

Prevádzkový poriadok pre prácu s geneticky modifikovanými organizmami

Podľa §9 vyhlášky MŽP SR č. 274/2019 Z.z.

Názov pracoviska: Ústav lekárskej biológie

Adresa uzavretých priestorov: MediPark (I. sekcia - 6 poschodie), Lekárska fakulta
Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Trieda SNP 1, 040 11 Košice

Miestnosti (Uzavreté priestory):

Miestnosť 601

Miestnosť 602

Miestnosť 627

Miestnosť 628

Riziková trieda GMO: RT1, RT2

Vedúci projektu GMO: doc. RNDr. Peter Solár, PhD.

Tento prevádzkový poriadok upravuje podmienky práce s geneticky modifikovanými organizmami (GMO) v uzavretých priestoroch Ústavu lekárskej biológie, MediPark, I. sekcia – 6. poschodie, Lekárska fakulta Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Trieda SNP 1, 040 11 Košice.

Prevádzkový poriadok je vypracovaný v súlade so zákonom č. 151/2002 Z. z. o používaní genetických technológií a geneticky modifikovaných organizmov v znení neskorších predpisov a vyhláškou MŽP SR č. 274/2019 Z. z. Vztahuje sa na činnosti s GMO zaradenými do rizikovej triedy 2 (RT2), ako aj rizikovej triedy 1 (RT1).

Všetky experimentálne činnosti vykonávané v uvedených uzavretých priestoroch sú určené výlučne na vedecké a výskumné účely. Prácu s GMO môžu vykonávať iba osoby, ktoré boli preukázateľne poučené o zásadách biologickej bezpečnosti, oboznámili sa s týmto prevádzkovým poriadkom a dodržiavajú jeho ustanovenia. Práca s GMO mimo priestorov na to určených je zakázaná.

a) Opis pracovných priestorov:

Uzavreté priestory (UP) určené na prácu s GMO sa nachádzajú v budove MediParku, I. sekcia – 6. poschodie, a zahŕňajú tieto miestnosti: Miestnosť 601, Miestnosť 602, Miestnosť 627, Miestnosť 628. Uzavreté priestory zahŕňajú miestnosti s rôznym funkčným určením (experimentálne, skladovacie a dekontaminačné), ktoré spolu tvoria technologický celok zabezpečujúci prácu s GMO rizikovej triedy RT1 a RT2.

Uzavreté priestory, nádoby, skladovacie priestory a zariadenia určené výhradne na GMO sú patrične označené. Podlahy sú pokryté PVC materiálom s hladkým povrchom, ktorý je ľahko umývateľný a dezinfikovateľný. Povrchy pracovných stolov sú odolné voči vode, kyselinám, zásadám, organickým rozpúšťadlám, dezinfekčným a dekontaminačným prostriedkom. Každý z týchto uzavretých priestorov disponuje náležitou dokumentáciou.

I. Miestnosť 601

Miestnosť 601 je vybavená nasledujúcim zariadením: laboratórnymi stolmi, stoličkami a skrinkami, UV žiaricom, lekárničkou, inkubátorom prokaryotických bunkových kultúr, laminárnym boxom, kombinovanou chladničkou (+4 °C) s mrazničkou (-20 °C).

II. Miestnosť 602

Miestnosť 602 je vybavená nasledujúcim zariadením: laboratórnymi stolmi, stoličkami a skrinkami, UV žiaricom, svetelným binokulárnym mikroskopom, svetelným trinokulárnym inverzným mikroskopom, chladničkou (+4 °C), mrazničkou (-20 °C), inkubátorom eukaryotických bunkových kultúr s CO₂ bombou, laminárnym boxom, vývevou, nechladenou centrifúgou a vortexom.

Miestnosti 601 a 602, oddelené od ostatných laboratórií hygienickou slučkou, sú určené na vykonávanie činností súvisiacich s genetickou manipuláciou buniek

a mikroorganizmov, najmä na uskutočňovanie genetických zmien, kultiváciu, pasážovanie, analýzu a manipuláciu s geneticky modifikovanými organizmami zaradenými do rizikových tried RT1 a RT2. Manipulácie s GMO sa vykonávajú výlučne v určených pracovných zónach laboratória, predovšetkým v laminárnom boxe, spôsobom minimalizujúcim riziko vzniku aerosólov a úniku GMO mimo uzavretého priestoru.

Doplnková dekontaminácia sa vykonáva pomocou statického UV žiariča umiestneného nad vstupom do laboratória. UV dekontaminácia sa realizuje minimálne raz za tri mesiace po dobu najmenej 8 hodín. Počas UV žiarenia musia byť dvere laboratória označené výstražným nápisom. O dekontaminácii sa vedie písomná evidencia.

III. Miestnosť 627

Miestnosť 627 je vybavená: laborátornými stolmi, stoličkami a skrinkami, horizontálnym autoklávom, laborátnou umývačkou riadu, Gel logic vizualizačným systémom a sterilizátorom.

Miestnosť slúži na sterilizáciu laboratórneho materiálu a dekontamináciu biologického odpadu v súlade s platnými bezpečnostnými predpismi.

IV. Miestnosť 628

Miestnosť 628 je vybavená: laborátornými stolmi, stoličkami a skrinkami, mrazničkami s teplotou $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, chladiacim zariadením, dewarovou nádobou s kvapalným dusíkom, fluorescenčným mikroskopom.

Miestnosť slúži na uchovávanie GMO materiálu. Pri manipulácii so zmrazenými vzorkami a kvapalným dusíkom je potrebné dodržiavať zásady bezpečnosti práce a používať osobné ochranné pracovné prostriedky.

b) Pravidlá práce s GMO:

1. Počas manipulácie s geneticky modifikovanými organizmami musia byť dvere a okná uzavretých priestorov trvalo zatvorené.
2. Pri práci s GMO je povinné používanie osobných ochranných pracovných prostriedkov, najmä laboratórneho pracovného plášťa a jednorazových ochranných rukavíc. Ochranné rukavice sa používajú pri každom priamom alebo potenciálnom kontakte s GMO alebo materiálom, ktorý s nimi prišiel do styku.
3. Počas manipulácie s GMO je zakázané nosenie hodínok, prsteňov, náramkov a iných šperkov na rukách.
4. Pracovné oblečenie musí byť skladované oddelene od osobného odevu a osobných vecí zamestnancov.
5. Po ukončení práce alebo po každom kontakte s GMO sa ochranné rukavice asepticky snímajú a ruky sa dôkladne umyjú teplou vodou a vhodným čistiacim alebo dezinfekčným prostriedkom.

6. Pracovné plochy musia byť dekontaminované po každom ukončenom experimente, ako aj bezodkladne po kontaminácii biologickým materiálom.
7. Podlahy v uzavretých priestoroch sa denne čistia a umývajú čistiacimi a dezinfekčnými prostriedkami určenými na použitie v biologických laboratóriách.
8. Všetky činnosti súvisiace s prácou s GMO musia byť riadne a pravdivo zaznamenané v prevádzkovom denníku laboratória.
9. Nasávanie a dávkovanie kvapalín sa vykonáva výlučne pomocou automatických pipiet s jednorazovými plastovými špičkami. Pri práci s väčšími objemami (5 – 25 ml) sa používajú ručné pipety v kombinácii s odmernými pipetami alebo inými schválenými dávkovacími pomôckami. Pipetovanie ústami je prísne zakázané.
10. Pracovný odev, ktorý bol kontaminovaný GMO, najmä v dôsledku nehody alebo havárie, musí byť pred ďalšou manipuláciou alebo práním dekontaminovaný vhodným postupom.
11. V uzavretých priestoroch je povolené používanie výlučne takých kmeňov mikroorganizmov, ktoré sú jednoznačne identifikovateľné.
12. V uzavretých priestoroch je zakázané fajčenie, konzumácia potravín a nápojov, používanie návykových, omamných a psychotropných látok, aplikácia kozmetických výrobkov, ako aj skladovanie a uchovávanie potravín.
13. Všetky vzorky a nádoby obsahujúce GMO musia byť čitateľne a jednoznačne označené v súlade s internými predpismi laboratória.
14. Pri manipulácii s GMO je potrebné minimalizovať riziko vzniku a šírenia aerosólov.
15. Odpad vznikajúci pri práci s GMO sa zhromažďuje oddelene od zmesového komunálneho odpadu. V uzavretých priestoroch musia byť umiestnené samostatne označené uzatváracie nádoby na „GMO odpad“ a na „Zmesový komunálny odpad“. Nádoby na GMO odpad sa používajú výlučne na tento účel.

c) Spôsob uchovávania GMO:

- GMO sa uchováajú výlučne v určených a označených priestoroch laboratória. GMO sa uchováajú krátkodobo pri +4 °C alebo -20 °C. Dlhodobo sa GMO uchováajú pri -80 °C alebo v tekutom dusíku.
- Každá chladnička, mraznička a dewarova nádoba určená na uchovávanie GMO je viditeľne označená nápisom „GMO“. Na každom zariadení je zároveň uvedený druh uchovávaného organizmu a typ genetickej modifikácie.
- Geneticky nemodifikované organizmy sa uchováajú oddelene od GMO.
- Nevyužívané GMO sa neskladujú a musia byť zlikvidované sterilizáciou autoklávom (program 3) pri 134 °C počas 25 min. alebo minimálne inaktiváciou v 5 % dezinfekčnom roztoku SAVO / 1 hod.

Podmienky uskladnenia GMO	Spôsob uchovávania GMO
Dlhodobé: Miestnosť 628 - mraznička (-80 °C) alebo dewarová nádoba s tekutým dusíkom	Uzavreté a označené kryoskúmavky/skúmavky v označených krabičkách, prípadne solitérne
Krátkodobé: Miestnosť 601 / Miestnosť 602 - chladnička (+4 °C) alebo mraznička (-20 °C)	Uzavreté a označené kryoskúmavky/skúmavky v označených krabičkách, prípadne solitérne

d) Spôsob označovania GMO:

- Názov GMO
- Názov genetickej modifikácie, ktorú obsahujú
- Dátum uchovania
- Meno pracovníka, ktorý GMO uchováva
- Označenie musí byť viditeľné a čitateľné

e) Spôsob likvidácie GMO:

Materiál, ktorý bol v kontakte s GMO zaradenými do rizikovej triedy RT2 a nie je možné ho autoklávovať, sa chemicky dekontaminuje na mieste vzniku ponorením do dezinfekčného roztoku (napr. 1 % ajatín / 30 min., 3 % chloramín B / 30 min., 5 % dezinfekčný roztok SAVO / 1 hod.). Po dekontaminácii sa odstraňuje ako bežný odpad.

Inaktivácia GMO zaradených do rizikovej triedy RT2 sa uskutočňuje sterilizáciou v označenom autokláve (program 3) pri 134 °C počas 25 min. Účinnosť sterilizácie sa overuje pomocou indikačných prostriedkov. Po preukázanej inaktivácii, bez životaschopných GMO sa biologický odpad odstraňuje ako bežný odpad.

GMO zaradené do rizikovej triedy RT1 určené na likvidáciu sa inaktivujú chemickou dekontamináciou rovnakým postupom, ponorením do dezinfekčného roztoku (napr. 1 % ajatín / 30 min., 3 % chloramín B / 30 min., 5 % dezinfekčný roztok SAVO / 1 hod.). Následne sa odstraňujú ako bežný odpad.

Biologický odpad obsahujúci alebo potenciálne obsahujúci GMO sa zhromažďuje výlučne v označených uzavretých zberných nádobách na „GMO odpad“, oddelene od nádob na „Zmesový komunálny odpad“. Prenos odpadu na dekontamináciu alebo sterilizáciu sa vykonáva v uzavretých nádobách tak, aby nedošlo k úniku GMO ani ku kontaminácii okolia.

f) Podmienky prenosu GMO v uzavretých priestoroch a na verejných priestoroch:

I. Prenos GMO v priestoroch používateľa:

GMO sa v priestoroch používateľa prenášajú výlučne v pevne uzavretých, povrchovo nekontaminovaných a podľa možnosti nerozbitných nádobách označených nápisom „box na prenos GMO“ a to tak, aby nedošlo k ich úniku alebo kontaminácii okolia.

II. Prenos GMO na verejných priestoroch:

GMO zaradené do rizikových tried RT1 a RT2 sa na verejných priestoroch prenášajú v systéme dvojitého obalu, t. j. v dvoch pevne uzavretých nádobách. Priestor medzi vnútornou a vonkajšou nádobou musí byť vyplnený vhodným absorbujúcim materiálom.

V prípade použitia suchého ľadu musí byť vonkajšia nádoba vybavená ventilačným prvkom umožňujúcim odvetrávanie uvoľňovaného CO₂. Prenášaný materiál musí byť jednoznačne identifikovaný; identifikačné údaje sa uvádzajú na každej prenášanej nádobe a v sprievodnej dokumentácii.

Každý prenos GMO na verejných priestoroch musí byť oznámený vedúcemu projektu a v prípade, že sa na prenos vzťahujú osobitné predpisy (napr. ADR), vykonáva sa v súlade s týmito predpismi.

g) Zabezpečenie uzavretých priestorov pred únikom GMO pri prevádzke:

UP: Miestnosť 601, Miestnosť 602, Miestnosť 627, Miestnosť 628 a ich stavebno-technické zabezpečenie predstavuje dostatočnú zábranu znemožňujúcu fyzický kontakt GMO s okolím a bariéru voči nekontrolovateľnému úniku GMO. V UP je redukovaný pohyb osôb. Mechanické prekážky tvoria dvere, nepriepustné steny, okná a sieťky na oknách.

Chemické zábrany tvoria dezinfekčné prostriedky, ktoré sú rutinnou výbavou UP a slúžia na dekontamináciu povrchov, nástrojov a nádob, ktoré prišli do kontaktu s GMO. Systém práce zabezpečuje, že žiadne GMO sa nedostanú do bežného odpadu ani kanalizácie. Hlavnou zásadou je dôsledná inaktivácia a likvidácia nepotrebných GMO – RT2 autoklávom (program 3) pri 134 °C počas 25 min a RT1 chemickou dekontamináciou ešte pred odstránením odpadu.

**Kontrolné a iné ochranné opatrenia pre laboratória
(podľa Prílohy č. 1 k vyhláške MŽP SR č. 274/2019 Z. z.)**

	Popis	Úroveň ochrany - 2	Uzavreté priestory: Miestnosť 601, 602, 627, 628
1	Laboratórne miestnosti – izolácia ¹⁾	nevyžaduje sa	nie
2	Laboratórium hermeticky uzatvorené 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)	lahko 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 vháňaný vzduch do laboratória by mal byť HEPA-filtrovaný	nevyžaduje sa	Nie
7	Aseptický (laminárny) box	voliteľné	áno
8	Autokláv	v budove	áno
Systém práce			
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, okná sa neotvárajú - prípadne sieťky na oknách
Odpad			
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	inaktivácia autoklávom (program 3) pri 134 °C počas 25 min., alebo chemická dekontaminácia, ak autoklávovanie nie je možné

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	nie

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.

h) Metódy na odstránenie geneticky modifikovaných organizmov pri ich nekontrolovanom úniku:

Každá udalosť, nehoda alebo porušenie pracovných postupov, pri ktorých mohlo dôjsť k úniku geneticky modifikovaných organizmov do prostredia mimo kontrolovaného pracovného priestoru, musí byť bezodkladne zaznamenaná a oznámená vedúcemu projektu.

I. Udalosť (príklady)

- Pád alebo poškodenie nádoby s GMO vedúce k rozliatiu materiálu v pracovnom priestore.
- Skladovanie GMO v poškodenej nádobe alebo zistenie kontaminácie GMO patogénnym mikroorganizmom.
- Prítomnosť GMO v odpade v dôsledku nesprávne vykonanej inaktivácie.
- Strata alebo poškodenie GMO počas ich prenosu.
- Prijatie neznámych geneticky modifikovaných organizmov poštou alebo iným spôsobom.

Postup v prípade udalosti:

1. Okamžite prerušiť prácu a informovať vedúceho projektu so zrozumiteľným opisom udalosti.
2. Zabrániť ďalšiemu šíreniu GMO aplikáciou 70 % etanolu na miesto úniku.
3. Kontaminovaný materiál (rukavice, utierky, pracovný odev) sa po dekontaminácii dezinfekčným prostriedkom a následnom autoklávaní likviduje s bežným odpadom.
4. Sklenený materiál sa chemicky dekontaminuje a sterilizuje autoklávaním.
5. GMO v poškodenej nádobe sa prenesú do nepoškodenej nádoby, označia a poškodená nádoba sa dekontaminuje a sterilizuje.

Postup v prípade kontaminácie priestoru bakteriálnou suspenziou:

1. Odstrániť prekážky z kontaminovanej oblasti.
2. Počkať 15 minút na usadenie aerosólov.

3. Pracovať v rukaviciach a používať ochranné prostriedky.
4. Ohraničiť kontaminovanú oblasť dezinfekčným prostriedkom.
5. Použiť filtračný papier navlhčený 70 % etanolom, následne použiť UV žiarenie na miesto a postup opakovať, až kým kontaminant nie je absorbovaný.
6. Vyčistiť kontaminovanú oblasť 70 % etanolom a umyť dezinfekčným mydlom.

II. Nehoda

Nehoda je udalosť, pri ktorej došlo k poraneniu osoby alebo k pravdepodobnej kontaminácii zamestnanca biologickým materiálom.

Postup v prípade nehody:

1. Okamžite oznámiť nehodu vedúcemu projektu.
2. 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.
3. V prípade, že boli zasiahnuté oči, ústa..., opláchnuť ich dostatočným množstvom vody.
4. Vyhľadať lekársku pomoc.
5. Nehodu písomne zaznamenať.

III. Porušenie pracovných pravidiel (príklady)

- GMO sú uskladnené bez označenia
- Použitie GMO, ktoré nebolo zaevidované v prevádzkovom denníku
- Neposkytnutie údajov vedúcemu projektu pre evidenciu požadovanú vyhláškou.

Postup v prípade porušenia pracovných pravidiel:

1. Porušenie pracovných pravidiel zaznamenáva vedúci projektu a následne ohlási vedúcemu oddelenia alebo predsedovi Výboru pre bezpečnosť.
2. Voči pracovníkovi, ktorý porušil pracovné pravidlá, sa vyvodzuje zodpovednosť a postupuje sa v súlade so zákonom č. 151/2002 Z. z. a internými bezpečnostnými predpismi.

i) Prevádzkový denník

Všetky činnosti spojené s GMO sa zaznamenávajú do Prevádzkového denníka v súlade s obsahovými náležitosťami uvedenými v vyhláške MŽP SR č. 274/2019 Z. z., vrátane mimoriadnych udalostí, kontaminácií, havárií a vykonaných opatrení. Prevádzkový denník sa patrične archivuje.