

Normes de bioseguretat de nivell 2

A la UIB actualment només es poden manipular microorganismes del grup de risc 2. Les tasques corresponents s'han de dur a terme als laboratoris autoritzats pel Comitè de Bioseguretat i només per part de personal que tingui acreditada la formació en bioseguretat de nivell 2.

Normes generals per a la manipulació de microorganismes, mostres potencialment contaminades amb agents biològics i organismes modificats genèticament (OMG)

Per a la manipulació de microorganismes i de materials potencialment contaminats amb agents biològics (mostres humanes o animals, aigües residuals, OMG, etc.), heu de complir les normes de bioseguretat següents:

1. Mesures higièniques:

- Rentau-vos les mans abans i després de manipular material potencialment contaminat. Les mans s'han de rentar amb aigua i sabó líquid, i s'eixuraran amb paper, mai amb tovalloles de tela. Per a un rentat correcte de les mans, consultau aquest [enllaç](#).
- Cobriu les ferides de les mans amb un apòsit impermeable.
- Retirau els anells i joies de les mans abans de fer feina. No podeu dur les ungles pintades.
- No podeu dur lents de contacte dins el laboratori.
- No podeu menjar, beure ni fumar en el laboratori, ni tan sols mastegar xiclet.
- No guardeu aliments ni begudes en les geleres del laboratori.
- Manteniu el lloc de feina net i ordenat. Guardau la roba i objectes personals a armaris o espais segurs.
- No heu de pipetejar mai amb la boca. Utilitzau sempre pipetejadors manuals o automàtics, propipetes, etc. Les pipetes han de tenir taps de cotó per evitar la contaminació.
- Manteniu les finestres i portes del laboratori tancades.

2. Equips de protecció individual (EPI):

Dins el laboratori heu de dur en tot moment **calçat tancat** amb sola antilliscant i **bata** amb màniga llarga. La bata no es durà en cap cas a casa (la UIB disposa d'un servei de neteja). També heu de dur **guants impermeables** sempre que manipuleu cultius, sang i altres materials o objectes potencialment contaminats, pacients, etc. No toqueu altres materials (panys de portes, telèfons, cadires, etc.) mentre dugueu els

guants. Tampoc no us heu de tocar la boca, els ulls o la cara amb els guants.

Ulleres de seguretat i mascareta de cel·lulosa tipus

FFP3: s'utilitzaran quan sigui previsible la producció d'esquitades o aerosols i no pugueu treballar dins la cabina de seguretat biològica. Per exemple, en cas de vessament de material infecciós.



3. Cabina de seguretat biològica (CSB):

S'ha de fer feina dins una CSB de tipus II sempre que:

- Es puguin generar aerosols (aspiracions, agitació, centrifugació, sonicació, homogeneïtzació, obertura de tubs o vials a pressió, etc.).
- Es manipulin agents biològics que es transmeten per aire o mostres contaminades amb aquests agents (aigües residuals, etc.).

No heu de confondre les CSB amb les cabines de flux laminar, les quals només protegeixen la mostra que es manipula, però no garanteixen la seguretat de les persones. No manipuleu mostres contaminades dins les cabines de flux laminar.

Protocol de feina en la cabina de seguretat biològica

- Abans de començar la feina heu de posar en marxa la CSB durant 5 minuts, amb l'objecte d'obtenir un flux d'aire estable. Si disposa de llum d'ultraviolat, enceneu-lo. En acabar la feina, deixau la CSB en marxa un mínim de 5 minuts.
- Abans de començar la feina, situau el material necessari dins la cabina, per evitar l'entrada i sortida contínua de material. Per exemple, heu de tenir el recipient per a puntes de pipeta emprades dins la CSB i no fora.
- Abans d'introduir o de treure el material, heu de descontaminar l'envàs.
- Treballau a uns 10 cm de la vorera de la CSB cap endins.
- No heu d'obstruir les reixes d'aire posteriors ni les frontals amb cap material.
- Evitau els corrents d'aire provinents de portes, finestres, aires condicionats, moviments de persones, etc., atès que poden alterar el flux vertical. En moure els braços i mans a l'interior de la cabina, feis-ho lentament.
- No podeu utilitzar el bec de Bunsen dins la CSB, perquè la flama provoca turbulències en el flux d'aire i pot danyar el filtre HEPA. Podeu utilitzar anses estèrils d'un sol ús o esterilitzar les anses amb un microincinerador.
- Heu de recollir immediatament qualsevol vessament accidental de material biològic dins la CSB, i després descontaminau la superfície i tot el material que estigui dins la cabina.
- El filtre HEPA s'ha de substituir periòdicament, segons indiqui el fabricant.

4. Prevenció amb objectes punxants i tallants:

- Evitau l'ús de xeringues. Si és inevitable, utilitzau xeringues de seguretat.
- Quan sigui possible, substituïu el material de vidre (tubs, pipetes, botelles, etc.) per material de plàstic.
- Treballau amb la màxima precaució quan manipuleu objectes tallants o punxants.
- Mai no reencapsuleu les agulles ni els objectes tallants o punxants: dipositau-los directament dins els contenidors rígids de bioseguretat (gros).



5. Gestió de residus sanitaris:

- Els residus sanitaris es retiren mensualment a través d'una empresa autoritzada, per a la incineració posterior. Tenim dos tipus de contenidors: **gros** (per a objectes punxants i tallants contaminats, com agulles, cùters, vidre romput contaminat, portaobjectes de microscòpia, etc.) i **negres** (per a sòlids contaminats: plaques, etc.).
- Al laboratori heu de tenir un contenidor diferenciat per a vidre trencat net (lliure de microorganismes). No dipositeu vidre trencat contaminat en el contenidor per a vidre net.
- Mai no empleneu els contenidors de residus en excés. Si escau, demanau un contenidor nou als oficials de laboratori.
- No llenceu material contaminat directament per la pica ni al fens ordinari.
- Els residus sòlids (plaques de cultius, tubs amb cultius, puntes de pipeta, guants o paper contaminats, etc.), es guardaran en bosses d'autoclau. Un cop esterilitzat, el material es dipositarà en contenidors negres de bioseguretat per a la retirada posterior.
- Els tubs de vidre amb cultius es posaran en gradetes i s'autoclavaràn. Després se'n pot llençar el líquid al desguàs i netejar-los.



Per a més informació sobre la gestió de residus, consultau aquest [protocol](#).

6. Desinfecció i esterilització:

Quan acabeu la feina, **desinfectau** les superfícies (taula de treball, cabina, interior de la centrífuga, pipetes, etc.), aplicant un d'aquests productes:

- Hipoclorit sòdic (lleixiu) diluït en aigua: a l'1% final de clor actiu si la superfície està molt contaminada (per exemple amb sang) o al 0,5 % de clor actiu si la superfície està poc contaminada. La solució ha de ser fresca del dia i s'ha de deixar en contacte amb els objectes 20 minuts com a mínim.
- Solució fresca d'etanol al 70%, que s'ha de deixar que actuï almanco 5 minuts.

- Un desinfectant comercial d'ampli espectre, seguint les instruccions del fabricant.

L'eficàcia dels desinfectants està limitada per la presència de matèria orgànica; per això, és important que l'instrumental es netegi amb aigua i sabó abans d'aplicar el desinfectant.

L'esterilització provoca la destrucció de tots els microorganismes, incloent les espores bacterianes. El més freqüent en els laboratoris és l'esterilització per calor humit (autoclau), durant 20 minuts a 121 °C i 1,1 atm. de pressió. És important comprovar periòdicament que l'autoclau funciona correctament, per a la qual cosa existeixen tests microbiològics en el mercat.

7. Reduïu la generació d'aerosols i evitau la dispersió de material infecciós:

- És més segur utilitzar anses d'un sol ús o un microincinerador elèctric per esterilitzar les anses de sembra, en lloc dels becs de Bunsen.
- Qualsevol tècnica que pugui generar aerosols (aspiracions, sonicació, homogeneïtzació, obertura de tubs a pressió) es realitzarà dins una CSB.
- Emprau tubs amb tap de rosca en lloc de tap de pressió, per evitar esquitades.

8. Vacunació (immunització activa):

S'ha de vacunar tot el personal que faci feina en ambients on hi hagi contacte, tant directe com indirecte, amb sang o altres fluids biològics de persones infectades, aigües residuals o altres fonts de contaminació.

Per exemple, us he de vacunar contra l'hepatitis B si manipuleu sang humana i contra l'hepatitis A si treballau amb aigües residuals. A més, heu de passar periòdicament els reconeixements mèdics específics. En cas de dubte, adreçau-vos a la unitat mèdica del Servei de Prevenció de la UIB.

9. Transport i emmagatzematge de microorganismes i mostres:

Si heu de transportar microorganismes o mostres potencialment contaminades amb agents biològics, heu d'emprar contenidors secundaris hermètics per evitar vessaments accidentals. Els recipients han de dur el senyal de risc biològic.



Per enviar microorganismes o mostres contaminades a altres laboratoris, es farà a través d'una empresa de transport que compleixi la normativa vigent i utilitzant els contenidors i etiquetes de bioseguretat proporcionats per l'empresa. El personal que rep i envia les mostres ha de conèixer els riscos i ha d'estar capacitat per adoptar les precaucions generals de bioseguretat, en especial quan manipuli recipients romputs.

Les mostres biològiques s'han d'emmagatzemar en zones d'accés restringit, dins geleres o congeladors senyalitzats, els quals han d'estar connectats al grup electrogen d'emergència de l'edifici.

10. Emergències:

Els accidents biològics inclouen els vessaments de mostres contaminades i les punxades, talls o esquitxades a la pell o les mucoses amb sang o altres fluids corporals, cultius, aigües residuals, etc., així com les mossegades i esgarrapades d'animals.

Actuació immediata:

- **Vessaments:** Si es trenca material de vidre contaminat, posau-vos guants i recolliu el vidre de forma segura (millor amb pinces) i dipositau-lo en els contenidors de residus sanitaris. Absorbiu el líquid vessat amb paper i descontamineu les superfícies amb una solució a l'1% de clor actiu. Després autoclavau tots els residus generats.
- **Ferides o punxades:** forçau la sortida de sang i després rentau la ferida amb aigua i sabó. A continuació desinfectau la ferida amb povidona iodada.
- **Esquitxada** a la mucosa de l'ull o la boca: netejau-ho amb sèrum fisiològic o amb el rentaüls d'emergència durant 5 minuts.
- **Ingestió accidental** de material contaminat: anau directament a la unitat mèdica del Servei de Prevenció.

Després de l'actuació inicial, anau a la unitat mèdica (edifici Cas Jai, de 8 a 17.30 h, extensió 34 61). Si l'accident es produeix fora de l'horari de la unitat mèdica, adreçau-vos a l'hospital Son Espases o a la Mútua Balear.

En aquest [enllaç](#) podeu consultar el procediment complet en cas d'accident biològic.

Normes específiques per a la manipulació d'animals

A més de les instruccions generals anteriors, s'han de tenir en compte aquestes normes:

Pràctiques de treball:

1. La manipulació d'animals només està autoritzada a l'estabulari de la UIB.
2. Totes les gàbies, boxes o caixes de confinament s'han d'etiquetar amb la identificació dels animals que s'hi allotgen. Això és especialment important quan els animals s'han infectat de manera intencionada.

3. Només es permetrà l'entrada a l'estabulari al personal autoritzat.
4. S'observarà una higiene personal estricta, prestant atenció especial al rentat de mans, que es realitzarà després de la manipulació dels animals vius o morts, després de llevar-se els guants i sempre abans de sortir de la unitat animal.
5. Les ferides que es produeixin quan es manipulin els animals es tractaran immediatament (estimulació de l'hemorràgia, rentat amb aigua i sabó, protecció de la ferida amb apòsit i, si fos necessari, tractament farmacològic).
6. Les superfícies de treball es descontaminaran amb un desinfectant efectiu després d'usar-les i quan es produeixin esquitades o vessaments de material infecciosos. Igualment, en finalitzar el treball amb materials infecciosos, tots els equips han de ser descontaminats. També s'han de descontaminar els equips abans de realitzar operacions de manteniment o reparació, abans de treure'ls de l'estabulari o quan hi hagi canvi de procediment per evitar la contaminació creuada. Aquestes operacions s'han de fer amb els EPI adequats.
7. Està prohibit sortir de l'estabulari amb la roba de treball i/o els EPI.
8. Els procediments de treball han d'estar dissenyats de tal forma que impedeixin o minimitzin la generació d'aerosols. Si això és impossible, s'ha de treballar en la CSB classe II. Això també serà d'aplicació quan es realitzin activitats amb manipulació de material infectat, incloent els animals mateixos.
9. El transport d'equips, materials i residus per a la seva neteja, desinfecció o eliminació s'ha de fer amb contenidors adequats, perfectament identificats i tancats.
10. El transport dels cadàvers per a la seva eliminació es realitzarà en contenidors estancs, que evitin vessaments. Els cadàvers es posaran en el congelador disponible per a aquesta finalitat i finalment seran incinerats.
11. Tots els accidents, inclosos mossegades i esgarrapades, s'han de comunicar a la persona responsable de l'estabulari.
12. S'ha de notificar immediatament qualsevol malaltia o mort inesperada que es produeixi entre els animals. No es tocaran els animals que presentin una malaltia imprevista mentre no es rebin instruccions específiques de la persona responsable de la unitat animal.
13. Tot el personal que treballi amb animals haurà d'estar immunitzat contra el tètanus i les altres malalties que consideri la unitat mèdica del Servei de Prevenció de la UIB segons el material biològic que es manipuli.
14. S'han de respectar els fluxos de desplaçament de persones, materials i animals

establerts (sempre de zona neta a zona bruta, mai al contrari).

Equips de protecció individual (EPI):

1. S'usaran els EPI adequats al risc. La roba de protecció, guants, calçat, etc. han de ser resistents a les mossegades i esgarrapades.
2. Es recomana utilitzar mascareta i ulleres de seguretat per prevenir la sensibilització als al·lèrgens existents a l'estabulari. El seu ús és obligatori quan es realitzin operacions susceptibles de generar aerosols, esquitades o projeccions, com necròpsies, recol·lecció de teixits o inoculació intranasal d'animals infectats, per exemple.
3. Es disposarà de dispositius segurs per immobilitzar l'animal, quan sigui necessari, com en la presa de mostres o l'administració de substàncies.
4. En sortir de l'estabulari o de les instal·lacions de la unitat animal es procedirà a netejar i, si escau, desinfectar els elements de protecció utilitzats que no siguin d'un sol ús.

Normes específiques per a la manipulació de cultius cel·lulars

Per a la manipulació de cultius cel·lulars són d'aplicació les normes generals esmentades anteriorment. De manera específica, el treball amb cultius cel·lulars a la UIB requereix el compliment de les normes de bioseguretat següents:

Instal·lacions i accés:

1. El treball amb cultius cel·lulars només pot realitzar-se a instal·lacions i laboratoris autoritzats pel Comitè de Bioseguretat de la UIB.
2. L'accés a les instal·lacions i laboratoris autoritzats és restringit al personal amb formació acreditada en la manipulació de cultius cel·lulars.

Normes de treball:

1. És obligatori utilitzar equips de protecció individuals (EPI) adequats a la manipulació que es dugui a terme. Cal disposar d'una bata d'ús exclusiu per a cultius que s'ha de deixar dins les mateixes instal·lacions de cultius.
2. Amb l'excepció de les línies cel·lulars ben caracteritzades i els cultius primaris obtinguts d'animals certificats SPF, la manipulació de la resta de cultius cel·lulars es durà a terme dins una Cabina de Seguretat Biològica (CSB) tipus II. En cas de dubte, consultau el manual del curs de bioseguretat o contactau amb el Comitè de

Bioseguretat.

3. Els cultius cel·lulars contaminats es manipularan d'acord al nivell de bioseguretat adient a l'agent infecció, i amb el vistiplau de la resta d'usuaris de les instal·lacions.
4. Observau les normes generals d'ús de la CSB (vegeu "Protocol de Feina en la CSB", pàgina 2). En el cas de les instal·lacions de cultius cel·lulars, és recomanable tenir sempre encès el llum de radiació ultraviolada, encara que la CSB estigui apagada, per tal de minimitzar contaminacions accidentals.
5. Treballau sempre amb material estèril, obert dins la CSB, mantenint les condicions òptimes de neteja i higiene.
6. Netejau i desinfectau sempre el material abans i després de la rutina de treball i, especialment, en el cas de vessaments de medi de cultiu.
7. En cultius de llarga duració, verifiqueu periòdicament les seves propietats i realitzau controls de contaminació per *Mycoplasma*.

Residus:

1. Els residus líquids del cultiu cel·lular s'han de recollir per aspiració dins un recipient que contingui lleixiu. Després de la rutina de treball, s'aspirarà un desinfectant (per exemple, etanol al 70%) per tal de netejar el sistema d'aspiració.
2. Els residus sòlids provinents dels cultius s'autoclavaràn en bosses d'autoclau i després es guardaran en contenidors negres de bioseguretat per a la retirada posterior. Els residus punxants o tallants es llençaran als contenidors grocs.
3. Els residus de paper, cartó i plàstic que no hagin estat en contacte amb material biològic es llençaran a la paperera ordinària.

Normes específiques per a la manipulació de plantes modificades genèticament (MG)

Els distints registres i formularis que ha de complimentar l'investigador responsable de l'experiment estan explicats en el manual del curs de bioseguretat.

Normes específiques de treball:

Com a norma general, les plantes MG es cultivaran de manera separada en el temps amb altres plantes no modificades genèticament. S'acceptaran excepcions degudament justificades en base a criteris experimentals.

És imprescindible identificar quines plantes són MG. La identificació es durà a terme mitjançant l'etiquetatge dels tests amb el codi de Registre d'Entrada. D'aquesta forma, el mateix codi de Registre d'Entrada servirà per identificar les llavors emmagatzemades i les plantes que s'estan cultivant.

Para minimitzar el risc de flux genètic, i com a norma general, es terminarà l'experiment abans de l'antesi o obertura de les flors. Alternativament, es tallaran les flors abans de l'antesi. S'acceptaran excepcions degudament justificades en base a criteris experimentals.

Com a norma general, la porta de la instal·lació confinada estarà tancada.

El responsable de vigilància i control de la instal·lació de confinament revisarà periòdicament el compliment de les mesures de confinament i protecció.

Principis generals de treball:

Tot el personal que manipuli plantes MG està obligat a assistir i superar el curs de bioseguretat de la UIB; en concret, el mòdul d'utilització confinada de plantes MG.

Tot el personal que manipuli plantes MG haurà de complir les normes generals de bioseguretat citades al principi d'aquest document.

Tot el personal que manipuli plantes MG utilitzarà bata de laboratori i atendrà les mesures de protecció personal addicionals requerides per l'experiment concret que es dugui a terme. En el cas d'utilitzar guants, es rebutjaran en les bosses d'autoclau dobles previstes a l'efecte en cadascuna de les dues seccions. Les bates no s'han de treure de la instal·lació de confinament, sinó que es guardaran en les perxes previstes a la sortida d'aquesta.

Inactivació de cultius i material en contacte amb plantes MG i neteja de la instal·lació:

Una vegada acabat cada experiment amb plantes MG, l'investigador responsable de l'experiment s'assegurarà que la instal·lació quedi neta i en ordre. El Registre de Cultiu incorpora informació sobre el compliment de neteja de la instal·lació de confinament i inactivació de les plantes MG i residus derivats.

Les plantes es rebutjaran, juntament amb els substrats, en les bosses d'autoclau previstes. Les bosses d'autoclau amb residus s'inactivaran en l'autoclau situada en la mateixa Àrea de Fisiologia Vegetal.

La resta de recipients no rebutjables i la instrumentació que hagi estat en contacte amb les plantes MG (inclosos els tests) s'inactivaran amb hipoclorit sòdic a una concentració final superior a l'1%, abans de procedir a la seva neteja estàndard. Els recipients rebutjables es depositaran tancats en la bossa d'autoclau esmentada.

De manera regular, el servei de neteja desinfectarà la instal·lació de confinament (almanco dues vegades a l'any).

Vessaments accidentals:

Es contempla una única situació potencial de vessament accidental de plantes MG en aquesta instal·lació. Atesos els volums previstos de treball en tots els casos es tractarà de vessaments de petites dimensions. En el cas de vessaments de cultius de plantes, les plantes que no puguin ser reutilitzades es recolliran individualment i es rebutjaran en les bosses d'autoclau. La resta de residus sòlids es recolliran amb paper i es depositaran en les mateixes bosses. El terra i les superfícies afectades es netejaran amb paper banyat amb hipoclorit de sodi al 20% o etanol al 70%. Els papers es rebutjaran en la bossa d'autoclau. Les bosses d'autoclau amb residus s'inactivaran en l'autoclau situada en la mateixa Àrea de Fisiologia Vegetal.

En cas d'accident, l'investigador responsable de l'experiment inclourà la informació rellevant en el Registre de Cultiu i n'informarà el responsable de vigilància i control de la instal·lació de confinament al més aviat possible.

Emmagatzematge i transport de plantes i llavors MG:

| 10 |

L'emmagatzematge, cultiu (inclosa la germinació) i manipulació de qualsevol planta MG únicament es pot realitzar en la instal·lació de confinament fitotró. El transport per qualsevol mitjà de plantes MG (o les seves llavors o parts) requerirà d'una avaluació del risc per a la salut humana i el medi ambient i es compliran les normes específiques de seguretat i higiene professional (article 13.2 del Reial decret 178/2004). El transport de plantes MG (o les seves llavors o parts) des de o cap a fora de la Unió Europea ha d'anar acompanyat de la documentació establerta en el Protocol de Cartagena, de seguretat en biotecnologia. Per a més informació, consultau el manual del curs de bioseguretat o contactau la persona responsable de vigilància i control de la instal·lació de confinament.

Hivernacle de bioseguretat de nivell 2:

Consultau el manual del curs de bioseguretat i compliu les indicacions del responsable tècnic de la instal·lació.