



## METODI DI PULIZIA E DECONTAMINAZIONE DEGLI INCUBATORI PER COLTURE CELLULARI

### Modelli:

Serie MCO-170AC  
Serie MCO-170AIC  
Serie MCO-170AICD  
Serie MCO-230AIC  
Serie MCO-170M  
Serie MCO-50AIC  
Serie MCO-50M

Manutenzione di base  
per prestazioni ottimali  
e manutenzione in caso  
di contaminazione



**pHcbi**

Температура: 37.0 °C  
Влажность: 5.0 %

Уровень: 1.1

Вкл. [ON] Выкл. [OFF]

**pHcbi**

Температура: 37.0 °C  
Влажность: 5.0 %

Уровень: 1.1

Вкл. [ON] Выкл. [OFF]

**pHcbi**

Температура: 37.0 °C  
Влажность: 5.0 %

Уровень: 1.1

Вкл. [ON] Выкл. [OFF]

**pHcbi**

Температура: 37.0 °C  
Влажность: 5.0 %

Уровень: 1.1

Вкл. [ON] Выкл. [OFF]

# Metodi di pulizia e decontaminazione degli incubatori per colture cellulari

## Sommario

Introduzione agli incubatori per colture cellulari



Metodi di pulizia e decontaminazione



Introduzione agli incubatori per colture cellulari	4
Aspetti importanti per l'installazione degli incubatori	6
Aspetti importanti per l'utilizzo	8
Metodi di pulizia e decontaminazione	8
Manutenzione di base degli incubatori per colture cellulari	9
Suggerimenti per ridurre al minimo la contaminazione	13
Manutenzione in caso di contaminazione	
– Decontaminazione UV 24 ore	14
– Decontaminazione H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	18
– Doppia sterilizzazione	20
Manutenzione in caso di ruggine	21
Migliori pratiche e buona tecnica di laboratorio	22

# Introduzione agli incubatori per colture cellulari

L'incubatore per colture cellulari è progettato per replicare artificialmente in vitro le condizioni essenziali per la fisiologia in vivo tipica dei modelli umani e animali. La crescita cellulare al di fuori di un ambiente naturale presenta diverse sfide associate all'esposizione a microrganismi che non sono presenti nello stato in vivo. A seconda del tipo di colture cellulari gestite, diversi parametri operativi devono essere attentamente controllati in termini di precisione, ripetibilità e flessibilità delle scelte dei valori di riferimento. Questi includono il controllo della temperatura e dei gas.

- Gli incubatori per colture cellulari sono progettati per stabilire e mantenere un ambiente stabile e controllato, regolando la temperatura a un valore di riferimento tipico di 37 °C o in un intervallo compreso tra la temperatura ambiente fino a punti superiori ai 37 °C.
- I gas dell'incubatore includono tipicamente CO<sub>2</sub> e/o O<sub>2</sub>.

La CO<sub>2</sub> viene controllata a un preciso valore di riferimento per mantenere il pH desiderato nel terreno di coltura cellulare, sia liquido che in gel. La concentrazione di CO<sub>2</sub> nell'incubatore funziona come un tampone di pH critico.

Alcuni materiali biologici possono richiedere livelli di pH diversi.

Le concentrazioni di riferimento di CO<sub>2</sub> desiderate possono differire. La maggior parte dei terreni contiene un indicatore che aiuta a rilevare la variazione del pH.

- Gli ambienti di coltura cellulare ottimali devono includere l'umidificazione per prevenire l'essiccamento dei terreni di coltura cellulare.

Mentre alcuni incubatori sono dotati di sistemi di umidificazione interna con serbatoi dell'acqua riscaldata, la maggior parte degli incubatori include vaschette di umidificazione semplificate e rimovibili progettate per contenere acqua distillata sterile che evapora aumentando naturalmente l'umidità relativa all'interno della camera.

- L'uso di acqua deionizzata dovrebbe essere evitato nella vaschetta di umidificazione. A causa della mancanza di ioni, l'acqua deionizzata disperde gli ioni dall'acciaio inossidabile causando la vaiolatura che può portare alla contaminazione. L'acqua deionizzata reagisce con l'alta concentrazione di CO<sub>2</sub> e forma acido carbonico, causando ulteriore corrosione.

## TIPI DI CONTAMINAZIONE DELLA COLTURA CELLULARE

La contaminazione di una coltura cellulare in vitro è solitamente causata dall'introduzione involontaria di uno o più organismi che possono danneggiare o distruggere la coltura cellulare in corso.

Questi organismi includono:

- Batteri (compresi i batteri termofili) e micoplasmi
- Muffe e lieviti
- Virus

Altri contaminanti includono polveri, composti organici volatili (VOC, dall'inglese "volatile organic compounds") provenienti da strumentazione o processi adiacenti, contaminanti crociati provenienti da altre colture in un ambiente di incubazione condiviso e particolato presente nell'ambiente naturale. Indipendentemente dal contaminante o dalla sua fonte, tecniche di laboratorio prudenti possono aiutare a evitare il ripetersi della contaminazione.





## LA BOLLA DELL'INCUBATORE

A differenza dei sistemi chiusi, come i substrati in fibra cava, i bioreattori a serbatoio agitato o i bioreattori ad aria compressa, il tipico incubatore per colture cellulari è una camera condizionata con uno sportello che si chiude contro una guarnizione morbida. Quando la porta è chiusa, l'incubatore crea un ambiente ideale per il processo di coltura cellulare sulla base di parametri di riferimento definiti dall'utente per temperatura, CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub>. L'umidificazione evapora naturalmente dalla vaschetta di umidificazione e l'umidità relativa è sufficiente a eliminare l'essiccazione, specialmente in micropiastre con piccoli volumi di terreno. Alcuni grandi incubatori per colture cellulari utilizzano riscaldatori a immersione per integrare il naturale processo di umidificazione.

L'apertura dello sportello dell'incubatore, tuttavia, provoca la dispersione della bolla condizionata. L'accesso all'attrezzatura per la coltura cellulare per il trasporto a una cabina di sicurezza biologica (BSC) o ad altri processi è una parte normale del flusso di lavoro del laboratorio. L'apertura dello sportello espone le pareti interne dell'incubatore, gli scaffali, la vaschetta dell'acqua di raccolta dell'umidità e i contenitori di coltura a condizioni ambientali che veicolano il potenziale di contaminazione da muffe, lieviti, funghi o altri microorganismi, come micoplasmi e virus. In pratica, a meno che l'incubatore non sia installato in un ambiente sterile, questa esposizione non può essere evitata. Una tecnica corretta può ridurre il potenziale di contaminazione. La prima considerazione è comprendere i sistemi di incubazione di base e in che modo possono ospitare la contaminazione.

## PREREQUISITI PER LA PROGETTAZIONE DELL'INCUBATORE

Il primo passo nella gestione della contaminazione delle colture cellulari è quello di considerare la progettazione dell'incubatore, e in particolare, dell'interno. Tutti i componenti interni esposti all'elevata umidità atmosferica devono essere costruiti in acciaio inossidabile di alta qualità e devono essere facilmente rimovibili (preferibilmente senza attrezzi) per la pulizia manuale o in autoclave. Questi includono ripiani, staffe, plenum, pavimenti, vaschette di umidificazione, soffianti, alloggiamenti per sensori, guarnizioni interne per sportelli e tutto ciò che è presente nella camera durante la coltura cellulare. Le sonde di controllo sono spesso protette da una guaina in acciaio inossidabile. Queste devono essere pulite secondo le istruzioni del produttore.

I componenti realizzati in acciaio inossidabile arricchito o integrato con rame contengono una proprietà germicida intrinseca in grado di resistere agli organismi sospesi nell'aria introdotti nella camera durante l'apertura degli sportelli. Tali materiali sono considerati materiali a controllo "passivo" della contaminazione a causa dell'incapacità degli organismi di sostenere la crescita su queste superfici.



# Aspetti importanti per l'installazione

Sono diversi i fattori da considerare al momento di determinare l'ubicazione permanente dell'incubatore per colture cellulari. È auspicabile collocare l'unità in un punto in cui il viavai di persone è minimo e dove il disturbo dell'aria è ridotto. Questo permette di ridurre la volatilità dell'aria esterna che entra nell'incubatore durante l'apertura dello sportello. Evitare di installare l'incubatore in prossimità di finestre, condizionatori d'aria, diffusori d'aria HVAC a soffitto o a pavimento e prese d'aria di ritorno, tutte fonti di contaminazione dell'aria.

## INSTALLAZIONE, POSIZIONE E SPAZI LIBERI

È importante considerare la funzione della cabina di sicurezza biologica quando si pianifica la mitigazione della contaminazione dell'incubatore.

Se praticabile, posizionare l'incubatore il più vicino possibile alla cabina di sicurezza biologica (BSC, dall'inglese "biological safety cabinet"). Questo limita l'esposizione quando si rimuovono o sostituiscono le colture cellulari per la lavorazione.

L'uso improprio della cabina di sicurezza biologica, l'altezza errata dello schermo frontale, il blocco delle fessure di deflusso e l'uso di strumentazione o attrezzature sulla superficie di lavoro della cabina di sicurezza biologica possono creare percorsi che collegano i contaminanti al laboratorio di coltura cellulare quando si lavora nella cappa. Questi contaminanti vengono poi restituiti all'incubatore dove possono migrare verso altre colture attraverso la contaminazione crociata o verso superfici interne esposte a un'atmosfera condizionata ideale per la crescita cellulare. Mentre le cabine di sicurezza biologica sono solitamente dotate di filtri HEPA progettati per trattenere particelle di 0,3 micron (0,12 micron per i filtri ULPA), i virus più piccoli possono passare facilmente attraverso queste barriere. Anche se il laboratorio di coltura cellulare può normalmente essere sotto pressione positiva, questa può trasformarsi in pressione neutra o addirittura negativa quando una cabina di sicurezza biologica è in funzione, specialmente quando la cabina di sicurezza biologica ha uno scarico collegato al o sopra il filtro di scarico.

Altre apparecchiature di laboratorio come centrifughe, agitatori, e lettori di lastre robotizzati possono aggravare un ambiente con aria altrimenti calma creando aerosol facilmente trasportabili nell'aria.

È importante lasciare spazi liberi accanto e dietro l'incubatore in quanto questo spazio è necessario per fornire un facile accesso a tubi di alimentazione del gas, filtri per tubi, porte di ingresso del gas, porte passanti e tappi di chiusura e qualsiasi componente interno come motori di ventilazione, ventilatori o sensori che devono essere rimossi per la manutenzione.

La maggior parte delle bombole di CO<sub>2</sub>, ad esempio, contiene CO<sub>2</sub> di grado industriale in forma liquida in cui il gas CO<sub>2</sub> evapora e passa attraverso il regolatore di pressione a due stadi sotto forma di gas. Esce dal regolatore a una pressione di circa 20 PSIG, sufficiente a evitare l'introduzione di contaminanti nell'impianto del gas. La CO<sub>2</sub> stessa, tuttavia, contiene spesso particelle microscopiche che possono fornire superfici per i contaminanti. Pertanto, si raccomanda che il tubo di alimentazione della CO<sub>2</sub> finale sia dotato di un filtro HEPA da 0,3 micron prima di passare nell'incubatore.



**Non sono idonei per l'unità i luoghi in cui il viavai di persone è elevato.**

- Posizionare l'incubatore in una stanza pulita o in un luogo a cui hanno accesso poche persone.
- Scegliere una stanza pulita che sia sicura o un posto a cui abbia accesso il minor numero di persone possibili.

**Posizionare l'unità il più in alto possibile rispetto al pavimento.**

- Poiché la presenza di batteri aviotrasportati è inferiore nella parte superiore di una stanza, è opportuno posizionare l'incubatore su un tavolo da laboratorio o altro tipo di supporto.
- Se si impilano due o tre unità, utilizzare una speciale base con rotelle idonea allo scopo.

**Posizionare in un luogo che non sia direttamente influenzato dall'aria esterna.**

- Evitare di collocare l'unità in una posizione che si trovi nella corrente d'aria creata da una finestra, una porta o da condotto dell'aria condizionata/di riscaldamento.



# Metodi di pulizia e decontaminazione

La maggior parte dei produttori di incubatori raccomanda una soluzione di etanolo al 70% e la pulizia manuale prima dell'avvio iniziale e regolarmente in seguito. La soluzione di etanolo al 70% viene intenzionalmente diluita per dare all'etanolo il tempo di uccidere il contaminante prima che l'etanolo evapori.

Perché l'etanolo al 70% è migliore dell'etanolo al 100% nell'inibizione batterica? L'etanolo al 100% coagula e disidrata le proteine in maniera così rapida che uno strato di proteine denaturate relativamente impermeabile si viene a formare nelle parti esterne della cellula batterica (dentro e sotto la parete cellulare), impedendo così un'ulteriore diffusione dell'alcol nella cellula. Questo protegge il nucleo della cellula dalla denaturazione.

Con l'etanolo al 70%, il processo è più lento e l'alcol riesce a diffondersi nelle proteine denaturate delle cellule. Oltre alla tradizionale pulizia manuale con etanolo al 70%, l'incubatore può essere dotato di un ciclo di sterilizzazione, come un sistema ad alte temperature (180 °C) o un sistema ad H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> con vapore di perossido di idrogeno. Il ciclo deve essere eseguito prima del primo utilizzo.

Se sono in atto criteri di messa in servizio e di buone prassi di fabbricazione (cGMP, dall'inglese "Current Good Manufacturing Practices"), tutti gli sforzi di controllo della contaminazione devono essere conformi alle migliori pratiche e al protocollo dell'impianto precedentemente approvato.

## STRUMENTAZIONE E INTERFACCIA DELL'APPARECCHIATURA

Agitatori, rulli per bottiglie, agitatori magnetici e altri dispositivi sono comunemente usati negli incubatori per colture cellulari. Questi devono essere privi di contaminanti prima di essere collocati nell'incubatore.

I contenitori per la coltura cellulare comprendono solitamente matracci con e senza tappi di sfiato, piastre Petri, bottiglie a rulli e piastre a più pozzetti.

Questi sono solitamente confezionati e sterilizzati con radiazioni gamma prima della spedizione. Dovrebbero essere aperti solo in una cabina di sicurezza biologica per preservare l'integrità della sterilizzazione.

Altri articoli da laboratorio restituiti da una sala centrale di sterilizzazione devono essere considerati una fonte di contaminazione se esposti all'aria ambiente durante il transito del carrello e lo stoccaggio sugli scaffali.

## SINTESI DELLE FONTI DI CONTAMINAZIONE

I seguenti punti di contaminazione devono essere inclusi in un programma regolare di pulizia in situ o di rimozione e pulizia manuale o in autoclave.

### ALL'INTERNO DELL'INCUBATORE

- Pareti
- Soffitto
- Pavimento
- Angoli della camera
- Canalizzazioni e plenum
- Vaschetta di umidificazione
- Alloggiamento della lampada UV, se presente
- Sonda di controllo della temperatura e alloggiamento della sonda
- Cavo della sonda al pannello di controllo

### CABINA DELL'INCUBATORE

- Guarnizione dello sportello interno e superfici con nervature
- Serratura dello sportello interno
- Vetro dello sportello interno
- Cerniere e chiusure dello sportello interno
- Punti freddi in cui la condensa può accumularsi a causa di un insufficiente isolamento della cabina

### IMPIANTO DEL GAS

- Sensore CO<sub>2</sub> o O<sub>2</sub>
- Alloggiamento del sensore e connettori
- Tubo di iniezione da elettrovalvole
- Pompa dell'aria
- Filtri e alloggiamenti
- Ventola, albero e guarnizione



# Manutenzione di base degli incubatori per colture cellulari

## Indossare sempre i guanti prima di pulire l'unità.

Come regola di base, non pulire l'incubatore a mani nude. Assicurarsi di utilizzare guanti di gomma.

## Materiali necessari

- Guanti in gomma
- Etanolo al 70%
- Carta/tessuto non tessuto sterile

## FASE 1

Spegnere l'interruttore dell'alimentazione.

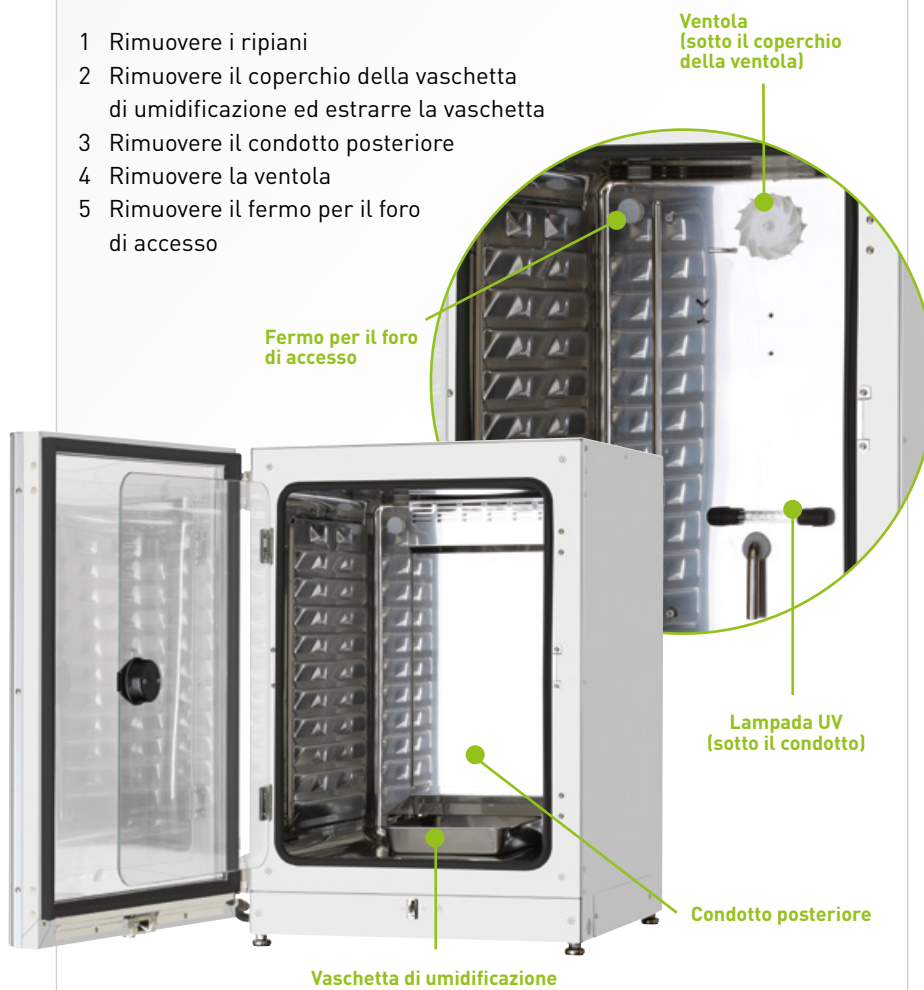


## FASE 2

### Rimuovere i componenti interni.

Rimuovere i componenti nell'ordine corretto.

- 1 Rimuovere i ripiani
- 2 Rimuovere il coperchio della vaschetta di umidificazione ed estrarre la vaschetta
- 3 Rimuovere il condotto posteriore
- 4 Rimuovere la ventola
- 5 Rimuovere il fermo per il foro di accesso

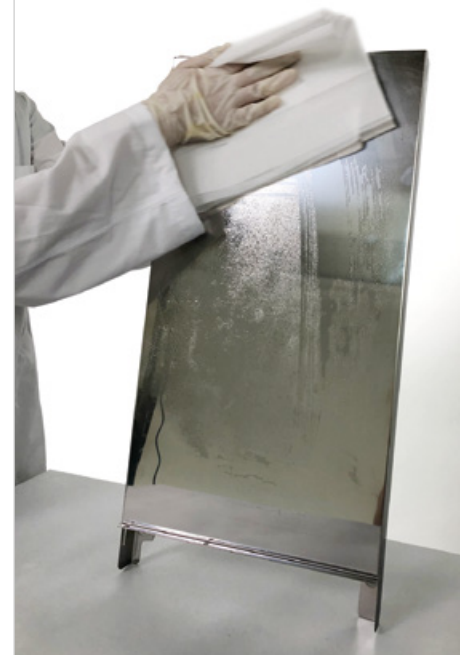


## FASE 3

### Pulire i componenti interni.

Seguire la procedura di pulizia corretta.

- 1 Lavare con un detergente neutro (sapone)
- 2 Risciacquare bene con acqua distillata
- 3 Pulire utilizzando tessuto non tessuto/carta sterile

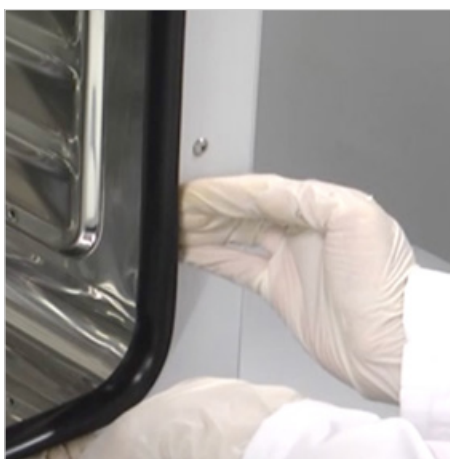


# Manutenzione di base degli incubatori per colture cellulari

## FASE 4

**Spruzzare alcol disinfettante all'interno dell'unità e pulire (etanolo al 70%).**

Non spruzzare etanolo al 70% direttamente nei fori del sensore. È sufficiente strofinare con tessuto non tessuto/carta su cui è stato spruzzato etanolo al 70%.



## FASE 5

**Disinfettare tutte le superfici interne, i componenti interni, i ripiani e la vaschetta dell'acqua con etanolo al 70%.**

## FASE 6

**Assicurarsi di spargere l'etanolo per la disinfezione in tutti gli angoli della guarnizione dello sportello interno e di rimuovere quante più macchie possibile durante la pulizia.**

Se azionato con la guarnizione dello sportello interno non in posizione, l'aria umidificata fuoriuscirà, creando condensa tra l'unità e la porta esterna. Dopo la pulizia, accertarsi che la guarnizione dello sportello interno sia saldamente in posizione e non presenti pieghe.

**Regolare la forma della guarnizione dello sportello interno dopo la pulizia.**

Regolare la forma della guarnizione dello sportello interno facendo scorrere le dita lungo ogni angolo seguendo le frecce. Nello specifico, inserire le dita dietro l'aletta della guarnizione dello sportello interno e farle scorrere.

La guarnizione dello sportello interno ha un ruolo importante nel mantenere l'umidità della camera. Se azionato con la guarnizione dello sportello interno non in posizione, l'aria umidificata fuoriuscirà, creando condensa tra l'unità e la porta esterna. Dopo la pulizia, accertarsi che la guarnizione dello sportello interno sia saldamente in posizione e non presenti pieghe. Se la guarnizione dello sportello interno non è in posizione, controllare il lato posteriore e regolare la forma della guarnizione dello sportello interno.



## FASE 7

### Sostituire i componenti interni.

Sostituire i componenti nell'ordine inverso rispetto alla [FASE 2] e versare acqua distillata sterilizzata nella vaschetta di umidificazione.

- 1 Sostituire il fermo per il foro di accesso
- 2 Sostituire la ventola, accertarsi che le alette girino senza problemi ruotando la ventola con la mano
- 3 Sostituire il condotto posteriore
- 4 Riposizionare il coperchio della vaschetta di umidificazione e inserire la vaschetta
- 5 Sostituire i ripiani



## FASE 8

### Lasciare asciugare con la porta aperta.

Prima di riaccendere l'interruttore dell'alimentazione (riavvio), lasciare asciugare l'interno e accertarsi che non vi sia odore di alcol. Se si riaccende l'interruttore mentre l'interno è ancora umido, i sensori di  $O_2$  e  $CO_2$  potrebbero danneggiarsi.



## FASE 9

Se si utilizza un'unità dotata di doppia sterilizzazione o di decontaminazione  $H_2O_2$  (perossido di idrogeno), la sterilizzazione/decontaminazione prima dell'utilizzo renderà più efficace la prevenzione della contaminazione (contaminazione batterica).



**Incubatore IncuSafe a  $CO_2$  con doppia sterilizzazione:**  
Serie MCO-170AICD

**Incubatore IncuSafe a  $CO_2$  con decontaminazione  $H_2O_2$ :**  
MCO-170AICUVH, MCO-230AICUVH  
MCO-50AICUVH, MCO-50MUVH  
MCO-170MUVH



# Manutenzione di base degli incubatori per colture cellulari

## PRECAUZIONI PER LA PULIZIA

### **Pulire sempre con cura.**

- Indossare sempre i guanti per evitare di tagliarsi le mani con il componente interno
- Non utilizzare detergenti o disinfettanti a base di acidi, basi o cloro

### **ATTENZIONE**

**Utilizzare la parte di tessuto non tessuto sterile solo una volta per la pulizia.**

Se si utilizza la stessa parte di tessuto per pulire un'altra area, si diffondono batteri.  
Ricordarsi di pulire la guarnizione e il lato interno della porta.



## PULIZIA DELLA VASCHETTA PER L'ACQUA DI UMIDIFICAZIONE

**Pulire la vaschetta quando si sostituisce l'acqua. Effettuare questa operazione almeno una volta ogni due settimane.**

- Rimuovere la vaschetta dall'unità
- Lavare utilizzando un detergente neutro prima di strofinare
- Spruzzare con etanolo al 70%, quindi pulire
- Riempire la vaschetta di umidificazione con acqua distillata sterile (preferibilmente preriscaldata a 37 °C)

### **ATTENZIONE**

**Non utilizzare acqua ultrapura, acqua di rubinetto, acqua deionizzata o acqua per osmosi inversa, in quanto non adatte per gli incubatori.**

**Evitare di aggiungere sostanze chimiche nella vaschetta di umidificazione.**





# Suggerimenti per un incubatore soggetto a contaminazione

## SUGGERIMENTI PER RIDURRE AL MINIMO LA CONTAMINAZIONE

- Aumentare la frequenza di pulizia e di sostituzione dell'acqua di umidificazione.
- Spruzzare Biocidal ZF sulle superfici interne della camera una volta alla settimana.

### Sostituzione dell'acqua di umidificazione

Frequenza raccomandata: Una volta ogni due settimane (a seconda della frequenza/ambiente di utilizzo)

- 1 Rimuovere la vaschetta di umidificazione dall'incubatore.
- 2 Lavare la vaschetta di umidificazione con detergente neutro, risciacquare accuratamente con acqua distillata e asciugare con carta/tessuto non tessuto sterile.
- 3 Spruzzare l'etanolo nella vaschetta di umidificazione e asciugare accuratamente.
- 4 Porre la vaschetta sotto il coperchio e versare acqua distillata sterile (preferibilmente preriscaldata a 37 °C).

### ATTENZIONE

**Non rifornire l'acqua di umidificazione. L'area della vaschetta di umidificazione è un'importante via d'aria in cui tendono ad accumularsi polvere e sporcizia che la sterilizzazione UV non è in grado di rimuovere.**

*L'uso del disinfettante spray biodegradabile Biocidal ZF negli incubatori contribuirà a proteggere le colture da batteri, funghi e virus.*

### Non volatili:

*I principi attivi microbiocidi di Biocidal ZF sono non volatili. Questi proteggono le colture cellulari dalla contaminazione microbica e non invadono le colture cellulari per via aerea. In questo modo è possibile proteggere le colture cellulari da contaminazione e dal disinfettante stesso.*



## SUGGERIMENTI PER RIDURRE AL MINIMO IL RISCHIO DI CONTAMINAZIONE

- Posizionare l'incubatore in una stanza pulita o in un luogo a cui hanno accesso poche persone.
- Posizionare l'incubatore ad una certa distanza dal livello del pavimento (più è rialzato, meno sarà soggetto a batteri). Utilizzare una base con rotelle per facilitare le operazioni di pulizia intorno e sotto gli incubatori.
- Posizionare l'incubatore in un'area lontana da spifferi e da correnti d'aria che possono generarsi facilmente aprendo e chiudendo le porte dell'incubatore. Prestare attenzione ai pulviscoli aerei e alla direzione del flusso d'aria di eventuali climatizzatori.
- Accertarsi che la camera sia priva di condensa.
- Mantenere sempre l'interno dell'incubatore pulito e privo di terreno di coltura e/o acqua e impronte digitali. In caso di fuoriuscite, asciugare immediatamente (la presenza di una pellicola o di materiale estraneo schiumato o posto sulla superficie della lega di rame, vanificherà l'effetto della sterilizzazione).
- Conservare e maneggiare i contenitori di coltura sempre in condizioni di massima asepsi. Si consiglia di pulire il fondo e i margini esterni dei contenitori di coltura con etanolo per la sterilizzazione quando li si inserisce o disinserisce da un incubatore.
- Ridurre al minimo la frequenza di apertura e chiusura della porta.



# Manutenzione in caso di contaminazione



## **Pulire sempre con cura.**

- Indossare sempre i guanti per evitare di tagliarsi le mani con il componente interno
- Non utilizzare detergenti o disinfettanti a base di acidi, basi o cloro

## **Materiali necessari**

- Guanti in gomma
- Etanolo al 70%
- Carta/tessuto non tessuto sterile

## DECONTAMINAZIONE UV 24 ORE

### FASE 1

**Spegnere l'interruttore dell'alimentazione.**

### FASE 4

**Spruzzare etanolo al 70% all'interno dell'unità e pulire.**

### FASE 2

**Rimuovere i componenti interni.**

Rimuovere i componenti nell'ordine corretto.

- 1 Rimuovere i ripiani
- 2 Rimuovere il coperchio della vaschetta di umidificazione ed estrarre la vaschetta
- 3 Rimuovere il condotto posteriore
- 4 Rimuovere la ventola
- 5 Rimuovere il fermo per il foro di accesso

### FASE 5

Disinfettare tutte le superfici interne, i componenti interni, i ripiani e la vaschetta dell'acqua con etanolo al 70%

### FASE 3

**Pulire i componenti interni.**

Seguire la procedura di pulizia corretta.

- 1 Lavare con un detergente neutro (sapone)
- 2 Risciacquare bene con acqua distillata
- 3 Pulire utilizzando tessuto non tessuto/carta sterile



VEDERE PAGINE 9 E 10 PER MAGGIORI  
DETTAGLI SULLE FASI DA 1 A 5

## FASE 6

### Accendere l'interruttore dell'alimentazione e (attivare la lampada UV per 24 ore).

Una volta rimossi i componenti interni e il coperchio della lampada UV, effettuare la sterilizzazione UV per 24 ore. Non è necessario pulire l'interno con alcol.

## FASE 8

### Lasciare asciugare con la porta aperta.

Prima di riaccendere l'interruttore dell'alimentazione (riavvio), lasciare asciugare l'interno e accertarsi che non vi sia odore di alcol.

Se si riaccende l'interruttore mentre l'interno è ancora umido, i sensori di O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> potrebbero danneggiarsi.

## FASE 7

### Sostituire i componenti interni.

Sostituire i componenti nell'ordine inverso rispetto alla [FASE 2] e versare acqua distillata sterilizzata nella vaschetta di umidificazione. Prima di sostituire tutti i componenti, accertarsi che le alette girino senza problemi ruotando la ventola con la mano.



### Incubatori IncuSafe a CO<sub>2</sub> di PHCbi con lampada UV Safecell:

MCO-50AICUV, MCO-50AICUVH,  
MCO-170AICUV, MCO-170AICUVH,  
MCO-170ACUV, MCO-230AICUV,  
MCO-230AICUVH

### Incubatore multigas di PHCbi con lampada UV Safecell:

MCO-50MUV, MCO-50MUVH,  
MCO-170MUV, MCO-170MUVH



## ATTIVAZIONE LAMPADA UV PER 24 ORE PER LA SERIE MCO-170AIC E MCO-230AIC

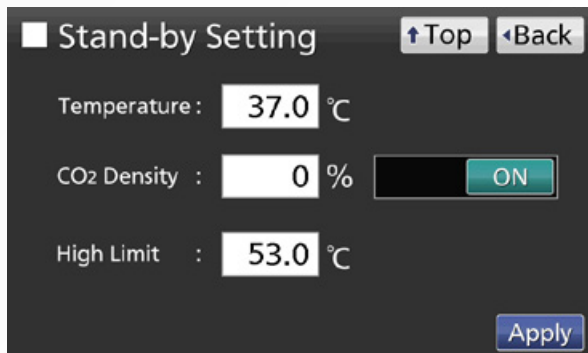
### Accensione della lampada UV per 24 ore

Se la camera è stata contaminata da sporco o da fuoriuscite del terreno di coltura, seguire la procedura indicata di seguito per decontaminare la camera mediante l'accensione della lampada UV per 24 ore.

1. Rimuovere tutti gli accessori interni dalla camera, compresi i vassoi, la copertura della ventola, il condotto, la ventola, la vaschetta di umidificazione e il coperchio della vaschetta di umidificazione. Disinfettare tutti gli accessori sterilizzandoli in autoclave o con alcol.

2. Pulire le parti interne della camera con alcol.

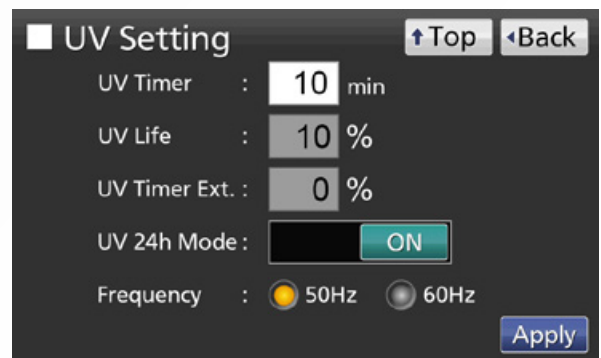
3. Impostare la il valore CO<sub>2</sub> density sullo 0%. Andare alla schermata delle impostazioni Stand-by Setting (Menu > Set) e impostare il valore CO<sub>2</sub> density sullo 0%. Premere "Apply" per salvare i valori inseriti.



4. Andare alla schermata degli strumenti Tools #1 (Menu > Tools #1). Premere "UV Setting" per visualizzare la relativa schermata delle impostazioni UV.



5. Portare la modalità "UV 24h Mode" su ON e premere "Apply".



6. La lampada UV si illuminerà ininterrottamente per 24 ore. Sul display della condizioni della lampada UV viene visualizzato "UV 24h Mode ON".

#### Note:

- La modalità UV 24 ore può attivare l'allarme automatico relativo alla temperatura per l'innalzamento della temperatura all'interno della camera.
- Se si apre la porta esterna mentre è accesa la lampada UV, la lampada UV si spegnerà e la modalità UV 24 ore viene disattivata. Ripetere le procedure da 4 a 6 per riattivare la modalità UV 24 ore.

7. Dopo 24 ore, la lampada UV si spegne automaticamente. Reinstallare tutti gli accessori rimossi nella procedura 1.



## ATTIVAZIONE LAMPADA UV 24 ORE PER LA SERIE MCO-170AC E MCO-50AIC

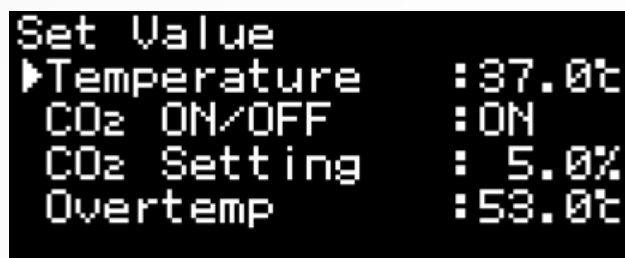
### Accensione della lampada UV per 24 ore

Se la camera è stata contaminata da sporco o da fuoriuscite del terreno di coltura, seguire la procedura indicata di seguito per decontaminare la camera mediante l'accensione della lampada UV per 24 ore.

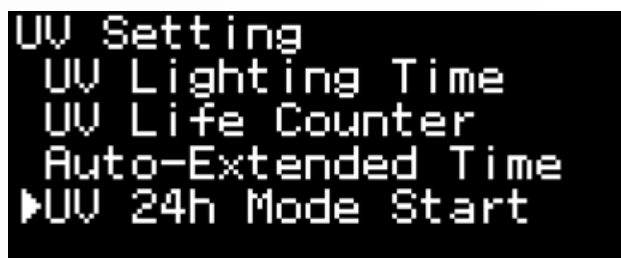
1. Rimuovere tutti gli elementi interni della camera (scaffali, coperchio della ventola, condotto, ventola, vaschetta di umidificazione e coperchio della vaschetta di umidificazione).  
Disinfettare tutti gli accessori sterilizzandoli in autoclave o con alcol.

2. Pulire le parti interne della camera con alcol.

3. Impostare la il valore CO<sub>2</sub> density sullo 0%.



4. Nella schermata iniziale premere MENU. Il lato sinistro dello schermo passerà alla schermata Menu.
  - Spostare il cursore su "Alarms & Controls" utilizzando i tasti su/giù e premere il pulsante di invio ENTER.
  - Spostare il cursore su "UV Setting" utilizzando i tasti su/giù e premere ENTER.



5. Spostare il cursore su "UV 24h Mode Start" utilizzando i tasti su/giù e premere ENTER.

Il lato destro dello schermo passa alla schermata per l'avvio della modalità UV 24h Mode Start e verrà visualizzata l'impostazione in uso (OFF).

6. Usare i tasti su/giù per cambiare l'impostazione della modalità UV 24 ore portandola su ON e premere ENTER.



7. Premere il tasto MENU per visualizzare la schermata iniziale. La lampada UV si illuminerà ininterrottamente per 24 ore.

#### Note:

- La modalità UV 24 ore può attivare l'allarme automatico relativo alla temperatura per l'innalzamento della temperatura all'interno della camera.
- Se si apre la porta esterna mentre è accesa la lampada UV, la lampada UV si spegnerà e la modalità UV 24 ore viene disattivata. Ripetere le procedure dalla fase 4 per riavviare la modalità UV 24 ore.

8. Dopo 24 ore, la lampada UV si spegne automaticamente. Reinstallare tutti gli accessori rimossi nella procedura 1.



# Manutenzione in caso di contaminazione



## DECONTAMINAZIONE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> PER LA SERIE MCO-170 E MCO-230

Non è necessario rimuovere la lampada UV e le parti interne  
Nessun trasferimento di calore se impiati  
Non richiede l'utilizzo di un riscaldatore, quindi conserva l'energia

### FASE 1

**Tempo di preparazione: 10-15 minuti**



1. Rimuovere tutti i componenti interni
2. Pulire con un panno le superfici interne dell'incubatore
3. Riposizionare i componenti interni nelle posizioni specificate per la decontaminazione in situ
4. Configurare il generatore di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (MCO-HP)\*  
\* Accessorio opzionale. Per questo processo è necessario il reagente H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.



Inserimento del generatore di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

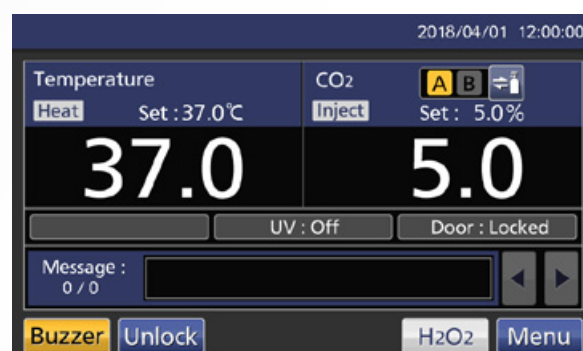
### FASE 2

**Tempo di decontaminazione: 135 minuti circa**



È possibile completare la decontaminazione della camera premendo solo 2 pulsanti sul pannello di controllo

1. Premere il pulsante H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
2. La camera si riscalda a 45 °C per risultati ottimali
3. Inizia la generazione di vapore di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
4. La ventola interna fa circolare il vapore
5. La lampada UV riduce l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in acqua e ossigeno



### FASE 3

**Tempo di completamento: 10 minuti circa**



1. Aprire la porta della camera
2. Rimuovere il liquido rimanente con un panno sterile
3. Riposizionare i componenti interni nelle loro posizioni usuali



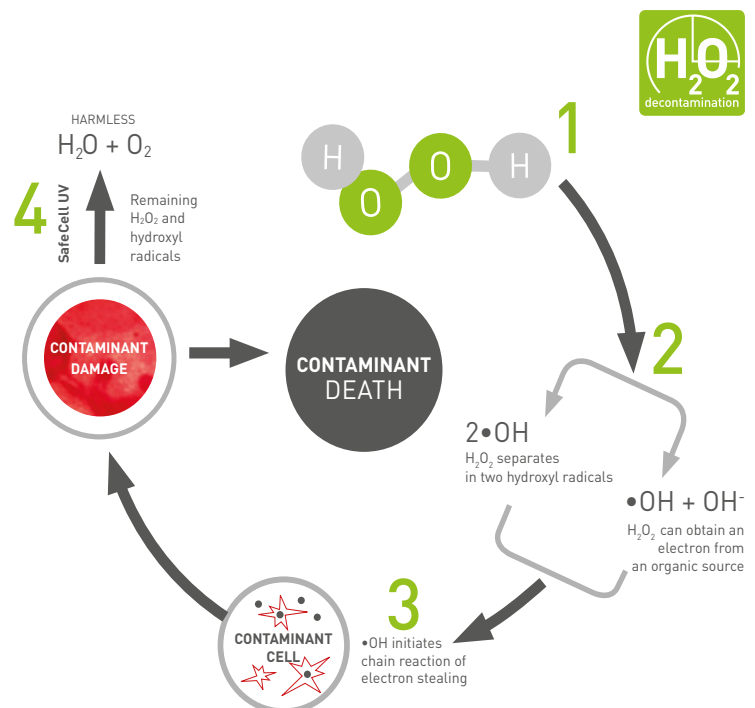
## DECONTAMINAZIONE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> NELLA SERIE MCO-50

SEGUIRE LE FASI DA 1 A 3 DA PAGINA 18



## COME FUNZIONA?

1. Il perossido di idrogeno (acqueo) viene convertito in vapore usando ultrasuoni ad alta frequenza. Durante tale processo il motore della ventola rimane in funzione, assicurando che il vapore di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> raggiunga tutti i punti della camera e delle tubazioni in ingresso, in uscita e all'interno del sensore CO<sub>2</sub>.
2. Il vapore H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> si decompone naturalmente in radicali idrossilici.
3. I radicali idrossilici avviano una reazione a catena di furti di elettroni.
4. Tale instabilità dell'ambiente interno comporta la morte dei contaminanti. I radicali idrossilici e l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> rimanenti si risolvono in H<sub>2</sub>O (acquosa) e O<sub>2</sub> (gas).



La decontaminazione H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> PHCbi consegue una riduzione dei contaminanti principali pari ad almeno 6 log. L'intero processo di decontaminazione richiede meno di tre ore.

Il DNA è estremamente suscettibile ai danni da ossidazione. Poiché la maggior parte dei batteri ha un solo cromosoma che controlla tutte le funzioni vitali, questo tipo di effetto può essere dannoso al loro funzionamento normale. Gli organismi procarioti spesso non sono dotati di meccanismi di riparazione per limitare tali danni, il che li rende più pronti al cambiamento.

# Manutenzione in caso di contaminazione



## DOPPIA STERILIZZAZIONE

Niente più problemi legati all'utilizzo della doppia sterilizzazione, che doveva essere limitato nonostante le esigenze dei clienti.

Comoda doppia sterilizzazione per ca. 11 ore a 180 °C

### FASE 1

Tempo di preparazione: 10-15 minuti



1. Premere il pulsante di sterilizzazione per visualizzare le istruzioni sullo schermo
2. Rimuovere tutti i componenti interni
3. Pulire l'interno dell'incubatore e i componenti interni con alcol
4. Riposizionare i componenti interni nelle posizioni specificate per la sterilizzazione in situ

### FASE 2

Tempo di sterilizzazione: ca. 11 ore



1. Chiudere la porta interna ed esterna e premere OK; la porta esterna è ora elettronicamente bloccata e la camera si riscalderà
2. Il processo di sterilizzazione si avvia quando l'interno della camera supera i 180 °C e funziona per 60 minuti
3. Il processo di raffreddamento inizia a raffreddare la camera a 40 °C

### FASE 3

Tempo di completamento: 10 minuti circa

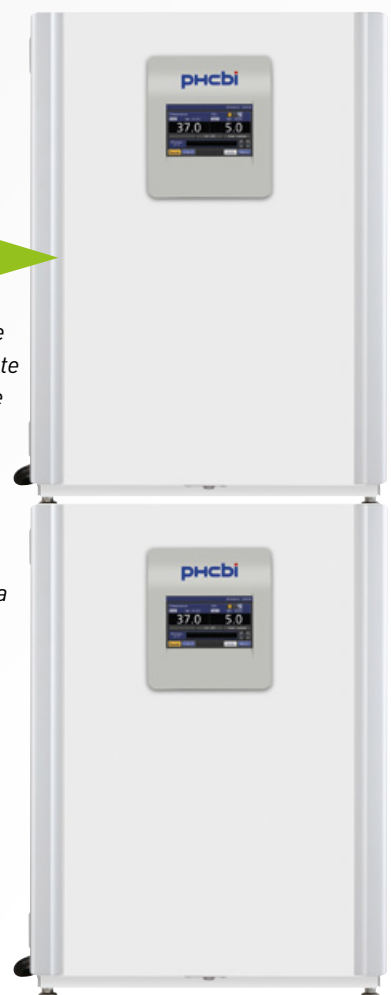


1. La porta esterna viene sbloccata al momento del completamento
2. Aprire la porta della camera
3. Riposizionare i componenti interni nelle loro posizioni usuali

nessuna perdita di calore

*È possibile utilizzare contemporaneamente entrambe le camere anche in caso di impilamento doppio.*

*Un'unità sarà in modalità di doppia sterilizzazione e l'altra in modalità di incubazione.*



Per evitare ustioni durante il ciclo di sterilizzazione, la porta esterna è bloccata elettronicamente. La temperatura della superficie superiore dell'MCO-170AICD durante la sterilizzazione termica raggiunge circa 60 °C. La temperatura di 60 °C rientra nella tolleranza descritta nella norma internazionale di sicurezza IEC 61010 10.1 Limiti di temperatura delle superfici per la prevenzione delle ustioni. Il limite di sicurezza per il metallo esterno è 65 °C.

# Manutenzione in caso di ruggine

## Indossare sempre i guanti prima di pulire l'unità.

Come regola di base, non pulire l'incubatore a mani nude. Assicurarsi di indossare i guanti. Prestare attenzione, sussiste il rischio di tagliarsi le mani con i componenti interni.

## Materiali necessari

- Guanti
- Etanolo al 70%
- Carta/tessuto non tessuto sterile

PRIMA SEGUIRE LE FASI DA 1 A 5 DA PAGINA 9/10

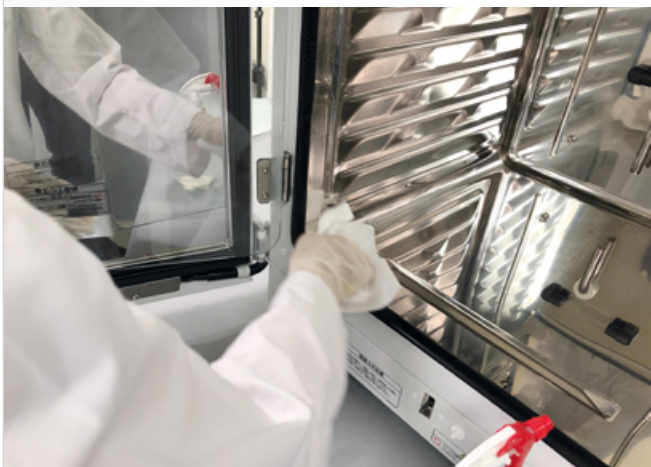
## FASE 6

### Rimuovere la ruggine utilizzando un detergente in crema.

Utilizzare una quantità adeguata di detergente in crema a grana fine e rimuovere accuratamente la ruggine.

## FASE 7

### Pulire con etanolo al 70%.



## FASE 8

### Attivare la lampada UV per 24 ore.

\*Se si tratta di una lampada UV

Una volta rimossi il componente interno e il coperchio della lampada UV, effettuare la sterilizzazione UV per 24 ore.

Non è necessario pulire l'interno con alcol.

## FASE 9

### Sostituire i componenti interni.

Sostituire i componenti nell'ordine inverso rispetto alla [FASE 2] e versare acqua distillata sterile nella vaschetta di umidificazione.

Prima di sostituire tutti i componenti, accertarsi che le alette girino senza problemi ruotando la ventola con la mano.

## DA RICORDARE

### Le seguenti condizioni favoriscono la formazione di ruggine

- Pulizia insufficiente dopo l'utilizzo di detersivi o disinfettanti a base di acido, basi o cloro
- Graffi sulla superficie della parte interna dell'unità o dei componenti interni
- L'incubatore viene utilizzato con materiale estraneo rimasto all'interno dell'unità o sui componenti interni
- All'acqua di umidificazione viene aggiunto laurilsolfato di sodio (SDS)
- Utilizzo di acqua ultrapura, acqua deionizzata o acqua per osmosi inversa nella vaschetta di umidificazione
- Aggiunta di sostanze chimiche all'acqua di umidificazione
  
- Utilizzo di un'autoclave  
Se gli articoli vengono riposti bagnati in un luogo chiuso dopo essere stati rimossi da un'autoclave, si può facilmente formare della ruggine.
  
- Se si utilizza una doppia sterilizzazione  
Dopo un ciclo di doppia sterilizzazione, la ruggine può facilmente formarsi se sulla superficie compaiono scorie di ossido che diventano gialle o nere.

# Migliori pratiche e buona tecnica di laboratorio

L'approccio più ovvio per un funzionamento dell'incubatore senza contaminazione è quello di mantenere l'incubatore pulito. Una combinazione di pulizia manuale e processi di decontaminazione automatica (se in dotazione) gestiti secondo un programma regolare aiuta a proteggere le colture in situ e a ridurre al minimo le perdite di lavoro dovute a contaminazione e tempi di fermo macchina. La manutenzione predittiva è analoga alla manutenzione preventiva, in cui i processi di pulizia possono essere documentati per la standardizzazione e la conformità, programmati in anticipo e assegnati al personale di laboratorio come richiesto. Non esiste un sostituto della tecnica asettica nella manipolazione di colture cellulari. L'igiene personale e di laboratorio sono essenziali per un programma olistico di gestione della contaminazione.

## DECONTAMINAZIONE ATTIVA VS PASSIVA

La decontaminazione attiva, sia mediante pulizia manuale, sterilizzazione ad alte temperature, vapore  $H_2O_2$  o altro metodo, deve essere avviata dall'utente. Gli attributi di progettazione inerenti ad un incubatore per colture cellulari progettato in maniera appropriata offrono un ulteriore strato di protezione lavorando sullo sfondo per inibire e distruggere i contaminanti man mano che si presentano.

### Decontaminazione attiva



**Temperature elevate.** Un processo ad alte temperature utilizza tempo e temperatura, in genere da 160 °C a 170 °C per un periodo di due ore, per un metodo di decontaminazione collaudato. Il sistema di decontaminazione termica PHCbi funziona a una temperatura più elevata. È il metodo attivo di decontaminazione più veloce ed efficace in un incubatore per colture cellulari che raggiunge i 180 °C per due ore di permanenza prima di ritornare alla temperatura ambiente. Per ridurre al minimo i tempi di fermo macchina, il tempo di ciclo totale è inferiore a 12 ore. Questo processo ad alta efficienza non richiede la rimozione del sensore  $CO_2$  e della lampada UV nell'incubatore PHCbi.



**Vapore di perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ).** Gli incubatori PHCbi consentono l'utilizzo della decontaminazione attiva con vapore di perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ) in completa sicurezza e a impatto zero sull'ambiente circostante. Il perossido di idrogeno ha inizialmente una forma acquosa e viene successivamente convertito in vapore usando un nebulizzatore; questo espone tutte le superfici interne al vapore  $H_2O_2$  che alla fine si risolve in acqua pulita a meno di 1 ppm quando catalizzato da una lampada UV.

### Decontaminazione passiva



**L'acciaio inossidabile arricchito di rame (commercializzato come inCu-saFe® con il marchio PHCbi)** è una lega di acciaio inossidabile e rame che forma una barriera germicida per prevenire la crescita di organismi sulle superfici. Tutte le superfici interne, i ripiani e le staffe sono costituiti dal composito inCu-saFe. Questo materiale è un ibrido di acciaio inossidabile tipo 304. È 100% resistente alla corrosione e non si corrode o scolorisce come le superfici in rame C100 convenzionali.



**La luce ultravioletta (commercializzata come lampada UV SafeCell™ con il marchio PHCbi)** è costituita da una lampada UV nascosta che crea un'esposizione seriale di 257,3 nm di lunghezza d'onda sufficiente a distruggere il DNA di qualsiasi organismo che passa attraverso il sistema del flusso d'aria, nonché i contaminanti delle acque superficiali nella vaschetta di umidificazione rimovibile. La lampada UV si attiva automaticamente in caso di apertura/chiusura dello sportello. La lampada UV SafeCell inibisce la crescita di micoplasmi, batteri, muffe, virus, spore, lieviti e funghi senza ricorrere a costosi sistemi di trattamento dell'aria con filtro HEPA che accumulano contaminanti nel filtro. Inoltre, la lampada UV può essere programmata per un ciclo temporizzato attivo per tutta la durata del processo per un ulteriore processo di decontaminazione della camera.



**pHcbi**

Температура 37.0  
pH 5.0

**pHcbi**

Температура 37.0  
pH 5.0

**pHcbi**

Температура 37.0  
pH 5.0

**pHcbi**

Температура 37.0  
pH 5.0



# PHC Europe

Membro del gruppo PHC

Eikdonk 1 | 4825 AZ Breda | Paesi Bassi  
T: +31 (0) 76 543 3833

[www.phcd.com/eu/biomedical](http://www.phcd.com/eu/biomedical)