

Annex II: Composició de diferents medis de cultiu i colorants

• Medis de cultiu

Medi LB

Triptona	10 g
Extracte de llevat	5 g
NaCl	10 g
Aigua destil·lada	1000 ml

L'agar LB es prepara idènticament, afegint 15 g d'agar-agar per litre. Ajustar el pH a 7.2. Esterilitzar a 121 °C durant 15 min.

Medi agar Sabouraud

Glucosa	40 g
Peptona de caseïna	5 g
Peptona de carn	5 g
Agar	15 g
Aigua destil·lada	1000 ml

El pH del medi és aproximadament 5.6. Esterilitzar a 121 °C durant 15 min. Refredar fins a 55 °C i repartir en plaques de Petri.

• Colorants

Blau de metilè

Blau de metilè	0.5 g
Aigua destil·lada	100 ml

Es prepara dissolent el blau de metilè en l'aigua.

Cristall violeta

Solució A: Cristall violeta	2 g
Alcohol etílic	20 ml
Solució B: Oxalat amònic	0.8 g
Aigua destil·lada	80 ml

Un cop preparades les dues solucions, es barregen totes dues per obtenir el colorant.

Lugol

Iodur potàssic	2 g
Iode	1 g
Aigua destil·lada	300 ml

El iodur potàssic i el iode hauran d'estar finament triturats. Un cop pesats, afegir-hi uns 2 ml d'aigua destil·lada per dissoldre'ls, i un cop ja barrejats, anar afegint la resta de l'aigua fins a 300 ml.

Aquest colorant s'ha de mantenir protegit de la llum. Per a això, embolicar l'ampolla en paper d'alumini i guardar-lo en un armari.

Safranina alcohòlica

Safranina	0.25 g
Etanol 95%	10 ml
Aigua destil·lada	100 ml

Preparar la safranina al 2.5% en dissolució alcohòlica, dissolent els 0.25 g de safranina en l'etanol agitant vigorosament. Un cop preparat, afegir l'aigua destil·lada i filtreu la solució fent servir paper de filtre.

Safranina aquosa

Safranina	0.25 g
Aigua destil·lada	100 ml

Preparar dissolent la safranina en l'aigua.

Verd de malaquita

Verd de malaquita	0.76 g
Aigua destil·lada	100 ml

Solució aquosa saturada al 7.6% per dissolució del verd de malaquita en l'aigua.

Negre Sudan B

Negre Sudan B	0.3 g
Etanol 70%	100 ml

Colorant tinció àcid resistent (Ziehl-Nielsen)

A. Solució alcohol-àcida:	HCl	3 ml
	Etanol 95%	100 ml

B. Fucsina fenicada

Solució 1: Fucsina bàsica	0.3 mg
Etanol	10 ml

Solució 2: Fenol	5 g
Aigua destil·lada	95 ml

Barrejar les solucions 1 i 2

Annex III



Universitat Autònoma de Barcelona

Normes de seguretat als laboratoris docents

Aquest document descriu el conjunt de normes generals d'actuació (funcionament, seguretat i conducta) per a totes aquelles persones que participin en les pràctiques docents de la titulació de Biologia de la Facultat de Biociències de la UAB. La seva descripció està feta des d'una visió basada en la qualitat, la prevenció de riscos i el respecte al medi ambient.

Objectius

Garantir la seguretat dels alumnes i resta d'usuaris, prevenint possibles accidents.
Facilitar i mantenir el correcte desenvolupament de la pràctica.
Disposar de les eines necessàries per tal de minimitzar els danys, en cas d'accident.

El professor responsable de la pràctica informará als alumnes d'aquestes normes, a més d'obtenir-ne la seva conformitat amb la signatura d'un document que quedarà dipositat en la secretaria de la Secció

Àmbit d'aplicació

Personal implicat:

- Alumnes.
- Personal d'administració i serveis (PAS).
- Professors responsables de les pràctiques.
- Personal de suport a la docència.

Lloc:

- Laboratoris Integrats de la Facultat de Ciències.
- Laboratoris de docència de les Unitats de la Facultat de Biociències.

Obligacions:

Alumnes:

- Tenir sempre present aquesta normativa.
- Donar conformitat de seguiment de les normes mitjançant la signatura del compromís d'acompliment d'aquestes. Aquest compromís signat serà dipositat a la secretaria del Departament.
- Fer-se responsable del material utilitzat a pràctiques, comproment-se a tornar-lo al final en condicions d'ús correctes per a altres persones.
- Comunicació immediata de qualsevol incidència que es produeixi.
- Considerar algunes circumstàncies personals que poden fer-li més susceptible o sensible en front de possibles riscos (ex. embaràs, al·lèrgies,...).

PAS:

- Vetllar pels nivells de seguretat establerts i pel bon ús de les instal·lacions.
- Abans d'iniciar la pràctica, comprovar que els aparells del laboratori i la resta de material estiguin en perfectes condicions d'ús.
- Classificar, separar i eliminar residus i/o fer-ne la recuperació segons les necessitats del laboratori.
- Atendre els avisos d'avaries dels aparells i de les instal·lacions.

Professor responsable de la pràctica i personal de suport a la docència

- Donar a conèixer als alumnes els riscos per a la seva salut que suposen les pràctiques a realitzar, i les circumstàncies personals que poden potenciar aquests riscos.
- Donar a conèixer als alumnes quins són els equips de protecció individual necessaris (EPI).
- Instruir sobre la manipulació dels productes, els equips i la gestió dels residus de les pràctiques.
- Vetllar per la seguretat dels alumnes fent ús, en cas necessari, de la seva autoritat per tal de que compleixin les normes (Llei 31/1195, BOE de 10 de novembre de 1995, pàg. 32590).
- En cap cas, el professor/a responsable deixarà el laboratori docent sense una persona responsable. En cas d'absència momentània haurà d'estar localitzable.

RECONEIXEMENT DE L'ESPAI

- Localitzar i familiaritzar-se amb els elements de seguretat (extintors, mantes antifoc, dutxes de seguretat, rentauulls, vitrines, ...).
- Localitzar les sortides d'emergència i la farmaciola.

ALUMNES

ÚS DEL LABORATORI

Hàbits personals – Normes d'higiene

- Obligacions:
- Fer ús correcte dels EPI i roba de treball: bata cordada (preferentment de cotó), ulleres, mascareta, guants,...
- Recomanacions:
- Dur els cabells llargs recollits.
 - Evitar objectes (collarets, penjolls, braçalets, anells,...) que es puguin enganxar o arrossegar.
 - Portar sempre les cames ben protegides.
 - Dur sabates tancades.
 - Procurar no dur lents de contacte. En cas contrari, dur sempre posades les ulleres de seguretat.

Conducta al laboratori

- La conducta ha de ser correcta. No jugar, córrer, cridar, etc...

- No menjar, beure ni fumar al laboratori.
- No manipular innecessàriament encenedors o llumins.
- Rentar-se les mans sempre abans i després de la pràctica.
- Tenir cura de no tocar-se els ulls i boca després de manipular productes químics o biològics.
- No abandonar el lloc de treball mentre s'estigui duent a terme alguna reacció o destil·lació.
- Informar al professor responsable de la pràctica de qualsevol accident i/o incident.
- No realitzar mai un experiment no autoritzat pel professor responsable de la pràctica.

Condicions de l'àrea de treball

- Mantenir-la lliure d'objectes personals (carpetes, llibres, telèfons...) que no siguin necessaris per la pràctica.
- Mantenir-la neta i endreçada. Tot producte vessat s'haurà de netejar immediatament amb la supervisió del professor responsable.
- El material i els aparells utilitzats s'han de deixar sempre nets i en perfecte estat d'utilització.

MANIPULACIÓ DELS MICROORGANISMES

- El professor responsable de la pràctica exposarà el procediment a seguir per a la manipulació dels microorganismes utilitzats a la pràctica.
- L'alumne manipularà els microorganismes seguint escrupolosament les indicacions del professor.
- Manipuleu els microorganismes sempre amb ulleres de protecció i la bata ben tancada.
- No pipetegeu mai amb la boca un cultiu o solució líquida que contingui microorganismes.
- No porteu a la butxaca cultius o solucions que continguin microorganismes.
- Aviseu al professor en cas que hi hagi qualsevol contacte entre els microorganismes i la vostra pell o mucoses.
- Els alumnes que tinguin ferides a les mans hauran de protegir-les amb guants i comunicar aquesta circumstància al professor.
- Els residus biològics requereixen de tractaments d'esterilització abans de ser eliminats. No llenceu mai un cultiu líquid per la pica ni un cultiu sòlid directament a les escombraries.
- Tot el material d'un sol ús contaminat s'ha d'esterilitzar abans de llençar-lo.
- Hi haurà una zona clarament rotulada en el laboratori perquè l'alumne dipositi el material que s'ha d'esterilitzar.
- No passar els braços ni abocar el cos per sobre dels becs Bunsen quan siguin encesos. Tindrem menys probabilitat de cremar-nos si treballem asseguts davant de la flama.

ÚS DELS PRODUCTES QUÍMICS

- No substituir mai un producte químic en un experiment per un altre, si no és sota la indicació del professor responsable de la pràctica.

- No dur mai a la butxaca productes químics.

Identificació

- Reconèixer el significat dels pictogrames en l'etiquetatge dels productes químics perillosos.



- Llegir bé l'etiqueta abans d'obrir i usar un determinat producte.
- Identificar degudament les solucions preparades al laboratori (identificar el producte, data de preparació i data de caducitat, si s'escau) mitjançant etiquetes fixes.
- No agafar mai un producte d'un recipient no etiquetat.
- No s'ha d'enganxar mai una etiqueta sobre una altre anterior.

Manipulació

- No tocar amb les mans, inhalar, tastar o olorar qualsevol producte químic del que no esteu degudament informats.
- Obrir els reactius emprats només en el moment del seu ús. Després tancar-los correctament.
- Utilitzar els EPI corresponents (guants, ulleres, visera) quan manipuleu productes que comportin risc:
 - Àcids o bases: utilitzar visera de protecció facial.
 - Tòxic o corrosius: utilitzar guants de làtex o nitril.
 - Productes d'alta i baixa temperatura: utilitzar guants antitèrmics.
 - Fer ús d'ulleres de seguretat.
- No pipejar mai productes líquids directament amb la boca, especialment àcids o bases concentrats. Utilitzar sempre un dispositiu especial: provetes, pipejador automàtic, dispensadors.
- Els productes que desprenen vapors tòxics, corrosius, irritants, lacrimògens o inflamables seran manipulats sota vitrina d'extracció de gasos.
- En productes líquids, no introduir la pipeta dins d'ampolla de reactiu. Aboqueu una quantitat de reactiu en un recipient més petit i de fàcil manipulació (etiquetat/retolats correctament).
- No retornar a l'ampolla el reactiu que us ha sobrat; tractar-lo com a residu.
- No escalfar mai un recipient totalment tancat. Evitar dirigir-lo a qualsevol persona. Assegurar-vos que no hi ha productes inflamables al seu voltant, en especial dissolvents.
- No transportar innecessàriament els reactius i/o productes d'un lloc a un altre. Si s'ha de fer, fer-ho agafant-los pel fons i mai pel tap.

ÚS DELS PRODUCTES BIOLÒGICS

- Manipuleu els cultius sempre amb guants i la bata ben tancada.

- No pipetegeu mai amb la boca un cultiu líquid.
- Aviseu al professor en cas que hi hagi qualsevol contaminació de material.
- Treballeu dins d'una cabina de seguretat biològica sempre que el microorganisme que manipuleu ho requereixi.
- Els residus biològics requereixen de tractaments d'esterilització abans de ser eliminats. No llenceu mai un cultiu líquid per la pica ni un cultiu sòlid directament a les escombraries.
- Tot el material d'un sol ús contaminat s'ha d'esterilitzar abans de llençar-lo.
- No passar els braços ni abocar el cos per sobre dels becs Bunsen quan siguin encesos. Tindrem menys probabilitat de cremar-nos si treballem asseguts davant de la flama.

ÚS DEL MATERIAL DE VIDRE

- No utilitzar mai material de vidre en mal estat (esquerdes, vores trencades,...)
- No dur a la butxaca material de vidre.
- Ficar les peces defectuoses i fragments en els contenidors específics per a vidre.
- No forçar directament amb les mans les tanques d'ampolles, claus de pas,... que s'hagin obturat.

MANIPULACIÓ D'EQUIPS I APARELLS

- No utilitzar mai un equip o un aparell que no s'especifiqui en la pràctica.
- No utilitzar mai un equip o un aparell sense conèixer perfectament el seu funcionament. Davant qualsevol dubte o problema en la seva utilització, consultar-ho al professor responsable.
- No manipular mai els equips amb les mans humides o si s'hi ha vessat líquid.
- No connectar a la xarxa elèctrica cables o connexions en mal estat.

GESTIÓ DE RESIDUS

- Cada tipus de residu es llençarà al recipient adequat, que estarà convenientment etiquetats.
- No mesclar els residus que puguin ser incompatibles. Davant de qualsevol dubte preguntar-lo al/la professor/ra.
- Abocar els residus als recipients de forma lenta i controlada.
- No omplir els recipients més del 90% de la seva capacitat, per tal d'evitar esquitxades, vessaments i sobrepressions.
- No abocar directament a la pica cap tipus de producte líquid, excepte en el cas que el professor responsable indiqui el contrari (dissolucions salines neutres)
- No abocar a les piques productes o residus sòlids que puguin embussar-les.
- Tot material impregnat de producte químic tòxic inflamable,... ha de ser tractat com a residu especial.

ACTUACIONS EN CAS D'ACCIDENT

Els alumnes hauran d'informar ràpidament de qualsevol accident al/la professor/a responsable. En cas que es consideri necessari es demanarà assistència mèdica.

Foc al laboratori

Evacuar el laboratori, encara que el foc sigui petit, conservant la calma.

Foc petit: Retirar els productes i materials inflamables que estiguin al voltant. Intentar ofegar-lo o utilitzar l'extintor. No utilitzar mai aigua per apagar un foc provocat per un dissolvent.

Foc gran: Si no es pot controlar el foc, donar l'alarma de foc a la persona responsable i evacuar amb calma el laboratori.

Foc al cos: Si us cremeu la roba, demaneu ajut immediatament. Tireu-vos a terra i rodeu sobre vosaltres mateixos per tal d'apagar les flames. Si la dutxa de seguretat no està just al vostre costat, no correu ni intenteu arribar-hi. Si un company s'està cremant, tancar-lo amb la manta ignífuga i fer-lo rodar per terra. Si la dutxa de seguretat és a prop, porteu-lo fins a ella. No utilitzar mai un extintor sobre una persona. Un cop apagat el foc, mantenir la persona ajagada, procurant que no es refredi fins que arribi l'assistència mèdica.

Cremades

Les produïdes per material calent, banys, plaques,... es tractaran submergint la zona afectada amb aigua freda durant 10-15 minuts. Les cremades greus requereixen atenció mèdica immediata. En aquest cas, no utilitzar cremes o pomades greixoses.

Talls

Rentar-lo bé amb aigua corrent durant 10 minuts com a mínim. Si és petit i aviat deixa de sagnar, rentar-lo amb aigua i sabó i aplicar un apòsit adequat. Si és gran i no para de sagnar demanar assistència mèdica immediatament.

Vessament de microorganismes sobre la pell

Rentar la pell amb aigua corrent i sabó i comunicar-ho al professor/a.

Vessament de productes químics sobre la pell

Rentat de forma immediata amb aigua corrent 10-15 minuts. Si la bata i/o roba s'ha contaminat, treure-la ràpidament. Si no hi ha prou amb el rentat de la pica, utilitzar la dutxa de seguretat. En cas que es consideri necessari, demanar assistència mèdica.

Esquitxades de microorganismes als ulls

Fer ús immediatament del rentauells, 15 minuts com a mínim. Cal mantenir l'ull obert i separar amb els dits les parpelles per tal de facilitar el rentat. Demanar assistència mèdica si és necessari

Corrosió als ulls

El factor temps és essencial. Fer ús immediatament del rentauulls, 15 minuts com a mínim. Cal mantenir l'ull obert i separar amb els dits les parpelles per tal de facilitar el rentat. Demanar assistència mèdica, per petita que sembli la lesió.

Ingestió de productes

No provocar el vòmit si el producte ingerit és corrosiu. Diluir el corrosiu donant a beure abundant quantitat d'aigua.

Ingestió de microorganismes

Comunicar-ho al professor i demanar assistència mèdica si és necessari.

Inhalació de productes.

Conduir immediatament la persona afectada a un lloc amb aire fresc. No deixar-la mai sola. Demanar assistència mèdica immediata.

EVACUACIÓ.

En cas que sentiu la sirena d'alarma deixeu immediatament el que esteu fent. Seguiu les indicacions del responsable de pràctiques i si aquest ordena l'evacuació del laboratori cal seguir les següents indicacions:

- Mantingueu la calma.
- No us entretingueu, no us separeu del vostre grup, no intenteu sortir abans dels que van davant vostre.
- No agafeu carpetes, bosses, motxilles o altres complements voluminosos que puguin obstaculitzar la sortida, la vostra i la dels altres.
- Respecteu la senyalització d'emergència
- No utilitzeu els ascensors.

ELEMENT PERILLÓS + ERROR HUMÀ → ACCIDENT

OBLIGACIONS DE SEGURETAT

- I.** Llegir atentament la normativa de seguretat en els laboratoris docents.
- II.** Familiaritzar-se amb els elements de seguretat del laboratori i el significat dels pictogrames.
- III.** Portar sempre la bata posada i l'equipament de protecció individual (EPI) necessari en cada cas: guants, ulleres i careta de protecció.
- IV.** Llegir atentament el guió i protocol de la pràctica abans d'iniciar-la. Fer un ús correcte dels equips i instruments i no fer experiments no autoritzats.
- V.** No menjar, fumar, beure, ni cap altre activitat no apropiada (jugar o córrer) dins del laboratori.
- VI.** Conservar la zona de treball neta i endreçada.
- VII.** No olorar, tastar o inhalar els productes químics. Manipular-los amb cura i si és necessari, fer servir la vitrina d'extracció de gasos.
- VIII.** En cas de vessament o trencament de material de vidre, consultar ràpidament com s'ha de recollir/netejar.
- IX.** Dipositar els residus en els llocs destinats per això, no llançar residus químics per la pica sense consultar-lo abans amb el professor.
- X.** Davant de qualsevol dubte, o si detecteu qualsevol risc, consultar sempre al professor de pràctiques abans d'iniciar l'activitat.