

Werkinstructie voor ML-II inperkingsniveau

Introductie

Deze werkinstructie is bedoeld als basisdocument voor ML-II laboratoria en dient te worden aangevuld naar de afdelingssituatie. Vermeld daarbij eventueel aanvullende voorschriften uit de vergunning/kennisgeving (IenW). Daarnaast verwijzen wij naar de werkinstructie [Veilig werken in laboratoria](#). Alle medewerkers van een ML-II laboratorium dienen kennis te hebben genomen van deze werkinstructie en van de inhoud van de vergunning/kennisgeving waarop zij werkzaamheden verrichten. Naast deze werkinstructie is er een procedure opgesteld waarin de organisatorische aspecten m.b.t. ggo-werkzaamheden zijn vastgelegd.

Een ML-II laboratorium is te herkennen aan het opschrift ML-II en een Biohazard teken op de deur van het lab.



Toegang

- Er mag alleen zelfstandig met ggo's worden gewerkt door projectmedewerkers, die schriftelijk zijn aangemeld bij de BVF en zijn toegelaten zie formulier [Approval as GMO worker](#).
- Er mag pas met werkzaamheden begonnen worden na instructie door de verantwoordelijk medewerker, onderzoeksleider of de ABV.
- Schoonmaakpersoneel heeft geen toegang voor de werkzaamheden zoals opgenomen in de schoonmaakprocedure voor ggo-ruimten.
- Onderhoudspersoneel van de IDEE is geïnstrueerd door de BVF, maar heeft alleen toegang in overleg met de ABV.
- Alle medewerkers en studenten die toegang nodig hebben tot een ML-I laboratorium moeten bij de BVF worden aangemeld als ggo-medewerker.
- Studenten krijgen geen toestemming om met niveau 2 ggo's te werken, uitzondering zijn werkzaamheden met viraal getransduceerde cellijnen die al langdurig in kweek zijn. Zie hier voor de procedure [Toelating van studenten tot niveau 2 laboratoria](#).
- Het ML-II laboratorium is afgesloten wanneer er geen medewerkers aanwezig zijn.

Kleding

- Tijdens het werken in het ML-II laboratorium wordt een gesloten laboratoriumjas gedragen (witte jas met groene kraag of groene streep op kraag of borstzakje en lange mouwen) en eventueel mouwcovers als de mouwen niet lang genoeg zijn.
- De laboratoriumjas en handschoenen blijven na de werkzaamheden in de ML-II ruimte achter.
- Indien de laboratoriumjas besmet raakt door morsen of ongevallen met ggo's, dient de jas direct geautoclaveerd te worden. Alle jassen worden in een autoclaveerbare plastic zak ter autoclaving aangeboden aan de CGSA.
- Draag disposable handschoenen wanneer de huid niet in optimale conditie is of wanneer het experiment dat vereist.
- Persoonlijke bezittingen, zoals jas, trui, tas, buiten de werkruimte opbergen.
- Vermijd het gebruik van persoonlijke laptop, tablet of mobiele telefoon in de ML-II ruimte. Indien gebruik echt noodzakelijk is dan bedienen met schone handen (niet met handschoenen). Bij mogelijke contaminatie laptop, tablet of mobiele telefoon desinfecteren met een geschikt desinfectiemiddel (denk ook nu aan de minimale contacttijd).

Werktechnieken

1. Algemeen

- Ramen van een ML-II werkruimte kunnen niet worden geopend en de deuren van de werkruimte zijn tijdens de werkzaamheden gesloten
- Er mag geen administratie worden gevoerd in het laboratorium anders dan het vastleggen van de experimentele gegevens.

- De werkruimte wordt netjes en schoongehouden. Er mag geen overbodig meubilair of instrumentarium aanwezig zijn.
- Het dragen van handsieraden (ringen, armbanden, horloges etc) tijdens werkzaamheden is verboden.
- Ongedierde mag niet aanwezig zijn.
- Roken, eten, drinken en het bewaren van voedsel, het aanbrengen van cosmetica of het aanbrengen van contactlenzen is niet toegestaan; loshangend haar wordt vastgebonden.
- Vermijd hand-gezicht contact.
- Pipetteren met de mond is verboden; gebruik een ballon of pipetman.
- Ter voorkoming van contaminatie van mechanische delen van een pipet kunnen filtertips worden gebruikt.
- Gebruik uitsluitend papieren zakdoekjes of tissues indien nodig.
- Vóór het verlaten van de werkruimte worden de handen gewassen met water en zeep.
- Indien water en zeep niet voorhanden zijn in het ML-II laboratorium dienen de handen te worden gedesinfecteerd met een wettelijk toegelaten handenalkohol vóór het verlaten van het lab.
- Het ML-II laboratorium is afgesloten indien er niemand werkzaam is
- Indien er een groot Biosafety Cabinet (1,8m) aanwezig is, is het niet toegestaan 2 separate experimenten tegelijkertijd uit te voeren in de kast.
- Het gebruik van een bunsenbrander is niet toegestaan.

2. Voorkomen van de vorming van aerosolen

- Alle open handelingen dienen in het veiligheidskabinet plaats te vinden.
- Voorkom de vorming van aerosolen door enkele minuten te wachten met het openen van buizen totdat aerosolen zijn neergeslagen, entnaalden te laten drogen alvorens deze te flamberen, een pipet tegen de wand van een buisje uit te laten lopen en niet met kracht uit te drukken enz.

3. Gebruik van veiligheidskabinet

- Zie procedure [Veilig gebruik van een biologisch veiligheidskabinet type II](#).

4. Injectiespuiten en injectienaalden

- Om de kans op een prikaccident, aerosolvorming of morsen te verkleinen, gebruik van een injectiespuit met naald zoveel mogelijk vermijden.
- Gebruik uitsluitend wegwerpinjectiespuiten met wegwerpnaalden.
- Vul de spuit voorzichtig en voorkom vorming van luchtbelletjes; houdt de punt van de naald in de vloeistof, wanneer de inhoud van de spuit wordt uitgedrukt.
- Deponeer de naald direct in de daarvoor bestemde naaldencontainer. Indien de naaldencontainer vol is dient deze afgesloten in een geel WIVA vat te worden geplaatst.
- Nooit een naald recapen!!

5. Decontaminatie en desinfectie

- Er dient voldoende geschikt desinfectans aanwezig te zijn voor aanvang van een experiment, zie werkinstructie [Desinfectie van laboratoria](#).
- De werkoppervlakken (tafel of veiligheidskabinet) worden aan het einde van de werkzaamheden en aan het eind van iedere werkdag ontsmet met een geschikt desinfectans.
- **In het geval van een spill dient altijd de BVF gecontacteerd te worden voordat de spill opgeruimd en het oppervlak gedesinfecteerd wordt.** Als er gemorst is dient de spill te worden opgeruimd door deze te bedekken met in geschikt desinfectans gedrenkte tissues. Laat gedurende de voorgeschreven tijd inwerken en ruim het daarna op; tissues met spill in geel WIVA vat deponeren. Maak het werkoppervlak daarna schoon met water en desinfecteer nogmaals.

6. Biologisch besmet afval en – besmet materiaal

- Behalve handenwaswater mag geen besmet afvalwater vanuit het laboratorium in het riool worden geloosd, tenzij vooraf gedesinfecteerd.
- Vloeibaar afval kan worden geautoclaveerd of worden gedecontamineerd met door de Ctgb toegelaten actief chloor, gedurende minimaal 30 minuten. De eindconcentratie van het actieve chloor dient minimaal 2000 ppm te zijn, bijv. 1 tablet per 750 ml ggo-oplossing. Voor meer informatie over

desinfectiemiddelen en hun concentraties en minimale contacttijden zie tabel 1 van werkinstructie [Desinfectie van Laboratoria](#).

- Vloeibaar afval dat ter destructie aan de CGSA wordt aangeboden dient daar, dubbel-contained in een breukvaste, desinfecteerbare container voorzien van opschrift ggo, naar vervoerd te worden.
- Vast ggo- en biologisch afval wordt verzameld in de gele WIVA vaten. Als een vat vol is wordt deze afgesloten met een rood deksel. De buitenkant van het vat wordt gedesinfecteerd met een geschikt desinfectans en het deksel wordt voorzien van een sticker, waarop het ggo-nr/naam/ruimtenr wordt vermeld. De volle vaten worden op de daarvoor bestemde plek aangeboden aan de logistiek medewerkers.
- Ook kan het vloeibaar afval worden opgevangen door middel van het Serres gelsysteem. Hierbij wordt de opgevangen vloeistof in de zak omgezet in een gel. De zak met daarin de tot gel omgezette vloeistof kan in het ggo-afval vat (geel WIVA vat) worden gedeponeerd
- Vuil glaswerk dat in aanraking is geweest met ggo's wordt met een geschikt desinfectans gedesinfecteerd (denk aan de minimale contacttijd) gespoeld en gewassen.

7. Centrifugereren

- Controleer of de buizen gaaf zijn en sluit de buizen zorgvuldig.
- Gebruik gesloten centrifuge buizen (lieft met schroefdop) en/of gesloten buckets.
- Vul de centrifuge buizen tot maximaal 4/5 van het volume. Indien hoekrotoren worden gebruikt kan de centrifuge buis maar tot maximaal 2/3 van het volume gevuld worden. De vloeistof in de centrifuge buis mag tijdens centrifugereren niet in contact komen met de dop van de buis.
- Open buizen in een biologisch veiligheidskabinet. In het geval dat er iets onverwachts gebeurt tijdens het centrifugeer proces, wacht dan 30 minuten voordat de centrifuge geopend wordt. Dit omdat een buis kapot gedraaid kan zijn en je blootgesteld wordt aan de aerosolen. In het geval van afsluitbare buckets. Kan men de hele bucket uit de centrifuge halen en in het veiligheidskabinet openen.
- Rotoren die besmet zijn ten gevolge van lekkage of breuk dienen onmiddellijk na het beëindigen van het centrifugereren te worden ontsmet, zie hiervoor de werkinstructie [Desinfectie van laboratoria](#).

8. Gebruik van koelkasten, vriezers en stikstoftanks

- Om contaminatie van koelkasten en vriezers te voorkomen dient opslag van ggo's dubbel contained plaats te vinden (bijv. epje in zip-lock zakje, bacterie kweekcultures of platen in een gesloten plastic box).
- Indien ggo-materiaal buiten het ML-II laboratorium wordt opgeslagen in koelkasten, vriezers of stikstoftanks, dient dit te gebeuren in een ODG (overig deel ggo-gebied). Een koelkast, vriezer of voorportaal van laboratoria kan als ODG geclassificeerd worden. De locatie van het ODG dient vermeld te worden in het logboek. Ook dient het ODG voorzien te zijn van een ODG label en biohazard teken. Van de opgeslagen ggo's dient een registratie bijgehouden te worden.

9. Waterbaden

- Ververs het water regelmatig en voeg hieraan een desinfectans toe. (bijv. Prothermal of Aquaclean). Natriumazide niet gebruiken in verband met explosieve eigenschappen.

10. CO₂-stoven

- Ter voorkoming van schimmelgroei in de waterpan kan een waterpan van koper worden gebruikt of gebruik een stukje koper (bijv. 5 eurocent). Ververs het water van de waterpan in de CO₂-stoof regelmatig en voeg hieraan evt. een desinfectans toe (bijv. Prothermal of Aquaclean)
- Maak CO₂ -stoven regelmatig schoon om bacterie en schimmelgroei te vermijden

11. Ultrasonie- en mengapparatuur, magnetische roerders, e.d.

- Deze apparatuur in combinatie met ggo-materiaal alleen in een veiligheidskabinet gebruiken, tenzij het gesloten vaten betreft. In dit laatste geval dienen de vaten in het veiligheidskabinet te worden geopend. Wacht enkele minuten alvorens de vaten te openen, zodat de aerosolen zijn neergeslagen.

12. Verzending van ggo materiaal

- Voor het verzenden van ggo materiaal, zie de werkinstructie [Vervoer van ggo's en biologisch materiaal](#).

13. Vervoer van ggo materiaal

- Voor het vervoer van ggo materiaal naar een ander locatie (ook binnen het gebouw) dient gebruik te worden gemaakt van een gesloten, breukvaste, lekdichte container, voorzien van een biohazard teken.

14. Registratie

- Alle ggo-werkzaamheden worden geregistreerd in een labjournaal. Men dient te registreren welke handelingen met welk ggo-materiaal (host/vector/insert/origin insert) verricht zijn. Voorin het labjournaal wordt vermeld onder welk(e) ggo-vergunning/kennisgevingsnummer(s) werkzaamheden vergund/kennisgegeven zijn en waar eventuele opslag buiten het ML-II lab plaats vindt.
- In Labagenda of het logboek van het ML-II lab dient verplicht het registratieformulier (datum/naam/afdeling/telnr/handeling/IG-nr) volledig ingevuld te worden. Indien virale productie of infectie plaats vindt dient tevens het type virus, producer cellijn, transfer vector en packaging vector(en) geregistreerd te worden.
- Medewerkers die toestemming hebben voor het werken op het ML-II lab zijn geregistreerd in het (digitale) logboek evenals eventuele gastmedewerkers.

Afkortingenlijst

ABV	Afdelingsdeskundige Biologische Veiligheid
BVF	Biologischeveiligheidsfunctionaris
CGSA	Centrale Glas Sterilisatie Afdeling
Ctgb	College voor de toelating van gewasbeschermingsmiddelen en biociden
GGO	Genetisch Gemodificeerd Organisme
IDEE	Instrument Development, Engineering and Evaluation (UM)
IenW	Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat
ML-II	Microbiologisch Laboratorium klasse II
ODG	Overig deel ggo-gebied
Ppm	Parts per million

Referenties

- Besluit en Regeling genetische gemodificeerde organismen milieubeheer 2013, IenW, april 2014
- [Website HSB Maastricht](#)

Inlichtingen

Voor meer informatie kunt u terecht bij de [BVF](#).