

Stand:
20.06.2022

Bearbeiter:
K. Achazi,
S. Wedepohl
D. Lauster

Betriebsanweisung

gemäß § 17 Abs. 2 GenTSV und § 14 BioStoffV
für **Arbeiten in gentechnischen Anlagen**
der Sicherheitsstufe 1 und 2 – Anlage 92/14

Freie Universität  Berlin
FACHBEREICH BIOLOGIE, CHEMIE, PHARMAZIE
INSTITUT FÜR CHEMIE UND BIOCHEMIE
FORSCHUNGSBAU SUPRAFAB

FASt: DR. M. HOYER
(DAS)
SiBE: ELISA QUAAS
ERSTHELFER: , E.
QUAAS, J. SCHOLZ, K.
TEBEL, DR. K. ACHAZI

Arbeitsbereich: Forschungsbau SupraFAB, Altensteinstr. 23a, 14195 Berlin (Sprecher Prof. Dr. R. Haag): Räume 114-114-7, 115-115.7, 026-026.4, 027 & 027.1
Projektleitung (gem. §3 Ziff.8 GenTG): Dr. Achazi (838-59145, 015203150552), Dr. Wedepohl (838-58721, 015142464808), Dr. Lauster (838-66286, 015208693103), Prof. Freund (838-51187, -53476, 015164964661), Dr. Nürnberg, (838-56032, 01590172 7694)
Beauftragter für die Biologische Sicherheit (BBS): Dr. B. Loll (83857348, 01773503488)

GEFAHRENBEZEICHNUNG

Gentechnische Arbeiten der Sicherheitsstufe 1 und 2 inkl. Arbeiten mit Biostoffen bis Risikogruppe 2

Der Sicherheitsstufe 2 sind gentechnische Arbeiten zugeordnet, bei denen nach dem Stand der Wissenschaft unter Einhaltung der in dieser Betriebsanweisung beschriebenen Verhaltensregeln von einem geringen Risiko für die menschliche Gesundheit oder Umwelt auszugehen ist, der Sicherheitsstufe 1 sind Arbeiten ohne Gefährdung zugeordnet.

GEFAHREN FÜR MENSCH UND UMWELT

Biostoffe der Risikogruppe 2 sowie gentechnisch veränderte Organismen (GVOs), welche die Sicherheitsstufe 2 erfordern, können bei Einwirkung auf den menschlichen Körper Infektionen und Erkrankungen verursachen. Bei Arbeiten mit GVOs und Biostoffen der Risikogruppe 1 ist ein Infektionsrisiko für den Menschen unwahrscheinlich. Ein sensibilisierendes oder toxisches Potential ist nicht auszuschließen.

Die Aufnahme in den Körper kann durch Inhalation von oder Kontakt mit Aerosolen, Verschlucken erregerehaltigen Untersuchungsgutes, Eindringen von Erregern in bestehende oder verletzungsbewingte Hautschäden oder beim Verspritzen der Probe über das Auge und die Schleimhäute erfolgen. Bei vielen Labortätigkeiten (u.a. Umfüllen, Ausplattieren, Pipettieren, Mischen, Vortexen) können Aerosole entstehen. Zu gentechnischen Arbeiten zählen neben der Erzeugung auch die Verwendung, Vermehrung, Lagerung, Zerstörung, Entsorgung und der innerbetriebliche Transport von GVOs und Biostoffen.

SCHUTZMAßNAHMEN UND VERHALTENSREGELN



Tätigkeiten mit GVOs bzw. Biostoffen der Risikogruppe 1 bzw. 2 müssen in einer gentechnischen Anlage der Sicherheitsstufe 1 (S1) bzw. 2 (S2) bzw. unter Schutzstufe 1 bzw. 2 durchgeführt werden. Folgende Regeln gelten:

- Kennzeichnung des Arbeitsbereichs; Biogefährdungssymbol für S2-Bereich.
- Zugang nur nach Sicherheitsunterweisung, **Kenntnis der aktuellen Anlage 2 Teil A II GenTSV**, Autorisierung durch die Projektleitung & jährlicher Wiederholung dokumentiert durch Unterschrift.
- Das Reinigungspersonal muss durch die Projektleitung über S1/S2-Arbeiten und Arbeiten mit Biostoffen der Risikogruppe 1 und 2 informiert und eingewiesen werden und darf den S2-Bereich, während dort Arbeiten durchgeführt werden, nicht betreten.
- werdende und stillende Mütter wie auch Individuen mit eingeschränktem Immunsystem sollten ihre Beschäftigungsstelle, die Projektleitung oder den betriebsärztlichen Dienst informieren.
- Aufnahme neuer Tätigkeiten erst nach Absprache mit der Projektleitung.
- Alle Arbeiten müssen in Absprache mit der Projektleitung aufgezeichnet werden.
- Fenster und Türen während der Arbeit geschlossen halten.
- Im Labor nicht essen, rauchen, trinken, Kaugummi kauen oder Kosmetika auftragen.
- Geschirr, Behältnisse für Lebensmittel oder Getränke, Lebensmittel, Kosmetika, Tabakwaren o.ä. dürfen nicht in den Labor-Bereich gelangen.
- Beim Verlassen des Labors und bei Hautkontakt mit GVO oder Biostoffen Hände desinfizieren, waschen und pflegen gem. Hygiene- und Hautschutzplan.
- Die für Geräte, Tätigkeiten und Gefahrstoffe vorhandenen und ausgehängten Betriebsanweisungen (Zentrifuge, Autoklav, Sicherheitswerkbank, Stickstofftank, flüssiger Stickstoff, Lösungsmittel etc.) und Sicherheitsdatenblätter beachten.
- Pipettierhilfen zum Pipettieren benutzen; Mund-pipettieren ist verboten.
- Arbeitsplatz aufgeräumt, sauber und frei von nicht benötigten Geräten und Materialien halten.
- Vorräte von Gefahrstoffen in dafür geeigneten Räumen oder Schränken lagern.
- Arbeitsgeräte nach Kontakt mit GVO oder Biostoffen autoklavieren oder desinfizieren gemäß Hygiene- und Hautschutzplan und erst dann reinigen.
- Spritzen, Kanülen, Klingen, Nadeln, etc. nur wenn unbedingt notwendig benutzen und in die dafür vorgesehenen, gelben durchstoßsicheren Behältnissen sammeln und autoklavieren.
- Ungeziefer und Überträger von GVO sind auf geeignete Weise zu bekämpfen.

SCHUTZMAßNAHMEN UND VERHALTENSREGELN



- Abfall, GVOs und Biostoffe sind in gegen Bruch geschützten, desinfizierbaren und entsprechend gekennzeichneten Gefäßen zu sammeln und zu transportieren; zwischen nicht unmittelbar miteinander verbundenen Räumen der Gen-Anlage müssen die Gefäße dicht geschlossen sein.
- Alle Behältnisse, die GVOs oder Biostoffe enthalten, müssen eindeutig beschriftet sein.
- Reinheit und Identität der Organismen regelmäßig (vierteljährlich und vor Lagerung) überprüfen
Geschlossene Laborkittel, festes und geschlossenes Schuhwerk sowie Schutzbrille tragen.
- Die Schutzkleidung verbleibt beim Verlassen im Labor-Bereich.
- Aerosolbildung (z. B. Umfüllen, Schütteln, Zentrifugieren, Vortexen, Pipettieren) vermeiden:
Geschlossene Gefäße benutzen, geringe Fallhöhe beim Umfüllen beachten, Wartezeit zum Absinken von Aerosolen einhalten, dicht schließende Zentrifugenröhrchen & Rotoren mit Aerosoldichtem Deckel verwenden & bei defekten Röhrchen unter der Sicherheitswerkbank öffnen.
- Bei Arbeiten mit GVOs, humanem Probenmaterial (z.B. Blut, Mucus oder Gewebe), viralen Vektoren wie VSV-G-pseudotypisierten retroviralen, lentiviralen oder AAV Vektoren und Biostoffen ab Risikogruppe 2 (z.B. Viren, Bakterien, Zellkulturen) muss unter einer Sicherheitswerkbank Klasse II gearbeitet werden, wenn die Gefahr der Aerosolbildung besteht (s.o.); wird Aerosolbildung vermieden (s.o.), sollte dennoch unter einer Sicherheitswerkbank Klasse II gearbeitet oder, falls nicht möglich, ein Mund- und Nasenschutz (FFP2) getragen werden; Schmierkontaminationen vermeiden; Gegenstände vor dem Entfernen aus der desinfizieren; Handschuhe tragen und regelmäßig wechseln.
- Für Arbeiten mit GVOs und Biostoffen ab Risikogruppe 2 sind arbeitsmedizinische Präventionsmaßnahmen zu beachten, besonders: (1) Aufnahme neuer Arbeiten nur nach vorheriger Gefährdungsbeurteilung, (2) wenn möglich sollen gefährliche Biostoffe ersetzt werden, (3) Umgang soll Freisetzung der Biostoffe vermeiden.
- Die arbeitsmedizinische Vorsorge zur Prävention arbeitsbedingter Erkrankungen wird empfohlen und ist Pflicht bei Tätigkeiten mit chemischen und biologischen Gefahrstoffen (z.B. humanem Probenmaterial, humanpathogenen Viren/Bakterien), beim Tragen von Handschuhen mehr als 4h pro Tag und Bildschirmarbeit; Werdende o. stillende Mütter müssen die Projektleitung informieren.
- Die Durchführung von arbeitsplatzrelevanten Schutzimpfungen durch den betriebsärztlichen Dienst z.B. bezgl. HBV, Tetanus, Influenzaviren, SARS-CoV-2 o.a. sollte in Anspruch genommen werden; der Impftatus der Mitarbeitenden sollte nach der STIKO-Empfehlung angepasst sein; ein für den jeweiligen Arbeitsplatz/Tätigkeit unzureichender Impfstatus sollte dem betriebsärztlichen Dienst und der Projektleitung mitgeteilt werden, um präventive Maßnahmen festlegen zu können.

VERHALTEN IM GEFAHRFALL

Havarie/Technische Notfälle: -55555



- Eigenschutz beachten! Laborkittel, Schutzbrille, Handschuhe und ggf. Mund- und Nasenschutz (FFP2) tragen; verschüttetes biologisches Material aufsaugen und in geeigneten Behältern sammeln und autoklavieren; oberflächen desinfizieren gemäß Hygiene- und Hautschutzplan.
- Den Projektleiter und ggf. BBS unverzüglich informieren.
- Im Gefahrfall aushängende Notfall-, Brandschutz- und Räumungspläne beachten.

ERSTE HILFE

Notruf: 112 (intern: -55112)



- Kontaminierte Kleidung sofort ausziehen & autoklavieren: Hygiene- und Hautschutzplan beachten!
- Bei allen Verletzung und insbesondere Herz-Kreislauf-Beschwerden & Verbrennungen Ersthelfer konsultieren, soweit möglich im Rahmen der üblichen Erste Hilfe Maßnahmen versorgen und ggf. Durchgangs-Arzt aufsuchen oder **Notruf absetzen!**
- Offene Wunden mit Wasser auswaschen und ausbluten lassen (Schnittwunden nur ausbluten).
- Bei Kontamination der Augen und Schleimhäute, Schleimhäute mind. 10 Min. bei offenen Augen mit der Augendusche mit Wasser spülen; ggf. Augenarzt oder Augenambulanz kontaktieren.
- Arzt auf die verwendeten chemischen/biologischen Agenzien hinzuweisen.
- Jeder Unfall ist der Projektleitung und, bei Beteiligung von GVOs, dem BBS zu melden; Alle Unfälle/Verletzungen müssen im Meldeblock am Erste Hilfe Kasten notiert werden.

LAGERUNG UND ENTSORGUNG



- Sämtliche möglicherweise mit GVOs oder Biostoffen kontaminierten flüssigen und festen Abfälle sowie Bruchglas in den gekennzeichneten Flüssigkeits, bzw. Festabfallbehältern (Inlinersack) bzw. in durchstichsicherem Behälter sammeln und bei Bedarf, spätestens vor dem Wochenende, im Autoklaven mit Abluftfiltration autoklavieren. Die Entsorgung erfolgt danach über den Hausmüll.
- Möglicherweise kontaminierte Geräte, Oberflächen etc. gem. Hygiene- und Hautschutzplan reinigen und desinfizieren und, wenn möglich, im Autoklaven mit Abluftfiltration autoklavieren.

DATUM & UNTERSCHRIFT/EN# DER VERNATWORTLICHEN PERSON/EN

Status
20.06.2022

Editor
Dr. K. Achazi
S. Wedepohl
D. Lauster

Operating instructions

according to § 17 paragraph 2 GenTSV & § 14 BioStoffV
for work in genetic engineering facilities
of security level 1 and 2 – Facility 92/14

SAFETY OFFICER: DR. M. HOYER (DAS)
SAFETY TECHN.: ELISA QUAAS
FIRST AIDERS: E. QUAAS, J. SCHOLZ, K. TEBEL, DR. K. ACHAZI
Working area: Forschungsbau SupraFAB, Altensteinstr. 23a, 14195 Berlin (Sprecher Prof. Dr. R. Haag): Räume 114-114-7, 115-115.7, 026-026.4, 027 & 027.1
Project leader (according to §3 Ziff.8 GenTG): Dr. Achazi (838-59145, 015203150552), Dr. Wedepohl (838-58721, 015142464808), Dr. Lauster (838-66286, 015208693103), Prof. Freund (838-51187,-53476, 015164964661), Dr. Nürnberg, (838-56032, 01590172 7694)
Biological Safety Office (BBS): Dr. B. Loll (83857348, 01773503488)

IDENTIFICATION OF HAZARD

Genetic engineering work at security levels 1 and 2 including work with biomaterials up to risk group 2

Security level 2 is assigned to genetic engineering work for which, according to the state of scientific knowledge, a low risk to human health or the environment can be assumed when operating instructions are observed; security level 1 is assigned to work without risk.

HAZARDS TO HUMAN HEALTH AND THE ENVIRONMENT

Biological agents of risk group 2 as well as genetically modified organisms (GMOs) requiring security level 2 can cause infections and diseases when exposed to the human body. When working with GMOs and risk group 1 biological agents, a risk of infection to humans is unlikely. A sensitizing or toxic potential cannot be excluded.

Uptake into the body may occur by inhalation of or contact with aerosols, ingestion of test material containing pathogens, penetration of pathogens into existing or injured skin, or when splashing the sample over the eye and mucous membranes. Many laboratory activities (e.g. decanting, plating, pipetting, mixing, vortexing) may generate aerosols. In addition to production, genetic engineering work also includes the use, propagation, storage, destruction, disposal and the in-house transport of GMOs and biosubstances.

PROTECTIVE MEASURES, RULES OF CONDUCT



Work involving GMOs or biological agents of risk group 1 or 2 must be carried out in a genetic engineering facility of security level 1 (S1) or 2 (S2) or under protection level 1 or 2, respectively. The following rules apply:

- Labeling of the work area; biohazard symbol for S2 area.
- Access only after safety instruction, knowledge of the current Annex 2 Part A II GenTSV, authorization by the project leader & annual repetition documented by signature.
- Cleaning personnel must be informed and instructed by the project leader about S1/S2 work and work with biological agents of risk groups 1 and 2 and must not enter the S2 area while work is being carried out there.
- Expectant and nursing mothers, as well as individuals with impaired immune systems, should inform their place of employment, the project leader or the occupational health service.
- Start new activities only after consultation with the project leader.
- All work must be recorded in consultation with the project leader.
- Keep windows and doors closed during work.
- Do not eat, smoke, drink, chew gum or apply cosmetics in the laboratory.
- Dishes, containers for food or beverages, food, cosmetics, tobacco products or the like must not be allowed to enter the laboratory area.
- When leaving the laboratory and in case of skin contact with GMOs or biological agents, disinfect, wash and care for hands according to hygiene plan and skin protection plan.
- Observe the existing and posted operating instructions for equipment, procedures and hazardous substances (centrifuge, autoclave, safety workbench, nitrogen tank, liquid nitrogen, solvents, etc.) and safety data sheets.
- use pipetting aids for pipetting; mouth pipetting is prohibited.
- Keep workplace tidy, clean and free of unneeded equipment and materials.
- Store supplies of hazardous substances in suitable rooms or cabinets.
- Autoclave or disinfect work equipment after contact with GMOs or biological agents in accordance with the hygiene and skin protection plan, and only then clean the equipment.
- Use syringes, cannulas, blades, needles, etc. only when absolutely necessary and collect and autoclave them in the yellow puncture-proof containers provided for this purpose.
- Vermin and vectors of GMOs shall be controlled in an appropriate manner.

PROTECTIVE MEASURES, RULES OF CONDUCT



- Waste, GMOs, and and biomaterials must be collected and transported in containers that are protected against breakage, can be disinfected, and are appropriately labeled; containers must be tightly closed between rooms of the genetic facility that are not directly connected to each other.
- All containers containing GMOs or biological agents must be clearly labeled.
- Vermin and vectors of GMOs shall be controlled in an appropriate manner.
- Check purity and identity of organisms regularly (quarterly and prior to storage) Wear closed lab coats, sturdy and closed footwear, and safety glasses.
- Protective clothing remains in the laboratory area when leaving.
- Avoid aerosol formation (e.g. decanting, shaking, centrifuging, vortexing, pipetting): Use closed vessels, observe low drop height when decanting, observe waiting time for aerosols to settle, use tightly closing centrifuge tubes & rotors with aerosol-tight lids & open under safety cabinet if tubes are damaged.
- When working with GMOs, human specimen material (e.g., blood, mucus, or tissue), viral vectors such as VSV-G-pseudotyped retroviral, lentiviral, or AAV vectors, and biological agents from risk group 2 (e.g., viruses, bacteria, cell cultures), work must be performed under a Class II safety cabinet if there is a risk of aerosol formation (see. above); if aerosol formation is avoided (see above), work should nevertheless be carried out under a Class II safety cabinet or, if not possible, mouth and nose protection (FFP2) should be worn; avoid smear contamination; disinfect objects before removing them from the safety cabinet; wear gloves and change them regularly.
- For work with GMOs and bio-substances from risk group 2, occupational health preventive measures must be observed, in particular: (1) start new work only after prior risk assessment, (2) if possible, hazardous bio-substances should be replaced, (3) handling should avoid release of bio-substances.
- Occupational health screening for the prevention of work-related diseases is recommended and obligatory for activities involving chemical and biological hazardous substances (e.g. human specimens, human pathogenic viruses/bacteria), when wearing gloves for more than 4 h per day and work with visual display units; expectant or nursing mothers must inform the project leader.
- The implementation of workplace-relevant vaccinations by the occupational health service, e.g. regarding HBV, tetanus, influenza viruses, SARS-CoV-2, etc., should be taken advantage of; the vaccination status of the staff should be adjusted according to the STIKO recommendation; an insufficient vaccination status for the respective workstation/job should be reported to the occupational health service and the project leader in order to be able to determine preventive measures.

CONDUCT IN THE CASE OF DANGER

Technical emergencies: -55555



- Personal protection must be observed! Wear lab coat, protective eyewear, gloves and, if necessary, mouth and nose protection (FFP2); soak up spilled biological material and collect in suitable containers and autoclave; disinfect surfaces according to hygiene and skin protection plan
- Inform the project leader and, if necessary, BBS immediately
- In case of danger, observe posted emergency, fire protection and evacuation plans.

FIRST AID

Emergency call: 112 (internal: -55112)



- Remove contaminated clothing immediately & autoclave: Observe hygiene & skin protection plan!
- In case of any injury, especially cardiovascular problems and burns, consult a first-aidler, provide first aid as far as possible and, if necessary, consult a doctor or make an **emergency call!**
- Wash out open wounds with water and allow to bleed out (cuts should only bleed out).
- In case of contamination of eyes and mucous membranes, rinse with water for at least 10 minutes with open eyes using the eye wash; if necessary, contact ophthalmologist or eye clinic.
- Inform the doctor about the chemical/biological agents used.
- Every accident must be reported to the project management and, if GMOs are involved, to the BBS; all accidents/injuries must be noted in the reporting block at the first aid box.

PROPER DISPOSAL



- Collect liquid and solid waste possibly contaminated with GMOs or biological agents as well as broken possibly contaminated glass in the marked liquid or solid waste containers (inliner bag) or in a puncture-proof container and autoclave in an autoclave with exhaust air filtration as required, at the latest before the weekend. Afterwards, dispose of with household waste.
- Clean and disinfect possibly contaminated equipment, surfaces, etc. according to the hygiene and skin protection plan and autoclave with exhaust air filtration, if possible.

DATE & SIGNATURE/S OF THE RESPONSIBLE PERSON/S