

Ústav biologie obratlovců AV ČR, v. v. i.
Pokyn ředitele č. 3/2023
Zásady práce v molekulárně-genetické laboratoři – Květná
Platí od: 1.2.2023
Určeno všem zaměstnancům

1. Povolení vstupu a práce v laboratoři

- 1.1. Do molekulárně-genetické laboratoře mají oprávnění ke vstupu **všichni pracovníci ÚBO AV ČR, případně jejich studenti** bakalářského, magisterského nebo doktorandského studia. Pracovat zde mohou jen osoby, co byly se **Zásady práce** v laboratoři seznámeny a které byly proškoleny na práci se zde přítomnými přístroji, které k práci využívají. Předem určené osoby budou mít k dispozici **klíč** od vstupních dveří do laboratoře. Laboratoř je **uzamykána**, pokud v ní nikdo nepracuje.

2. Pohyb studentů

- 2.1. Za studenty vždy nese **odpovědnost jejich školitel nebo konzultant**, který musí být zaměstnancem ÚBO AV ČR. Studenti musí být svým školitelem/konzultantem řádně proškoleni, jak se v laboratoři chovat a jak používat přístroje, které jsou zde umístěny. Studenti musí být předem seznámeni se Zásady práce v laboratoři.

3. Ochranné pomůcky

- 3.1. Osoby pohybující se v laboratoři musí mít k dispozici ochranné pomůcky. Jedná se především o **rukavice, vhodnou obuv a oděv**. Je vhodné mít na sobě ochranný plášť nebo jiné oblečení, které je používáno jen pro práci v této laboratoři. Na nohách by měly být **přezůvky**. Není vhodné vcházet v obuvi, ve které se osoba pohybuje mimo budovu ústavu. Ochranné pomůcky si každý zaměstnanec pro sebe, případně pro své studenty, **zabezpečuje sám**. Dlouhé vlasy by při práci měly být staženy dozadu.

4. Rozdělení laboratoře

- 4.1. Molekulárně-genetická laboratoř je rozdělena na dvě **prePCR** místnosti, z nichž jedna je určena na práci s kvalitními obvykle tkáňovými vzorky (invazivní vzorky) a druhá na práci s neinvazivními vzorky (chlupy, trus, moč, historické vzorky), případně s forezními vzorky, u kterých je DNA horší kvality. Další část tvoří **postPCR** místnost s přechodem do místnosti určené pro elektroforézu (označeno jako „Elfo“). Aby nedošlo ke kontaminaci prePCR místností navzájem a prePCR místností postPCR produkty, **není dovoleno přenášet vybavení** z invazivní prePCR do neinvazivní prePCR místnosti ani z post-PCR místnosti do prePCR místností a to včetně např. židlí nebo psacích pomůcek. Přenášet lze jedině poznámky na papíře. Přenositelné vybavení místností musí být **řádně označeno**, zda patří do postPCR nebo do jednotlivých prePCR místností. Pokud ve výjimečných případech je nutné něco přenést, při návratu musí být toto vybavení očištěno a vysvíceno v UV sterilizátoru.

5. Práce s pipetami a jinými přístroji

- 5.1. Při práci v laboratoři jsou nejvíce využívány pipety. Při práci s nimi je nutné dodržet základní **pravidla pipetování**, nesmí docházet k jejich kontaminaci např. při nevhodné manipulaci s pipetou, kdy se pipeta otáčí špičkou nahoru nebo kdy jsou pipetovány větší než povolené objemy. Také se pipety **nesmí přetáčet**, tj. vždy se musí dodržet maximální povolený objem uvedený na dané pipetě. Pokud dojde ke kontaminaci konce pipety, musí být pipeta neprodleně vyčištěna osobou, která konec pipety kontaminovala. V invazivní prePCR místnosti je na stěně návod, jak pipetu vyčistit. Ostatní přístroje jsou využívány dle **manuálů** (k dispozici v jednotlivých místnostech nebo u odpovědné osoby). Osoby pracující s přístroji jsou povinny je v případě znečištění neprodleně vyčistit a dát do původního stavu. Zodpovědnost za poškození přístroje nese osoba, která v té době s přístrojem pracovala, a to v případě, že nedodržela podmínky jeho provozu stanovené v manuálu.

6. Udržování pořádku v laboratoři

- 6.1. Protože je laboratoř sdílena několika výzkumnými týmy, je nutné dodržovat pořádek a **po každé práci pracovní místo uklidit a dát do původního stavu**. Každý tým využívá pro práci svůj laboratorní materiál (plastik), který má uložen **podepsaný** v označených skřínkách. To se týká i krabiček se špičkami. Jejich doplňování je na jednotlivých týmech a svých vlastních zdrojích. Společný materiál, tj. zejména stojánky a laboratorní sklo se po použití umyjí a sterilizují UV světlem nebo parním sterilizátorem tak, aby byly k dispozici dalším týmům. Odpadní nádoby umístěné na stolech je po práci nutné vysypat případně vymýt a pracovní stůl nebo box vytrít dezinfekčním prostředkem. Vzorky DNA/PCR produkty má každý tým uložen ve svých podepsaných krabičkách/sáčcích. Vzorky uskladňuje v šuplících v mrazácích, které mu byly přiděleny, případně mohou být uloženy v přidělené polici v lednici (prostory v lednicích a mrazácích jsou rozděleny a označeny jednotlivými týmy). **K dlouhodobému skladování vzorků nebo PCR produktů se nevyužívají stojánky, které musí zůstat k dispozici pro práci jiných týmů.**

7. Nakládání s odpady

- 7.1. V rámci každé místnosti jsou k dispozici tři **odpadkové koše** – jeden slouží k vyhazování použitých **rukavic**, další k odhazování **nebezpečného odpadu** a poslední je určen pro **běžný odpad**. Koše jsou náležitě popsány. Do nebezpečného odpadu patří použité špičky a jiný plastik se zbytky chemikálií. Kromě těchto košů jsou **v suterénu budovy umístěny dva sběrné boxy určené k ukládání nebezpečného odpadu**. V případě, že je koš s nebezpečným odpadem v laboratoři plný, je nutné jej co nejdříve vynést do jednoho z těchto boxů. Není určena osoba, která koše vynáší, kromě koše s běžným odpadem. Tato povinnost přísluší všem, kdo v laboratoři pracují. Náhradní pytle do košů jsou v obou prePCR místnostech k dispozici. Třetí sběrný box je umístěn v místnosti s elektroforézou a je možné do něj dávat nebezpečný odpad po naplnění boxů umístěných v suterénu, jinak slouží především na odpad (plastik, chemikálie, gely) včetně rukavic vyprodukovaných při práci s elektroforézou. Pokud již dochází místo ve sběrných boxech je nutné co nejdříve uvědomit **odpovědnou osobu (vedoucí laboratoře nebo pověřená osoba), která zabezpečí odvoz a likvidaci nebezpečného odpadu** prostřednictvím k tomu určené firmy.

8. Práce s otevřeným ohněm

- 8.1. Při sterilizaci nástrojů např. při izolaci DNA dochází k manipulaci s otevřeným ohněm (lihový kahan, svíčka). V takovém případě nesmí osoba opustit pracovní místo bez předchozího uhašení ohně. **Otevřený oheň nesmí zůstat bez dozoru!** Při práci s ním musí být zachována všechna pravidla, která je nutné dodržet při práci s otevřeným ohněm a o kterých byl zaměstnanec proškolen v rámci školení BOZP a PO. **Pozor na kombinaci alkoholu nebo jiných hořlavín a otevřeného ohně!**

9. Zákaz kouření a konzumace potravin

- 9.1. V laboratoře platí **zákaz kouření a konzumace jídla**. Pití si každý sebou nosí v uzavíratelných nádobách a využívá jen v nejnutnějších případech dle zásad bezpečnosti práce (nepít při práci s nebezpečnými chemikáliemi).

10. Dodržování zásad práce s nebezpečnými/zdraví škodlivými chemikáliemi

- 10.1. Osoby pohybující se v laboratoři musí být obeznámeny se zdravotními riziky chemických látek a směsí, které se na pracovišti vyskytují, které při práci používají a jejichž účinkům mohou být během své práce vystaveni. Zaměstnanci, případně studenti jsou povinni dodržovat **pravidla pro skladování chemických látek a směsí dle pokynů uvedených na obalu**. Rovněž jsou povinni při nakládání s chemickými látkami a směsmi používat osobní ochranné pomůcky. Všechny chemické látky musí být správně označeny. Toto označení umístěné na obalu musí obsahovat:
- Výstražný symbol nebezpečnosti (jeden nebo i více)
 - Signální slova
 - Standardní věty o nebezpečnosti (H-věty)
 - Pokyn pro bezpečné zacházení (P-věty)
 - Označení výrobku
 - Informace o dodavateli (jméno/název, adresa a telefonní číslo)
 - Označení týmu, kterému případná chemikálie patří

11. Hlášení poruch a servis přístrojů

- 11.1. Pokud osoba pracující v laboratoři zjistí poruchu přístroje, tuto **poruchu je povinna neprodleně nahlásit odpovědné osobě**, která zabezpečí **odborný servis** přístroje. Poruchy nejsou opravovány osobami pracujícími v laboratoři.

12. Povinnost ohlásit změnu zdravotního stavu

- 12.1. Osoby pracující v laboratoři musí **nahlásit změnu zdravotního stavu**, která jim může bránit práci vykonávat. Protože se v laboratoři pracuje s chemikáliemi, které mohou mít mutagenní účinky a mohou ovlivnit vývoj plodu, týká se tato zásada zejména těhotných žen. Těhotným ženám není dovoleno v laboratoři pracovat s nebezpečnými chemikáliemi a svůj pobyt zde by měly omezit na činnosti, které pro ně nepředstavují zdravotní riziko.

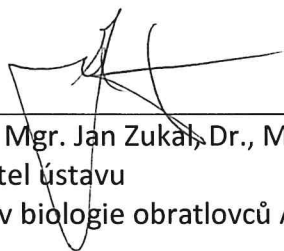
13. Účinnost

Tato směrnice nabývá účinnosti dne 1. 2. 2023

14. Odpovědná osoba

Ředitel ÚBO stanoví vedoucího laboratoře. O tom bude informovat všechny zaměstnance.

V Brně dne



Doc. Mgr. Jan Zukaň, Dr., MBA
Ředitel ústavu
Ústav biologie obratlovců AV ČR, v.v.i.

Seznam proškolených osob s oprávněním pracovat v laboratoři:

List of trained persons authorized to work in the laboratory:

Jméno a příjmení	Datum	Podpis

Odpovídá vedoucí laboratoře

Responsible for the head of the laboratory

Principles of work in the molecular-genetic laboratory at Květná

1. Permission to enter and work in the laboratory

- 1.1. **All employees** of the Institute of Vertebrate Biology of the Czech Academy of Sciences, as well as **their students** of bachelor's, master's or doctoral studies, are authorized to enter the molecular-genetic laboratory. Only persons who have been familiarized with the **Principles of work** in the laboratory and who have been trained to work with the devices present there, which they use for work, may work there. Pre-designated persons will have a **key** to the entrance door to the laboratory. The lab is **locked** when no one is working in it.

2. Movement of students

- 2.1. **Students are always the responsibility of their (co-)supervisor**, who must be an employee of the IVB CAS. Students must be properly trained by their (co-)supervisor on how to behave in the laboratory and how to use the instruments located there. Students must be familiar with the Principles of Laboratory Work in advance.

3. Protective equipment

- 3.1. Persons moving in the laboratory must have protective equipment available. These are mainly **gloves**, suitable **footwear** and **clothing**. It is recommended to wear a protective coat or other clothing that is used only for work in this laboratory. **Slippers** should be on the feet. It is not allowed to enter in shoes in which a person moves outside the institute building. **Each employee provides personal protective equipment for himself or for his students**. Long hair should be pulled back when working.

4. Division of the laboratory

- 4.1. The molecular-genetic laboratory is divided into **two prePCR rooms**, one of which is intended for work with high-quality tissue samples (**invasive** samples) and the other for work with **non-invasive** samples (hair, scat, urine, historical samples), or with forensic samples, in which the DNA is of low quality. Another part is the **postPCR room** with a transition to the electrophoresis room (marked as "Elfo"). In order to avoid contamination of the prePCR rooms between each other and the prePCR rooms with the postPCR products, **it is not allowed to transfer equipment** from the invasive prePCR to the non-invasive prePCR room or from the post-PCR room to the prePCR rooms, including e.g. chairs or writing aids. Only notes on paper can be transferred. **Portable room equipment must be properly marked to which room it belongs**. If, in exceptional cases, it is necessary to transfer something, this equipment must be cleaned and illuminated in a UV sterilizer on return.

5. Work with pipettes and other devices

- 5.1. Pipettes are the most used when working in the laboratory. When working with them, it is necessary to use **the basic rules of pipetting**, they must not be contaminated, for example, when the pipette is handled inappropriately, when the pipette tip is turned upwards or when larger than permitted volumes are pipetted. **Pipettes must also not be overturned**, i.e. the maximum permitted volume indicated on the given pipette must always be observed. If the tip of the pipette becomes contaminated, the pipette must be cleaned immediately by the person who contaminated the tip of the pipette. In the invasive prePCR room, there are instructions on the wall on how to clean the pipette. Other devices are used according to **the manuals** (available in individual rooms). Persons working with the devices are obliged to immediately clean them and return them to their original condition thus preventing contamination. Responsibility for damage of the device belongs to the person who was working with the device when it happened, especially when he/she did not adhere the conditions specified in the manual of the equipment.

6. Maintaining order in the laboratory

- 6.1. As the laboratory is shared by several research teams, **it is necessary to maintain order and to clean and restore the workplace after each work**. Each team uses its laboratory material (plastics) for work, which is stored **signed** in marked cabinets. This also applies to tip boxes. Their replenishment is up to individual teams and their own resources. Common material, i.e. especially racks and laboratory glassware, are washed and sterilized with UV light or steam sterilizer after use so that they are available to other teams. The waste containers placed on the tables must be emptied (and washed if necessary) after work and the worktable or box must be wiped with a disinfectant. DNA samples/PCR products are kept by each team in their signed boxes/bags. He stores the samples in the drawers in the freezers that were assigned to him, or they can be stored in the assigned shelf in the refrigerator (spaces in the refrigerators and freezers are divided and marked by individual teams). **Racks are not used for long-term storage of samples or PCR products, which must remain available for the work of other teams.**

7. Waste management

- 7.1. Within each room, there are **three trash bins** – one for throwing away used **gloves**, another for throwing away **hazardous waste**, and the last one is for **general waste**. Trash bins are properly marked. Hazardous waste includes used tips and other plastic with chemical residues. In addition to the bins, there are **two collection boxes in the basement of the building designed for storing hazardous waste**. If the bin with hazardous waste in the laboratory is full, it is necessary to trash the waste to these boxes. There is no designated person responsible for that, except for the general waste bin. This obligation belongs to everyone who works in the laboratory. Spare bin bags are available in both prePCR rooms. The third collection box is located in the Elfo room and it is possible to put hazardous waste into it after filling the boxes located in the basement, otherwise it is used for “elfo” waste: plastic, chemicals, gels including gloves produced during work with electrophoresis. **If you find out that the collection boxes are full, please, inform immediately the responsible person** (head of the laboratory or a person authorized by him).

8. Working with open fire

- 8.1. When sterilizing tools, e.g. during DNA isolation, open fire (alcohol lamp, candle) is used. In such a case, the person must not leave the workplace with open fire. **An open fire must not be left uncontrolled!** When working with it, please follow all the rules for working with an open fire about which the employee are trained as part of the BOZP and PO training. Beware of the combination of alcohol or other flammable substances and open fire!

9. Prohibition of smoking and consumption of food

9.1. **Smoking and eating are prohibited in the laboratory.** Everyone carries drinks with them in closable containers and uses them only in the most necessary cases according to work safety principles (do not drink when working with dangerous chemicals).

10. Compliance with the principles of working with dangerous/harmful chemicals

10.1. Persons moving in the laboratory must be familiar with the health risks of chemical substances and mixtures that are present in the workplace, that they use at work and to the effects of which they may be exposed during their work. Employees, or students, are obliged to follow the rules for the storage of chemical substances and mixtures according to the instructions on the packaging. They are also required to use personal protective equipment when handling chemical substances and mixtures. All chemicals must be properly labeled. This label placed on the packaging must include:

- a) Hazard warning symbol (one or more)
- b) Signal words
- c) Standard hazard statements (H-statements)
- d) Instructions for safe handling (P-phrases)
- e) Product labeling
- f) Information about the supplier (name/title, address and telephone number)
- g) Designation of the team to which any chemical belongs

11. Fault reporting and device service

11.1. If a person working in the laboratory discovers a malfunction of the device, he is obliged to immediately report this error to the responsible person, who will ensure professional servicing of the device. Malfunctions are not corrected by persons working in the laboratory.

12. Obligation to report a change in health status

12.1. Persons working in the laboratory must report any change in health that may prevent them from working there. Since the mutagens and chemicals that can affect the development of the fetus are used in the lab, this principle applies especially to pregnant women. Pregnant women are not allowed to work with dangerous chemicals in the laboratory and should limit their stay here to activities that do not pose a health risk to them.

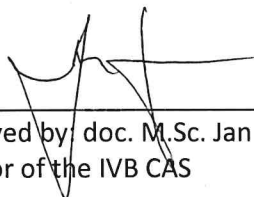
13. Effectiveness

This Directive shall enter into force on 1 February 2023.

14. Responsible person

The Director of the IVB shall designate the head of the laboratory. This person will be notified to the employees.

In Brno,



Approved by: doc. M.Sc. Jan Zukal, PhD, MBA
Director of the IVB CAS

