



ÚSTAV MOLEKULÁRNEJ BIOLÓGIE

Slovenskej akadémie vied, v. v. i.

Dúbravská cesta 21, 845 51 Bratislava 45

Tel.: 02 5930 7411, E-mail: umbidir@savba.sk



Príloha c)

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

(1)

a) Identifikačné údaje o používateľovi

Adresa:

Ústav molekularnej biológie Slovenskej akadémie vied, v. v. i.

Dúbravská cesta 21

845 51 Bratislava

<http://www.imb.savba.sk>

Lokalizácia: Intravilán-areál SAV, Patrónka

Umiestnenie: Dve samostatné budovy:

Objekt 01 – Dúbravská cesta 21 – štvorpodlažná budova

Objekt 02 – Dúbravská cesta 23 – dvojpodlažná budova

Štatutárny orgán: Ing. Eva KUTEJOVÁ, DrSc.

riaditeľka ÚMB SAV, v. v. i.

Tel. č.: +421 2 5930 7411

e-mail: Eva.Kutejova@savba.sk

IČO: 00166634

Predmet činnosti:

Prevažujúcou hlavnou činnosťou používateľa je uskutočňovanie výskumu v odboroch vedy a techniky (ďalej tiež „odbory“): Mikrobiológia (aj pre lekárske, farmaceutické, veterinárne, poľnohospodárske, lesnícke a vodohospodárske vedy) (010612), Molekulárna biológia (010613), Genetika (aj pre lekárske, farmaceutické, veterinárne, poľnohospodárske a lesnícke vedy) (010608), Bunková biológia (010602), Neurovedy (010617), Viroológia (aj pre lekárske, farmaceutické, veterinárne, poľnohospodárske a lesnícke vedy) (010621), Imunológia (aj pre lekárske, farmaceutické, veterinárne, poľnohospodárske a lesnícke vedy) (010611), Biochémia (aj pre lekárske, farmaceutické, veterinárne, poľnohospodárske, lesnícke a vodohospodárske vedy) (010403), Bioorganická chémia (010406), Environmentálna biotechnológia (020900), Priemyselná biotechnológia (021000), Biotechnológie v poľnohospodárstve (040400), Biotechnológie v zdravotníctve (030400), Ekológia (010520), Ochrana a využívanie krajiny (010527), Bioinformatika (010202), Biofyzika (aj pre lekárske, farmaceutické, veterinárne, poľnohospodárske, lesnícke a chemické vedy) (010303), Nanotechnológie (021100), Mykológia (aj pre lekárske, farmaceutické, veterinárne, poľnohospodárske a lesnícke vedy) (010616).

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

Umiestnenie zariadenia: Objekt 02 – Dúbravská cesta 23 – dvojpodlažná budova

Číslo laboratória, resp. evidenčné (registračné) číslo, v ktorom je možné používať génové technológie a geneticky modifikované organizmy (GMO) zatriedené do rizikovej triedy 2: 02-23 (328116) (evidenčné číslo bolo pridelené na základe rozhodnutia MŽP SR č. 18586/2007-2.3.-7-PPZ47 zo dňa 03.05.2007 o udelení súhlasu na prvé použitie zariadenia na genetické technológie).

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

Ohlásenie havárie v rámci organizácie

Zamestnanec, ktorý spôsobí alebo zistí únik GMO alebo má podozrenie, že došlo k ich úniku, ohlásí túto skutočnosť osobne alebo telefonicky svojmu nadriadenému alebo jeho zástupcovi, ktorí podľa závažnosti ohlásia následne haváriu ďalším vedúcim zamestnancom (Tab. 1). Menovaní sa urýchlene dostavia na miesto havárie.

Tabuľka 1. Zamestnanci, ktorým sa nahlasuje havária v rámci organizácie

Funkcia	Meno	Č. tel.	Pozn.
Riaditeľka ÚMB SAV, v. v. i.	Ing. Eva Kutejová, DrSc.	+421 2 5930 7411	podľa závažnosti
Pracovník zodpovedný za prácu s biologickými faktormi	RNDr. Peter Ferianc, CSc.	+421 2 5930 7427	podľa závažnosti
Pracovník zodpovedný za prácu s GMO (vedúci projektu)	RNDr. Peter Ferianc, CSc.	+421 2 5930 7427	vždy
Pracovník zodpovedný za prácu s nebezpečnými chemickými faktormi	Mgr. Andrea Puškárová, PhD.	+421 2 5930 7439	podľa závažnosti

Ohlásenie havárie mimo organizácie

Vedúci zamestnanec pre príslušné pracovisko (laboratórium) spolu so zodpovedným pracovníkom za prácu s GMO (vedúci projektu), prípadne zodpovedným pracovníkom za prácu s nebezpečnými chemickými faktormi, ohlásia podľa závažnosti haváriu záchranným službám, orgánom životného prostredia a civilnej ochrane (Tab. 2).

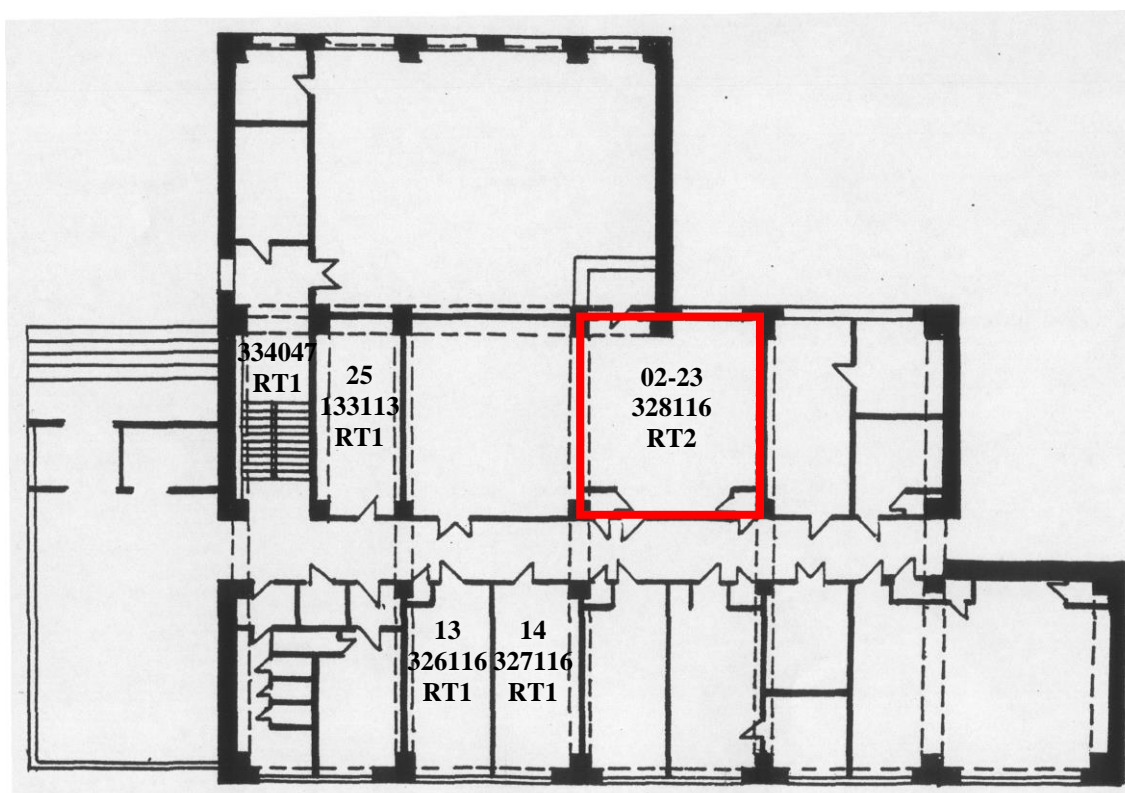
Tabuľka 2. Zložky, ktorým sa nahlasuje havária mimo organizácie

Záchranné služby, orgány verejného zdravotníctva	Č. tel.	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.uvzs.sk)	+421 2 4928 4111	
Národné toxikologické informačné centrum (www.ntic.sk)	+421 2 5477 4166 +421 911 166 066	
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	
Správa účelových zariadení SAV, Dúbravská cesta 9, BA	+421 901 708 276 +421 2 5477 4421	

d) Plán zariadenia s vyznačením miest významných pre obmedzenie následkov havárie

Laboratórium č. 02-23 v objekte 02 na 1. podlaží (prízemí) ÚMB SAV, v. v. i., ev. č.: 328116 (evidenčné číslo bolo pridelené na základe rozhodnutia MŽP SR č. 18586/2007-2.3.-7-PPZ47 zo dňa 03.05.2007 o udelení súhlasu na prvé použitie zariadenia na genetické technológie) (Obr. 1).



Obr. 1. Plán zariadenia s vyznačením miest (červený obdĺžnik) významných pre obmedzenie následkov havárie: Objekt 02 (nová budova) - 1. podlažie (prízemie).

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

V uzavretom priestore, laboratórium č. 02-23 (ev. č. 328116) budú použité nasledovné geneticky modifikované organizmy, resp. mikroorganizmy:

- 1) *Escherichia coli* K12 a jej deriváty (XL1-blue, DH5 α , MM294), resp. deriváty *E. coli* kmeňa B (*E. coli* BL21 (DE3), *E. coli* BL21 (DE3) pLysS), resp. pôvodný kmeň *B. subtilis* PY79 a jeho mutantné formy (Δ minJ :: tet (Bramkamp et al. 2008); (Δ minJ :: kan (IB1362, IB=súkromná zbierka Dr. Imricha Baráka na ÚMB SAV, v. v. i.); Δ minD :: ery (Edwards & Errington, 1997); Δ minD divIVA (IB1074, dar od Dr.

Edwardsa); Δ divIVA :: tet (Edwards & Errington, 1997); Δ minD :: kan (BKK27990) (Koo et al. 2017); Δ minD :: cam (IB1056)) budú transformované **plazmidovou DNA** nesúcou niektorý z génov *minE*, *minC*, *minD*, *divIVA* (kódujúce deliace proteíny MinE, MinC, MinD, DivIVA), resp. *cls*, *cls1*, *pgsA* (kódujúce enzýmy zúčastňujúce sa syntézy fosfolipidov) z *Clostridioides difficile* (st. názov: *Clostridium difficile*) nasledovne:

- (i) Bunky *E. coli* **K12** a ich deriváty (uvedené vyššie) budú transformované všetkými plazmidmi nesúcimi buď gén *minE*, *minC*, *minD* alebo *divIVA* (Tab. 3, zeleno, žltó, resp. modro vyznačené konštrukty GMO);
- (ii) Bunky *E. coli* **K12** a ich deriváty (uvedené vyššie) budú transformované plazmidmi **pKT25**, **pKNT25**, **pUTC18** alebo **pUT18** nesúcimi buď gén *cls*, *cls1* alebo *pgsA* (Tab. 3, ružovo vyznačené konštrukty GMO);
- (iii) Bunky *E. coli* **B** a ich deriváty (uvedené vyššie) budú transformované plazmidmi **pETDuet**, **pET15**, **pET26** alebo **pTB146** (Tab. 3, zeleno vyznačené konštrukty GMO);
- (iv) Pôvodný kmeň *B. subtilis* **PY79** a jeho mutantné formy (uvedené vyššie) budú transformované plazmidmi **pSG1154**, **pSG1164**, **pSG1729** a jeho derivátmi, **pED965** alebo **pED962** nesúcimi buď gén *minE*, *minC*, *minD* alebo *divIVA* (Tab. 3, fialovo vyznačené konštrukty GMO);

Výsledné GMO bude použité na:

- (i) Sledovanie **expresie rekombinantných proteínov** v bunkách *E. coli* (**K** resp. **B**) a ich derivátoch (uvedené vyššie) s použitím vektorov **pETDuet**, **pET15**, **pET26** alebo **pTB146** (Tab. 3, zeleno vyznačené konštrukty GMO);
- (ii) Sledovanie **proteín-proteínových interakcií** v bunkách *E. coli* **K12** a ich derivátoch (uvedené vyššie) s použitím vektorov **pKT25**, **pKNT25**, **pUTC18** alebo **pUT18** v dvojhybridnom bakteriálnom systéme *E. coli* (Tab. 3, žltó, resp. ružovo vyznačené konštrukty GMO);
- (iii) Sledovanie **lokalizácie proteínov v bunkách** pôvodného kmeňa *B. subtilis* **PY79** a jeho mutantných formách (uvedené vyššie) s použitím „shuttle“ vektorov, **pSG1154**, **pSG1164**, **pSG1729** a jeho derivátov, **pED965** alebo **pED962**, integrujúcich sa do chromozómu *B. subtilis* **PY79** a jeho mutantných foriem (uvedené vyššie) vo fúzii s fluorescenčným proteínom. Prechodne sú týmito vektormi transformované aj bunky *E. coli* **K12** a ich deriváty (uvedené vyššie) (Tab. 3, fialovo, resp. modro vyznačené konštrukty GMO).

Tabuľka 3. Druh a množstvo GMO, ktoré môžu uniknúť pri havárii

Geneticky modifikované organizmy	Množstvo
<i>E. coli</i> (K resp. B) + deriváty/pETDuet- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	Max. 25 ml kultúry GMO buniek vyrastených na jednej Petriho miske.
<i>E. coli</i> (K resp. B) + deriváty/pET15- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>E. coli</i> (K resp. B) + deriváty/pET26- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>E. coli</i> (K resp. B) + deriváty/pTB146- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pKT25- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	Max. 100 ml tekutej kultúry GMO buniek na experiment - jednorazovo.
<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pKNT25- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pUTC18- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pUT18- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pSG1154- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pSG1164- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pSG1729 + der.- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pED965- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pED962- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	

<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pKT25- <i>cls</i> , - <i>cls1</i> , - <i>pgsA</i>	
<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pKNT25- <i>cls</i> , - <i>cls1</i> , - <i>pgsA</i>	
<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pUTC18- <i>cls</i> , - <i>cls1</i> , - <i>pgsA</i>	
<i>E. coli</i> K12 + deriváty/pUT18- <i>cls</i> , - <i>cls1</i> , - <i>pgsA</i>	
<i>B. subtilis</i> PY79 + mut. formy/pSG1154- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>B. subtilis</i> PY79 + mut. formy/pSG1164- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>B. subtilis</i> PY79 + mut. formy/pSG1729 + der.- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>B. subtilis</i> PY79 + mut. formy/pED965- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	
<i>B. subtilis</i> PY79 + mut. formy/pED962- <i>minE</i> , - <i>minC</i> , - <i>minD</i> , - <i>divIVA</i>	

Poznámka: Deriváty *E. coli* (K a B), resp. mut. formy *B. subtilis* PY79 sú uvedené vyššie.

2) Bunky *E. coli* K12, *E. coli* BL21, resp. *B. subtilis* PY79 budú transformované plazmidovou DNA nesúcou gén pre RBD doménu spike proteínu (S1 podjednotka) zo Sars-CoV-2 nasledovne:

- (i) Bunky *E. coli* K12 budú transformované buď plazmidom pET28 alebo plazmidom pDG1662 nesúce gén pre RBD doménu spike proteínu (S1 podjednotka) zo Sars-CoV-2 (Tab. 4, zeleno vyznačené konštrukty GMO);
- (ii) Bunky *E. coli* BL21 budú transformované plazmidom pET28 nesúcim gén pre RBD doménu spike proteínu (S1 podjednotka) zo Sars-CoV-2 (Tab. 4, ružovo vyznačené konštrukty GMO);
- (iii) Bunky *E. coli* BL21, resp. *B. subtilis* PY79 budú transformované plazmidom pDG1662 nesúcim gén pre RBD doménu spike proteínu (S1 podjednotka) zo Sars-CoV-2 (Tab. 4, modro, resp. žltó vyznačené konštrukty GMO).

Výsledné GMO bude použité na:

- (i) Sledovanie expresie rekombinantného proteínu v bunkách *E. coli* BL21 s použitím vektora pET28 (Tab. 4, ružovo vyznačený konštrukt GMO);
- (ii) Sledovanie lokalizácie proteínu v bunkách *B. subtilis* PY79 s použitím „shuttle“ vektora, pDG1662 integrujúceho sa do chromozómu *B. subtilis* PY79 vo fúzii s fluorescenčným proteínom. Prechodne sú týmito vektormi transformované aj bunky *E. coli* BL21 (Tab. 4, modro, resp. žltó vyznačené konštrukty GMO).

Tabuľka 4. Druh a množstvo GMO, ktoré môžu uniknúť pri havárii

Geneticky modifikované organizmy	Množstvo
<i>E. coli</i> K12 MG1655/pGBW-m4046887-gén pre RBD doménu spike proteínu	Max. 25 ml kultúry GMO buniek vyrastených na jednej Petriho miske. Max. 100 ml tekutej kultúry GMO buniek na exp.- jednorazovo.
<i>E. coli</i> K12/pET28-gén pre RBD doménu spike proteínu	
<i>E. coli</i> K12/pDG1662-gén pre RBD doménu spike proteínu	
<i>E. coli</i> BL21/pET28-gén pre RBD doménu spike proteínu	
<i>E. coli</i> BL21/pDG1662-gén pre RBD doménu spike proteínu	
<i>B. subtilis</i> PY79/pDG1662-gén pre RBD doménu spike proteínu	

3) Bunky *E. coli* BL21 budú transformované plazmidmi pET21a, pET34b (+) alebo pGEX-5X-1 nesúcimi niektorú z frakcie syntetických génov kódujúcich buď C-terminálny peptid (GVPDLLV) proteínu E zo SARS-CoV (Tab. 5, zeleno vyznačené konštrukty GMO, skratka: 7AA-prot E-Sars-CoV), C-terminálne peptidy (RVPDLLV; PSFYVYSRVKLNLSRVPDLLV; VSLVKPSFYVYSRVKLNLSRVPDLLV) proteínu E zo Sars-CoV-2 (Tab. 5, žltó vyznačené konštrukty GMO, skratky: 7AA, 22AA, resp. 27AA-prot E Sars-CoV-2) alebo C-terminálny peptid

(LPPDEWV) proteínu E z Mers-CoV (Tab. 5, ružovo vyznačené konštrukty GMO, skratka: 7AA-prot E Mers-CoV).

Výsledné GMO bude použité na:

Sledovanie **expresie rekombinantných proteínov** v bunkách *E. coli* **BL21** s použitím vektorov **pET21a, pET34b (+)** alebo **pGEX-5X-1** (Tab. 5).

Tabuľka 5. Druh a množstvo GMO, ktoré môžu uniknúť pri havárii

Geneticky modifikované organizmy	Množstvo
<i>E. coli</i> BL21/pET21a-gén pre 7AA-prot E-Sars-CoV	Max. 25 ml kultúry GMO buniek vyrastených na jednej Petriho miske.
<i>E. coli</i> BL21/pET21a-gén pre 7AA, -22AA, -27AA-prot E Sars-CoV2	
<i>E. coli</i> BL21/pET21a-gén pre 7AA-prot E Mers-CoV	
<i>E. coli</i> BL21/pET34b(+)-gén pre 7AA-prot E-Sars-CoV	
<i>E. coli</i> BL21/pET34b(+)-gén pre 7AA, -22AA, -27AA-prot E Sars-CoV2	Max. 100 ml tekutej kultúry GMO buniek na experiment - jednorázovo.
<i>E. coli</i> BL21/pET34b(+)-gén pre 7AA-prot E Mers-CoV	
<i>E. coli</i> BL21/pGEX-5X-1-gén pre 7AA-prot E-Sars-CoV	
<i>E. coli</i> BL21/pGEX-5X-1-gén pre 7AA, -22AA, -27AA-prot E Sars-CoV2	
<i>E. coli</i> BL21/pGEX-5X-1-gén pre 7AA-prot E Mers-CoV	

4) Bunky *E. coli* **DH5 α** , resp. *E. coli* **BL21 (DE3)** budú transformované **plazmidovou DNA** nesúcou buď fragment génu *Spychather* alebo *Spytag* kódujúce fragmenty **proteínu CnaB2** z fibronektín viažuceho proteínu **FbaB** zo *Streptococcus pyogenes* nasledovne:

- (i) Bunky *E. coli* **DH5 α** budú transformované plazmidom **pET28(+)** nesúcim buď fragment génu *Spychather* alebo *Spytag* kódujúce fragmenty **proteínu CnaB2** z fibronektín viažuceho proteínu **FbaB** zo *S. pyogenes* (Tab. 6, zeleno vyznačené konštrukty GMO);
- (ii) Bunky *E. coli* **BL21 (DE3)** budú transformované plazmidom **pET28(+)** nesúcim buď fragment génu *Spychather* alebo *Spytag* kódujúce fragmenty **proteínu CnaB2** z fibronektín viažuceho proteínu **FbaB** zo *S. pyogenes* (Tab. 6, ružovo vyznačené konštrukty GMO);

Výsledné GMO bude použité na:

Sledovanie **expresie frakcií rekombinantného proteínu** v bunkách *E. coli* **BL21 (DE3)** s použitím vektora **pET28(+)** (Tab. 6, ružovo vyznačené konštrukty GMO).

Tabuľka 6. Druh a množstvo GMO, ktoré môžu uniknúť pri havárii

Geneticky modifikované organizmy	Množstvo
<i>E. coli</i> DH5 α /pET28(+)- <i>Spychather</i>	Max. 25 ml kultúry GMO buniek vyrastených na jednej Petriho miske, resp. 100 ml tekutej kultúry GMO buniek na experiment - jednorázovo.
<i>E. coli</i> DH5 α /pET28(+)- <i>Spytag</i>	
<i>E. coli</i> BL21 (DE3)/pET28(+)- <i>Spychather</i>	
<i>E. coli</i> BL21 (DE3)/pET28(+)- <i>Spytag</i>	

Nepotrebované GMO a všetok odpad vznikajúci pri činnosti v uzavretom priestore bude dekontaminovaný dezinfekčným prostriedkom a následným autoklávovaním v uzavretom priestore, **lab. 02-23** (ev. č. 328116).

f) Ochranné opatrenia na zabránenie vzniku havárie

Uzavretý priestor, **laboratórium 02-23 (ev. č.: 328116)**, je zaradený do **rizikovej triedy 2 (RT2)** a príslušný **prevádzkový poriadok** v zariadení zodpovedá bezpečnostným parametrom vyžadovaným pre činnosti s GMO zatriedené do **RT2**. Stavebno-technické zabezpečenie, vnútorné umiestnenie, prevádzkový režim a materiálo-technické vybavenie uzavretého priestoru predstavuje dostatočnú bariéru na zábranu nekontrolovateľného úniku GMO. V uzavretom priestore je redukovaný pohyb osôb a je náležite označený.

V uzavretom priestore sa používajú genetické technológie, pri ktorých by nemalo dôjsť k neželanému úniku GMO do prostredia. Z tohto pohľadu je dôležitý najmä spôsob likvidácie použitého alebo nespotrebovaného GMO a zabezpečenie dezinfekcie odpadu, ktorý vznikne pri práci s GMO. Prevádzkový poriadok rieši túto skutočnosť opatreniami, ktoré zabezpečia, aby sa do bežného odpadu a ani do kanalizácie nedostali žiadne GMO. Hlavnou zásadou je dôsledná dezinfekcia odpadu autoklávovaním, prípadne chemickými dezinfekčnými prostriedkami, ktoré sú povinnou výbavou laboratórií tohto typu. Kontrolné a iné ochranné opatrenia pre laboratórium s úrovňou ochrany 2 sú zhrnuté v **Tab. 7**.

Tabuľka 7. Kontrolné a iné ochranné opatrenia pre laboratórium s úrovňou ochrany 2

(Podľa: „Príloha č. 1 k vyhláske č. 274/2019 Z. z.“)

Opis		Úroveň ochrany 2	Lab. 02-23 (328116) ÚMB 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 vŕhaný vzduch do laboratória by mal byť HEPA-filtrovaný	nevyžaduje sa	nie
7	Aseptický box	voliteľné	áno
8	Autokláv	v budove	áno, v lab. 02-23 (328116)
Systém práce			
9	Zákaz vstupu	vyžaduje sa	áno, označenie „Zákaz vstupu nepovolaným osobám“
10	Označenie bionebezpečia na dverách	vyžaduje sa	áno, označenie „Bionebezpečie“ na dverách
11	Zvláštne opatrenie na kontrolu aerosólu v ovzduší	vyžaduje sa minimalizovať	tvorba aerosólu sa minimalizuje použitím uzatvorených skúmaviek, pipetovaním v aseptickom boxe, odstredzovaním uzatvorených skúmaviek
12	Sprcha	nevyžaduje sa	nie
13	Ochranný odev	vhodný ochranný odev	áno, pracovný plášť, prezuvky
14	Rukavice	voliteľné	áno, ochranné rukavice
15	Účinná kontrola vektorov (napr. hlodavcov a hmyzu)	vyžaduje sa	áno, ochranné siete na oknách, lepiace pasce na hlodavce a hmyz
Odpad			
16	Inaktivácia geneticky modifikovaných mikroorganizmov a geneticky modifikovaných	nevyžaduje sa	nie

	organizmov v odpadových vodách z umývadiel na umývanie rúk, sprch a v podobných odpadových vodách		
17	Inaktivácia geneticky modifikovaných mikroorganizmov a geneticky modifikovaných organizmov v kontaminovanom materiáli a v odpade	vyžaduje sa	chemická inaktivácia s použitím chloramínu a pod. a následným autoklávovaním 30 min. 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	áno, pozorovacie okienko

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:

Opis havárie:

Kontaminácia pracovnej plochy v laminárnom boxe geneticky modifikovanými bakteriálnymi bunkami spôsobená vyliatím malého množstva bakteriálnej kultúry z kultivačnej banky.

Postup odstraňovania následkov havárie:

- (i) Okamžite eliminovať ďalšie šírenie geneticky modifikovaných baktérií použitím buď 70% etanolu, 1 % ajatinu, 3 % chloramínu B, 10 % SAVA, 5 % chlornanu sodného alebo 2% roztoku alkalického gluteraldehydu. Laminárny box následne dezinfikovať UV svetlom.
- (ii) Materiál, ktorý bol v priamom kontakte s biologickým materiálom (rukavice, utierky, pracovný odev a pod.) dekontaminovať 3 % roztokom chloramínu B a zlikvidovať v spaľovni. Sklenený materiál a plasty dekontaminovať 3 % roztokom chloramínu B a následne autoklávovať. Neautoklávovateľný plastový materiál dekontaminovať 3 % roztokom chloramínu B po dobu 24 h
- (iii) Prerušit' prácu, udalosť ohlásiť svojmu nadriadenému, resp. kontaktovať vedúceho projektu a jasne opísať danú udalosť.
- (iv) Zaznamenať všetky udalosti vedúce k havárii počas práce s geneticky modifikovanými mikroorganizmami do prevádzkového denníka.

(2) Scenár reprezentatívneho druhu havárie

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 odpad predstavujú kultivačné médiá, kultivačné nádoby, mikroskúmavky a plastový materiál (pipety, špice a pod.). Kultivačné médiá a všetok odpad z pracovných priestorov, ktorý prišiel do kontaktu s GMO, je dekontaminovaný dezinfekčným prostriedkom a následným autoklávaním priamo v zariadení a následne likvidovaný v spaľovni.

Pri dodržiavaní všetkých ochranných opatrení pri manipulácii s GMO nehrozí pracovníkom ani životnému prostrediu žiadne nebezpečenstvo.

b) Metóda na izoláciu oblastí postihnutých rozšírením

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

V uzavretom priestore je potrebné skontrolovať, či sa kontaminant nešíri mimo uzavretý priestor a ďalej postupovať podľa bodu 2 písm. c).

c) Metóda na dekontamináciu postihnutých oblastí

Odporúčaný postup pri neželanom úniku je dôsledná dezinfekcia. Ako dezinfekčný prostriedok možno použiť 70% alkohol, ktorý je vhodný aj na povrchovú dezinfekciu osôb. Na dezinfekciu uzavretého priestoru je možné použiť aj iný dezinfekčný prostriedok, napr. 10 % SAVO – 30 min, 3% roztok chloramínu B – 30 min, 1% ajatin – 30 min, 5 % chlornan sodný – 24 h, 2% roztok alkalického gluteraldehydu – 30 min a miestnosť vždy vystaviť UV žiareniu.

Všetky predmety použité na dekontamináciu je potrebné považovať za kontaminovaný odpad a následne ich tiež dezinfikovať pomocou chemických dezinfekčných prostriedkov a autoklávaním.

Príklady metód na dekontamináciu sú uvedené v **Tab. 8**.

Tabuľka 8. Príklady metód na dekontamináciu zariadenia s úrovňou ochrany 2

Dôvod havárie	Inaktivačné opatrenia	Preventívne opatrenia
<i>1. Poškodenie skleneného materiálu</i>		
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 B/30 min, resp. 70%-ným etanolom/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	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.

	<p>UV žiarením. Dbáme na zvýšenú opatnosť pri práci so sklom.</p> <p>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 jódomovou tinktúrou.</p> <p>V prípade, že boli zasiahnuté oči, ústa a iné, opláchneme ich väčším množstvom vody. Vyhľadáme lekársku pomoc.</p> <p>Úraz zapíšeme do knihy úrazov.</p>	
2. Poškodenie kultivačných nádob s mikroorganizmami		
Únik mikroorganizmov do pracovného prostredia.	<p>Postrek priestorov doporučenými dezinfekčnými aerosólovými prostriedkami (Sanosil, Persteril). Priestor uzavrieme na požadovanú dobu podľa druhu dezinfekčného prostriedku. Dôkladná hygienická očista ľudí s odporúčením použitia dezinfekčných saponátov. Ďalší postup ako v bode č.1.</p>	<p>Najmenej raz ročne zrealizovať postrek priestorov aerosólovými dezinfekčnými prostriedkami. Zvýšená pozornosť pri práci s materiálom obsahujúcim mikroorganizmy. Sterilizácia laboratórií použitím UV žiariča mimo pracovnej doby minimálne raz za týždeň. Pravidelná sterilizácia vzduchu v laboratóriu použitím vysoko napätového filtračného zariadenia.</p>
3. Poškodenie plastového materiálu		
Prasknutý plastový materiál (na jednorazové použitie).	<p>V gumených rukaviciach vložíme plastový materiál do nádoby, kde bude inaktívovaný 2 % roztokom Chloramínu B/30 min. a následne sterilizovaný autoklávaním. Dezinfekčným roztokom dôkladne poumývame postihnuté okolie.</p>	<p>Dôkladná kontrola plastov pred ich použitím. Náležitú pozornosť venovať výberu vhodnosti druhu plastov pre účel použitia. Nepoužívať plasty po záručnej dobe.</p>
4. Vniknutie vektorov		
Vniknutie hlodavcov, hmyzu, článkonožcov.	<p>Ošetrovanie priestorov insekticídmi (napr. Famid). Ošetrovanie priestorov rodenticídmi a nástrahami.</p>	<p>Pravidelne, najmenej 2-krát ročne kontrola priestorov, vykonávanie preventívnych ošetrovaní insekticídmi, nasadenie rodenticídnych nástrah.</p>

d) Metóda a postup na kontrolu geneticky modifikovaných organizmov pri havárii

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

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

Geneticky modifikované organizmy určené na likvidáciu sú inaktívované na mieste, v laboratóriu, vhodným dezinfekčným roztokom (Chloramin B 2%/30 min, Ajatin 1 %/30 min, Etanol 70%/30 min, Savo 10%/30 min, Chlornan sodný 5 %/24 h, roztok alkalického gluteraldehydu 2 %/30 min) a následne sú autoklavované pri teplote 121 °C počas 30 minút.

Všetok inaktívovaný materiál a biologický odpad sa likviduje v spaľovni odpadu.

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

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

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

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

GMO vytvorené v laboratóriu 02-23 (ev. č.: 328116) nemajú šancu prežiť mimo špecifických podmienok sterilného boxu a špeciálnych kultivačných roztokov.

Stavebno-technické usporiadanie uvedeného laboratória a v ňom zavedenom systéme 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, je potrebné 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.
- Vyhládať lekársku pomoc.
- Ak havária môže mať cezhraničné vplyvy, informovať okrem ministerstva aj orgány ohrozených štátov.
- Podať ohlásenie ministerstvu.
- Haváriu písomne zaznamenať.
- Vedúci projektu vykoná opatrenia, aby sa udalosť neopakovala.
- Poskytnúť informácie o vykonaných opatreniach verejnosti vhodnou formou zverejnenia.

Príklad

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 a celú oblasť dezinfikovať;
- ✓ zakryť kontaminovaný materiál alebo povrch papierovou vatou alebo filtračným papierom namočeným 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 následne dezinfekčným roztokom (70% alkohol);
- ✓ všetko kontaminované oblečenie dezinfikovať s použitím niektorého z dezinfekčných roztokov a následne autoklávovať;
- ✓ kontaminovanú pokožku umyť mydlom a dezinfikovať 70% alkoholom;
- ✓ dezinfikovať laminárny box a miestnosť UV žiarením.

Vypracoval:

Schválil:

RNDr. Peter Ferianc, CSc.
vedúci projektu

Ing. Eva Kutejová, DrSc.
riaditeľka ústavu

V Bratislave, 05.06.2023