

OVERORDNET ARBEIDSRUTINE FOR HÅNTERING AV KRYORØR, VEVSPRØVER OG CELLER SOM HAR VÆRT OPPBEVART I FLYTENDE NITROGEN.

Rutine utarbeidet av: MH-fakultetet ved HMS-rådgiver Ingvild Hammer

Revidert: 10.08.2023

Formål: Hensikten er å sikre en god prosedyre for håndtering av kryorør som har vært oppbevart i flytende nitrogen, slik at uønskede hendelser oppstår.

Omfang: Prosedyren gjelder alle ansatte og studenter ved Fakultet for Medisin og helsevitenskap (MH), NTNU

Beskrivelse:

Det er alltid fare for at det kan komme flytende nitrogen inn i kryorørene. Ved tining/oppvarming vil nitrogen gå over i gassfase og utvide seg 700 ganger, slik at kryorørene kan eksplodere. Av samme grunn skal aldri nitrogen oppbevares i en tett lukket beholder. For å forebygge eventuelle skader på personer/materiell, må følgende punkter følges:

- Ingen må jobbe med flytende nitrogen uten først å ha fått opplæring
- Les sikkerhetsdatablad (SDS) for flytende nitrogen, husk:
 - flytende nitrogen har en temperatur på -196 °C
 - fare for frostskafer
- Bruk alltid verneutstyr; ansiktsskjerm, kryohansker, bukse og lab-frakk. Bruk sko/sandaler hvor nitrogen kan renne ut dersom du får det i skoene. Det finnes egnet beskyttelse for å ha utenpå skoene/beina ("fotforkle")
- Rørene som brukes må være beregnet for bruk i flytende nitrogen. De skal være av god kvalitet og ha innvendige gjenger (male/internal thread). NB! Hvis du skrur korken veldig hardt igjen, kan pakningen ødelegges
- Væskevolumet i røret skal ikke overskride volumet som røret er beregnet for
- Planlegg arbeidet slik at alt er klart før kryorør tas ut av tanken Arbeidet må gå raskt for å unngå at nitrogenet begynner å koke

Uttak av rør fra nitrogentank

1. Finn fram en isopor boks hvor både rack og boks kan settes i
2. Løft racket halvveis opp fra tanken og la nitrogenet renne av, før hele racket løftes ut. Forsøk å holde racket bort fra kroppen. Plasser racket oppi isoporboksen slik at resten av nitrogenet havner i denne boksen. Ta ut prøveesken og sett evt. esken ned i nitrogenet
3. Ta kryorøret ut av esken og legg det i boksen/ beholder for transport/opptining (se nedenfor)
4. Sett esken på plass i racket, sett på låsen og kontroller at denne er ordentlig festet.
5. Sett racket forsiktig tilbake i tanken for å unngå at nitrogenet koker over.

Opptining av vevsprøver

- Løsne raskt på korken for å slippe ut eventuelt trykk og sett røret på is etter at trykket er utluftet. Hvis du ikke vil løsne på korken, settes kryorøret direkte på is i en tykkvegget beholder/eksikator med lokk til prøven er tint, og faren for eksplosjon er over. Husk å bruke verneutstyr til eksplosjonsfaren er over.
- Tørk av utsiden av røret med tørkepapir fuktet med 70% etanol før innholdet behandles videre etter egen prosedyre

Opptining av celler

Visir skal alltid brukes ved tining av celler frem til kryorøret er innenfor sikkerhetsbenken.

- Etter at kryorøret med cellene er tatt opp fra nitrogentanken, fraktes det til ønsket opptingssted i en godkjent beholder med lokk fylt med flytende nitrogen. En isoporeske med lokk eller en termos med lokk beregnet for nitrogen er godkjent og gir beskyttelse ved en eventuell eksplosjon av kryorøret. Isoporeske med lokk bør fraktes på trillebord. **NB! Bokser med skrulokk må ikke fylles med flytende nitrogen**
- For opptining overføres kryorøret til et vannbad (sterilt vann med temperatur på 37 °C) med lokk laget av bruddsikkert materiale. Eventuelt kan kryorøret has direkte fra nitrogentanken over i en bruddsikker boks* fylt med sterilt vann på 37°C og transporteres/tines i denne.
- Når cellene har tint, tørkes kryorøret av på utsiden med tørkepapir fuktet med 70% etanol. For å unngå sprut av biologisk materiale ved åpning av kryorøret, holdes tørkepapir rundt kryorøret når korken skrues forsiktig opp. Deretter kan innholdet overføres til passende dyrkingsmedium.

*bruddsikre bokser det anbefales å benytte er av denne typen:

<https://no.vwr.com/store/product/551425/boks-med-skrulokk>.