# HAVARIJNÝ PLÁN (HP) pre GMO RT2

vypracovaný vedúcim GMO projektov MUDr. Ing. Mgr. Petrom Celecom, PhD., MPH., č.registrácie 54/06/11.

## A. VŠEOBECNÁ ČASŤ HP

**1. Identifikácia používateľa:** **Univerzita Komenského v Bratislave**
**Lekárska fakulta**
**Špitálska 24**
**813 72 Bratislava**
**IČO: 39786501**

**Štatutárny zástupca: prof. MUDr. Juraj Šteňo, DrSc., dekan**
**Vedúci GMO projektov**: MUDr. Ing. Mgr. Peter Celec, PhD., MPH, ÚMBM LF UK, budova NTÚ, miestnosť č. 447, tel. 02/59357 296

**2. Identifikácia zariadenia:** **Laboratóriá 458/3 h, i, j, g a f na 5. poschodí NTÚ v komplexe Lekárskej fakulty UK v Bratislave**
**Zariadenie úrovňou ochrany zodpovedá práci s biologickými faktormi 2 a je určené aj pre prácu s GMO v rizikovej triede 2**
**Číslo zariadenia: ....N/A.....**

**3. Orgány určené na odstraňovanie následkov možnej havárie:**

**Výbor pre biologickú bezpečnosť**
*Interní členovia výboru:*
MUDr. Ing. Mgr. Peter Celec, PhD., MPH – Ústav molekulárnej biomedicíny LF UK – predseda Výboru a vedúci GMO projektov
RNDr. MUDr. Roman Gardl²k, PhD. – zástupca predsedu Výboru
*Externí členovia výboru:*
RNDr. Tatiana Bet§kov§, CSc. – VirologickÎ ½stav SAV
doc. RNDr. Vladim²r Zajac, CSc. – Ðstav experiment§lnej onkol· gie SAV
RNDr. J§n Bakoġ, PhD. – Ðstav experiment§lnej endokrinol· gie SAV

**Informácia o vedúcom GMO projektov**
MUDr. Ing. Mgr. Peter Celec, PhD., MPH, ÚMBM LF UK, budova NTÚ, miestnosť č. 447, tel. 02/59357 296, e-mail: petercelec@gmail.com
*Odborná kvalifikácia :*

| | |
|---|---|
| Vzdelanie : | VŠ, Prírodovedecká fakulta UK v Bratislave, odbor biológia, špecializácia: molekulárna biológia |
| Odborné kurzy : | kurz MŽP pre vedúcich projektov absolvoval prvýkrát 30.5.2006; odborná prax v používaní genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov : 11 rokov, číslo registrácie na MŽP – 54/06/11. |

**4.Plán zariadenia:**

## 5. Údaje o množstve a druhu GMO RT2

**V rizikovej triede 2 vznikajú rádovo desiatky mililitrov geneticky modifikovaných organizmov druhy:**

Mus musculus C57BL/6, Shank3 KO, maximálna jednorazová možná zástava je 200 myší

E. coli alebo S. enteritica, maximálne 300ml

## 6. Opis ochranných opatrení

Pre prácu so vzduchom šíriteľnými baktériami a biologickými faktormi triedy 2 je vyhradený laminárny box so stálou filtráciou cirkulujúceho vzduchu a s využitím UV žiariča, v laboratórnom trakte dedikovanom pre prácu s GMO je autokláv na likvidáciu biologického odpadu.

**Dátum začatia** práce s GMO – **11/ 2017**
**Dátum ukončenia** - nemožno určiť, nejedná sa o jednorazovú záležitosť, ale stále prebiehajúci vedecko-výskumný proces, predbežne maximálne do 31.12.2020.

## 7. Opis havárie a odporúčané postupy sú bližšie uvedené v pohotovostnej a operatívnej časti tohoto havarijného plánu.

**Dňa 20.10.2017**

**MUDr. Ing. Mgr. Peter Celec, PhD., MPH**
**vedúci GMO projektov**

# B. POHOTOVOSTNÁ ČASŤ HP

## 1. Plán vyrozumenia

V prípade havárie, neželaného úniku patogénov alebo GMORT2, prípadne nehody s možnými zdravotnými následkami pre pracovníka alebo iné osoby je nevyhnutné o tejto udalosti

a) informovať vedúceho GMO projektov MUDr. Ing. Mgr. Peter Celec, PhD., MPH, ÚMBM LF UK, budova NTÚ, miestnosť č. 447, tel. 02/59357 296, e-mail: petercelec@gmail.com.
.

b) informovať iného interného člena výboru pre bezpečnosť práce s GMO:
RNDr. MUDr. Roman Gardl²k, PhD. – zástupca Vedúceho GMO projektov, ÚMBM LF UK, budova NTÚ, miestnosť č. 458, tel. 02/59357 296, e-mail: romangardlik@gmail.com

Títo pracovníci PriF UK sú zodpovední za poučenie pracovníkov o správnom spôsobe a postupe v prípade havárie a tiež sú kompetentní vyhotoviť o udalosti záznam ako aj informovať o udalosti technika BOZP na LF UK – pána Magdolena.

## 2. Opis biologických faktorov a vlastnosti GMO RT2

V zariadení sa pracuje s nasledovnými biologickými faktormi:
*Escherichia coli*
*Salmonella enterica*
*Mus musculus Shank3- KO*

V zariadení vznikajú iba GMO, ktoré môžu mať minimálne nepriaznivé účinky na zdravie človeka (ako hostiteľské organizmy sa nevyužívajú patogénne kmene), pričom vznikajú v zanedbateľných množstvách a preto ani neželaný únik zo zariadenia nepredstavuje žiadne riziko alebo životné prostredie.

V uzavretých priestoroch vrámci vedeckého výskumu vznikajú rádovo mililitre geneticky modifikovaných mikroorganizmov, z ktorých by pri dodržaní prevádzkového poriadku nemalo uniknúť zo zariadenia nič. V prípade neželaného úniku by sa preto jednalo len o veľmi malé množstvá bakteriálnej suspenzie, ktoré je možné dezinfikovať pomocou bežných dezinfekčných prostriedkov, na tento účel držaných v uvedenom zariadení.

Z posudzovania rizika a zatriedenia zariadenia do rizikovej triedy 2 však vyplýva, že v zariadení by nemali vzniknúť GMO, ktoré predstavujú riziko pre zdravie človeka, ani ŽP.

## 3. Ochranné bariéry a likvidácia patogénov a GMO RT2

a) Uzavreté priestory laboratória **458/3 f, g, h**, **i** a **j** sú vyhradené pre prácu s biologickými faktormi zaradenými medzi GMO
b) Svojím technickým riešením a vybavením (UV recirkulačný kabinet a autokláv) predstavujú dostatočnú bariéru pre ochranu zamestnancov pri práci, ako aj niekoľko bariér na zamedzenie vzniku havárie, ktorá by mohla mať nepriaznivé účinky na zdravie iných osôb alebo životné prostredie.
c) Vo vyhradených priestoroch je redukovaný pohyb osôb a vyhradené priestory sú označené.
d) Prevádzkový poriadok a pravidlá pre prácu v zariadení považujeme za dostatočné opatrenia, na zabránenie takejto havárii.
e) V uzavretých priestoroch pre GMO RT2 sa využívajú genetické technológie, pri ktorých by nemalo dôjsť k vzniku patogénnych GMO, dôležitý v tomto smere je spôsob likvidácie

GMO a zabezpečenie dezinfekcie odpadu, ktorý pri práci s GMO vznikne. Prevádzkový poriadok tento krok rieši tak, aby sa do bežného odpadu ani kanalizácie nedostali žiadne živé GMO. Hlavnou zásadou je dôsledná dezinfekcia odpadu sterilizáciou v autokláve, ktorým je laboratórium vybavené.

f) Opis možných následkov havárie pri práci s biologickými faktormi:
*E. coli* s *S. enterica* – nešíria sa vzduchom a sú ľahko inaktivovateľné bežnými dezinfekčnými prostriedkami, v prípade infekcie je dostupná liečba antibiotikami.

g) Opis havárie a možných následkov havárie pri práci s GMO RT2
Za haváriu možno považovať poruchu laminárneho boxu pri práci s BF2, rozliatie bakteriálnej suspenize, prípadne poruchu autoklávu. Pri poruche boxu je potrebné dekontaminovať vzduch prenosným UV žiaričom, pri rozliatí suspenzie dezinfikovať kontaminovaný povrch, pri poruche autoklávu zabezpečiť dekontamináciu odpadu iným vyhodným spôsobom, podľa Prevádzkového poriadku pre GMO zariadenie RT2.V prípade neželaného úniku – havárie pri práci s GMO RT2, je potrebné uviesť, že všetky hostiteľské mikroorganizmy sú nepatogénne auxotrofné mutanty - špeciálne oslabené mikroorganizmy, ktoré nie sú schopné prežiť ani množiť sa mimo laboratória a odovzdávať genetickú informáciu divo žijúcim druhom.

**Dňa 20.10.2017**

**MUDr. Ing. Mgr. Peter Celec, PhD., MPH**
**vedúci GMO projektov**

# C. OPERATÍVNA ČASŤ HP

**I. Opis opatrení na odstránenie vzniknutej havárie**

a) Postup pre dekontamináciu postihnutých osôb a miestností:
Odporúčaný postup pri neželanom úniku je dôsledná dezinfekcia.
Ako dezinfekciu možno použiť 65% alkohol, ktorý je okrem bežných dezinfekčných prostriedkov (Ajatín, Savo a p.) v laboratóriu, a je vhodný aj na povrchovú dezinfekciu osôb.
Ak je infikovaný uzavretý priestor, je vhodné použiť aj iný dezinfekčný prostriedok, najmä zdroj UV žiarenia, na dobu minimálne 12 hodín.
Všetky použité nádoby aj nástroje použité na dekontamináciu je potrebné klasifikovať ako kontaminovaný odpad a následne ho dezinfikovať sterilizáciou.
b) Opis presného postupu pre likvidáciu bakteriálnej suspenzie je uvedený v Prevádzkovom poriadku. ako Pravilá pre likvidáciu neželaného úniku.

**II. Záznamy o udalostiach a analýza ich príčin**

Vedúci projektu a predseda výboru pre prácu s GMO na LF UK zhromažďuje všetky dostupné záznamy o udalostiach vo všetkých zariadeniach Lekárskej fakulty UK, ku ktorým došlo vrámci práce s patogénmi alebo GMO RT2. Ostatní členovia výboru sú povinní vedúceho projektu informovať v prípade, ak sú na takúto udalosť upovedomení neodkladne. Vedúci projektu bezodkladne informuje o udalosti technika BOZP a v prípade GMO RT2 aj nadriadený orgán – odbor biologickej bezpečnosti MŽP.

Vedúci projektu spolu s internými členmi výboru analyzujú každú jednotlivú udalosť zvlášť a zo zistených príčin operatívne vyvodia závery, aby sa podobná udalosť nezopakovala. O všetkých udalostiach na riadnom zasadnutí kompletného výboru upovedomia spolu so závermi ostatných členov výboru pre bezpečnosť práce s GMO.
Záznamy o udalostiach spolu so závermi sú súčasťou dokumentácie príslušného zariadenia.

**III. Uplatňovanie zodpovednosti za vzniknuté škody a zabezpečenie ich náhrady**

Zamestnanci bezprostredne prítomní pri udalosti, nehode alebo havárii sú povinní bezodkladne o tomto informovať vedúcu projektu, prípadne jej zástupcu a dezinfikovať mikroorganizmy pomocou na to určených dostupných prostriedkov v priestore laboratória.
Keďže pracujú s relatívne malými množstvami mikroorganizmov ani neželaný únik – havária v priestoroch laboratória nepredstavuje vážny zdravotný problém pre ostatných zamestnancov, študentov alebo návštevníkov LF UK a jej okolie. Mimo týchto vyhradených priestorov je práca a manipulácia s patogénmi a GMO RT2 zakázaná.

## IV. Únik zvierat, uhryznutie zvierat, iné neočakávané udalosti

Základným opatrením na zabránenie úniku GMO a GMM je predchádzanie, prevencia nehôd a udalostí. Prevencie dosahujeme perfektným a pripraveným plnením len povolených pracovných povinností zamestnancami. Pracovníci povinní dodržiavať zásady bezpečnosti práce a protipožiarnej ochrany v infekčnom prostredí, dodržiavať prevádzkové poriadky laboratória, pravidelne sa zúčastňovať školení minimálne v termínoch stanovených zákonom a zúčastňovať sa pravidelných preventívnych lekárskych prehliadok. Ďalej je treba vykonávanie preventívne dekontamináciu priestoru UV svetlom, čistenie laboratórnych stolov dezinfekčnými roztokmi a kontrolovať dvere, okná po stránke technického a mechanického zabezpečenia pred otvorením alebo rozbitím a chránením sieťkou, kontrolovať stav pascí návnad atď.

Udalosťou nazývame každú udalosť pri ktorej sa mohli geneticky modifikované organizmy uvoľniť do prostredia mimo pracovného priestoru. Každá udalosť musí byť zaznamenaná. Postup udalostí bližšie charakterizuje Havarijný plán, ktorý je zverejnený na http://www.imbm.sk/sk/vyrocne-spravy-a-dokumenty/.

Postup v prípade udalosti:

- prerušiť prácu, kontaktovať vedúceho projektu a zreteľne opísať danú udalosť
- pokúsiť sa zabrániť ďalšiemu šíreniu geneticky modifikovaných organizmov
- zaznamenať všetky technické zlyhania počas práce s geneticky modifikovanými organizmami,

Potenciálne udalosti:

8.1 Únik GM zvieraťa v priestoroch pokusného zariadenia

- Opis udalosti: možný únik napríklad pri prekladaní zvieraťa z jednej nádoby do druhej pri výmene podstielky alebo pri manipulácii so zvieraťom pri experimentálnej práci
- Postup na odstránenie udalosti: pracovník sa pokúsi odchytiť unikajúce zviera a vrátiť ho do klietky. V prípade neúspechu sú druhou vlnou ochrany uzavreté dvere miestnosti a pasce na hlodavce. V danom čase sa manipuluje iba s jednou vanicou, preto po úspešnom odchytení, môže byť zviera vrátené do domácej klietky. V prípade neúspechu, pasce sú konštruované tak, že zviera neprežije, preto návrat do domácej klietky nebude možný ani keby sa podarilo identifikovať, do ktorej klietky zviera patrí. Spontánny únik z uzavretej klietky je extrémne nepravdepodobný vzhľadom na konštrukciu vaníc.

8.2 Únik GM zvieraťa do vonkajšieho prostredia

- Opis udalosti: pokiaľ napriek vyššie uvedeným ochranným opatreniam dôjde k úniku zvieraťa do prostredia, postup na odstránenie udalosti: pracovník sa pokúsi odchytiť unikajúce zviera a vrátiť ho do klietky. Systém GMO je nastavený tak, aby v prípade úniku z jednej miestnosti GMO schválenej sa dostala do druhej GMO schválenej miestnosti. Miestnosti sú uzavreté hermeticky, preto je únik do reálne vonkajšieho prostredia nemožný. V prípade udalosti, že zviera prejde cez prvú bariéru do druhej bariérovej miestnosti, privolá sa ďalší personál na pomoc, a zviera sa pokúsime odchytiť. V prípade zlyhania, ostáva iba kontaktovať príslušné orgány štátnej správy a postupovať podľa Zákona 151/2002 Z.z. o používaní genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov.

8.3 Uhryznutie zamestnanca

- Opis: k uhryznutiu zamestnanca experimentálnym zvieraťom môže dôjsť pri prekladaní zvieraťa z jednej nádoby do druhej pri výmene podstieľky alebo pri manipulácii so zvieraťom pri experimentálnej práci. V prípade uhryznutia zamestnanca GM hlodavcom nepredpokladáme prenos genetickej informácie, keďže v slinách hlodavcov sa nachádza len zanedbateľné množstvo DNA, ktoré by nemalo predstavovať problém pre obranné mechanizmy ľudského imunitného systému a preto je prenos genetickej informácie vysoko nepravdepodobný.

Postup na odstránenie udalosti: Po uhryznutí je zamestnanec povinný vydezinfikovať postihnuté miesto dezinfekčným roztokom, zastaviť krvácanie a aplikovať ochrannú náplasť.

**Metódy na kontrolu GMO**

*Mikrooganizmy*

S GMO mikroorganizmami je možné pracovať len v na to určených priestoroch. Akýkoľvek biologický materiál (či už kontaminovaný alebo nie) opúšťajúci tento priestor prechádza sterilizačným postupom – autoklávovaním pri 121 °C po dobu aspoň 30 minút. V prípade, že by sa predsa len kontaminovalo alebo by bolo podozrenie na kontamináciu nie GMO biologického materiálu a teda potenciálnemu vneseniu cudzorodých DNA sekvencií, postup je určený nasledovne:

1. Odobrať vzorku potenciálne kontaminovaného biologického materiálu
2. Izolovať DNA
3. Pomocou špecifických primerov a PCR detegovať príslušné sekvencie
4. V prípade potvrdenia prítomnosti DNA sekvencií v danom organizme sa pristúpi k likvidácii biologického odpadu, pričom je určený nasledovný postup:
    a. GMO určené na likvidáciu sú inaktivované na mieste v laboratóriu dezinfekčným roztokom (Chloramin T 2%/30 minút, Etanol 70%/30 minút, SAVO 5%/60 minút).
    b. Zbieranie v nádobách na to určených
    c. Hromadne sterilizácia biologického odpadu autoklávovaním pri teplote 121°C počas aspoň 30 minút. Aj takto inaktivovaný odpad opúšťa priestory určené na GMO a následne budovu ako bežný biologický odpad.

*GMO zvieratá*

S GMO zvieratami (KO myši) je možné pracovať len v na to určených priestoroch. Nakoľko kontaminácia genetickým materiálom je možná len z generácie na generáciu, GMO zvieratá určené na rozmnoženie a experiment budú ogenotypizované a následne bude ogenetypizovaný aj každý potomok pomocou príslušných primerov a PCR metodiky. Každý jedinec bude označený nezameniteľným ušným tagom a výsledok genotypizácie bude zaznamenaný do denníka.

Vzhľadom na niekoľkonásobný bariérový prístup, je nasledovná situácia iba hypotetická: V prípade nechceného pripárovania (náhodný únik a stretnutie GMO zvierat, prípadne pripárenie GMO a neGMO jedincov) sa rodičovský organizmus (matka) aj s potomstvom humánne usmrtí (predávkovanie anestetikom a cervikálna dislokácia). Takto inaktivovaný biologický materiál následne prejde tiež autoklávovaním pri 121°C počas aspoň 30 minút, následne v zmysle prevádzkového poriadku bude odstránený ako biologický materiál.

**Dňa 20.10.2017**

**MUDr. Ing. Mgr. Peter Celec, PhD., MPH**
**vedúci GMO projektov**

## 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 obrany

| Záchranné služby, orgány verejného zdravotníctva | Telefón |
|---|---|
| Záchranná zdravotná služba | 112 alebo 155 |
| MUDr. Július Hodosy, lekár na Centrálnom príjímacom oddelení v UNB | 02/48234 167 |
| Regionálny úrad verejného zdravotníctva BA, www.ruvzba.sk | 02/4333 8286, 0917 426 111 |
| Úrad verejného zdravotníctva SR, www.uvzsr.sk | 02/4928 4111 |
| Národné toxikologické informačné centrum | 02/5477 4166 alebo 5465 |
| Hasičský a záchranný zbor | 112, 150 |
| Polícia | 158, 112 |
| Odbor CO a krízového riadenia Obvodného úradu BA | 02/5931 2111 |
| Obvodný úrad životného prostredia BA – ústredňa | 02/6030 1706 |

doc. MUDr. RNDr. Ing. Peter Celec, DrSc., MPH