

Safety Instruction

PWM 2019

Working with Biological Agents

Handling of Hazardous Substances

Behaviour in Case of Danger

Working with Lasers

When handling with biological agents in the laboratory, special rules of conduct and compliance with certain protective regulations must be observed.



Symbol for biohazard

What are biological agents?

Definitions according to § 2 BioStoffV :

- (1) Biological agents are micro organisms, cell cultures and endoparasites, including their genetically modified forms, which are transmitted to humans through infections, transmissible diseases, toxin formation, sensitizers or other harmful health effects that could endanger your safety.
- (2) Micro organisms are any cellular or non-cellular microscopically or submicroscopically small biological units used for the propagation or distribution of genetic material (especially bacteria, viruses, protozoa, and fungi).

biological agents in our group

cell lines and genetically modified organisms (GMOs)

- commercially acquired cell lines
- already genetically modified cell lines from other laboratories
- cells transfected in our cell culture

risk classification **S1**

primary tissue samples from hospital

- human tissue samples directly obtained after surgery

risk classification **S2**

What does risk classification mean?

risk classification S1:

biological agents for which it is unlikely that they cause a disease in humans.

risk classification S2:

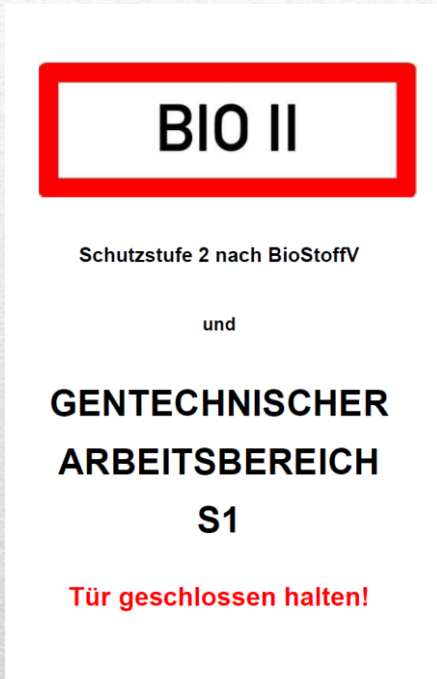
biological agents that could cause a disease in humans and may pose a hazard to workers; the substance is unlikely to spread to the general public; effective prevention or treatment is normally possible.

that means in practice

Before starting work, a risk assessment (determination of the hazard potential) must be carried out for the planned work, from which the safety classification of the work results.

In the case of new acquisitions of biological agents (cell lines, GMOs), the Biosafety Officer must be informed in order to carry out the safety classification.

Work with biological agents of risk classification S2 may only be carried out in laboratories of safety level 2.



these laboratories comply with security level 2:

- cell culture lab (r. 117)
- old cell culture lab (r. 116 + ante-room)
- MRE lab (r. 115)
- AFM labs (r. 131 a/b + ante-room)
- SpiDi lab (r. 132)
- OS lab (r. 311)

There is an obligation to keep records for work with GMOs and biological agents.

**GENTECHNISCHER
ARBEITSBEREICH**

S1

Tür geschlossen halten!

these laboratories comply with security level 1:

- BONG lab (r. 309)
- chemistry lab (r. 310)

There is an obligation to keep records for work with GMOs and biological agents.

University of Leipzig, Faculty of Physics and Earth Science, Dept. of Soft Matter Physics
and Dept. of Molecular Biophysics

OPERATING INSTRUCTIONS

ACCORDING TO

§12 GENTECHNIK-SICHERHEITSVERORDNUNG
FÜR GENTECHNISCHE LABORBEREICHE DER
SICHERHEITSSTUFE S1

Stand: 03.08.2018

The operating instructions are displayed
in every laboratory.

**There is an obligation of the compliance
of the operating instructions.**

Biological Agents – Operating Instruction

S2-Labor

Betriebsanweisung gemäß § 12
Biostoffverordnung

Stand
30.09.2015

Anwendungsbereich / Gefahrenbezeichnung

Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen der Risikogruppe 2

Gefahren für Mensch und Umwelt



Biogefährdung

Biologische Arbeitsstoffe der Risikogruppe 2 (Viren, Bakterien, Pilze, Endoparasiten) können bei Einwirkung auf den menschlichen Körper Infektionen und Erkrankungen hervorrufen, allergenes und toxisches Potential ist nicht auszuschließen. Die Aufnahme in den Körper kann durch Inhalation von Aerosolen, Verschlucken von Probenmaterial, Eindringen von Erregern in bestehende oder verletzungsbedingte Hautschäden oder beim Verspritzen der Probe über das Auge und die Schleimhäute erfolgen.

Schutzmaßnahmen und Verhaltensregeln

Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen der Risikogruppe 2 dürfen nur in Labors der Schutzstufe 2 oder höher durchgeführt werden.

Zutritt zum Labor haben nur die dazu berechtigten Personen.

Im Labor sind ein geschlossener Laborkittel, festes und geschlossenes Schuhwerk sowie ggf. Schutzbrille zu tragen. Die Schutzkleidung darf nur in den Arbeitsräumen getragen werden und ist beim Verlassen des Labors abzulegen.

Beim Verlassen des Labors und nach jedem Hautkontakt mit erregerehaltigem Material sind die Hände zu desinfizieren und zu waschen. Danach ist eine Handpflege vorzunehmen gem. Hautschutzplan.

Sämtliche Arbeiten, bei denen mit Aerosolbildung zu rechnen ist (z.B. Umfüllen, Ausplattieren, Pipettieren, Mischen) sind unter einer mikrobiologischen Sicherheitswerkbank durchzuführen (Raum 116). Die Sicherheitswerkbank ist aufgeräumt, sauber und ordentlich zu halten. Nach Abschluss der Tätigkeiten ist die Arbeitsfläche gemäß Hygieneplan zu desinfizieren und die UV-Lampe einzuschalten.

Während des direkten Umgangs mit infektiösem Material sind Einmalschutzhandschuhe zu tragen. Schmierkontaminationen (z.B. Telefonhörer, Türklinken, Armaturen, Schreibgeräte, Tastaturen etc.) sind zu vermeiden.

Kontaminierte Geräte und Instrumente sind gem. Hygieneplan regelmäßig zu reinigen und zu desinfizieren.

Pathogene Mikroorganismen dürfen nur in gekennzeichneten, verschlossenen und gegen Bruch geschützten Behältnissen transportiert werden. Vor Verlassen des Labors ist deren Oberfläche zu desinfizieren.

Mundpipettieren ist verboten. Zum Pipettieren sind ausschließlich Pipettierhilfen zu benutzen.

Arbeitsplatz aufgeräumt und sauber halten.

Fenster und Türen sind während der Arbeiten geschlossen zu halten.

Im Labor nicht essen, rauchen, trinken, Kaugummi kauen oder Kosmetika auftragen.

Es besteht die Möglichkeit, arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen in Anspruch zu nehmen.



Entsorgung

Feste und flüssige Abfälle, die mit pathogenen Mikroorganismen in Berührung gekommen sind bzw. diese enthalten können, sind vor der Entsorgung zu inaktivieren (121°C, 1 bar, 20 min) - Autoklav in Raum 116 (Vorraum).

Verhalten im Gefahrenfall

Notruf / techn. Warte: 34333 od. 34444

Bei Freiverden biologischen Materials (z. B. Verschütten, Bruch einer Kulturflasche) ist der betroffene Bereich zu sichern. Mitarbeiter warnen, ggf. Bereich absperren. Die Beseitigung des gefährlichen Zustands hat unter Eigenschutz zu erfolgen. Schutzhandschuhe anziehen, Flüssigkeiten mit Papierhandtüchern aufsaugen und im Anschluss autoklavieren. Kontaminierten Bereich sofort mit Desinfektionsmittel gemäß Hygieneplan behandeln.

Erste Hilfe







Benetzte Kleidung sofort ausziehen und erst nach desinfizierender Reinigung wieder verwenden.

Offene Wunden ausspülen, möglichst ausbluten lassen und sofort mit Wunddesinfektionsmittel einsprühen (Descosept). Bei Spritzern ins Auge intensiv mit der Augendusche spülen.

Verletzungen sind sofort dem Projektleiter oder dem BBS zu melden, ggf. ist der nächste D-Arzt zu konsultieren (Notaufnahme Uni-Klinikum).

Hygieneplan, Hautschutzplan, Benachrichtigungsplan
entsprechend Betriebsanweisung für Gentechniklabor S1

Biological Agents – Operating Instruction

| | | |
|--|--|----------------------|
| S1-LABOR | Betriebsanweisung für Gentechniklabors der Sicherheitsstufe 1 lt. § 12 Gentechnikverordnung | Stand: 30.09.2015 |
| Gefahrenbezeichnung | | |
| Der Sicherheitsstufe 1 sind gentechnische Arbeiten zuzuordnen, bei denen nach dem Stand der Wissenschaft unter Einhaltung der in der Betriebsanweisung beschriebenen Verhaltensregeln nicht von einem Risiko für die menschliche Gesundheit und die Umwelt auszugehen ist. | | |
| Gefahren für Mensch und Umwelt | | |
| Bei den in Sicherheitsstufe 1 eingesetzten gentechnisch veränderten Organismen (GVO) der Risikogruppe 1 ist ein Infektionsrisiko für den Menschen unwahrscheinlich. Ein sensibilisierendes oder toxisches Potential ist aber nicht auszuschließen. | | |
| Schutzmaßnahmen und Verhaltensregeln | | |
|  | Tätigkeiten mit gentechnisch veränderten Organismen der Risikogruppe 1 dürfen nur im gentechnischen Labor der Sicherheitsstufe 1 oder höher durchgeführt werden. | |
| | Zutritt zum Labor haben nur die dazu berechtigten Personen. | |
| | Im Labor sind ein geschlossener Laborkittel, festes und geschlossenes Schuhwerk sowie ggf. Schutzbrille zu tragen. Die Schutzkleidung darf nur in den Arbeitsräumen getragen werden und ist beim Verlassen des Labors abzulegen. | |
|  | Mundpipettieren ist verboten. Zum Pipettieren ausschließlich Pipettierhilfen benutzen. | |
| | Bei allen Arbeitsvorgängen ist darauf zu achten, dass Aerosolbildung vermieden wird. | |
| | Türen und Fenster der Arbeitsräume sollen während der Arbeiten geschlossen sein. | |
|  | Arbeitsplatz aufgeräumt und sauber halten. | |
| | Im Labor nicht essen, rauchen, trinken, Kaugummi kauen oder Kosmetika auftragen. | |
| | Es gelten Hautschutzplan und Hygieneplan. | |
| Entsorgung | | |
| | Feste und flüssige Abfälle, die GVO enthalten, sind vor der Entsorgung zu inaktivieren - 121°C, 1 bar für 20 min - Autoklav in Raum 116, Vorraum. | |
| Verhalten im Gefahrenfall Notruf/techn. Warte: 34333 od. 34444 | | |
| | Bei Freiwerden biologischen Materials (z. B. Verschütten, Bruch einer Kulturflasche) ist der betroffene Bereich zu sichern. Mitarbeiter warnen, ggf. Bereich absperren. | |
| | Schutzhandschuhe anziehen, Flüssigkeiten mit Papierhandtüchern aufsaugen und im Anschluss autoklavieren. Kontaminierten Bereich sofort mit Desinfektionsmittel gemäß Hygieneplan behandeln. | |
| Erste Hilfe | | |
|  | Benetzte Kleidung sofort ausziehen und erst nach desinfizierender Reinigung wieder verwenden. | |
| | Offene Wunden ausspülen, möglichst ausbluten lassen und sofort mit Wunddesinfektionsmittel einsprühen. Bei Spritzern ins Auge intensiv mit der Augendusche spülen. | |
| | Verletzungen sind sofort dem Projektleiter oder dem BBS zu melden, gegebenenfalls ist der nächste D-Arzt zu konsultieren. | |

There is an obligation of the compliance of the operating instructions.

Biological Agents – Operating Instruction

Access to laboratories only after safety briefing

Visitors only in the presence of trained employees



Wear protective equipment:

- Closed lab coat
- Disposable protective gloves
- Solid, closed footwear
- Protective goggles (liquid nitrogen), if necessary



Remove protective clothing before leaving the laboratory.
→ protective goggles!



Biological Agents – Operating Instruction

- doors and windows must be closed during work
- keep laboratories clean and tidy
- order and cleanliness at the workplace
- no "storage" of packaging material, dispose immediately (empty ethanol canisters and polystyrol boxes in the “yellow bag”)
- no glass breakage in normal waste
- wash and disinfect hands after finishing work or before leaving the laboratory (**hygiene plan**)
- eating, drinking, smoking and storing food are prohibited.
- **knowledge of operating instructions, hygiene and skin protection plan** (posted in every laboratory)

Biological Agents – Operating Instruction

- avoid formation of aerosols (e.g. during decanting, stirring, shaking, pipetting, centrifuging, working with ultrasound)
- for internal transport of GMOs or bio materials, use tightly closed, break-proof, liquid-tight and autoclavable containers
- storage of GMOs or primary samples in liquid nitrogen (r. 116)



Biological Agents – Operating Instruction

- use syringes, cannulas, scalpels only if absolutely necessary, disposal in puncture - proof, autoclavable containers
- do not replace the protective cap after using cannulas - danger of stabbing - but dispose of immediately in container





After finishing work:

- clean work surfaces, equipment and instruments (Ethanol 70%, Bacillol AF)
- switch off all devices (in the hood, microscope, cell counter → **remove counting slides!!!**)
- safety work benches switch on UV lamp after cleaning
- clean your hands before leaving the laboratory (Sterillium, Baktolin, Baktolan ... **see hygiene plan**)



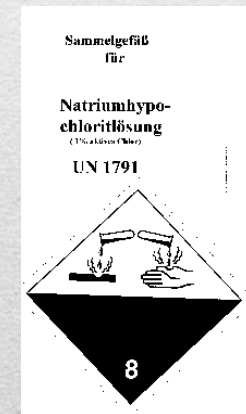
Biological Agents – Proper Disposal

Solid waste that contains GMOs or bio materials must be deactivated before disposal and then disposed of as residual waste.

autoclav (r. 116, ante-room) 121 °C, 20 min, program P3



Liquid wastes containing GMOs or bio materials are deactivated with 1% Na-hypochlorite solution and collected in appropriately labelled containers.



Other hazardous substances in accordance with the **Material Safety Data Sheet (MSDS)** of the respective manufacturer.

What are hazardous substances?

Hazardous substances are substances and preparations which are very toxic, toxic, low toxic, corrosive, irritant, explosive, oxidising, highly flammable, highly flammable, carcinogenic, fruit-damaging, mutagenic and/or biohazardous,

or

which, when used, give rise to dangerous or explosive hazards substances or preparations are formed or released can become.

that means: ...

Handling of Hazardous Substances

➤ inform about potential dangers before starting work

hazard symbols



harmful



toxic / very toxic



corrosive



highly flammable / inflammable



fire accelerating



endangering the environment

detailed information see Material Safety Data Sheets (MSDS)

Handling of Hazardous Substances

- when openly handling gaseous, dust-like or hazardous substances that have a high vapour pressure are to always work in a fume cupboard
- mark vessels: name of the substance, name of the user, corresponding hazard symbols
- storage only in containers which are suitable for the hazardous substance
- keep very toxic, toxic, carcinogenic, fruit-damaging and mutagenic substances under lock and key
- proper disposal (s. **MSDS**)

special note on the cleaning of glass with Piranha etch:

- mixture of 25% H_2O_2 and 75% H_2SO_4
- it is highly corrosive and an extremely powerful oxidizer
- extremely exothermic, release corrosive fumes
- must be prepared with great care under the hood
- should always be prepared by adding hydrogen peroxide to sulfuric acid slowly, never in reverse
- protection (lab coat, protection gloves, protection glasses)

when handling hydrofluoric acid, separate instruction must be given

Handling of Hazardous Substances – Liquid Nitrogen

Raum 117

Betriebsanweisung für Umgang mit Flüssig-Stickstoff

Stand
18.12.2015

Gefahrenbezeichnung

Stickstoff flüssig - LN2

- Siedetemperatur von -196°C
- LN2 ist schwerer als Luft
- aus 1 Liter LN2 entstehen ca. 700 Liter gasförmiger Stickstoff, der sich am Boden anreichert
- geruch- und geschmacklos

Gefahren für Mensch und Umwelt



- Kontakt mit LN2 verursacht Erfrierungen und schwere Augenschäden
- LN2 wirkt in hoher Konzentration ohne bemerkbare Vorzeichen erstickend, da durch Anreicherung in der Atemluft Sauerstoff verdrängt wird
- je nach Dauer der Inhalation und der restlichen Sauerstoffkonzentration treten Schläfrigkeit, Unwohlsein, Blutdruckanstieg und Atemnot auf
- in reinem Stickstoff erfolgt sofort Ohnmacht
- keine umweltschädigende Wirkung, nicht giftig
- beim Zerplatzen von Material Gefahr durch Splitterwirkung

Schutzmaßnahmen und Verhaltensregeln



Befüllung des Bio-Racks:

- Absperrventil nicht ruckartig öffnen
- immer geeignete Schutzhandschuhe und Schutzbrille tragen
- Kleidung sollte alle Körperteile bedecken
- geschlossenes Schuhwerk tragen
- beim Befüllvorgang Behälter nicht unbeaufsichtigt lassen



Beim Transport von LN2 nicht in Aufzügen mitfahren.

Verhalten im Gefahrenfall

Leckage des Bio-Racks - die LED-Anzeige des Level-Monitors leuchtet und ein Dauersignal ertönt:

- Raum sofort verlassen bzw. nicht betreten
- Tür offen lassen und eine zweite Person holen
- dann den Raum nur einzeln betreten und für Sauerstoffzufuhr sorgen - Fenster öffnen

Erste Hilfe



Hautkontakt: wie Verbrennung oder Erfrierung behandeln, nicht reiben, mit sterilem Verbandsmaterial abdecken

Augenkontakt: sofort mindestens 15 Minuten mit Wasser spülen

Einatmen: hohe Konzentrationen können Erstickten verursachen → Frischluftzufuhr, warm und ruhig halten, Arzt hinzuziehen, bei Atemstillstand künstliche Beatmung

Skin contact with liquid nitrogen can lead to cold burns and frostbite, i.e. wear protective equipment – **protective goggles and gloves**



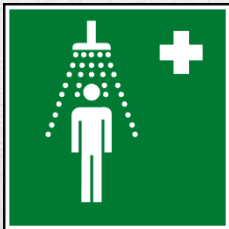
Leakage or spillage of hazardous substances / GMO / organic agents

Put on gloves, secure affected area – take decontamination measures:

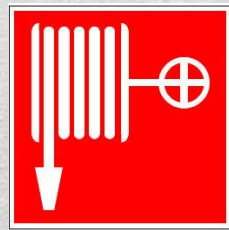
- **surfaces / devices:** Collect material, dispose of properly or in case of biological agents take up material with paper towels or other autoclavable material and autoclave, then wipe disinfection
- **skin:** Rinse off contaminated skin areas with plenty of water / disinfect
- **mucous membranes / eyes:** rinse off with plenty of water or take an eye shower
- **clothing:** take off and autoclave
- **inform laboratory manager / project manager** consult doctor if necessary

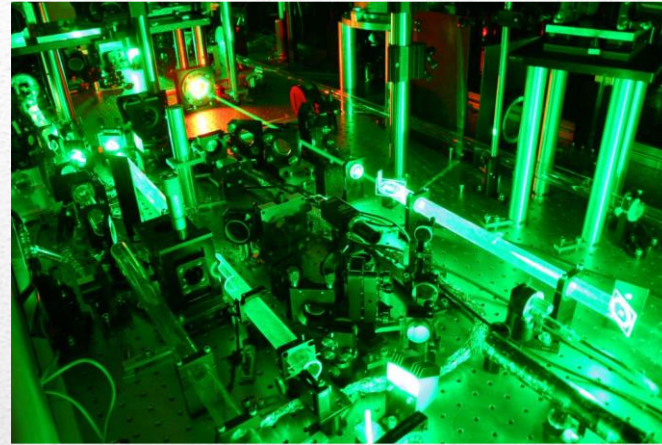
Behaviour in Case of Danger

In order to avoid panic in case of danger, everyone has to inform himself before starting the work about:



- Location of body and eye showers (r. 310 permanently installed, otherwise flushing bottles)
- function of disinfectants (Sterillium, Bacillol)
- first aid facilities (first aid kits in every laboratory)
- fire-extinguishing equipment
- escape and rescue routes





Laser classes

Class 1: basically harmless

Class 2: harmless with intact reflexes

Class 3: dangerous for eyes and skin, fire and explosion hazard

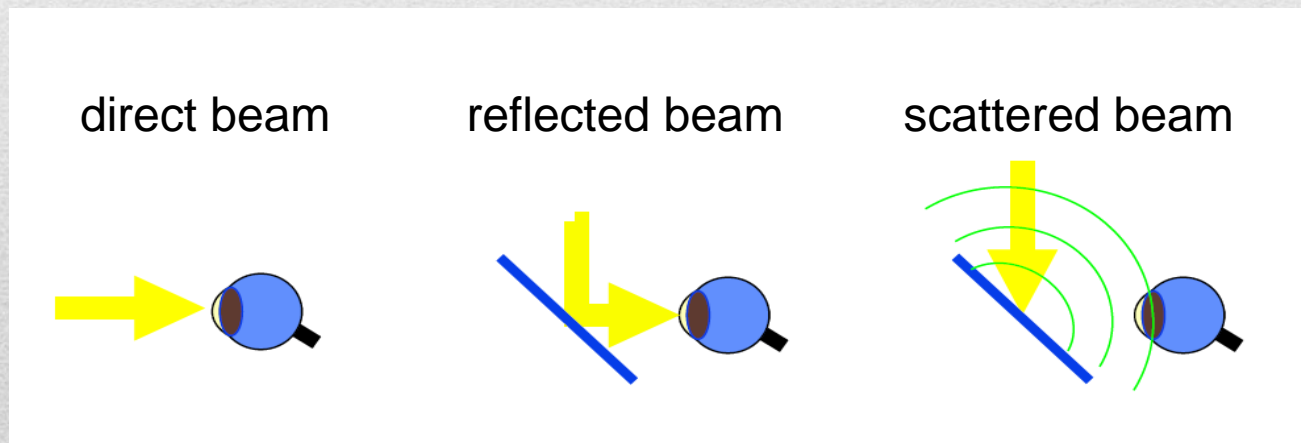
Class 4: always consult a doctor in the event of an accident

We work in our labs with lasers of laser class 4.

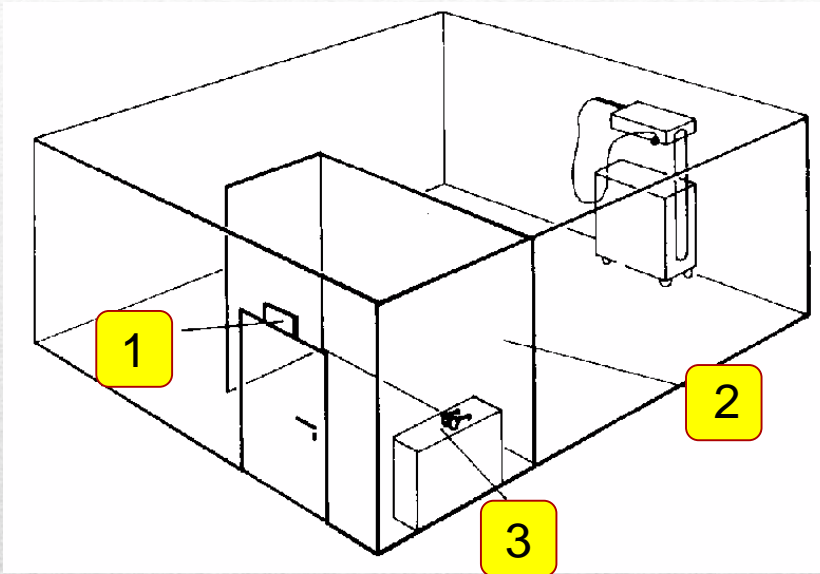
Hazard potential by laser:

- deposition of thermal energy in tissue
- tissue reactions or damage, dangerous for eye and skin (deep skin burn at IR wavelengths)
- local temperature rise, fire and explosion hazard

Damage can be caused by:



Protection against laser radiation:



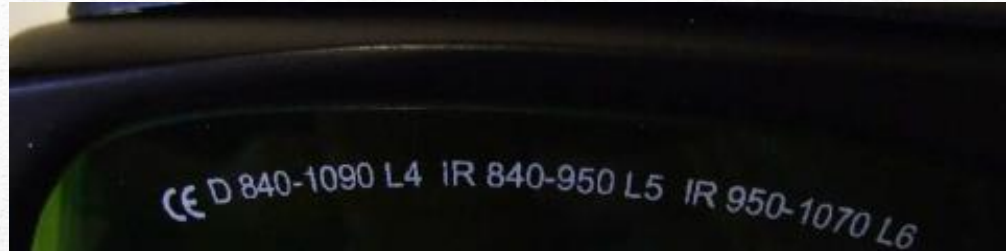
1. warning light in front of the entrance door
2. protective curtain separates input from the laser area
3. laser goggles at the entrance range

Rules of conduct for persons who do not work on the laser:

- before entering the laser lab ask for sources of danger!
- do not bring head to beam height, i.e. be careful when bending down
- wear suitable safety glasses!
- no unauthorized handling of optics or lasers!

Rules of conduct for persons who work on the laser:

- switch on warning lights - interlocks
- warn all present persons before switching on lasers
- work on the laser or with the laser beam without arm jewellery such as e.g: watch, ring, bracelet, ...
- laser beams as good as possible on the experimental area limit
- put on suitable protective goggles!



laser safety goggles

- must comply with DIN EN 207 and be clearly marked
- are always specially matched to a laser (wavelength)

laser alignment goggles

- may only be used for adjustment work on laser devices of classes 3B and 4 which emit in the visible spectral range between 400nm and 700nm
- must comply with DIN EN 208 and be clearly marked

Note:

The protective concept of laser alignment goggles is based on the eyelid closure reflex, which, however, is rarely triggered according to the latest investigations. Adjustment work during which it may be possible to look directly into the laser beam should be therefore avoided absolutely.

General Behavior in Case of Danger

- give the alarm immediately
- phone dispatcher of the university (34444) or in case of fire not indicated by alarm system (acoustic signal) additionally the fire brigade 0-112
- keep calm - human lives before firefighting
- close windows and doors, do not lock doors
- switch off electrical appliances, except for room and staircase lighting
- leave the building immediately and go to the meeting place (Friedenspark)
- do not use lifts

General Behavior in Case of Danger

meeting place - Friedenspark

