

HAVARIJNÝ PLÁN
pre činnosti s GMO zatriedenými do rizikovej triedy 2

bod 1

a) identifikačné údaje o používateľovi:

Centrum experimentálnej medicíny SAV
Ústav experimentálnej farmakológie a toxikológie SAV
Dúbravská cesta 9
841 04 Bratislava

štatutárny orgán: doc. RNDr. Oľga Pecháňová, DrSc.
riaditeľka CEM SAV
e-mail: Olga.Pechanova@savba.sk

b) identifikačné údaje o výskumnom, vývojovom alebo výrobnom zariadení používateľa (ďalej len „zariadenie“), v ktorom sa nachádzajú uzavreté priestory:

Centrálny zverinec Pavilónu lekárskeho vied
Pavilón lekárskeho vied (PLV), -1 posch., Blok B a C
Dúbravská cesta 9
841 04 Bratislava

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

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.

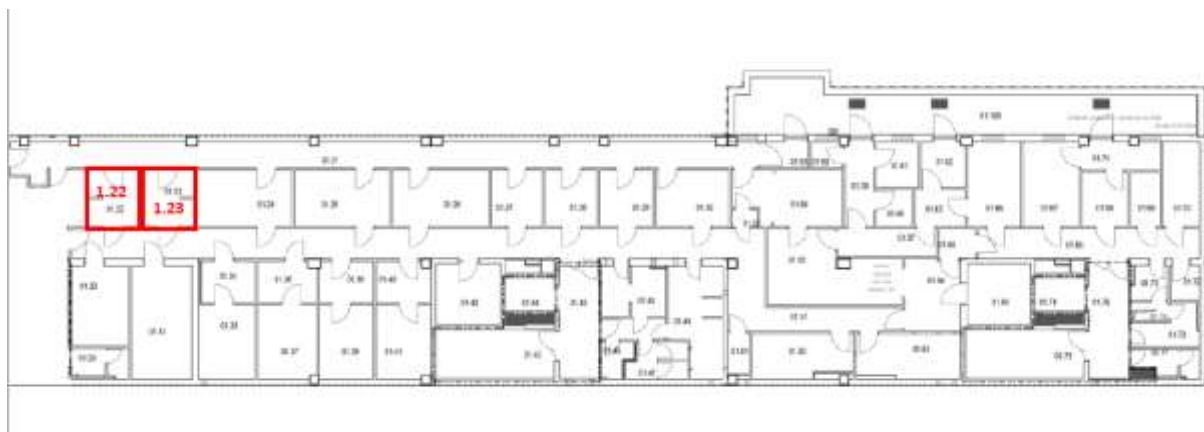
Funkcia (pracovisko)	Meno	Telefón	Pozn.
Riaditeľ ústavu	doc. RNDr. Oľga Pecháňová, DrSc	02/322 96 020	podľa závažnosti
Zodpovedný za prácu v CZ-PLV	RNDr. Mojmir Mach, PhD.	02/322 95 718	vždy
Bezpečnostný technik	Gizela Gajdošíková	02/32295 515	
Zodpovedný za prácu s GMO (vedúci projektu)	RNDr. Zuzana Kozovská, PhD.	02/32295 138	vždy
Zodpovedný za BOZP s biologickými faktormi	Gizela Gajdošíková	02/32295 515	
Riadiaci práce s nebezpečnými chemickými faktormi	Gizela Gajdošíková	02/32295 515	

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.

Záchranné služby, orgány verejn. zdravotníctva	Telefón	Pozn.
Záchranná zdravotná služba	155, 16 155, 112	
MUDr. D. Gajdošová , lekár v areáli SAV, Dúbr. cesta 9, Ba	02 / 5477 2559	
Regionálny úrad verejného zdravotníctva Bratislava / www.ruvzba.sk	02 / 4333 8286, 0917 426 111	
Úrad verejného zdravotníctva SR / www.uvzs.sk	02 / 4928 4111	
Národné Toxikologické Informačné Centrum / www.ntic.sk	02 / 5477 4166, 5465 2307 // 0911 166 066	
Správa účelových zariadení SAV, Dúbravská cesta 9, Bratislava	02 / 5477 2148 02 / 5920 0802	
Hasičský a záchranný zbor	150, 112	
Polícia	158, 112	
Odbor CO a krízového riadenia Obvodného úradu Ba	02 / 5931 2111	
Obvodný úrad životného prostredia Ba - ústredňa	02 / 6030 1706	

d) plán zariadenia s vyznačením miest významných pre obmedzenie následkov havárie:
laboratórium č. 1.22 v budove PLV, -1. posch. Blok b a C, CZ-PLV, **reg. č.: 6210519**
(evidenčné číslo je pridelené MŽP SR na základe žiadosti na prvé použitie uzavretých priestorov)



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

Názov GMO	cardioMitoKik rekombinantný adenoasociovaný vírus sérotypu 9 (AAV9-cTNT-mitoKikGR1-WPRE, Vector Biolabs, USA),
Číslo ohlásenia ich prípravy	(2020_
Počet GMO/1 aplikáciu	$10^9 - 3 \times 10^{11}$ GC/mys
Celkové množstvo GMO	5×10^{12} GC
Celkový počet myší	120 myší

V laboratóriu registr. č.: **6210519** (lab. č. 01.22) bude tento rekombinantný adenoasociovaný vírus sérotypu 9 (AAV9-cTNT-mitoKikGR1-WPRE, Vector Biolabs, USA), (max. 3×10^{11} vírusových častíc/myš) subkutánne, intravenózne alebo intraperitoneálne aplikovaný myšiam kmeňa C57BL/6N (max. počet myší = 120 ks).

Myši s geneticky modifikovanými bunkami kardiomyocytov sice nemajú zmenenú schopnosť prežitia mimo uzavretého priestoru v prípade úniku, ale pri zavedenom systéme práce a úrovne ochrany v užívateľskom zariadení je ich únik vysoko nepravdepodobný

f) opis ochranných opatrení na zabránenie vzniku havárie:

a) Uzavretý priestor, laboratórium vyhradené pre prácu s GMO, predstavuje dostatočnú bariéru pri práci s GMO, ktoré nemajú nepriaznivé účinky na zdravie človeka a životné prostredie. Vo vyhradenom priestore je redukovaný pohyb osôb a vyhradený priestor je označený. Uzavretý priestor je zaradený do rizikovej triedy 2, príslušný prevádzkový poriadok v zariadení zodpovedá bezpečnostným parametrom rizikovej triedy 2.

b) V uzavretom priestore sa nepoužívajú genetické technológie. GMM vírus (zakúpený komerčne a nariadený v inom schválenom laboratóriu) sa iba injekčne aplikuje zvieratám. Pri aplikácii by nemalo dôjsť k neželanému úniku. Dôležitý je spôsob likvidácie nepoužitého GMO a zabezpečenie dezinfekcie odpadu, ktorý pri práci vznikne. Prevádzkový poriadok tento krok rieši 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 laboratória.

	Popis	Úroveň ochrany - 2	Ohlasovateľ/Žiadateľ Centrum experimentálnej medicíny SAV
1	Laboratórne miestnosti - izolácia	nevyžaduje sa	Izolácia laboratórií od ostatných častí budovy, kontrolovaný vstup
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	nevyžaduje sa	nie

	miestnosť ²⁾		
5	Nižší tlak úmerný tlaku okolitého prostredia	nevyžaduje sa	nie
6	Odsávaný a vŕhaný vzduch do laboratória by mal byť HEPA-filtrovaný	nevyžaduje sa	nie
7	Aseptický box	voliteľné	áno
8	Autokláv	v budove	áno, schválené GMO RT2 laboratórium č. 4.36

Systém práce

9	Zákaz vstupu	vyžaduje sa	áno, označenie zákazu vstupu nepovolaným osobám; vstup len na čipové karty pridelené len zamestnancom CEM a BMC SAV, ktorí vykonávajú pokusy na zvieratách;
10	Označenie bio nebezpečia na dverách	vyžaduje sa	áno, označenie biologického nebezpečia na dverách
11	Zvláštne opatrenie na kontrolu aerosólu v ovzduší	vyžaduje sa minimalizovať	minimalizuje sa tvorba aerosólu
13	Sprcha	nevyžaduje sa	nie
14	Ochranný odev	vhodný ochranný odev	pracovný plášť, prezuvky, rukavice
15	Rukavice	voliteľné	ochranné rukavice povinné
16	Účinná kontrola vektorov (napr. hlodavcov a hmyzu)	vyžaduje sa	áno, lepiace pasce na hlodavce

Odpad

17	Inaktivácia geneticky modifikovaných mikroorganizmov v odpadových vodách, z umývadiel na umývanie rúk, spŕch a v podobných odpadových vodách	nevyžaduje sa	nie
18	Inaktivácia geneticky modifikovaných mikroorganizmov 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

19	Laboratórium musí mať svoje vlastné vybavenie	nevyžaduje sa	nie
20	Laboratórium musí mať pozorovacie okienko alebo alternatívne zariadenie tak, aby mohli byť prítomní v laboratóriu videní	voliteľné	nie

Úroveň ochrany pre činnosti v bunkách pre zvieratá

Popis		Úroveň ochrany 2	
			miestnosť 01.15
1	Izolácia buniek pre zvieratá	vyžaduje sa	Centrálny zverinec Pavilónu lekárskeho ústavu (CZ-PLV) je izolovaná skupina miestností - chovné a experimentálne miestnosti, sklad potravy, umývaňa, autokláv, sprcha a prezliekareň. Od ostatných priestorov je oddelený uzamykateľnými dverami opatrenými elektronickým zámkom. Vstup oprávnených zamestnancov je umožnený a monitorovaný pomocou čipových kariet vydaných na meno. Kartu na vstup majú aktivovanú len zamestnanci CEM a BMC oprávnení na vstup do CZ-PLV.
2	Zariadenia pre zvieratá oddelené uzamykateľnými dverami	vyžaduje sa	áno
3	Zariadenia pre zvieratá navrhnuté tak, aby uľahčili dekontamináciu [vodovzdorný a ľahko umývateľný materiál (klietky, atď.)]	Voliteľné	Stojany na klietky, klietky, stoly sú z umývateľného materiálu. Klietky sú autoklávovateľné.
4	Podlaha a/alebo stropy ľahko umývateľné	vyžaduje sa (podlaha)	Podlahy, steny aj stropy v miestnostiach pre zvieratá sú umývateľné.
5	Zvieratá sú držané vo vhodných zariadeniach, ako sú napr. klietky, miestnosti alebo nádoby	voliteľné	Áno, v individuálne ventilovaných klietkach alebo semirigidných izolátoroch.
6	Filtre na izolátoroch alebo izolovaných miestnostiach	voliteľné	áno, oba typy používaných klietok sú vybavené Hepa filtrami

g) opis havárie, ktorá môže vzniknúť v priestoroch, kde sa používajú genetické technológie:

- Kontaminácia pracovného priestoru – laminárneho boxu geneticky modifikovaným vírusom.

Postup v prípade udalosti:

- ďalšie šírenie geneticky modifikovaných organizmov sa okamžite eliminuje aplikáciou 10% chlórnanu sodného alebo 10% jódovaným povidónom (Betadine), prípadne 0,5% kyselinou peroctovou. 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 10% roztokom chlórnanu sodného a zlikviduje v spaľovni. Sklenený a plastový materiál sa dekontaminuje 10% roztokom chlórnanu sodného a následne autoklávuje.
- prerušiť prácu, kontaktovať vedúceho projektu a zreteľne opísať danú udalosť.
- zaznamenať všetky technické zlyhania počas práce s geneticky modifikovanými organizmami.

2. Scenáre reprezentatívnych druhov havárií

a) plány na ochranu ľudského zdravia a životného prostredia

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. V zmysle termínov stanovených zákonom sa zúčastňujú pravidelných preventívnych lekárskech prehliadok. Vykonávanie preventívnych dekontaminácií pracovných priestorov (laminárne boxy) UV svetlom a čistenie laboratórnych stolov dezinfekčnými roztokmi. Odpadom sú pomôcky na aplikáciu GMO – striekačky, ihly a plastové skúmavky. Odpady z pracovných priestorov sú chemicky dekontaminované, sterilizované autoklávaním a následne zlikvidované spálením v spaľovni.

Pri manipulácii s geneticky modifikovanými organizmami nehrozí pracovníkom ani životnému prostrediu žiadne významné nebezpečenstvo.

b) metódy na izoláciu oblastí postihnutých rozšírením

Manipulácia s GMO sa bude vykonávať v uzavretých priestoroch, ktoré sú izolované od ostatných priestorov. Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, prežitie GMO mimo laboratórnych podmienok je vysoko nepravdepodobné.

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

c) metódy na dekontamináciu postihnutých osôb a miestností

Odporúčaný postup pri neželanom úniku je dôsledná dezinfekcia. Ako dezinfekciu možno použiť 10% SAVO – 1 hod., Betadín – 30 min, alebo 0,5% kyselinu peroctovú).

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

Príklady metód na dekontamináciu v RT2 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.	Po nasadení gumených rukavíc a ochranných okuliarov opatrne pozbierame rozliaty obsah aj s rozbitým sklom do nádoby, kde bude zachytený materiál inaktívovaný 10% SAVOm – 1 hod. 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 autoklavovaním. Dbáme na zvýšenú opatnosť 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 Betadínom alebo jódomovou tinktúrou. V prípade, že boli zasiahnuté oči, ústa a iné, opláchneme ich väčším množstvom vody. Vyhladáme lekársku pomoc. Úraz zapíšeme do knihy úrazov.	Pohotovostná zásoba dezinfekčného činidla a prostriedkov na odstránenie úniku v laboratóriu. Dôkladný výber dodávateľa dostatočne pevných nádob. Poučenie pracovníkov o bezpečnej eliminácii úniku.

Názov bariéry: poškodenie nádob s GMO			
2.	Únik GMO do pracovného prostredia.	Postrek priestorov doporučenými dezinfekčnými aerosólovými prostriedkami na báze kyseliny peroctovej (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 GMO obsahujúcim materiálom. Sterilizácia laboratória použitím germicídneho žiariča mimo pracovnej doby minimálne 1 krát týždenne.
Názov bariéry: plastový materiál			
3.	Prasknutý plastový materiál (na jednorazové použitie)	V gumených rukaviciach vložiť plastový materiál do nádoby, kde bude inaktivovaný 10% SAVOM – 30 minút a následne sterilizovaný autoklávovaním. 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.	vníknutie hlodavcov, hmyzu, článkonožcov	Ošetrovanie priestorov insekticídmi (Famid). Ošetrovanie priestorov rodenticídmi a nástrahami.	Pravidelne najmenej 2 – krát ročne kontrola priestorov, vykonávanie preventívnych ošetrovaní insekticídmi, nasadenie rodenticídnych nástrah.

d) metódy a postupy na kontrolu geneticky modifikovaných organizmov pre prípad havárie,

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

- odobrať vzorku kontaminovaného biologického materiálu
- izolovať DNA
- 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 (10% SAVO – 1 hod., Betadín – 30 min, alebo 0,5% kyselina peroctová – 30 min.), následne sa sústreďujú v nádobách na to určených. Sterilizácia biologického odpadu sa bude uskutočňovať autoklávovaním pri teplote 121 °C počas 30 minút. Inaktivovaný materiál a biologický odpad sa likviduje v zdravotníckej spaľovni.

e) opis možných následkov havárie a jej bezprostredných konkrétnych 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 mimo laboratórnych podmienok je nepravdepodobné.

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 laboratória a v nich zavedený systém bezpečnostných opatrení nedovoľujú, aby GMO prišli do kontaktu s rastlinami, zvieratami a pôdou, ani počas prípadnej havárie.

g) opis odporúčaného správania 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 Betadínom alebo jódomovou 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 geneticky modifikovanými bunkami:

- 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 SAVE alebo 0,5% kyseliny peroctovej (Persteril)
- 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 SAVOm alebo Persterilom
- vyčistiť všetok materiál a povrch najprv vodou a mydlom, a potom dezinfekčným roztokom (SAVom alebo Persterilom)
- všetko kontaminované oblečenie dezinfikovať a autoklávovať
- kontaminovanú pokožku umyť mydlom a dezinfikovať Betadínom alebo jódomovou tinktúrou

20. 9.2020