

**Prevádzkový poriadok laboratória č. 470**  
**pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami RT2**  
(podľa §9 ods.3) Vyhlášky č. 274/2019 Z.z.)

1. **Opis pracovných priestorov:** laboratórium č. 470 sa nachádza na 4. poschodí budovy Virologického ústavu (VÚ) Biomedicínskeho centra SAV, v. v. i. (BMC SAV), Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava. Miestnosť je zatriedená do rizikovej triedy (RT) 2 a je určená pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami (GMO) RT2 a RT1.

Laboratórium je určené pre používanie genetických technológií, techník rekombinantnej nukleovej kyseliny, vrátane tvorby nových kombinácií genetického materiálu vkladáním molekúl nukleovej kyseliny vytvorených mimo organizmu do vírusu, bakteriálneho plazmidu alebo iného systému nosiča a ich vnesenie do príjemcu, v ktorom sa prirodzene nevyskytujú, ale v ktorom sú schopné kontinuálne sa množiť. V laboratóriu sú vykonávané laboratórne postupy, ako: kultivácia prokaryotických alebo eukaryotických buniek za fyziologických podmienok, extrakcia proteínov, fixácia a permeabilizácia buniek, farbenie buniek, imunoznačenie buniek, separácia proteínov a pod.

Výbavu laboratória 470 tvoria chladnička s mrazničkou, mikroskop, termostat, laminárny box a ďalšie bežné vybavenie bunkového laboratória.

Miestnosť má vlastnú klimatizáciu. Okná v miestnosti sa neotvárajú, miestnosť je zabezpečená uzamykateľnými dverami. Povrchy a vzduch laboratória je možné dekontaminovať v miestnosti integrovanou UV lampou. Podlaha pokrytá PVC je ľahko umývateľná a dezinfikovateľná. Povrch pracovných stolov je ľahko umývateľný, odolný voči vode, kyselinám, zásadám, rozpúšťadlám, dezinfekčným látkam a dekontaminačným činidlám.

2. **Pravidlá práce s GMO:**

- počas manipulácie s GMO je nutné nosiť pracovný plášť a gumené rukavice;
- dvere a okná uzavretého priestoru musia byť počas manipulácie s GMO uzavreté;
- pracovný povrch musí byť dekontaminovaný po každej manipulácii a na konci pracovného týždňa, podlaha je denne umývaná detergentami určenými na dezinfekciu;
- ak sa pracovné miesto kontaminovalo, okamžite musí byť dekontaminované;
- počas manipulácie s GMO sa neodporúča nosiť na rukách hodinky alebo šperky;
- pracovný odev, ktorý bol kontaminovaný s GMO, musí byť pred práním dekontaminovaný;
- v tomto priestore sa nesmie fajčiť, jesť a požívať nápoje;
- GMO musia byť čitateľne označené;
- počas manipulácie s GMO treba predchádzať tvorbe a šíreniu aerosólov.

3. **Spôsob uchovávaní GMO:**

- v uzavretom priestore sa budú GMO uchovávať krátkodobo pri 4° C v chladničke, príp. dlhodobo v mrazničke pri -20°C;
- GMO musia byť viditeľne označené tak, aby bolo možné ich bližšie identifikovať v registračnom systéme;
- geneticky nemodifikované organizmy sa uchovávajú oddelene od GMO;
- nevyužívané GMO RT2 musia byť zlikvidované sterilizáciou pri 121°C počas 30 min. alebo minimálne inaktiváciou v dezinfekčnom roztoku 5% chlórnan sodný/24 hod, 2% roztok alkalického glutaraldehydu/60 minút. Nevyužívané GMO RT1 musia byť zlikvidované minimálne inaktiváciou v dezinfekčnom roztoku 5% chlórnan sodný/24 hod, 2% roztok alkalického glutaraldehydu/60 minút. Finálna likvidácia – spaľovňa.

| <b>Podmienky uskladnenia GMO</b> | <b>Spôsob uchovávania GMO</b>                 |
|----------------------------------|---|
| chladnička v laboratóriu (4°C)   | uzavreté a označené skúmavky v stojane        |
|                                  | eppendorfove skúmavky v označených krabičkách |
| mraznička v laboratóriu (-20°C)  | eppendorfove skúmavky v označených krabičkách |
|                                  | uzavreté a označené skúmavky v stojane        |

#### **4. Spôsob označovania GMO:**

- názov GMO;
- názov genetickej modifikácie, ktorú obsahujú;
- dátum uchovania;
- meno pracovníka, ktorý GMO uchováva.

#### **5. Spôsob likvidácie GMO:**

- materiál, ktorý bol v kontakte s GMO RT2 a nie je možné ho autoklávovať, musí byť chemicky dekontaminovaný na mieste namočením do dezinfekčného roztoku – 5% chlorňan sodný/24 hod alebo 2% roztok alkalického glutaraldehydu/60 minút. Definitívne sa likviduje v zdravotníckej spaľovni;
- inaktivácia GMO RT2 je uskutočňovaná sterilizáciou, autoklávaním 30 minút pri 121 °C a finálna likvidácia v spaľovni;
- GMO zatriedené do RT1 určené na likvidáciu sú inaktivované chemicky ponorením do dezinfekčného roztoku (napr. 1% ajatín/30 min., 3% chloramín B/30 min., 5% SAVO/1 hod., 5% chlorňan sodný/24 hod), následne sa sústreďujú v nádobách na to určených a definitívne likvidujú v spaľovni.

#### **6. Podmienky prenosu GMO v uzavretých priestoroch a na verejných priestoroch:**

##### a) prenos GMO v priestoroch používateľa:

- GMO musia byť prenášané v pevne uzavretých, povrchovo nekontaminovaných a pokiaľ je to možné nerozbitných nádobách tak, aby nedošlo k ich úniku do okolia.

##### b) prenos GMO na verejných priestoroch:

- GMO, ktoré patria do RT1 a RT2, musia byť prenášané v dvoch pevne uzavretých nádobách. Medzi jednotlivými prenášanými nádobami musí byť umiestnený vhodný absorbujúci materiál, ktorý vyplní priestor medzi nimi. V prípade použitia suchého ľadu, vonkajšia nádoba musí byť vybavená ventilom, ktorý umožní ventiláciu uvoľňovaného CO<sub>2</sub>.
- identifikačné údaje o prenášanom materiáli musia byť uvedené v sprievodnom liste a na každej prenášanej nádobe.
- každý verejný transport GM materiálu musí byť oznámený vedúcemu projektu a musí byť v súlade s ADR (zákon č. 56/2012 Z. z. o cestnej doprave v znení neskorších predpisov - §34, §35).

#### **7. Zabezpečenie uzavretých priestorov pred únikom GMO pri prevádzke:**

- a) Uzavretý priestor, laboratórium č. 470 a jeho stavebno-technické zabezpečenie predstavuje dostatočnú zábranu znemožňujúcu fyzický kontakt GMO s okolím a bariéru voči nekontrolovateľného úniku GMO. V uzavretom priestore je redukovaný pohyb osôb. Mechanické prekážky tvoria okná, siete proti hmyzu na oknách, dvere, nepriepustné steny a umiestnenie laboratória na 4. poschodí budovy VÚ. Biologické prekážky tvoria lepiace pasce na hlodavce a hmyz.
- b) Chemické zábrany predstavujú dezinfekčné prostriedky, ktoré sú rutinnou výbavou laboratória. Dôležitý je spôsob likvidácie GMO a zabezpečenie dezinfekcie odpadu, ktorý môže pri práci s GMO vzniknúť. Systém práce s GMO je zabezpečený tak, aby sa do bežného odpadu, ani kanalizácie nedostali žiadne

GMO. Hlavnou zásadou je dôsledná inaktivácia a likvidácia všetkých nepotrebných GMO RT2 autoklávovaním 30 minút pri 121°C a GMO RT1 chemickými dezinfekčnými prostriedkami ešte pred zlikvidovaním odpadu v zdravotníckej spaľovni, a dezinfekcia a dekontaminácia všetkých povrchov, nástrojov a nádob, ktoré boli v kontakte s GMO chemickými inaktivačnými a dezinfekčnými prostriedkami, ktoré sú povinnou výbavou každého uzavretého priestoru.

### Kontrolné a iné ochranné opatrenia pre laboratórium

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

|   | Popis   | Úroveň ochrany<br>- 2        | Laboratórium č. 470  |
|---|---|------------------------------|--|
| 1   | Laboratórne miestnosti – izolácia <sup>1)</sup>   | nevyžaduje sa                | samostatná miestnosť   |
| 2   | Laboratórium hermeticky uzatvoriteľné na dezinfekciu plynom   | nevyžaduje sa                | nie  |
| <b>Vybavenie (zariadenie laboratória)</b> |   |                              |  |
| 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 <sup>2)</sup>   | 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, v budove, miestnosť č. 331  |
| <b>Systém práce</b>                       |   |                              |  |
| 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  |
| <b>Odpad</b>                              |   |                              |  |
| 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. |
| <b>Iné opatrenia</b>                      |   |                              |  |
| 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  |

<sup>1)</sup> Izolácia – laboratórium je oddelené od iných miest v budove alebo je v oddelenej budove.

<sup>2)</sup> 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 prezliekarňou alebo sprchami, a ak je to možné, blokovacími dverami.

## **8. Metódy na odstránenie GMO pri ich nekontrolovanom úniku:**

Každá udalosť, pri ktorej sa mohli GMO uvoľniť do prostredia mimo pracovného priestoru musí byť ohlásená vedúcemu projektu a zaznamenaná.

### Udalosť

- pád nádoby, ktorá obsahuje GMO, pričom došlo k rozliatiu suspenzie na podlahu/stôl v pracovnom priestore
- GMO sú uložené v poškodenej nádobe alebo sú infikované patogénom
- prítomnosť GMO v odpade ako dôsledok nesprávneho postupu pri inaktivácii

#### *Postup v prípade udalosti:*

- prerušiť prácu, kontaktovať vedúceho projektu a zreteľne opísať danú udalosť
- pokúsiť sa zabrániť ďalšiemu šíreniu GMO okamžitou aplikáciou 70% etanolu, 1 – 5% roztoku chloramínu B alebo 2% roztoku alkalického gluteraldehydu. Materiál, ktorý bol v priamom styku s biologickým materiálom (rukavice, utierky, pracovný odev a pod.) sa zlikviduje v spaľovni. Sklenený materiál sa dekontaminuje 1 – 5% roztokom chloramínu B a autoklávaním 30 minút pri 121 °C.
- GMO uložené v poškodenej nádobe opatrne premiestniť (preliať, prepipetovať, preložiť) do nepoškodenej nádoby, nádobu označiť a odložiť. Poškodenú nádobu dekontaminovať chemicky 1 – 5% roztokom chloramínu B a autoklávaním 30 minút pri 121 °C.

### Nehoda

Nehoda zahŕňa všetky udalosti, pri ktorých počas manipulácie s GMO došlo k zraneniu alebo pravdepodobnej kontaminácii zamestnancov. Všetky nehody musia byť zaznamenané.

#### *Postup pri nehode:*

Okamžite oznámiť nehodu vedúcemu projektu, vedúcemu oddelenia alebo predsedovi výboru pre biologickú bezpečnosť:

Vedúci projektu: RNDr. Ingeborg Režuchová, PhD., MPH., tel.: 59302439, č. dverí 414

Vedúci oddelenia: Mgr. Eliška Švastová, PhD., tel.: 59302404, č. dverí: 418

Predseda výboru pre bezpečnosť: RNDr. Ingeborg Režuchová, PhD., MPH., tel.: 59302439, budova VÚ BMC SAV, 4p., č. dverí 414

- 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 jódovou tinktúrou
- v prípade, že boli zasiahnuté oči, ústa a iné, opláchnuť ich dostatočným množstvom vody
- vyhľadať lekársku pomoc
- nehodu písomne zaznamenať

### Porušenie pracovných pravidiel

Každé porušenie pracovných pravidiel musí byť zaznamenané.

Príklady porušenia pravidiel:

- GMO sú uskladnené bez označenia
- použitie GMO, ktoré nebolo zaevidované v prevádzkovom denníku
- neposkytnutie údajov vedúcemu projektu o používaných GMO RT1 pre účely evidencie GMO podľa §14 vyhlášky č. 86/2013 Z.z.

- neposkytnutie údajov a neinformovanie vedúceho projektu o zámere používať GMO RT2 pre účely Ohlásenia začatia činnosti zatriedenej do RT 2 v uzavretom priestore

*Postup pri porušení pracovných pravidiel:*

Porušenie pracovných pravidiel zaznamenáva vedúci projektu a následne ohlási vedúcemu oddelenia alebo predsedovi výboru pre biologickú bezpečnosť. Voči pracovníkovi, ktorý porušil pracovné pravidlá, sa vyvodzuje zodpovednosť a postupuje sa podľa platného Pracovného poriadku BMC SAV.

## **9. Prevádzkový denník**

Všetky činnosti spojené s GMO sa zaznamenávajú do Prevádzkového denníka.

21. 08. 2023

RNDr. Ingeborg Režuchová, PhD., MPH.  
vedúci projektu, ev. č. 51/02/11

Prevádzkový poriadok schválil Výbor pre bezpečnosť BMC SAV, v. v. i. dňa: 23. 08. 2023.

RNDr. Ingeborg Režuchová, PhD., MPH.  
Predseda Výboru pre bezpečnosť BMC SAV, v. v. i.