

PREVÁDZKOVÝ PORIADOK PRE PRÁCU S GENETICKY MODIFIKOVANÝMI ORGANIZMAMI (GMO)

Opis pracovných priestorov

Názov miestnosti: Laboratórium bunkovej neurobiológie II 5406 zodpovedná osoba – doc. RNDr. Peter Filipčík, Csc.

Popis činnosti: laboratórium základného výskumu, vykonáva sa tu práca s eukaryotickými bunkovými kultúrami, príprava médií a kultivácia buniek.

Strojno-technické vybavenie miestnosti: 1x chladnička s mrazničkou, 2x CO2 inkubátor, 1x vodný kúpeľ, 3x laminárny box, 2x stolná centrifúga, 2x mikroskop, 1x miešadlo, klimatizácia.

Počet stálych zamestnancov: 0 – nie je stále pracovisko. Platí zákaz vstupu nepovolaným osobám do priestoru laboratórií. Zoznam osôb povoleným vstup, je vyvesený na vstupných dverách.

Miestnosť je označená štíkom pre prácu s GMO.

Pravidlá pre prácu s GMO II. rizikovej triedy v laboratóriu č. 5406

- Počas manipulácie s GMO musia byť dvere a okná zatvorené.
- V priestore laboratória sa nesmie fajčiť, jesť, piť, aplikovať kozmetické prípravky a skladovať potraviny a nápoje. Na tieto účely sú vyhradené denné miestnosti s umývadlom alebo kuchynskou linkou s drezom a chladničkou. Zamestnanec sa počas práce v laboratóriu nemá dotýkať úst a očí, vkladať do úst pero, ceruzu alebo žuvačku.
- Pracovné miesto musí byť udržiavané v poriadku a čistote.
- Pracovný povrch musí byť dekontaminovaný po každom experimente a na konci pracovného týždňa.
- Ak sa pracovné miesto kontaminovalo musí byť dekontaminované okamžite.
- Počas manipulácie s GMO je nutné nosiť ochranné oblečenie- laboratórny pracovný plášť a jednorazové gumené rukavice. Ochranné rukavice sa používajú vždy pri priamom alebo predpokladanom kontakte s GMO. Po použití sa rukavice asepticky snímú a ruky sa umyjú.
- Počas manipulácie s GMO sa neodporúča nosiť na rukách hodinky alebo šperky.
- Pracovný odev, ktorý bol kontaminovaný s GMO (napr. v dôsledku nehody), musí byť pred praním dekontaminovaný.

- Pracovné oblečenie a osobné veci musia byť uskladnené oddelene.
- Pred odchodom z tohoto pracovného priestoru je potrebné umyť si ruky.
- Kvapaliny sa nasávajú a dávkujú automatickými pipetami v kombinácii s plastovými špičkami. Pri väčších objemoch (5 – 25 ml) sa používajú ručné pipetory v kombinácii s odmernými pipetami alebo inými dávkovacími pomôckami. Je prísne zakázané pipetovať ústami.
- Podkožné ihly používať len v nevyhnutnom prípade. Ak je to nevyhnutné, potom treba pracovať so zvýšenou pozornosťou. Po použití sa striekačky s ihlami ako celok odhadzujú do vyhradenej odpadovej nádoby a ďalej zneškodňujú v spaľovni zdravotníckeho odpadu. Ihly sa po použití nesmú snímať ani nasadzovať na ne pôvodný kryt.
- Počas manipulácie s GMO treba predchádzať tvorbe a šíreniu aerosolov. Syringóny je možné použiť len v nevyhnutnom prípade. Nasávanie a dávkovanie sa vykonáva opatrne, bez zbytočného prebublávania, aby sa minimalizoval vznik aerosolov a malých kvapiek. Podľa možnosti sa využívajú pipetovacie špičky s filtrom.
- Rastliny, ktoré nie sú predmetom experimentu sa nesmú nachádzať v tomto priestore.
- Materiál, ktorý bol v kontakte s GMO musí byť sterilizovaný 30 minút pri 121 °C alebo dekontaminovaný pred ďalším použitím.
- V pracovnom priestore počas manipulácie s GMO nesmie byť žiaden hmyz.
- V tomto priestore sa môžu používať len kmene mikroorganizmov, ktoré sa dajú identifikovať.
- Geneticky modifikované organizmy musia byť čitateľne označené.
- Pred odchodom z tohoto pracovného priestoru si treba umyť a dezinfikovať ruky.
- RT1 - biologický odpad alebo materiál, ktorý bol v kontakte s GMO musí byť dekontaminovaný 1% -ným roztokom chlórnanu sodného a následne môže byť likvidovaný v normálnom odpade (NIÚ je napojený na biologickú čističku odpadových vôd), **autoklávovať je potrebné aj GMO – RT1 obsahujúce spóry**, prípadne ak sa jedná o opakovane používaný materiál, musí byť pred ďalším použitím dezinfikovaný a sterilizovaný 30 minút pri 121°C
- RT2 - biologický odpad alebo materiál, ktorý bol v kontakte s geneticky modifikovanými organizmami musí byť sterilizovaný 30 minút pri 121°C.
- Tieto pravidlá sa musia dodržiavať aj pri experimentoch, ktoré nezahŕňajú prácu s GMO.

Spôsob uchovávaní geneticky modifikovaných organizmov,

1. Skúmavka s GMO musí byť čitateľne označená.

2. GMO musia byť označené tak, aby ich bolo možné presne identifikovať v registračnom systéme.
3. Ak sú v rovnakom priestore uskladnené aj geneticky nemodifikované vzorky, tieto musia byť uložené oddelene.
4. Preparáty sa skladujú označené v mrazničke pri teplote $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ v uzavretých eppendorfových mikroskúmavkách alebo pri $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hlbokomraziacich boxoch, nad tekutým dusíkom alebo krátkodobo na suchom ľade, uložené podľa systému zavedeného v príslušnej organizačnej jednotke.

Spôsob označovania geneticky modifikovaných organizmov.

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

GMO musí byť označený nasledovne

- Meno osoby, ktorá pracuje s týmto materiálom (na boxe so vzorkami)
- Dátum experimentu alebo uskladnenia
- Názov konštruktu alebo modifikovanej bunkovej línie
- Biologické kontajnery a hlboko-mraziace mrazničky obsahujúce GMO musia byť označené
- Označenie musí byť viditeľné a čitateľné.

Spôsob likvidácie geneticky modifikovaných organizmov.

- Geneticky modifikované organizmy určené na likvidáciu je možné sústredovať len v priestoroch na to určených.
- Plastové materiály, ktoré prišli do styku s GMO (Eppf. skúmavky, Petriho misky, špičky a i.) dekontaminovať ponorením na 24 hod do 1% roztoku chlórnanu sodného, následne uskladňovať v autoklávovateľných vreckách a označiť ich indikačnou páskou.
- Sklený materiál, ktorý prišiel do styku s GMO (Petriho misky, hokejky a i.) ponoriť na 24 hodín do 1% roztoku chlórnanu sodného, následne očistiť, umyť a rutinne sterilizovať.
- Sklené nádoby, ktoré prišli do styku s GMO ponoriť na 24 hodín do 1% roztoku chlórnanu sodného, následne očistiť, umyť , označiť indikačnou páskou a rutinne sterilizovať.
- Skalpely a ihly, ktoré prišli do styku s GMO, po dekontaminácii v 1% roztoku chlórnanu sodného zbierať do nádoby na to určenej.
- Sterilizácia biologického odpadu sa uskutočňuje autoklávovaním pri teplote $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas 30 minút.

- Inaktivovaný biologický odpad (indikačná páska je čierna) môže opustiť budovu ako bežný odpad.
- Kontaminované tekutiny, vzorky a kultúry sa dekontaminujú tepelne, napr. v autokláve alebo spálením, alebo chemicky, napr. prídavkom koncentrovaného 15 % chlórnanu sodného do výslednej 0,5 % koncentrácie (prídavok 1/30 objemu koncentrovaného 15 % NaClO). Následne sa môžu vyliat' do kanalizácie.

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

Prenášanie geneticky modifikovaných organizmov v priestoroch používateľa:

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

Prenášanie geneticky modifikovaných organizmov na verejných priestoroch:

a) Geneticky modifikované mikroorganizmy, musia byť prenášané v 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 CO₂.

b) Identifikačné údaje o prenášanom materiále musia byť uvedené na sprievodnom papieri a na každej prenášanej nádobe.

c) Každý verejný transport geneticky modifikovaného materiálu musí byť oznámený vedúcemu projektu.

Opis zabezpečenia uzavretých priestorov pred únikom geneticky modifikovaných organizmov pri prevádzke a opis metódy na odstránenie geneticky modifikovaných organizmov v prípade ich nekontrolovaného úniku.

Pracovné miestnosti (laboratóriá, miestnosti pre pokusné zvieratá) sú označené výstražnou značkou GMO. Do miestností majú povolený vstup len určení zamestnanci. Dvere na miestnostiach sa počas experimentov zatvoria. Okná na miestnosti sú uzavreté, nainštalované sieťky na oknách zabraňujú vstupu aj úniku hmyzu do priestorov.

Laboratórium sa udržiava čisté, upratané a bez predmetov, ktoré nesúvisia s prácou, ako napr. vonkajšie oblečenie a osobné veci. Priestory medzi pracovnými stolmi, skrinkami a ďalšími zariadeniami, ako aj priestory pod nimi musia byť prístupné pre upratovanie a prípadnú dekontamináciu.

Každá udalosť, pri ktorej sa mohli geneticky modifikované organizmy uvoľniť do prostredia mimo pracovného priestoru musí byť zaznamenaná.

Priklady:

- Strata geneticky modifikovaných organizmov alebo ich poškodenie počas prenosu.
- Pád nádoby, ktorá obsahuje geneticky modifikované mikroorganizmy, pričom došlo k rozliatiu suspenzie na podlahu/stôl v pracovnom priestore.
- Geneticky modifikované organizmy sú uložené v poškodenej nádobe alebo sú infikované patogénom.
- Poštou prišli neznáme geneticky modifikované organizmy.
- Prítomnosť geneticky modifikovaných organizmov v odpade ako dôsledok nesprávneho postupu pri autoklávaní.

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.

Postup v prípade kontaminácie priestoru bakteriálnou suspenziou:

1. Ak je to možné, odstrániť všetky prekážky z kontaminovanej oblasti.
2. Ak je to možné, počkať asi 15 min aby došlo k usadeniu aerosolu.
3. Pracovať v rukaviciach.
4. Nedotýkať sa rozbitého skla alebo ostrých predmetov.
5. Uzavrieť oblasť kontaminácie dezinfekčnou látkou, dezinfikovať celú oblasť.
6. Zakryť kontaminovanú oblasť filtračným papierom navlhčeným v 70% etanole.
7. Zapnúť zdroj UV.
8. Po 10 minútach filtračný papier preložiť do dvojitého plastového vreca a umiestniť medzi biologický odpad.
9. Postup s filtračným papierom opakovať kým nie je kontaminant úplne absorbovaný
10. Vyčistiť oblasť 70% liehom.
11. Všetok kontaminovaný materiál vydezinfikovať a podľa možnosti autoklávať.
12. Kontaminovanú dlážku na záver umyť dezinfekčným mydlom.

Pri mimoriadnej udalosti súvisiacej s GMO, napr. pri rozliatí infekčného materiálu, sa postupuje podľa Havarijného plánu ochrany zamestnancov, ktorý je prílohou Prevádzkového poriadku.

Porušenie pracovných pravidiel

Každé porušenie pracovných pravidiel musí byť zaznamenané.

Príklady porušenia pravidiel:

- Geneticky modifikované organizmy sú uskladnené bez označenia.
- Použitie transgénu, ktorý nebol zaevidovaný.

vedúci projektu GMO:	doc. RNDr. Peter Filipčík, CSc. Registračné číslo: 35/02/04
	Neuroimunologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 84510
	Telefón : 02/54788100
	Fax :02/54774276
	E-mail : Peter.Filipcik@savba.sk
<u>Zloženie výboru pre bezpečnosť</u>	
Predseda výboru	Peter Filipčík, Doc., RNDr., CSc.
	Neuroimunologický ústav SAV Dúbravská cesta 9 84510
	Telefón : 02/5478 8100
	E-mail : Peter.Filipcik@savba.sk
Členovia výboru	Norbert Žilka, Doc. MVDr., DrSc. Ladislav Roller, RNDr., PhD Robert Farkaš, RNDr., PhD Jozef Hanes, Ing., PhD

Vypracoval: doc. RNDr. Peter Filipčík, CSc.

V Bratislave dňa 30.1.2017