**Betriebsanleitung für biologische Stoffe**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Organisation:** | Universität HeidelbergInstitut für Neurobiologie | **Räume:** | INF 366, Räume 123-127, 145 |  |
| **Arbeitsgruppen:** | Bading, Cicciolini, Mauceri, Oliveira | **Tätigkeiten:** | Transformation, Ausplattieren und Auswachsen von E. coli auf Agaroseplatten und in Flüssigkultur; Aufreinigung von Plasmid-DNA aus Flüssigkulturen |
| **Verantwortlicher:** | Prof. Hilmar Bading | **Erstellt von:** | Dr. Anna M. H. Hertle | **Datum:** | 21.11.2023 |
|  |  |  |  |  |  |

**Beschreibung**

# *E. coli*

E. coli-Stämme wie K12, DH5⍺, NEB5⍺, NEB Stable cells, etc. werden für die Entwicklung, Vermehrung und Präparation von rekombinanter DNA verwendet. Abgeschwächte Stämme von E. coli, die üblicherweise für die Molekularbiologie verwendet werden, gelten als Erreger der Risikogruppe 1 (RG1), die bei gesunden erwachsenen Menschen nicht mit Krankheiten in Verbindung gebracht werden und eine Einschließung der Biosicherheitsstufe 1 erfordern. Bitte beachten Sie, dass genetische Veränderungen, die Virulenzfaktoren1 verleihen oder die Regulierung der Genexpression verändern, das Ausmaß der Invasivität und Virulenz erhöhen können, so dass erhöhte Einschließungs- und Sicherheitsmaßnahmen erforderlich sind, die dem Risiko entsprechen. Daher bezieht sich diese Risikobewertung NICHT auf klinische Isolate, die als Organismen der Risikogruppe 2 gelten, die eine höhere Virulenz aufweisen können und eine Einschließung auf Biosicherheitsstufe 2 erfordern.

## Gefahren für den Menschen und die Umwelt

**Laborstämme von E. coli der Risikogruppe 1 haben eine geringe, aber nicht inexistente Virulenz. Obwohl nicht bekannt ist, dass die als Risikogruppe 1 eingestuften Organismen bei gesunden Erwachsenen durchgängig Krankheiten verursachen, besteht für folgende Personen ein erhöhtes Infektionsrisiko: junge und ältere Menschen, immungeschwächte Personen oder Personen, die große Mengen von Antazida oder magensäureverringernden Medikamenten einnehmen. Mögliche Expositionswege sind das Einatmen von Aerosolen, das Verschlucken und der Kontakt mit Schleimhäuten (einschließlich der Augen). Eine Entzündung kann auftreten, wenn eine Autoinokulation durch Injektion oder Kontamination einer verletzten Haut erfolgt. Das Verschlucken von E. coli kann Durchfall mit oder ohne Bauchkrämpfe verursachen. Bei Hautinfektionen kann es zu Entzündungen kommen. Nach einer Inokulation in das Auge kann es zu einer Konjunktivitis kommen.**

## Sicherheitsmaßnahmen und Verhaltensregeln

* Die Arbeiten dürfen nur in einem S1-Bereich mit ausreichender Belüftung durchgeführt werden. Die üblichen S1-Vorsichtsmaßnahmen müssen eingehalten werden.
* Laborkittel, Schutzbrille und Handschuhe tragen.
* Vor dem Verlassen des S1-Labors sind die Hände zu desinfizieren und zu waschen.
* Gehen Sie vorsichtig mit Flüssigkeiten um, um die Entstehung von Spritzern und Aerosolen zu minimieren. Die Zentrifugation sollte in verschlossenen Röhrchen durchgeführt werden. Gefäße, die für orbitales Schütteln verwendet werden, müssen mit einem Deckel versehen sein.

## Dekontamination

* Die regelmäßige Reinigung von Arbeitsflächen und Pipetten kann mit 70%igem Ethanol erfolgen.
* Verschüttete Flüssigkeiten sollten desinfiziert werden, indem der betroffene Bereich mindestens 1 Minute lang mit Baccilol AF eingeweicht wird.
* Dekontaminieren Sie wiederverwendbare Glas- und Kunststoffgeräte durch Einweichen in 1,5%igem Lysoformin für mindestens eine Stunde oder in 1,5%igem Sekusept Plus für vier Stunden.
* Dekontaminierung von Laborkitteln durch Autoklavieren.

## Verhalten im Gefahrenfall

Bei Unfällen oder Verschüttungen:

* Arbeiter in dem Bereich benachrichtigen.
* Verlassen Sie den Bereich für mindestens 15 Minuten, damit sich die Aerosole absetzen können. Kontaminierte PSA auswechseln. Verfahren zur Bekämpfung von Verschüttungen einleiten:
* Den verschütteten Stoff mit absorbierendem Material abdecken. Beginnen Sie an den Rändern und arbeiten Sie sich zur Mitte hin vor.
* Gießen Sie vorsichtig das Desinfektionsmittel Baccilol AF über den aufgesaugten Fleck, wobei Sie wiederum an den Rändern beginnen und den Bereich mit dem Desinfektionsmittel sättigen.
* Lassen Sie das Mittel ausreichend lange einwirken (mindestens 10 Minuten), um das verschüttete Material zu inaktivieren.
* Verwenden Sie Papiertücher zum Aufwischen der verschütteten Flüssigkeit. Verwenden Sie eine Zange oder Pinzette, um zerbrochenes Plastik, Glas oder andere scharfe Gegenstände aufzusammeln, die Handschuhe durchstechen könnten.
* Entsorgen Sie das absorbierende Material im Autoklavenabfall.
* Reinigen Sie den verschütteten Bereich mit frischen, in Desinfektionsmittel getränkten Papiertüchern. Befeuchten Sie den verschütteten Bereich gründlich und lassen Sie ihn für die erforderliche Zeit desinfizieren, dann wischen Sie den Bereich mit Handtüchern auf.
* Entsorgen Sie alle Reinigungsmaterialien im Autoklaven und schicken Sie alle kontaminierten PSA zum Autoklavieren. Verschließen und sichern Sie die Beutel.
* Desinfizieren Sie die Beutel vor der Entsorgung durch Autoklavieren.

Melden Sie alle Vorfälle dem Vorgesetzten.

## Erste Hilfe

* Bei Kontakt mit der Kleidung: Sofort ausziehen und die betroffene Haut bis zu 15 Minuten lang mit antiseptischer Seife und viel Wasser waschen.
* Bei Hautkontakt: Die betroffene Stelle mindestens 15 Minuten lang mit antiseptischer Seife und reichlich Wasser waschen. Einen Arzt konsultieren.
* Bei Verschlucken: Mund mit Wasser ausspülen, aber nicht verschlucken, dann sofort einen Arzt aufsuchen.
* Nach Einatmen: An die frische Luft gehen, dann sofort einen Arzt aufsuchen.
* Bei Augenkontakt: Mindestens 15 Minuten lang mit Wasser spülen. Einen Arzt konsultieren.
* Alle Vorfälle dem Vorgesetzten melden und im Erste-Hilfe-Buch vermerken.

## Ordnungsgemäße Abfallentsorgung

* Entsorgen Sie alle festen Abfälle, einschließlich der Handschuhe, die beim Umgang mit E. coli verwendet wurden, und der entsprechenden Behälter in einem Autoklavenbeutel. Verschließen und sichern Sie den Beutel und desinfizieren Sie ihn durch Autoklavieren (> 1 Stunde bei 121°C).
* Entsorgen Sie alle flüssigen Abfälle in einem Autoklavierkrug. Verschließen Sie den Krug und dekontaminieren Sie die Außenseite mit dem Desinfektionsmittel Baccilol AF. Desinfizieren Sie die kontaminierte Flüssigkeit durch Autoklavieren (> 1 Stunde bei 121°C).

Hiermit bestätige ich, dass ich die Arbeitsanweisungen für die Arbeit mit E. coli gelesen habe und mich verpflichte, diese Anweisungen zu befolgen.

Name:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Datum:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Unterschrift:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_