

Survival outside host: Influenza virus may remain infective in lake water for 4 days, in water at 22ºC, and for 30 days at 0ºC.

Sources/specimens: Tissues, secretions and/or excretions

Primary hazards: Inhalation of virus from aerosols generated when aspirating, dispensing, or mixing virus infected samples.

Protective clothing: Protective solid front gowns, gloves, shoe covers, eye protection with face seal, and N95 respiratory protection. Centrifugation of respiratory specimens or tissue samples to be carried out using sealed centrifuge cups or rotors, both of which are to be loaded and unloaded in a biological safety cabinet.

Influenza virus type A

Grippe, *flu, H1N1*

Clinical manifestation: An acute viral disease of the upper respiratory tract characterized by fever (temperature 37.8ºC or above), headache, myalgia, malaise, sore throat, non-productive cough, sneezing and nasal discharge. Pulmonary complications of influenza include pneumonia (viral and bacterial), croup, asthma and bronchitis. Myocarditis and pericarditis.

Infectious dose: Unknown for specific influenza A subtypes.

Incubation period: Short, usually 1 to 3 days

Communicability: Highly communicable. Infected persons can shed detectable amounts of influenza virus the day before symptoms begin. Adults usually shed the virus for 3 to 5 days, and up to 7 days in young children

Mode of transmission: Transmission of influenza in humans can occur via respiratory infection by aerosols and droplets (from coughing and sneezing) or from contact transmission from contaminated surfaces

Disinfectant: sodium hypochlorite (freshly made 1:10 dilution of bleach), 60 to 95% ethanol,

Physical inactivation: Susceptible to moist heat at 121ºC for 20 minutes.

Survival outside host: Influenza A virus can survive for 24 to 48 hours on hard, nonporous surfaces such as stainless steel and plastic and for approximately 8 to 12 hours on cloth, paper and tissues

Sources/specimens: Respiratory tissues, human secretions, and infected animals.

Primary hazards: Inhalation of virus from aerosols generated when aspirating, dispensing, or mixing virus-infected samples (tissues, faeces, secretions). Laboratory infection can also occur from direct inoculation of mucous membranes via virus contaminated gloves following the handling of tissues, faeces and/or secretions

Special hazards: Genetic manipulation of virus

Klebsiella

Clinical manifestation: nosocomial pneumonia, septicemia, urinary tract infection, wound infections, intensive care unit (ICU) infections, and neonatal septicemia.

Infectious dose**:** Unknown.

Mode of transmission**:** can be transmitted through skin contact with environmentally contaminated surfaces and/or objects; medical equipment, and blood products. Fecal transmission has also been suggested for some cases of bacteremia.

Incubation period**:** unknown

Communicability: one-third of people carry *Klebsiellae* in their stools; detection rates according to different studies vary from 5% to 36%. Detection rates in nasopharynx vary from 1% to 6%. Hospital personnel have been shown to frequently carry *Klebsiellae* on their hands.

Disinfectant**:** hypochlorites (1% sodium hypochlorite), alcohols (70% ethanol).

Physical inactivation: Significant growth reduction has been demonstrated at 60 °C. Bacteria are also sensitive to moist heat and dry heat.

Survival outside host**:** grow rapidly on surfaces of potatoes and lettuce. They do not grow well on human skin, exists in infected individuals and/or surfaces, and the environment; surface water.

Sources/specimens**:** Sources for clinical samples of *Klebsiella* spp. primarily include samples from respiratory tract (RT; nasopharyngeal samples) and urinary tract (UT).

Primary hazards**:** Direct contact of mucosal membranes with contaminated surfaces and/or object, and inhalation of infectious airborne secretions, accidental parenteral inoculation and/or ingestion.
Special hazards: None.

Leishmania

Clinical manifestation**:** cutaneous, mucocutaneous and visceral leishmaniasis.

Cutaneous: ulcerative skin lesions. Mucocutaneous: mucosal lesions, nasal obstruction/bleeding,

Visceral leishmaniasis: fever, hepatosplenomegaly with pancytopenia, wasting and weakness, darkening skin and anemia.

Infectious dose**:** Unknown.

Mode of transmission**:** Transmitted by the bite of an infected female sand fly.Laboratory; blood transfusion.

Incubation period: At least a week but can be up to many months.

Communicability: Communicable via sandflies as long as parasites are circulating in blood or are present in skin lesions, although person to person infection through blood transfusion. Parasites may still circulate in the blood after symptoms are no longer apparent.

Disinfectants: Susceptible to 1% sodium hypochlorite, 70% ethanol, 0.1% hand soap

Physical inactivation: autoclaving condition of 121°C for 15 minutes.

Survival outside host: Does not survive outside host or culture, but remains viable for 35 days in whole blood kept at 4 °C.

Sources/specimens: Infective stages may be present in blood, faeces, and lesion exudates.

Primary hazards: Accidental parenteral exposures, aerosols, vector-borne transmission, mucosal (mouth, nose, eyes), ingestion.

Specials hazards: Contact with lesion material, faeces, or blood, or receiving a bite from experimentally or naturally infected mammals.

Pseudomonas

Clinical manifestation: The common site of infection is the lower respiratory tract, cause of nosocomial ventilator-related pneumonia in intensive care settings, endocarditis, osteomyelitis, urinary tract infections, gastrointestinal infections, meningitis, inflammation during contact lens wear that can lead to scarring and vision loss ,colonize on open burn wounds, causing infections, abscesses, and sepsis, with edema and/or discoloration of unburned skin at wound margins and green pigment in subcutaneous fat ,swimmer's ear (otitis externa).

Infectious dose: Unknown

Communicability: Spread of infection from person-to-person is speculated to be highly possible during infection, especially amongst cystic fibrosis patients

Mode of transmission: airborne transmission. Contact with contaminated water and lung exposure from inhaling aerosols discharged from infected respiratory tracts. Through injuries and wounds.

The use of contaminated mechanical respiratory ventilators in hospital settings.

Infectious period: Varies according to infection, eye infection can appear 24 – 72 hours after infection

Disinfectant: Susceptibility has been shown for 1% sodium hypochlorite, 70% ethanol.

Physical inactivation: Inactivation and sterilization using moist heat should be at 121°C for 15 minutes or longer.

Survival outside host: can survive for months on dry surfaces and inanimate objects, most frequently isolated from patients with nosocomial infections; humidity can improve persistence. Growth observed in distilled water can survive up to months with minimal nutrients

Sources/Specimens: Blood cultures, urine, skin, sputum, soft tissue samples, lower respiratory tract secretions, wound exudates, contaminated water samples, and mechanical ventilator equipment

Primary hazards: Accidental parenteral inoculation, inhalation of infectious aerosols, accidental ingestion, or direct skin contact.

Salmonella enterica

Serotype Typhi - Typhoid fever, Enteric fever.

Serotype Paratyphi - Enteric fever, Paratyphoid fever.

Clinical manifestation: gastroenteritis, bacteremia, enteric fever, and an asymptomatic carrier state

Infectious dose: For non-typhoidal salmonellosis, the infectious dose is approximately 10^3 bacilli. For enteric fever, the infectious dose is about 10^5 bacilli by ingestion.

Communicability: Humans can spread the disease for as long as they shed the bacterium in their feces. Certain carriers shed the bacteria for years and 5 % of patients recovering from non-typhoidal salmonellosis can shed the bacteria for 20 weeks.

Mode of transmission: Human infection usually occurs when consuming contaminated foods and water, contact with infected feces, as well as contact with infective animals, animal feed, or humans.

Disinfectant: 1% sodium hypochlorite, 70% ethanol.

Physical inactivation: Susceptible to moist heat (121 ºC for at least 15 minutes).

Survival outside host: survive on fingertips for up to 80 minutes, have been found to live up to 63 days on lettuce, 10 months on refrigerated cheddar cheese, 9 months in butter, up to 63 days in frozen yogurt, and up to 20 weeks on frozen beef and chicken

Sources/specimens: are found in blood, urine, feces, food and feed and environmental materials. Serotype Typhi is found in blood, urine, feces and bile.

Primary hazards: working with *Salmonella enterica* are accidental parenteral inoculation and ingestion.

Shigella spp

Clinical manifestation: acute intestinal infections upon ingestion, resulting in mild watery diarrhea to severe inflammatory bacillary dysentery or shigellosis, severe abdominal cramps, nausea and vomiting, fever, anorexia, and stool containing blood and mucus .

Infectious dose: Infection can result from ingestion of 10 – 200 organisms

Mode of transmission: Organisms are spread through the fecal-oral route, ingestion of contaminated foods (washed with fecally contaminated water, or handled with poor hygiene, commonly in salads, chicken, and shellfish) ; Drinking contaminated water (or in swimming pools).

Disinfectants: Susceptible to 1% sodium hypochlorite, 70% ethanol.

Physical inactivation: Organisms can be heat-killed by steaming using an autoclave for 1 hour at 100˚C under normal atmospheric pressure

Prophylaxis: hand washing, strict hygiene control during food preparation, providing safe drinking water, improving toilet facilities and excreta disposal.

Sources/specimens: Organisms can be found in stool and rarely in blood samples.

Primary hazards: Infection may be acquired through ingestion or accidental parenteral inoculation.

Staphylococcus aureus

Clinical manifestation**:** food poisoning, local infections, cellulitis, erythema, cause necrotizing fasciitis in immunocompromised individuals, toxic shock syndrome (TSS). Complications of surgical procedures. Deep infections include endocarditis, peritonitis, necrotizing pneumonia, bacteremia, meningitis, osteomyelitis, septic arthritis, and infections of bones, joints and organs.

Infectious dose**:** At least 100,000 organisms in humans.

Mode of transmission**:** Ingestion of food containing enterotoxins. Person-to-person transmission occurs through contact with a purulent lesion or with a carrier. Unsanitary conditions and crowded community settings increase exposure to *S. aureus*. Infection may be spread from person-to-person through health care workers or patients. Nasal colonization can lead to auto-infection.

Incubation period**:** Onset of symptoms after consuming contaminated food is usually 30 minutes to 8 hours. Colonies of *S. aureus* can be carried for an undetermined amount of time; some individuals may carry it chronically, and some may carry it intermittently.

Communicability**:** Communicable period is as long as a purulent lesion is present or carrier state persists.

Disinfectants**:** Susceptible to 70% ethanol, 1% sodium hypochlorite.

Physical inactivation: Enterotoxins are resistant to temperatures that would destroy the bacilli.

Sensitive to dry heat treatment of 160-170^{o}C for at least an hour, but not to moist heat treatment.

Survival outside host**:** Survives on carcasses and organs (up to 42 days), floors (less than 7 days), glass (46 hours), sunlight (17 hours), UV (7 hours), meat products (60 days), coins (up to 7 days), skin (30 minutes to 38 days) .

Sources/specimens**:** present in CSF, joint aspirates, blood, abscesses, aerosols, faeces, and urine.

Primary hazards: Trauma of cutaneous barrier, parenteral inoculation, direct implantation of medical devices (i.e. indwelling catheters and IVs), ingestion of infected material, and contact with aerosols.

Special hazards: Contaminated request forms that have been wrapped around specimen containers.

Direct contact with open cuts and lesions of skin.

Streptococcus pyogenes

Clinical manifestation: sore throat, Scarlet fever, impetigo and pneumonia. Septicemia, otitis media, mastitis, sepsis, cellulitis, erysipelas, myositis, osteomyelitis, septic arthritis, meningitis, endocarditis, pericarditis, and neonatal infections ,Streptococcal toxic shock syndrome, acute rheumatic fever, post-streptococcal glomerulonephritis ,and necrotizing fasciitis

Infectious dose: Unknown.

Mode of transmission: Transmission via respiratory droplets, hand contact with nasal discharge and skin contact with impetigo lesions are the most important modes of transmission.

Incubation period: The incubation period is usually 1-3 days.

Communicability: If untreated, patients with streptococcal pharyngitis are infective during the acute phase of the illness, usually 7-10 days, and for one week afterwards; However, if antibiotics are used, the infective period is reduced to 24 hours

Disinfectant: This bacterium is susceptible to 1% sodium hypochlorite, 70% ethanol.

Physical inactivation: Bacteria are susceptible to moist heat (121 ºC for at least 15 minutes)

Survival outside host: can survive on a dry surface for 3 days to 6.5 months.

Sources/specimens: Respiratory specimens, skin lesions, blood, sputum and wound exudates contain the infectious agent.

Primary hazards: Inhalation of infectious aerosols and contamination of mucocutaneous lesions are the primary hazards associated with working with this pathogen.

Mycobacterium tuberculosis

Clinical manifestation: present with cough, weight loss, night sweats, low-grade fever, dyspnea, lymphadenopathy, chest pain, pneumonia, pleural effusion, meningitis.

Infectious dose: *M. tuberculosis* has a very low infectious dose. The ID_{50} is estimated to be <10 bacilli in humans.

Mode of transmission: Transmission can be nosocomial or airborne (inhalation of droplet nuclei carrying *M. tuberculosis*, which are generated when patients with tuberculosis cough, exposure to autopsy material, and percutaneous transmission (direct injury to the skin and mucous membranes through breaks in skin.

Incubation period: 4-6 weeks. For latent TB infections, 5% of patients develop an active infection within 2 years.

Communicability: Highly communicable.

Disinfectant: 0.05 % to 0.5% sodium hypochlorite can be used for surface disinfection. Higher concentrations of chlorine are required for efficacy against *M. tuberculosis*.

Physical inactivation: sensitive to moist heat (121°C for at least 15 min).

Survival outside host: can survive for months on dry inanimate surfaces.

Sources/specimens: Sputum, gastric lavage fluids, cerebrospinal fluids, urine or lesions from a variety of infected tissues.

Primary hazards: Nosocomial transmission of the bacteria while working with patients or during handling of clinical specimens, exposure to infectious aerosols generated during manipulation of cultures, accidental parenteral inoculation.

Special hazards: Bacilli can survive in heat-fixed smears and may be aerosolized during the preparation of frozen stocks or during manipulation of cultures.

Trichomonas vaginalis

Clinical manifestation: *T. vaginalis* is generally restricted to the genitourinary tract by the host's immune system.

Mode of transmission: Commonly spread through sexual contact with vaginal or urethral discharges of infected persons, and

transmission of organisms via artificial insemination of infected cryobanked semen is also possible. has been observed in cases involving contaminated douche nozzles, moist wash-clothes, specula, or toilet seats.

Incubation period: Ranges from 3 - 28 days with an average of 7 days

Communicability: Infection can persist for a significant period of time in asymptomatic cases, from months to years.

Disinfectant: Susceptible to 1% sodium hypochlorite, and 70% ethanol.

Physical inactivation: Inactivated below pH 5. Organisms cannot survive long (several hours) in dry conditions.

Survival outside host: The organism grows best at 37°C, and specimens in urine should be considered viable for only 30 minutes to avoid false negatives.
Live T. vaginalis have been found in swimming pool water, in urine, and semen after up to 6 - 24 hours and up to 30 - 45 minutes when exposed to air.

Source /Specimens: Vaginal and urethral secretions, urine, human semen.

Primary hazards: Droplet exposure to mucous membrane, accidental parenteral inoculation and sexual transmission.

Hand Washing

Hand Washing Facts

-Routine cleaning of hands is a very important step to reduce self-infection in the laboratory.

-You should clean your hands:

- After removing gloves or working with biohazards/human specimens.
- When leaving the lab.
- Before eating.
- After touching a patient.
- Before using the restroom.
- After using the restroom.

Proper Hand Washing Technique

- **Wet** your hands with clean, running water (warm or cold), turn off the tap, and apply soap.
- **Lather** your hands by rubbing them together with the soap. Be sure to lather the backs of your hands, between your fingers, and under your nails.
- **Scrub** your hands for at least 20 seconds.
- **Rinse** your hands well under clean, running water.
- **Dry** your hands using a clean towel or air dry them.
- **Turn** off the tap with your elbow or wrist or paper towel

Disinfection

- Antiseptic - Chemical germicide formulated to be used on skin or tissue (example-70% alcohol).
- Detergent–basically soap, a cleaning agent that has wetting-agent and emulsifying-agent properties and can be used to remove organic material prior to disinfection.
- Disinfection - Process that eliminates nearly all forms of disease-causing microorganisms (viruses, bacteria, or pathogenic fungi, but not necessarily spores) on inanimate surfaces (example – wiping down a benchtop with diluted bleach).
- Tuberculocide –A disinfectant that can kill *M. tuberculosis* under certain usage conditions (example—2% bleach/0.1% sodium hypochlorite)

If you have a spill or are decontaminating something that has organic material present (blood, serum, plasma, fetal calf serum) your disinfectant will not work as effectively.

1- first absorb the material with a disinfectant soaked towel,
2- Then clean with a soap solution to remove the organic material,
3- Then disinfect again with something like 2-10% bleach (0.1% sodium hypochlorite- 0.5% sodium hypochlorite).

Bleach solutions should be made daily since they degrade over time and may not be as effective as when freshly made.

Any time bleach solutions are used to disinfect biosafety cabinet or other stainless-steel equipment, they should be wiped afterwards with 70% alcohol (isopropanol IPA) or distilled water so that they do not corrode from the bleach.

For “clean conditions”:

=1g/L=1,000ppm=0.1% NaOCl

Use: Benchtops, BSCs
Bleach Dilution: 20 ml in 980 ml water
(2% bleach)

For “dirty” conditions:

=5g/L=5,000ppm =0.5% NaOCl

Use: Spills, liquid waste decontamination
Bleach Dilution: 100 ml in 900 ml water (or waste)
(10% bleach)

Mikrobac forte is a surface disinfectant.

Composed of ammonium chlorides.

For Bacteria- yeast- mycobacterium tuberculosis- virus (incl. HBV, HIV, HCV) adenovirus and rotavirus

Surfaces: Metals, Stainless steel and Plastics.

Supplied as a concentrate.

Completely wet the washable surfaces (e.g. floors) to be disinfected with a sufficient amount of solution. Wipe surfaces with a cloth soaked in water (at least drinking water quality) after the exposure time (1 hour exposure time).

Anios gel for hygienic disinfection by hand rubbing.

Composed of 70% ethanol, gel and water.

For bacteria, yeast, tuberculosis, viruses; adenovirus, rotavirus, HIV-1, influenza virus H1N1. Hand gels are not effective against spore-formers such as *Clostridium difficile*.

Ready to use.

Apply and rub until completely dry, do not rinse.

Personal Protective Equipment (PPE)

Gloves

-Wear whenever handling human samples or infectious agents.

-Gloves protect non-intact skin and protect skin from chemicals.

-Inspect before use.

-Change frequently.

-Wash hands after damage or whenever removed.

-Don't reuse disposable gloves.

Types of Gloves:

Latex:

Inexpensive.

Not good with solvents.

Allergy concerns.

Nitrile:

Puncture resistant.

Better with solvents.

Nitrile gloves

Cut resistant gloves

Good for handling glassware or biowaste.

How to avoid glove allergies:

-Rinse hands thoroughly after washing with soap and water to ensure soap is removed.

-Use powder free gloves or hypoallergenic gloves.

-Never touch your eyes with gloves on.

-Use cheaper **pvc** gloves for cleaning lab, moving supplies, etc.

Mucous membrane protection:

Safety glasses with side shields.

-Routine use for human samples and chemical work

-Additional protection for contact lenses

Masks

-Can provide splash protection

-Can protect health care workers from patient

-Can protect patient from health care worker

Facial protection

-Used when splash, spray, droplets are anticipated

-Goggles with masks, chin-length face shields, visor/mask combination, Plexiglas shields

face shields

Plexiglas shields

Precautions in the use of autoclaves.

- Responsibility for operation and routine care should be assigned to trained individuals.
- A preventive maintenance program should include regular inspection of the chamber, door seals and all gauges and controls by qualified personnel.
- The steam should be saturated and free from chemicals that could contaminate the items being sterilized.
- All materials to be autoclaved should be in containers that allow ready removal of air and permit good heat penetration; the chamber should be loosely packed so that steam will reach the load evenly.
- A small quantity of liquid may need to be added to autoclave bags to increase steam penetration within the bag (e.g., bags of gowning materials).
- Autoclaving large quantities of liquids for decontamination purposes are not recommended, due to the danger of steam burns. Liquids can usually be more safely decontaminated by chemical disinfection.
- Operators should wear suitable gloves for protection when opening the autoclave, even when the temperature has fallen below 80 °C. Waterproof aprons are also recommended for protection against steam burns.
- Before initial use, autoclaves should be "profiled" via an engineering study to determine the appropriate run cycles, time, placement and number of bags for effective decontamination.
- Biological indicators should be placed at the centre of each load.
- Care should be taken to ensure that the relief valves of pressure cooker autoclaves do not become blocked in the load.

Flow Cytometry

Risks

- The risks of flow cytometry are three fold:
  - One risk is in the sample preparation of material that is being tested
    - Always prepare samples in the BSC and observe good biosafety practices
    - Require information on the nature of the material to be run to be able to assess the risks of using unfixed cells
  - The second risk is the potential for aerosol formation in the running of the machine
  - The third risk is the handling of biohazardous wastes
- It is best, whenever the experiment permits, to fix samples before analysis.
  - Fixing the cells will greatly reduce the risk of exposure to the material, but may not remove all potential risks.
  - Therefore, PPE should always be worn when cell sorting, whether cells are fixed or not.
- Most newer flow cytometers (cell sorters) are enclosed or designed to be run inside the biosafety cabinet.
- If the equipment is older and is not equipped with safety features such as negative pressure and aerosol collection, the operator should wear additional PPE (PAPR) and use it in a negative pressure room.
- Only experienced and well-trained operators should perform potentially biohazardous cell sorting.

Unfixed cells

- After running unfixed samples, the sample lines should be decontaminated by running a disinfectant, such as dilute bleach (2%), through the machine.
- The contents of the waste container should be decontaminated by the addition of disinfectant before disposal in compliance with your institution's guidelines (adding full strength bleach to the waste to make a final dilution of 10% bleach, allow to sit for 30 minutes before sewering).

Aerosol formation

- There is a risk of aerosols containing biological particles being created from the stream emerging from the flow cell of a cell sorter. An aerosol may be created whether the instrument is actually sorting or not. There is an increased probability of aerosol formation during sorting, particularly if something goes wrong, for example, dirt in the flow chamber orifice.
- Instrument failures such as clogged sort nozzle or air in the fluidic system can drastically increase aerosol formation.
- While samples are being analyzed or sorted, the door to the sorting chamber should be closed. Some instruments permit the application of a slight negative pressure to prevent droplets escaping into the laboratory. This should always be switched on.

Incubator

- Water baths and humidification pans in CO incubators can harbor bacteria, algae, and fungi that become aerosolized when the water bath lid or incubator doors are opened. These aerosols can contaminate cultures and the environment
- How often should you clean your incubator?

-Depends on usage, but at least once a month.

-Clean immediately after a spill or breakage.

- What should be used to clean the incubator?

-Wash all removable parts with soap and water.

-Autoclave trays and pans

-Clean all surfaces with 70% ethanol (strong disinfectants can damage cell culture).

-Pay attention to the gaskets, which can harbor mold/algae

-Wipe down exterior with a soft cloth, disinfect knobs and handles

- What kind of water should be used?

-Use distilled water, if possible.

-Not tap water, which will damage the surfaces if it has chlorine in it.

- Should I add disinfectant to the water?

-No chlorine or strong disinfectants, which can damage the surface and kill cell culture.

Try an algicide or a copper coin!

Cleaning the Microscope

- Dust should be cleaned off with a soft brush
- Clean smudges, fingerprints, oils, etc from the lens with clean lens paper or a soft clean cloth moistened with a small amount of absolute alcohol-ether mixture.
- Clean the microscope body and stand using a moist, soft cloth with a small amount of detergent.
- Use water only on plastic surfaces.

Unfixed specimens for microscopy:

-disinfect the stage, eyepieces, knobs and any other contaminated parts daily.

-Select a disinfectant that will be noncorrosive to the microscope and appropriate for potential infectious agents.

Slide preparations:

-avoid waving slides in the air or using electric fans at an open bench to air-dry slides.

Hemocytometer

-Use extreme caution when using glass hemocytometers and glass coverslips to avoid punctures from glass shards. Plastic hemocytometers are commercially available and offer repeatable and reliable measurements and analysis. Several hemocytometer designs eliminate the use of coverslips and allow for exact volume control.

Transport of specimens within the facility

Primary specimen containers:

Specimen containers may be of glass or preferably plastic

No material should remain on the outside of the container. Containers should be correctly labeled to facilitate identification.

Secondary containers:

such as boxes, should be used, fitted with racks so that the specimen containers remain upright. The secondary containers may be of metal or plastic. They should be regularly decontaminated by autoclave.

The specimens should be labeled with a biohazard symbol in case of spills or other incidents.

The person transporting the samples should be wearing gloves and disinfect the outside of the vial before placing in the rack, and then wipe down the outside of the transport box as well. Once the outside of the transport box is disinfected, it can be transported between rooms without wearing gloves, as PPE should not be worn outside the laboratory.

Opening packages

Primary specimen containers should be opened in a biological safety cabinet. Disinfectants should be available.

Use of pipettes and pipetting aids

- A pipetting aid must always be used. Pipetting by mouth must be prohibited.
- All pipettes should have cotton plugs to reduce contamination of pipetting devices.
- Air should never be blown through liquid containing infectious agents.
- Infectious materials should not be mixed by alternate suction and expulsion through a pipette.
- Liquids should not be forcibly expelled from pipettes.
- Contaminated pipettes should be completely submerged in a suitable disinfectant contained in an unbreakable container. They should be left in the disinfectant for the appropriate length of time before disposal.
- A discard container for pipettes should be placed within the biological safety cabinet, not outside it.
- Syringes fitted with hypodermic needles must not be used for pipetting.
- To avoid dispersion of infectious material dropped from a pipette, an absorbent material should be placed on the working surface; this should be disposed of as infectious waste after use.

Separation of serum

- Only properly trained staff should be employed for this work.
- Gloves and eye and mucous membrane protection should be worn.
- Splashes and aerosols can only be avoided or minimized by good laboratory technique. Blood and serum should be pipetted carefully, not poured. Pipetting by mouth must be forbidden.
- After use, pipettes should be completely submerged in suitable disinfectant. They should remain in the disinfectant for the appropriate time before disposal or washing and sterilization for reuse.

- Discarded specimen tubes containing blood clots, etc. (with caps replaced) should be placed in suitable leak-proof containers for autoclaving and/or incineration.
- Suitable disinfectants should be available for clean-up of splashes and spillages

Use of centrifuges

- Centrifuges should be operated according to the manufacturer's instructions.
- Centrifuges should be placed at such a level that workers can see into the bowl to place buckets correctly.
- Centrifuge tubes and specimen containers for use in the centrifuge should be made of thick-walled glass or preferably of plastic and should be inspected for defects before use.
- Tubes and specimen containers should always be securely capped for centrifugation.
- The buckets must be loaded, equilibrated, sealed and opened in a biological safety cabinet.
- Buckets should be paired by weight and, with tubes in place, correctly balanced.
- Distilled water or alcohol (propanol, 70%) should be used for balancing empty buckets. Saline or hypochlorite solutions should not be used as they corrode metals.
- Centrifuge rotors and buckets should be inspected daily for signs of corrosion and for hair-line cracks.
- Buckets, rotors and centrifuge bowls should be decontaminated after each use.
- After use, buckets should be stored in an inverted position to drain the balancing fluid.
- For use with infectious or potentially infectious materials, a small centrifuge unit (e.g. micro centrifuge) should first be tested with dry ice or a smoke stick to verify containment. Place the centrifuge in the back of the BSC and run with non-infectious materials for this test. Alternatively, a HEPA-filtered centrifuge enclosure could be used.
- If a leak is noted when opening a centrifuge, close it immediately to prevent aerosols from dispersing. Notify other occupants of the room that there has been a spill in the centrifuge (generally the room will be evacuated, based on the material involved). Wait at least 15-30 minutes before opening and removing contents to a BSC for disinfection. Depending on the materials involved, consider the use of additional PPE, such as an N-95 respirator, for clean-up. Follow centrifuge spill cleanup procedures to decontaminate the centrifuge.

Opening specimen tubes and sampling contents

- Specimen tubes should be opened in a biological safety cabinet.
- Gloves must be worn. Eye and mucous membrane protection is also recommended (goggles or face shields).
- Protective clothing should be supplemented with a plastic apron.
- The stopper should be grasped through a piece of paper or gauze to prevent splashing.

Avoiding the dispersal of infectious materials (Bacterial culture)

- In order to avoid the premature shedding of their loads, microbiological transfer loops should have a diameter of 2–3 mm and be completely closed. The shanks should be not more than 6 cm in length to minimize vibration.
- The risk of spatter of infectious material in an open Bunsen burner flame should be avoided by using an enclosed electric micro-incinerator to sterilize transfer loops. Disposable transfer loops, which do not need to be re-sterilized, are preferable.
- Care should be taken when drying sputum samples, to avoid creating aerosols.
- Discarded specimens and cultures for autoclaving and/or disposal should be placed in leakproof containers, e.g. laboratory discard bags. Tops should be secured (e.g. with autoclave tape) prior to disposal into waste containers.
- Working areas must be decontaminated with a suitable disinfectant at the end of each work period.

Hypodermic Needle Use

- Avoid using hypodermic needles if possible. Hypodermic needles should only be used for inoculation of people or animals, drawing blood from people or animals, or withdrawing liquid from a rubber stopper.

- If possible, eliminate the use of the hypodermic needle or substitute a safer device, such as a safe needle or safe syringe. Often, a blunt tip needle can be used for tasks such as syringe filtration.

- Do not recap or clip needles. If recapping is necessary, use a one-handed technique.

- You should not pipet with a syringe and hypodermic needle.

- Use a needle-locking type of syringe to prevent separation of needle and syringe, or use a disposable type where the needle is an integral part of the syringe unit.

- Use good laboratory techniques, e.g.: — fill the syringe carefully to minimize air bubbles and frothing of inoculum — avoid using syringes to mix infectious liquids; if used, ensure that the tip of the needle is held under the surface of the fluid in the vessel and avoid excessive force — wrap the needle and stopper in a cotton pledget moistened with an appropriate disinfectant before withdrawing the needle from a rubber-stoppered bottle — expel excess liquid and air bubbles from the syringe vertically into a cotton pledget moistened with an appropriate disinfectant or into a small bottle containing cotton.

- Use a biological safety cabinet for all operations with infectious material.

Autoclave after use and ensure proper disposal.

If a disposable needle and syringe unit is used, do not disassemble prior to autoclaving.

Safe Use of the Biosafety Cabinet

- Turn on the BSC, check the gauges to ensure proper function.
- decontaminate the BSC work surface, side walls and inner back walls
- decontaminate the items required for the experiment and load only these items into the BSC.
- Do not overload the BSC – add only the items needed.
- Allow the work zone air to be removed for a few minutes before work.
- Adjust chair height so that you are looking down onto the work surface through the glass (which serves as a splash barrier).

Operation of the BSC:

- Do not obstruct the front or back air grilles
- Work as far inside the cabinet as possible
- Minimize arm movement; make slow movements to avoid disrupting cabinet airflow
- When withdrawing arms from the BSC, decontaminate or remove gloves, pull arms straight out of the cabinet
- Minimize external airflow disturbances.
- Work from "clean to dirty".
- Biohazard collection bags and discard container with disinfectant should be placed inside the cabinet instead of outside.
- Use absorbent pads on the work surface where appropriate to minimize aerosol generation.
- Close waste containers; decontaminate all items before removing them from the BSC
- Decontaminate the BSC walls and work surface when finished
- Place aerosol-generating instruments (centrifuge, blender, vortex mixer) in the rear of the BSC but do not block the rear ventilation.
- Clean materials should be at least 150 mm away from aerosol generating objects to minimize the chance for cross contamination.

Spills of potentially biohazardous material

-Report all potentially biohazardous spills to the lab supervisor as soon as possible.

-Any person who has an overt exposure to potentially biohazardous material must report to the medical provider.

General Cleanup Procedure

- Move away from the area to avoid breathing any aerosols that may have been generated by the spill.
- Avoid contaminating surrounding areas by decontaminating or removing contaminated shoes or clothing.
- Wash or rinse the affected area immediately and seek medical attention.
- Change gloves/lab coat if contaminated: don gloves, safety glasses and a lab coat if not already wearing them.
- Carefully soak up the bulk of the liquid with absorbent material (paper towels, absorbent granular material or silica gel). Since most disinfectants are less effective in the presence of organic materials, e.g., blood serum, etc., the bulk of the spill should be absorbed prior to disinfection.
- Dispose of all contaminated materials in a biowaste bag.
- Clean the spill of all visible material using an aqueous detergent (Note: the purpose of the detergent is to remove the proteinaceous material that can inactivate a disinfectant.)
- To disinfect, wipe the spill site using an approved disinfectant, such as 0.1%sodium hypochlorite.
- Clean and disinfect any furniture or equipment that may have been contaminated in the spill

Spills involving sharps or concentrated infectious materials.

-See **General cleanup procedure**.

-Allow the disinfectant at least 15 minutes of contact time on the spill.

-Use tongs, forceps cardboard "pushers" or some other mechanical means to remove sharps and place in a biohazard sharps container.

DO NOT USE HANDS

-Carefully soak up the bulk of the liquid with absorbent material (paper towels, absorbent granular material or silica gel). Care should be taken when soaking up the liquid, since glass shards may still be present. Since most disinfectants are less effective in the presence of organic materials, e.g., broth, etc., the bulk of the spill should be

absorbed prior to disinfection.

-Clean and disinfect any furniture or equipment that may have been contaminated in the spill.

Spills occurring inside a biological safety cabinet.

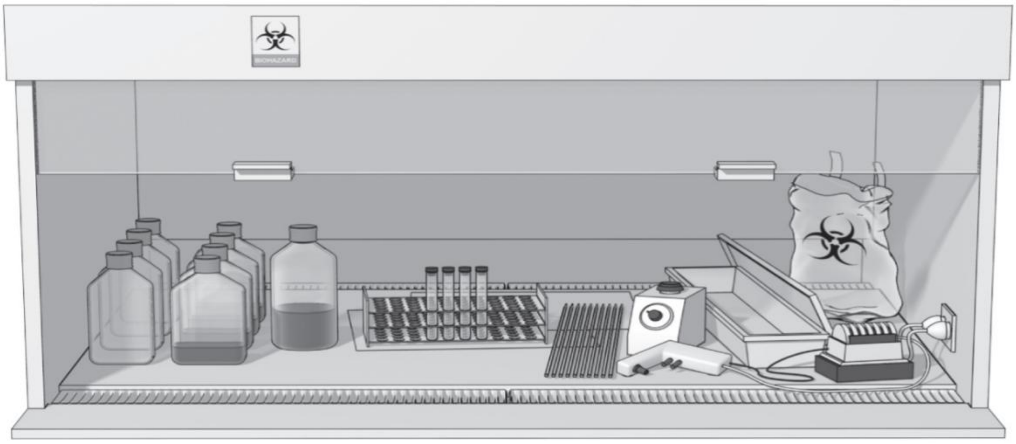
- After the spill occurs, close up all materials, remove outer pair of gloves, and slowly remove hands from the biological safety cabinet (BSC).
- Leave the BSC on. Do not remove anything from the unit.
- Change gloves/lab coat if contaminated: don gloves, safety glasses and a lab coat if not already wearing them.
- Carefully soak up the bulk of the liquid with absorbent material (paper towels, absorbent granular material or silica gel). Since most disinfectants are less effective in the presence of organic materials, e.g., broth, media with FCS, etc., the bulk of the spill should be absorbed prior to disinfection.
- Dispose of all contaminated materials in a biowaste bag.
- Clean the spill of all visible material using an aqueous detergent
- To disinfect, wipe the spill site using an approved disinfectant, such as 0.1% sodium hypochlorite. (For a complete list of approved disinfectants, see the Disinfection Procedure).
- Disinfect all materials and equipment inside the BSC, before removing them from the unit. Disinfect all interior surfaces of the BSC.
- The working surface of the BSC should be removed and the plenum underneath should be wiped down with a disinfectant, as well as the underside of the work surface, before re-assembling.

Tissue Culture

- Any cell line that is known to be infected with an agent should be handled at the biosafety level of the agent.
- It is recommended that all human cell lines, even those that have been tested, be handled at BSL-2.
- Never mouth pipet tissue culture
- Work from “clean” to “dirty” to avoid contaminating clean materials
- Do not lay pipets or caps down on the work surface
- Hold the lid over the plate or petri dish to reduce the direct impaction of downward air.

-Remember, you should have your required items in the BSC when you start work and have a pan of disinfectant for discarding used pipets and tubes inside the BSC

Figure 11. A typical layout for working "clean to dirty" within a Class II BSC. Clean cultures (left) can be inoculated (center); contaminated pipettes can be discarded in the shallow pan and other contaminated materials can be placed in the biohazard bag (right). This arrangement is reversed for left-handed persons.



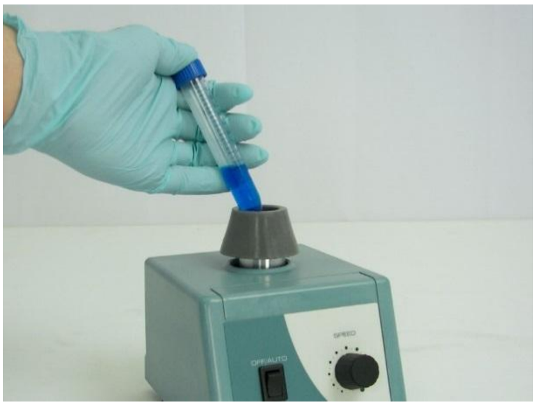
Safe Use of the Vortex Mixer with Biological Materials

Cautions:

- Vortex mixers generate aerosols – if you are vortexing potentially biohazardous materials or human samples, the vortex mixer should be used inside the BSC.
- Do not use glass tubes on the vortex mixer – if they shatter or drop and break they present an exposure risk to the user.
- Never operate the unit without the shaking head securely attached.
- Always wear shatterproof eye protection.
- Tie up long hair and avoid loose-fitting clothing which could get caught in the mechanism.
- Do not use or mix solvents and flammables on or near the mixer.
- Follow manufacturer's instructions for cleaning and repair

Operation of the Vortex Mixer:

- Place the unit securely on the surface, making sure all feet are securely attached.
- Do not operate near the edge of the bench where vibrations could cause the mixer to move to the edge and fall.
- Ensure containers are properly sealed.
- Place finger on top of tube to ensure lid does not dislodge.
- After shaking, delay opening container to allow aerosols to settle or open container in a biosafety cabinet or fume hood (as appropriate).
- Personal protective equipment required: lab coat, safety glasses, and gloves.
- Make sure that the liquid does not come into contact with the power cable or the electrical parts inside the unit.



-Plastic tube only

-Wear gloves!

-Finger on top of tube

غسل اليدين:

حقائق عن غسل اليدين

- يعتبر غسل اليدين الروتيني خطوة هامة جداً للتقليل من الإصابة بالعدوى في المختبر.
- يجب غسل اليدين:
  - بعد نزع القفازات أو العمل مع عينات بشرية / خطرة بيولوجياً
  - عند مغادرة المختبر.
  - قبل تناول الطعام.
  - بعد ملامسة مريض.
  - قبل استخدام الحمام.
  - بعد استخدام الحمام.

طريقة غسل الأيدي الصحيحة:

- **بلّل** يديك بماء نظيف وجاري (حار أو بارد)، ثم أغلق صنبور المياه (الحنفية) واستخدم الصابون.
- **قم بعمل رغوة** على يديك بفركهما ببعضهما البعض بالصابون. تأكد أن الرغوة تصل إلى ظهر اليدين، وبين الأصابع وتحت الأظافر.
- **افرك** يديك ببعضهما البعض لمدة لا تقل عن 20 ثانية.
- **اشطف** يديك جيداً تحت الماء النظيف والجاري.
- **جفّف** يديك بواسطة منشفة نظيفة أو مجفف هواء.
- **أغلق** صنبور الماء بالمرفق "الكوع" أو المعصم أو باستخدام منشفة ورقية.

التطهيـــــــــــر:

- المادة المعقمة – مبيد كيميائي للجراثيم مركب لاستخدامه على الجلد أو الأنسجة (مثال: كحول 70%)
- المادة المنظفة – أساسها الصابون وهي مادة تنظيف تحتوي على خصائص عامل ترطيب وعامل استحلاب ويمكن استخدامها لإزالة المواد العضوية قبل عملية التطهير.
- التطهير – وهي عملية تقضي على جميع أشكال الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض تقريباً (فيروسات أو بكتيريا أو فطريات جرثومية وليس بالضرورة الابواغ) والموجودة على الأسطح الجامدة غير المتحركة (مثال ذلك – مسح منضدة العمل بمبيض مخفف).
- مبيد العصيّات السليّة – مادة مطهرة يمكنها أن تقضي على العصيات السلية ضمن ظروف استعمال محددة (مثال ذلك: مبيض 2% – صوديوم هيبوكلوريت 0.1%)

لن تعمل المادة المطهرة بفعالية إذا كان لديك انسكاب يحتوي على مادة عضوية (دم أو مصل أو بلازما أو مصل جنين)**.**

1. أولا قم بالعمل على امتصاص المادة بمنشفة منقوعة بالمادة المطهرة.
2. ثم قم بتنظيف البقعة بمحلول صابوني لإزالة المواد العضوية.
3. ثم قم بتطهير البقعة مرة أخرى بمادة مطهرة مثل مبيض 2-10% (0.1 % مادة صوديوم هيبوكلورايت – 0.5% صوديوم هايبوكلورايت).

المحاليل المبيّضة

يجب عمل **محاليل المبيّض** يومياً حيث أنها تتحلل مع مرور الوقت وربما لا تكون فعالة كما هي عند الإعداد.

في حال استخدام محاليل المبيّض لتعقيم خزانة السلامة البيولوجية أو أي من المعدات المصنوعة من الاستينلس ستيل، يجب مسحها لاحقاً بالكحول 70% (الايزوبروبانول IPA) أو مياه مقطرة لأنها لا تتآكل من المبيض.

بالنسبة لشروط التنظيف:

= 1 غم/ليتر = 1000 جزء بالمليون = 0.1% صوديوم هيبوكلورايت

الاستعمال: أسطح المنضدة وخزائن السلامة البيولوجية.

تخفيف المبيض: 20 مل ليتر في 980 مل ليتر من الماء (2% نسبة مبيض)

بالنسبة للحالات المتسخة "الملوثة":

= 5 غم/ليتر = 5000 جزء بالمليون = 0.5 % من صوديوم هيبوكلورايت.

الاستعمال: الانسكابات، تعقيم المخلفات السائلة.

تخفيف المبيض: 100 مل ليتر في 900 مل ليتر ماء (أو مخلفات) (10% نسبة المبيض)

مايكروباك مقوى وهو مادة مطهرة للأسطح

تتكون من كلوريد الامونيوم.

للبكتيريا – الخمائر – المتفطرة السلبية – فيروسات (بما في ذلك (HBV)، (HIV)، (HCV) الفيروسات الغُدّانية وفيروس الروتا.

الأسطح: المعادن والاستينلس ستيل والبلاستيك

يتم توريده بشكل مركّز.

بلّل بالكامل الأسطح القابلة للغسيل (مثل الارضية) المراد تعقيمها بكمية كافية من المحلول. امسح الأسطح بقطعة قماش منقوعة بالماء (على الأقل ماء صالح للشرب) بعد وقت التعرض (مدة تعرّض تصل لساعة واحدة).

جل أنيوس وهو مادة صحيّة معقمة عن طريق الفرك باليد

- المكونات 70% ايثانول و جل (هلام) ومياه.
- يستعمل للبكتيريا والخمائر والعصيات السليّة والفيروسات الغُدّانية وفيروس الروتا، وHIV-1، وفيروس الانفلونزا H1N1.
- مطهر الجل لليد غير فعّال ضد مكونات الأبواغ مثل المطثية العسيرة.
- جاهـــــز للاستخدام.
- ما عليك سوى وضع الجل، وفرك اليدين حتى تجف تماماً دون شطفها بالماء.

معدات الوقاية الشخصية:

القفـــــــــــــــازات:

- قم بارتداء القفازات كلما تعاملت مع عينات بشرية أو عوامل معدية.
- تحمي القفازات الجلد غير السليم، وتقي الجلد من المواد الكيميائية.
- قم بمعاينتها قبل الاستخدام.
- قم بتغيير القفازات بشكل متكرر.
- قم بغسل اليدين بعد تلف القفازات أو التخلّص منها.
- لا تقم بإعادة استعمال القفازات المخصصة للاستخدام لمرة واحدة فقط.

أنواع القفـــــــــــــــــــــــازات:

قفـــــــازات اللاتكس:

رخيصة الثمن.

ليست جيدة مع المذيبات.

مخاوف من الحساسية.

قفازات النتريل:

مقاومة للخرق/ الثقب.

تعمل بشكل أفضل مع المذيبات

Nitrile gloves

قفـــــــــــــــــازات مقاومة للقطع:

جيدة للتعامل مع الأواني الزجاجية أو النفايات البيولوجية.

كيف نتجنب حساسية القفازات:

- قم بشطف اليدين بشكل كامل بعد غسلها بالصابون والماء لضمان زوال الصابون.
- استخدم قفازات خالية من المسحوق "البودرة" أو القفازات غير المسببة للحساسية.
- لا تلمس عينيك أثناء ارتداء القفازات.
- استعمل قفازات (بولي كلوريد الفينيل) الأرخص لتنظيف المختبر ونقل اللوازم ....الخ.

حماية الأغشية المخاطيـــــــــــــــة:

1- - نظارات السلامة مع واقيات جانبيـــــة

- الاستعمال الروتيني للعينات البشرية والعمل مع المواد الكيميائية.
- حماية إضافية للعدسات اللاصقة.

2 - الأقنعة:

- يمكن أن توفر الحماية من الرذاذ.
- يمكن حماية موظفي الرعاية الطبية من المرضى.
- يمكن حماية المرضى من موظفي الرعاية الطبية.

3 - حماية الوجه:

- تستخدم عند توقع تكوّن رذاذ أو بخاخ أو قطرات.

- نظارات واقية مع أقنعة، واقيات وجه طويلة تصل للذقن، مزيج من القناع / القناع الواقي، واقيات البليكسيجلاس.

واقيات البليكسيجلاس

واقيات للوجه

احتياطات استخدام جهاز التعقيم بالبخار:

- يجب اسناد مسؤولية التشغيل والعناية الروتينية إلى الأفراد المدربين.
- يجب أن يتضمن برنامج الصيانة الوقائية من قبل موظفين مؤهلين : التفتيش المنتظم للحجرة، أقفال الباب، جميع المقاييس وأدوات الضبط والتحكم.
- يجب ان يكون البخار مشبعاً وخالياً من المواد الكيميائية التي ربما تلوث المواد الجاري تعقيمها.
- يجب ان تكون جميع المواد المراد تعقيمها في حاويات تسمح بخروج الهواء واختراق الحرارة بشكل جيد؛ ويجب ان تكون الحجرة مملوءة بشكل طليق بحيث يمكن للبخار أن يصل الى المواد بالتساوي.
- قد نحتاج إلى إضافة كمية صغيرة من السائل إلى أكياس التعقيم لزيادة اختراق البخار داخل الكيس (مثل: أكياس الألبسة).
- لا يوصى بتعقيم كميات كبيرة من السوائل لغايات التطهير، بسبب خطر حروق البخار. يمكن تعقيم السوائل عادة بطريقة أكثر أماناً بواسطة التطهير الكيميائي.
- على المشغلين ارتداء القفازات المناسبة للحماية عند فتح جهاز التعقيم حتى إذا كانت درجة الحرارة أقل من 80 درجة مئوية. يوصى بارتداء مئزر "مريول" مقاوم للماء للحماية من حروق البخار.
- قبل الاستخدام المبدئي، يجب أن تكون أجهزة التعقيم "مفحوصة ومعاينة" عن طريق قسم الهندسة لتحديد دورات التشغيل المناسبة، والوقت وتعيين المكان وعدد الأكياس للتعقيم الفعال.
- يجب وضع المؤشرات البيولوجية في وسط كل حمل من المواد.

- يجب الحرص على ضمان أن تكون صمامات تنفيس الضغط لأجهزة التعقيم بالبخار غير مسدودة أثناء عملية التعقيم.

قياس التدفق الخلوي(flowcytometry):

المخاطـــــــر:

- هناك ثلاث مخاطر لقيس التدفق الخلوي:
  - يكمن أحد المخاطر في تجهيز عينة المادة المراد فحصها.
- قم دائماً بتجهيز العينات في خزانة السلامة البيولوجية ومراقبة ممارسات السلامة البيولوجية الجيدة.
- طلب معلومات عن طبيعة المادة المراد تشغيلها للتمكن من تقييم مخاطر استخدام الخلايا غير المثبتة.
  - المخاطرة الثانية هي احتمالية تكوّن الرذاذ أثناء تشغيل الجهاز.
  - المخاطرة الثالثة هي التعامل مع نفايات المواد البيولوجية الخطرة.
- من الأفضل، حيثما تسمح التجربة بذلك، تثبيت العينات قبل التحليل.
- تثبيت الخلايا سوف يقلل كثيراً من مخاطر التعرض للمواد لكن لا يلغي كلياً جميع المخاطر المحتملة.
- يجب ارتداء معدات الوقاية الشخصية دائماً عند فرز الخلايا؛ سواءً كانت ثابتة أم لا.
- معظم أجهزة قياس التدفق الخلوي (فارزات الخلية) الجديدة مغلقة ومصممة للتشغيل داخل خزانة السلامة البيولوجية.
- اذا كانت المعدات قديمة وغير مجهزة بميزات السلامة، مثل الضغط السلبي وجمع الرذاذ، فإنه يتوجب على المشغل ارتداء معدات وقاية شخصية إضافية واستخدامها في غرفة ذات ضغط سلبي.
- يجب أن يقوم المشغلون ذوو الخبرة والمدربون تدريباً جيداً فقط بفرز الخلايا البيولوجية محتملة الخطورة.

الخلايا غير الثابتـــــة:

- بعد تشغيل العينات غير الثابتة، فإنه يجب تعقيم خطوط العينة بواسطة مادة مطهرة، مثل مادة مبيضة مخففة (2%) من خلال الآلة.
- يجب تعقيم محتويات حاوية النفايات بإضافة مادة مطهرة قبل التخلص منها حسب التوجيهات المتبعة في مؤسستك (إضافة مادة مبيضة قوية بالكامل إلى النفايات لجعل التخفيف النهائي 10% والسماح ببقائها لمدة 30 دقيقة قبل إلقائها في الصرف الصحي).

تكوّن الرذاذ:

- هناك خطر من الرذاذ الذي يحتوي على جسيمات بيولوجية والذي يتولد من التيار المنبثق من تدفق الخلايا في فارزة الخلايا. يمكن أن يتولد الرذاذ سواءً أكانت الأداة تقوم بعمل الفرز أم لا. هناك احتمال متزايد لتشكّل الرذاذ خلال عملية الفرز، خاصة اذا حدث أي خلل، مثل: وجود الأوساخ في فتحة حجرة التدفق.
- تعطل الجهاز مثل انسداد فوهة الفرز أو وجود هواء في نظام السوائل يمكن أن يزيد بشكل كبير من تشكل الرذاذ.
- يجب أن يكون باب حجرة الفرز مغلقاً أثناء عملية تحليل أو فرز العينات. تسمح بعض الأجهزة بتطبيق ضغط سلبي خفيف لمنع تسرب قطرات الى المختبر. يجب أن يكون هذا دائماً في حالة التشغيل.

الحاضنـــــــــــة:

- يمكن لأحواض المياه والترطيب في حاضنات أول أكسيد الكربون إيواء البكتيريا والطحالب والفطريات التي تصبح رذاذاً متطايراً عند فتح غطاء حوض الماء أو أبواب الحاضنة. يمكن لهذا الرذاذ تلويث الزراعات والبيئة.

1- كم مرة ينبغي عليكم تنظيف الحاضنة؟
   - يعتمد ذلك على الاستعمال ولكن على الأقل مرة في الشهر.
   - قم بتنظيف الحاضنة فوراً بعد كل انسكاب أو كسر.

2- ما الذي يجب استخدامه لتنظيف الحاضنة؟
   - غسل جميع الأجزاء المتحركة بالماء والصابون.
   - تعقيم الأطباق والأوعية بواسطة جهاز التعقيم بالبخار.
   - تنظيف جميع الأسطح بمادة الايثانول 70% (يمكن أن تسبب المواد المطهرة القوية الضرر لزراعة الخلية).
   - العناية بالحشوات التي يمكن أن تخفي العفن/الطحالب.
   - مسح الأجزاء الخارجية بقطعة قماش ناعمة، وتعقيم المقابض.

3- ما نوعية الماء الذي يجب استخدامه؟

- استخدم مياه مقطرة اذا أمكن.
- ليست مياه الحنفية التي يمكن أن تسبب اضراراً للأسطح اذا كانت تحتوي على مادة الكلور.

4- هل يجب إضافة مادة مطهرة إلى المياه بعد عملية التنظيف؟

- يجب عدم إضافة الكلور أو مادة مطهرة قوية حيث يمكن أن تسبب أضراراً للسطح وتقتل زراعة الخلية. جرِّب مبيداً للطحالب أو قطعة نقود نحاسية!

تنظيف المجهــــــــر:

- يجب تنظيف الغبار بفرشاة ناعمة.
- تنظيف العدسات من الأوساخ وبصمات الأصابع والزيوت وغيرها باستخدام ورق عدسات نظيف أو قطعة قماش ناعمة مبللة بكمية قليلة من محلول من الكحول – الإيثر.
- قم بتنظيف جسم المجهر والقاعدة باستخدام قطعة قماش ناعمة ومبللة بكمية صغيرة من مادة منظفة.
- استخدم الماء فقط على الأسطح البلاستيكية.

العينات غير المجهزة للمجهــــــر:

- قم بتطهير رف المجهر والعدسات والمقابض وغيرها من الأجزاء الملوثة يومياً.
- حدد المادة المطهرة غير المسببة لتآكل المجهر، والمناسبة للعوامل المعدية المحتملة.

تجهيز الشريحة:

- تجنب التلويح بالشرائح في الهواء أو استخدام المراوح الكهربائية على منضدة مفتوحة لتجفيف الشرائح بالهواء.

عـــداد الكريـــــات:

- توخى الحذر الشديد عند استخدام عداد الكريات الزجاجي والأغطية الزجاجية لتجنب الثقوب من الشظايا الزجاجية. تتوفر عدادات الكريات البلاستيكية التجارية وتقدم قياسات وتحاليل موثوقة وقابلة للتكرار. تلغي العديد من تصاميم عدادات الكريات استعمال الأغطية وتسمح بالتحكم بحجم الصوت المحدد.

نقل العينات داخل المنشأة:

حاويات العينات الرئيسية:

يجوز أن تكون حاويات العينات مصنوعة من الزجاج، ويفضّل أن تكون من البلاستيك. يجب ألا تبقى أية مواد خارج الحاوية. يجب وضع علامات على الحاويات بشكل صحيح لتسهيل عملية التعريف.

يجب أن تلائم الحاويات الثانوية المستخدمة مثل الصناديق الرفوف بحيث تبقى حاويات العينات بشكل مستقيم. يجوز أن تكون الحاويات الثانوية من المعدن أو البلاستيك. يجب تطهيرها بشكل منتظم بواسطة جهاز التعقيم بالبخار.

يجب وضع علامات على العينات باستخدام رمز الخطر البيولوجي في حالة حدوث الانسكاب أو حوادث أخرى.

على الشخص الذي يقوم بنقل العينات ارتداء القفازات وتعقيم القارورة من الخارج قبل وضعها على الرف، ومسح السطح الخارجي لصندوق النقل أيضاً. بعد تعقيم السطح الخارجي لصندوق النقل، يمكن نقل العينات بين الغرف دون ارتداء القفازات حيث أنه يجب عدم ارتداء معدات الوقاية الشخصية خارج المختبر.

فتـــــح الصناديق:

يجب فتح حاويات العينات الرئيسية داخل خزانة السلامة البيولوجية. يجب أن تكون المواد المطهرة متوفرة.

استخدام الماصّات والأدوات المساعدة للماصّات:

- يجب دائماً استخدام الأدوات المساعدة للماصة. يمنع المصّ عن طريق الفم.
- يجب أن تحتوي جميع الأدوات الماصة على سدادات من القطن لتقليل تلوث أجهزة المص.
- يجب عدم نفخ الهواء قطعياً من خلال السائل الذي يحتوي على عوامل معدية.
- لا يجب خلط المواد المعدية بواسطة طرق الشفط والطرد البديلة من خلال الماصة.
- يجب عدم طرد السوائل خارج الأدوات الماصة بالقوة.
- يجب غمر الماصّات الملوثة بالكامل بمادة مطهرة مناسبة موضوعة في وعاء غير قابل للكسر. ويجب تركها في المادة المطهرة لمدة زمنية مناسبة قبل التخلص منها.
- يجب وضع حاوية للتخلص من الماصات داخل خزانة السلامة البيولوجية وليس خارجها.

- عدم استعمال الحقن المزودة بإبر للحقن تحت الجلد لعملية المصّ.
- لتجنب انتشار المواد المعدية التي تقع من الماصة، يجب وضع مادة ممتصة على سطح العمل، ويجب التخلص من هذه النفايات المعدية بعد الاستعمال.

فصـــل المصــــــــل:

- يجب أن يقوم بتنفيذ العمل الموظفون المدربون تدريباً مناسباً لتأدية هذا العمل فقط.
- يجب ارتداء القفازات وواقيات العين والأغشية المخاطية.
- يمكن تجنب الرذاذ والبقع أو التقليل منها فقط بواسطة التقنيات المخبرية الجيدة. يجب مصّ الدم والمصل بعناية وألا يتم سكبه. يمنع منعاً باتاً المص عن طريق الفم.
- يجب غمر الماصات بالكامل بمادة مطهرة مناسبة بعد الاستعمال. وينبغي تركها في المادة المطهرة لوقت مناسب قبل التخلّص منها أو غسلها وتعقيمها من أجل إعادة استخدامها.
- يجب وضع أنابيب العينات التي سيتم التخلص منها والتي تحتوي على خثرات "تجلطات" دموية ...الخ (مع استبدال الأغطية) في حاويات مناسبة مانعة للتسرب لتعقيمها بواسطة جهاز التعقيم بالبخار و/أو الحرق.
- يجب توفر المواد المطهرة المناسبة للتنظيف والانسكابات.

استعمال أجهزة الطرد المركزي:

- يجب تشغيل أجهزة الطرد المركزي وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة.
- يجب وضع أجهزة الطرد المركزي على مستوى يمكن للعاملين رؤية داخل الوعاء لوضع الدلاء بشكل صحيح.
- ينبغي أن تكون أنابيب الطرد المركزي وحاويات العينات المستخدمة في أجهزة الطرد المركزي مصنوعة من زجاج ذي جدران سميكة أو يفضل أن تكون من البلاستيك، كما يجب معاينتها للتحقق من العيوب قبل الاستخدام.
- يجب أن تكون أنابيب وحاويات العينات دائماً مغطاة بإحكام لاستعمالها في الطرد المركزي.
- يجب وضع الأوعية ومعايرتها وإغلاقها بإحكام وفتحها في خزانة السلامة البيولوجية.
- يجب جمع الأوعية حسب الوزن – بحيث تكون الأنابيب في مكانها – وموازنتها بشكل صحيح.
- يجب استخدام الماء المقطر أو الكحول (بروبانول 70%) لموازنة الدلاء الفارغة. يجب عدم استخدام المحاليل المالحة أو المحتوية على الهيبكلورايت حيث أنها تسبب تآكل المعادن.
- يجب فحص الأجزاء الدوارة من جهاز الطرد المركزي يومياً للتحقق من عدم وجود علامات للتآكل وتشققات رفيعة كالشعرة.
- يجب تطهير الدلاء والأجزاء الدوارة وأوعية أجهزة الطرد المركزي بعد كل استعمال.
- يجب حفظ الدلاء بعد الاستعمال في وضع مقلوب لتصريف السائل الموازن.

- للاستخدام مع المواد المعدية أو محتملة العدوى، يجب فحص وحدة الطرد المركزي الصغيرة (مثلاً: أجهزة طرد مركزي مصغرة) أولاً باستخدام الثلج الجاف أو عصا الدخان للتحقق من الاحتواء. ضع جهاز الطرد المركزي في الجانب الخلفي من خزانة السلامة البيولوجية وقم بالتشغيل مع مواد غير معدية لهذا الفحص. وبدلاً من ذلك، يمكنك استخدام ملحق أو هيكل جهاز طرد مركزي مرشح باستخدام فلتر *HEPA*.
- اذا لوحظ وجود تسرب عند فتح جهاز الطرد المركزي، قم بإغلاقه فوراً لمنع انتشار الرذاذ. قم بإبلاغ الأشخاص الآخرين في الغرفة بأن هناك انسكاب في جهاز الطرد المركزي (عموماً يتم إخلاء الغرفة حسب نوع المادة المستخدمة). انتظر على الأقل 15 – 30 دقيقة قبل فتح ونقل المحتويات إلى خزانة الأمان البيولوجي للتطهير. واعتماداً على المواد المستخدمة، يتم اختيار معدات الوقاية الشخصية الاضافية؛ مثل جهاز التنفس الاصطناعي *N95* للتنظيف.
- عليك اتباع إجراءات تنظيف الانسكاب لتعقيم جهاز الطرد المركزي.

فتح أنابيب العينـــــات ومحتويات أخذ العينـــــات:

- يجب فتح أنابيب العينات في خزانة السلامة البيولوجية.
- يجب ارتداء القفازات. كذلك يوصى بارتداء واقيات العين والأغشية المخاطية (نظارات واقية أو واقيات للوجه)
- يجب استكمال الملابس الواقية بارتداء مئزر "مريلة" من البلاستيك.
- يجب الإمساك بالسدادة بواسطة قطعة من الورق أو الشاش لمنع الرذاذ.

تجنب انتشار المواد المعديـــــة (الزراعة البكتيرية):

- يجب أن يكون قطر حلقات النقل الميكروبيولوجية من 2–3 ملم وأن تكون مغلقة تماماً لتجنب الانسكاب المحتمل للمواد قبل الأوان. ويجب ان لا يتجاوز طول الساق 6 سم لتقليل الاهتزاز.
- ويمكن تجنب تناثر المواد المعدية في لهب موقد بنسن المفتوح باستخدام محرقة– مصغّرة كهربائية لتطهير حلقات النقل. يفضل استخدام حلقات النقل القابلة للتخلص والتي لا تحتاج إلى إعادة تعقيم.
- يجب توخي الحذر عند تجفيف عينات البلغم للحيلولة دون تولد الرذاذ.
- يجب وضع العينات والزرعات التي سيتم التخلص منها أو تطهيرها بواسطة جهاز التعقيم بالبخار في حاويات مقاومة للتسرب؛ على سبيل المثال، أكياس النفايات المخبرية. يجب تأمين السدادات (مثلاً استخدام شريط جهاز التعقيم) قبل التخلص منها في حاويات النفايات.
- يجب تطهير منطقة العمل بواسطة مادة مطهرة مناسبة عند نهاية كل فترة عمل.

استخدام الإبـــــر تحـت الجلـــــد:

- تجنب استخدام الإبر تحت الجلد قدر الإمكان. يجب استخدام الإبر تحت الجلد فقط في حالة تلقيح الحيوانات أو البشر وعمليات سحب الدم من الناس والحيوانات أو سحب السائل من سدادة مطاطية.
- إلغاء استخدام الإبر تحت الجلد اذا كان ذلك ممكناً أو استبدالها بجهاز أكثر أماناً، مثل إبر آمنة أو حقنة آمنة. يمكن استخدام إبرة ذات طرف حاد غالباً في مهمات مثل تنقية الحقن الطبية.
- لا تقم بإعادة تغطية أو قص الإبر. اذا كانت إعادة التغطية ضرورية، قم باستخدام تقنية اليد الواحدة.
- يجب عدم استخدام الحقن الطبية أو الإبر تحت الجلد كأداة ماصة.
- استخدم حقنة (سرنجة) طبية من نوع تكون فيه الإبرة ثابتة لمنع انفصال الإبرة والحقنة، أو قم باستخدام النوع الذي يستعمل لمرة واحدة حيث تكون الإبرة جزءاً لا يتجزأ من وحدة الحقنة.
- استخدم تقنيات مخبرية جيدة؛ على سبيل المثال – املأ الحقنة بعناية للحد من فقاعات الهواء وزبد اللقاح – تجنب استعمال الحقن الطبية لخلط سوائل معدية، وفي حالة استخدامها عليك التأكد وضمان أن يكون رأس الإبرة الحاد تحت سطح السائل في الوعاء وتجنب استخدام القوة المفرطة – قم بلف الإبرة والسدادة بقطعة من القطن مشبعة بمادة مطهرة مناسبة قبل سحب الإبرة من غطاء القارورة المطاطي – قم بالتخلص من السائل الزائد وفقاعات الهواء من الحقنة بشكل عمودي بقطعة قطن مشبعة بمادة مطهرة مناسبة أو ادخال الإبرة في قارورة صغيرة تحتوي على القطن.
- استخدم خزانة السلامة البيولوجية في جميع العمليات التي تنطوي على مواد معدية.

قم بعملية التعقيم بواسطة جهاز التعقيم بالبخار بعد الاستعمال وتأكد من التخلص من المواد بطريقة سليمة. اذا تم استخدام وحدة إبرة وحقنة قابلة للتخلّص، فلا تقم بفكّها قبل التعقيم بالبخار.

الاستخدام الآمن لخزانة السلامة البيولوجية:

- قم بتشغيل خزانة السلامة البيولوجية والتحقق من المقاييس لضمان العمل بشكل سليم.
- قم بتطهير سطح العمل في خزانة السلامة البيولوجية والجدران الجانبية والداخلية الخلفية.
- قم بتطهير المواد المطلوبة للتجربة وتعبئتها فقط داخل خزانة السلامة البيولوجية.
- لا تقم بتعبئة خزانة السلامة البيولوجية فوق طاقتها – أضف المواد اللازمة فقط.
- السماح بإزاحة الهواء من منطقة العمل لعدة دقائق قبل العمل.
- قم بتعديل ارتفاع الكرسي بحيث تنظر للأسفل إلى سطح العمل من خلال الزجاج (الذي يعمل كحاجز من الرذاذ).

تشغيل خزانة السلامة البيولوجية:

- عدم إعاقة شبكات الهواء الأمامية أو الخلفية.
- العمل في أقصى عمق ممكن داخل خزانة السلامة البيولوجية.
- التقليل من حركات الذراعين؛ القيام بحركات بطيئة للحيلولة دون إعاقة تدفق الهواء في الخزانة.

- عند إبعاد الذراعين عن خزانة السلامة البيولوجية، قم بتطهير أو إزالة القفازات واسحب الذراعين بشكل مستقيم من الخزانة.
- التقليل من اضطرابات تدفق الهواء الخارجي.
- العمل من "النظيف إلى الملوّث".
- يجب وضع أكياس جمع النفايات البيولوجية وحاويات التخلص منها مع المادة المطهرة داخل الخزانة وليس خارجها.
- استخدام بطانة "وسادة" ماصة على سطح العمل كلما اقتضى الأمر للحد من توليد الرذاذ.
- قم بإغلاق حاويات النفايات وتعقيم جميع المواد قبل إخراجها من خزانة السلامة البيولوجية.
- قم بتعقيم جدران خزانة السلامة البيولوجية وسطح العمل عند الانتهاء.
- قم بوضع أدوات توليد الرذاذ (أجهزة الطرد المركزي، الخلاط، الخلاطة الدوامية) في الجانب الخلفي من خزانة السلامة البيولوجية ولكن لا تغلق التهوية الخلفية.
- يجب أن تكون مواد التنظيف بعيدة مسافة لا تقل عن 150 ملم عن الأجسام المولدة للرذاذ للتقليل من فرصة انتقال العدوى.

انسكابات المواد الممكن احتواؤها على مخاطر بيولوجية:

- إبلاغ مشرف المختبر عن جميع حالات الانسكاب التي تحتمل مخاطر بيولوجية ممكنة بأسرع وقت ممكن.
- يجب على أي شخص تعرض بشكل ظاهر لمادة بيولوجية محتملة الخطورة أن يبلغ مزوّد الرعاية الطبية.

إجراء التنظيف العام:

- الابتعاد عن المنطقة لتجنب استنشاق أي رذاذ ناشئ عن الانسكاب.
- الحيلولة دون تلوث المناطق المحيطة عن طريق احتواء التلوّث أو التخلّص من الأحذية أو الملابس الملوثة.
- غسل أو شطف المنطقة المتأثرة فوراً وطلب الرعاية الطبية.
- تغيير القفازات/ معطف المختبر في حال تلوثهم: ارتداء القفازات والنظارات الواقية ومعطف المختبر اذا لم تكن ترتديهم مسبقاً.

- قم وبعناية بنقع الجزء الأكبر من السائل بمادة ماصة (مناشف ورقية أو مواد حبيبات ماصة أو جل/ هلام السيليكا). وبما أن معظم المواد المطهرة تكون أقل فعالية في حال وجود المواد العضوية مثل، مصل الدم وما إلى ذلك، فإن الجزء الأكبر من المواد المنسكبة يجب امتصاصه قبل عملية التعقيم.
- التخلص من جميع المواد الملوثة ووضعها في كيس نفايات المواد البيولوجية.
- قم بتنظيف جميع المواد المرئية باستخدام منظفات مائية (ملاحظة: الغرض من مواد التنظيف هو إزالة المادة البروتينية التي يمكن أن تثبط علمية التعقيم).
- للقيام بعملية التعقيم، قم بمسح موضع الانسكاب باستخدام مادة مطهرة معتمدة؛ مثل هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 0.1 %.
- قم بتنظيف وتطهير أي أثاث أو معدات يمكن أن تكون قد تلوثت بسبب الانسكاب.

الانسكابات التي تشتمل على مواد حادة أو مواد معدية مركزة:

- راجع **إجراءات التنظيف العامة**.
- ابقاء المادة المطهرة على الانسكاب لمدة خمس عشرة دقيقة على الأقل.
- استخدم الملاقط أو الملاقط المصنوعة من الورق المقوى أو أي وسيلة ميكانيكية أخرى لإزالة الأدوات الحادة وضعها في حاوية الأدوات الحادة البيولوجية الخطرة.

لا تستخدم اليدين.

- قم بنقع السائل السائب بالمادة الماصة بعناية (مناشف ورقية أو حبيبات ماصة أو هلام السيليكا). يجب اتخاذ الحيطة والحذر عند نقع السوائل حيث يمكن أن يكون هناك بقايا شظايا زجاجية. وبما أن معظم المواد المطهرة تقل فعاليتها في حال وجود مواد عضوية، مثل الحساء "المرق" ...الخ فإنه يجب امتصاص السائل المنسكب قبل عملية التطهير.
- قم بتنظيف وتطهير أي أثاث أو معدات يمكن أن تكون قد تلوثت بسبب الانسكاب.

الانسكابات التي تحدث داخل خزانة السلامة البيولوجية:

- بعد حدوث الانسكاب قم بإغلاق جميع المواد وإزالة القفازين الخارجيين وإخراج اليدين ببطء من خزانة السلامة البيولوجية.
- اترك خزانة السلامة البيولوجية في حالة التشغيل. لا تقم بإخراج أي شيء من الوحدة.
- قم بتغيير القفازات/ معطف المختبر في حال تلوثهما: ارتدي القفازات ونظارات السلامة ومعطف المختبر اذا لم تكن ترتديهم مسبقاً.
- قم بنقع السائل السائب بعناية بالمادة الممتصة (مناشف ورقية أو حبيبات ماصة أو هلام سيليكا). وبما أن معظم المواد المطهرة تقل فعاليتها في وجود مواد عضوية، فإنه يجب أن يتم امتصاص الانسكاب قبل عملية التعقيم.
- تخلص من جميع المواد الملوثة بوضعها في كيس نفايات بيولوجية.
- قم بتنظيف الانسكاب من جميع المواد المرئية باستخدام مادة منظفة مائية.
- وللتطهير قم بمسح موضع الانسكاب بمادة مطهرة معتمدة، مثل هيبوكلوريت الصوديوم 0.1%. (انظر إجراءات التطهير للحصول على قائمة كاملة بالمواد المطهرة المعتمدة).
- قم بتعقيم جميع المواد والمعدات داخل خزانة السلامة البيولوجية قبل إزالتها من الوحدة. قم بتعقيم جميع الأسطح الداخلية لخزانة السلامة البيولوجية.
- يجب إزالة سطح العمل في خزانة السلامة البيولوجية وجهاز التهوية السفلي ومسحهما بمادة مطهرة وكذلك الواجهة الداخلية لسطح العمل قبل إعادة تركيبها (تجميعها).

زراعة الأنسجة:

* يجب التعامل مع أي خط خلية معروف على أنه معدي بسبب عامل بيولوجي معيّن حسب مستوى السلامة البيولوجية لذلك العامل البيولوجي.

– من الموصى به أنه يجب التعامل مع جميع خطوط الخلايا البشرية، حتى تلك التي تم فحصها، على مستوى السلامة البيولوجية.

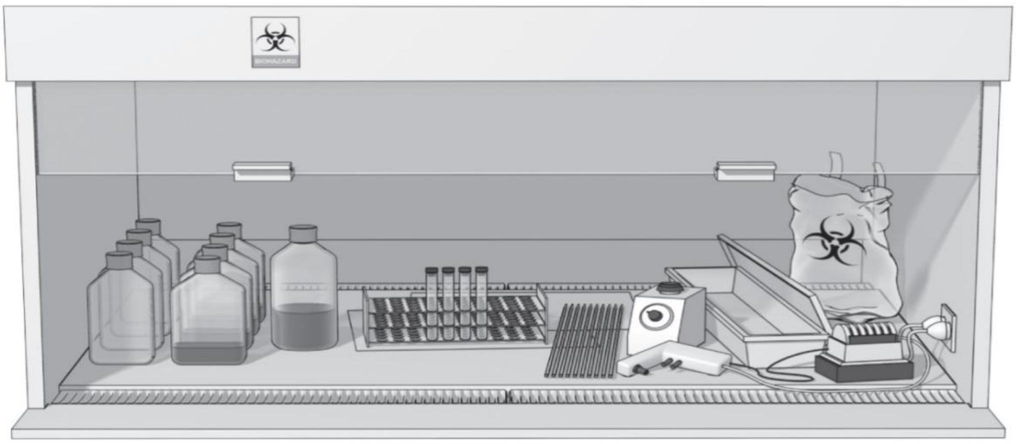
- لا تقم باستخدام الماصّة في الزراعة النسيجية عن طريق الفم.
- ابدأ العمل من "النظيف" إلى "الملوث "المتسخ" لتجنب تلوث المواد النظيفة.
- لا تضع الماصات أو الأغطية على سطح العمل.

- أمسك الغطاء فوق الطبق أو طبق بتري للتقليل من الانسداد المباشر للهواء النازل إلى الأسفل.

تذكر أنه يجب أن يتوفر لديك المواد المطلوبة في خزانة السلامة البيولوجية عند بدء العمل وأن يكون لديك وعاء للتعقيم للتخلص من الماصات والأنابيب المستخدمة داخل خزانة السلامة البيولوجية

.

Figure 11. A typical layout for working “clean to dirty” within a Class II BSC. Clean cultures (left) can be inoculated (center); contaminated pipettes can be discarded in the shallow pan and other contaminated materials can be placed in the biohazard bag (right). This arrangement is reversed for left-handed persons.



الاستعمال الآمن للخلاطة الدوامية Vortex Mixer مع المواد البيولوجية

تنبيهات:

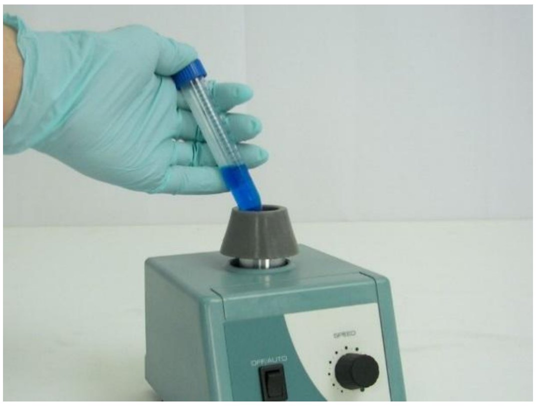
- تولّد الخلاطة الدوامية الرذاذ – اذا كنت تقوم بعمل خلط دوامي لمواد بيولوجية محتملة الخطورة أو عينات بشرية، يجب استعمال الخلاطة الدوامية داخل خزانة السلامة البيولوجية.
- لا تقم باستعمال الانابيب الزجاجية في الخلاطة الدوامية – لأنه في حالة تحطمها أو سقوطها وكسرها فإنها تشكّل مخاطر لتعرّض المستخدم.
- لا تقم مطلقاً بتشغيل الجهاز دون تركيب الرأس الهزاز بشكل آمن ومحكم.
- دائماً قم بارتداء واقي العين المقاوم للكسر.
- قم بربط الشعر الطويل وتجنب الملابس الفضفاضة التي يمكن أن تعلق في الجهاز أثناء العمل.
- لا تستخدم أو تخلط المذيبات والمواد القابلة للاشتعال في الخلاطة أو بالقرب منها.

اتبع تعليمات الجهة المصنعة في علميات التنظيف والتصليح.

تشغيل الخلاطة الدوامية:

- قم بوضع الوحدة بشكل ثابت على السطح وتأكد من أن جميع الأرجل مركبة بإحكام.
- لا تقم بتشغيل الوحدة بالقرب من حافة المنضدة، حيث يمكن للاهتزاز أن يتسبب في تحريك الخلاطة وسقوطها.
- تأكد من أن العبوات مغلقة بشكل صحيح.
- ضع أحد الأصابع فوق الأنبوب لضمان عدم إزاحة وتحرّك الغطاء.
- بعد انتهاء عملية الاهتزاز، قم بتأخير فتح العبوات للسماح للرذاذ بالركود أو قم بفتح العبوات داخل خزانة السلامة البيولوجية أو جهاز شفط الدخان (حسب الحاجة).
- معدات الوقاية الشخصية المطلوبة: معطف المختبر ونظارات الحماية وقفازات.
- تأكد من عدم وصول السائل إلى سلك التيار الكهربائي أو الأجزاء الكهربائية داخل الوحدة.

- انبوب بلاستيكي فقط
- ارتداء القفازات
- أصبع في أعلى الأنبوب



References:

1. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th Edition, 2009: http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5

2. *Pathogen Safety Data Sheets and Risk Assessment, Government of Canada:* https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment.html

3. *Laboratory Biosafety Manual,* 3rd Edition, 2004: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf?ua=1

4. *Information on Biosafety Cabinets, the Baker Company:* https://www.bakerco.com/products?tid_1=9&tid_2=All&tid=All&tid_3=All

5. *Clean Hands Count for Healthcare Providers, U.S.* Center for Disease Control*:* https://www.cdc.gov/handhygiene/providers/index.html

6. *Best Practices for CO_2 Incubator Maintenance,* American Laboratory, July 22, 2016: http://www.americanlaboratory.com/914-Application-Notes/189342-Best-Practices-for-CO2-Incubator-Maintenance/

7. *Safety & Maintenance,* Microscope.com: https://www.microscope.com/education-center/microscopes-101/safety-and-maintenance/