



Säkerhetsanvisningar för laborationer med mikroorganismer

– samt genetiskt modifierade
mikroorganismer (GMM)

Anvisningar för arbete med mikroorganismer i skolan från Nationellt resurscentrum för biologiundervisning. Riktlinjerna är baserade på tidigare samarbete med Arbetsmiljöverket och är uppdaterade i samråd med experter vid Uppsala universitet. Mer information om arbete i skolan med mikroorganismer finns på Bioresurs webbplats, www.bioresurs.uu.se.



UPPSALA
UNIVERSITET

Innehåll

1. Introduktion	3
2. Berörda myndigheter, regler och föreskrifter	3
2.1 Särskild reglering av arbete med GMM	
3. Riskbedömning: riskklasser, anmälningsplikt och skyddsnivåer	4
3.1 Riskklasser för smittämnen	
3.2 Anmälningsplikt för viss typ av mikrobiologiskt arbete	
3.2.1 Anmälningsplikt för arbete med GMM	
3.2.2 Olika nivåer på GMM-verksamheter	
3.2.3 Undantag från anmälningsplikt för arbete med GMM	
3.2.4 Hur man gör en F-anmälan för laboration med GMM	
3.2.5 Sammanfattning av rutiner för arbete med GMM i skolan	
3.3 Skyddsnivåer	
4. Kompetens och förutsättningar för mikrobiologiskt arbete.	7
4.1 Basnivå	
4.2 Mellannivå	
4.3 Avancerad nivå	
5. God mikrobiologisk praxis	8
5.1 Praktiska anvisningar vid mikrobiologiskt arbete	
6. Organismer, odlingsförhållanden och avläsning	9
6.1 Rekommenderade organismer	
6.2 Inköp av organismer	
6.3 Förvaring av organismer och medier	
6.4 Inkubering och avläsning	
6.5 Ympning	
7. Avfallshantering	10
8. Användning av antibiotika vid laborationer i skolan.	11
8.1 Val av antibiotika	
8.2 Avfallshantering vid användning av antibiotika	
Tabeller med exempel på laborationer för basnivå, mellannivå och avancerad nivå	

1. Introduktion

Mikroorganismer har stor betydelse för hälsa och sjukdom – vissa används vid tillverkning av mat, läkemedel och andra biotekniska produkter, medan andra kan ge svåra infektioner. Det finns många spännande och intressanta försök att göra med mikroorganismer i skolan för att få en praktisk tillämpning inom områden som cellära, evolution, medicin, livsmedel, bioteknik och miljövård. Många mikroorganismer är enkla att arbeta med, men det är viktigt att vara medveten om riskerna med mikrobiologiskt arbete.

I Arbetsmiljöverkets föreskrifter (se 2. Arbetsmiljöverket) definieras **mikroorganismer** enligt följande: "Bakterier, mögel- och jästsvampar, virus och andra mikrobiologiska enheter, cellulära och inte cellulära, som kan reproducera eller överföra genetiskt material". Ett **smittämne** definieras enligt Arbetsmiljöverket som: "Mikroorganismer, prioner och humana infektioner, som kan framkalla infektioner hos människor".

I förordningen SFS 2000:271 definieras **genetiskt modifierade mikroorganismer, GMM** som "en mikroorganism, vars genetiska material har ändrats på ett sätt som inte inträffar naturligt genom parning eller genom naturlig rekombination". Det är idag både enkelt och relativt billigt att få tag i laborationsmanualer och färdiga kit för försök med GMM. Oavsett tillgänglighet måste dock skolan göra en riskbedömning och följa de regler som gäller. GMM-verksamhet ska anmälas till Arbetsmiljöverket innan man påbörjar arbetet. Undantaget är om man endast överför kända plasmider med riskfria gener (inget extra får läggas till dessa plasmider) till *E. coli* utan att använda antibiotika i odlingsmediet och under förutsättning att plattor med bakterier avdödas med autoklavering eller hanteras som riskavfall. OM man gör något annat än detta, måste en anmälan om en så kallad F-verksamhet göras. Läs mer om anmälan i avsnitt 3.2.1

2. Berörda myndigheter, regler och föreskrifter

På Arbetsmiljöverkets webbsida [Sjukdomar, smitta och mikrobiologiska risker](#), finns information om regler och risker vid arbete med mikroorganismer. Följande föreskrifter reglerar arbete med mikroorganismer:

- [Smittrisker Arbetsmiljöverkets föreskrifter och allmänna råd om smittrisker, AFS 2018:4](#)
- [Minderårigasarbetsmiljö AFS 2012:3](#)
- Folkhälsomyndighetens webbsidor [Om biosäkerhet och bioskydd](#) rekommenderas som stöd för riskbedömning.

2.1 Särskild reglering av arbete med GMM

Flera myndigheter arbetar med frågor som rör genteknik. Miljötillsynsförordningen (2011:13) reglerar vilken myndighet som har ansvar för tillsyn i olika frågor om genteknik. Vem som har ansvar för anmälningar, tillstånd och tillsyn för arbete med genmodifierade organismer styrs av vilken typ av organism det gäller och om det gäller innesluten användning (i laboratorier eller växthus) eller ute i miljön.

Laborationer i skolan med GMM ska ske i laboratiemiljö och räknas som **innesluten användning**. Arbetsmiljöverket är ansvarig tillsynsmyndighet för innesluten användning av GMM (genmodifierade bakterier, virus och cellkulturer från växter och djur). Flera olika förordningar och lagtexter styr Arbetsmiljöverkets arbete med innesluten användning av GMM: Miljöbalken 1998:808, Arbetsmiljölagen 1977:1160, Förordningen om innesluten användning av genetiskt modifierade organismer 2000:271, Föreskrifter för innesluten användning av genetiskt modifierade mikroorganismer AFS 2011:2) samt Smittrisker AFS 2018:4. På webbsidan [Innesluten användning av GMM](#) finns länkar till dessa texter.

För skolan tillkommer särskilda föreskrifter då vi arbetar med minderåriga. På Arbetsmiljöverkets webbsida [Minderårigas arbetsmiljö \(AFS 2012:3\), föreskrifter](#) - finns även en länk till en särskild vägledning för skolor (Om minderårigas arbetsmiljö – en vägledning till föreskrifterna (AFS 2012:3) (H453)).

Gentekniknämnden är en rådgivande myndighet som bevakar utvecklingen inom hela genteknikfältet (inklusive GMM). Deras webbplats www.genteknik.se innehåller faktasidor om GMO, lagstiftning och mer information om de ansvariga myndigheterna. Gentekniknämnden yttrar sig om ansökningar om tillstånd (se avsnitt 3.2) som kommer in till de olika tillsynsmyndigheterna som hanterar GMO-frågor.

Kemikalieinspektionen är ansvarig myndighet för prövning av genetiskt modifierade mikroorganismer (samt nematoder, insekter och spindeldjur) som avsiktligt ska sättas ut i miljön. De hanterar också produkter som innehåller eller består av genetiskt modifierade mikroorganismer (eller nematoder, spindeldjur och insekter) och som ska släppas ut på marknaden.

3. Riskbedömning: riskklasser, anmälningsplikt och skydds nivåer

Skolhuvudmannen har det övergripande ansvaret för att laborativt arbete kan genomföras på ett säkert sätt. I ett systematiskt arbetsmiljöarbete (SAM) ingår att göra riskbedömningar för allt laborativt arbete. Det omfattar hela arbetssituationen och involverar i skolan både lärarens förarbete, genomförandet av undervisningen tillsammans med elever och efterarbetet i de skollokaler med den utrustning som finns tillhands. För laborativt arbete med mikroorganismer ska man särskilt bedöma smittrisker. Smittrisk innebär en risk för att ett smittämne (mikroorganism) orsakar infektion eller att en person blir bärare av smittämnet. I riskbedömningen ska man ta ställning till frågor som:

- Vilka arbetsmoment kan innebära smittrisk?
- Hur kan smittämnen orsaka infektion?
- Vilka och hur allvarliga konsekvenser är det att bli utsatt för smittämnen?
- Under hur lång tid riskerar man att utsättas för smittämnen i arbetet?
- Behöver verksamheten anmälas till Arbetsmiljöverket?

Lärare i skolan har olika kompetens inom det naturvetenskapliga området. De kunskaper om mikroorganismer och sterilteknik som lärare behöver för att kunna göra riskbedömningar och genomföra praktiskt mikrobiologiskt arbete i skolan konkretiseras i avsnitt 5. God mikrobiologisk praxis. Utan dessa kunskaper kan säkerheten äventyras genom brister i riskbedömning och genomförande. Förutom lärarens kompetens behöver elevernas kompetens vägas in i en riskbedömning. Elevernas kompetens kan kopplas till årskurs. Förutom en bedömning kring elevernas kunskaper och förmågor behöver man i en riskbedömning som lärare också bedöma om den allmänna arbetssituationen i sin klass är tillfredsställande och gör det möjligt att genomföra ett visst försök.

Praktiskt arbete med genetiskt modifierade mikroorganismer (GMM) i biologiundervisningen kräver särskilda åtgärder. Laborationer med GMM i skolan motsvarar avancerad kompetensnivå, vilket motsvarar lärare med utbildning i mikrobiologi och elever på gymnasienivå. Arbete med GMM ska inte göras i grundskolan.

3.1 Riskklasser för smittämnen

Smittämnen tillhör olika riskklasser utifrån sin förmåga att orsaka infektion och hur allvarliga följderna kan bli. I den bilaga som finns i AFS 2018:4 anges smittämnen i riskklasserna 2, 3 och 4. Det finns ingen lista för riskklass 1 i föreskriften. Riskklass 1 motsvarar mikroorganismer som inte orsakar sjukdom hos friska människor (icke-patogena). Om en mikroorganism som man ska arbeta med inte finns med i listan över riskklass 2, 3 och 4 kan man dock inte anta att den tillhör riskklass 1 eftersom alla smittämnen inte är listade. En bedömning måste göras utifrån mikroorganismens egenskaper. Folkhälsomyndighetens webbsida [Riskklasser](#) ger några exempel på bakterier i olika riskklasser.

För att bedöma riskklass behöver man ta fram information om organismen. Ett sätt är att söka med det latinska namnet efter information på webbplatsen www.ATTC.org. Där anges

BioSafetyLevel (BSL) som egentligen bäst motsvarar vilken skyddsnivå arbete med organismen kräver (se avsnitt 3.2 Anmälningsskyldighet för viss typ av mikrobiologiskt arbete) men det ger en fingervisning om riskklass. Olika bakteriestammar av samma art kan ha olika BSL. Om det uppstår osäkerhet om det är BSL 1 eller 2 ska den högre riskklassen väljas. (Det finns ingen motsvarande svensk resurs att söka i förutom det som listas i AFS 2018:4.)

Vi avråder bestämt från avsiktlig användning av mikroorganismer från riskklass 2 i skolan. Arbete med smittämnen i riskklass 3 och 4 är förbjudet i skolan.

3.2 Anmälningsskyldighet för viss typ av mikrobiologiskt arbete

För arbete med mikroorganismer i riskklass 1 krävs ingen anmälan av verksamheten till Arbetsmiljöverket. Inte heller för så kallade primära odlingar, där man enbart odlar upp, försluter odlingen och sedan på ett säkert sätt hanterar avfallet. Läs mer om säker avfallshantering i avsnitt 7. Avfallshantering. Däremot krävs anmälan av verksamheten om det omfattar arbete med sekundära odlingar (d.v.s. att man ympar om eller hanterar odlingarna på annat sätt) med smittämnen i riskklass 2. Arbete med smittämnen i riskklass 2 är endast tillåtet för minderåriga i undervisning om rätt skyddsåtgärder vidtas (se 3.3 Skyddsnivåer). Anmälan av verksamheten till Arbetsmiljöverket ska göras minst 30 dagar innan den första gången som arbetet ska genomföras. Vi avråder dock från avsiktlig användning av mikroorganismer från riskklass 2 i skolan.

Vid odling av okända mikroorganismer ska man utgå från att de kan tillhöra en högre riskklass och därmed får man **inte** ympa om eller vidare behandla en sådan odling på något sätt i skolan.

3.2.1 Anmälningsskyldighet för arbete med GMM

All innesluten användning av GMM ska anmälas till Arbetsmiljöverket utom de användningar som är undantagna enligt 3§ SFS 2000:271. Ansvar för att avgöra om det krävs anmälan eller ej faller på den som bedriver verksamheten. Att bedriva verksamhet som är anmälningsskyldig utan anmälan är straffbart. Verksamhetsutövaren (arbetsgivaren i arbetsmiljölagstiftningen, d.v.s. kommunen eller privata skolor) ska tilldela rektor (skolledningen) uppgifter för systematiskt arbetsmiljöarbete och egenkontroll enligt Miljöbalken. Skolledningen ansvarar för att riskvärderingen görs av kompetent personal och att relevanta skyddsåtgärder vidtas. För mer information, se [Frågor med svar på Arbetsmiljöverkets webbsida](#).

3.2.2 Olika nivåer på GMM-verksamheter

Man skiljer på ansökan om *tillstånd* respektive *anmälan* av en GMM-verksamhet. GMM-verksamheter delas in i F-, L- och R-verksamheter:

- F-verksamhet: innesluten användning av genetiskt modifierade mikroorganismer med försumbar eller ingen risk för skador på människors hälsa eller miljön,
- L-verksamhet: innesluten användning av genetiskt modifierade mikroorganismer med låg risk för skador på människors hälsa eller miljön,
- R-verksamhet: innesluten användning av genetiskt modifierade mikroorganismer med måttlig eller hög risk för skador på människors hälsa eller miljön

För F- och L-verksamheter gäller anmälningsskyldighet medan R-verksamheter måste ansöka om tillstånd. För skolan är det aktuellt att anmäla sin GMM-verksamhet som en så kallad F-verksamhet.

3.2.3 Undantag från anmälningsskyldighet för arbete med GMM

Om mikroorganismer modifieras genetiskt genom s.k. *självkloning* krävs ingen anmälan till Arbetsmiljöverket förutsatt att det är osannolikt att mikroorganismen är skadlig för människors hälsa eller miljön. Självkloning innebär att nukleinsyra först tas ut från en organism varpå hela eller delar av nukleinsyran sätts tillbaka igen i samma organism utan att några "främmande" gener tillförs. Endast vektorer som under lång tid visat sig vara säkra ska användas. Ett exempel skulle kunna vara självkloning i *Escherichia coli* stam K12 (*E.coli* K12) i de fall då garanterat ofarliga GMM bildas.

En kommentar till detta är att i de fall då de GMM som bildas bär på resistensgener mot antibiotika och att man använder antibiotika i odlingsmedier räknas de inte som garanterat ofarliga. Var alltså noga med att ta reda på ifall det ingår resistensgener och antibiotika i de laborationer med GMM som du funderar på att använda i skolan.

Även om en användning av GMM är undantaget från anmälan gäller att användningen måste riskbedömas och att GMM inte får släppas ut i miljön.

3.2.4 Hur man gör en F-anmälan för laboration med GMM

På webbsidan [Anmälan och tillstånd för GMM-verksamhet - Arbetsmiljöverket](#) finns länkar till hur man gör anmälan för en F-verksamhet. Innan anmälan görs av en F-verksamhet ska man utreda och bedöma risker. Du ska anmäla F-verksamheten till Arbetsmiljöverket innan ni börjar laborera med GMM. Grunden i en anmälan är att en ordentlig riskbedömning har gjorts. Se avsnitt 4.

3.2.5 Sammanfattning av rutiner för arbete med GMM i skolan

För arbete med GMM i skolan gäller specifikt:

1. Rektor ansvarar för att behörig, kompetent personal (avancerad kompetensnivå) utses att ansvara för riskbedömningen av verksamheten och utformning av eventuell anmälan om arbete med GMM, samt att ha ansvar för genomförandet av den praktiska verksamheten.
2. Arbete med GMM får inte utföras av lärare utan tillräcklig kunskap om arbete med mikroorganismer, samt om arbete med GMM. Detta inkluderar odling och ansvar för förvaring av GMM, samt handledning i samband med laborationer.
3. Det är viktigt att veta att GMM som används inte har förändrats eller kontaminerats. För att undvika kontaminationer och förändringar, börja alltid med att odla bakterierna från den behållare som bakterierna ursprungligen levererades i till skolan. Undvik att göra upprepade renutstryk.
4. Dokumentationen av riskbedömningar enligt AFS 2011:2 ska kunna visas upp vid begäran från Arbetsmiljöverket, som har ansvar för inspektioner. En sådan riskbedömning ska uppfylla kraven enligt både arbetsmiljö- och miljölagstiftningen. Anvisningarna för riskbedömda laborationer måste följas noggrant.
5. GMM ska förvaras säkert enligt riskbedömningen.
6. Skolan ska antingen ha avtal för omhändertagande av riskavfall eller en autoklav som ska användas för destruktion av odlingar med GMM. Material som varit i kontakt med GMM ska dekontamineras i autoklav innan det diskas eller kastas.
7. Den enskilda skolan ska utarbeta rutiner för att förhindra exponering för GMM, samt för åtgärder vid spill, olycka och tillbud.
8. Speciell uppmärksamhet ska iakttas vid hantering av GMM med resistensgener för antibiotika. Sådana mikroorganismer som har resistens mot antibiotika som används vid behandling av sjukdomar ska inte användas.
9. Riskbedömningen av själva laborationen ska ingå som en del i den samlade riskbedömningen som ska göras av den enskilda skolan. Det är inte säkert att kit med GMM, som är kommersiellt tillgängliga och avsedda för skolan, kan undantas från anmälan.

3.3 Skyddsnivåer

I en riskbedömning för arbete med mikroorganismer ska det framgå vilken skyddsnivå som arbetet ska bedrivas på. En viss skyddsnivå beskriver en uppsättning av skyddsåtgärder som är anpassad för arbete med smittämnen med likartade risker. Folkhälsomyndighetens webbsida

[Skyddsåtgärder](#) beskriver på ett tydligt sätt vad de olika skyddsnivåerna innebär i praktiken. För oss i skolan är det relevant att jämföra skyddsnivå 1 och 2. Om man i en riskbedömning inte tydligt kan visa vilken skyddsnivå som behövs och allvarlig hälsorisk inte kan uteslutas, ska arbetet bedrivas på minst skyddsnivå 3, något som är orimligt att uppfylla i en normal skolmiljö och ska därför inte förekomma. För att underlätta bedömningen beskriver vi i följande avsnitt, 4. Kompetensnivåer, tre nivåer av arbete som inkluderar både lärare och elevers kompetens av vad som är lämpligt i arbete med mikroorganismer i skolan (se även tabell med exempel på laborationer i slutet av detta dokument).

Skyddsnivå 1 kan motsvara en normal laborationslokal med tillgång till rinnande vatten för handtvätt och bänkar som lätt går att rengöra. Skyddsnivå 2 kräver en laborationslokal med skylt för smittrisk under den period som mikrobiologiskt arbete pågår i lokalen. Endast personer med lämplig skyddsklädsel och som fått information om riskerna får komma in i lokalen. I skolan där laborationslokaler ofta används av många elever och lärare är det därför viktigt att salen noga rengörs efter mikrobiologiskt arbete, och om möjligt endast används av de som har kunskap om Skyddsnivå 2 under tiden det mikrobiologiska arbetet utförs.

Skyddsnivå 2 innebär krav på säker hantering av mikrobiologiskt avfall som kan innehålla potentiella smittämnen. Antingen kan man uppnå det med tillgång till autoklav eller genom att man avdödar odlingar med bakteriedödande medel (se avsnitt 7. Avfallshantering). Alternativt beställer man tjänsten Riskavfall från ett företag som hanterar den typen av avfall.

Mikrobiologiska säkerhetsbänkar ökar säkerheten när man jobbar med öppna odlingar där det finns risk för att smittämnen sprids till luften, men om man undviker sådana riskmoment behövs i regel ingen säkerhetsbänk.

4. Kompetens och förutsättningar för mikrobiologiskt arbete

Nedan beskrivs indelning i tre kompetensnivåer som Nationellt resurscentrum för biologiundervisning har tagit fram för lärare och elever som en hjälp för skolläring och enskilda lärare att bedöma vilken typ av arbete med mikroorganismer som är lämpligt att genomföra. Även en beskrivning av krav på lokaler anges. För exempel på laborationer på respektive nivå, se tabell 1.

4.1 Basnivå

Arbete med organismer som innebär en mycket liten eller ingen känd risk. Arbetet kan utföras av lärare utan särskild träning i mikrobiologiskt arbete. Arbetet kan utföras i klassrum med närhet till vatten och möjlighet att tvätta händerna. Lämpliga organismer att arbeta med är mikroorganismer som används för matproduktion t.ex. jäst, samt bakterier som används för yoghurttillverkning.

4.2 Mellannivå

Arbete som kan utföras av naturvetenskapligt utbildade lärare med en kort, enklare utbildning i att hantera mikroorganismer och som arbetar med elever från och med skolår 6. Arbetet utförs lämpligen i en laborationssal med tillgång till rinnande vatten för handtvätt och bänkytor som tål desinfektion (skyddsnivå 1). Arbete kan utföras som kan medföra viss risk för att skadliga mikroorganismer odlas upp, men där risken minimeras genom ett genomtänkt val av organismer, miljö varifrån organismerna hämtas samt inkubering/uppodling vid max 25° C, för att undvika att patogena organismer gynnas.

Organismer från riskklass 1 kan användas under förutsättning att stammarna inte hålls i kontinuerlig odling och omympas. Om möjligt ska organismer med avvikande miljökrav som hög salthalt, lågt pH eller låg temperatur väljas. Medier med lågt pH eller hög salthalt selekterar för bakterier med speciella miljökrav och hämmar tillväxt av andra bakterier. En extrem miljö är dock ingen fullständig garanti för att undvika patogena bakterier. Exempelvis kan *Staphylococcus aureus* som är en vanlig bakterie som kan orsaka infektioner, oavsiktligt selekteras fram i medium med hög salthalt.

Organismer kan odlas upp från olika miljöer i omgivningen, men man ska undvika platser där det eventuellt förekommer skadliga mikroorganismer. Toaletsitsar eller andra ytor i hygienutrymmen är olämpligt. Det är även olämpligt att odla upp mikroorganismer från andra kroppsytor än fingrar/händer eftersom risken för uppodling av sjukdomsframkallande mikroorganismer då blir större. **Kulturer med okända mikroorganismer försluts säkert före inkubation och får sedan inte öppnas mer.**

Odling av organismer kan ske på agarmedier eller motsvarande flytande medier som har en enkel sammansättning av näringsämnen. Medier som selekterar för organismer som är potentiellt patogena för människan, exempelvis blodagar ska inte användas. Organismerna odlas alltid i slutna kärl, dock ej syrefritt.

4.3 Avancerad nivå

Laborationer på avancerad nivå innebär ofta mer krävande metoder. Lärare ska ha goda praktiska och teoretiska kunskaper om bakterier och sterilteknik. Eleverna ska ha nått gymnasienivå. Mikrobiologiskt arbete på avancerad nivå kräver en institution med lämplig utrustning.

Arbete som innebär att kända svampar och bakterier från riskklass 1 ympas om och hålls i odling kan utföras. Det är viktigt att kunna arbeta säkert så att inte odlingar kontamineras och okända mikroorganismer av misstag odlas upp.

5. God mikrobiologisk praxis

God mikrobiologisk praxis innebär ett arbetssätt som går ut på att undvika spridning och exponering för smittämnen. Fler praktiska tips hittar du i *Material och arbetsmetoder vid mikrobiologiskt arbete* på Bioresurs webbsida. Innan en laboration genomförs ska en riskbedömning göras.

5.1 Praktiska anvisningar vid mikrobiologiskt arbete

1. Bänkytorna i laborationssalen ska vara resistent mot vatten, syror, alkalier, lösningsmedel, desinfektionsmedel och vara lätta att rengöra.
2. Laborationsrockar och förkläden skall användas inom men inte utanför arbetsområdet.
3. Undvik ringar, armband, löst hängande hår och annat som kan försvåra god hygien och bidra till smittspridning.
4. Handtvättanordningar ska finnas i laborationssalen. Tvätta händerna med flytande tvål och torka med engångshanddukar. Använd vid behov desinfektionsmedel före och efter arbete med mikroorganismer. Desinfektionsmedel som innehåller glycerin kan inköpas som förhindrar uttorkning av huden. (Mikroorganismer kan tillväxa i vissa desinfektionsmedel och tvålar. Det är därför lämpligt att använda en typ av förpackningar som inte släpper in luft utan faller ihop allteftersom de töms.)
5. Använd utskrivna instruktioner på papper (som kastas efter genomförd laboration) för att undvika handhavande av dator/mobil vid mikrobiologiskt arbete.
6. Det är viktigt att inte utsätta sig för risker genom att få in mikroorganismer i mun och ögon, d.v.s. att inte munpipettera, undvika att beröra ansiktet, snusa, dricka eller äta i samband med mikrobiologiskt arbete.
7. Arbetsbänkens yta desinficeras med 70 % etanol. Håll god ordning på arbetsplatsen och var renlig.
8. Se till att medier och odlingskärl är steriliserade innan uppodling av mikroorganismer sker. (Arbetsmiljöverket har bestämmelser för tryckkärl.) Om autoklavering används, var noga med att iaktta de säkerhetsregler som gäller vid autoklavering och överlåt inte autoklavering till elever. Glasvaror kan steriliseras i torr värme vid 160°C i två timmar. Kärlets öppningar täcks med t.ex. aluminiumfolie inför steriliseringen.

9. Ympnålar med metallögla steriliseras genom glödning i gaslåga.
10. Racklor doppas i 95 % etanol och antänds. Vid flambering av t.ex. en rackla är risken stor att spritlösningen som racklan doppas i antänds. Detta kan inträffa om racklan är alltför varm när den doppas i spritlösningen. Se till att det finns ett lock till kärlet med sprit som kan användas för att kväva elden. Var noga med att spritlösning/desinfektionsmedel inte står i närheten av brännaren. (Se 5.1.14 för säkerhetsrisk i samband med flambering.)
11. Använd slutna kärl vid arbete med kulturer av mikroorganismer.
12. Undvik bildning och spridning av aerosoler, spill och stänk. T.ex. skall medier i pulverform hanteras i dragskåp om det finns risk för att inandas luftburna partiklar.
13. Rutiner för hantering av spill, olycka/tillbud skall finnas. Utspillda bakteriesuspensioner torkas upp med papper som sedan destrueras och eftertorkas med 70 % etanollösning eller med Virkon (Jodopax får inte användas för ytdesinfektion). Observera att alla bakterier inte avdödas med etanol, och exempelvis bakteriesporer kan vara mycket svåra att avdöda.
14. Vid odling av sporbildande mögelsvampar är spridningsrisken stor och det är viktigt att vidta särskilda åtgärder mot spridning av sporer, t.ex. genom att förvara odlingar inneslutet i plastpåsar eller burkar med skruvlock.
15. Rutiner för hantering av avfall skall finnas. Se avsnitt 7. Avfallshantering.

6. Organismer; odlingsförhållanden och avläsning

6.1 Rekommenderade organismer

Mikroorganismer som hör till riskklass 1 är lämpliga att använda i skolan, se följande exempel.

- *Bacillus megaterium*
- *Bacillus subtilis*
- *Escherichia coli* K12
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Micrococcus luteus*
- *Saccharomyces cerevisiae*
- Arkéer, t.ex. *Halobacterium sp*
- Cyanobakterier t ex *Spirulina sp*, *Nostoc sp*.

Mikroorganismer från riskklass 2 kan användas i skolan enligt föreskrifterna AFS 2012:3 samt tillägg AFS 2018:8. Men arbete med mikroorganismer från riskklass 2 ska anmälas till Arbetsmiljöverket, läs mer om detta i avsnitt 3.2. Anmälningsplikt, för viss typ av mikrobiologiskt arbete. Vi avråder från avsiktlig användning av mikroorganismer från riskklass 2 i skolan.

6.2 Inköp av organismer

Organismer som köps in till en skola ska komma från en pålitlig källa, t.ex. företag som saluför mikroorganismer eller mikrobiologisk institution. En dokumentation och riskbedömning ska medfölja organismen. Alternativt görs riskbedömningen på skolan av någon som har tillräckliga kunskaper.

6.3 Förvaring av organismer och medier

Bakterier kan förvaras infrysta i ca -20°C. Infrysning av en bakteriekultur kan göras i t.ex. ependorfrör i en blandning av 50 % glycerol och 50 % bakteriesuspension. Bakterier kan också

förvaras i kylskåp på snedagarrör med åtskruvat skruvlock alternativt som utstryk på plattor. Bakterier som på detta sätt förvaras i kylskåp ska omympas minst var tredje månad och odlingarna kontrolleras så de inte blir kontaminerade. Bakterier ska inte förvaras i kylskåp som innehåller livsmedel. En ytterligare möjlighet är att använda skruvlocksror där bakterier kan överleva under lång tid genom instick i djupagar. Det är lämpligt att göra i ordning ett flertal renkulturer samtidigt och hämta bakterier från en ny renkultur varje gång som en uppodling inför elevförsök ska göras.

Medier kan förvaras i tillslutna flaskor i rumstemperatur. Kontrollera att mediet inte infekterats. Agarplattor förvaras i plastpåsar i kylskåp.

6.4 Inkubering och avläsning

Inkubering ska göras så att elever inte på egen hand kan komma åt odlingarna under och efter inkuberingen. Helst ska inkuberingen ske på annat ställe än i klassrummet. Vid odling på agarplattor förslut gärna lock med botten med två tejpremsor på vardera sida av petriskålen innan inkuberingen. Om man försluter helt med tejp runt om finns risk för kondensbildning vilket förstör odlingarna.

Innan avläsning av agarplattor, framförallt vid avläsning av odlingar av *okända* mikroorganismer, ska plattorna förslutas med tejp eller parafilm så att eleverna inte kan öppna dem.

Om du odlar i flytande kultur är det viktigt att tänka på att flambra av mynningen till röret eller e-kolven varje gång det täckande locket/folien tas av.

6.5 Ympning

Vid ympning av en större volym flytande kultur ska ca 20 % av den totala odlingsvolymen tillföras i form av en aktivt tillväxande kultur. Ett sådant förfarande innebär att eventuella skadliga mikroorganismer kan konkurreras ut av den stora massan önskade organismer.

7. Avfallshantering

Det är inte nödvändigt att avdöda kulturer med kända mikroorganismer från riskklass 1 innan de kastas, eller att desinficera sådant material som varit i kontakt med organismer från riskklass 1. Agarplattor med kända klass-1-organismer samt engångsutrustning kan läggas i dubbla plastpåsar som försluts och sedan kastas i brännbart avfall. Glasvaror som varit i kontakt med organismer från riskklass 1 kan diskas och sköljas som vanligt.

Enklare odlingsförsök av svamp på toalettrullar eller liknande kan förslutas och kastas som brännbart avfall. Enklare försök med möjligt bröd eller frukt i slutna kärl eller påsar kan också kastas som brännbart avfall.

Lösningar med mikroorganismer från riskklass 1 kan sköljas ut i avloppet, så länge det handlar om mindre volymer.

Plattor som innehåller okända bakterier bör sorteras som riskavfall eller avdödas i autoklav innan de slängs som brännbart avfall. En vanlig laboration i skolan är att odla upp mikroorganismer från omgivningen och ett alternativ för dessa agarplattor är att lägga de väl förslutna plattorna i dubbla plastpåsar, försluta påsarna och lägga som brännbart avfall. Vi rekommenderar *inte* att plattor med okända mikroorganismer öppnas för att avdödas med etanol, virkon eller jodopax.

Plattor som odlats med riskklass 2-bakterier (anmälningspliktiga) samt engångsutrustning som använts ska kastas väl förslutna plastpåsar i riskavfall (om skolan har ett avtal för omhändertagande av riskavfall) eller avdödas med autoklav för att sedan kastas i brännbart avfall. Alla kärl och övrig utrustning som varit i kontakt med bakterierna ska autoklaveras.

Agarplattor med bakterier från GMM-laborationer och annat material som varit i kontakt med GMM ska kastas i riskavfall eller avdödas genom autoklavering. Efter autoklavering kastas materialet i brännbart avfall. Allt material som varit i kontakt med eller innehåller antibiotika (rör/pipettspetsar/lösningar/ e.t.c.) behandlas som riskavfall eller destrueras genom autoklavering och går till förbränning. Överblivna rena antibiotika ska hanteras som läkeme-

delsavfall enligt tillverkarens instruktioner. Läs mer om detta i stycke 8.2 Avfallshantering vid användning av antibiotika. Det kan även finnas andra risker än GMM och antibiotika med avfallet som måste beaktas, exempelvis andra kemikalier eller stickande/skärande.

8. Användning av antibiotika vid laborationer i skolan

Det är nödvändigt att användningen av antibiotika i samhället minskas. Det är därför angeläget att skolan i samband med laborationer med mikroorganismer också undervisar om problematiken med antibiotikaresistens. Laborationer då antibiotika används kan fylla ett pedagogiskt syfte men givet att skolan är restriktiv med antibiotikaanvändningen och hantear avfallet korrekt. Stora volymer av flytande vätskor med antibiotika ska undvikas, samt att antibiotika hålls ut i avloppet. Antibiotika som används på agarplattor kan autoklaveras och slängas i brännbart (se undantag i stycke 8.2 Avfallshantering).

I GMM-laborationer används ofta antibiotika för att selektera fram mikroorganismer som blivit modifierade. Läs noga de manualer som följer med kit för att ta reda på om och isåfall vilka sorters antibiotika som används.

8.1 Val av antibiotika

Antibiotika som används för försök i skolan ska **inte** vara medicinskt relevant, ha kort ekoskugga (d.v.s. den tid som antibiotikan påverkar naturen) och enkelt kunna inaktiveras. Några antibiotika som kan användas vid skollaborationer är beta-laktamer (penicilliner) eftersom de bryts ned fort av bakterier i miljön. Ampicillin är exempelvis ett vanligt val till *E. coli* i kit för transformation av bakterier. Antibiotika som bör undvikas är exempelvis Tetracykliner, Sulfonamider, Fluorokinoloner t.ex. Ciproflaxacin, Kanamycin, Kloramfenikol och Vancomycin av stabilitetsskäl (svåra att inaktivera/förstöra).

Läs mer om bedömning av olika antibiotika och avfallshantering från Uppsala universitet, Linköping universitet och Karolinska institutet:

<https://mp.uu.se/web/info/stod/miljo/avfallshantering/antibiotika>

<https://old.liu.se/medfak/bkv/arbetsmiljo/laboratoriesakerhetshandboken/avfall/laboratorieavfall/cellkulturer-mikroorganismer-nej-smittforande?l=sv>

<https://www.karolinska.se/contentassets/934a6f21baaf4f90869eec6bc7f5137c/ansvisning-for-avfallshantering-gallande-antibiotika-fran-cellkulturer-stab0983-version-3.pdf>

8.2 Avfallshantering vid användning av antibiotika

Agarplattor innehållande bakterier och antibiotika ska kastas väl förslutna i riskavfall eller som alternativ kan plattorna autoklaveras för att på så sätt oskadliggöras och sedan kastas i brännbart avfall. Lösningar av t.ex. Kanamycin, Kloramfenikol, Vancomycin, och Ciprofloxacilin inaktiveras/förstörs inte helt vid autoklivering och kan orsaka problem om de hålls ut. Överbliven ren antibiotika ska hanteras som läkemedelsavfall enligt tillverkarens instruktioner.

Basnivå – exempel på laborationer

Laboration	Risker	Skyddsåtgärder	Mikroorganismer	Destruktion	Kommentar om metod/utrustning
Odling av mögelsvamp.	Inandning av mögelsporer.	Klassrum med tillgång till vatten. Använd glasburkar med lock eller förslutna plastpåsar för att förhindra att sporer från fruktkroppar sprids.	En blandning av arter (exempelvis kulmögel, släkte <i>Mucor</i>).	Förslut avfall i plastpåsar för att undvika att mögelsporer sprids.	Mögelsvampar odlas på material där de växer naturligt, exempelvis bröd eller frukt.
Mikroorganismer i yoghurt.	Risken med att odla upp oönskade bakterier är mycket liten.	Klassrum med tillgång till vatten. Om du vill smaka eller äta yogurten måste den ha tillverkats i ett kök.	Mjölksyrabakterier är ett samlingsnamn för bakterier som bildar mjölksyra (exempel på arter: <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>)	Sköljs ut i vask eller kastas i brännbart avfall.	Mikroorganismer odlas på material där de växer naturligt exempelvis mjölk, ost och yoghurt.
Laborationer med jäst.	Inga kända risker.	Klassrum med tillgång till vatten.	Bagerijäst är en encellig sporsäcksvamp av arten <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	Sköljs ut i vask eller kastas i brännbart avfall.	I vildjäst som kan odlas upp från frukter och bär kan det ingå många olika jästsvamparter.
Höinfusion.	Inandning av mögelsporer.	Placera i dragskåp för att förhindra lukt och spridning av mögelsporer.	En blandning av arter (exempelvis hjuldjur (<i>Rotifera</i>), toffeldjur (<i>Paramecium</i>), ögondjur (<i>Euglena</i>), amöbor (<i>Amoeba</i>)).	Vätskan kan sköljas ut i vask och växtmateriallet kan kastas i brännbart avfall.	Tillgång till ljusmikroskop för att studera mikroorganismer.

Mellanivå – exempel på laborationer

Laboration	Risker	Skyddsåtgärder	Mikroorganismer	Destruktion	Kommentar om metod/utrustning
Mikroorganismer i vår omgivning.	Okända och möjligtvis patogena bakterier kan odlas upp.	Genomförs i laborationssal. Plattor tejpas igen och får ej öppnas efter inkubering. Okända mikroorganismer får varken omympas, renodlas eller hållas i kontinuerlig odling.	En blandning av mikroorganismer som hämtas exempelvis från fingrar/händer eller ytor i omgivningen.	Lägg igentejpade plattor i dubbla plastpåsar som försluts och sorteras som brännbart avfall.	Sterila agarplattor: OBS! Provtagning får ej utföras på toaletter/hygenutrymmen med anledning av en ökad risk för förekomst av patogena mikroorganismer.
Jordbakterier på morötter.	Okända mikroorganismer kan eventuellt odlas upp. Brännskador av kokande vatten.	Genomförs i laborationssal. Petriskålar ska ej öppnas efter inkubering. Försiktighet iakttas i samband med kokande vatten.	Främst jordbakterier från släktet <i>Bacillus</i> .	Petriskålar kan slängas igentejpade i brännbart avfall.	Kokplattor/kokkärl. Skålar med lock för inkubering.
Odling av mikroorganismer i Winogradskykolonn.	Okända mikroorganismer odlas i en anaerob miljö (syrefri), viss risk för patogena arter.	Odlingen hålls stängd när eleverna hanterar den.	En blandning av olika arter förekommer i olika skikt i kolonnen (exempelvis svavelbakterier, purpurbakterier, cyanobakterier, alger)	Kolonnerna kan tömmas utomhus på lämplig plats (de luktar förmodligen illa).	Prov inhämtas från strandkant. Extra belysning behövs. Tar lång tid (veckor) för att se resultat.
Försök med <i>Halobacterium</i> .	Låg risk för patogena mikroorganismer i det salta mediet.	Genomförs i laborationssal.	<i>Halobacterium</i> sp. NRC-1 tillhör organismgruppen arkéer.	Plattor samt material som är i kontakt med mikroorganismer slängs förslutna i plastpåsar och kastas i brännbart avfall. Flytande kulturer kan sköjas ut i avloppet.	Saltmedium i fast eller flytande form behöver tillverkas. Kraven på sterila förhållanden är inte lika höga som i arbete med andra mikroorganismer.

Avancerad nivå – exempel på laborationer

Laboration	Risker	Skyddsåtgärder	Mikroorganismer	Destruktion	Kommentar om metod/utrustning
Test av antibakteriella ämnen inklusive svampmycel från jord.	Okända mikroorganismer kan eventuellt odlas upp.	Genomförs i laborationssal. Öppna ej plattor efter inkubering. Okända mikroorganismer får ej hållas i kontinuerlig odling eller omypas.	Riskklass 1-organismer (förlagsvis <i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> K12, <i>Micrococcus luteus</i>).	Plattor samt material som är i kontakt med mikroorganismer slängs förslutna i plastpåsar och kastas i brännbart avfall.	Sterilteknik. Utstryk av bakterier på sterila agarplattor.
Färgning (Gramfärgning) av bakterier.	Hantering av mikroorganismer i samband med färgning. Hälsokadliga och brandfarliga kemikalier ingår i färglösningar. Risk för brännskador vid upphettning.	Genomförs i laborationssal. Extra viktigt med skyddsglasögon. Arbete i dragskåp. Använd färdigblandade färglösningar. Iaktta försiktighet i samband med att brännare används. Ett alternativ till brännare kan vara kokplatta. Använd provrörshållare eller degeltång vid upphettning av objektglas.	Riskklass 1-organismer (förlagsvis <i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> K12, <i>Micrococcus luteus</i>).	Plattor samt material som är i kontakt med mikroorganismer slängs i förslutna plastpåsar i brännbart avfall. Efter färgningen är mikroorganismerna döda. Objektglaset kan kastas i glaskross. OBS! Vissa färgämnen får ej sköljas ut i avloppet utan ska samlas upp. Papper som suger upp avsköljd färg kan slängas i brännbart.	Sterilteknik. Färdigblandade färglösningar behöver köpas in. Brännare eller kokplatta. Dragskåp. Kärlningar för uppsamling av färglösningar. Gärna mikroskop med x100-okular (x1000 förstoring, immersionsojja).
Antalet bakterier i ProViva	Risk för att önskade och patogena bakterier odlas upp är liten, men måste beaktas.	Genomförs i laborationssal. Använd nytt paket ProViva inför varje laborationstillfälle.	<i>Lactobacillus plantarum</i> 299v.	Plattor samt material som är i kontakt med mikroorganismer kan slängas förslutna i plastpåsar och kastas i brännbart avfall.	Utstryk av bakterier på sterila agarplattor. Sterilteknik. Spädningsserie.
Odling av bakterier i livsmedel, från vatten eller jord.	Okända och möjligtvis patogena bakterier odlas upp av släkten som <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> och <i>Stafylococcus</i> .	Tejpa igen plattor och öppna inte plattorna efter inkubering. Renodla inte bakterier från de uppodlade plattorna.	En blandning av olika bakterier kan odlas upp.	Lägg igentepade plattor i en plastpåse som försluts och sorteras som brännbart avfall.	Utstryk av bakterier på sterila agarplattor. Sterilteknik. Eventuellt spädningsserie.

Avancerad nivå – exempel på laborationer

Laboration	Risker	Skyddsåtgärder	Mikroorganismer	Destruktion	Kommentar om metod/utrustning
Resistensbestämning av bakterier, diffusionslappar med antibiotika.	Användning av antibiotika ska ske restriktivt för att förhindra problem med utveckling av antibiotikaresistens.	Genomförs i laborationssal. Plattor tejpas igen och får ej öppnas efter inkuberingen. Se föreskrifter för hantering av antibiotikaavfall i säkerhetsanvisningarna.	Riskklass 1-organismer (förlagsvis <i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> K12, <i>Micrococcus luteus</i>)	Plattor samt material som är i kontakt med mikroorganismer kan slängas förslutna i plastpåsar och kastas i brännbart avfall. Antibiotika (diffusionslappar) kastas med plattorna förslutet i plastpåsar. Läs mer om hantering av antibiotika i säkerhetsanvisningarna.	Utstryk av bakterier på sterila agarplattor. Diffusionslappar med antibiotika behövs köpas in. Skjutmått för avläsning av hämningszoner.
Transformation av <i>E.coli</i> med kit, exempelvis pGLO (Bio-Rad) eller GFP (Edvotek).	Spridning av genetiskt modifierade organismer med gener för antibiotikaresistens. Ampicillin används i dessa kit.	Genomförs i laborationssal som uppnår krav enligt skydds nivå 1. F-anmälan av verksamheten ska göras till Arbetsmiljöverket.	Genmodifiering av riskklass 1-mikroorganismer (<i>E.coli</i>).	Odlingar samt material som är i kontakt med mikroorganismer ska kastas som riskavfall eller avödas genom autoklavering och slängas väl förslutna i plastpåsar och kastas i brännbart avfall.	Utstryk av bakterier på sterila agarplattor. Sterilteknik. Avläsning med UV-ljus när produkter av GFP-gen studeras (GFP-protein).