

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:

Ústav experimentálnej onkológie (ÚEO)
Biomedicínske centrum SAV, v. v. i.
Pavilón lekárskeho vied (PLV), Blok A
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. / RNDr. Zuzana Kozovská, PhD.	02/59302 439 / 02/32295 138	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. 4.16/4.15 v budove PLV, Blok A, 3. posch., reg. č.: 547 0916

laboratórium č. 4.29 v budove PLV, Blok A, 3. posch., reg. č.: 548 0916

laboratórium č. 4.30 v budove PLV, Blok A, 3. posch., reg. č.: 549 0916

laboratórium č. 4.36 v budove PLV, Blok A, 3. posch., reg. č.: 550 0916

laboratórium č. 5.14 v budove PLV, Blok A, 4. posch., reg. č.: 551 0916

(registračné číslo je pridelené na základe rozhodnutia MŽP SR č. 6639/2016-1.9-PPZ108 o udelení súhlasu na prvé použitie uzavretých priestorov)





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

GMM/GMO	množstvo
<u>používané GM bunky:</u> bunková línia HT29/eGFP (Ohlásenie č. 2017_3)	jednorazovo max. 1×10^7 GMO buniek na experiment
<u>používané GMM:</u> retrovírus ST45wtCA1 (Ohlásenie č. 2023_11)	jednorazovo max. 2 – 5 CFU vírusu/bunku na experiment
<u>Výsledné GM bunky:</u> NIH3T3/wtCA1, PC3/wtCA1, MDA-MB-231/wtCA1, SKBR-3/wtCA1, ANBL-6/wtCA1, RPMI 8226/wtCA1, HCT116/wtCA1, HT29/wtCA1, HT29/eGFP/wtCA1, Xenolínie patientských vzoriek CRC /wtCA1, A375/wtCA1, M4Beu/wtCA1, SKOV-3/wtCA1, A2780/wtCA1, U87- MG/wtCA1, BxPC-3/wtCA1, MIA PaCa-2/wtCA1, AT-MSK/wtCA1, hHSC-CD133+/wtCA1	jednorazovo max. 1×10^7 GMO buniek na experiment

V uzavretých priestoroch registr. č.: **547 0916** (lab. č. 4.15/4.16), **548 0916** (lab. č. 4.29), **549 0916** (lab. č. 4.30) a **551 0916** (lab. č. 5.14) vzniknú po transdukcii myšej nádorovej línie NIH3T3 a ľudských nádorových línií komerčných a aj línií odvodených od primárnych patientských nádorov: PC3, MDA-MB-231, SKBR-3, ANBL-6, RPMI 8226, HCT116, HT29, HT29/eGFP, A375, M4Beu, SKOV-3, A2780, U87-MG, BxPC-3, MIA PaCa-2, AT-MSK, hHSC-CD133+ retrovírusom ST45wtCA1 (Ohlásenie č. 2023_11) geneticky modifikované bunkové línie: NIH3T3/wtCA1, PC3/wtCA1, MDA-MB-231/wtCA1, SKBR-3/wtCA1, ANBL-6/wtCA1, RPMI 8226/wtCA1,

HCT116/wtCA1, HT29/wtCA1, HT29/eGFP/wtCA1, Xenolínie patientskych vzoriek CRC /wtCA1, A375/wtCA1, M4Beu/wtCA1, SKOV-3/wtCA1, A2780/wtCA1, U87-MG/wtCA1, BxPC-3/wtCA1, MIA PaCa-2/wtCA1, AT-MSC/wtCA1, hHSC-CD133+/wtCA1. V uzavretom priestore registr. č. **550 0916** (lab. č. 4.36) sa budú nepotrebné GMO/GMM a odpad, ktorý pri práci s GMO/GMM vznikne autoklávať.

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 materiálno-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 autoklávaním, 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	Ľahko umývateľné povrchy odolné vode, kyselinám, zásadám, rozpúšťadlám, dezinfekčným látkam a dekontaminačným činidlám	vyžaduje sa (pracovné stoly)	ľahko 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
8	Autokláv	v budove	áno
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 autoklávaním 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 prezliekariňou 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.
- Kontaminácia pracovného priestoru – laminárneho boxu geneticky modifikovanými mikroorganizmami – rekombinantnými vírusmi.

Postup v prípade udalosti:

- Ďalšie šírenie GMO 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.
- Prerušit' prácu, kontaktovať vedúceho projektu a zreteľne opísať danú udalosť.
- Zaznamenať všetky technické zlyhania počas práce s GMO 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 lekárskech 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 zariadenie, 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. Nádobu 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. Úraz zapíšeme do knihy úrazov.	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.
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 mikroorganizmami 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 (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 sústreďujú v nádobách na to určených. Sterilizácia biologického odpadu sa bude uskutočňovať 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 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 laboratórných podmienok je nepravdepodobný.

Vzhľadom na vlastností používaných a vytvorených GMO sa nepriaznivé účinky na zamestnancov používateľa, ako aj na obyvateľstvo a životné prostredie pri možnej 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, 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 informovať 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 jódom tinktúrou. Pokiaľ boli zasiahnuté oči, ústa a iná časť tela, opláchnuť ich väčším množstvom vody.

- Vyhľadať lekársku pomoc.
- Ak havária môže mať cezhraničné vplyvy, informovať okrem ministerstva aj orgány ohrozených štátov.
- Podat' ohlásenie ministerstvu.
- Haváriu písomne zaznamenať.
- Vedúci projektu vykoná 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 a autoklávať
- kontaminovanú pokožku umyť mydlom a dezinfikovať 70% alkoholom
- dezinfikovať laminárny box a miestnosť UV žiarením

8. 09. 2023