

Prevádzkový poriadok
pre činnosti s GMO zatriedenými do rizikovej triedy 2
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Laboratórium biomedicínskej mikrobiológie a imunológie

Prevádzkový poriadok pre činnosti s GMO v zariadeniach zatriedených do rizikovej triedy 2 v miestnostiach č. 512, 513, 514, 515, 519 a č. 520 v Laboratóriu biomedicínskej mikrobiológie a imunológie Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach je vypracovaný v súlade s vyhláškou Ministerstva životného prostredia SR č. 274/2019 Z. z., ktorou sa vykonáva zákon č. 151/2002 Z. z. o používaní genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov v znení neskorších predpisov.

1. Opis pracovných priestorov

Miestnosti č. 512, č. 513, č. 514, č. 515, č. 519 a č. 520 sa nachádzajú v Laboratóriu biomedicínskej mikrobiológie a imunológie (LBMI) v areáli Univerzity veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach, Komenského 73, v Pavilóne č. 36 na 4. poschodí a sú určené na prácu s geneticky modifikovanými organizmami (GMO). Všetky spomínané miestnosti sú vybavené tak, aby nedošlo k úniku GMO – okná sú uzavreté s možnosťou vetrania (na vetrateľných oknách sú sieťky proti hmyzu, ktoré zabraňujú vstupu hmyzu do priestorov GMO), ostatné okná sú zabezpečené proti otváraniu (demontované kľučky na oknách) - nedochádza ku styku s vonkajším prostredím. Podlahy a steny v miestnostiach sú umývateľné.

Miestnosť č. 512 je určená na uskladnenie GMO v hlbokomraziacom boxe (do -80°C). Miestnosť je vybavená: laboratórny digestor, vstavaný chladiaci box ($4-8^{\circ}\text{C}$, obsahuje: magnetické miešadlo, rotátor, shaker), 2x hlbokomraziaci box (do -80°C), vákuová odpárka, homogenyzátor tkanív, 2x laboratórne váhy, výrobnik ľadu, drvič ľadu, vákuová pumpa, sonikátor, chladená centrifúga a mini centrifúga.

Miestnosť č. 513 je určená pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami (GMO) hlavne s prokaryotickými bunkami v sterilnom prostredí, ich množení a ich uchovávaní v mrazničke/chladničke. Miestnosť je vybavená: laminárny box (vrátane UV lampy), 4x termostat, 2x chladnička, centrifúga s chladením, minicentrifúga, mikrovlnná rúra, merač optickej denzity, germicídny žiarič.

Miestnosť č. 514 je určená pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami (GMO) hlavne s eukaryotickými bunkami v sterilnom prostredí a ich množení. Miestnosť je vybavená: 2x laminárny box (vrátane UV lampy), 2x CO_2 termostat, 2x chladnička, 2x mikroskop, hybridný zobrazovací multidetekčný reader 7 Cytation, centrifúga, vodná lázeň, germicídny žiarič.

Miestnosť č. 515 je určená pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami (GMO) hlavne na izoláciu RNA a DNA v sterilnom prostredí. Miestnosť je vybavená: laminárny box (vrátane UV lampy), termostat, 2x realtime termocyklér, 2x centrifúga, minicentrifúga, vortex, mraznička, germicídny žiarič.

Miestnosť č. 519 je určená pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami (GMO) hlavne s prokaryotickými bunkami v sterilnom prostredí, ich množení a ich uchovávaní v mrazničke/chladničke. Miestnosť je vybavená: 2x laminárny box (vrátane UV lampy), 4x termostat, 2x chladnička, centrifúga s chladením, minicentrifúga, spektrofotometer, mikroskop, prietokový cytometer, transfekčný modul, elektroporátor, germicídny žiarič.

Miestnosť č. 520 je určená na umývanie a dezinfekciu laboratórneho skla, plastov, na sterilizáciu laboratórneho skla, na likvidáciu odpadu a inaktivovaných geneticky modifikovaných organizmov. Miestnosť je vybavená: 3x autokláv, práčka, umývačka laboratórneho skla, termostat, 2x sušička laboratórneho skla, reverzná osmóza.

2. Pravidlá práce s geneticky modifikovanými organizmami

- a) Počas manipulácie s GMO je nutné nosiť pracovný plášť alebo iné ochranné pracovné oblečenie (napr. jednorazové gumené rukavice). Tento pracovný plášť nesmie byť používaný v kanceláriách alebo v spoločných priestoroch a je výhradne určený na vykonávanie prác s GMO.
- b) Počas manipulácie s GMO musia byť okná a dvere zatvorené.
- c) Pracovné miesto musí byť udržiavané v poriadku a čistote.
- d) V uzavretých priestoroch je zakázané jesť, piť a fajčiť.
- e) Je zakázané roztoky pipetovať ústami.
- f) Pracovný povrch musí byť dekontaminovaný po každom experimente a na konci pracovného týždňa.
- g) Ak sa pracovné miesto kontaminovalo, musí byť okamžite dekontaminované.
- h) Pracovný odev, ktorý bol kontaminovaný s GMO (napr. v dôsledku nehody), musí byť pred práním dekontaminovaný.
- i) Materiál, ktorý bol v kontakte s geneticky modifikovanými organizmami (GMO), musí byť sterilizovaný (autoklávovaný) 30 minút pri teplote 121°C.
- j) O autoklávovaní sa vedie záznam.
- k) Celé miestnosti č. 513, 514, 515 a 519 sú každú noc na 1 hodinu sterilizované UV žiarením.
- l) Miestnosti č. 512, 513, 514, 515, 519 a č. 520 musia byť zreteľne označené symbolom bionebezpečnosti.
- m) Počas manipulácie s GMO treba predchádzať tvorbe a šíreniu aerosólov.
- n) V pracovnom priestore počas manipulácie s GMO nesmie byť žiaden hmyz.

3. Spôsob uchovávanía geneticky modifikovaných organizmov

- a) Nádoba, v ktorej sú uskladnené GMO, musí byť uzavretá a čitateľne označená.
- b) GMO musia byť označené tak, aby bolo možné ich bližšie identifikovať.
- c) Ak sú v rovnakom priestore uskladnené aj geneticky nemodifikované organizmy, musia byť uložené od seba oddelene.
- d) Nevyužívané GMO musia byť likvidované sterilizáciou (autoklávaním) 30 minút pri 121°C.
- e) GMO sa uchovávajú (skladujú) označené v uzavretých skúmavkách v mrazničke pri -20°C (miestnosti č. 513 a č. 519) alebo v hlbokomraziacom boxe do -90°C (miestnosť č. 512).

4. Spôsob označovania geneticky modifikovaných organizmov

Táto povinnosť sa týka geneticky modifikovaného materiálu, ktorý je používaný v experimentoch alebo je uchovávaný.

Geneticky modifikovaný materiál musí byť označený nasledovne:

- a) názov konštruktu,
- b) dátum experimentu alebo uskladnenia,
- c) meno osoby, ktorá pracuje s týmto materiálom.

Označenie musí byť viditeľné a čitateľné.

5. Spôsob likvidácie geneticky modifikovaných organizmov

- a) GMO určené na likvidáciu je možné sústreďovať len v priestoroch, na to vopred určených (miestnosť č. 520).
- b) Plastové materiály, ktoré prišli do styku s geneticky modifikovanými organizmami (skúmavky, petriho misky, pipetovacie špičky a iné) je potrebné uskladňovať v autoklávovateľných nádobách (Typ BIOHAZARD) a následne zabaliť do vrecúška. Ďalej bude sterilizovaný (autoklávaný) 30 minút pri teplote 121°C.
- c) Sklenený materiál, ktorý prišiel do styku s geneticky modifikovanými organizmami (sklenené petriho misky, sklenené tyčinky, hokejky a iné) je potrebné uskladňovať v autoklávovateľných nádobách (Typ BIOHAZARD) a následne zabaliť do vrecúška. Ďalej bude sterilizovaný (autoklávaný) 30 minút pri teplote 121°C.
- d) Tekutý odpad, ktorý prišiel do styku s geneticky modifikovanými organizmami je potrebné uskladňovať v uzatvárateľných nádobách. Chemicky bude zneškodnený na mieste pomocou Virkonu alebo Chloramínu T po dobu 30 minút a následne sterilizovaný (autoklávaný) 30 minút pri teplote 121°C.
- e) Skalpel a ihly, ktoré prišli do styku s GMO zbierať do nádoby na to určenej a následne zabaliť do vrecúška. Ďalej bude sterilizovaný (autoklávaný) po dobu 30 minút pri teplote 121°C.
- f) Sterilizácia biologického odpadu sa uskutočňuje sterilizáciou (autoklávaním) počas 30 minút pri 121°C.
- g) Deaktivovaný biologický odpad môže opustiť budovu ako bežný odpad.

6. Podmienky prenosu geneticky modifikovaných organizmov v uzavretých priestoroch a na verejných priestoroch

a) Prenášanie geneticky modifikovaných organizmov v uzavretých priestoroch

Geneticky modifikované organizmy musia byť prenášané v pevne uzavretých, povrchovo nekontaminovaných nádobách tak, aby nedošlo k ich úniku do okolia.

b) Prenášanie geneticky modifikovaných organizmov na verejných priestoroch

- GMO, ktoré patria do RT2, musia byť prenášané v dvoch pevne uzavretých nádobách. Medzi jednotlivými prenášanými nádobami musí byť umiestnený vhodný absorbujúci materiál, ktorý vyplní priestor medzi nimi.
- Identifikačné údaje o prenášanom materiáli musia byť uvedené na sprievodnom papieri a na každej prenášanej nádobe.
- Každý verejný transport geneticky modifikovaného materiálu musí byť oznámený vedúcemu projektu.
- Transport bude vykonaný v súlade s § 10 ods. 6 zákona č. 151/2002 Z.z. o používaní genetických technológií a GMO podľa podmienok vydaných v rozhodnutí MŽP pre konkrétne používanie GMO.

7. Opis zabezpečenia uzavretých priestorov pred únikom geneticky modifikovaných organizmov pri prevádzke

a) Uzavreté priestory laboratória vyhradené pre prácu s GMO predstavujú dostatočnú bariéru pri práci s GMO, ktoré nemajú nepriaznivé účinky na zdravie človeka a životné prostredie. Keďže miestnosti č. 512, 513, 514, 515, 519 nie sú priamo prepojené s miestnosťou č. 520 a transport GMO medzi týmito miestnosťami prebieha cez iné laboratórne priestory (cez chodbu), je vstup tretím osobám (osoby bez preškolenia o GMO vedúcim projektu) obmedzený. Vstup tretím osobám na pracovisko je umožnený len v prítomnosti vedúceho projektu. Podmienkou vstupu na pracovisko je, aby všetky tretie osoby mali oblečené vyhradené ochranné odevy a návleky na obuv, ktoré poskytne samotné pracovisko.

b) V uzavretých priestoroch sa využívajú genetické technológie, pri ktorých by nemalo dôjsť k nekontrolovateľnému úniku. 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 a kanalizácie nedostali žiadne GMO. Hlavnou zásadou je dôsledná dezinfekcia odpadu použitím vhodných roztokov a sterilizáciou (autoklávovaním).

ÚROVNE OCHRANY PRE LABORATÓRIA

(Kontrolné a iné ochranné opatrenia pre laboratória)

Opis		Úroveň ochrany 2	Miestnosti č.: 512, 513, 514, 515, 519 a 520.
1	Laboratórne miestnosti - izolácia	nevyžaduje sa	Áno - všetky miestnosti sú oddelené od iných miest v budove
2	Laboratórium hermeticky uzatvoriteľné 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)	Áno - pracovné povrchy sú ľahko umývateľné, odolné vode, kyselinám, zásadám, rozpúšťadlám, dezinfekčným látkam a dekontaminačným činidlám
4	Vehod do laboratória cez dekontaminačnú miestnosť	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 – v miestnostiach č. 513, 514, 515, 519.
8	Autokláv	v budove	Áno – nachádza sa v miestnosti č. 520

Systém práce

9	Zákaz vstupu	vyžaduje sa	Áno – označenie na dverách miestností č. 512, 513, 514, 515, 519 a 520
10	Označenie bionebezpečia na dverách	vyžaduje sa	Áno – označenie bionebezpečia na dverách v miestnostiach č. 512, 513, 514, 515, 519 a 520.
11	Zvláštne opatrenia na kontrolu aerosólu v ovzduší	vyžaduje sa minimalizovať	Áno - tvorba aerosólu sa eliminuje používaním GMO iba v laminárnych boxoch

13	Spreha	nevyžaduje sa	Nie
14	Ochranný odev	vhodný ochranný odev	Áno - pracovný plášť, pracovná obuv
15	Rukavice	voliteľné	Áno - jednorazové ochranné rukavice
16	Účinná kontrola vektorov (napríklad hlodavcov a hmyzu)	vyžaduje sa	Áno - sieťky proti hmyzu, lepiace pasce na hmyz (mucholapky), pasce na hlodavce

Odpad

17	Inaktivácia geneticky modifikovaných mikroorganizmov a geneticky modifikovaných organizmov v odpadových vodách, z umývadiel na umývanie rúk, spŕch a v podobných odpadových vodách	nevyžaduje sa	Nie
18	Inaktivácia geneticky modifikovaných mikroorganizmov a geneticky modifikovaných organizmov v kontaminovanom materiáli a v odpade	vyžaduje sa	Áno - chemická dekontaminácia v Chloramíne T alebo vo Virkone a následná sterilizácia (autoklávovanie) 30 minút pri teplote 121°C

Iné opatrenia



19	Laboratórium musí mať svoje vlastné vybavenie	nevyžaduje sa	Áno - všetky miestnosti v LBMI sú zariadené vlastným vybavením, vrátane vybavenia potrebného na dekontamináciu a deštrukciu GMO materiálu.
20	Laboratórium musí mať pozorovacie okienko alebo alternatívne zariadenie tak, že môžu byť prítomní v laboratóriu videní	voliteľné	Nie

8. Opis metódy na odstránenie genetickej modifikovaných organizmov pri ich nekontrolovanom úniku

Úroveň ochrany: 2			
Názov bariéry: sklenený materiál			
Č.	Možné úniky	Inaktivačné opatrenia	Preventívne opatrenia
1.	Rozbitá sklenená nádoba v prístroji (napr. trepačka), 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 2 % roztokom Chloramínu T /30 minút (70 %-ný etanol/30 minút, ...). Rovnako bude inaktívovaný aj ostatný materiál, ktorý prišiel do kontaktu s GMO. Dezinfekčným roztokom dôkladne vyčistíme prístroj (napr. trepačku) a jej postihnuté okolie, resp. miesto, ktoré bolo postihnuté, ako aj náradie použité pri odstraňovaní. Nádobu s inaktívovaným materiálom (vrátane inaktívovaného ostatného materiálu) a náradie použité pri odstraňovaní sterilizujeme autoklávaním. Dbáme na zvýšenú opatrnosť pri práci so sklom.	Pohotovostná zásoba dezinfekčného činidla a prostriedkov na odstránenie úniku v laboratóriu. 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.	Použitím dezinfekčného roztoku (Chloramín T/Virkon a pod.) dôkladne vyčistíme prasknutú nádobu, a postihnuté okolie nehody. Zabalíme nádobu do autoklavovateľného vrecúška a následne sterilizujeme autoklávaním 30 minút/121 °C. Následne priestor dezinfikujeme UV žiarením po dobu 1 hod.	Zvýšená pozornosť pri práci s mikroorganizmami obsahujúcim materiálom. Sterilizácia miestností č. 513, 514, 515, 519 použitím germicídneho žiariča mimo pracovnej doby minimálne 1x týždenne.
Názov bariéry: plastový materiál			
3.	Prasknutý plastový materiál (na jednorazové použitie)	V gumených rukaviciach vložiť plastový materiál do nádoby, kde bude inaktívovaný 2 % roztokom Chloramínu T resp. Virkonu/ 30 minút a následne sterilizovaný v autokláve 30 minút pri teplote 121°C.	Dôkladná kontrola plastov pred ich použitím. Náležitú pozornosť venovať výberu vhodnosti druhu plastov podľa účelu použitia.

		Dezinfekčným roztokom dôkladne poumývať postihnuté okolie.	
Názov bariéry: poškodenie okien			
4.	Prasknutie okenného skla	<p>Postup v prípade udalosti: Prerušit 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.</p> <p>Zabránenie panike predovšetkým vysvetlením, prečo kontakt s GMO používanými v laboratóriu nepredstavuje riziko. Doporučená dôkladná očista tela umytím.</p> <p>Zabezpečenie praskliny – utesnenie pomocou vhodného materiálu, urýchlená výmena okennej tabule.</p>	Zabezpečenie okien proti otváraniu. Miestnosť č. 512, 513, 514, 515, 519, 520 má otvárateľné okno, ktoré je ošetrované sieťkou. Pravidelná kontrola zabezpečenia okien. Kontrola vonkajších priestorov proti možnému poškodeniu.
Názov bariéry: poranenie zamestnanca			
5.	Poranenie zamestnanca	<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 jódom tinktúrou. V prípade, že boli zasiahnuté oči, ústa a iné oblasti, opláchneme ich väčším množstvom vody. Vyhľadáme lekársku pomoc.</p> <p>Úraz zapíšeme do knihy úrazov.</p>	Zvýšená opatrnosť pri práci s rozbitým sklom a inými ostrými predmetmi, zber ihiel a skalpelov do nádob ich určených a ich následná likvidácia.

V Košiciach dňa 29.7.2021

Vypracoval:	doc. MVDr. Mangesh Bhide, PhD.	Schválil:	Dr. h. c. prof. MVDr. Jana Mojžišová, PhD.
	vedúci projektu GMO		rektorka UVLF
Podpis:		Podpis:	

Kontaktné údaje na vedúceho projektu a členov výboru pre bezpečnosť

Meno a priezvisko	Kontaktné údaje
<i>Vedúci projektu GMO:</i>	
doc. MVDr. Mangesh. Bhide, PhD.	Pracovisko: Laboratórium biomedicínskej mikrobiológie a imunológie, UVLF v Košiciach Evidenčné číslo vedúceho projektu: 57/07/12 Telefón: +421 915 984 604 Email: mangesh.bhide@uvlf.sk
<i>Členovia výboru pre bezpečnosť:</i>	
prof. MVDr. Ľudmila Tkáčiková, PhD.	Pracovisko: Katedra mikrobiológie a imunológie, UVLF v Košiciach Telefón: +421 915 984 603 Email: ludmila.tkacikova@uvlf.sk
prof. RNDr. Eva Čellárová, DrSc.	Pracovisko: Ústav biologických a ekologických vied, PF UPJŠ Košice Telefón: +421 55 234 2301 Email: eva.cellarova@upjs.sk
RNDr. Katarína Bruňáková, PhD.	Pracovisko: Ústav biologických a ekologických vied, PF UPJŠ Košice Telefón: +421 55 234 2308 Email: katarina.brunakova@upjs.sk
MVDr. Ján Rosocha, CSc.	Pracovisko: Združená tkanivová banka UPJŠ LF a UN LP, LF UPJŠ Košice Telefón: +421 55 234 3236 Email: jan.rosocha@upjs.sk
RNDr. Rastislav Mucha, PhD.	Pracovisko: Neurobiologický ústav SAV, Košice Telefón: +421 908 587 274 Email: rastislavmucha@gmail.com