

PRESENTACIÓN DEL ÁREA DE SERVICIO DE CULTIVO CELULAR 2023 (LÍNEA, PRIMARIO Y ESPERMATOZOIDES)

ihemcomce@gmail.com

Misión

El área de servicio de cultivo celular, localizada en el edificio del Instituto de Histología y Embriología de Mendoza (IHEM), es una unidad básica en nuestro instituto que tiene el objetivo de dar apoyo a la investigación en el IHEM, facilitando la labor de los investigadores y becarios que forman parte de este centro, así como proporcionar servicios y asistencia en esta área de trabajo. Esta unidad pone a disposición de sus usuarios la posibilidad de cultivar y experimentar con células de distintos orígenes, tanto cultivos primarios como líneas celulares establecidas. La dirección del IHEM ha atribuido el rol organizador de este servicio a la Comisión de Cultivo Celular (COMCE) y ha solicitado la presentación formal del siguiente reglamento a los usuarios.

REGLAMENTO DE FUNCIONAMIENTO

Este servicio es arancelado, estimándose un valor fijo por usuario, el cual se actualiza cada 6 meses aproximadamente. La lectura y firma del presente reglamento habilita a convertirse en usuarios y compromete a seguir las pautas establecidas para el correcto funcionamiento del sector.

ES RESPONSABILIDAD DE LOS USUARIOS

- a. Respetar y cumplir las normas establecidas en el presente reglamento.
- b. Respetar a los integrantes de la comunidad laboral, manteniendo un trato cordial y adecuado.
- c. Cumplir con el pago de aranceles en tiempo y forma. En caso de no abonar se deberá respetar las sanciones establecidas por la COMCE (**ANEXO IV - REGLAMENTO DE APORTES (ORDINARIOS Y EXTRAORDINARIOS) Y SANCIONES**).
- d. Cuidar las instalaciones, el mobiliario, el equipamiento puesto a disposición, haciéndose responsables de los daños ocasionados. Dar aviso inmediato en caso de detectar desperfectos o irregularidades.
- e. Solicitar autorización a la COMCE para la incorporación de nuevos usuarios: pasantes, becarios y/o investigadores para el uso del área de cultivo celular.
- f. Anotarse en las planillas de registro de turnos para la utilización de las salas de cultivo, estableciendo el día y horario que utilizará las mismas e identificándose con nombre, apellido y laboratorio en el que trabaja.
- g. Colaborar en las limpiezas periódicas que se realizan en las salas y equipamientos cuando sea requerido.

1. ORGANIZACIÓN

1.1. El área de servicio cuenta actualmente con:

Sector cultivo línea Piso 1:

- Un área de bioseguridad tipo 2 compuesta por 3 salas de cultivo (sala 1, sala 4 y sala 5) y la sala 0 (que se puede convertir en sala de bioseguridad 3 en caso de ser necesario), 1 sala de

lavado y esterilización de material, 1 sala de preparación de material para esterilizar que funciona además como sala de centrifugas, 1 sala de microscopía y 1 depósito.

-Un área de bioseguridad tipo 3 compuesta por 1 sala de cultivo, 1 área de duchas, 1 sala de microscopía y 1 pasa bandejas.

Sector cultivo primario Piso 1:

- 2 salas de cultivo primario, 1 sala de microscopía, 1 sala de procedimientos.

- 1 sala de espermatozoides.

Sector nitrógeno PB:

- Sala de nitrógeno en la que se localizan los tanques de nitrógeno líquido destinados a la criopreservación de los distintos tipos de células, ubicadas en el área de freezers de la planta baja.

1.2.Equipamiento:

En la actualidad este área de servicio cuenta con los siguientes equipos:

- Cabinas de flujo laminar.

- Incubadores de CO₂. Este equipamiento se complementa con una instalación centralizada de CO₂ que asegura el suministro constante y automatizado.

- Autoclave

- Centrifugas.

- Microscopios invertidos.

- Heladeras y un freezer de -80°C específico del área, localizado en la sala de freezers, para un adecuado almacenamiento de materiales del área.

- Equipamiento menor disponible: baños de agua, agitadores.

1.3.Servicios que se brindan

1.3.1.Asesoramiento técnico a los usuarios de la unidad, a través de módulos de formación específica por parte del Personal de Apoyo (CPA) responsable del área.

1.3.2.Gestión del uso y aprovechamiento de las instalaciones, poniendo a punto y manteniendo la infraestructura para sacar el máximo rendimiento posible. Gestión de servicios técnicos.

1.3.3.Auditoría y revisión del cumplimiento de las normas de trabajo instauradas con la finalidad de evitar los riesgos para los usuarios y la contaminación de los cultivos celulares, exigiendo la práctica de buenos hábitos de trabajo a todos los usuarios de estas dependencias.

1.3.4.Control exhaustivo y periódico de las instalaciones y su equipamiento.

1.3.5.Control de parámetros críticos para el cultivo celular, tales como temperatura y abastecimiento de CO₂ en los incubadores.

1.3.6.Diseño de protocolos y cronograma de limpieza, desinfección y/o esterilización del instrumental utilizado en las salas de cultivos.

1.3.7.Gestión de los residuos generados en el área, así como contención ante eventuales contingencias en cualquiera de los espacios que componen el área de servicio.

Ver Anexo II y III para contingencias en zonas de bioseguridad 2 y 3, respectivamente.

Se define "contingencia" como un incendio, inundación o terremoto.

1.4.Personal y datos de contacto

Este área de servicio cuenta con personal técnico especializado pertenecientes a la Carrera del Personal de Apoyo técnico (CPA) e Investigadores del IHEM.

Contacto:

ihemcultivocelular@gmail.com

2. ARANCELAMIENTO DEL SECTOR

2.1. ARANCEL POR USO DEL SECTOR

2.1.1. El servicio es **ARANCELADO**, y por lo tanto el pago es una obligación contraída por los responsables de los proyectos. El arancel es sin fines lucrativos y responde al pago de los costos relacionados al mantenimiento del sector. La firma del presente reglamento compromete a abonar el arancel correspondiente.

2.1.2. El **arancel** se fija por usuario que haga uso efectivo de la salas de cultivo y su valor se fija en dólares (para mitigar los efectos inflacionarios, se pagará en pesos a la cotización del BNA el día de la cancelación de la deuda). De acuerdo al número de becarios/investigadores, el/la director/a deberá abonar el importe que surja de la suma de los usuarios que están a su cargo. El mismo será destinado la compra de:

- Lavandina, alcohol, papel, algodón, guantes y otros consumibles que hagan al funcionamiento de las salas.
- Equipamiento pequeño, como mangueras, manómetros, adaptadores, soporte de rollo de papel, tubos UV, soportes de tubos UV, etc.

2.1.3. La **forma de abonar el arancel** será a convenir con el sector, ya sea comprando los productos necesarios y presentando la o las facturas de las compras efectuadas, o bien, dando los datos de facturación a los CPA encargados de la compra, quienes proveerán la o las facturas a nombre del investigador/a. En ambos casos, se dejará reflejado el monto que debe abonar de acuerdo al número de usuarios trabajando bajo su responsabilidad. El área no solicitará dinero sino el pago de las facturas.

3. PASOS A SEGUIR PARA SER USUARIO DEL ÁREA DE SERVICIO DE CULTIVO CELULAR.

Cuando un becario o investigador del IHEM requieran ser usuarios del área de servicio, este debe seguir, **OBLIGATORIAMENTE**, los siguientes pasos:

En los sectores de **cultivo de línea y primario** se procede de la siguiente forma:

- El investigador a cargo se contacta con el personal de apoyo del sector de cultivo, vía correo electrónico (ihemcultivocelular@gmail.com), para solicitar el propio acceso o el de su becario/pasante, detallando el tiempo de trabajo y tipo de células con que trabajará.
- El personal de apoyo de cultivo reenvía la solicitud a la COMCE y tras ser aprobada se propone la sala de trabajo que se le designa al nuevo usuario.
- Se le comunica al nuevo/a usuario/a y a su director/a, investigador/a lo pactado y se le envía material de lectura obligatoria con las normas de trabajo y otro material de importancia.
- El entrenamiento del nuevo/a usuario/a está a cargo del investigador/a del grupo del cual forma parte o de alguno de sus integrantes.
- Tras haber recibido el entrenamiento, el personal de apoyo observa y evalúa el desempeño del usuario/a y resuelve si está en condiciones para trabajar solo/a.
- Cumplido lo anterior, el/la investigador/a a cargo del nuevo/a usuario/a pide el acceso al sector enviando una solicitud al correo del responsable de accesos con copia al correo de

cultivo, quien da el visto bueno. Además, y SOLO CON EL VISTO BUENO DE LOS RESPONSABLES TÉCNICOS DEL ÁREA DE SERVICIO, se procederá a que el aspirante y su responsable científico se notifiquen y firmen el presente reglamento, momento a partir del cual el aspirante se convierte en usuario.

- El personal de apoyo comparte con el/la nuevo/a usuario/a la planilla de turnos al correo indicado por el/la usuario/a.
- El personal de apoyo continuará auditando regularmente el trabajo del nuevo usuario para verificar que el mismo sea correcto.

4. REGLAMENTACIÓN GENERAL DE TRABAJO EN EL ÁREA DE SERVICIO DE CULTIVO CELULAR

A continuación, se detallarán aspectos generales del procedimiento en las distintas salas de cultivo que comprenden el área de servicio. En cualquier caso, es importante aclarar que pueden surgir nuevas reglamentaciones o modificaciones de las aquí incluidas y que, en ese caso, los responsables técnicos del servicio serán los encargados de la comunicación y del cumplimiento de las mismas.

PROTOCOLO ESTANDARIZADO DE TRABAJO

4.1. Ingreso y uso de las salas

Todos los usuarios del servicio están plenamente autorizados a entrar en el sector.

Para ingresar al área se debe usar un guardapolvo que solamente esté destinado al área y que permanezca en la misma (debidamente identificado). NO se podrá ingresar con el guardapolvo que utiliza habitualmente en el laboratorio de trabajo. El autoclave se encuentra ubicado en sala de lavado con la finalidad que las personas que requieran su uso no ingresen a las salas de cultivos. Además, en la sala 3 existen espacios claramente identificados para colocar el material ya esterilizado como así también para el material a ser esterilizado.

4.2. Reglamento de trabajo en las salas del servicio

- En toda el área se debe trabajar CON GUANTES sin excepción.
- Cada sala tendrá una planilla de turnos que los usuarios deberán respetar.
- La puerta de cada sala de cultivo, mientras trabajan los usuarios, debe permanecer cerrada.
- El número de personas dentro de cada sala no debe ser superior a 2, a excepción de la sala 1 y sala 5 que, como contienen dos cabinas de flujo laminar, podrá haber hasta 3 personas simultáneamente.

4.3. Gestión de los residuos patológicos

- Cada sala cuenta con una caja con bolsa roja específica para el descarte de: material biológico, plásticos que han contenido las células y soluciones, y guantes usados.
- Para proceder al descarte, el material biológico deberá ser descontaminado previamente con solución de hipoclorito de sodio al 30%, la cual se encuentra disponible en cada sala.
- Cuando una bolsa roja se llena, los CPA del área son responsables de avisar al responsable de Residuos Peligrosos para que retire la caja en uso y la reemplace por una nueva.

4.4. Actuación en el caso de CONTAMINACIONES

Cuando un usuario o los responsables del área detecten cualquier tipo de contaminación, procederán a dar aviso al dueño del cultivo para que descarte el material contaminado. En el

caso de que la contaminación sea con levaduras, se procederá a dar aviso a todos los usuarios de la sala que estén trabajando en la estufa donde se detectó originalmente la contaminación. Además, se procederá a la limpieza y desinfección de la sala y sus equipos. Queda **TERMINANTEMENTE PROHIBIDO** trasladar células entre incubadores, por más que no aparezcan contaminadas. Cuando se identifique una contaminación, los usuarios deberán registrarla en la planilla de contaminaciones que se encuentra en la sala y deberán colocar la fecha en la que se inicia el proceso de descontaminación en el material a descartar (placas, tubos, etc.)

4.5. Protocolo de limpieza de las salas y el equipamiento

- Existirá disponible en el área de servicio una planilla de registro de limpieza de salas y equipamiento.
- En términos generales, cada sala se limpiará todos los días, y el equipamiento (cabinas de flujo laminar, incubadores y otros) se limpiarán una vez por mes aproximadamente.
- La limpieza de salas y equipamiento forma parte de las tareas de los CPA del área con la colaboración de los usuarios.

ANEXO I
GESTIÓN, UTILIZACIÓN Y ARANCEL NITRÓGENO LÍQUIDO

Es importante respetar este protocolo para el correcto funcionamiento del sector.
Relevamiento de tanques del sector de cultivo celular realizado a fines de 2022:

Tanque	Investigador/a
A / B / C A = 38 L B= 38 L C= 38 L	Delgui
	Romano
	Colombo
	Fader
	Vanrell
	Pavarotti
	Aguilera
35 L	Croci - Ruete - Sosa
47 L	Bustos - Uhart
	Cebrián
34 L	Roqué - Branham - Real - Campoy - Mayorga
20 L	Berón
20 L	Sosa - Carvelli - Barrera
20 L	Lopez
20 L	Polo

El uso de los tanques de nitrógeno será arancelado. El importe del mismo dependerá de la periodicidad con la que se requiera recargar los tanques. Se podrá abonar por medio del STAN de microscopía, por lo cual se podrá solicitar factura.

El proveedor de nitrógeno líquido es PRAXAIR, sobre pedido por parte del IHEM, un termo de 136 litros de N² cada vez. El contenido se reparte entre todos los tanques del IHEM de forma tal que todos ellos queden con un nivel adecuado de N² y hasta el siguiente pedido de un nuevo termo. Se notifica a los encargados de cada termo el día que se realiza el pedido y el momento en que llega al instituto para que estén atentos al relleno.

La adquisición de nuevos tanques por parte de los/as investigadores/as del IHEM deberá ser una medida evaluada de acuerdo a su necesidad y factibilidad por la COMCE.

- El N² necesario para la realización de las técnicas de Crioultramicrotomía, Criofractura u otra técnica o experimento que requiera una cantidad significativa, deberá ser gestionado de forma totalmente independiente del de uso general del mismo.

ANEXO II
PROTOCOLO DE CONTINGENCIAS BIOSEGURIDAD 2

Es importante respetar este protocolo para que nos cuidemos nosotros, pero también al resto de las personas que trabajan en nuestro edificio, ya que la CUSTODIA de esta área es fundamental en caso de contingencias (ej: temblor, incendio).

Debido a que el sector de Bioseguridad 2 carece de un grupo electrógeno conectado a los equipos, es de vital importancia que se cumplan debidamente las siguientes normativas con el fin de garantizar la seguridad en el sector .

1. Lo primero a realizar es apagar los interruptores del tablero eléctrico para evitar que ocurran accidentes. El tablero de Bioseguridad 2 se encuentra en el laboratorio 102, sobre la pared del lado derecho de la puerta de entrada.
2. Salir del área lo antes posible, dejando las puertas cerradas.
3. Avisar del procedimiento al BRIGADISTA, a los bomberos o defensa civil para que asistan en la evacuación, en caso de ser necesario.
4. Dejar registrado el incidente en el libro de actas de Higiene y Seguridad.

ANEXO III
PROTOCOLO DE CONTINGENCIAS BIOSEGURIDAD 3

Es importante respetar este protocolo para que nos cuidemos nosotros, pero también al resto de las personas que trabajan en nuestro edificio, ya que la CUSTODIA de esta área es fundamental en caso de contingencias.

Contamos con una Unidad de Poder Ininterrumpible (UPS) conectada "on line" a los equipos (flujos laminares e incubadores de CO₂), la cual nos da una protección máxima de 8 minutos en caso de corte de luz, accidente o catástrofe ambiental. Es importante que las normativas abajo descritas se cumplan para garantizar seguridad en la sección de Bioseguridad 3. Recordar que TODOS somos RESPONSABLES SOLIDARIOS al trabajar en esta área con *Mycobacterium*, *virus SARS-CoV-2*, etc.

1. Los usuarios deben reconocer todo el área con anterioridad, saber donde se encuentra el tablero eléctrico, "shaker" para cultivo de *Mycobacterium tuberculosis*, recipiente con CLORO destinado a la eliminación de los tubos de *Mycobacterium* en caso de extrema necesidad y salida.
2. Ante una contingencia, lo primero a realizar es cerrar los flujos laminares y luego apagar los interruptores del tablero eléctrico que se encuentra en la sala P0, para evitar que ocurran accidentes. Recordar que la luz está conectada al grupo electrógeno, por lo que ante un corte de electricidad la luz no se apagará.
3. Tomar los tubos que contengan patógenos y colocarlos sin abrir en un recipiente de CLORO destinado a tal fin.
4. Salir del área lo antes posible, dejando las puertas cerradas, los guardapolvos deben quedar dados vuelta en el área de cambiado ubicada antes de la ducha.
5. En el caso de necesitar el BOTIQUÍN de primeros auxilios en forma urgente, este se ubica en la sala del microscopio.
6. Avisar del procedimiento que se hace al BRIGADISTA, también a los bomberos o defensa civil para que vengan a ayudar en la evacuación, en caso de ser necesario.
7. Evitar el contacto con el resto de las personas hasta que se haya podido realizar la ducha corporal que es OBLIGATORIA para evitar el contagio del patógeno al resto del instituto.
8. Dejar registrado el incidente en el libro de Actas de Higiene y Seguridad apenas se restablezca la calma.

ANEXO IV

REGLAMENTO DE APORTES (ORDINARIOS Y EXTRAORDINARIOS) Y SANCIONES

APORTES POR USO DEL SECTOR

El servicio es **ARANCELADO**, y por lo tanto el pago es una obligación contraída por los responsables de los proyectos. La firma del presente reglamento compromete a abonar el arancel correspondiente.

El **arancel** se fija por usuario que haga uso efectivo de la salas de cultivo y su valor se fija en dólares (para mitigar los efectos inflacionarios, se pagará en pesos a la cotización del BNA, el día de la cancelación de la deuda). De acuerdo al número de usuarios, el/la investigador/a a cargo deberá abonar el importe que surja de la suma de los usuarios que están a su cargo. Se utilizará el sistema actual de ronda de pago, por lo que según las necesidades del sector, se solicitará el importe que le corresponda a cada investigador/a.

El mismo será destinado para la compra de:

- Lavandina, alcohol, papel, algodón, guantes y otros consumibles que hagan al funcionamiento de las salas.
- Equipamiento pequeño, como mangueras, manómetros, adaptadores, soporte de rollo de papel, tubos UV, soportes de tubos UV, etc.

APORTES POR REPARACIÓN DE EQUIPAMIENTO

Toda solicitud de reparación de equipos debe ser elevada a la COMCE y ésta deberá autorizar la misma.

Los aportes monetarios para la reparación de equipamiento serán obligatorios para todos los investigadores/as que trabajan o tienen gente trabajando en el sector de cultivo, independientemente de que se haya, o no, aportado dinero para la compra de equipamiento. Debido a que los equipos sufren un desgaste con el uso cotidiano, se hace necesario realizar tareas de mantenimiento y así garantizar a los usuarios el normal funcionamiento del sector. La **forma de justificar el pago del arancel** será mediante presentación de una o más facturas hechas a nombre del el/la investigador/a donde se vea reflejado el monto que debe abonar.

APORTES POR COMPRA DE EQUIPAMIENTO GRANDE

Los aportes para la compra de grandes equipos se realizarán de acuerdo a las necesidades del sector. Se tendrá en cuenta a los investigadores/as que ya aportaron para la compra de equipos de gran porte.

APORTES POR NITRÓGENO LÍQUIDO

El **Nitrógeno líquido**, será **abonado aparte** del ARANCEL por uso de las salas (**ver ANEXO I**).

SANCIONES

El director/a del grupo usuario del servicio será notificado de la deuda a pagar por correo electrónico y tendrá un plazo de 30 días para realizar dicho pago. Si a los 15 días de notificado por primera vez no ha realizado el pago, se le recordará nuevamente por correo electrónico que dispone solo de 15 días para realizar el pago del monto adeudado. Si pasado el plazo de 30 días, el director/a del grupo aún no ha abonado la deuda, se procederá a la suspensión del uso de los equipos del sector de cultivo, tanto para el director/a, como para el grupo dirigido por el/ella. Posteriormente, serán notificados de dicha sanción, tanto el Director/a del IHEM, como su Consejo Directivo. El acceso a los equipos del sector de cultivo por parte del grupo del director sancionado se restablecerá una vez cancelada la totalidad de lo adeudado.

Es importante resaltar que todos los/las usuarios/as y directores/as deben tener pleno conocimiento del presente reglamento, y en caso de NO cumplirse con alguna de las normas de dicho reglamento, como así también con el pago de aranceles (aportes por uso del sector y nitrógeno líquido), y normas internas de funcionamiento dispuestas podrán ser suspendidos e inhabilitados para el uso de la sección por un tiempo estipulado de común acuerdo entre los CPA y miembros de la COMCE.