

HAVARIJNÝ PLÁN
pre činnosti s GMO zatriedenými do rizikovej triedy 1
Laboratórium biomedicínskej mikrobiológie a imunológie
Katedra mikrobiológie a imunológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach

bod 1

a) **identifikačné údaje o používateľovi:**

Názov inštitúcie: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Adresa: Komenského 73, 041 81 Košice
Štatutárny orgán používateľa: Dr. h. c. prof. MVDr. Jana Mojžišová, PhD., rektorka
IČO: 00397474
DIČ: 2020486699
Predmet činnosti: Molekulárne klonovanie a produkcia rekombinantných proteínov

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

Laboratórium biomedicínskej mikrobiológie a imunológie
Ústav imunológie UVLF
Katedra mikrobiológie a imunológie
Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach
Komenského 73, 041 81 Košice
Pavilón č. 34 – prvé poschodie
Vedúci GMO projektu: doc. MVDr. Mangesh Bhide, PhD.
Tel. č.: +421 915 984604

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, ohlási túto skutočnosť osobne alebo telefonicky vedúcemu projektu GMO a vedúcemu oddelenia bezpečnosti a krízového riadenia.

Funkcia (pracovisko)	Meno	Telefón	Pozn.
Rektorka UVLF	Dr. h. c. prof. MVDr. Jana Mojžišová, PhD.	+421 908716521	
Vedúci projektu	doc. MVDr. Mangesh Bhide, PhD.	kl. 2061 +421 915 984604	
Oddelenie bezpečnosti a krízového riadenia UVLF	Vedúci oddelenia/ pracovník oddelenia	kl. 1155 +421 905102784	

Hlásenie mimo organizácie

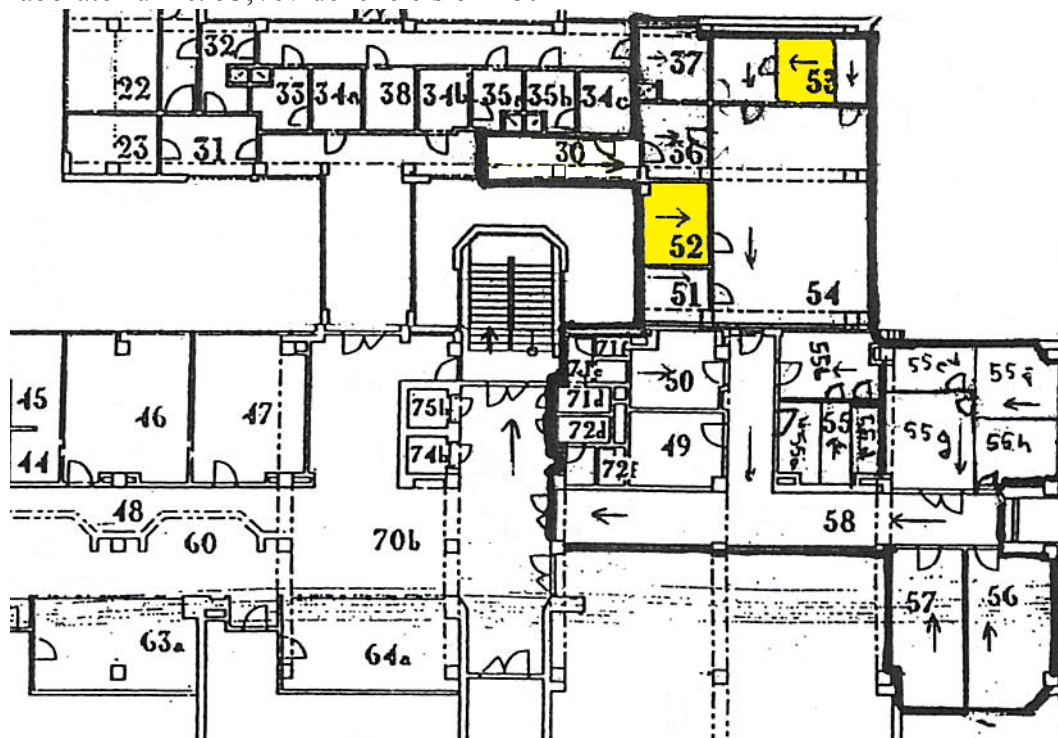
Vedúci zamestnanec oddelenia bezpečnosti a krízového riadenia a vedúci projektu pre príslušné pracovisko (LBMI) ohlásia podľa závažnosti haváriu záchranným službám, orgánom životného prostredia a civilnej ochrany.

Záchranné služby, orgány verejného zdravotníctva	Telefón	Pozn.
Záchranná zdravotná služba	155, 112	
MUDr. Nina Leščišinová, lekár v areáli ŠD, Cesta pod Hradovou 11	02 / 5477 2559	
Regionálny úrad verejného zdravotníctva Košice / www.ruvzke.sk	055/78 60 101 055/78 60 111	
Úrad verejného zdravotníctva SR / www.uvzsr.sk	02/49 2844 111	
Národné toxikologické informačné centrum / www.ntic.sk	02 5477 4166 02 5465 2307 0911 166 066	
Hasičský a záchranný zbor	150, 112	
Polícia	158, 112	
Okresný úrad Košice, odbor krízového riadenia	055/60 01 441	
Okresný úrad Košice, odbor starostlivosti o životné prostredie	055/60 01 250	

d) plán zariadenia s vyznačením miest významných pre obmedzenie následkov havárie:

laboratórium č. 52, /evidenčné číslo 217024

laboratórium č. 53, /evidenčné číslo 218024



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

Transformované bunkové línie *Escherichia coli* (M15, SG130009, XL-1 blue) budú kultivované v erlenmayerových bankách o objeme 500mL. V jednej banke je 50mL kultivačného média. Transformácia sa uskutoční pomocou elektroporácie. Úspešnosť transformácie sa pohybuje medzi 50% a 60%, teda 50-60% vysadených buniek sa skutočne stane geneticky modifikovanými organizmami.

Transformované bunkové línie *Leishmania tarentolae* budú kultivované v erlenmayerových bankách o objeme 500mL alebo kultivačných fľašiach. V jednej banke je 50mL kultivačného média. Transformácia sa uskutoční pomocou elektroporácie. Úspešnosť transformácie sa pohybuje medzi 20% a 50%, teda 20-50% kultivovaných buniek sa skutočne stane geneticky modifikovanými organizmami. Transformácia bude prebiehať podľa potreby, približne raz za rok.

f) **opis ochranných opatrení na zabránenie vzniku havárie:**

	Popis	Úroveň ochrany 1	LBMI, UVLF v Košiciach
1	Laboratórne miestnosti – izolácia	Nevyžaduje sa	Laboratórium je súčasťou pracoviska LBMI na prvom poschodí pavilónu morfológických disciplín a je zvonku uzamykateľné bezpečnostnou zámokou a on-line elektronickým kamerovým systémom.
2	Laboratórium hermeticky uzatvoriteľné na dezinfekciu plynom	Nevyžaduje sa	Nie
Vybavenie (zariadenie laboratória)			
3	Ľahko umývateľné povrchy odolné voči vode, kyselinám, zásadám, rozpúšťadlám, dezinfekčným látkam a dekontaminačným činidlám	Vyžaduje sa (pracovné stoly)	Áno
4	Vchod do laboratória cez dekontaminačnú miestnosť	Nevyžaduje sa	Dekontaminačná miestnosť nie je súčasťou uzavretých priestorov LBMI.
5	Nižší tlak úmerný tlaku okolitého prostredia	Nevyžaduje sa	Nie
6	Odsávaný a vŕhaný vzduch do laboratória by mal byť HEPA –	Nevyžaduje sa	Nie

	filtrovaný		
7	Aseptický box	Nevyžaduje sa	Áno – priamo v laboratóriu 53
8	Autokláv	V areáli	Áno – priamo v laboratóriu 52
Systém práce			
9	Zákaz vstupu	Nevyžaduje sa	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 miestnosť č. 53 nie je priamo prepojená s miestnosťou č. 52 a transport GMO medzi týmito dvoma miestnosťami prebieha cez iné laboratórne priestory je vstup tretím osobám (osoby bez preškolenia o GMO vedúcim projektu obmedzený. Toto obmedzenie je realizované prostredníctvom sklenených dverí, umiestnených medzi vstupnou chodbou a laboratóriom. Vstup tretím osobám je umožnený len v prítomnosti vedúceho projektu. Pri vstupe do laboratória sa vyžaduje, aby všetky tretie osoby mali oblečené vyhradené ochranné odevy a návleky na obuv, ktoré poskytnú samotné pracovisko.
10	Označenie bionebezpečia na dverách	Nevyžaduje sa	Áno
11	Zvláštne opatrenie na kontrolu aerosólu v ovzduší	Nevyžaduje sa	Nie
12	Sprcha	Nevyžaduje sa	Áno
13	Ochranný odev	Vhodný ochranný odev	Áno
14	Rukavice	Nevyžaduje sa	Áno
15	Účinná kontrola vektorov (napr. hlodavcov a hmyzu)	Voliteľné	Pasca na hlodavce, pravidelné kontroly. Siete na oknách proti hmyzu, pasce na hmyz.
Odpad			
16	Inaktivácia geneticky modifikovaných mikroorganizmov a geneticky modifikovaných organizmov v odpadových vodách, z umývadiel na umývanie rúk,	Nevyžaduje sa	Nie

	spřch a v podobných odpadových vodách		
17	Inaktivácia geneticky modifikovaných mikroorganizmov a geneticky modifikovaných mikroorganizmov v kontaminovanom materiáli a v odpade	Voliteľné	V miestnosti č. 52 sa nachádza autokláv, kde sa použitý materiál deštruuje, čím sa zamedzuje jeho styku s okolitým prostredím.
Iné opatrenia			
18	Laboratórium musí mať svoje vlastné vybavenie	Nevyžaduje sa	Laboratórium č. 52 je určené na likvidáciu odpadu a inaktivovaných geneticky modifikovaných organizmov (autoklávy), umývanie a dezinfekciu laboratórneho skla (umývačka laboratórneho skla) a na sterilizáciu laboratórneho skla (sušička).
19	Laboratórium musí mať pozorovacie okienko alebo alternatívne zariadenie tak, aby mohli byť prítomní v laboratóriu videní	Voliteľné	Nemá

g) opis havárie, ktorá môže vzniknúť v priestoroch alebo na mieste, kde sa používajú genetické technológie a geneticky modifikované organizmy, spolu s opisom odporúčaného spôsobu odstraňovania následkov havárie, najmä metódy a prostriedky na fyzickú likvidáciu geneticky modifikovaných organizmov, formou scenárov reprezentatívnych druhov havárií.

bod 2

Scenáre reprezentatívnych druhov havárií obsahujú :

a) plány na ochranu ľudského zdravia a na ochranu životného prostredia pre prípad havárie

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 vedúcich projektov, 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. Okná

sú mechanicky zabezpečené pred otvorením, v prípade, že sa dajú otvoriť, sú tieto okná ošetrené sieťami proti vniku hmyzu. Odpadom sú kultivačné médiá a tuhé živné pôdy. Médiá a odpady z pracovných priestorov sú inaktivované vhodnými dezinfekčnými roztokmi a následne sterilizované autoklavovaním priamo v zariadení.

b) metódy na izoláciu oblastí postihnutých rozšírením:

- v zmysle havarijného plánu UVLF,
- v spolupráci s Katedrou životného prostredia zabezpečenie postreku priestorov dezinfekčnými prostriedkami (chloramín, ajatín, persteril, 70% etanol, a pod. vo vhodných koncentráciách), použitie doporučených aerosólových dezinfekčných prostriedkov, dôkladná hygienická očista ľudí s odporúčením použitia dezinfekčných saponátov,
- manipulácia s GMO a genetickými technológiami 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 a ich rast mimo laboratórnych podmienok je nepravdepodobný,
- sterilizácia UV svetlom
- materiály sa likvidujú až po sterilizácii autoklavovaním,
- kontrola výskytu vitálnych zárodkov v priestore použitím tuhých živných médií,
- 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 oblastí

Úroveň ochrany: 2			
Názov bariéry: sklenený materiál			
č.	Možné úniky	Inaktivačné opatrenia	Preventívne opatrenia
1.	Rozbitá sklenená nádoba na trepačke, v pracovnom priestore.	Po nasadení gumených rukavíc a ochranných okuliarov opatrne pozbierame rozliaty obsah aj s rozbitým sklom do nádoby, kde bude zachytený materiál inaktivovaný 2 % roztokom Chloramínu T /30 minút (70 %-ný etanol/30 minút, ...). Rovnako bude inaktivovaný aj ostatný materiál, ktorý prišiel do kontaktu s GMO. Dezinfekčným roztokom dôkladne umyjeme trepačku, a jej postihnuté okolie, resp. miesto, ktoré bolo postihnuté ako aj náradie použité pri odstraňovaní. Nádobu s inaktivovaným materiálom (vrátane inaktivovaného ostatného materiálu) a náradie použité pri odstraňovaní sterilizujeme autoklavovaním. Dbáme na zvýšenú opatnosť 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.

		<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 jódovou tinktúrou. 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>	
Názov bariéry: poškodenie nádob s mikroorganizmami			
2.	Únik mikroorganizmov do pracovného prostredia.	Použitie UV žiarenia.	Zvýšená pozornosť pri práci s mikroorganizmami obsahujúcim materiálom. Sterilizácia laboratória č. 53 použitím germicídneho žiariča mimo pracovnej doby minimálne 1x týždenne.
Názov bariéry: plastový materiál			
3.	Prasknutý plastový materiál (na jednorázové použitie)	V gumených rukaviciach vložiť plastový materiál do nádoby, kde bude inaktivovaný 2 % roztokom Chloramínu T /30 minút a následne sterilizovaný autoklávaním. 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: poškodenie okien			
4.	Prasknutie okenného skla	Zabránenie panike predovšetkým vysvetlením, prečo kontakt s GMO v laboratóriu používanými nepredstavuje riziko. Doporučená dôkladná očista tela sprchovaním.	Zabezpečenie okien proti otváraniu. Miestnosť č. 52 má otvárateľné okno, kvôli autoklávu a podmienkam jeho prevádzky, okno je ošetrené sieťkou. Pravidelná kontrola zabezpečenia okien. Kontrola vonkajších priestorov proti možnému poškodeniu.

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 (Chloramin T 2% /30 minút, Etanol 70%/30 minút, Virkon 1%/1 hodina), následne sa sústreďujú v nádobách na to určených. Sterilizácia biologického odpadu sa uskutočňuje autoklávaním pri teplote 121 °C počas 30 minút.Inaktivovaný materiál a biologický odpad môže opustiť budovu ako bežný odpad.

e) opis možných následkov havárie a jej bezprostredných konkrétnych vonkajších účinkov na zamestnancov používateľa, ako aj na obyvateľstvo a životné prostredie

Bunkové línie *E. coli* a *L. tarentolae* sú komerčne dostupné. Tieto línie boli pozmenené fragmentami povrchových proteínov patogénov, a to konkrétne *Borrelia* sp., *Neisseria* sp., *Streptococcus* sp., West-nile virus, Vírus kliešťovej encefalitídy a fragmentami imunoglobulínov čeľade *Camelidae*.

Vzhľadom k tomu, že v bunkách príjemcov genetického materiálu sú prítomné fragmenty patogénov, predstavujú tieto bunky potenciálne nebezpečenstvo pre človeka, zvlášť pri požití a priamej injeckácii.

Spomenuté patogény vyvolávajú nervové ochorenia sprevádzané zápalmi. Šírenie GMO mimo špecifických podmienok je však možné označiť za nepravdepodobné.

Pravdepodobnosť úniku do okolitého životného prostredia, mimo zariadenia, je minimálna. Ak by takáto situácia nastala, ich prežitie a rast mimo laboratórnych podmienok je nepravdepodobný.

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

Bunky *E. coli* M15, SG130009, XL-1 blue, *Leishmania tarentolae* nemajú šancu prežiť mimo špecifických podmienok sterilného boxu a špeciálnych kultivačných roztokov.

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 /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 so 70% alkoholom alebo jódovou 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 životného prostredia SR aj orgány ohrozených štátov,
- podať ohlásenie Ministerstvu životného prostredia SR,
- haváriu písomne zaznamenať,
- vedúci projektu vykoná opatrenia, aby sa udalosť neopakovala,
- poskytnúť informácie o vykonaných opatreniach verejnosti vhodnou formou zverejnenia.

Havarijný plán schválil výbor pre bezpečnosť GMO na zasadnutí dňa 19.3.2018.

V Košiciach dňa

Vypracoval: doc. MVDr. Mangesh Bhide, PhD.
vedúci projektu GMO

Schválil: Dr. h. c. Prof. MVDr. Jana Mojžišová, PhD.
rektorka UVLF