

Betriebsanweisung S1-Genlabor

für gentechnische Laboratorien der Medizinischen Hochschule Hannover
 gem. GenTSV §§ 8, 9, 12 und Anhang III

(Version: Januar 2008)

I. Geltungsbereich und Geltungszeiten.

Labor: Betriebseinheit Lasermikroskopie, Gebäude I4, Ebene 1, Räume
 1302,1310,1320,1330,1040,1041,1051.

In diesen Räumen dürfen auch S2-Arbeiten durchgeführt werden. Da jedoch größtenteils S1-Arbeiten und BioStoff-Arbeiten in diesen Räumen durchgeführt werden, erfolgt eine räumliche und zeitliche Trennung der S2-Arbeiten von den anderen Arbeiten.

Die Anweisungen zur Durchführung der S2-Arbeiten (SOP) befinden sich im Anhang zu dieser Betriebsanweisung.

Die Räume der Betriebseinheit Lasermikroskopie unterliegen einer Zugangskontrolle:

1. Zugang haben nur Personen, die eine Einweisung durch den Laborleiter an einem der Mikroskope erhalten haben.
2. Zugang haben nur eingewiesene Personen, die im Onlinebuchungssystem der Betriebseinheit Mikroskopzeiten reserviert haben.
3. Eingewiesene Personen, die Mikroskopzeit reserviert haben, müssen sich einen Schlüssel für die Mikroskopräume bei Herrn Lindloff (Raum 1052 [Büro]) abholen: Mo.-Do.: 7:30-16:00 Uhr; Fr.: 7:30-14:30. Schlüsselabgabe: Entweder bei Herrn Lindloff oder Einwurf in das Postfach der Lasermikroskopie in der Eingangshalle des Gebäudes I4.

Laborleiter	Dr. Rudolf Bauerfeind	Tel. 3914
Projektleiterin:	Prof. Dr. Beate Sodeik	Tel. 2846 / 2845 (pr. 57 86 51)
Beauftragter für die Biologische Sicherheit:	Dr. Jürgen Mertsching	Telefon: 9580, Pieper: 74-2350

Laborleiter, Projektleiter und der Beauftragte für die Biologische Sicherheit sind über Störfälle und Mißstände im Labor unverzüglich zu informieren.

II. Erste Hilfe

Erste-Hilfe-Kästen: Flur, neben Raum 1051

Ersthelfer: Herr PD Dr. J. Faix; Tel.: -2928
Frau Dr. G. Brandes -3901

Notrufe

Feuer **Tel.: 112 und 2020 (Leitwarte)**

Unfall **Tel.: 112 und 2020 (Leitwarte)**

Verletzungen und Kontaminationen mit S2-Organismen sind sofort zu melden und an geeigneter Stelle (Laborbuch etc.) zu dokumentieren. Arzt und Rettungspersonal sind über die Möglichkeit einer Infektion mit biologischem Material zu unterrichten.

Im Rahmen der Ersten Hilfe sind folgende Sofortmaßnahmen vorgesehen:

- Bei Hautkontakt ist die kontaminierte Hautpartie gründlich mit einer 70%igen Alkohol-Lösung zu reinigen bzw. zu desinfizieren.
- Nach Augenkontakt muß das Auge mindestens 5 Minuten mit fließendem Wasser gespült werden (Augendusche).
- Nach leichten Verbrennungen und Verbrühungen sind die betroffenen Hautpartien unverzüglich mindestens 10 Minuten unter fließendes kaltes Wasser oder in Eis (zu halten).
- Treten trotz dieser Sofortmaßnahmen weitere Beschwerden auf, so ist umgehend die Notfallaufnahme der MHH aufzusuchen.

III. Arbeitsanweisungen

- Aufzeichnungen gentechnischer Arbeiten

Vor Beginn der Arbeiten oder bei besonderen Vorkommnissen veranlasst der jeweils verantwortliche Projektleiter die Erstellung der Aufzeichnungen auf Grundlage des MHH-einheitlichen Formblattes mit PC (Microsoft Word) und bestätigt die Richtigkeit durch seine Unterschrift. Er leitet die Aufzeichnungen in Papierform an die Stabsstelle Biologische Sicherheit weiter, wo die Daten per Laser auf einen optischen Bildspeicher (WORM Medium) übertragen werden. Damit bleiben die Originaldaten erhalten und sind im nachträglich nicht mehr veränderbar. Zustimmungsbescheide des Staatlichen Gewerbeaufsichtsamts Hannover gelten als Teil der Aufzeichnungen. Kopien der Aufzeichnungen verbleiben bis zum Abschluss der Arbeiten beim Projektleiter vor Ort. Bei Ausscheiden eines Projektleiters ist klarzustellen, welche Arbeiten beendet sind und welche von einem anderen Projektleiter weitergeführt werden.

- Autoklav

Biologischer Abfall muss autoklaviert werden. Der Autoklav befindet sich in Ebene H, Raum 1240. Der Autoklav darf nur nach Einweisung durch den verantwortlichen Mitarbeiter benutzt werden. Biologischer Abfall muss mindestens 20 Minuten bei 121°C autoklaviert werden und kann anschließend mit dem allgemeinen Laborabfall entsorgt werden.

- Lagerung gentechnisch veränderter Organismen

Eine Lagerung von Proben im Mikroskopie-Labor über die Dauer eines Arbeitstages hinaus ist nur nach vorhergehender Absprache mit dem Laborleiter gestattet. Die mehrtägige Lagerung lebender Proben ist aber in jedem Fall untersagt.

Gentechnisch veränderte Organismen dürfen nur im Zellkulturraum (Raum Nr. 1051) in beschrifteten Überbehältern gelagert werden. Aus der Beschriftung der Kulturen müssen eindeutig der Organismus, enthaltene Vektoren und der Experimentator hervorgehen. Anderweitig gelagerte oder unvollständig beschriftete Behälter werden ohne weitere Rückfragen durch den Laborleiter vernichtet.

IV. Bezeichnung der Mikroorganismen

Transfizierte Säugerzellen und Dictyostelium discoideum; transgene Mäuse.

V. Gefahren für Mensch und Umwelt

Nach heutigem Wissensstand, keine.

VI. Schutzmaßnahmen und Verhaltensregeln

- Fenster sind geschlossen zu halten.
- In allen Räumen der Betriebseinheit (mit Ausnahme des Büroraums 1052) sind Schutzkittel zu tragen.
- Mundpipettieren ist untersagt.
- Spritzen und Kanülen sollen nur wenn unbedingt nötig benutzt werden. Nach Gebrauch sind die Kanülen in einem dafür vorgesehenen Behälter zu sammeln.
- Bei allen Arbeiten muss darauf geachtet werden, dass keine vermeidbaren Aerosole entstehen.
- Laborräume sollen aufgeräumt und sauber gehalten werden. Auf den Arbeitstischen sollen nur die tatsächlich benötigten Geräte und Materialien stehen.
- Die Arbeitsflächen neben den Mikroskopen und die Computertische sind ausschließlich für Dokumentationszwecke zu nutzen.
- Eventuell benutzte Geräte, die nicht zum Mikroskop oder zur Laboreinrichtung gehören, sind nach dem Experiment zu entfernen.
- Gasflaschen dürfen nur auf geeigneten Transportwagen in die Mikroskopräume gefahren werden. Auf diesen Transportwagen sind sie so zu befestigen, dass sie nicht umfallen können. Nach den Arbeiten müssen die Gasflaschen aus dem Mikroskopräumen entfernt werden. Sie können im feuersicheren Raum 1192 gelagert werden.
- Die Identität der benutzten Organismen ist regelmäßig zu überprüfen, wenn dies für die Beurteilung des Gefährdungspotentials notwendig ist.
- Nach Beendigung der Arbeiten sind die Organismen sachgerecht aufzubewahren oder in geeigneter Weise zu beseitigen.
- Beim Gebrauch von alkoholischen Desinfektionsmitteln sind folgende Vorgaben einzuhalten:
 - Die zu reinigende Fläche darf höchstens 2 m² betragen.

- Pro m² dürfen nicht mehr als 50 ml Desinfektionsmittel verwendet werden.
- Es dürfen keine Zündquellen in der Nähe sein (, wie z.B. offene Brennerflamme).
- Die Fläche darf nicht wärmer als 37°C sein.

- In den Arbeitsräumen darf nicht gegessen, getrunken oder geraucht werden. Eine Lagerung von Nahrungsmitteln ist nicht erlaubt.

- Jacken, Mäntel und große Taschen dürfen nicht in die Laborräume mitgenommen werden. Sie können in der Garderobe (Raum 1301) eingeschlossen werden.

VII. Sicherheitshinweise für den Betrieb der Laser-Raster-Mikroskope

- Die Mikroskope der Betriebseinheit sind gemäß IEC/EN 60825-1 Lasereinrichtungen der Klasse 3B oder 4. Die Klassifizierung ist an den Mikroskopräumen ausgewiesen.

- Es sind die spezifischen Sicherheitshinweise für jedes Mikroskop zu beachten. Diese sind Bestandteil der „Short instructions“, die am Mikroskop ausliegen.

- Im Probenraum des Laser-Rastermikroskops ist während des Scanvorgangs die Laserstrahlung nach Austritt aus dem Objektiv frei zugänglich. Dieser Umstand erfordert besondere Aufmerksamkeit und Vorsicht. Bei Kontakt des Auges mit Laserstrahlung kann es zu schwerwiegenden Augenverletzungen kommen. Daher ist umsichtiges Handeln unerlässlich, sobald eine oder mehrere der Laseremissionswarnanzeigen leuchten.

- Bei bestimmungsgemäßen Gebrauch und Befolgung der Sicherheitshinweise beim Betrieb eines Laser-Rastermikroskops besteht keine Gefahr für den Benutzer.

- Sehen Sie niemals direkt in einen Laserstrahl oder eine Reflexion des Laserstrahls. Vermeiden Sie jeden Kontakt mit dem Laserstrahl. Andernfalls kann das Sehvermögen irreparabel geschädigt werden. Ein reflektierter Laserstrahl ist ebenso gefährlich wie ein direkter Strahl.

- Deaktivieren Sie niemals Laserschutzeinrichtungen. Machen Sie sich mit den Sicherheitseinrichtungen.

- Beachten Sie, dass Gegenstände (wie z.B. Mikromanipulatoren) im Probenraum dazu führen können, dass Laserlicht während eines Scanvorgangs durch Reflexion oder Streuung den sicheren Strahlengang unkontrolliert verlassen und die Umgebung gefährden kann. - Wechseln Sie kein Präparat während eines Scanvorgangs.

- Wechseln Sie keine Objektive während eines Scanvorgangs.

- Verschiessen Sie alle unbenutzten Positionen auf dem Objektivrevolver mit einer Abdeckkappe.

- Wechseln Sie keine Filterwürfel oder Strahlteiler während eines Scanvorgangs aus.

- Ziehen Sie niemals einen Lichtwellenleiter ab.

- Entfernen Sie niemals den Scankopf vom Mikroskopstativ.

- Entfernen Sie niemals den Kondensator. Verwenden Sie keinen Mikroskopkondensator S70. Durch den großen Arbeitsabstand und die geringe numerische Apertur des Mikroskopkondensators S70, könnte es zu einer Gefährdung durch Laserstrahlung kommen. Verwenden Sie daher nur die Mikroskopkondensoren S1 und S23.

VII. Verhalten im Gefahrenfall

- Verschütten

Werden große Volumina (!) S2-Organismen enthaltender Lösungen auf Labortische oder dem Fußboden verschüttet, müssen sie mit Fließpapier aufgesaugt und die Oberflächen sofort mit einer 0,5%igen Incidin Plus Lösung desinfiziert werden. Das Fließpapier wird durch Autoklavieren desinfiziert. ACHTUNG: Grosse Flächen nicht mit 70% EtOH desinfizieren – Explosionsrisiko!

- Feuer

Ein Feuerlöscher befindet sich im Flur zwischen Aufzug und Treppenhaus. Ein zweiter Feuerlöscher befindet sich im Flur vor Raum 1020.

- Fluchtwege

Als Hauptfluchtwege sind die Wege zum Treppenhaus vorgesehen. Sind diese Wege im Gefahrfall unpassierbar, so müssen die Fenster zur Flucht benutzt werden (s. Fluchtpläne am Fahrstuhl neben Raum 1060).

VIII. Entsorgung von Abwasser und Abfall

- Zu autoklavierendes Material darf nicht am Standort des Autoklaven gelagert werden, sondern ist nach dem Transport von den Laborräumen in den Autoklavenraum **sofort** zu autoklavieren.
- Nach dem Autoklavieren können das Einmalmaterial und der Flüssigabfall mit dem allgemeinen Laborabfall entsorgt werden.

IX. Wartungs- und Instandhaltungsarbeiten

Für Wartungs-, Instandhaltungs- und Reinigungsarbeiten muß eine Erlaubnis durch den Laborleiter vorliegen. Diese Arbeiten dürfen erst vorgenommen werden, nachdem die notwendigen Sicherheitsmaßnahmen (z.B. Desinfektionsmaßnahmen) getroffen sind.

X. Anhang: SOP zur Durchführung von S2-Experimenten in der Betriebseinheit Lasermikroskopie gem. GenTSV §§ 8, 9, 12 und Anhang III

1. Geltungsbereich und Geltungszeiten.

Labor: Betriebseinheit Lasermikroskopie, Gebäude I4, Ebene 1, Räume 1302,1310,1320,1330,1040,1041,1051.

In diesen Räumen dürfen nur dann S2-Experimente durchgeführt werden, wenn ein genehmigtes S2-Projekt vorliegt, das diese Räume einschließt.

Personen, die ein S2-Experiment durchführen, müssen zusätzlich zu den Maßnahmen der Betriebsanweisung S1 folgende Maßnahmen treffen:

- a. Im Onlinebuchungssystem sind die Räume, in denen das Experiment durchgeführt werden soll, mit dem Vermerk „S2“ zu reservieren.
- b. Die Eingangstüren zu den reservierten Räumen sind vor Beginn des Experiments von außen mit einem Schild „S2-Arbeiten“ zu kennzeichnen. Diese Schilder sind bei Herrn Posselt erhältlich. Nach Beendigung der Arbeiten werden diese Schilder wieder entfernt.
- c. Der so gekennzeichnete Raum darf nur von Personen betreten werden, die vom Projektleiter oder Laborleiter dazu ermächtigt wurden.

2. Arbeitsanweisungen

- Aufzeichnungen gentechnischer Arbeiten

Die in den Zustimmungsbescheiden durch die Bezirksregierung Hannover beschriebenen Arbeiten gelten als Aufzeichnungen. Bei Änderungen der mit den gentechnischen S2-Arbeiten betrauten Mitarbeiter oder bei besonderen Vorkommnissen veranlasst der jeweils verantwortliche Projektleiter die Erstellung der Aufzeichnungen auf Grundlage des MHH-einheitlichen Formblattes mit PC (WINWORD 6.0) und bestätigt die Richtigkeit durch seine Unterschrift. Er leitet die Aufzeichnungen in Papierform an die Stabsstelle Biologische Sicherheit weiter, wo die Daten per Laser auf einen optischen Bildspeicher (WORM Medium) übertragen werden. Damit bleiben die Originaldaten erhalten und sind im nach hinein nicht mehr veränderbar.

Antragsunterlagen gelten als Teil der Aufzeichnungen. Kopien der Aufzeichnungen verbleiben bis zum Abschluß der Arbeiten beim Projektleiter vor Ort. Bei Ausscheiden eines Projektleiters ist klarzustellen, welche Arbeiten beendet sind und welche von einem anderen Projektleiter weitergeführt werden.

- Autoklav

Alle mit gentechnisch veränderten Organismen kontaminierten Abfälle müssen autoklaviert werden. Schutzkleidung wird ebenfalls vor der Weitergabe an die Wäscherei oder der Entsorgung autoklaviert. Der Autoklav befindet sich in Ebene H, Raum 1240.

- Lagerung gentechnisch veränderter Organismen

S2-Organismen dürfen nicht in der Betriebseinheit Lasermikroskopie gelagert werden.

3. Bezeichnung der Mikroorganismen

HSV1 = Herpes Simplex Virus Typ 1

4. Gefahren für Mensch und Umwelt

HSV 1 ist der Risikogruppe 2 der "Menschlichen und Wirbeltierviren" zugeordnet (Bundesgesundhbl. 38, 5 (1995) und ist ein weltweit verbreiteter humaner Infektionserreger.

HSV1 ist bei direktem Kontakt oder in Aerosolen ein gewisses Sicherheitsrisiko. Klinisches Material und experimentelle Viruslösungen sind ein Infektionsrisiko nach Verschlucken, versehentlicher Injektion in die Blutbahn, Tröpfcheninfektion der Schleimhäute von Augen, Nase oder Mund und Einatmen konzentrierter Aerosole.

Obwohl es wenig Hinweise auf laborassoziierte Infektionen durch Aerosole gibt, sollte die Generation von Aerosolen vermieden werden. Arbeitsvorgängen, bei denen Aerosole entstehen könnten, müssen in der Sterilwerkbank durchgeführt werden. (vgl. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, US Dept. Health and Human Services, Center for Disease Control and Prevention and NIH).

Es existiert bislang kein zugelassener Impfstoff, jedoch stehen wirksame Therapeutika zur Verfügung, zu denen z.B. Ganciclovir oder Foscarnet gehören.

5. Schutzmaßnahmen und Verhaltensregeln

- Die Schutzmaßnahmen und Verhaltensregeln der Betriebsanweisung S1 gelten auch für S2-Arbeiten. Darüber hinaus gelten folgende Regeln:

- Während der Durchführung von S2-Arbeiten dürfen sich im S2-Bereich nur Beschäftigte nach erfolgter Vorsorgeuntersuchung aufhalten.

- Schwangere Frauen und stillende Mütter dürfen keine S2-Arbeiten durchführen und sich nicht im S2-Bereich aufhalten, während andere Mitarbeiter offene S2-Arbeiten durchführen.

- Während der Durchführung von S2-Arbeiten sind im S2-Bereich MHH-Schutzkittel mit der Kennzeichnung „Biogefährdung“ zu tragen, die im S2-Bereich verbleiben. Nach der Arbeit verbleiben die Kittel im S2-Kittel-Raum (1302). Dieser Raum ist stets abzuschließen. Bevor verschmutzte S2-Schutzkittel der Wäscherei zugeführt werden, müssen sie sterilisiert werden.

- Beim unmittelbaren Umgang mit S2-Organismen sind Schutzhandschuhe und bei Arbeiten außerhalb der Werkbank zusätzlich Schutzbrille zu tragen.

- Alle Arbeiten mit den S2-Organismen, bei denen Aerosole entstehen können, sind unter einer biologischen Sicherheitswerkbank durchzuführen.

- Virushaltige Lösungen dürfen nur in einer Sicherheitswerkbank im Raum 1051 (Zellkultur) pipettiert werden.

- Virushaltige Lösungen dürfen außerhalb der Mikroskopräume nur in bruch- und auslaufsicheren Behältern transportiert werden.

- Nach Beendigung der Arbeiten sind virushaltige Lösungen sachgerecht aufzubewahren zu beseitigen (nach dem Hygieneplan). Eine Lagerung von virushaltigen Lösungen ist nicht erlaubt.

-
- Nachbeendigung der Arbeiten sind möglicherweise kontaminierte Oberflächen nach dem Hygieneplan zu desinfizieren.

6. Entsorgung von Abwasser und Abfall

- Sämtliche Geräte, die bei Arbeiten mit S2-Organismen benutzt werden, sind grundsätzlich als kontaminiert zu betrachten.
- Alle mit S2-Organismen kontaminierten Abfälle (einschließlich Schutzkleidung) müssen vor einer Entsorgung über den öffentlich-rechtlichen Entsorgungsträger desinfiziert werden. Nur Abfälle mit einer bestimmten mechanischen Festigkeit (stichfest) können nach dem Autoklavieren als Hausmüll entsorgt werden.
- Kontaminierte Abfälle dürfen nicht in der Betriebseinheit Lasermikroskopie gelagert werden. Sie müssen sofort nach dem Experiment, spätestens am Ende des Arbeitstag fachgerecht entsorgt werden.
- Kontaminiertes Einmalmaterial wird in den dafür vorgesehenen Autoklavierbeuteln gesammelt, in Metalltonnen im S2-Labor transportiert und unmittelbar nach dem Experiment autoklaviert.
- Flüssigabfall wird in 50ml-Falconröhrchen gesammelt, in den dafür vorgesehenen Autoklavierbeuteln in Metalltonnen transportiert und unmittelbar nach dem Experiment autoklaviert.
- Zum Abtöten von S2-Organismen wird mindestens 20 Minuten bei 121°C autoklaviert. Der Autoklav darf nur von sachkundigem und unterwiesenem Personal bedient werden. Verantwortlich für das Autoklavieren des kontaminierten Abfalls sind die im Autoklavierplan genannten Personen.
- Der Transport von S2-Organismen durch nicht zur Anlage gehörende Flure oder Räume zum Autoklaven hat in dicht geschlossenen, bruchsicheren und von außen desinfizierbaren Metall-Behältern zu erfolgen. Diese Behälter sind ebenfalls als gentechnische Anlage der Sicherheitsstufe 2 zu kennzeichnen.

7. Verhalten im Gefahrenfall

Werden S2-Organismen enthaltender Lösungen auf Labortische oder dem Fußboden verschüttet, müssen sie mit Fließpapier aufgesaugt und die Oberflächen sofort mit einer 0,5%igen Incidin Plus Lösung desinfiziert werden. Das Fließpapier wird durch Autoklavieren desinfiziert. ACHTUNG: Grosse Flächen nicht mit 70% EtOH desinfizieren – Explosionsrisiko!

8. Entsorgung von Abwasser und Abfall

- Sämtliche Geräte, die bei Arbeiten mit S2-Organismen benutzt werden, sind grundsätzlich als kontaminiert zu betrachten.
- Bei der Desinfektion von Pipetten und Gefäßen mit 1% Korsorex ist darauf zu achten, daß die Geräte vollständig von der Desinfektionslösung bedeckt sind.
- Alle mit S2-Organismen kontaminierten Abfälle (einschließlich Schutzkleidung) müssen vor einer Entsorgung über den öffentlich-rechtlichen Entsorgungsträger desinfiziert werden. Nur Abfälle mit einer bestimmten mechanischen Festigkeit (stichfest) können nach dem Autoklavieren als Hausmüll entsorgt werden. Größere Mengen flüssiger Abfälle sind einer getrennten Entsorgung zuzuführen.
- Kontaminiertes Einmalmaterial wird in den dafür vorgesehenen Autoklavierbeuteln gesammelt, in Metalltonnen im S2-Labor zwischengelagert, unmittelbar vor dem Autoklavieren zum Autoklaven transportiert und dann **sofort** autoklaviert.
- Flüssigabfall wird in Glasgefäßen gesammelt, in die 1% Korsorex (Endkonzentration nach Zugabe des Flüssigabfalls) vorgelegt wird, in Metalleimer im S2-Labor zwischengelagert, unmittelbar vor dem Autoklavieren zum Autoklaven transportiert und dann **sofort** autoklaviert.
- Zum Abtöten von S2-Organismen wird mindestens 20 Minuten bei 121°C autoklaviert. Der Autoklav darf nur von sachkundigem und unterwiesenem Personal bedient werden. Verantwortlich für das Autoklavieren des kontaminierten Abfalls sind die im Autoklavierplan genannten Personen.
- Der Transport von S2-Organismen durch nicht zur Anlage gehörende Flure oder Räume zum Autoklaven hat in dicht geschlossenen, bruch sicheren und von außen desinfizierbaren Metall-Behältern zu erfolgen. Diese Behälter sind ebenfalls als gentechnische Anlage der Sicherheitsstufe 2 zu kennzeichnen.
- Zu autoklavierendes Material darf nicht am Standort des Autoklaven gelagert werden, sondern ist nach dem Transport von den Laborräumen in den Autoklavenraum **sofort** zu autoklavieren.
- Nach dem Autoklavieren können das Einmalmaterial und der Flüssigabfall mit dem allgemeinen Laborabfall entsorgt werden.

.....
(Datum)

.....
(Unterschrift Projektleiter)