

HAVARIJNÝ PLÁN
pre činnosti s GMO zatriedených do rizikovej triedy 2
(podľa §10 vyhlášky MŽP SR č. 274/2019 Z.z.)

ods. 1)

a) identifikačné údaje o používateľovi:

Biomedicínske centrum SAV, v. v. i.
IČO: 50073869
DIČ: SK2120169865
Dúbravská cesta 9
845 05 Bratislava

štatutárny orgán: prof. RNDr. Silvia Pastoreková, DrSc.
generálna riaditeľka BMC SAV, v. v. i.
e-mail: riaditel.bmc@savba.sk

b) identifikačné údaje o zariadení, v ktorom sa nachádzajú uzavreté priestory:

Virologický ústav (VÚ)
Biomedicínske centrum SAV, v. v. i.
Dúbravská cesta 9
845 05 Bratislava

c) identifikačné údaje o orgánoch a osobách určených na odstraňovanie následkov havárie, na zabezpečenie zdravotnej starostlivosti pre osoby postihnuté haváriou a na ich dezinfekciu:

Hlásenie v rámci organizácie

Zamestnanec, ktorý zistí únik GMO alebo má podozrenie, že došlo k ich úniku, ohlásí túto skutočnosť osobne alebo telefonicky svojmu nadriadenému alebo jeho zástupcovi a následne podľa závažnosti ďalším vedúcim zamestnancom uvedeným v tabuľke. Menovaní sa urýchlene dostavia na miesto havárie.

| Funkcia (pracovisko) | Meno | Telefón | Pozn. |
|---|---|--------------------------------|------------------|
| Generálna riaditeľka BMC SAV, v. v. i. | prof. RNDr. Silvia Pastoreková, DrSc. | 02/59302 405 | podľa závažnosti |
| Bezpečnostný technik, zodpovedný za BOZP s biologickými faktormi | Ing. Csaba Kosa, PhD. | 02/32295 016 | |
| Zodpovedný za prácu s GMO/ vedúci projektu | RNDr. Ingeborg Režuchová, PhD. / Mgr. Marco Antonio Quevedo Diaz, PhD. | 02/59302 439 / 02/59302 430 | vždy |
| Riadiaci práce s nebezpečnými chemickými faktormi | Ing. Csaba Kosa, PhD. | 02/32295 016 | |

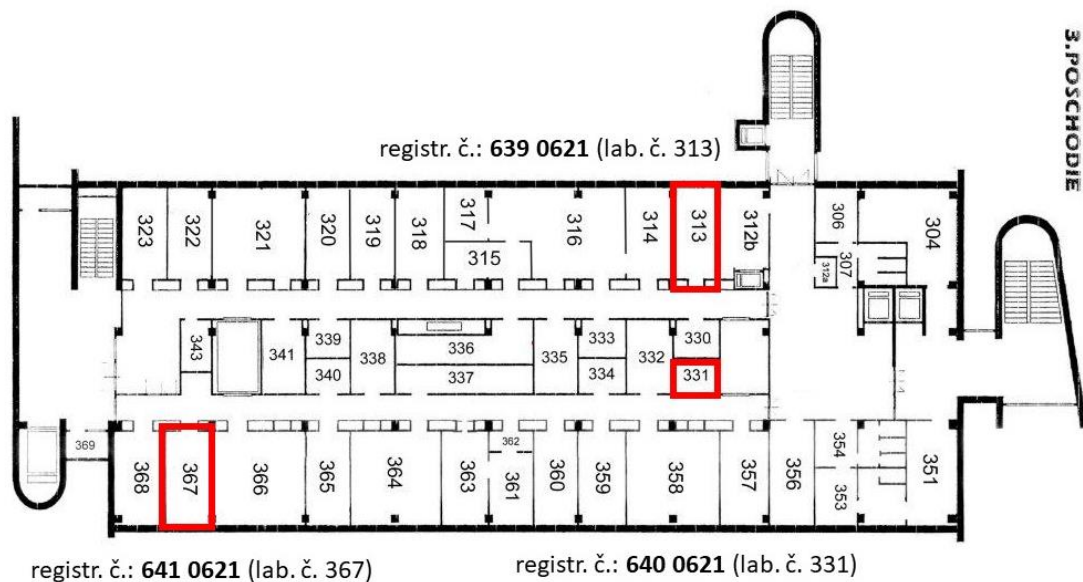
Hlásenie mimo organizácie

Vedúci zamestnanec riadiaci práce s nebezpečnými chemickými faktormi a vedúci zamestnanec pre príslušné pracovisko ohlásia podľa závažnosti haváriu záchranným službám, orgánom životného prostredia a civilnej ochrany.

| Záchranne služby, orgány verejného zdravotníctva | Telefón | Pozn. |
|---|--------------------------------------|-------|
| Záchranná zdravotná služba | 155, 112 | |
| MUDr. D. Gajdošová, lekár v areáli SAV, Dúbravská cesta 9, Bratislava | +421 2 5477 2559 | |
| Regionálny úrad verejného zdravotníctva Bratislava / www.ruvzba.sk | +421 2 4333 8286 +421 917 426 111 | |
| Úrad verejného zdravotníctva SR / www.uvzsr.sk | +421 2 4928 4111 | |
| Národné toxikologické informačné centrum / www.ntic.sk | +421 2 5477 4166 +421 911 166 066 | |
| Správa účelových zariadení SAV, Dúbravská cesta 9, Bratislava | +421 901 708 276 +421 2 5477 4421 | |
| Hasičský a záchranný zbor | 112 09610 43830 | |
| Polícia | 158, 112 | |
| Okresný úrad BA – odbor životného prostredia | 09610/46 600 0800/222 222 | |
| Okresný úrad BA – odbor krízového riadenia | 09610/46 300 0800/222 222 | |

d) plán zariadenia s vyznačením miest významných pre obmedzenie následkov havárie:
laboratórium č. 367 na 3. poschodí VÚ, reg. č.: 641 0621
miestnosť č. 331 na 3. poschodí VÚ, reg. č.: 640 0621
(evidenčné číslo je pridelené na základe rozhodnutia MŽP SR č. 12638/2020-1.9-PPZ 137, 4851/2021-1.9.-PPZ 137 o udelení súhlasu na prvé použitie uzavretých priestorov)

Budova VÚ, 3. poschodie



- e) údaje o množstve a druhu geneticky modifikovaných organizmov, ktoré môžu uniknúť pri havárii alebo sa neočakávane rozšíriť do prostredia:

| GMO | množstvo |
|--|---|
| <i>E. coli</i> DH5α pET-22b(+)-CBU0307_K6 <i>E. coli</i> DH5α pET-22b(+)-CBU0307_K7 <i>E. coli</i> DH5α pET-22b(+)-CBU0092 <i>E. coli</i> DH5α pET-22b(+)-CBU0937 <i>E. coli</i> BL21DE3 pET-22b(+)-CBU0307_K6 <i>E. coli</i> BL21DE3 pET-22b(+)-CBU0307_K7 <i>E. coli</i> BL21DE3 pET-22b(+)-CBU0092 <i>E. coli</i> BL21DE3 pET-22b(+)-CBU0937 | jednorazovo max. 100 ml tekutej kultúry GMO buniek na experiment |

V uzavretom priestore registr. č.: **641 0621** (laboratórium č. 367) budú bunky *E. coli* DH5α a *E. coli* BL21DE3 transformované DNA plazmidov pET-22b(+)-CBU0307_K6, pET-22b(+)-CBU0307_K7, pET-22b(+)-CBU0092, alebo pET-22b(+)-CBU0937, čím vznikne GMO. GMO *E. coli* DH5α budú použité pomnoženie plazmidov a izoláciu ich DNA. GMO bunky *E. coli* BL21DE3 budú použité na produkciu rekombinantných proteínov, ktorých gény sú naklonované v plazmidových vektoroch. Nepotrebné zvyšky GMO a všetok odpad vznikajúci pri činnosti v uzavretom priestore bude autoklávovaný v uzavretom priestore registr. č. **640 0621** (miestnosť č. 331).

- f) ochranné opatrenia na zabránenie vzniku havárie:

Uzavreté priestory sú zaradené do rizikovej triedy 2 (RT2), príslušný prevádzkový poriadok v zariadení zodpovedá bezpečnostným parametrom RT2. Stavebno-technické zabezpečenie, vnútorné umiestnenie, prevádzkový režim a materiálo-technické vybavenie uzavretých priestorov predstavujú dostatočnú bariéru na zábranu nekontrolovateľného úniku GMO. V uzavretých priestoroch je redukovaný pohyb osôb a uzavreté priestory sú označené.

V uzavretých priestoroch sa používajú genetické technológie, pri ktorých by nemalo dôjsť k neželanému úniku GMO do prostredia. Dôležitý v tomto smere je najmä spôsob likvidácie nepotrebného GMO a zabezpečenie dezinfekcie odpadu, ktorý pri práci s GMO vznikne. Prevádzkové poriadky tento krok riešia tak, aby sa do bežného odpadu, ani kanalizácie nedostali žiadne GMO. Hlavnou zásadou je dôsledná dezinfekcia odpadu autoklávovaním, prípadne chemickými dezinfekčnými prostriedkami, ktoré sú povinnou výbavou laboratórií.

Kontrolné a iné ochranné opatrenia pre laboratóriá

(podľa Prílohy č. 1 k vyhláske č. 274/2019 Z. z.)

| | Popis | Úroveň ochrany - 2 | Ohlasovateľ/Žiadateľ BMC SAV, v. v. i. |
|---|--|------------------------------|--|
| 1 | Laboratórne miestnosti – izolácia ¹⁾ | nevyžaduje sa | samostatná miestnosť |
| 2 | Laboratórium hermeticky uzatvorené na dezinfekciu plynom | nevyžaduje sa | nie |
| Vybavenie (zariadenie laboratória) | | | |
| 3 | Lahko umývateľné povrchy odolné vode, kyselinám, zásadám, rozpúšťadlám, dezinfekčným látkam a dekontaminačným činidlám | vyžaduje sa (pracovné stoly) | lahko umývateľné povrchy odolné vode, kyselinám, zásadám, rozpúšťadlám, dezinfekčným látkam a dekontaminačným činidlám |
| 4 | Vchod do laboratória cez dekontaminačnú miestnosť ²⁾ | nevyžaduje sa | nie |
| 5 | Nižší tlak úmerný tlaku okolitého prostredia | nevyžaduje sa | nie |
| 6 | Odsávaný a vháňaný vzduch do laboratória by mal byť HEPA-filtrovaný | nevyžaduje sa | nie |
| 7 | Aseptický box | voliteľné | áno, uzavretý priestor reg. č. 641 0621 |

| | | | |
|----------------------|---|---------------------------|--|
| 8 | Autokláv | v budove | áno, uzavretý priestor reg. č. 640 0621 |
| Systém práce | | | |
| 9 | Zákaz vstupu | vyžaduje sa | áno, označenie zákazu vstupu nepovolaným osobám |
| 10 | Označenie bionebezpečia na dverách | vyžaduje sa | áno, označenie bionebezpečia na dverách |
| 11 | Zvláštne opatrenie na kontrolu aerosólu v ovzduší | vyžaduje sa minimalizovať | minimalizuje sa tvorba aerosólu |
| 12 | Sprcha | nevyžaduje sa | nie |
| 13 | Ochranný odev | vhodný ochranný odev | pracovný plášť, prezuvky |
| 14 | Rukavice | voliteľné | ochranné rukavice |
| 15 | Účinná kontrola vektorov (napr. hlodavcov a hmyzu) | vyžaduje sa | áno, lepiace pasce na hlodavce a hmyz |
| Odpad | | | |
| 16 | Inaktivácia geneticky modifikovaných mikroorganizmov a geneticky modifikovaných organizmov v odpadových vodách z umývadiel na umývanie rúk, sprch a v podobných odpadových vodách | nevyžaduje sa | nie |
| 17 | Inaktivácia geneticky modifikovaných mikroorganizmov a geneticky modifikovaných organizmov v kontaminovanom materiáli a v odpade | vyžaduje sa | Chemická inaktivácia v chloramíne a pod., následne autoklávovaním 30 minút pri 121 °C. Po inaktivácii je odpad likvidovaný v spaľovni. |
| Iné opatrenia | | | |
| 18 | Laboratórium musí mať svoje vlastné vybavenie | nevyžaduje sa | nie |
| 19 | Laboratórium musí mať pozorovacie okienko alebo alternatívne zariadenie tak, že môžu byť prítomní v laboratóriu videní | voliteľné | nie |

1) Izolácia – laboratórium je oddelené od iných miest v budove alebo je v oddelenej budove.

2) Dekontaminačná miestnosť (vstupná hygienická slučka) – vchod musí byť cez dekontaminačnú miestnosť, t. j. komoru izolovanú od laboratória. Čistá strana dekontaminačnej miestnosti musí byť oddelená od zakázanej strany prezliekaňou alebo sprchami, a ak je to možné, blokovacími dverami.

g) opis havárie, ktorá môže vzniknúť v priestoroch alebo na mieste, kde sa používajú genetické technológie a geneticky modifikované organizmy, spolu s odporúčaným spôsobom odstraňovania jej následkov, najmä uvedením metód a prostriedkov na fyzickú likvidáciu geneticky modifikovaných organizmov vo forme scenárov reprezentatívnych druhov havárií:

- Kontaminácia pracovného priestoru – laminárneho boxu geneticky modifikovanými bunkami.

Postup v prípade udalosti:

- Ďalšie šírenie geneticky modifikovaných organizmov sa okamžite eliminuje aplikáciou 70% etanolu, 1 – 5% roztoku chloramínu B alebo 2% roztoku alkalického gluteraldehydu. Laminárny box sa uvedie do režimu dezinfekcie - zapne sa UV svetlo.
- Materiál, ktorý bol v priamom styku s biologickým materiálom (rukavice, utierky, pracovný odev a pod.) sa dekontaminuje 1 – 5% roztokom chloramínu B a zlikviduje v spaľovni. Sklenený materiál sa dekontaminuje 1 – 5% roztokom chloramínu B a následne autoklávuje.
- Prerušiť prácu, kontaktovať vedúceho projektu a zreteľne opísať danú udalosť.
- Zaznamenať všetky technické zlyhania počas práce s geneticky modifikovanými organizmami do prevádzkového denníka.

ods. 2) Scenáre reprezentatívnych druhov havárií

a) plán na ochranu ľudského zdravia a na ochranu životného prostredia pri havárii:

Zamestnanci sú povinní dodržiavať ochranné opatrenia, zásady správnej mikrobiologickej praxe vyplývajúce z platnej legislatívy na úseku GMO, prevádzkový poriadok laboratória, zásady

bezpečnosti práce a protipožiarnej ochrany v infekčnom prostredí. Pravidelne sa zúčastňujú školení bezpečnosti a ochrany zdravia pri práci a požiarnej ochrany a v zmysle termínov stanovených zákonom sa zúčastňujú pravidelných preventívnych lekárskeho prehliadok.

Pre ochranu zdravia a životného prostredia sa pravidelne vykonávajú preventívne dekontaminácie pracovných priestorov (najmä laminárnych boxov) UV svetlom a čistenie laboratórnych stolov dezinfekčnými roztokmi. Okná sú mechanicky zabezpečené pred otvorením. Pri práci s GMO sú odpadom kultivačné médiá, kultivačné nádoby, eppendorfove skúmavky a plastové pipety alebo špice. Médiá a všetky odpady z pracovných priestorov, ktoré prišli do kontaktu s GMO sú sterilizované autoklávaním priamo v zariadení a následne likvidované v zdravotníckej spaľovni. Pri dodržiavaní všetkých ochranných opatrení pri manipulácii s GMO nehrozí pracovníkom ani životnému prostrediu nebezpečenstvo.

b) metódy na izoláciu oblastí postihnutých rozšírením:

Manipulácia s GMO a genetickými technológiami sa bude vykonávať zásadne v laminárnom (aseptickom) boxe umiestnenom v uzavretom priestore. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, prežitie GMO a ich rast mimo laboratórnych podmienok je nepravdepodobný.

V uzavretom priestore je potrebné sa presvedčiť, či sa kontaminant nešíri cez uzavretú oblasť, ďalej postupovať podľa bodu 2 písm. c).

c) metódy na dekontamináciu postihnutých oblastí:

Odporúčaný postup pri neželanom úniku je dôsledná dezinfekcia. Ako dezinfekciu možno použiť 70% alkohol, ktorý je v laboratóriách pripravený aj na tento účel a je vhodný aj na povrchovú dezinfekciu osôb. Na dezinfekciu uzavretého priestoru možno použiť aj iný dezinfekčný prostriedok (5% SAVO – 1 hod., 3% roztok chloramínu B – 30 min, alebo 1% ajatin – 30 min), prípadne zdroj UV žiarenia.

Všetky použité nádoby aj nástroje použité na dekontamináciu je potrebné klasifikovať ako kontaminovaný odpad a následne dezinfikovať tiež pomocou chemických dezinfekčných prostriedkov a/alebo autoklávaním.

Príklady metód na dekontamináciu sú uvedené v nasledovnej tabuľke:

| Úroveň ochrany: 2 | | | |
|----------------------------------|---|---|---|
| Názov bariéry: sklenený materiál | | | |
| č. | Možné úniky | Inaktivačné opatrenia | Preventívne opatrenia |
| 1. | Rozbitá sklenená nádoba v pracovnom priestore (v laminárnom boxe alebo v kultivačnom zariadení) | Po nasadení gumených rukavíc a ochranných okuliarov opatrne pozbierame rozliaty obsah aj s rozbitým sklom do nádoby, kde bude zachytený materiál inaktívovaný 2 % roztokom Chloramínu T/30 min. (70%-ný etanol/30 min.). Rovnako bude inaktívovaný aj ostatný materiál, ktorý prišiel do kontaktu s GMO. Dezinfekčným roztokom dôkladne umyjeme miesto, ktoré bolo postihnuté ako aj náradie použité pri odstraňovaní odpadu. Nádoby s inaktívovaným materiálom (vrátane inaktívovaného ostatného materiálu) a náradie použité pri odstraňovaní sterilizujeme autoklávaním. Pracovný priestor sterilizujeme UV žiarením. Dbáme na zvýšenú opatrnosť pri práci so sklom. V prípade poranenia (porezanie, pichnutie) necháme ranu krváčať tak dlho ako je to možné, potom opláchneme pod tečúcou vodou a následne opláchneme so 70% alkoholom alebo jódovou tinktúrou. V prípade, že boli zasiahnuté oči, ústa a iné, opláchneme ich väčším množstvom vody. Vyhľadáme lekársku pomoc. | Pohotovostná zásoba dezinfekčného činidla a prostriedkov na odstránenie úniku v laboratóriu, laminárnom boxe a v kultivačnom zariadení. Pravidelná kontrola a údržba upevňovacích mechanizmov kultivačných zariadení. Dôkladný výber dodávateľa dostatočne pevných kultivačných nádob. Poučenie pracovníkov o bezpečnej eliminácii úniku. |

| | | | |
|--|---|---|---|
| | | Úraz zapíšeme do knihy úrazov. | |
| Názov bariéry: poškodenie nádob s mikroorganizmami | | | |
| 2. | Únik mikroorganizmov do pracovného prostredia | Postrek priestorov doporučenými dezinfekčnými aerosólovými prostriedkami (Sanosil, Persteril). Priestor uzavrieť na požadovanú dobu podľa druhu dezinfekčného prostriedku. Dôkladná hygienická očista ľudí s odporúčením použitia dezinfekčných saponátov. Ďalší postup ako v bode č.1. | Najmenej 1 – krát ročne postrek priestorov aerosólovými dezinfekčnými prostriedkami. Zvýšená pozornosť pri práci s mikroorganizmy obsahujúcim materiálom. Sterilizácia laboratórií použitím UV žiariča mimo pracovnej doby minimálne 1 krát týždenne. Pravidelná sterilizácia vzduchu v laboratóriu použitím vysokonapäťového filtračného zariadenia. |
| Názov bariéry: plastový materiál | | | |
| 3. | Prasknutý plastový materiál (na jednorazové použitie) | V gumených rukaviciach vložiť plastový materiál do nádoby, kde bude inaktivovaný 2 % roztokom Chloramínu T /30 min. a následne sterilizovaný autoklávaním. Dezinfekčným roztokom dôkladne poumývať postihnuté okolie. | Dôkladná kontrola plastov pred ich použitím. Náležitú pozornosť venovať výberu vhodnosti druhu plastov pre účel použitia. Nepoužívať plasty po záručnej dobe. |
| Názov bariéry: vniknutie vektorov | | | |
| 4. | vniknutie hlodavcov, hmyzu, článkonožcov | Ošetrovanie priestorov insekticídmi (napr. Famid). Ošetrovanie priestorov rodenticídmi a nástrahami. | Pravidelne, najmenej 2 – krát ročne kontrola priestorov, vykonávanie preventívnych ošetrení insekticídmi, nasadenie rodenticídnych nástrah. |

d) metódy a postupy na kontrolu geneticky modifikovaných organizmov pri havárii:

V prípade možnej kontaminácie biologického materiálu, kedy by mohlo dôjsť k vneseniu cudzorodých DNA sekvencií postupovať nasledovne:

- odobrať vzorku kontaminovaného biologického materiálu
- izolovať DNA/RNA
- pomocou špecifických primerov detegovať príslušné sekvencie PCR metódou
- v prípade potvrdenia prítomnosti DNA sekvencií v danom organizme pristúpime k likvidácii biologického materiálu:

geneticky modifikované organizmy určené na likvidáciu sú inaktivované na mieste, v laboratóriu vhodným dezinfekčným roztokom roztoku (Chloramin T 2% /30 min., Etanol 70%/30 min., Savo 5%/1 hodina), následne sa sterilizujú autoklávaním pri teplote 121 °C počas 30 minút.

Všetok inaktivovaný materiál a biologický odpad sa likviduje v zdravotníckej spaľovni.

e) možné následky havárie a jej bezprostredných vonkajších účinkov na zamestnancov používateľa, ako aj na obyvateľstvo a životné prostredie:

Šírenie GMO buniek mimo špecifických podmienok je možné označiť za nepravdepodobné. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia mimo zariadenia je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, ich prežitie a rast mimo laboratórnych podmienok je nepravdepodobný.

Vzhľadom na vlastnosti používaných a vytvorených GMO sa nepriaznivé účinky na zamestnancov používateľa, ako aj na obyvateľstvo a životné prostredie pri nožnej havárii nepredpokladajú a tak sú nepriaznivé možné následky prípadnej havárie minimálne až žiadne.

f) metódy na zneškodnenie alebo sanáciu najmä rastlín, zvierat, pôdy, ktoré boli vystavené pôsobeniu geneticky modifikovaných organizmov počas havárie a po havárii:

GMO nemajú šancu prežiť mimo špecifických podmienok sterilného boxu a špeciálnych kultivačných roztokov.

Stavebno-technické usporiadanie laboratórií a v nich zavedený systém bezpečnostných opatrení nedovoľujú, aby GMO prišli do kontaktu s rastlinami, zvieratami a pôdou mimo uzavreté priestory, ani počas prípadnej havárie.

g) správanie zamestnancov v zariadení a obyvateľstva v blízkosti zariadenia, v ktorom sa používajú génové metódy a génové techniky, pri styku s geneticky modifikovanými organizmami, ktoré unikli počas havárie:

- Ak nastala havária treba okamžite zabezpečiť informovanosť podľa bodu 1 písmena c) havarijného plánu.
- Bezodkladne upovedomiť ohrozené osoby.
- Vykonať opatrenia zamerané na likvidáciu uniknutého GMO podľa bodu 2 a), b), c), d) /scenáre reprezentatívnych druhov havárií/.
- V prípade poranenia (porezanie, pichnutie) nechať ranu krváčať tak dlho ako je to možné, potom opláchnuť pod tečúcou vodou a následne opláchnuť 70% alkoholom alebo jódomovou tinktúrou. Pokiaľ boli zasiahnuté oči, ústa a iná časť tela, opláchnuť ich väčším množstvom vody.
- Vyhladať lekársku pomoc.
- Ak havária môže mať cezhraničné vplyvy, informovať okrem ministerstva aj orgány ohrozených štátov.
- Podat' ohlásenie ministerstvu.
- Haváriu písomne zaznamenať.
- Vedúci projektu vykonať opatrenia, aby sa udalosť neopakovala.
- Poskytnúť informácie o vykonaných opatreniach verejnosti vhodnou formou zverejnenia.

Príklad 1:

Postup v prípade kontaminácie priestoru GMO:

- ak je to možné, odstrániť všetky prekážky z kontaminovanej oblasti
- ak je to možné, čakať 15 min, aby došlo k usadeniu aerosólov
- nedotýkať sa ostrých predmetov
- presvedčiť sa, či sa kontaminant nešíri cez uzavretú oblasť, ktorá sa vytvorila dezinfekčnou látkou, dezinfikovať celú oblasť
- zakryť kontaminovaný materiál alebo povrch papierovou vatou alebo filtračným papierom, ktorý bol namočený v 70% alkohole
- po 10 minútach filtračný papier odstrániť a umiestniť medzi biologický odpad
- opäť prikryť kontaminovaný materiál filtračným papierom, aby nasal tekutinu
- opakovať tento postup pokiaľ nie je tekutina dokonale absorbovaná
- vyčistiť postihnutú oblasť opäť 70% alkoholom
- vyčistiť všetok materiál a povrch najprv vodou a mydlom, a potom dezinfekčným roztokom (70% alkohol)
- všetko kontaminované oblečenie dezinfikovať alebo autoklavovať
- kontaminovanú pokožku umyť mydlom a dezinfikovať 70% alkoholom
- dezinfikovať laminárny box a miestnosť UV žiarením