

UNIVERSITEIT TWENTE.



BVF:
tel.
Contactpersoon lab:
Naam
tel.



Verkorte handleiding voor het ML-I, ML-II laboratorium (ggo-lab) en/of laboratoria voor het werken met biologische agentia / humaan materiaal

Versie 2015

Deze verkorte handleiding is te beschouwen als samenvatting van het "Handboek Voorschriften voor het veilig werken met genetisch gemodificeerde organismen en biologische agentia" Universiteit Twente 2008 (kenmerk 374.341/PA&O) en is gemaakt om de hoeveelheid informatie zo toegankelijk mogelijk te maken. Medewerkers worden echter wel verzocht ook het Handboek te lezen. Voor het werken met dierlijk materiaal wordt verwezen naar de regeling Veilig werken met dierlijk materiaal.

Persoonlijk exemplaar voor:

datum:

Inhoudsopgave

1. Inleiding.....	3
2. Wetgeving/noodzakelijke vergunningen	3
3. Risico's.....	4
4. Introductie van nieuwe medewerkers	7
5. Algemene werkvoorschriften voor het verrichten van werkzaamheden met biologische agentia en ggo's.....	8
5.1 ML-I (minimaal inperkingsniveau)	8
5.2 Aanvullende werkvoorschriften voor ML-II laboratoria.....	9
5.3 AP-I ruimte	10
5.4 ODG-ruimte	10
6. Het gebruik van desinfectantia.....	12
7. Schoonmaakwerkzaamheden in ML-I en ML-II ruimten	14
8. Regelingen voor schoonmaak, labjassen en onderhoud.....	15
9. Gebruik veiligheidskabinet en centrifuge	16
10. Ongevallen- en incidentenregeling	18
11. Decontaminatie na morsen van potentieel besmet materiaal.....	19
12. Besmet materiaal en afval, opslag en transport	20

1. Inleiding

Biologische agentia (schimmels, bacteriën, uitscheidingsproducten, virussen, celculturen en endoparasieten) kunnen een schadelijke invloed hebben op organismen waaronder de mens. Indien wijzigingen aan het genetisch materiaal (DNA) van deze organismen zijn aangebracht, vallen deze organismen onder de definitie van genetisch gemodificeerde organismen (ggo's).

(Pathogene) biologische agentia worden op grond van besmettelijkheid, mogelijke therapie en gevolgen van de besmetting onderverdeeld in vier categorieën. In categorie 1 zitten de minst schadelijke (verwaarloosbaar risico voor mens en milieu, mogelijk wel allergeen) en in categorie 4 de meest schadelijke biologische agentia (zeer infectieus, vaak dodelijk, niet te bestrijden). De indeling van de pathogene biologische agentia is weergegeven in Europese richtlijnen. Deze richtlijnen worden periodiek geactualiseerd. De voorzieningen die getroffen moeten worden om de risico's op blootstelling in te perken of te voorkomen, zijn afhankelijk van het gevaarsniveau. Ook werken met biologisch materiaal afkomstig van mensen (humaan materiaal) of dieren is potentieel risicovol voor personen die hier mee werken, vanwege de kans dat dergelijke materialen besmet (kunnen) zijn met voor de mens pathogene micro-organismen. Onder humaan materiaal wordt verstaan:

- bloed, lymfe, weefsels (biopten) en door het lichaam uitgescheiden vloeistoffen als urine, speeksel, sputum, ontlasting, sperma etc.
- materialen die van humaan materiaal zijn afgeleid, zoals cellen al dan niet geprogrammeerd tot cellijnen.
- uit humaan materiaal geïsoleerde micro-organismen.

Ggo's worden ingedeeld op grond van de activiteit met het gemodificeerde organisme ('kleinschalig' voor onderwijs, onderzoek en ontwikkeling of niet-kleinschalig) en de herkomst van het gemodificeerde organisme (micro-organisme, plant, dier). De indeling bepaalt welke administratieve procedures gevolgd moeten worden.

De (schadelijke) gevolgen die het gemodificeerde organisme bij het vrijkomen aan het milieu of de gezondheid kan veroorzaken, bepalen het inperkingniveau dat aangehouden moet worden bij het werken met ggo's. De volgende inperkingniveaus kunnen, op basis van EU-richtlijn 98/81 worden onderscheiden: Micro-organismen Laboratorium schaal ML-I, ML-II, ML-III en ML-IV en de (sinds 2015) nieuwe categorieën van fysische inperking: ODG en AP-I.

In deze handleiding worden kort de voorschriften besproken waaraan men binnen de Universiteit Twente (UT) moet voldoen bij het werken met biologische agentia of ggo's. Een uitgebreide beschrijving hiervan is opgenomen in het Handboek Voorschriften voor het veilig werken met genetisch gemodificeerde organismen en biologische agentia van de Universiteit Twente (2008).

2. Wetgeving/noodzakelijke vergunningen

De regels voor het werken met biologische agentia in het Arbobesluit dienen met name als beschermingsmaatregelen voor medewerker(s) en derden tegen (pathogene) micro-organismen. Pathogene micro-organismen en cellen vallen onder de definitie van biologische agentia in de Arbowet en het Arbobesluit. Aan de hand van gegevens over de specifieke soort en stam van het micro-organisme of de specifieke cellijn, en de specifieke werkzaamheden (commercieel verkrijgbare of primaire cellen, aantal monsters/dag, volume van de kweek, gebruikte materialen, etc.) moet een Risico-Inventarisatie & Evaluatie (RI&E) worden opgesteld. Voor meer informatie hierover kan contact worden opgenomen met de VGM-coördinator van de faculteit.

Voor werkzaamheden met ggo's gelden de regels zoals opgenomen in het Besluit GGO milieubeheer 2013 en de regeling GGO milieubeheer 2013.

Voor het werken met ggo's zijn er twee vergunningen nodig: een omgevingsvergunning en een ggo-vergunning. De omgevingsvergunning is gericht op het vergunnen van typen en aantallen werkruimten waar met ggo's mag worden gewerkt, waarmee inrichtingsvoorschriften voor deze ruimten worden vastgelegd. De ggo-vergunning is gericht op het voorschrijven van algemene en specifieke veiligheidseisen (b.v. werkvoorschriften) bij het verrichten van activiteiten met ggo's.

3. Risico's

Bij het werken met of blootstelling aan biologische agentia of ggo's kunnen op twee niveaus schadelijke effecten optreden:

- Gezondheidseffecten bij de laboratoriumwerker. Voorbeelden: infectie, allergie of vergiftiging. Het effect is afhankelijk van onder andere de pathogeniteit, de blootstellingroute en de immunologische conditie van de werker. Dit speelt vooral bij biologische agentia.
- Effecten van het organisme op het milieu. Ieder gebied kent een natuurlijk evenwicht op het niveau van verschillende organismen. Introductie van biologische agentia en ggo's dient te worden beoordeeld op de kans van overdracht van genetisch materiaal naar andere organismen, op de overlevingskans en op de snelheid van verspreiding van het organisme in het milieu buiten het laboratorium.

De beheersmaatregelen die veilig werken moeten garanderen zijn:

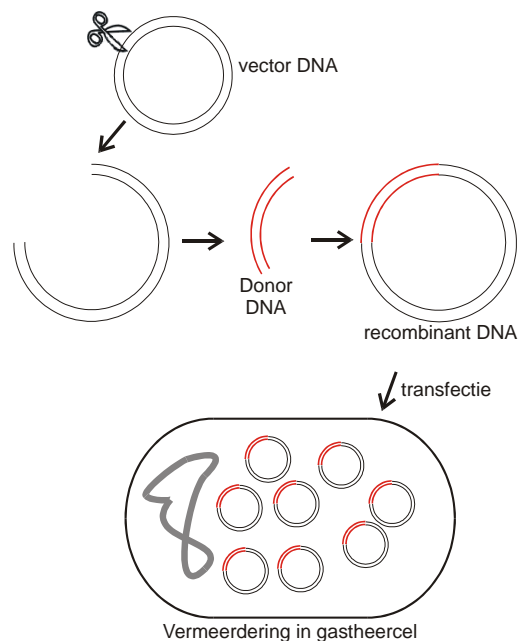
- biologische inperking: het zodanig modificeren van het organismen dat de pathogeniteit is verlaagd of de kans op overleving buiten het laboratorium is teruggebracht;
- fysische inperking: door het gebruik van speciale laboratoriumruimtes, speciale apparatuur en specifieke inrichting van de ruimtes er voor zorgen dat biologische agentia en ggo's zich niet buiten deze ruimte kunnen verspreiden;
- gebruik van werkvoorschriften: aangeven welke handelingen je wel en niet mag uitvoeren en welke beschermingsmiddelen je moet gebruiken.

De risico's van het werken met genetisch gemodificeerde organismen voor medewerker en milieu zijn afhankelijk van het organisme en de aard van het ingebrachte vreemde DNA.

Het ingebrachte DNA bevat het te onderzoeken DNA (insert) en een stukje DNA om het inbrengen te bewerkstelligen (vector).

In deze vector bevindt zich meestal ook een gen dat codeert voor resistentie tegen een bepaald groep verwante antibiotica.

Hiermee zijn de gemodificeerde cellen te onderscheiden van de niet-gemodificeerde cellen.



Voorafgaand aan het ingeperkt gebruik van ggo's die nog niet eerder zijn kennisgegeven, moet een risicobeoordeling worden uitgevoerd van de risico's die verbonden zijn aan de werkzaamheden met deze ggo's. De risicobeoordeling wordt gedaan volgens bijlage 5 van de Regeling ggo. Bureau GGO heeft hiervoor een [risicobeoordelingstool](#) ontwikkeld. De tool is een hulpmiddel bij het maken van een correcte risicobeoordeling en draagt bij aan het juist indienen van aanvragen voor nieuwe werkzaamheden of het wijzigen van bestaande werkzaamheden.

De tool helpt bij het bepalen van de juiste [categorie van fysische inperking](#) en leidt daardoor naar het juiste aanvraagformulier. Bovendien helpt de tool bij het invullen van het wettelijk

verplichte [verslag risicobeoordeling](#) wat een onderdeel van de aanvraag/kennisgeving is.

In de RB-tool worden de elementen 'gastheren', 'vectoren', 'donorsequenties' en 'activiteiten' beschreven. In de activiteitentabel wordt vervolgens bepaald welk inschalingsartikel van [bijlage 5](#), deel I en daarmee welke categorie van fysieke inperking van toepassing is op de werkzaamheden. Ook wordt voor kennisgevingen op niveau I en II-k bepaald welke inschalingsartikelen van deel II van bijlage 5 en daarmee de aanvullende voorschriften voor specifieke gevallen van toepassing zijn.

Bij de risicobeoordeling wordt gebruik gemaakt van bijlage 2 ([lijst A1, lijst van apathogene micro-organismen, lijst A2, lijst van vectoren, lijst A3, lijst van potentieel schadelijke sequenties](#)) en [bijlage 4 \(indeling in klassen van pathogene micro-organismen en virussen\)](#) van de regeling ggo.

Als bijlage 5 niet leidt tot een passende inschaling of een omlaagschaling gewenst is, kan via het [2.8 formulier](#) een 2.8 verzoek worden ingediend.

De risico's van het werken met cellijnen worden bepaald door de micro-organismen waarmee ze besmet kunnen zijn. Cellijnen op zich, zelfs tumorcellijnen, lijken niet gevaarlijk voor de mens, behalve wellicht lijnen van eigen cellen. In het Arbobesluit zijn de pathogene micro-organismen ingedeeld in risico-klassen 1 t/m 4, waarbij 1 de laagste risicoklasse is. Door de leveranciers van cellijnen worden deze klassen ook gebruikt, afhankelijk van het micro-organisme die in de cellen voorkomen. Als de cellijnen verkregen zijn uit primaire cellen van mens of dier, is de risicoklasse af te leiden uit het weefsel van de cellen, bijvoorbeeld menselijke levercellen kunnen besmet zijn met hepatitis-virus, menselijke witte bloedcellen met HIV enz.

De risico's van het werken met bloed

Binnen de UT wordt gewerkt met menselijk bloed. Dit bloed is mogelijk besmet met bijvoorbeeld virussen zoals het hepatitis-B- en hepatitis-C-virus en kan daardoor een gevaar opleveren voor de gezondheid. Vooral een direct bloed-bloed contact is daarbij riskant.

Tijdens het werken met bloed:

- is er een gevaar op prikken of snijden (prik- of snijaccident) aan naalden, mesjes of glaswerk. Hierdoor kan (mogelijk besmet) bloed direct in de bloedbaan komen.
- kan mogelijk besmet materiaal in contact komen met niet intacte huid zoals wondjes, kloven, eczeemplekken enz.
- kan mogelijk besmet materiaal in contact komen met de slijmvliezen, bijvoorbeeld door spatten in het oog of de mond.

Bloed moet altijd als mogelijk besmet met infectieuze micro-organismen worden beschouwd. Ter voorkoming van besmetting zijn bij werkzaamheden met bloed een goede hygiëne en het vermijden van aërosolvorming door rustig werken belangrijk. De werk- en inrichtingsvoorschriften voor werkzaamheden op ML-I niveau zijn daarom van toepassing (zie hoofdstuk 5). Werkzaamheden met bloed waarbij aërosolen kunnen ontstaan, moeten altijd in een veiligheidskabinet van klasse II worden uitgevoerd. Bij wondjes of huid met kloofjes dienen bij alle handelingen met bloed handschoenen te worden gedragen. Alle medewerkers die met bloed werken worden in de gelegenheid gesteld zich te laten vaccineren tegen hepatitis B.

Wat te doen bij prik en snijaccidenten:

- wond goed uit laten bloeden;
- spoelen met water;
- desinfecteren met Betadine jodium of 0,5 % chloorhexidine in alcohol 70%

Bij spataccidenten:

- spoelen met water;
- desinfecteren met Betadinen jodium of 0,5% chloorhexidine in alcohol 70%

Vervolg bij alle accidenten:

- bewaar indien mogelijk het bronmateriaal en neem meteen contact op met de bedrijfsarts (053-7504300) om vervolgbeleid af te spreken.

Er dient altijd een [ongevallenformulier](#) te worden ingevuld.

4. Introductie van nieuwe medewerkers

Om de deskundigheid van de medewerkers m.b.t. het werken met ggo's te waarborgen dienen alle medewerkers die werkzaamheden met ggo's verrichten aangemeld te zijn als projectmedewerker of, indien ze niet aan de opleidingseisen voldoen maar wel aan de in het Handboek GGO en BA Universiteit Twente genoemde voorwaarden voor overige medewerkers, geregistreerd te zijn als tijdelijke medewerker. Projectmedewerkers mogen hun werkzaamheden pas verrichten nadat ze door de VM (OL)/BVF vakbekwaam zijn bevonden voor het verrichten van de betreffende werkzaamheden.

Voordat gestart wordt met de werkzaamheden geeft de VM/OL voorlichting aan nieuwe medewerkers die ggo-werkzaamheden gaan uitvoeren. De onderwerpen die aan de orde dienen te komen zijn afhankelijk van de situatie. Hieronder staat een lijst met onderwerpen genoemd die in de meeste gevallen relevant en noodzakelijk zijn.

Checklist voor de introductie van nieuwe medewerkers

ALGEMENE GEGEVENS			
Naam:			
Datum komst:		Datum vertrek:	
Naam VM/OL:			
Nummer(s) project(en) waaraan gewerkt zal worden:			
WERKVOORSCHRIFTEN EN PROCEDURES (GGO-)LABORATORIA			
Is de algemene veiligheidsinstructie gevolgd?	JA/NEE/NVT		
Is een VMT-cursus gevolgd?	JA/NEE/NVT		
Zijn de interne voorschriften bekendgemaakt?	JA/NEE/NVT		
Zijn de desinfectiemethoden uitgelegd?	JA/NEE/NVT		
Is de uitgelegd hoe gehandeld moet worden bij calamiteiten?	JA/NEE/NVT		
Is uitgelegd hoe besmet materiaal afgevoerd moet worden?	JA/NEE/NVT		
Is bekend hoe ggo's vervoerd moeten worden?	JA/NEE/NVT		
Is uitgelegd op welke wijze materiaal moet worden opgeslagen?	JA/NEE/NVT		
Is de toegangsregeling toegelicht?	JA/NEE/NVT		
Is bekend welke organismen pathogeen zijn?	JA/NEE/NVT		
.....	JA/NEE/NVT		
TRAINING IN NOODZAKELIJKE TECHNIEKEN			
Weet de medewerker hoe de autoclaaf werkt?	JA/NEE/NVT		
Kan de medewerker veilig omgaan met inperkende apparatuur?	JA/NEE/NVT		
.....	JA/NEE/NVT		
.....	JA/NEE/NVT		
VERPLICHT TRAININGPROGRAMMA			
Doorlezen verkorte handleiding en de GGO vergunningen.			
Video VROM			

Paraaf VM/OL voor geven uitleg bij bovenstaande voorschriften en procedures:		Datum:	
Paraaf medewerker voor ontvangen uitleg bij bovenstaande voorschriften en procedures:		Datum:	

5. Algemene werkvoorschriften voor het verrichten van werkzaamheden met biologische agentia en ggo's

5.1 ML-I (minimaal inperkingsniveau)

algemeen

- a. De werkruimte wordt schoon en netjes gehouden;
- b. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica of het aanbrengen van contactlenzen en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden; Vermijd hand-gezicht contact.
- c. Pipetteren met de mond is verboden;
- d. Ongedierte mag niet aanwezig zijn;
- e. Persoonlijke bezittingen, zoals jas, trui, tas buiten de werkruimte opbergen;
- f. Na besmetting worden besmette oppervlakken direct gedesinfecteerd;
- g. Door morsen of ongevallen met biologische agentia of genetisch gemodificeerde organismen besmette kleding wordt direct geautoclaveerd;
- In het laboratorium mag, met uitzondering van studenten/stagiaires, alleen met ggo's worden gewerkt door personen die beschikken over een door de VM/OL en BVF ondertekend formulier dat zij naar het oordeel van de VM/OL en BVF voldoende bekend zijn met veilige microbiologische technieken. Studenten/stagiaires mogen alleen werken onder deskundige begeleiding.
- Er mag geen administratie worden gevoerd anders dan het vastleggen van de experimentele gegevens.
- Voordat de werkzaamheden worden begonnen, dient er voldoende desinfectans gereed te staan. Het desinfectans dient regelmatig op effectiviteit te worden gecontroleerd en regelmatig te worden ververs.
- Het dragen van persoonlijke beschermingsmiddelen (pbm's) waaronder handschoenen, veiligheidsbrillen etc. is vanuit microbiologische redenen niet altijd noodzakelijk. Het is echter soms wel noodzakelijk om chemische redenen (gebruik desinfectantia, oplosmiddelen). Draag disposable handschoenen wanneer de huid niet in optimale conditie is of wanneer het experiment dat vereist.
- Het dragen van een hoofddoek om religieuze redenen is toegestaan, mits aan een aantal voorwaarden kan worden voldaan:
 - Een hoofddoek wordt zo gedragen dat tijdens de uitvoering van de werkzaamheden het materiaal van de hoofdbedekking niet in contact komt of kan komen met (onderzoeks) materiaal of andere voorwerpen op het lab.
 - Een gedragen hoofddoek moet kort (niet langer dan tot de kraag van de labjas) en schoon zijn. De hoofddoek mag niet over de beschermende kleding (laboratoriumjas) hangen.
 - De hoofddoek mag niet van licht ontvlambaar materiaal zijn (denk hierbij aan werkzaamheden met brander of open vuur).
 - De hoofddoek dient dagelijks vervangen te worden door een schone hoofddoek.
 - De hoofddoek moet dagelijks gewassen worden op een temperatuur van 60 °C of hoger.

tijdens werkzaamheden

- h. Tijdens de werkzaamheden zijn de deuren en de ramen van de werkruimte gesloten;
- i. Bij alle werkzaamheden worden het ontstaan en de verspreiding van aërosolen vermeden, bijvoorbeeld door enkele minuten te wachten met het openen van buizen totdat aërosolen 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.

- j. Passende werkkleding wordt gedragen. Deze kleding mag niet buiten de werkruimte worden gedragen. Elke ruimte heeft een eigen set labjassen. Labjassen van een ruimte mogen niet buiten de ruimte gedragen worden of naar een andere ruimte meegenomen worden.
- k. Het dragen van polshorloges en sieraden aan armen en handen is verboden.
- l. Om de kans op een prikaccident, aërosolvorming of morsen te verkleinen dient het gebruik van een injectiespuit zoveel mogelijk worden vermeden. Indien gebruik van een injectiespuit noodzakelijk is, moet men de volgende regels in acht nemen:
 - 1° gebruik uitsluitend wegwerpinjectiespuiten met wegwerpnaalden;
 - 2° vul de spuit voorzichtig en voorkom vorming van luchtbellen;
 - 3° houdt de punt van de naald in de vloeistof, wanneer de inhoud van de spuit wordt uitgedrukt;
 - 4° deponeer naald en spuit in de daarvoor bestemde naaldencontainer.

beëindigen werkzaamheden

- m. De werkoppervlakken worden gedesinfecteerd aan het eind van de werkzaamheden en aan het einde van iedere werkdag;
- n. Bij het verlaten van de werkruimte worden de handen gewassen met zeep;

afval en besmet materiaal

- o. Al het biologisch afval wordt verzameld in blauwe SZA-vaten die gesloten kunnen worden, en worden geïnactiveerd voordat men zich ervan ontdoet. Dit betekent opslaan en daarna aanbieden ter verbranding;
- p. Materiaal dat in aanraking is geweest met genetisch gemodificeerde organismen/ biologische agentia wordt geïnactiveerd of gedesinfecteerd voordat het wordt gewassen, hergebruikt of als afval afgevoerd (zie hoofdstuk 12);

overig

- q. Bij gelijktijdige werkzaamheden met niet genetisch gemodificeerde organismen moeten de ML-I werkvoorschriften in acht genomen worden;

Logboek (alleen voor ggo-werkzaamheden)

In elke ML-I, ML-II-ruimte dient een logboek aanwezig te zijn met de volgende gegevens:

- Een lijst met namen van personen die toestemming hebben om in de ruimte te werken (projectmedewerkers, gasten en stagiaires), waarbij een onderscheid is gemaakt tussen ggo-werkzaamheden en niet-ggo-werkzaamheden;
- Een lijst met de nummers van de vergunningen en kennisgevingen waaraan in die ruimte gewerkt wordt en een kopie van de vergunningen;
- Een lijst van gastheren, vectoren en bronnen van het DNA waarmee gewerkt wordt. Ook deze gegevens dienen gedurende de lopende projecten en tot minimaal 5 jaar nadien te worden bewaard.
- De data en resultaten van de uitvoering van de controle op de reinheid dan wel de juiste identiteit van de gebruikte micro-organismen;
- Algemene werkvoorschriften en werkvoorschriften die door de VM/OL zijn opgesteld;
- Een overzicht van de aanwezige GGO's per opslagplaats;
- Korte beschrijving van incidenten in het GGO-laboratorium.

5.2 Aanvullende werkvoorschriften voor ML-II laboratoria

- Er dient altijd een gemerkte laboratoriumjas te worden gedragen. Voor het wassen de jassen laten steriliseren.
- Wanneer er géén medewerkers aanwezig zijn, is de werkruimte op slot.
- Aërosolproducerende apparatuur moet bij gebruik in het veiligheidskabinet worden geplaatst.

- Voordat materialen, instrumenten of kleding zoals labjassen worden gewassen, hergebruikt of weggedaan, dient sterilisatie plaats te vinden d.m.v. autoclaveren of indien dit niet mogelijk is ontsmetting met een methode waarvan de effectiviteit is aangetoond.
- Bij het werken met ggo's of pathogene micro-organismen wordt zoveel mogelijk gebruik gemaakt van een veiligheidskabinet klasse II. Werkzaamheden waarbij aërosolen kunnen ontstaan worden altijd in een veiligheidskabinet van klasse II uitgevoerd.
- Alle biologisch afval, alsmede afval wat met biologisch materiaal in aanraking is geweest, dient voor afvoer te worden gesteriliseerd of gedecontamineerd danwel te worden afgevoerd als specifiek ziekenhuisval in breukvaste, lek- en luchtdicht afgesloten afvalcontainers.

5.3 AP-I ruimte

AP-I is een apparatuurruimte waar kleinschalige handelingen met ggo's afkomstig van niveau ML-I in gesloten eenheid uitgevoerd mogen worden. De ggo's zijn dan op ML-I niveau in deze gesloten eenheid gebracht. Voor microscopie geldt dat bijvoorbeeld bij monsters op een objectglaasje het dekglasje wordt dicht geseald.

Deze werkinstructie is bedoeld als algemene instructie voor AP-I ruimtes en dient indien nodig te worden aangevuld met specifieke voorschriften ten aanzien van de uit te voeren werkzaamheden die zijn kennisgegeven en waarvoor een risicobeoordeling is uitgevoerd. Voor niet gesloten handelingen met ggo's afkomstig van niveau I of gesloten handelingen met ggo's afkomstig van niveau II dient, via de BVF, een 2.8 verzoek te worden ingediend.

- De toegang is beperkt tot diegenen die op de hoogte zijn van de risico's van de werkzaamheden voor mens en milieu.
- Persoonlijke bezittingen, zoals jas, trui, tas worden buiten de werkruimte op geborgen.
- Het transport van de ggo's tussen het ML-I lab en de AP-I ruimte vindt plaats in een gesloten, breukvaste, lekdichte houder, die voor het vervoer naar de AP-I ruimte uitwendig wordt ontsmet.
- De deuren en ramen van de werkruimte zijn tijdens de werkzaamheden gesloten.
- De werkruimte wordt netjes en schoon gehouden. Er mag geen overbodig meubilair of instrumentarium aanwezig zijn.
- Ongedierte mag niet aanwezig zijn.
- Roken, eten, drinken en het bewaren van voedsel, het aanbrengen van cosmetica of het aanbrengen van contactlenzen is niet toegestaan.
- Tijdens de werkzaamheden met de ggo's wordt een labjas gedragen.
- Vermijd hand-gezicht contact.
- Na besmetting worden besmette oppervlakken of ander besmet materiaal direct gedesinfecteerd.
- Biologisch afval wordt verzameld in de blauwe WIVA vaten. Als een vat vol is wordt deze afgesloten met een geel deksel. De buitenkant van het vat wordt gedesinfecteerd met een geschikt desinfectans (standaard 70% ethanol).

5.4 ODG-ruimte

ODG (Overig Deel ggo Gebied) is een ruimten die geen fysieke inperking kent, maar waar zich wel ggo's kunnen bevinden. In het ODG mag opslag plaatsvinden van ggo's of afval dat ggo's bevat of kan bevatten dat afkomstig is van niveau I of II.

- De toegang is beperkt tot diegenen die op de hoogte zijn van de risico's van de werkzaamheden voor mens en milieu.
- De werkruimte wordt netjes en schoon gehouden.
- Na besmetting worden besmette oppervlakken of ander besmet materiaal direct gedesinfecteerd.
- Ggo-afval is opgeslagen in blauwe WIVA vaten met een hermetisch afgesloten geel deksel.
- Ggo's zijn verpakt in een gesloten breukvrije, lekdichte, dubbele houder. De buitenste houder waarin de ggo's zijn verpakt is als eenheid duidelijk herkenbaar door labeling met het opschrift ggo (voor ML-II tevens het biorisico-teken). Indien in dezelfde bewaarplaats ook niet ggo's worden opgeslagen, dan worden deze gescheiden verpakt.

6. Het gebruik van desinfectantia

Materialen die met GGO's en/of biologische agentia in aanraking zijn geweest dienen na gebruik gedesinfecteerd te worden. De voorkeur gaat hierbij uit naar autoclaveren. Indien dit niet mogelijk is dienen desinfecteermiddelen gebruikt te worden. Het moet vaststaan of een desinfectans of autoclaveermethode geschikt is voor het betreffende organisme. In het onderstaande worden hiervoor richtlijnen gegeven. Afhankelijk van de situatie moeten de voorschriften nader worden gespecificeerd. De gebruikte desinfectiemethode dient gevalideerd te zijn. In Tabel 1 is een overzicht opgenomen van vaak gebruikte desinfectantia en hun werkingsgebied.

Desinfecteren van oppervlakken (zoals tafelbladen, handvaten, knoppen, pipetten en vloeren)

- Desinfectantia alleen toepassen wanneer nodig, bijv. na morsen of om het tafelloppervlak na een experiment te reinigen. Oppervlakken die niet met pathogenen besmet zijn kunnen het best gereinigd worden met warm water en zeep.
 - Geschikte desinfectantia zijn:
 - 70% alcohol, aan de lucht laten drogen (niet voor sporen)
 - Acitieve chloor oplossing (1000 ppm). De desinfecterende activiteit van de chloor oplossing loopt sterk terug als deze langere tijd staat.
- Let op:** chloor is schadelijk voor HEPA-filters en tast metalen aan.

Desinfecteren van de huid (evt. kan ook gebruik gemaakt worden van betadine zeep)

Wanneer de handen tijdens het werk besmet zijn geraakt, is desinfectie noodzakelijk. Hiervoor dienen de handen eerst minimaal 2 minuten gewassen te worden met water en zeep. Daarna desinfecteren met desinfectantia b.v. 70% alcohol of beter: 0,5% chloorhexidine in 70% alcohol.

Tabel 1: Kruistabel met desinfectiemethoden voor verschillende soorten GGO en PMO (bron Universiteit Maastricht)

Methode	Werkings tijd (min.)	Bacteriën			Virussen		Gisten/ Schimmels	Dierlijke cellen
		Vegetatief, b.v. E. coli K12)	Sporen (b.v. Clostridia)	myco-bact.	met envelop (lipofiel) b.v. lenti-, vaccinia-, influenza-, hepatitis B en C-virus	zonder envelop (hydrofiel) b.v. adenovirus, bacterio-faag M13, hepatitis A-virus		
Chloorverbindingen (hypochloriet/ dichloorisocyanuur zuur)*(0.03-5%)	10-30	+	+(0.5%)	+(0.1%)	+	+(0.1%)	+	+
Ethanol (70%)	10-30	+	-	+	+	-	+	+
Isopropanol (70%)	10-30	+	-	-	-	-		
1-propanol (70%)	10	+	-	-	+	+		
Waterstofperoxide*	1 - 30	+	+	+	+	+	+	

Methode	Werkings tijd (min.)	Bacteriën			Virussen		Gisten/ Schimmels	Dierlijke cellen
		Vegetatief, b.v. E. coli K12)	Sporen (b.v. Clostridia)	myco-bact.	met envelop (lipofiel) b.v. lenti-, vaccinia-, influenza-, hepatitis B en C-virus	zonder envelop (hydrofiel) b.v. adenovirus, bacterio-faag M13, hepatitis A-virus		
Quats** (0.1-2%)	10-30	+	-	-	-	-	+	
SDS (0.1% - 0.5%) (sodium dodecyl sulfaat)	10				+	+ (0.1% HIV; 0.5% adenovirus)		
Virkon S* (1 %)	10	+	+	+	+	+	+	
Clidox, Tristel of Twinoxide (chloordioxide) (volgens fabrikant)*	10	+	+	+	+	+	+	
Loog (1 M NaOH)	10	+			+?	+ (poliovirus)	+?	+?
Water	10	-	-	-	-	-	-	+?
Thermische desinfectie (autoclaaf)	15', 121°C	+	+ (60 min)	+	+	+	+	+
	10', 134°C	+	+ (30 min)	+	+	+	+	+
	30', 100 °C#	+	-	-	-	+ (80 C)	+ (60 C)	+
Thermische desinfectie (droge hitte)	2 uur 160 C of 1 uur 180 C	+	+	+	+	+	+	+
Membraanfiltratie		0.22 µm (bv Corning 430626)	0.22µm	0.22 µm	0.02 µm (bv Planova 15N)	0.02 µm	0.45 µm	10 µm
Handdesinfectie-middelen met 70% ethanol zoals Stokosept gel	30 sec	+	-	+	+	-	+	
Handdesinfectiemiddel en met 80% ethanol zoals Manuguard Hand Rub	30 sec	+	-	+	+	+ (1min)	+	

+ = goed werkzaam - = niet werkzaam blanco = onbekend

+? waarschijnlijk goed werkzaam, maar niet gepubliceerd

* aspecifieke reactie, dus ook voor non-culturable organismen zoals norovirus etc.

** quats = quaternaire ammonium verbindingen

7. Schoonmaakwerkzaamheden in ML-I en ML-II ruimten

Het schoonmaakpersoneel dient goed op de hoogte te zijn van de instructies betreffende het verrichten van schoonmaakwerkzaamheden in ML-I en ML-II laboratoria. Per ruimte wordt vastgelegd welke schoonmaakwerkzaamheden door het schoonmaakpersoneel wordt uitgevoerd en wat door eigen medewerkers wordt schoongemaakt.

Voor het schoonmaken gelden de volgende regels:

- Instructie schoonmaakpersoneel door VM/OL of BVF.
- Het schoonmaakpersoneel dient een witte jas, alsmede disposable handschoenen te dragen tijdens de schoonmaakwerkzaamheden.
- Bij vervanging van een vaste kracht dient dit gemeld te worden bij de VM/OL.
- De vloeren dienen eenmaal per week nat schoongemaakt te worden (evt. tijdens eigen corvee). Eventueel kan hier worden gekozen om dit afwisselend te doen met een (chloorhoudend) ontsmettingsmiddel en met water en zeep.
- Voor het schoonmaakpersoneel is het niet toegestaan om tafels en apparatuur schoon te maken, maar wel aanrechten en gootstenen.
- Het is noodzakelijk aparte schoonmaakspullen voor ingeperkte ruimten te gebruiken (aparte kar). Deze mogen niet voor andere ruimten worden gebruikt.
- Het bij de schoonmaakwerkzaamheden gebruikte water dient na afloop van de werkzaamheden te worden afgevoerd via een wasbak van het desbetreffende laboratorium.
- Het is het schoonmaakpersoneel verboden om containers voor biologisch afval van het laboratorium te verwijderen.
- Uitsluitend het afval dat verpakt is in afvalzakken mag door het schoonmaakpersoneel worden afgevoerd.
- Eventueel bij elkaar geveegd afval, alsmede de gedragen handschoenen dienen te worden beschouwd als besmet afval en zodoende in de containers voor biologisch afval in het laboratorium te worden gedeponeerd.
- In geval van twijfel dient de VM/OL of BVF te worden geraadpleegd.

Op de volgende bladzijde is een voorbeeld van een schoonmaakschema opgenomen.

8. Regelingen voor schoonmaak, labjassen en onderhoud

Per laboratoriumruimte worden nadere regels opgesteld tav schoonmaak en onderhoud. E.e.a. dient als zodanig te worden geregistreerd in het logboek.

De ML-I ruimte (ruimte-nr.....) wordt schoongehouden volgens onderstaand schema (Voorbeeld)

Schoonmaak	Zeep/Desinfectans	Frequentie	Door wie?
Werkblad en wand	70% alcohol	Onmiddellijk na morsen	gebruiker
Werkblad en wand	70% alcohol	Onmiddellijk na beëindiging van de werkzaamheden	gebruiker
Veiligheidskabinet	70% alcohol	Dagelijks	gebruiker
Gebruikte apparatuur	70% alcohol	Direct na gebruik	gebruiker
Vloer	Water en zeep (evt. afwisselend chloor)	Wekelijks	naam
Wanden en deur	Water en zeep	maandelijks	naam
Waterbaden ¹⁾	Prothermal	Wekelijks	naam
Centrifuges	70% alcohol	Maandelijks	naam
CO ₂ stoof ²⁾	Prothermal	Maandelijks	naam
37° C stoof	70% alcohol	Maandelijks	naam
Schudstoof	70% alcohol	Maandelijks	naam
Koelkast	70% alcohol	Maandelijks	naam
Vrieskast	70% alcohol	Halfjaarlijks	naam
Meubilair	70% alcohol	Halfjaarlijks	naam

Afval	Frequentie	Door wie?
Afvoer van restafval (prullenbak)	(Twee)dagelijks	naam
Afvoer van besmet materiaal	Wekelijks	naam
Afvoer van afval	Wekelijks	naam
Afvoer van labjassen	Tweewekelijks	naam

Onderhoud	Frequentie	Door wie?
Veiligheidskabinet	Jaarlijks	Firma PMV
Centrifuges		
CO ₂ stoof		
37° C stoof		
Schudstoof		

¹⁾Ververs het water regelmatig en voeg hieraan een desinfectans toe (b.v. Prothermal).

²⁾Ter voorkoming van schimmelgroei in de waterpan kan een waterpan van koper worden gebruikt of gebruik van een stukje koper. Ververs het water van de waterpan in de CO₂-stoof regelmatig en voeg hieraan evt. een desinfectans toe (b.v. Prothermal).

9. Gebruik veiligheidskabinet en centrifuge

Zelfinperkende apparatuur en veiligheidskabinetten worden gebruikt om ontstaan en verspreiding van aërosolen zo veel mogelijk tegen te gaan. Het ontstaan van aërosolen bij het centrifugeren is vaak een onderschat probleem. Voor een goede werking moet deze apparatuur goed worden onderhouden en zo nodig periodiek getest worden. Gebruiksaanwijzingen en werkvoorschriften van apparatuur behoren op de werkplek aanwezig te zijn.

Veiligheidskabinet

Bij het werken met ggo's of pathogene micro-organismen biedt een veiligheidskabinet klasse 2 zowel product- als persoonsbescherming. Alle aërosolproducerende werkzaamheden moeten in een veiligheidskabinet worden uitgevoerd.

Een cross-flow kabinet biedt alleen productbescherming, waardoor deze niet is te gebruiken in ML-II laboratoria en hoger ingeperkte laboratoria. Een veiligheidskabinet klasse 2 geeft een goede bescherming tegen uitredende aërosolen door een beschermend luchtgordijn in de werkopening en een goede experimentbescherming door een laminaire downflow. De werkregels zijn:

- Draag een goed gesloten laboratoriumjas met goed aansluitende manchetten of mouwkapjes.
- Doe ringen, horloges en armbanden af en draag zonodig handschoenen.
- Laat het kabinet minimaal 10 minuten draaien, zodat de luchtstroom helemaal is ingesteld en er alleen nog steriele lucht in de kast wordt geblazen.
- Verzamel vooraf de materialen die nodig zijn voor het experiment.
- Neem 10 minuten na het inschakelen van de veiligheidskabinet het werkblad en de luchtstroomranden af met 70% alcohol.
- Breng de benodigde materialen in de werkruimte van het veiligheidskabinet na deze met 70% alcohol te hebben afgenomen. Plaats alle benodigdheden in het kabinet zodanig dat besmet materiaal nooit over steriel materiaal beweegt.
- Controleer de werking van het veiligheidskabinet. Verstoor de luchtstroom tijdens het uitvoeren van de werkzaamheden in het kabinet zo min mogelijk (rustige armbewegingen).
- Houd de afzuigspalten aan de voor- en achterzijde van het werkblad altijd vrij.
- Vermijd zo veel mogelijk het gebruik van bunsenbranders.
- Besmet geraakte materialen als pipetten, pipetpuntjes, e.d. worden in het veiligheidskabinet verzameld in ofwel een bak met desinfectans ofwel in een container/plastic zak die na afloop van de werkzaamheden gesloten in een SZA-vat wordt gedeponeerd.
- Loop zo min mogelijk langs het veiligheidskabinet en open de labdeuren zo min mogelijk.
- Desinfecteer na de werkzaamheden het werkoppervlak en roosters van de kast.
- Laat na beëindigen van de werkzaamheden de ventilator van het kabinet nog minimaal 5 minuten in werking.
- Vul het logboek van het veiligheidskabinet in.

Bijzonderheden:

- Bij uitval van de ventilatie van het kabinet (bv. stroomstoring) moeten eventueel geopende buizen enz. worden gesloten en de werkopening worden afgesloten.

Centrifuge

Centrifuges kunnen een oorzaak zijn van besmetting door het breken van centrifugebuizen, niet goed afgesloten of lekkende centrifugebuizen. Om dit te voorkomen moet op de volgende regels worden gelet:

- Gebruik zo veel mogelijk centrifuges met afsluitbare rotor of afsluitbare buckets (zelf-inperkende centrifuges).
- Gebruik zo veel mogelijk goed afsluitbare onbreekbare buizen of houders en controleer deze voor gebruik op scheurtjes of andere onvolkomenheden.
- Bekijk of de centrifuge nog goed sluit (afsluitrubbers).
- Vul de centrifugebuizen nooit zover dat de vloeistof tijdens het centrifugeren tegen het deksel kan komen. Bij hoekrotoren is het nominale volume altijd kleiner door de schuine stand. Test zonodig eerst met water en merk zonodig de maximale vulhoogte.
- Na het centrifugeren dient men enkele minuten te wachten om de aërosolen uit te laten zakken. Daarna de buizen op lekkage controleren.
- Centrifuge zo nodig openen in het veiligheidskabinet (bv. bij lekkage).
- Rotoren en binnenkant centrifuge en deksel regelmatig schoonmaken en desinfecteren.

10. Ongevallen- en incidentenregeling

- Een **incident** is een onverwachte, ongeplande en ongewenste gebeurtenis. D.w.z.:
 - ieder voorval waarbij zeker of waarschijnlijk ggo's en/of biologische agentia in het milieu terecht zijn gekomen.
 - ieder voorval waarbij ggo's en/of biologische agentia (kunnen) zijn vrijgekomen buiten de ingeperkte werkruimte/installatie, ook zonder dat dit tot emissie in het milieu zal hebben geleid.
- Een **ongeval** is een incident waarbij persoonlijk "letsel" besmetting of verwonding heeft plaatsgevonden.
- Onder **calamiteiten** wordt verstaan: incidenten zoals brand, explosies, lekkages, ontsnapping van brandbare of toxische stoffen en technische storingen die een calamiteit kunnen veroorzaken.

Algemeen

- In elke mogelijk voorkomende situatie dienen zodanige maatregelen genomen te worden dat uitbreiding van de besmetting of ontsnapping en van de verwondingen zoveel mogelijk wordt voorkomen.
- Bij een ongeval, incident of calamiteit dient de VM/OL of BVF te worden gewaarschuwd. Ongevallen en/of incidenten worden gerapporteerd aan de BVF. Hiervoor is een [ongevallenformulier](#) beschikbaar. Rapportage wordt vastgelegd in het logboek.

Taak medewerkers

Hoofdtaken

- Zodanige maatregelen nemen dat uitbreiding van de besmetting, ontsnapping en verwonding zoveel mogelijk voorkomen wordt.
- Melden aan de BVF en VM/OL.

Daarna

• Bij incidenten:

Ruimte/werkoppervlakte desinfecteren (zie hoofdstuk 11).

• Bij ongevallen:

Indien een medewerker ten gevolge van een prikaccident of anderszins besmet raakt, dient men de wondplaats goed te laten doorbloeden en vervolgens te ontsmetten met 70 % alcohol of jodiumtinctuur.

Gebruik de oogdouche in geval van een besmetting van de ogen.

Vervolgens wordt contact opgenomen met de bedrijfsarts (tel. 053-7504300).

Bij ernstige verwondingen: **bel 2222**: zeg naam, plaats van ongeval, welk soort letsel.

• Bij calamiteiten:

Brand: melding van de brand maken: druk een brandmelder in of **bel 2222**: zeg naam en faculteit, plaats van brand (ruimte), wat er brandt

Technische storingen die mogelijk tot een ongeval kunnen leiden: personen in veiligheid (laten) brengen en storing melden.

11. Decontaminatie na morsen van potentieel besmet materiaal.

Kleine besmetting

- Was allereerst de handen (eventueel ook het gelaat) en wissel van laboratoriumkleding.
- Trek handschoenen aan.
- Maak de besmette plaats zo goed mogelijk vrij van obstakels.
- Bedek de besmette plaats met tissues die met desinfectans zijn bevochtigd. Wacht minimaal 10 minuten. Verwijder dan de tissues.
- Veeg vervolgens het materiaal op met tissues. Werk van buiten naar binnen. Al het afvalmateriaal wordt afgevoerd via SZA-vaten (blauwe vaten voor specifiek ziekenhuisafval) of ontsmet door autoclaveren.
- Maak vervolgens het oppervlak schoon met water en zeep. Na deze activiteiten worden de handen grondig gewassen.

Bij morsen van grote hoeveelheden (bijv. breuk 1 liter-kolf)

- Maak de besmette plaats zo goed mogelijk vrij van obstakels (en ontruim de ruimte indien mogelijk).
- Wacht zo mogelijk 15 minuten om aërosolen te laten bezinken (afhankelijk van de gebruikte organismen en pathogenen) en vraag een collega om hulp.
- Was de handen (eventueel ook het gelaat) en wissel van laboratoriumkleding indien deze besmet geraakt zijn.
- Trek handschoenen aan.
- Pas goed op voor glasscherven en andere scherpe materialen.
- Zorg dat de besmetting zich niet verder verspreidt door een ring met desinfectans om de morsplaats te gieten.
- Leg met desinfectans gedrenkte doeken op de morsplaats en laat het desinfectans 10 min. inwerken.
- Breng de besmette doeken vervolgens met een pincet over in een afvalcontainer.
- Bedek (indien nodig) de materialen en oppervlakken met tissue of filtreerpapier om de vloeistof te absorberen en herhaal dit tot alle vloeistof is opgenomen.
- Deponeer al het afval (ook glaswerk e.d.) in een SZA-afvalvat.
- Veeg de morsplaats met doeken gedrenkt in desinfectans van buiten naar binnen aan.
- Dweil de morsplaats met warm water en zeep.
- Bij besmetting van labkleding deze direct desinfecteren door autoclaveren.
- Al het afvalmateriaal (inclusief doeken, dweilen en dweilwater) moet worden gedecontamineerd, bij voorkeur door autoclaveren.
- Besmette delen van de huid wassen met zeep en desinfecteren.

12. Besmet materiaal en afval, opslag en transport

Al het biologisch afval (intacte cellen of bacteriën), inclusief het daarmee besmette of potentieel besmette materiaal of instrumentarium moet worden geïnactiveerd dan wel gedecontamineerd, voordat het verder wordt behandeld voor wassen en hergebruik of voordat het als (bedrijfs)afval wordt afgevoerd. Dit vindt z.s.m. en tenminste eenmaal per week plaats. Dit geschiedt bij voorkeur door autoclavieren.

Het afval en (potentieel) besmet materiaal dient voorafgaande aan de inactivatie/decontaminatie te allen tijde afgesloten en adequaat geëtiketteerd te worden bewaard.

Eventueel transport naar de autoclaaf vindt plaats in een gesloten, breukvaste, lekdichte container.

Besmet materiaal

- **Hitte en niet-hittebestendig, herbruikbaar materiaal**

Afhankelijk van het soort organisme dat aanwezig was in het glaswerk (of op andere materialen) wordt het juist desinfectiemiddel gekozen, zie tabel op bladzijde 6). 70% ethanol en een actieve chlooroplossing (1000 ppm) zijn de meest gebruikelijke.

Afval

- **Vast afval (kweekplastic, tissues, agarplaten)**

wordt verzameld in SZA vaten (blauwe afvalvaten voor Specifiek Ziekenhuisafval).

- **Vloeibaar kweekafval**

wordt verzameld in een afzuigvat met natriumhydroxide (1M). Wanneer deze vol is wordt de inhoud in een afvalvatje (5 liter jerrycan) gegoten en afgevoerd als gevaarlijk afval. In geval van een waterige oplossing (pH tussen 6 en 9 en geen toevoeging van andere chemische stoffen) kan de oplossing via het riool worden geloosd.

Vloeibaar afval kan ook worden gedecontamineerd met 0,1% actief chloor in water. De desinfecterende activiteit van de chloor oplossing loopt sterk terug als deze langere tijd staat. Vervang de opvangflessen daarom bij voorkeur dagelijks. Dit moet gebeuren omdat de werking van de chloor bij kamertemperatuur na 1 dag al sterk vermindert en ten gevolge van de interactie met het organisch materiaal nog verder inactiveert waardoor het afval dat bijvoorbeeld op dag 3 nog wordt toegevoegd, niet meer voldoende wordt gedesinfecteerd.

Opslag van afval

De blauwe afvalvaten voor specifiek ziekenhuisafval (SZA) worden één keer per week opgehaald door de externe afvalinzamelaar van de UT. Opslag vindt plaats in een daarvoor bestemde ruimte (zie § 5.4).

De vaten dienen voor afvoer aan de buitenkant gedesinfecteerd te worden (afnemen met 70% ethanol), geëtiketteerd en te zijn aangemeld bij de afvalcontactpersoon van het gebouw via een "formulier afval gevaarlijke stoffen". Zie [regeling afvoer bedrijfsafval en gevaarlijk afval Universiteit Twente](#).

Intern transport

Voor het intern transport van preparaten wordt gebruik gemaakt van een Bio-Transport draagsysteem. Dit is een gesloten systeem (m.b.v. klemmen), breukresistent, doorzichtig en autoclaveerbaar. Voor transport en na gebruik dient het op het lab ontsmet te worden.