



Universitat de Lleida
Serveis Científicotècnics
Laboratori de Cultius
Cel·lulars

DIRECTRIUS DE FUNCIONAMENT
DELS LABORATORIS DE CULTIUS
CEL·LULARS

SERVICIO CIENTIFICOTÉCNICO CULTIVOS CELULARES

DIRECTRICES DE FUNCIONAMIENTO DE LA SALA 3.16 PARA LA MANIPULACIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS DERIVADAS DE PACIENTES

DOCUMENTO: DC-005
FECHA: 17/10/2022
REVISIÓN: 1



1. INTRODUCCIÓ

La sala 3.16 del SCT-CC se encuentra en la tercera planta del edificio de Biomedicina. Está equipada con presión negativa, lo que garantiza unas medidas de biocontención superiores a las de otras salas gestionadas por el SCT-CC.

En relación al material manipulado en estas instalaciones, establecemos que se restrinja a muestras biológicas de potencial infeccioso desconocido o infectadas con agentes infecciosos que requieran nivel de biocontención 2. Así mismo, las instalaciones servirán para la producción y amplificación de cualquier agente infeccioso de nivel 2 de biocontención (incluyendo virus de laboratorio utilizados rutinariamente en investigación).

El SCT-CC asume la gestión de la sala 3.16 bajo cargo del Comité de Bioseguridad del IRBLLeida. Este comité se hace responsable de revisar y evaluar los protocolos y manipuladores que accediran a la sala y de comunicar al SCT-CC la decisión, así como el protocolo y tipo de muestra de los manipuladores autorizados.

OBJECTIVO:

Dar a conocer la estructura y características del laboratorio 3.16 del SCT-CC, las normas básicas de trabajo y de uso de los aparatos, así como las personas responsables a quien dirigirse en caso de averías, contaminaciones, accidentes o sugerimientos.

2. ÀMBITO DE APLICACIÓN:

Estas directrices serán de aplicación a la sala 3.16 de Cultivos celulares de la UdL-IRBLLeida y a sus usuarios/manipuladores y sus responsables/Investigadores principales.

3. PERSONAL AUTORIZADO

A la sala 3.16 solo entrará personal autorizado que haya estado aprobado por el comité de seguridad del IRB Lleida.

Solo se permitirá el acceso a investigadores con un mínimo de 180h de experiencia de trabajo a un laboratorio de ámbito biomédico o similar.

En ningún caso se podrán realizar trabajos dirigidos a cultivar, amplificar o purificar agentes biológicos de grupo de riesgo superiores al nivel 2 de bioseguridad (*).

(*) En caso de duda, consultar a:

<https://www.boe.es/doue/2019/279/L00054-00079.pdf>

<https://my.absa.org/tiki-index.php?page=Riskgroups>

https://www.hsa.ie/eng/topics/biological_agents/biological_agents_introduction/classification_of_biological_agents/final_statement_covid_19.pdf%EF%BB%BF



Proceso de autorización:

El comité de Bioseguridad autorizará los procedimientos y los manipuladores usuarios de la sala. A fin de conocer sus protocolos y autorizar o no su tarea, se deberá rellenar y enviar al comité un correo-e (comitebioseguretat@irbllleida.cat) con la plantilla de solicitud de trabajo con agentes biológicos de riesgo 2. Una vez autorizado el protocolo y el investigador, se deberán enviar al SCT-CC las siguientes fichas:

- (i) ficha de grupo rellena por el investigador principal (IP)/responsable del manipulador
- (ii) ficha de usuario/manipulador.

A la Ficha de grupo el responsable o IP comunica el tipo de muestras que serán manipuladas, su procedencia y las técnicas/protocolos que serán realizados.

El comité de Bioseguridad comunicará al IP y al SCT-CC la autorización para el tipo de muestras y técnicas propuestas.

Ficha Usuario/manipulador proporcionada por el SCT-CC donde se establecerá la información relativa al usuario i su relación con un IP/responsable determinado.

El primer día que los nuevos usuarios entren en la sala, los técnicos del servicio les harán una explicación de las directrices del servicio y normativa de la sala, así mismo los nuevos usuarios deberán acreditar haber entendido y aceptar el reglamento del servicio a través de un pequeño test. El servicio se reserva el derecho de admisión en las instalaciones en caso de no cumplir con la normativa establecida en este. Se les otorgará un **certificado de autorización** y se firmará una **declaración de responsabilidad**.

4. NORMAS DEL LABORATORIO

1. En el laboratorio está prohibido comer, beber, fumar, mascar chicle, maquillarse, manipular lentes de contacto y almacenar alimentos o bebidas. Así como el uso o manipulación de objetos personales como el móvil o auriculares.
2. Es obligatorio vestir pantalones largos y zapatos cerrados.
3. El laboratorio se mantendrá ordenado, limpio y libre de materiales no relacionados con el trabajo.
4. La cabina se tiene que reservar usando la web siguiente con una antelación máxima de 24h i mínima de 15 minutos:
https://www.supersaas.es/schedule/SCT_CC/Sala_3_16_SCT_CC_Autoritzats
5. **EPIS de trabajo:** Para entrar en la sala 3.16 se utilizará una bata de algodón exclusiva para la sala, doble guante (uno de los cuales de nitrilo cumpliendo la norma *EN ISO 374-5:2016 Marcado de guantes que protejan frente a virus, bacterias y hongos*) mascarilla FFP2, patucos, gorra, bata impermeable, gafas o visera protectora que se pondrán en la pre-sala antes de entrar.
6. Las superficies de trabajo se desinfectarán al inicio y al final de cada uso con Propano-AF (barreja Isopropanol i Etanol)
7. Evitar la introducción de libretas, calculadoras, cajas de cartón o papel dentro de la campana, pueden ser fuente de contaminación.



8. RETIRADA DE EPIs:

- a) Una vez se finaliza de trabajar y una vez se han retirado los guantes de manipulación, el usuario se lavará las manos enguantadas con agua y jabón, a continuación se trasladará a la zona limpia marcada en el suelo quitándose, en este orden: los patucos, la gorra, les gafas, la bata impermeable y els guants. Las gafas o pantalla facial se lavará con alcohol, agua y jabón o lejía diluida y se introducirá en una bolsa de plástico cerrable y nominal. Antes de salir de la sala, el usuario se vestirá con un par de guantes y justo en la antesala se quitará la mascarilla FFP2 cogiéndola por las cintas o gomas, evitando en todo momento tocar la parte exterior y la introducirá a otra bolsa cerrable para finalmente lanzarla a un contenedor de riesgo biológico presente en la antesala. Si la mascarilla lleva una R marcada también se puede esterilizar introduciéndola en un horno a 70°C durante 30'. Finalmente se descartará el segundo par de guantes y se lavaran o desinfectaran cuidadosamente las manos y las muñecas.
 - b) Una vez en la antesala, el usuario se cambiará la bata de algodón específica de la sala 3.16 por su bata de uso a la resta del edificio. Esta bata se lavará semanalmente.
9. No se puede tocar con los guantes que manipulamos las muestras la resta del laboratorio ni su equipamiento.
10. **Residuos sólidos:** Se introducen dentro las bolsas de un solo uso del interior de la campana. En el caso de tubos se deben cerrar previamente de forma hermética. Una vez finalizado el trabajo, la bolsa se cerrará y descartará en el contenedor de residuos biológicos. Si el material es demasiado grande se inactivará con lejía al 20% si hay poca carga de materia orgánica, o PeraSafe®, durante 10 minutos tanto interiormente como exteriormente, y se descartará el material sólido al contenedor de residuos biológicos.
11. **Residuos Líquidos:** En el caso de los botes de aspiración de residuos líquidos, primero se neutralizarán con lejía. Si el bote se llena hasta arriba, se vaciará el bote en la garrafa de residuos citotóxicos líquidos (al lado de la pica). En finalizar la tasca dentro de la campana, se debe lavar el tubo de aspiración con lejía para neutralizar posibles contaminantes o el cultivo en medio y con Propano-AF para eliminar el desinfectante restante del tubo. El vacío se debe cerrar para evitar el uso constante de la bomba.
12. Los residuos que contengan fármacos o sustancias citotóxicas se descartan en el contenedor azul (uno por sala).
13. Si los contenedores de residuos están a su máxima capacidad los usuarios con guantes limpios los pueden cerrar adecuadamente y cogerne uno de vacío disponible dentro de la sala.
14. Es obligatorio el uso de puntas con filtro.
15. Es recomendable evitar cualquier material punzante. En caso contrario, se rechazarán en el contenedor amarillo de dentro de la campana.
16. Los protocolos de trabajo deberán minimizar o evitar la formación de aerosoles, en caso inevitable se utilizarán metodologías que eviten su dispersión



17. Se utilizaran tubos con tapón de rosca evitando los de presión, especialmente para el vórtex o la centrífuga.
18. Es obligatorio utilizar las tapas anti aerosoles durante las centrifugaciones.
19. Está prohibido derramar líquidos en el baño termostático de la sala 3.16. Si accidentalmente pasara, avisar a los técnicos del servicio. Se deberá comprobar el riesgo biológico del derrame, si se debe inactivar el producto y lavar el baño.
20. Es responsabilidad del último usuario de la sala cerrar el baño al final de su uso.
21. Es obligatorio reportar al supervisor de la sala todos los derrames, accidentes y exposiciones abiertas o potenciales a materiales infecciosos.
22. Es obligatorio mantener un registro escrito de todas estas situaciones a través del registro de incidencias presente dentro del laboratorio.
23. Las BioIIA **NO** son cabinas extractoras de humos ni tienen filtros de carbono activo por lo que el uso de productos tóxicos volátiles está desaconsejado. Su uso en caso de absoluta necesidad y teniendo en cuenta el riesgo biológico que puedan tener las muestras, se valorará con el comité de Bioseguridad. El uso de estas sustancias en cabina no extractora de humos irá bajo la responsabilidad del IP así como cualquier reparación de esta debida al uso de estos productos.



5. EQUIPAMENT DE LA SALA:

Contenido:

7.1 Cabinas de Bioseguridad IIA	6
7.2 Centrífuga.	10
7.3 Incubadores de CO ₂	11
7.4 Microscopio invertido de fluorescencia.....	12
7.5 Baño termostático con pellets	12

7.1 Equipamento de la sala y instrucciones de uso: Cabinas de Bioseguridad IIA

La Cabina de bioseguridad classe II protege el producto, el manipulador y el medio ambiente. En las de tipo A el 30% del aire es eliminado en cada ciclo y el 70% recircula. En el interior de la cabina se produce una depresión con presión negativa evitando la dispersión de patógenos al resto de la sala. Es la más adecuada para el trabajo con agentes de riesgo 2.

El virus SARS-CoV-2 es un patógeno de grupo de riesgo 3, por lo tanto no se podrá cultivar ni aislar. Pero el riesgo asociado a la manipulación de la muestra se considera de nivel 2, haciendo plausible su trabajo con NCB-2.

* Las campanas de flujo laminar no se consideran campanas de bioseguridad. Las campanas de bioseguridad de tipo I son aquellas que protegen al manipulador, pero no la esterilidad del producto (campanas químicas o de humos)

		CLASE I	CLASE II TIPO A	CLASE II TIPO B	CLASE III
AGENTES BIOLÓGICOS	GRUPO RIESGO 1	(1)	(1)	(1)	(1)
	GRUPO RIESGO 2	(1)	(1)	(1)	(1)
	GRUPO RIESGO 3	(3)	(2)	(2)	(1)
	GRUPO RIESGO 4	(3)	(3)	(3)	(1)
PRODUCTOS DE ALTA TOXICIDAD CANCERIGENOS SENSIBILIZANTES OTROS		(2) (*)	(1) (*)	(1) (*)	(1) (*)

(1) Totalmente indicada (2) Puede utilizarse (3) Uso no recomendado



Cuadro 1. Clasificación de los microorganismos infecciosos por grupos de riesgo

Grupo de riesgo 1 (*riesgo individual y poblacional escaso o nulo*)

Microorganismos que tienen pocas probabilidades de provocar enfermedades en el ser humano o los animales.

Grupo de riesgo 2 (*riesgo individual moderado, riesgo poblacional bajo*)

Agentes patógenos que pueden provocar enfermedades humanas o animales pero que tienen pocas probabilidades de entrañar un riesgo grave para el personal de laboratorio, la población, el ganado o el medio ambiente. La exposición en el laboratorio puede provocar una infección grave, pero existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces y el riesgo de propagación es limitado.

Grupo de riesgo 3 (*riesgo individual elevado, riesgo poblacional bajo*)

Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades humanas o animales graves, pero que de ordinario no se propagan de un individuo a otro. Existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.

Grupo de riesgo 4 (*riesgo individual y poblacional elevado*)

Agentes patógenos que suelen provocar enfermedades graves en el ser humano o los animales y que se transmiten fácilmente de un individuo a otro, directa o indirectamente. Normalmente no existen medidas preventivas y terapéuticas eficaces.

Ref: NTP 233: Cabines de seguretat biològica

ANTES DE EMPEZAR VISUALIZAD ESTOS VIDEOS:

Colocación y retirada de EPIs en una sala de Contención Biológica:

<https://www.youtube.com/watch?v=W07nqrUF3IU>

Funcionamiento de una BioIIA para proteger el usuario:

<https://www.youtube.com/watch?v=96-aZLom340>

Como trabajar de forma segura en una BioIIA:

<https://www.youtube.com/watch?v=1nDjLcsYbAQ>

Técnica de barrido: <https://www.youtube.com/watch?v=hgERAfHP6nk>

Video demostrativo de como quitarse los guantes.

<https://www.youtube.com/watch?v=pM8SEp5cLo8>



Muestras y protocolos de trabajo que requieren ser manipuladas en la sala 3.16:

1. Manipulación de muestras biológicas de potencial infeccioso desconocido y sus derivados.
2. Manipulación de muestras biológicas infectadas por agentes que requieren un nivel de biocontención II (según la clasificación de riesgo biológico del agente infeccioso o el protocolo que se realizará con este).
3. Empaquetamiento y amplificación de partículas virales clasificadas en nivel II de biocontención (incluyendo las dedicadas a la sobreexpresión de oncogenes, la inhibición de genes supresores de tumores y otros).
4. Infección de cultivos celulares con partículas virales creadas por la sobreexpresión de oncogenes o la inhibición de genes supresores (las líneas creadas tienen que mantenerse durante un mínimo de 1 pase en la sala 3.16)
5. Establecimiento de líneas celulares a partir de muestras biológicas de potencial infeccioso desconocido.

PNT de trabajo en la BioIIA:

OPERACIONES PREVIAS
<ol style="list-style-type: none">1. PREPARACIÓN DE MATERIAL2. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES DESINFECTANTES3. PREPARACIÓN DE ZONA DE DESCONTAMINACIÓN DE MATERIAL CON DESINFECTANTE4. COLOCACIÓN DE LOS EPIS
<ol style="list-style-type: none">a) Antes de hacer ningún procedimiento, se lavaran las superficies de la campana con la solución alcohólica presente en la sala del 70% min. con alcohol utilizando la técnica de barrido.b) Se encenderá el flujo y se introducirá todo el material en la campana. Hasta que el flujo no ha recirculado y tiene el caudal adecuado no es seguro trabajar a dentro la campana.c) Para trabajar en la BioIIA se utilizará doble guante. Los guantes en contacto con la piel serán de nitrilo. Se recomiendan los de categoría III cumpliendo la UNE EN ISO374-5:2016 (substituta de la EN374:2003 especificación virus o 374-5) y la ISO16604:2004. Si se necesita salir de la campana para realizar otra tarea, se deberán cambiar los guantes externos antes de tocar cualquier otra superficie. Una vez utilizados se sacaran de forma aséptica el primer par de guantes. (Se trabajará a unos 10cm al interior de la campana, evitando tapar las rejillas de extracción del aire para permitir la buena seguridad del usuario.d) Dentro de la campana tiene que haber el material mínimo imprescindible previamente pensado, para evitar tener que entrar y salir de esta mientras se trabaja.e) Mientras no se trabaje, el interior de la campana tiene que estar vacío. En la Bio-II-A únicamente se mantiene dentro un contenedor amarillo para residuos punzantes.



ACCIONES A REALIZAR - PROTOCOLO dentro la BIOIIA

- f) Repartid el espacio de la campana en zona limpia, zona de trabajo y zona sucia.
- g) El material no se debe acumular en un punto, sino que se repartirá para conseguir una buena distribución del flujo y evitar turbulencias.
- h) Trabajad poco a poco, concentrados, evitando los movimientos bruscos que podrían favorecer la producción de aerosoles.

RESIDUOS

- i) Rechazad el material pequeño contaminado (puntas, tubos...) en la bolsa de un solo uso de cierre hermético y los residuos punzantes en el contenedor de residuos amarillo situado dentro de la campana. Intentando neutralizarlo siempre que sea posible. Los tubos que tengan tapa se rechazaran cerrados con su tapa. Una vez finalizado el trabajo, cerrad la bolsa de plástico herméticamente y rechazadla al contenedor de residuos biológicos.
- j) Al terminar, coged las pipetas largas, reintroducidlas en sus embalajes originales y rechazadlas en el contenedor de residuos biológicos

DESCONTAMINACIÓN Y LIMPIEZA DE LA CAMPANA I ÁREA DE TRABAJO

- k) Todos los materiales, muestras y cultivos contaminados o activos deberán ser descontaminados antes de eliminarlos. En el caso de líquidos que se tienen que eliminar, (si no se pueden cerrar en una bolsa de cierre hermético) se neutralizaran primero con lejía, se pondran en un bote con tapa i se eliminará la placa/el bote en el contenedor de residuos sólidos. En cas de volúmenes con necesidad de aspiración se deben neutralitzar con un producto que su rendimiento no se vea afectado por la cantidad de materia orgánica (Lejía, Virkon...) pidiendo permiso a los responsables de la sala.
- l) Cuando terminéis de trabajar, retirad los reactivos de la campana descontaminándolos exteriormente con Etanol al 70% o lejía, descontaminad el material de trabajo i residuos dejándolo dentro de la campana rociado con Etanol al 70%. En finalizar, se rechazaran los residuos en su contenedor i se retirará el material de trabajo.
- m) Cualquier material que se haya de entrar i/o sacar de la campana (ex. Buckets de la centrifuga, se tiene que lavar exteriormente con un paper impregnado con solución etanolizada antes de introducirlo en la campana i antes de sacarlo.

DERRAMES

- n) En caso de derrame de líquido con material biológico dentro de las cabinas, seguir el protocolo que encontraréis dentro del Kit de derrames presente en la sala:
 1. Cubrir el líquido con papel absorbente o vermiculita e inmediatamente neutralizar con lejía concentrado durante 10-15 minutos
 2. Tirar el material adosrbente en los contenedores de residuos biológicos
 3. Desinfectar las superficies con solución Etanolizada o jabón y agua.



En terminar de trabajar, se debe recoger todo el material utilizado y dejar las campanas vacías, limpias y desinfectadas después de su uso

7.2 Equipamiento de la sala e instrucciones de uso: Centrífuga.

En el laboratorio de cultivos se necesita una centrífuga para la precipitación de las células en suspensión, obtención de tipos celulares por gradientes, concentración de buffers, separación de fases, etc.

Centrífuga Eppendorf 5810R rotor A-6-42 con buckets para tubos de 15 y 50ml con tapa antiaerosols

Instrucciones de uso:

- Sacad los adaptadores de tubos de las cestas (buckets) de la centrífuga, limpiadlas con un papel impregnado con etanol o lejía diluida i abridlas en la campana de seguridad BioIIA.
- Inserid los tubos cerrados herméticamente a los adaptadores. Esta centrífuga admite tubos de 15ml y de 50ml sin faldón.
- Cerrad las cestas con la tapa antiaerosol y con sus correspondientes tubos para hacer balanza, limpiadlos exteriormente con etanol y volvedlos a insertar en la centrífuga.
- Utilizad el programa adecuado
- Una vez terminada la centrifugación y abierta la centrífuga, se debe llevar la cesta cerrada a la campana BioIIA. Se debe abrir dentro de la cabina, retirar los tubos y volver a llevar la cesta a la centrífuga comprobando previamente que no se haya producido ningún derrame en su interior.
- Si se produce un derrame en el rotor de la centrífuga, el usuario debe esperar para abrir la centrífuga i así, evitar que se dispersen los aerosoles. Seguid el protocolo presente dentro del kit antiderrames presente a la sala. Se debe eliminar el material roto con doble guante, desinfectándolo con lejía, dejándolo dentro de la campana de BioIIA y que actúe 10-15 minutos. Todo el material se debe neutralizar y la centrífuga, el rotor, la cesta y los adaptadores de tubos limpiar y desinfectar antes de volverlos a utilizar



7.3 Equipament de la sala e instruccions de uso: Incubadors de CO₂

El incubador de CO₂ es una càmera que manté els cultius en unes condicions atmosfèriques constants i òptimes per al seu creixement:

- Temperatura de 37°C (temperatura fisiològica de les cèl·lules).
- Concentració de CO₂ (5%) (La majoria del CO₂ present a la sang se troba en forma de bicarbonat (HCO₃⁻). Aquest actua com a tampó de pH permetent fluctuacions de gasos, nutrients i metabòlits sense causar variacions perilloses en el pH sanguini).
- Humedat elevada (per evitar l'evaporació de l'aigua del medi de cultiu).

Per mantenir aquestes constants al interior de l'incubador hi ha una safata amb aigua destilada i es produeix una recirculació d'aire forçat afavorida pels forats de les estanteries

Instruccions de uso:

1. Només es podrà cultivar cultius primaris humans que a priori no siguin positius per a cap agent biològic de grup de risc ≥ 2 .
2. Les plaques es dipositaran a l'incubador amb safates, per facilitar el dipòsit de plaques a les estanteries i per evitar vessaments a l'incubador. Les safates són propietat de cada grup i obligatòries.
3. Es ha de tenir la precaució de no obrir massa ràpidament la porta de l'incubador per no desestabilitzar les condicions atmosfèriques del interior. Tanca la porta amb cura.
4. La manipulació de les plaques es ha de fer amb cura per evitar vessaments cogint de forma que no s'obri la tapa i no perdi horitzontalitat.
5. Les safates on es deixen les plaques s'han de lavar habitualment per part de l'usuari per evitar creixement de fongs o bacteris. En cas de vessament, s'ha de absorbir amb paper impregnat amb lejia i, finalment, desinfectar-lo amb solució alcohòlica, seguint les instruccions del protocol ubicat a l'interior del Kit de vessaments present a la sala.
6. Quan el vessament es trobi dins de l'incubador, s'aplicarà el mateix procediment que al punt 4, i la comunicació de l'incidència al responsable del laboratori és absolutament obligatòria.
7. Si un dels cultius es contamina, s'eliminarà immediatament de l'incubador i neutralitzat amb lejia diluïda. Es ha d'annotar en el registre de contaminació present a la sala.
8. Els incubadors es calibren automàticament diàriament. Mentre l'incubador es calibra NO es pot obrir la porta ja que ho desestabilitzariem. Esperarem a que l'incubador torni a l'estat de repòs per evitar realitzar una calibració errònia falsejant la configuració de les constants.



7.4 Equipamiento de la sala y instrucciones de uso: Microscopios invertidos de fluorescencia

Estos equipos son microscopios que cuentan con una luz que emite a distintas longitudes de onda permitiendo visualizar imágenes que tienen fluorescencia o que están marcadas con fluorocromos.

Tienen una cámara acoplada y conectada a un ordenador para la captación de imágenes para documentar el estado de los cultivos.

Instrucciones de uso:

- La fluorescencia del microscopio del laboratorio 3.16 funciona con una bombilla de mercurio. Para alargar su vida útil, una vez encendida no se puede cerrar hasta pasados 15 minutos; y una vez apagada, se debe esperar 10 minutos antes de volver a encenderla. Para gestionar el mantenimiento de la lámpara de fluorescencia, los usuarios deben registrar el número de horas que la bombilla ha trabajado al formulario de registro presente en la Sala.
- Las cámaras asociadas se pueden utilizar para hacer fotos de los experimentos realizados a la sala de cultivo. Cualquier usuario con células vivas tendrá prioridad ante cualquier usuario de células fijadas.
- Se deben seguir instrucciones específicas para cada programario. Preguntad al responsable del laboratorio en caso de duda.

7.5 Equipamiento de la sala y instrucciones de uso: Baño termostático con pellets

Los baños termostáticos se componen de una cubeta donde normalmente se deposita los pellets o el agua.

Los baños termostáticos se utilizan para calentar medios de cultivo o tampones, procesar reacciones químicas o descongelar muestras congeladas. Están programados para calentar las muestras a 37°C.

En el caso del laboratorio 3.16 el baño termostático se llena mediante unas “beads” metálicas que proporcionan ciertas ventajas respecto los baños de agua, como es evitar el crecimiento de microorganismos que puedan contaminar el material. También en el caso de derrame de un agente biológico de riesgo, al no haber otros líquidos facilitará su neutralización y contención.

1. Encender el baño pre programado a 37°C
2. Introducir los medios o muestras a calentar
3. Retirar el material una vez haya llegado a la temperatura deseada, desinfectando el material, tubos, botellas, etc. rociándolos con solución etanolizada antes de introducirlos en la cabina de bioseguridad.
4. En el caso que se produzca un derrame de sustancias con riesgo biológico se deberá desinfectar el baño, submergiendo las beads en Virkon® durante 10 minutos y esbandirlas posteriormente, limpiar el baño primero con lejía diluida y etanol y a continuación hacer un lavado con agua y jabón. Las beads una vez esterilizadas se secan en un horno a temperatura de entre 68°C y 250°C. No se pueden autoclavar.

Para un mantenimiento habitual de las beads, se lavaran una vez al mes con agua i jabón, posteriormente se submergiran con solución etanolizada y se dejaran secar en un horno de entre 68 y 250°C.



5. INSTRUCCIONES EN CASO DE AVERÍAS E INCIDENCIAS:

- Cualquier incidente ocurrido, se debe anotar al registro de incidencias y comunicarlo rápidamente a los responsables de la sala, en persona, por correo electrónico y/o llamada telefónica interna nº 2953 o al móvil 12953 o 664340756.
- Una incidencia es considerada de resolución urgente cuando la no actuación pone en riesgo el trabajo de los usuarios o la viabilidad de las células al incubador. Los técnicos del servicio deben tomar las medidas adecuadas y controlar la resolución.
- Cuando la incidencia es urgente y el usuario no puede encontrar a ningún técnico del servicio, se debe analizar que acción podría corregir la incidencia y llevarla a cabo, ejemplos:

Incidencia	Actuación
Uno de los incubadores está dañado	Mover todas las placas de todos los usuarios a otros incubadores que funcionen correctamente.
Todos los incubadores de un único laboratorio están apagados, o presentan una fallada del CO ₂ o temperatura	Intentar restablecer el sistema eléctrico, si no se soluciona, mover todas las placas a otro incubador de otra sala, transportándolas en máxima seguridad bien selladas con parafilm dentro de recipientes estancos con papel adsorbente por si hay algún derrame y liberando un incubador exclusivo de otra sala de primarios para estas muestras. Si las muestras no se pueden mover, es conveniente sellar el incubador y buscar ayuda técnica.
Todos los incubadores del edificio están apagados, o tienen fallada del CO ₂	Sellar los incubadores y evitar que nadie los abra para mantener sus parámetros. Buscar ayuda técnica.
Otros equipos (Cabina BioIIA, baño, centrífuga, microscopio,...) fallan	Si ninguna de las dos BioIIA funciona no se podrá trabajar. Se deberán cerrar todas las muestras lo más rápido posible, desinfectar todas las superficies y materiales y parar de trabajar. Si el baño falla, se intentará buscar otro baño alternativo que pueda entrar en la sala. Si falla la centrífuga se buscará al edificio otra centrífuga con tapa antiaerosol para poder finalizar la tarea que se estaba haciendo. El transporte de las muestras siempre será siguiendo la normativa establecida.
Fallo eléctrico en la sala o el edificio.	Incidencia urgente a la OTI vía web http://www.udl.cat/ca/serveis/oti/formulari/salut/

6. INSTRUCCIONES GENERALES EN CASO DE ACCIDENTE:

Accidente del manipulador con agentes de riesgo biológico:

Un accidente puede ser un derrame de material biopeligroso afectando una persona superficialmente o con lesiones.

La ropa que ha sido contaminada se debe quitar y ponerse en una bolsa de plástico. Deben lavarse con lejía o similar y a alta temperatura. Dependiendo de la severidad del agente, la ropa contaminada será desechada al contenedor biológico.

Debe lavarse bien la piel y/o herida con agua del grifo (y jabón, dependiendo de la gravedad de la lesión).

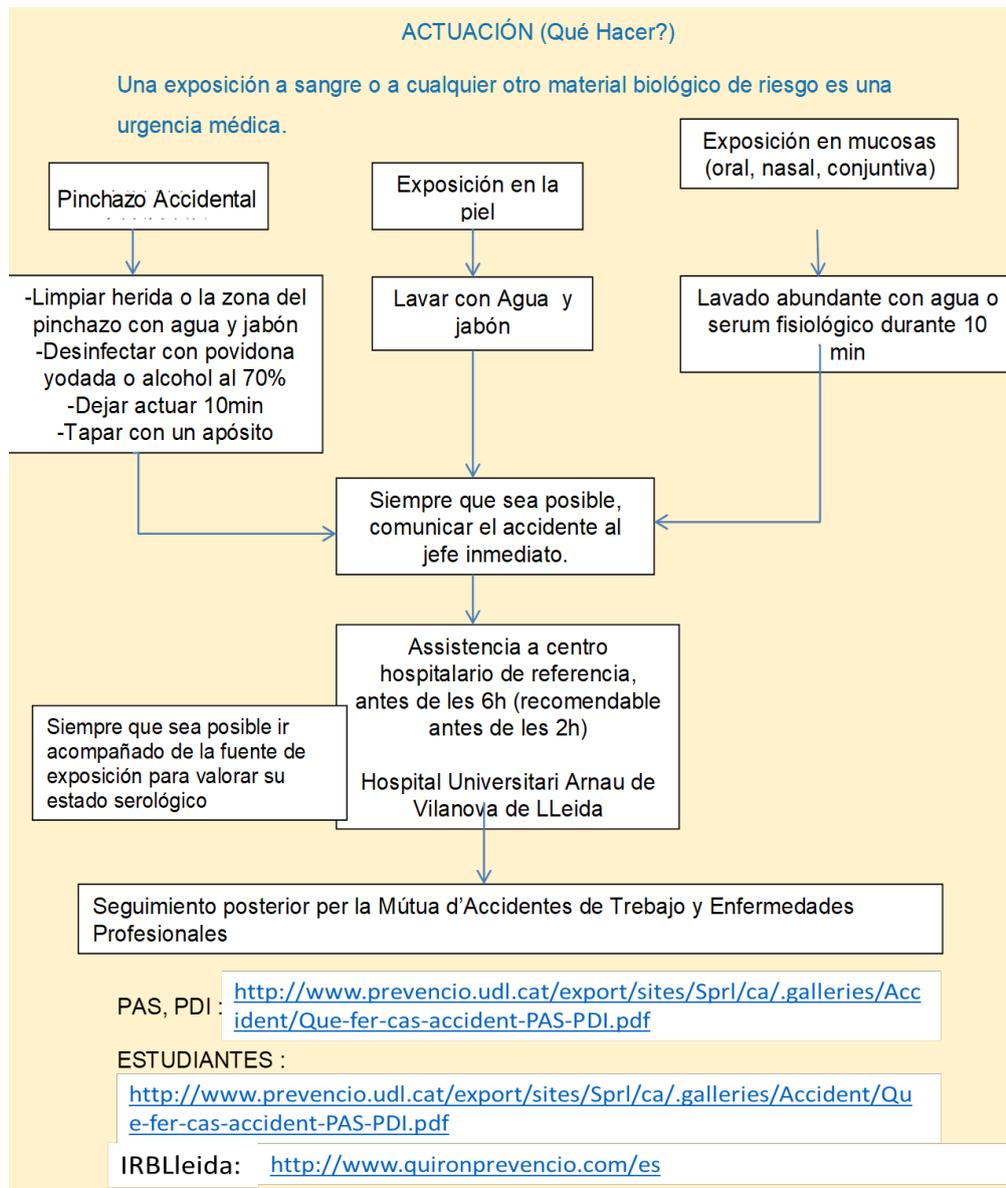


Desinfectar con etanol al 70% el área afectada.

Si se trata de una herida abierta, se debe aplicar povidona iodada (Betadine) y una tirita. Dependiendo de la gravedad, el usuario lesionado debe ir al hospital de emergencia apropiado.

Los accidentes con material de riesgo biológico deben comunicarse siempre a IP responsable del investigador y al servicio médico para seguir la trazabilidad de una posible enfermedad.

- **NORMA GENERAL:** La mayoría de los agentes de riesgo manipulados (SARS-Cov-2, VHB, VIH, micoplasma) **se inactivan con lejía** (hipoclorito sódico). Además, en función del agente también se inactivan con alcohol o jabón. En consecuencia:
 - **SOBRE SUPERFÍCIES:** aplicar lejía, dejar actuar unos 10-15 min. y secar con papel de filtro que se tirará al contenedor de bioseguridad (azul), después desinfectar con etanol al 70%.
 - **SOBRE LA PIEL, ROPA O SUPERFÍCIES NO RESISTENTES:**
 - Primero: quitarse la ropa/ EPIs contaminados y desecharlo.
 - Lavar con agua corriente sin frotar la piel.
 - Aplicar jabón de manos y aclarar largamente con agua corriente.
 - Desinfectar con etanol al 70%.
 - Si se trata de una herida abierta lavar con agua y jabón y a continuación aplicar solución iodada y apósito.
- **FINALMENTE:**
 - SI ES NECESARIO, LLAMAR AL SERVICIO DE EMERGENCIAS (telf: 112) Y / O IR A LA MÚTUA INDICADA DEPENDIENDO DE LA ADSCRIPCIÓN AL IRB O A LA UdL
 - NOTIFICAR A LOS RESPONSABLES DEL SCT Y RELLENAR UN FORMULARIO DE NOTIFICACIÓN DE ACCIDENTES.



7. TRANSPORTE DE MUESTRAS DE RIESGO BIOLÓGICO

El transporte de muestras de riesgo biológico es la ruta que hacen las muestras desde el lugar de origen hasta las instalaciones del IRBLleida destinadas a su manipulación. El traslado de muestras de riesgo biológico a las distintas salas del edificio también debe seguir estas estrategias siguiendo la norma **UN 2814/UN 2900** o **UN3373**:

Las muestras se deben guardar en un contenedor primario estanco, a prueba de escapes y correctamente etiquetadas en relación a su contenido.

Este contenedor primario recubierto de material absorbente para recoger posibles derrames, debe ir dentro de un contenedor secundario "protector", es decir, robusto, estanco, a prueba de escapes y resistente a desinfectantes químicos.



En cas de transporte regulado (entre centros), hace falta un contenedor terciario correctamente identificado con la muestra que contiene. Las mismas empresas de transporte lo subministran.

En muestras líquidas:

Tubos o frascos herméticos de un solo uso que contengan la muestra dentro de cajas de plástico (ej. Crioboxes) que permitan mantener los tubos en posición vertical. Estas cajas, a su vez, recubiertas de papel absorbente y dentro de recipientes de plástico grandes y estancos como una nevera portátil tipo cámping.

En muestras sólidas:

Frascos o contenedores de plástico de un solo uso con la muestra en su interior, dentro de cajas de plástico estanco, recubiertas con papel absorbente y dentro de recipientes de plástico grande y estanco como podría ser una nevera de cámping.

Tubos o frascos herméticos y contenedores: Falcon tubos de 15-50mL, tubos de extracción de sangre ...

Muestras:



Contenedores Primarios:

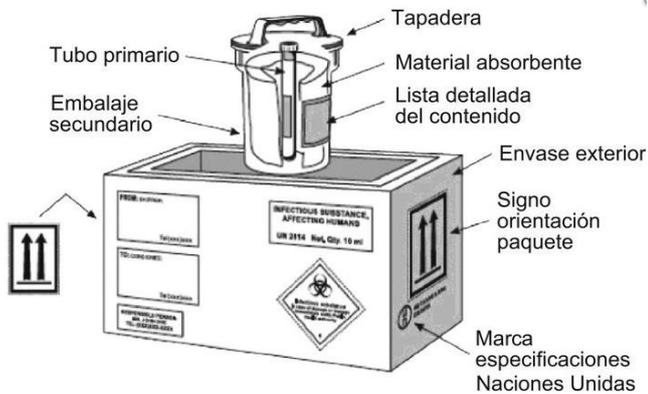


Contenedores secundarios:





Enviamiento reglado:



8. SANCIONES Y AMONESTACIONES

El SCT-CC de la UdL quiere implementar un sistema de faltas y sanciones que asegure el cumplimiento de la normativa de trabajo existente a las salas gestionadas por el SCT-CC. El SCT-CC da formación presencial específica a todos los usuarios según el nivel de biocontención que precisen. Los usuarios realizan un examen que los acredita para ser usuarios de cualquier sala (exceptuando la 3.16) y reciben una “acreditación de capacitación de trabajo del SCT-CC”. En caso de los usuarios de la sala 3.16 (Biocontención 2+), se realiza una formación específica seguida de la firma de una “declaración de responsabilidad”. En base a lo explicado, se considera necesario implementar un sistema de faltas y sanciones que asegure el cumplimiento de las normas y garantice la seguridad de los usuarios, el personal del SCT-CC, personal de servicios presente a Biomedicina y de la población general.

Estas sanciones serán previamente acordadas por la Comisión de Investigación y Consejo de Gobierno

9. Agradecimientos

En las publicaciones, Tesis doctorales o trabajos finales de Máster obtenidos a través de la utilización del servicio, se añadirá una frase als agradecimientos i se comunicará al servicio. A modo de ejemplo: *The human sample manipulation were performed in the Cell Culture Scientific & technical Service, Universitat de Lleida, Lleida, Catalonia, Spain.*

10. Tarifación

Las tarifas de uso de la sala vienen determinadas por el servicio científicotécnico de Cultivos celulares aprobadas por la Comisión de Investigación de la UdL y el Consejo de Gobierno anualmente. Se pueden consultar en:

<http://www.udl.es/export/sites/universitat-lleida/ca/recercaNew/serveis-cientific-technics/.galleries/2022/Tarifas-SCT-2022-amb-index.pdf>



Universitat de Lleida
Serveis Científicotècnics
Laboratori de Cultius
Cel·lulars

**DIRECTRIUS DE FUNCIONAMENT
DELS LABORATORIS DE CULTIUS
CEL·LULARS**