



Universitat de Lleida
Serveis Cientificotècnics
Laboratori de Cultius
Cel·lulars

DIRECTRIUS DE FUNCIONAMENT
DELS LABORATORIS DE CULTIUS
CEL·LULARS

SERVEI CIENTIFICOTÈCNIC CULTIUS CEL·LULARS

DIRECTRIUS DE FUNCIONAMENT DE LA SALA 3.16 PER LA MANIPULACIÓ DE MOSTRES BIOLÒGIQUES DERIVADES DE PACIENTS

DOCUMENT: **DC-005**
DATA: **26/09/2022**
REVISIÓ: **5**

1. INTRODUCCIÓ

La sala 3.16 del SCT-CC es troba situada a la tercera planta de l'edifici de Biomedicina. Està equipada amb pressió negativa, fet que garanteix unes mesures de biocontenció superiors a les d'altres sales gestionades pel SCT-CC.

En relació al material manipulat a aquestes instal·lacions, establim que es restringeixi a mostres biològiques de potencial infecció desconegut o infectades amb agents infecciosos que requereixin nivell de biocontenció 2. Així mateix, les instal·lacions serviran per la producció i ampliació de qualsevol agent infecció de nivell 2 de biocontenció (incloent virus de laboratori utilitzats rutinàriament en recerca).

El SCT-CC assumeix la gestió de la sala 3.16 sota càrrec del Comitè de Bioseguretat de l'IRBLleida. Aquest comitè es fa responsable de revisar i avaluar els protocols i manipuladors que accediran a la sala i de comunicar al SCT-CC la decisió així com el protocol i tipus de mostra, dels manipuladors autoritzats.

OBJECTIU:

Donar a conèixer l'estructura i característiques del laboratori 3.16 del SCT-CC, les normes bàsiques de treball i d'ús dels aparells, així com les persones responsables a qui adreçar-se en cas d'avaries, contaminacions, accidents o suggeriments.

2. ÀMBIT D'APLICACIÓ:

Aquestes directrius seran d'aplicació a la sala 3.16 de Cultius cel·lulars de la UdL-IRBLleida i als seus usuaris/manipuladors i els seus responsables/Investigadors principals.

3. PERSONAL AUTORITZAT

A la sala 3.16 només hi entrarà personal autoritzat que hagi estat aprovat pel comitè de seguretat de l'IRB Lleida.

Només es permetrà l'accés a investigadors amb un mínim de 180h d'experiència de treball a un laboratori d'àmbit biomèdic o similar.

En cap cas es podran realitzar treballs dirigits a cultivar, amplificar o purificar agents biològics de grup de risc superiors al nivell 2 de bioseguretat (*).

(*) En cas de dubte, 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

Procés d'autorització:

El comitè de Bioseguretat autoritzarà els procediments i els manipuladors usuaris de la sala. Per tal de conèixer els seus protocols i autoritzar o no la seva tasca, s'haurà d'omplir i enviar al comitè un correu-e (comitebioseguretat@irblleida.cat) amb la plantilla de sol·licitud de treball amb agents biològics de risc 2. Un cop autoritzat el protocol i l'investigador, s'hauran d'enviar al SCT-CC les següents fitxes:

- (i) fitxa de grup omplerta per l'investigador principal (IP)/responsable del manipulador
- (ii) fitxa d'usuari/manipulador.



A la **Fitxa de grup** el responsable o IP comunica el tipus de mostres que seran manipulades, la seva procedència i les tècniques/protocols que seran realitzades.

El comitè de Bioseguretat comunicarà a l'IP i al SCT-CC l'autorització pel tipus de mostres i tècniques proposades.

Fitxa Usuari/manipulador proporcionada pel SCT-CC on s'establirà informació relativa a l'usuari i la seva relació amb un IP/responsable determinat.

El primer dia que els nous usuaris entrin a la sala, els tècnics del servei els faran una explicació de les directrius del servei i normativa de la sala, així mateix els nous usuaris hauran d'acreditar haver entès i acceptar el reglament del servei a través d'un petit test. El servei es reserva el dret d'admissió a les instal·lacions en cas de no complir amb la normativa establerta en aquest. Així mateix se'ls atorgarà un **certificat d'autorització** i es firmarà una **declaració de responsabilitat**.

4. NORMES DEL LABORATORI

1. Al laboratori està prohibit menjar, beure, fumar, mastegar xiclet, maquillar-se, manipular lents de contacte i emmagatzemar aliments o begudes. Així com l'ús o manipulació d'objectes personals com el mòbils o auriculars.
2. És obligatori portar pantalons llargs i sabata tancada.
3. El laboratori es mantindrà ordenat, net i lliure de materials no relacionats amb la feina.
4. La cabina s'ha de reservar usant la web següent amb una antelació màxima de 24h i mínima de 15 minuts:
https://www.supersaas.es/schedule/SCT_CC/Sala_3_16_SCT_CC_Autoritzats
5. **EPIS de treball:** Per entrar a les sala 3.16 s'usarà una bata de cotó exclusiva per la sala, doble guant (un dels quals de nitril complint la norma *EN ISO 374-5:2016 Marcado de guantes que protejan frente a virus, bacterias y hongos*) mascareta FFP2, peücs, gorra, bata impermeable, ulleres o visera protectora que es col·locaran a la pre-sala abans d'entrar.
6. Les superfícies de treball es desinfectaran a l'inici i al final de cada ús amb Propano-AF (barreja Isopropanol i Etanol).
7. Eviteu la introducció de llibretes, calculadores, caixes de cartró o paper dins de la campana, poden ser font de contaminació.

8. RETIRADA D'EPIs:

- a) Un cop es finalitza de treballar i un cop s'han retirat els guants de manipulació, l'usuari es rentarà les mans enguantades amb aigua i sabó, a continuació es traslladarà a la zona neta marcada al terra tot retirant-se per aquest ordre: els peücs, la gorra, les ulleres, la bata impermeable i els guants. Les ulleres o pantalla facial es netejarà amb alcohol, aigua i sabó o lleixiu diluït i s'introduirà en una bossa de plàstic segellable i nominal. Abans de sortir de la sala, l'usuari es vestirà amb un parell de guants i just a l'avantsala, es retirarà la mascareta FFP2 agafant-la per les cintes o gomes, evitant en tot moment tocar la part exterior i la introduirà a una altra bossa segellable per finalment tirar-la a un contenidor de risc biològic present a l'avantsala. Si la mascareta porta una R marcada també es pot esterilitzar introduint-la a un forn a 70°C durant 30'. Finalment es descartarà el segon parell de guants i es rentaran o desinfectaran curosament les mans i els canells.
- b) Un cop a la pre-sala l'usuari es canviarà la bata de cotó específica de la sala 3.16, per la seva bata d'ús a la resta de l'edifici. Aquesta bata es netejarà setmanalment.

9. No es pot tocar amb els guants que manipulem les mostres la resta del laboratori ni el seu equipament.

10. Residus sòlids: S'introdueixen dins les bosses d'un sol ús de l'interior de la campana. En el cas de tubs s'han de tancar prèviament de forma hermètica. Un cop finalitzada la feina, la bossa es segellarà i descartarà al contenidor de residus biològics. Si el material és massa gran s'inactivarà amb lleixiu al 20% si hi ha poca càrrega de matèria orgànica o PeraSafe®, durant 10 minuts tant interiorment com exteriorment, i es descartarà el material sòlid al contenidor de residus biològics.

11. Residus Líquids: En el cas dels pots d'aspiració de residus líquids, primer es neutralitzaran amb lleixiu. Si el pot s'emplena del tot, es buidarà el pot a la garrafa de residus citotòxics líquids (al costat de la pica). Al finalitzar la feina dins la campana, s'ha de netejar el tub d'aspiració amb lleixiu per neutralitzar possibles contaminants o el cultiu en medi i amb Propano-AF per eliminar el desinfectant restant del tub. El buit s'ha de tancar per evitar l'ús constant de la bomba.

12. Els residus que continguin fàrmacs o substàncies citotòxiques es descarten al contenidor blau (un per sala).

13. Si els contenidors de residus estan a la seva màxima capacitat els usuaris amb guants nets els poden tancar adequadament i agafar-ne un de buit disponible dins la sala.

14. És obligatori l'ús de puntes amb filtre.

15. És recomanable evitar qualsevol material punxant. En cas contrari, es rebutgen al contenidor groc de dins la campana.

16. Els protocols a treballar hauran de minimitzar o evitar la formació d'aerosols, en cas inevitable s'utilitzaran metodologies que n'evitin la seva dispersió

17. S'utilitzaran tubs amb tap de rosca evitant els de pressió especialment per vortejar o centrifugar.

18. És obligatori utilitzar les tapes anti-aerosols durant les centrifugacions.



19. Està prohibit vessar líquids al bany termostàtic de la sala 3.16. Si accidentalment passés, avisar els tècnics del servei. S'haurà de comprovar el risc biològic del vessament, si s'ha d'inactivar el producte caigut al bany i netejar el bany.
20. És responsabilitat del darrer usuari de la sala apagar el **bany** al final del seu ús.
21. És obligatori reportar al supervisor de la sala tots els vessaments, accidents i exposicions obertes o potencials a materials infecciosos.
22. És obligatori mantenir un registre escrit de totes aquestes situacions a través del registre d'incidències present a dins el laboratori.
23. Les BioIIA **NO** són cabines extractores de fums ni tenen filtres de carbó actiu pel que l'ús de productes tòxics volàtils està desaconsellat. El seu ús en cas d'absoluta necessitat i tenint en compte el risc biològic que puguin tenir les mostres, es valorarà amb el comitè de Bioseguretat. L'ús d'aquestes substàncies en cabina no extractora de fums anirà sota la responsabilitat de l'IP així com qualsevol reparació d'aquesta deguda a l'ús d'aquests productes.



5. EQUIPAMENT DE LA SALA:

Contingut:

7.1 Cabines de Bioseguretat IIA	6
7.2 Centrífuga.	10
7.3 Incubadors de CO ₂	11
7.4 Microscopi invertit de fluorescència.....	12
7.5 Bany termostàtic amb pellets.....	12

7.1 Equipament de la sala i instruccions d'ús: Cabines de Bioseguretat IIA

La Cabina de bioseguretat classe II protegeix el producte, el manipulador i el medi ambient. En les de tipus A el 30% de l'aire és eliminat en cada cicle i el 70% recircula. A l'interior de la cabina es produeix una depressió amb pressió negativa evitant la dispersió de patògens a la resta de la sala. És la més adequada per al treball amb agents de risc 2.

El SARS-CoV-2 és un patògen de grup de risc 3, per tant no es podrà cultivar ni aïllar. Però el risc associat a la manipulació de la mostra es considera de nivell 2 fent plausible el seu treball amb NCB-2.

* Les campanes de flux laminar no es consideren campanes de bioseguretat. Les campanes de bioseguretat de tipus I són aquelles que protegeixen el manipulador, però no a l'esterilitat del producte (campanes químiques o de fums)

		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.



Universitat de Lleida
Serveis Científicotècnics
Laboratori de Cultius
Cel·lulars

DIRECTRIUS DE FUNCIONAMENT DELS LABORATORIS DE CULTIUS CEL·LULARS

Ref: NTP 233: Cabines de seguretat biològica

ABANS DE COMENÇAR VISUALITZEU AQUESTS VÍDEOS:

Col·locació i retirada d'EPIs en una sala de Contenció Biològica:

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

Funcionament d'una BioIIA per protegir l'usuari:

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

Com treballar de forma segura en una BioIIA:

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

Tècnica de l'escombrat: <https://www.youtube.com/watch?v=hgERAfHP6nk>

Vídeo demostratiu de com treure's els guants.

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



Mostres i protocols de treball que requereixen ser manipulades a la sala 3.16:

1. Manipulació de mostres biològiques de potencial infecció desconegut i els seus derivats.
2. Manipulació de mostres biològiques infectades per agents que requereixin un nivell de biocontenció II (segons la classificació de risc biològic de l'agent infecció o el protocol que es realitzarà amb aquest).
3. Empaquetament i amplificació de partícules virals classificades en nivell II de biocontenció (incloent les dedicades a la sobreexpressió d'oncogens, la inhibició de gens supressors de tumors i altres).
4. Infecció de cultius cel·lulars amb partícules virals creades per la sobreexpressió d'oncogens o la inhibició de gens supressors (les línies creades han de mantenir-se durant un mínim de 1 passe a la sala 3.16)
5. Establiment de línies cel·lulars a partir de mostres biològiques de potencial infecció desconegut.

PNT de treball a la BioIIA:

OPERACIONS PREVIES
1. PREPARACIÓ DE MATERIAL 2. PREPARACIÓ DE SOLUCIONS DESINFECTANTS 3. PREPARACIÓ DE ZONA DE DESCONTAMINACIÓ DE MATERIAL AMB DESINFECTANT 4. COL·LOCACIÓ DELS EPIS
a) Abans de fer cap procediment, es netejaran les superfícies de la campana amb la solució alcohòlica present a la sala del 70% min. en alcohol fent servir la tècnica de l'escombrat. b) S'engegarà el flux i s'introduirà tot el material a la campana. Fins que el flux no ha re-circulat i porta el cabal adequat no és segur treballar a dins la campana. c) Per treballar a la BioIIA s'utilitzarà doble guant. Els guants en contacte amb la pell seran de nitril. Es recomanen els de categoria III complint la UNE EN ISO374-5:2016 (substituta de la EN374:2003 especificació virus o 374-5) i la ISO16604:2004. Si es necessita sortir de la campana per realitzar una altra tasca, s'han de canviar els guants externs abans de tocar qualsevol altre superfície. Un cop utilitzats es trauran de forma asèptica el primer parell de guants. (Es treballarà a uns 10cm a l'interior de la campana, evitant tapar les reixes d'extracció de l'aire per permetre la bona seguretat de l'usuari. d) A dins la campana hi ha d'haver el material mínim imprescindible prèviament pensat, per evitar haver d'entrar i sortir d'aquesta mentre es treballa. e) Mentre no es treballi, l'interior de la campana ha d'estar buit. A la Bio-II-A únicament es manté a dins un contenidor groc per residus punxants.



ACCIONS A REALITZAR - PROTOCOL dins la BIOIIA

- f) Repartiu l'espai de la campana en zona neta, zona de treball i zona bruta.
- g) El material no s'ha d'acumular en un punt, sinó que es repartirà per aconseguir una bona distribució del flux i evitar turbulències.
- h) Trebal·leu a poc a poc, concentrats evitant els moviments bruscs que podrien afavorir la producció d'aerosols.

RESIDUS

- i) Llenceu el material petit contaminat (puntes, tubs...) a la bossa d'un sol ús de tancament hermètic i els residus punxants al contenidor de residus groc situat dins de la campana. Intentant neutralitzar-lo sempre que sigui possible. Els tubs que tenen tapa es llençaran tancats amb la seva tapa. Un cop finalitzat el treball, tanqueu la bossa de plàstic hermèticament i llenceu-la al contenidor de residus biològics.
- j) A l'acabar, agafeu les pipetes llargues, reintroduïu-les en els seus embolcalls originals i llenceu-les al contenidor de residus biològics.

DESCONTAMINACIÓ I NETEJA DE LA CAMPANA I ÀREA DE TREBALL

- k) Tots els materials, mostres i cultius contaminats o actius hauran de ser descontaminats abans d'eliminar-los. En el cas de líquids que s'han d'eliminar, (si no es poden tancar en una bossa de tancament hermètic) es neutralitzaran primer amb lleixiu, es col·locaran en un pot amb tapa i s'eliminarà la placa/el pot en el contenidor de residus sòlids. En cas de volums amb necessitat d'aspiració s'han de neutralitzar amb un producte que el seu rendiment no es vegi afectat per la quantitat de matèria orgànica (Lleixiu, Virkon...) demanant permís als responsables de la sala.
- l) Quan acabeu de treballar, retireu els reactius de la campana descontaminant-los exteriorment amb Etanol al 70% o lleixiu, descontamineu el material de treball i residus deixant-lo dins de la campana ruixat amb Etanol al 70%. Al finalitzar, es llençaran els residus al seu contenidor i es retirarà el material de treball.
- m) Qualsevol material que hagueu d'entrar i/o sortir de la campana (ex. Buckets de la centrífuga, s'ha de netejar exteriorment amb un paper impregnat amb solució etanolitzada abans d'introduir-lo a la campana i abans de treure'l.

VESSAMENTS

- n) En cas de vessament de líquid amb material biològic dins de les cabines, seguir el protocol que trobareu dins el Kit de vessament present a la sala:
 - 1. Cobrir el líquid amb paper absorbent o vermiculita i immediatament neutralitzar amb lleixiu concentrat durant 10-15 minuts.
 - 2. Llençar el material adsorbent en els contenidors de residus biològics.
 - 3. Desinfectar les superfícies amb solució Etanolitzada o sabó i aigua.

En acabar de treballar, s'ha de recollir tot el material utilitzat i deixar les campanes buides, netes i desinfectades després del seu ús.



7.2 Equipament de la sala i instruccions d'ús: Centrífuga.

Al laboratori de cultius es necessita una centrífuga per la precipitació de les cèl·lules en suspensió, obtenció de tipus cel·lulars per gradients, concentració de buffers, separació de fases, etc.

Centrífuga Eppendorf 5810R rotor A-6-42 amb buckets per tubs de 15 i 50ml amb tapa antiaerosols

Instruccions d'ús:

- Traieu els adaptadors de tubs de les cistelles (buckets) de la centrífuga, netegeu-les amb un paper impregnat amb etanol o lleixiu diluït i obriu-les a la campana de seguretat BioIIA.
- Inseriu els tubs tancats hermèticament als adaptadors. Aquesta centrífuga admet tubs de 15ml i de 50ml sense faldó.
- Tanqueu les cistelles amb la tapa antiaerosol i amb els seus corresponents tubs per fer balança, netegeu-les exteriorment amb etanol i torneu a inserir-la a la centrífuga.
- Utilitzeu el programa adequat.
- Un cop acabada la centrifugació i oberta la centrífuga, cal portar la cistella tancada a la campana BioIIA. S'ha d'obrir dins de la cabina, retirar els tubs i tornar a portar la cistella a la centrífuga comprovant prèviament que no s'hagi produït cap vessament al seu interior.
- Si es produeix un vessament al rotor de la centrífuga, l'usuari ha d'esperar per obrir la centrífuga i així, evitar que es dispersin els aerosols produïts. Seguiu el protocol present a dins del Kit antivessaments present a la sala. S'ha d'eliminar el material trencat amb doble guant, desinfectant-lo amb lleixiu, deixar-lo dins de la campana de BioIIA i que actui 10-15 minuts. Tot el material s'ha de neutralitzar i la centrífuga, el rotor, la cistella i els adaptadors de tubs netejar i desinfectar abans de tornar-los a utilitzar.



7.3 Equipament de la sala i instruccions d'ús: Incubadors de CO₂

L'incubador de CO₂ és 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 es troba en forma de bicarbonat (HCO₃⁻) aquest actua com un tampó de pH permeten fluctuacions de gasos, nutrients i metabòlits sense causar canvis perillosos en el pH sanguini).
- Humitat elevada (per evitar l'evaporació de l'aigua del medi de cultiu).

Per mantenir aquestes constants a l'interior de l'incubador hi ha una safata amb aigua destil·lada i es produeix una recirculació d'aire forçat afavorida pels forats de les prestatgeries.

Instruccions d'ús:

1. Només es podran cultivar cultius primaris humans que a priori no siguin positius per 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 prestatgeries i per evitar vessaments a l'incubador. Les safates són propietat de cada grup. Les safates són obligatòries.
3. S'ha de tenir la precaució de no obrir massa estona la porta de l'incubador per no desestabilitzar les constants atmosfèriques de l'interior. Tanqueu la porta amb cura.
4. La manipulació de les plaques s'ha de fer amb cura per evitar vessaments agafant de manera que no s'obri la tapa i no perdi l'horitzontalitat. Es recomana l'ús de flascons en lloc de plaques de petri.
5. Les safates on es deixen les plaques s'han de rentar habitualment per part de l'usuari per evitar creixement de fongs o bacteris. En cas de vessament, s'ha d'absorbir amb paper impregnat amb lleixiu i, finalment, desinfectar-ho amb solució alcohòlica, seguiu les instruccions del protocol ubicat a l'interior del Kit de vessaments present a la sala.
6. Quan el vessament es trobi a l'interior de l'incubador, s'aplicaria el mateix procediment que al punt 4, i la comunicació de la incidència al responsable del laboratori és absolutament obligatòria.
7. Si un dels cultius es contamina, haurà de ser eliminat immediatament de l'incubador i neutralitzat amb lleixiu diluït. Cal anotar-ho al registre de contaminació present al laboratori.
8. Els incubadors es calibren automàticament diàriament. Mentre l'incubador s'està calibrant NO es pot obrir la porta ja que el desestabilitzaríem. Esperarem que l'incubador torni al seu estat de repòs per evitar realitzar una calibració errònia falsejant la configuració de les constants.



7.4 Equipament de la sala i instruccions d'ús: Microscopis invertits de fluorescència

Aquests equips són microscopis que compten amb una llum que emet a diferents longituds d'ona permetent visualitzar imatges que tenen fluorescència o que estan marcats amb fluorocroms.

Tenen una càmera acoblada i connectada a un ordinador per a la captació d'imatges per documentar l'estat dels cultius.

Instruccions d'ús:

- La fluorescència del microscopi del laboratori 3.16 funciona amb una bombeta de mercuri. Per allargar la seva vida útil, un cop encesa no es pot tancar fins passats 15 minuts; i un cop apagat, s'ha d'esperar 10 minuts abans de tornar a encendre-la. Per gestionar el manteniment de la làmpada de fluorescència, els usuaris han de registrar el nombre d'hores que la bombeta ha treballat al formulari de registre present a la Sala.
- Les càmeres associades es poden utilitzar per fer fotos dels experiments realitzats a la sala de cultiu. Qualsevol usuari amb cèl·lules vives tindrà prioritat davant de qualsevol usuari de cèl·lules fixes.
- Cal seguir instruccions específiques per a cada programari. Pregunteu al responsable del laboratori en cas de dubte.

7.5 Equipament de la sala i instruccions d'ús: Bany termostàtic amb pellets

El bany termostàtic es componen d'una cubeta on normalment es disposa els pellets o l'aigua.

Els banys termostàtics s'utilitzen per escalfar medis de cultiu o tampons, processar reaccions químiques o descongelar mostres congelades. Estan programats per escalfar les mostres a 37 °C.

En el cas del laboratori 3.16 el bany termostàtic s'omple mitjançant unes "beads" metàl·liques que proporciona certes avantatges respecte els banys d'aigua com és evitar el creixement de microorganismes que puguin contaminar el material. També en cas de vessament d'un agent biològic de risc, al no haver-hi altres líquids facilitarà la seva neutralització i contenció.

1. Encendre el bany pre-programat a 37°C.
2. Introduir els medis o mostres a escalfar.
3. Retirar el material un cop ha arribat a la temperatura indicada desinfectant el material, tubs, ampolles, etc, ruixant-ho amb solució etanolitzada abans d'introduir el material a la cabina de bioseguretat.
4. En el cas que es produeixi un vessament de substàncies amb risc biològic, s'haurà de desinfectar el bany, submergint les beads en Virkon® durant 10 minuts i esbandint-les posteriorment, netejar el bany primer amb lleixiu diluït i etanol i a continuació fer un rentat amb aigua i sabó. Les beads un cop esterilitzades s'assecaran a un forn a temperatura d'entre 68°C i 250°C. No es poden autoclavar.

Per un manteniment habitual de les beads, es rentaran un cop al mes amb aigua i sabó, posteriorment es submergiran amb solució etanolitzada i es deixaran assecar a un forn d'entre 68 i 250°C.



5. INSTRUCCIONS EN CAS D'AVARIES I INCIDÈNCIES:

- Qualsevol incident ocorregut, s'ha anotar al registre d'incidències i comunicar-ho ràpidament als responsables de la sala, en persona, per correu electrònic i/o trucada telefònica interna nº 2953 o al mòbil 12953 o 664340756.
- Una incidència és considerada de resolució urgent quan la no actuació posa en risc el treball dels usuaris o la viabilitat de les cèl·lules a l'incubador. Els tècnics del servei han de prendre les mesures adequades i controlar la resolució.
- Quan la incidència és urgent i l'usuari no pot trobar cap tècnic del servei, s'ha d'analitzar quina acció podria corregir la incidència i dur-la a terme, exemples:

Incidència	Actuació
Un dels incubadors està danyat	Moure totes les plaques de tots els usuaris a altres incubadors que funcionin correctament.
Tots els incubadors d'un únic laboratori estan apagats, o presenten una fallada del CO ₂ o temperatura	Intentar restablir el sistema elèctric, si no se soluciona, moure totes les plaques a un altre incubador d'una altra sala, transportant-les en màxima seguretat ben segellades amb parafilm dins de recipients estancs amb paper adsorvent per si hi ha algun vessament i alliberant un incubador exclusiu d'una altra sala de primaris per aquestes mostres. Si les mostres no es poden moure, es convenient segellar l'incubador i buscar ajuda tècnica.
Tots els incubadors de l'edifici estan apagats, o tenen fallada del CO ₂	Segellar els incubadors i evitar que ningú els obri per mantenir els seus paràmetres. Buscar ajuda tècnica.
Altres equips (Cabina BioIIA, bany, centrifuga, microscopi,...) fallen	Si cap de les dues BioIIA funciona no es podrà treballar. S'haurà de tancar totes les mostres el més ràpid possible, desinfectar totes les superfícies i materials i parar de treballar. Si el bany falla, s'intentarà buscar un bany alternatiu que pugui entrar a la sala. Si falla la centrifuga es buscarà a l'edifici una altra centrifuga amb tapa antiaerosol per poder finalitzar la tasca que es dugués a terme. El transport de les mostres sempre serà seguint la normativa establerta.
Fallada elèctrica a la sala o l'edifici.	Incidència urgent a la OTI via web http://www.udl.cat/ca/serveis/oti/formulari/salut/

6. INSTRUCCIONS GENERALS EN CAS D'ACCIDENT:

Accident del manipulador amb agents de risc biològic:

Un accident pot ser un vessament de material bioperillós afectant una persona superficialment o amb lesions.

La roba que ha estat contaminada s'ha de treure i col·locar-la en una bossa de plàstic. Han de rentar-se amb lleixiu o similar i a alta temperatura. Depenent de la severitat de l'agent, la roba contaminada serà llançada al contenidor biològic.

S'ha de rentar bé la pell i/o ferida amb aigua de l'aixeta (i sabó, depenent de la gravetat de la lesió).

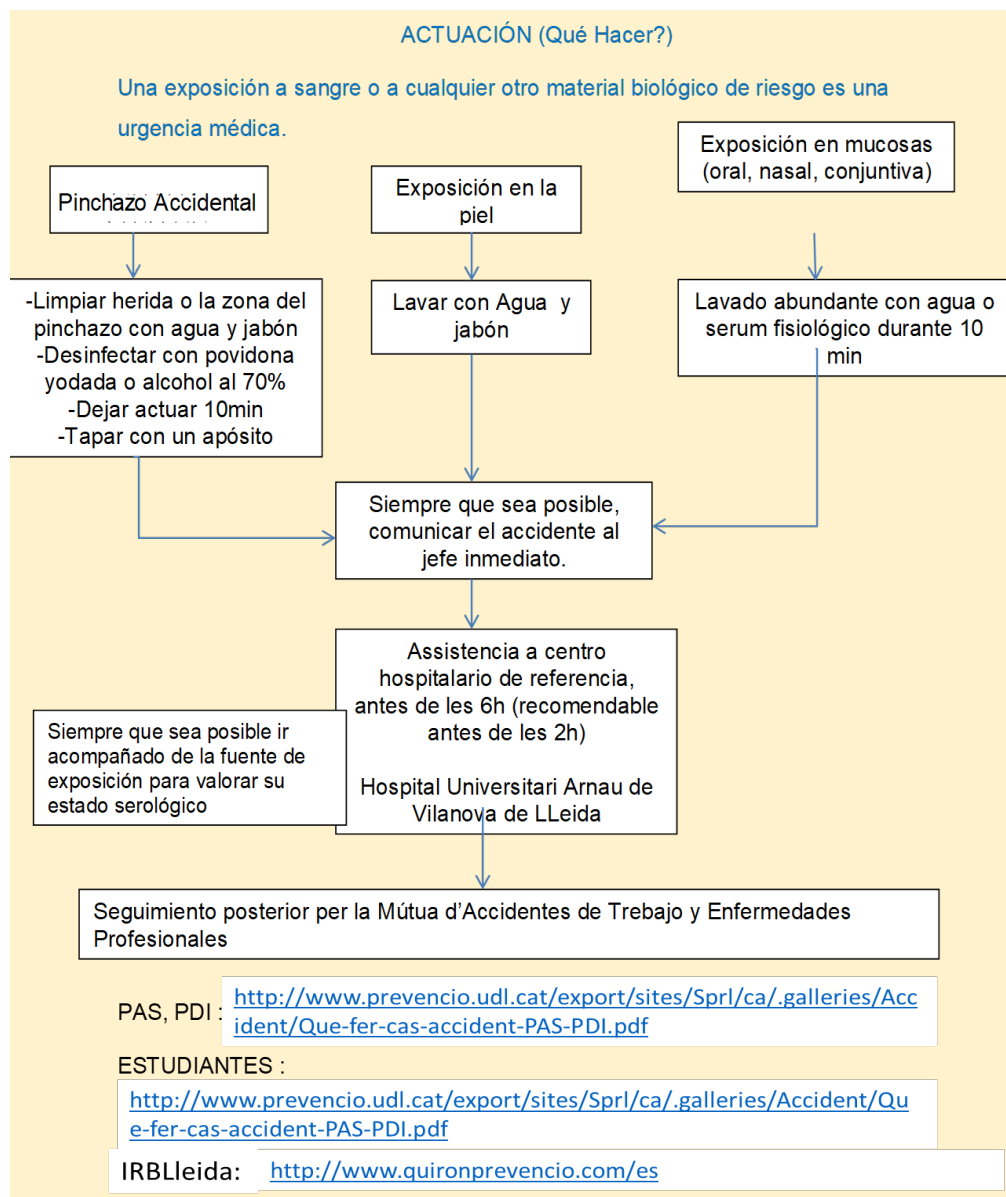
Desinfectar amb etanol al 70% l'àrea afectada.



Si es tracta d'una ferida oberta, s'ha d'aplicar povidona iodada (Betadine) i una tireta. Depenent de la gravetat, l'usuari lesionat ha d'anar a l'hospital d'emergència apropiat.

Els accidents amb material de risc biològic s'han de comunicar sempre a l'IP responsable de l'investigador i a el servei mèdic per seguir la traçabilitat d'una possible malaltia.

- **NORMA GENERAL:** La majoria dels agents de risc manipulats (SARS-Cov-2, VHB, VIH, micoplasma) **s'inactiven amb lleixiu** (hipoclorit sòdic). A més, en funció de l'agent també s'inactiven amb alcohol o sabó. En conseqüència:
- **SOBRE SUPERFÍCIES:** aplicar lleixiu, deixar actuar uns 10-15 min. i assecar amb paper de filtre que es tirarà al contenidor de bioseguretat (blau), després desinfectar amb etanol al 70%.
- **SOBRE LA PELL, ROBA O SUPERFÍCIES NO RESISTENTS:**
 - Primer: treure's la roba/ EPIs contaminades i llençar-ho.
 - Rentar amb aigua corrent sense fregar la pell.
 - Aplicar sabó de mans i aclarir llargament amb aigua corrent.
 - Desinfectar amb etanol al 70%.
 - Si es tracta d'una ferida oberta rentar amb aigua i sabó i a continuació aplicar solució iodada i apòsit.
- **FINALMENT:**
 - SI CAL, TRUCAR A EL SERVEI D'EMERGÈNCIES (telf: 112) i / o ANAR A LA MÚTUA INDICADA DEPENDENT DE L'ADSCRIPCIÓ A L'IRB O la UdL
 - NOTIFICAR ALS RESPONSABLES DEL SCT I OMLIR UN FORMULARI DE NOTIFICACIÓ D'ACCIDENTS.



7. TRANSPORT DE MOSTRES DE RISC BIOLÒGIC

El transport de mostres de risc biològic és la ruta que fan les mostres des del lloc d'origen fins a les instal·lacions del IRBLleida destinades a la seva manipulació. El trasllat de mostres de risc biològic a les diferents sales de l'edifici també ha de seguir aquestes estratègies seguint la norma **UN 2814/UN 2900** o **UN3373**:

Les mostres s'han de guardar en un contenidor primari estanc, a prova de fuites i degudament etiquetades en relació al seu contingut.

Aquest contenidor primari recobert de material absorbent per recollir possibles abocaments, ha d'anar dins d'un contenidor secundari "protector", és a dir, robust, estanc, a prova de fuites i resistent a desinfectants químics.



En cas de transport regulat (entre centres), cal un contenidor terciari correctament identificat amb la mostra que conté. Les mateixes empreses de transport el subministren.

En mostres líquides:

Tubs o flascons hermètics d'un sol ús que contingui la mostra dins de caixes de plàstic (ex. Crioboxes) que permetin mantenir els tubs en posició vertical. Aquestes caixes, alhora, recobertes de paper absorbent i dins de recipients de plàstic grans i estancs com ara una nevera portàtil tipus càmping.

En mostres sòlides:

Flascons o contenidors de plàstic d'un sol ús amb la mostra al seu interior, dins de caixes de plàstic estanc, recobertes amb paper absorbent i dins de recipients de plàstic gran i estanc com podria ser una nevera de càmping.

Tubs o flascons hermètics i contenidors: Falcon tubs de 15-50mL, tubs d'extracció de sang ...

Mostres:



Contenidors Primaris:



Contenidors secundaris:





Enviament reglat:



8. SANCIONS I AMONESTACIONS

El SCT-CC de la UdL vol implementar un sistema de faltes i sancions que assegurï el compliment de la normativa de treball existent a les sales gestionades pel SCT-CC. El SCT-CC dóna formació presencial específica a tots els usuaris segons el nivell de biocontenció que precisen. Els usuaris realitzen un examen que els acredita per ser usuaris de qualsevol sala (exceptuant la 3.16) i reben una “acreditació de capacitat de treball del SCT-CC”. En cas dels usuaris de la sala 3.16 (Biocontenció 2+), es realitza una formació específica seguida de la signatura d’una “declaració de responsabilitat”. En base a l’explicat, es considera necessari implementar un sistema de faltes i sancions que assegurï el compliment de les normes i garanteixi la seguretat dels usuaris, el personal del SCT-CC, personal de serveis present a Biomedicina i de la població general.

Aquestes sancions seran prèviament acordades per la Comissió de Recerca i Consell de Govern

9. Agraïments

En les publicacions, Tesis doctorals o treballs finals de Màster obtinguts a través de la utilització del servei, s’inclourà una frase als agraïments i es comunicarà al servei. A mode d’exemple: ***The human sample manipulation were performed in the Cell Culture Scientific & technical Service, Universitat de Lleida, Lleida, Catalonia, Spain.***

10. Tarifació

Les tarifes d’ús de la sala venen determinades pel servei científic-tècnic de Cultius cel·lulars aprovades per la Comissió de Recerca de la UdL i el Consell de Govern anualment. Es poden consultar a:

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