



Fondul Global
de Mediu



Programul Națiunilor
Unite pentru Mediu



Ministerul Ecologiei și
Resurselor Naturale



Universitatea de Stat
din Moldova

Angela PORT, Maria DUCA, Angela LOZAN

TEHNICI ȘI CERINȚE PRIVIND SECURITATEA BIOLOGICĂ

Chișinău - 2008

CZU 577.21.08:57.082

Această lucrare a fost elaborată și editată în cadrul proiectului UNEP-GEF nr. GFL/2328-2716-4933 „Suport pentru implementarea Cadrului Național de Biosecuritate în Republica Moldova“, implementat de Ministerul Ecologiei și Resurselor Naturale și susținut financiar de Fondul Global de Mediu.

GRUPUL DE AUTORI:

Angela PORT

Doctor în biologie, conferențiar universitar, șef de laborator *Securitate biologică*, Universitatea de Stat din Moldova.

Maria DUCA

Doctor habilitat în biologie, profesor universitar, membru corespondent al AȘM, decan al facultății de Biologie și Pedologie, Universitatea de Stat din Moldova.

Angela LOZAN

Doctor în biologie, manager de proiect, proiectul UNEP-GEF „Suport Pentru implementarea Cadrului Național de Biosecuritate în Republica Moldova”.

Descrierea CIP a Camerei Naționale a Cărții

Tehnici și cerințe privind securitatea biologică / Angela PORT, Maria DUCA, Angela LOZAN; Fondul Global de Mediu. Programul Națiunilor Unite pentru Mediu. Ministerul Ecologiei și Resurselor Naturale. Universitatea de Stat din Moldova – Chișinău: [Tipografia], 2008, [numărul de pagini].

ISBN ...

...ex

Copyright © Angela Port, Maria Duca, Angela Lozan
Copyright © Ministerul Ecologiei și Resurselor Naturale
Copyright © Universitatea de Stat din Moldova

ISBN .

PREFAȚĂ

Crearea și experimentarea organismelor modificate genetic (OMG) prin utilizarea biotehnologiilor moderne devin din ce în ce mai mult practici obișnuite în domeniile fundamental-aplicative ale științelor biologice. Spre deosebire de materialul de cercetare utilizat în studii convenționale de laborator, seră sau câmp, materialul modificat genetic precum și alți agenți biologici cu potențial hazard reprezintă subiectul unui regim special de reglementare, autorizare și administrare, menit să prevină sau să reducă riscurile producerii unor efecte nefaste asupra sănătății oamenilor, diversității biologice, echilibrului ecologic și calității mediului.

Laboratoarele contemporane dispun de tehnologii avansate și instrumente sofisticate, majorând eficiența tehnicilor și disponibilitatea echipamentului de protecție personală. Însă aceste realizări nu pot înlocui o infrastructură ineficientă care, conjugată cu incompetență și nerespectarea codului muncii, poate determina distrugerea probelor de studiu și contaminarea cu agenți infecțioși atât în cadrul laboratorului, cât și în afara lui. De aceea s-a impus necesitatea introducerii unor noi concepte și modalități de a minimaliza amploarea posibilelor erori umane în activitatea de cercetare, care să completeze componentele de bază ale siguranței cu elemente de securitate biologică și responsabilități în conformitate cu codul etic.

Lucrarea constituie un ghid de tehnici, proceduri și măsuri de utilizare a echipamentului menite să protejeze cercetătorii, studenții, angajații etc., care operează cu agenți biologici sau chimici periculoși. Acțiunile constructive și consecvente de implementare a acestor elemente în activitatea de rutină a laboratorului asigură dezvoltarea unei culturi a biosiguranței la nivel național.

Cartea este adresată viitorilor specialiști în domeniul *Științelor vieții*, constituind un suport metodologic în pregătirea cadrelor universitare, a cercetătorilor care activează în laboratoare biologice, precum și tuturor celor care sunt interesați de problema biosecurității. Ne exprimăm speranța că informația cuprinsă în lucrarea de față va contribui la dezvoltarea politicii și strategiei naționale în domeniul biosecurității conform exigențelor la nivel internațional.

Aducem mulțumirile noastre Programului Națiunilor Unite pentru Mediu/Fondul global pentru Mediu (UNEP/GE) și Ministerului Ecologiei și Resurselor Naturale pentru suportul în elaborarea acestui manual.

Autorii

CUPRINS

PREFAȚĂ	3
CAPITOLUL 1. ASPECTE GENERALE PRIVIND SECURITATEA BIOLOGICĂ	5
1.1. Securitatea laboratorului biologic – concepte și principii	5
1.2. Reglementări naționale în domeniul biosecurității	9
1.3. Reguli generale de organizare a activității în laborator în contextul securității biologice	14
1.4. Caracteristici tehnice ale laboratorului – bariere primare de izolare	20
1.5. Caracteristici tehnice ale laboratorului – bariere secundare de izolare	31
CAPITOLUL 2. UTILIZAREA ORGANISMELOR MODIFICATE GENETIC ÎN CONDIȚII DE LABORATOR	39
2.1. Tehnici și cod de practici pentru activitățile cu clasa de risc 1- 4	39
2.2. Măsuri de izolare privind activitățile cu organisme modificate genetic în laborator	50
2.3. Izolare și alte precauții pentru activitățile în unități cu animale	59
2.4. Proceduri de sterilizare	63
CAPITOLUL 3. PRECAUȚII PRIVIND CULTIVAREA PANTELOR MODIFICATE GENETIC ÎN CONDIȚII DE SERĂ	73
3.1. Niveluri de biosiguranță pentru plante modificate genetic	73
3.2. Elemente de izolare și alte măsuri de protecție pentru sere și camere de creștere	75
3.3. Practici de management	82
CAPITOLUL 4. SECURITATEA BIOLOGICĂ ASOCIATĂ CU INTRODUCEREA PLANTELOR MODIFICATE GENETIC ÎN MEDIU	85
4.1. Testarea în câmp a plantelor modificate genetic și biosecuritatea	85
4.2. Zone-tampon și alte măsuri de precauție privind testarea plantelor în câmp	87
4.3. Coexistența OMG-urilor cu non-OMG-urile în agricultură	94
CAPITOLUL 5. MANAGMENTUL SUBSTANȚELOR CHIMICE ȘI AL DEȘEURILOR CU PERICOL BIOLOGIC	99
5.1. Hazardul chimic asociat cu activități de laborator	99
5.2. Principii de stocare a deșeurilor	103
5.3. Cerințe privind transportarea OMG-urilor, substanțelor chimice și deșeurilor cu pericol biologic	109
5.4. Măsuri de precauție și lichidare a consecințelor unor accidente de contaminare chimică și biologică în laborator	112
CAPITOLUL 6. ACCIDENTE ȘI MĂSURI DE PROTECȚIE	115
6.1. Incendii, pericol de explozie, măsuri de precauție	115
6.2. Accidente ale sistemelor electroenergetice	118
6.3. Accidente cu surse de radiație ionizată	118
6.4. Echipament și activități care pot genera un hazard	120
Surse WEB utile (Anexa 1.)	123
Materiale periculoase (Anexa 2.)	124
Glosar	137
Bibliografie selectivă	142

Capitolul 1.

ASPECTE GENERALE PRIVIND SECURITATEA BIOLOGICĂ

1. Securitatea laboratorului biologic – concepte și principii

Activitățile de cercetare științifică, diagnostic medical, studii epidemiologice, farmaceutice etc. sunt imposibil de realizat în lipsa unor **laboratoare biologice** dotate cu echipamentul și facilitățile corespunzătoare. Acestea asigură operarea cu **material biologic**, cu sau fără hazard, care necesită control și responsabilitate administrativă în scop de protecție atât a valorii lui științifice și economice, cât și a securității populației și mediului, fig. 1.1.

LABORATOARE BIOLOGICE	MATERIAL BIOLOGIC
<ul style="list-style-type: none"> • Laboratoare din sectorul sănătății publice. • Laboratoare clinice și de diagnostic. • Centre ale materialelor de referință. • Centre de cercetare (academice, farmaceutice, de mediu). • Centre de producere a OMG-urilor, vaccinilor, medicamentelor etc. 	<ul style="list-style-type: none"> • Patogeni și toxine. • Microorganisme (bacterii, virusuri, fungi, paraziți etc.). • Probe de diagnostic. • ADN recombinat (vectori virali, terapie genică, clonare, OMG-uri). • Culturi de celule și țesuturi animale/vegetale.

Fig.1.1. Laboratoare care operează cu material biologic

În calitate de subiect al multor cercetări de amploare, agenții biologici și chimici cu hazard, inclusiv materialul radioactiv, sunt utilizați în diverse scopuri, începând de la cel educațional, științific, medicinal până la producerea industrial-comercială în masă. Aceste activități solicită o anumită siguranță a locului de muncă al cercetătorilor, studenților, angajaților etc., fapt ce a determinat dezvoltarea conceptului de **securitate biologică** a laboratorului. Securitatea include anumite principii de izolare (vezi §1.3.), tehnologii și practici implementate pentru a preveni expunerea neintenționată la patogeni și la alți compuși toxici.

S-a constatat că majoritatea infecțiilor cu microorganisme patogene căpătate accidental de către personalul laboratorului și de persoanele din spațiile aferente se datorează manipulării cu virusuri, bacterii și fungi. Începând cu anii '50 ai sec. XX, s-a conturat o monitorizare sistematică a cazurilor de îmbolnăvire determinată de expunerea la agenții patogeni, care este reflectată în diverse rapoarte științifice, comunicări personale și chestionare. Se consideră că riscul profesional pentru cercetătorii științifici este de 7-8 ori mai mare în comparație cu cel al personalului medical sau din alte domenii. Conform unor estimări efectuate în Statele Unite și în unele țări din Europa, mai mult de 60% din infecții au fost înregistrate la persoanele implicate în cercetare, 17% – în diagnostic medical, 3,4% – în producție biologică și 2,7% în învățământ, restul cazurilor nu au putut fi clasificate¹. Rata de frecvență a infecției căpătate în laborator este de 1- 5 incidente la un milion de ore lucrătoare. Astfel, dacă considerăm o zi de lucru în laborator în medie de 8 ore, atunci probabilitatea că lucrătorul se va infecta în decursul a cca 225 de zile (inclusiv zilele de odihnă și vacanțe), este de 10^{-2} - 10^{-3} cazuri. Este important de menționat că în cadrul aceluiași laborator investigatorul este cel mai expus la diferiți agenți cu hazard comparativ cu ceilalți membri – laboranți, personal tehnic, masteranzi și doctoranzi. Din numeroasele accidente înregistrate este evident că activitățile cu agenți biologici cu potențial pericol în laborator reprezintă un risc profesional, care trebuie să fie supus unui control riguros pentru a preveni boli și a salva vieți.

Laboratoarele contemporane dispun de tehnologii avansate și de instrumente sofisticate, sporind eficiența tehnicilor și disponibilitatea echipamentului de protecție personală. Însă aceste realizări nu pot înlătura unele erori umane, care rămân a fi în continuare unul din cei mai importanți factori în producerea accidentelor. O infrastructură ineficientă, conjugată cu incompetență și nerespectarea codului muncii, inclusiv refuzul de a lua în considerație anumite criterii etice pot determina pierderea/ distrugerea probelor de studiu și contaminarea cu agenți infecțioși atât în cadrul laboratorului, cât și în afara lui. Astfel de consecințe pot fi și rezultatul unor intenții rele, de exemplu utilizarea patogenilor și agenților chimici periculoși în scopuri politice și economice (bioterrorism) aducând daune societății, în pofida numeroaselor convenții și acorduri internaționale care reglementează aceste acțiuni. De aceea s-a impus necesitatea introducerii la nivel internațional a unor noi concepte și modalități de a minimiza/ preveni apariția consecințelor nefaste ale erorilor umane în activitatea de laborator, concepte care să completeze componentele de bază ale biosiguranței cu elemente de **biosecuritate** și responsabilități în conformitate cu codul etic.

Obiectivul biosecurității laboratorului este de a asigura, prin adoptarea și implementarea unor acte legislative și măsuri tehnico-organizatorice, controlul privind protecția materialului biologic (utilizare neautorizată, pierdere, furt, abuz, diversiuni de eliberare intenționată în mediu). Programele de siguranță și securitate biologică urmăresc reducerea posibilității de apariție a diferitor riscuri, având un scop comun – *păstrarea materialului biologic în siguranță și securitate în spațiul unde este utilizat și depozitat*.

Conform definiției, biosiguranța laboratorului este asigurată de o multitudine de componente: practici sigure, proceduri și echipament menite să protejeze lucrătorii care operează cu agenți biologici, fig. 1.2. Acțiunile constructive și consecutive de implementare a acestor componente în activitatea de rutină a laboratorului asigură dezvoltarea unei culturi a biosiguranței la nivel național și internațional.

¹ http://www.lbl.gov/ehs/biosafety/Biosafety_Manual/biosafety_manual.shtml

SIGURANȚA BIOLOGICĂ	SECURITATEA BIOLOGICĂ
<p>Protecția lucrătorilor, societății, mediului față de expunerea neintenționată la materialele cu biohazard.</p> <p><i>Elemente de biosiguranță:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Echipament de protecție personală • Instruire/ cunoștințe • Practici sigure • Cabine de siguranță • Autoclave • Dezinfectanți • Design/ ventilație • Afișe de semnalizare a pericolului • Supraveghere medicală • Vaccinări • Transportul adecvat al materialelor 	<p>Previne furtul și abuzul intenționat al materialului cu biohazard.</p> <p><i>Elemente de biosecuritate:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Îngrădiri • gărzi de pază • clădiri încuiate • camere de securitate • uși încuiate, acces cu card, monitorizat • somarea vizitatorilor necunoscuți • unități de depozitare închise • inventariere documentată • codificare cifrată a materialului • estimarea riscului securității personalului • înregistrare/ permis

Fig. 1.2. Particularități distinctive ale noțiunilor de biosiguranță și de biosecuritate

Biosecuritatea se realizează prin integrarea practicilor și procedurilor securității fizice, administrative, legislativ-normative în activitatea instituției/ laboratorului care utilizează bune practici de biosiguranță și responsabilități bine definite. Aceste două concepte se completează reciproc. De exemplu, aplicarea sistematică a măsurilor de siguranță adecvate reduce riscul expunerii accidentale și pierderii materialului experimental, astfel fiind evitate și acțiunile de furt, abuz, diversivni sau eliberări intenționate ale agenților în mediu. Securitatea biologică se realizează în baza unei bune siguranțe a laboratorului. Un nivel adecvat al biosiguranței poate fi obținut prin implementarea practicilor de lucru minuțios proiectate, chiar și în cazul unui laborator modest echipat. Uși cu modul automat de închidere, acces restricționat, separare fizică a spațiilor de lucru, ferestre rezistente și un plan de urgență în situații excepționale – toate elemente comune ale biosiguranței și biosecurității. Atâta timp cât aceste elemente vor asigura funcționarea echipamentului de bază: sisteme de ventilație, cabinete de siguranță biologică, autoclave etc., va funcționa și sistemul de securitate fizică, sistem dependent de cel electroenergetic.

Oamenii de știință trebuie să participe activ la luarea de decizii privind protecția proprietății intelectuale, estimarea beneficiilor/ riscurilor proiectelor de cercetare, siguranța și accesibilitatea materialului biologic. Doar în urma unui dialog constructiv **investigator - responsabil pe probleme de biosiguranță - administrator** se va decide dacă instituția/ laboratorul corespunde cerințelor adecvate de a reduce consecințele unor posibile infracțiuni ce țin de biosecuritate și care ar putea degenera în situații excepționale de nivel extern.

În cazul unei implementări incorecte a acestor două concepte, pot apărea și unele situații de conflict. De exemplu, acțiunile de control care reduc accesul neautorizat pot împiedica intervenția rapidă în caz de accident sau de accidentare a persoanelor. Mecanismele securității trebuie să fie astfel stabilite încât să asigure accesul responsabililor din serviciul protecției civile fără o întrerupere a procedurilor de biosecuritate a laboratorului, control, răspundere și trasabilitate a materialului biologic. În afară de aceasta, în caz de accident, personalul laboratorului trebuie să poată părăsi rapid și în siguranță locul de

muncă fără a permite accesul neautorizat spre materialul experimental. Semnele privind hazardul reprezintă și ele o situație de conflict între principiile siguranței și securității în laboratorul biologic. Ca măsură de securitate a agenților biologici, semnul BIOHAZARD afișat pe ușa de intrare în laborator trebuie să indice doar nivelul biosiguranței, numele și numărul de telefon al investigatorului responsabil, date de contact în caz de urgență, fără informații privind agenții biologici din laborator, așa cum recomandă conceptul biosiguranței, fig.1.3.



BIOHAZARD

ACCES DOAR PENTRU PERSONALUL AUTORIZAT

Nivelul de biosiguranță: _____
 Investigatorul responsabil: _____
 În caz de urgență sunați: _____
 Tel. serviciu: _____ Tel. domiciliu: _____
Autorizarea pentru intrare trebuie să fie obținută de la Investigatorul responsabil.

Fig. 1.3. *Prezentarea grafică a semnului de avertizare privind hazardul biologic*

Termenul „Biosecuritate“ este utilizat în mai multe domenii de activitate, în diferit context: ecologie, agricultură, alimentație, controlul armelor, sănătate publică etc. Definiția de „**Biosecuritate a laboratorului**“ a fost dezvoltată de Organizația Mondială a Sănătății (World Health Organization, WHO) în colaborare cu Organizația pentru Alimentație și Agricultură (Food and Agriculture Organization, FAO) și Organizația Mondială a Sănătății Animalelor (World Animal Health Organization, OIE). Utilizarea acestei expresii este restrânsă doar la „biosecuritatea“ în laborator.

Conceptul biosiguranței laboratorului reprezintă un subiect al activităților încă din anii 1960, devenind parte componentă a culturii siguranței integrate în diferite țări. În contextul sănătății publice, biosecuritatea extinde biosiguranța laboratorului, atribuindu-i o nouă dimensiune. Dezvoltarea unei culturi a siguranței și securității biologice a laboratorului – condiție esențială a procedurilor de estimare a riscului biologic – impune un management eficient al laboratoarelor utilizate în cercetare, medicină, obținerea de produse farmaceutice, diagnostic etc. Actualmente, în acord cu actele și normele legislative, se consideră inacceptabilă orice posibilitate de infectare sau îmbolnăvire ca rezultat al nerespectării cerințelor de biosiguranță și biosecuritate a practicilor de lucru în laborator. Cu certitudine, laboratoarele biologice în care managementul riscului biologic este inadecvat iar personalul și mediul sunt expuse unui risc al siguranței și securității reprezintă o amenințare la nivelul comunității internaționale și sănătății publice globale. De aceea sunt încurajate măsurile de responsabilitate și precauție prin training, întruniri științifice, aprecieri, elaborare a unor coduri de practici etc.

Abuz intenționat de agenți biologici

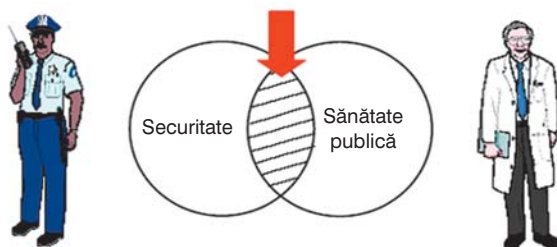


Fig. 1. 4. *Colaborare între instanțe de control cu diferite atribuții, responsabilități și autorități*

Totodată, sunt necesare acțiuni energice din partea organelor de control și supraveghere a respectării legislației, în vederea aplicării măsurilor de constrângere a persoanelor care o încalcă, precum și coordonarea eforturilor societății civile în scopul conștientizării de către public a faptului că asigurarea securității biologice este și sarcina fiecăruia dintre noi, fig.1.4.

Măsurile de securitate a laboratorului trebuie să fie acceptate în conformitate cu cerințele instituției, în urma unei estimări a riscului de biosecuritate de către personalul științific, inspectori pe biosecuritate, personalul tehnic, administratori și reprezentanți ai organelor legislative. Controlul aplicării legislației locale poate fi realizat de către organele de poliție sau alte agenții de securitate locală sau regională. Instituția trebuie să stabilească clar o relație de colaborare cu autoritățile publice locale pentru a asigura un răspuns imediat la incidentele de încălcare a securității.

Baza instituțional-legislativă de asigurare a securității biologice o constituie actele legislative naționale, acordurile și tratatele regionale și internaționale la care Republica Moldova este parte, precum și planurile de acțiune elaborate în scopul implementării obiectivelor prin realizarea cărora se asigură securitatea biologică, fig. 1.5.

La nivel internațional, autoritățile naționale sunt cele care poartă răspunderea finală pentru accidente rezultate din nerespectarea siguranței și securității biologice a laboratoarelor care pot fi în domeniul sănătății publice sau pentru accidente de interes internațional.

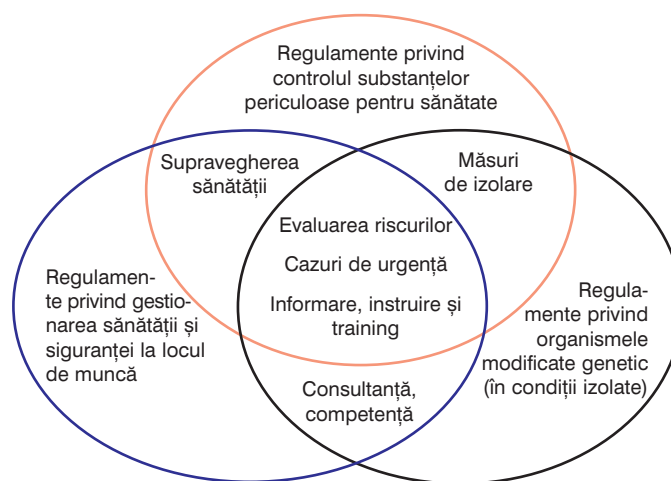


Fig. 1.5. Măsuri instituțional-legislative de asigurare a securității biologice

1.2. Reglementări naționale în domeniul biosecurității

Dezvoltarea biotehnologiei contemporane din ultimele decenii a determinat schimbări esențiale ale factorilor de decizie, impunând noi cerințe în scopul protejării cetățeanului și în același timp al asigurării competitivității într-o economie globală. Spiritul de neîncredere al consumatorului și impactul crescând al tehnologiilor asupra vieții de zi cu zi plasează răspunderea asigurării unui input științific sigur pe tot parcursul procesului decizional în întreaga Europă și în lume. Protejarea sănătății umane și a mediului înconjurător împotriva posibilelor efecte negative ce ar putea fi induse de utilizarea produselor biotehnologiei moderne constituie conceptul Securității Biologice care a fost unul dintre principalele subiecte abordate de **Convenția Internațională privind Diversitatea**

Biologică (CDB), semnată la 5 iunie 1992 la Rio de Janeiro. CDB recunoaște caracterul dual al biotehnologiilor de ultimă oră, stimulând pe de o parte accesul la transferul de tehnologii relevante pentru conservarea și utilizarea durabilă a diversității biologice, iar pe de altă parte, este preocupată de dezvoltarea unor proceduri corespunzătoare de îmbunătățire a siguranței aplicării acestora în contextul dezideratelor ei. Drept rezultat al acestor tendințe, la întâlnirea extraordinară a Părților la Convenția privind Diversitatea Biologică (22-29 ianuarie 2000, Montreal, Canada) a fost adoptat un protocol adițional al acestei Convenții ratificat prin Legea nr. 59/2003 denumit **Protocolul de la Cartagena privind Biosecuritatea**. Acest protocol reglementează la nivel global activitățile privind obținerea, utilizarea și comercializarea organismelor modificate genetic (OMG). Aspecte legate de Biosecuritate se regăsesc și în cadrul altor instrumente internaționale (WHO², WTO³, IPPC⁴ etc.), completându-se reciproc în vederea dezvoltării durabile.

Începând cu anul 2001, Republica Moldova dezvoltă un sistem transparent de reglementări și capacități instituționale în domeniul OMG-urilor, prin ratificarea *Protocolului de la Cartagena privind Biosecuritatea* (M.O. nr. 149-150 din 07.11.2002), elaborarea și aprobarea **Legii privind securitatea biologică** (755-XV din 21.12.2002, M.O. nr. 75 din 13.06.2002) reprezentând primul act legislativ care reglementează regimul de obținere, testare, utilizare și comercializare a OMG-urilor prin tehnicile biotehnologiei moderne, precum și a produselor rezultate din acestea. Regimul special de reglementare, autorizare și administrare a activităților menționate are menirea să asigure desfășurarea lor în condiții de securitate biologică în care pot fi prevenite, eliminate sau reduse riscurile de producere a unor efecte negative generate de organismele modificate genetic asupra sănătății umane, diversității biologice, echilibrului ecologic și calității mediului.

Pentru asigurarea punerii în aplicare a legislației naționale și a prevederilor *Protocolului de la Cartagena* a fost fondat un cadru instituțional format din:

- Comisia Națională pentru Securitatea Biologică;
- organizațiile științifice competente;
- punctul focal național (ministerul);
- secții/ direcții sau specialiști care activează în cadrul autorităților centrale pentru mediu, agricultură și industria alimentară, sănătate, protecția drepturilor consumatorilor, precum și departamentele, agențiile și alte structuri guvernamentale care au responsabilități în domeniile reglementate de *Legea privind securitatea biologică*.

Comisia Națională pentru Securitatea Biologică este autoritatea națională competentă care exercită atribuțiile de autorizare și control al activităților reglementate de legea privind securitatea biologică. Se desemnează pe un termen de cinci ani și funcționează ca organism interdepartamental. Pentru prima dată, componența Comisiei Naționale pentru Securitatea Biologică a fost aprobată prin *Hotărârea Guvernului Republicii Moldova nr. 603 din 20 mai 2003* și a început activitatea din data intrării în vigoare a Legii privind securitatea biologică, la 13 iunie 2003.

² Organizația Mondială a Sănătății (World Health Organization).

³ Organizația Mondială a Comerțului (World Trade Organization).

⁴ Convenția Internațională cu privire la Protecția Plantelor (International Plant Protection Convention).

Activitatea Comisiei naționale include:

- analiza notificărilor și altor informații scrise de utilizatori, importatori și/sau exportatori privind activitățile reglementate de Legea privind securitatea biologică;
- elaborarea rapoartelor în conformitate cu procedurile stabilite de legea națională și cele internaționale, la care Republica Moldova este parte;
- asigurarea în acord cu autoritățile științifice naționale a informării publicului în conformitate cu dispozițiile Legii privind securitatea biologică;
- cooperarea cu autoritățile naționale competente, cărora le poate solicita, după caz, analiza unor documentații, formularea punctelor de vedere și întocmirea unor avize;
- coordonarea și asigurarea editării unui nomenclator al organismelor modificate genetic și al produselor rezultate din acestea, care sunt obținute/ experimentate și introduse în mediul înconjurător și pe piața țării;
- participarea la reuniunile și manifestările naționale din domeniu etc.

În *Hotărârea Guvernului Republicii Moldova despre aprobarea normelor privind etichetarea produselor alimentare și normelor privind etichetarea produselor chimice de menaj Nr. 996 din 20.08.2003 (Monitorul Oficial al R. Moldova nr.189-190 din 29.08.2003)* au fost incluse normele privind etichetarea produselor alimentare modificate genetic sau provenite din acestea împreună cu normele sanitare referitoare la etichetarea nutrițională, la etichetarea produselor alimentare cu destinație dietetică specială etc.

În același an a fost emisă și *Hotărârea Guvernului Republicii Moldova despre aprobarea Regulamentului privind autorizarea activităților legate de obținerea, testarea, utilizarea și comercializarea organismelor modificate genetic Nr. 1153 din 25.09.2003 (Monitorul Oficial al R. Moldova nr. 211-214/1212 din 10.10.2003)*. Conform acestei hotărâri, autorizarea activităților cu OMG-uri se efectuează de către Comisia Națională pentru Securitatea Biologică. Nu cad sub incidența prezentului Regulament organismele obținute prin tehnicile/ metodele tradiționale cum sunt mutageneza, fuziunea celulară, incluzând protoplaștii vegetali și bacterieni, produsele purificate, inclusiv cele farmaceutice de uz uman și veterinar, activitățile de transport, indiferent de mijloace, precum și operațiunile de comerț și de import/ export, care fac obiectul altor acte normative.

În decembrie 2004, conform deciziei Senatului USM, a fost constituit Centrul Republican pentru Securitatea Biologică, confirmat prin ordinul comun 28/61 din 18 februarie a două ministere – Ministerul Educației al RM și Ministerul Ecologiei, Construcțiilor și Dezvoltării Teritoriului al RM. Centrul are menirea de a efectua testarea organismelor modificate genetic.

Alte acte legislative conexe domeniului de biosecuritate sunt (prezentate cronologic):

- Legea cu privire la regimul produselor și substanțelor nocive Nr. 1236-XIII din 03.07.97, *Monitorul Oficial al R. Moldova nr.67-68 din 16.10.1997*;
- Convenția privind controlul asupra transportării transfrontaliere a deșeurilor periculoase și neutralizarea lor (Basel, 22 martie 1989), ratificată prin Hotărârea Parlamentului Nr. 1599-XIII din 10 martie 1998;
- Legea privind deșeurile de producție și menajere Nr. 1347-XIII din 09 octombrie 1997, *Monitorul Oficial al R. Moldova nr.16-17 din 05 martie 1998*;

- Regulamentul cu privire la modul de eliberare a licențelor pentru desfășurarea cercetărilor în domeniul geneticii și microbiologiei în Republica Moldova din 09.02.2000, *Monitorul Oficial al R. Moldova* nr.54-56 din 12.05.2000;
- Hotărârea Guvernului Republicii Moldova cu privire la rețeaua națională de observare și control de laborator asupra contaminării (poluării) mediului înconjurător cu substanțe radioactive, otrăvitoare, puternic toxice și mijloace bacteriene (biologice) Nr.477 din 19.05.2000, *Monitorul Oficial al R. Moldova* nr.63-64 din 01.06.2000;
- Hotărârea Guvernului Republicii Moldova privind aprobarea Programului Național de valorificare a deșeurilor de producție și menajere Nr. 606 din 28 iunie 2000, *Monitorul Oficial al R. Moldova* nr.78-80 din 8 iulie 2000;
- Hotărârea Guvernului Republicii Moldova cu privire la rețeaua națională de observare și control de laborator asupra contaminării (poluării) mediului înconjurător cu substanțe radioactive, otrăvitoare, puternic toxice și mijloace bacteriene (biologice) Nr. 477 din 19 mai 2000, *Monitorul Oficial al R. Moldova* nr.63-64 din 1 iunie 2000;
- Legea asigurării pentru accidente de muncă și boli profesionale Nr.756-XIV din 24.12.99, *Monitorul Oficial al R. Moldova* nr.31-33 din 23.03.2000;
- Hotărârea Parlamentului Republicii Moldova cu privire la aprobarea Strategiei naționale și a Planului de acțiune în domeniul conservării diversității biologice Nr. 112-XV din 27.04.2001;
- Legea privind aderarea Republicii Moldova la unele acte internaționale în domeniul protecției mediului nr. 111 27.04.2001, *Monitorul Oficial al R. Moldova* nr. 052 din 17.05.2001;
- Hotărârea Guvernului Republicii Moldova cu privire la aprobarea Programului național de asigurare a securității ecologice, Nr.447 din 17.04.2003, *Monitorul Oficial al R. Moldova* nr.77-79/477 din 25.04.2003;
- Legea privind protecția consumatorilor Nr. 105-XV din 13.03.2003, *Monitorul Oficial al R. Moldova* nr. 126-131 din 27.06.2003;
- Convenția privind poluanții organici persistenți (Stockholm, 23 mai 2001), ratificată prin Legea Nr.40 -XV din 19 februarie 2004;
- Convenția de la Rotterdam privind procedura de consimțământ în cunoștință de cauză aplicabilă anumitor produși chimici periculoși și pesticidelor care fac obiectul comerțului internațional (Rotterdam, Olanda, 10 septembrie 1998) ratificată prin Hotărârea Parlamentului Nr. 389 - XV din 25 noiembrie 2004;
- Legea pentru ratificarea Convenției de la Stockholm privind poluanții organici persistenți Nr. 40-XV din 19.02.2004, *Monitorul Oficial al R. Moldova* nr. 39-41 din 05.03.2004;
- Legea cu privire la modificarea și completarea Legii asigurării pentru accidente de muncă și boli profesionale Nr. 756-XIV din 24 decembrie 1999, 330-XV 07.10.2004, *Monitorul Oficial al R. Moldova* nr. 193-198 29.10.2004;
- Legea pentru modificarea și completarea Legii Nr.1347-XIII din 9 octombrie 1997 privind deșeurile de producție și menajere Nr. 449 din 30.12.2004, *Monitorul Oficial al R. Moldova* nr. 013 din 21.01.2005;

- Hotărârea Guvernului Republicii Moldova privind implementarea Programului național de asigurare a securității ecologice nr. 935 din 16.08.2006, *Monitorul Oficial al R. Moldova* nr. 134 din 25.09.2006.

În capitolele de bază privind organizarea cadrului național de biosecuritate în Republica Moldova se conturează:

- dezvoltarea unei politici de biosecuritate;
- funcționarea unui sistem administrativ de luare a deciziei bazate pe evaluarea riscurilor, managementul riscurilor;
- asigurarea unor activități care urmează procesului de autorizare: monitorizarea științifică, controlul aplicării legislației, etichetarea, trasabilitatea, răspunderea, informarea, educarea și participarea efectivă și eficientă a publicului la luarea deciziilor.

Dezvoltarea și asigurarea cadrului legislativ cu obiectivele prioritare legate de asigurarea securității biologice precum: transportul transfrontalier al OMG-urilor, al produselor alimentare și furajelor produse din acestea, urmărirea și etichetarea acestora; crearea și dezvoltarea laboratoarelor specializate în detectarea OMG-urilor; participarea la schimbul de informații în domeniul biosecurității se realizează în contextul legislației internaționale. Principalele acte legislative, convenții și acorduri internaționale în acest domeniu pot fi găsite pe site-ul mai multor baze de date (vezi anexa 1.). Asigurarea transparenței – schimbul de informații științifice, tehnice, de mediu și legislative legate de OMG-uri la nivel global – se realizează prin mecanismul Biosafety Clearing-House (BCH). Baza de date dezvoltată în cadrul BCH este neutră și accesibilă specialiștilor în domeniu. Prezența și funcționarea unui mecanism BCH la nivel național (<http://www.biosafety.md/>) contribuie la dezvoltarea capacității instituționale în domeniu și facilitarea accesului la informație în scopul unei participări efective a publicului la procesul decizional.

Autoritățile naționale responsabile pentru reglementările descrise în acest capitol aparțin:

Ministerului Ecologiei și Resurselor Naturale;

Ministerul Sănătății;

Ministerului Transporturilor și Gospodăriei Drumurilor;

Ministerului Agriculturii și Industriei Alimentare.

Lipsa resurselor financiare necesare realizării cercetărilor competitive în domeniul biotehnologiilor moderne, domeniu bine dezvoltat în Europa și în țările vecine și care reprezintă o precondiție a funcționării unui cadru național de biosecuritate, creează unele bariere privind transpunerea reglementărilor relevante activităților cu organisme modificate genetic și securității biologice în Republica Moldova. Dezvoltarea biotehnologiilor contemporane necesită fonduri substanțiale alocate achiziționării de echipamente și de reactivi, instruirii corespunzătoare a resurselor umane și aplicării unui management performant.

1.3. Reguli generale de organizare a activității în laborator în contextul securității biologice

Volumul cercetărilor științifice privind ingineria genetică, biologia celulară și moleculară crește simțitor, fapt determinat de evoluarea performanței tehnico-instrumentale a laboratoarelor și a capacității de rezolvare a problemelor fundamentale și aplicative de diversă natură. Putem afirma cu toată certitudinea că, odată cu dezvoltarea și amploarea investigațiilor la nivel molecular, suspiciunile despre riscul acestor activități vor spori în continuare, care în unele cazuri se vor confirma. De aceea tendința actuală conturată în mediul științific este însoțită de o deplasare esențială a accentelor de protecție a sănătății publice, manifestându-se printr-o preocupare de asigurare a securității atât prin anumite caracteristici tehnice ale laboratorului, estimarea și managementul riscului, cât și prin responsabilitatea unui personal înalt calificat, instruit în acest domeniu.

Obiectivul evaluării riscurilor asupra mediului îl constituie identificarea și evaluarea probabilității unor potențiale efecte adverse asupra sănătății umane sau asupra mediului, asociate activităților cu agenți infecțioși, inclusiv organisme/ microorganisme modificate genetic, efecte care pot fi directe sau indirecte și care pot apărea imediat sau cu întârziere. Evaluarea trebuie realizată pentru a se stabili dacă este necesară sau nu dezvoltarea unui plan de management al riscurilor. La nivel național, procedura de identificare și estimare a riscurilor asociate OMG-urilor este reglementată în acord cu principiile expuse în *Regulamentul privind autorizarea activităților legate de obținerea, testarea, utilizarea și comercializarea organismelor modificate genetic Nr. 1153 din 25 septembrie 2003*.

Aspectele de bază care sunt urmărite în estimarea riscului biologic sunt:

- boli ale oamenilor, incluzând efectele alergice sau toxice;
- boli ale animalelor sau plantelor;
- efecte dăunătoare rezultate din imposibilitatea tratării unei maladii sau imposibilitatea asigurării unei profilaxii eficiente;
- efecte dăunătoare datorate diseminării în mediu;
- consecințe negative datorate transferului pe cale naturală a materialului genetic inserat la alte organisme.

Asigurarea securității cercetărilor în domeniul *Științe ale vieții*, fiind în funcție directă de identificarea și estimarea riscurilor, presupune elaborarea și introducerea unor proceduri, practici, echipament și facilități în scopul monitorizării acestora și reducerii lor până la un nivel acceptabil. Hazardul biologic care include agenți patogeni și alt material biologic primejdios se deosebește de cel chimic. Agenții suspectați nimerind accidental în mediu se pot multiplica dând naștere la un număr foarte mare de organisme, care direct prin infectare sau indirect prin deteriorarea mediului pot afecta sănătatea omului. Este important de menționat că riscurile potențiale asociate agenților biologici pot ușor deveni riscuri reale! De aceea laboratoarele științifice sau de diagnostic în care se operează cu tehnici moleculare și agenți chimici și biologici periculoși trebuie să asigure un anumit grad de securitate atât prin niveluri corespunzătoare de izolare fizică, cât și prin respectarea codului de bune practici.

Reieșind din definițiile „Hazard” – potențial de a cauza daune, iar în cazul agenților biologici patogeni ei înșiși reprezintă un hazard și „Riscul” ca probabilitate a unui potențial hazard în anumite circumstanțe de utilizare, a fost elaborată o matriță de esti-

mare a riscului bazată pe lincajul dintre probabilitatea de expunere a lucrătorilor față de agentul biologic și severitatea daunei rezultate din expunere⁵. Această matrice poate fi utilizată în evaluarea riscului hazardului la locul de muncă, tab. 1.1.

Tabelul 1.1. Matrice standard de evaluare a riscului

PROBABILITATEA DE EXPUNERE	GRAVITATEA EXPUNERII		
	Puțin dăunătoare	Dăunătoare	Foarte dăunătoare
Puțin probabilă	<i>risc neînsemnat</i>	<i>risc acceptabil</i>	<i>risc moderat</i>
Probabilă	<i>risc acceptabil</i>	<i>risc moderat</i>	<i>risc substanțial</i>
Foarte probabilă	<i>risc moderat</i>	<i>risc substanțial</i>	<i>risc intolerabil</i>

Există trei moduri de expunere a lucrătorilor la agenții biologici:

- ca rezultat al operării directe cu materialul experimental;
- expunere accidentală în cele mai multe cazuri datorată prezenței agenților contaminanți;
- indirect, în urma lucrului efectuat de colegi.

În estimarea riscului trebuie luat în considerație nu numai personalul angajat, dar și toți cei care pot fi afectați de activitățile din laborator:

- persoanele cu un risc ridicat (de ex., insuficiență a sistemului imunitar, hepatică etc.);
- persoane cu prezență temporară în laborator (personal sanitar, tehnic, studenți etc.);
- alte persoane (vizitatori).

Tabelul 1.2. Clasificarea microorganismelor cu un potențial hazard în patru grupe de risc în funcție de nivelul pericolului potențial pentru sănătate și mediu

GRUPUL DE RISC	NIVELUL RISCULUI	MICROORGANISME CARE:
1	Risc neglijabil sau fără risc	nu provoacă afecțiuni/ maladii la om sau animale;
2	Risc individual moderat, risc general scăzut	pot cauza afecțiuni/ maladii omului sau animalelor, însă fără consecințe grave pentru lucrătorii din laborator, comunitate și mediu; propagarea lor în colectivitate este improbabilă; există, în general, o profilaxie sau un tratament eficiente;
3	Risc individual înalt, risc general scăzut	pot afecta grav sănătatea omului și animalelor și constituie un pericol serios pentru lucrători; ele pot prezenta un risc de propagare în colectivitate, dar există în general o profilaxie sau un tratament eficiente;
4	Risc individual și general înalt	pot provoca maladii grave omului și animalelor și pot să prezinte un risc ridicat de propagare în colectivitate; nu există în general o profilaxie sau un tratament eficiente.

⁵ Biological Agents, managing the risks in laboratories & healthcare premises. SE/ACDP/ DH/ DEFRA, 2005, <http://www.hse.gov.uk/biosafety/biologagents.pdf>

În scop de monitorizare și reglementare a activităților care implică microorganisme cu un potențial hazard, acestea au fost incluse în patru clase de risc în funcție de nivelul pericolului potențial pentru sănătate și mediu (Directiva Consiliului Comunității Europene nr. 90/679/EEC⁶) tab. 1.2.

Procesul de identificare a riscurilor trebuie să conducă la identificarea clasei de risc asociată agentului biologic care ulterior va servi ca bază pentru selecția măsurilor de izolare și protecție.

În conformitate cu dotarea tehnică: caracteristici de design, construcție, bariere fizice, instalații, echipament, precum și practici, metode destinate să asigure activitățile cu agenți din diferite clase de risc în condiții de securitate pentru sănătatea umană și mediu se deosebesc laboratoare cu patru niveluri de biosiguranță:

- nivelul I și II – laboratoare cu cerințe minime privind siguranța profesională (instalații și echipament de bază);
- nivelul III – laboratoarele sunt dotate cu anumite bariere fizice de izolare;
- nivelul IV – izolare fizică primară și secundară la cel mai înalt nivel (vezi § 1.4).

Clasele de risc, nivelurile de biosiguranță, practici și echipament se află într-o anumită corespondență, tab. 1.3. Spre exemplu, activitatea care va include un agent asociat clasei 2 de risc va necesita pentru a asigura protecția personalului un echipament și practici cu nivelul II de biosecuritate. În funcție de particularitățile specifice ale experimentului, cum ar fi gene-

Tabelul 1.3. Practici și echipamentul asociat claselor de risc ale agenților biologici și nivelurilor de biosiguranță a laboratoarelor

CLASA DE RISC	NIVEL DE BIOSIGURANȚĂ	TIPUL LABORATORULUI	PRACTICI DE LABORATOR	ECHIPAMENT DE SIGURANȚĂ
1	I	De bază, destinat instruirii și cercetării	Tehnici microbiologice	Mese standard de lucru, nu sunt necesare facilități suplimentare de asigurare a securității
2	II	Cercetare și diagnostic	Tehnici microbiologice, echipament de protecție, semne de avertizare privind biohazardul	Mese standard, cabine de siguranță pentru aerosoli
3	III	Cercetare și servicii speciale de diagnostic	Tehnici similare nivelului doi, și adițional: acces restricționat, ventilație controlată	Cabine de siguranță și alte instalații de izolare
4	IV	Laboratoare specializate în care se lucrează cu agenți biologici periculoși	Tehnici similare nivelului trei completate cu stocare specială a deșeurilor, duș la ieșire și intrarea în laborator printr-o cameră cu filtru de aer sub presiune negativă	Cabine de siguranță clasa III, presiune inferioară celei atmosferice; autoclavă cu ușă dublă; aer filtrat.

⁶ COUNCIL DIRECTIVE 90/679/EEC of 26 November 1990 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.(OJ L 374, 31.12.1990, p.1); <http://www.biosafety.be/GB/Dir.Eur.GB/>

rarea de aerosoli în concentrații înalte, nivelul de biosiguranță III sau IV ar fi cel adecvat. Aprecierea nivelului de siguranță pentru activitățile experimentale trebuie să se facă conform unor considerații profesionale bazate pe estimarea riscului și nu pe o selectare automată a nivelului de biosiguranță în conformitate cu clasa de risc atribuit agentului utilizat.

Fiecare nivel de biosecuritate presupune anumite cerințe privind caracteristicile tehnice de izolare fizică a zonei de lucru de alte spații din aceeași clădire sau de trafic. În acest sens, fiecărui nivel de biosiguranță îi va corespunde un nivel de izolare denumit similar – nivelul de izolare I, II, III și IV, tab. 1.4.

Tabelul 1.4. Măsurile de izolare pentru fiecare nivel de biosiguranță a laboratoarelor

MĂSURI DE IZOLARE	NIVELURI DE BIOSIGURANȚĂ (DE IZOLARE)			
	I	II	III	IV
Laborator izolat fizic și funcțional ^a	nu este necesar	nu este necesar	este necesar	este necesar
Posibilitatea închiderii ermetice a laboratorului pentru a permite dezinfectia	nu este necesar	nu este necesar	este necesar	este necesar
Filtrarea admisiei și evacuării aerului: sistem de ventilare monitorizat, filtre absolute (HEPA)	nu este necesar nu este necesar	recomandat nu este necesar	este necesar este necesar	este necesar este necesar
Intrarea în laborator printr-o cameră cu filtru de aer sub presiune negativă ^b	nu este necesar	nu este necesar	opțional	este necesar
Presiunea în încăperea trebuie să rămână inferioară celei atmosferice	nu este necesar	recomandat	este necesar	este necesar
Controlul gazelor evacuate din sistemul închis	nu este necesar	este necesară minimalizarea diseminărilor	este necesară prevenirea diseminărilor	este necesară prevenirea diseminărilor
Tratamentul efluenților de la chiuvete sau dușuri înainte de evacuarea finală	nu este necesar	nu este necesar	recomandat	este necesar
Autoclavă	pe amplasament	în clădire	într-o cameră izolată ^c	în laborator cu uși duble
Personalul trebuie să facă duș înainte de a părăsi laboratorul	nu este necesar	nu este necesar	este/ nu este necesar*	este necesar
Cabine/ boxe de siguranță	nu este necesar	recomandat	este necesar	este necesar
Posibilități de monitorizare a securității personalului (ferestre de observare, mijloace video etc.)	nu este necesar	nu este necesar	recomandat	este necesar

^a Izolare: laboratorul este separat de alte zone din aceeași clădire sau se află într-o clădire separată.

^b Filtru cu aer cu presiune negativă: intrarea trebuie să se facă printr-o cameră-filtru cu presiune negativă, izolată față de laborator. Zona curată a camerei-filtru trebuie să fie separată de zona rezervată facilităților de spălare și de schimbare a îmbrăcămintei și este de preferat ca separarea să fie făcută prin uși în interiorul camerei-filtru.

^c Cu proceduri de lucru autorizate permițând transferul în condiții de securitate al materialului într-o autoclavă situată în afara laboratorului și care asigură un nivel echivalent de protecție.

Schemele de clasificare prezintă o indicație provizorie a clasei de risc a activității și a setului corespunzător de măsuri de izolare și control. În funcție de agentul biologic, exigențele de izolare din diferite categorii pot fi selecționate și combinate pe baza unei evaluări a riscurilor asociate activității în scopuri de cercetare, dezvoltare, învățământ, diagnostic. În laboratoarele în care se manipulează materiale despre care există incertitudini legate de absența agenților biologici patogeni pentru om, dar care nu au ca obiect de activitate lucrul cu agenții biologici ca atare, în special cultivarea sau concentrarea acestora, trebuie să se adopte cel puțin nivelul de izolare nr. II. Nivelul de izolare nr. III sau nr. IV trebuie utilizat, dacă este cazul, când se știe sau se presupune necesitatea sa.

Biotehnologiile avansează atât de rapid încât devine dificil de a anticipa potențialul hazard al oricărui sistem biologic și chimic și de a monitoriza fiecare operație ce poate implica materiale periculoase. De aceea un rol important în asigurarea securității proprii și a mediului înconjurător revine *cercetătorului*, care trebuie să posede anumite cunoștințe și capacități de a identifica riscul asociat activității de cercetare și de a instituționaliza proceduri și practici necesare pentru a asigura securitatea laboratorului la nivelul cel mai înalt.

În calitate de măsură de precauție este necesar ca fiecare colaborator care intenționează să opereze cu agenți cu potențial pericol să înregistreze activitatea de cercetare (experimentul) la instanțele cu funcții de control (Comitetul instituțional de securitate biologică) și să elaboreze un protocol experimental în care să descrie potențialul hazard asupra sănătății publice, inclusiv condițiile de izolare necesare reducerii acestuia. O atenție deosebită trebuie acordată modului de eliberare în mediu a organismelor/ microorganismelor MG (intenționat sau accidental), supraviețuirii, răspândirii în mediu etc. De asemenea, este necesar de indicat condițiile de păstrare și anihilare a materialului, precum și alte efecte secundare care pot apărea în decursul experimentului, de exemplu, generarea aerosolilor. Manipulările care produc aerosoli pot îngreuna esențial asigurarea biosiguranței.

În acord cu principiul siguranței, autoritățile cu rol de inspecție și control privind biosecuritatea trebuie să verifice activitatea laboratoarelor, a instalațiilor și echipamentului destinat asigurării nivelului de siguranță corespunzător (cabine de siguranță, autoclave etc.) și, de asemenea, dacă se respectă cerințele generale privind tehnica securității la locul de muncă.

Este important ca în fiecare laborator să existe anumite cerințe și activități de instruire a tehnicii securității, inclusiv un manual și programe de training privind securitatea biologică. Responsabilitatea pentru implementarea efectivă, profesionistă a acestor activități revine directorului/ șefului de institut sau laborator, care poate atribui anumite sarcini personalului implicat în activitatea institutului/ laboratorului. De asemenea, pentru siguranța proprie și a colegilor sunt responsabili atât salariații (persoanele angajate în laborator), cât și cei neangajați dar care solicită efectuarea în activitatea laboratorului. Lucrătorii trebuie să semnaleze imediat superiorului lor sau persoanei responsabile privind securitatea și sănătatea la locul de muncă orice accident/ incident asociat agentului biologic.

Persoana desemnată cu funcția de a asigura biosecuritatea (microbiolog, biochimist, biolog-tehnician), care poate fi un membru al echipei de lucru, are drept scop să asigure și să inspecteze dacă procedurile și programele de biosecuritate sunt respectate. Trebuie să fie competent profesional pentru a analiza și a aproba nivelul de siguranță și măsurile de izolare pentru orice activitate susceptibilă să prezinte un risc de expunere la agenții biologici, în scopul evitării/ reducerii oricărui risc pentru sănătatea și securitatea

lucrătorilor. Persoana desemnată cu probleme de biosecuritate are următoarele atribuții și responsabilități:

- asigurarea unui sistem intern de biosecuritate în conformitate cu regulamentul laboratorului/ centrului și actele legislative în domeniu;
- consultări privind securitatea și igiena muncii;
- inspecții periodice interne a metodelor, procedurilor și protocoalelor, agenți biologici, materiale și echipament;
- instruirea lucrătorilor înainte de inițierea unor activități care implică contactul cu agenți biologici, adaptată la apariția unor noi riscuri și repetată periodic dacă este necesar.
- elaborarea anumitor proiecte și metode de monitorizare a riscului în conformitate cu standardele privind biosecuritatea;
- reînnoirea periodică a evaluării riscurilor în funcție de caz și la orice modificare a condițiilor de lucru care pot să determine expunerea lucrătorilor la agenți biologici;
- informarea autorității de sănătate publică sau de inspecție a muncii, la cererea acestora, elementele care au stat la baza evaluării riscurilor profesionale;
- proiectarea proceselor de muncă și a măsurilor de control tehnic, astfel încât să se evite sau să se reducă la minimum diseminarea agenților biologici la locul de muncă;
- elaborarea unor planuri care să fie puse în aplicare în caz de accidente, ce implică prezența agenților biologici și înlăturarea erorilor de muncă, și prezentarea acestora șefului de laborator și comitetului de securitate biologică;
- asigurarea unui management corect al deșeurilor periculoase;
- elaborarea și monitorizarea unei proceduri adecvate pentru importul/ exportul materialului patogen în/ din laborator în acord cu reglementările naționale;
- promovarea unei culturi de conștientizare a responsabilității și respectarea codului etic și a celor de comportare în cadrul comunității științifice internaționale;
- fortificarea colaborării dintre sectoarele: științific, tehnic și de securitate.

În vederea reglementării eficiente a principiilor de biosecuritate la locul de muncă prin dezvoltarea politicii instituționale și a codului de practici se impune organizarea unei comisii de securitate biologică. Această comisie poate include: responsabilul privind biosecuritatea, cercetători, personal medical, veterinari (dacă se lucrează cu animale), tehnicieni, reprezentanți privind managementul laboratorului etc.

În conformitate cu principiile precauției, atribuțiile acestei comisii includ: revizuirea protocoalelor de cercetare pentru activitățile care implică agenți infecțioși, animale, ADN recombinat și materiale modificate genetic, estimarea riscului, formularea unor noi principii/ criterii a politicii privind securitatea și organizarea dezbaterilor în acest domeniu. Membrii comisiei în activitatea lor trebuie să colaboreze cu alți specialiști privind securitatea în domeniul radiației, industriei, incendiilor etc., precum și cu experți independenți din diferite domenii asociate, autorități și instituții locale.

Mentținerea și reparația instalațiilor/ echipamentului destinat asigurării biosecurității trebuie să fie efectuată de către ingineri și tehnicieni care posedă anumite cunoștințe atât privind echipamentul și instalațiile tehnice speciale, cât și procedurile și actele legislative în domeniu. Testarea echipamentului și eficienței de lucru a cabinelor de sigu-

ranță în cazul laboratoarelor cu nivelul III și IV de izolare se va efectua cu acordul și sub supravegherea responsabilului pentru biosecuritate sau a șefului de laborator.

Se recomandă ca serviciile sanitare în laboratoarele cu nivelul III și IV să fie îndeplinite de către personalul laboratorului.

Instruirea continuă a personalului este esențială pentru asigurarea și menținerea nivelului de siguranță a laboratorului. Succesul instruirii în domeniul biosiguranței/biosecurității, igienei și sănătății depinde de o serie de factori ca: motivația profesională, o comunicare eficientă și o formulare corectă a scopului și obiectivelor.

Programul de training pentru angajații laboratorului trebuie să includă:

- caracteristica agenților biologici utilizați în cercetare, cu identificarea potențialului hazard;
- tehnici aseptice bune;
- tehnici de decontaminare și dezinfecție adecvate;
- măsuri de precauție în caz de urgență;
- toate aspectele prevăzute de conceptul biosiguranței în laborator.

Angajații sunt acceptați în activitatea de rutină a laboratorului numai după ce au demonstrat cunoștințe privind tehnici și practici sigure de lucru, subiectul cercetării și pericolele posibile.

În cele din urmă, **investigatorului principal** care îndeplinește funcția de manager de proiect și cercetător îi revine responsabilitatea pentru proiectul de cercetare și asigurarea standardelor de biosecuritate în laborator în conformitate cu legislația națională și internațională de rigoare.

1.4. Caracteristici tehnice ale laboratorului – bariere primare de izolare

Termenul „izolare” este utilizat în administrarea materialelor cu hazard, prezente în laborator pentru a descrie barierele primare și secundare menite să reducă expunerea lucrătorilor și a altor persoane din exterior față de orice agent chimic și biologic periculos, fig.1.6. Izolarea este asigurată prin utilizarea bunelor practici de lucru, a instruirii, a echipamentului de izolare și prin proiectarea instalațiilor speciale.

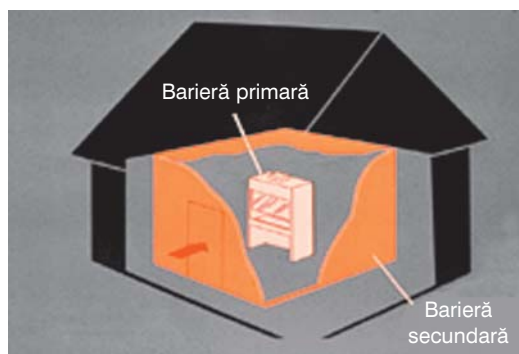


Fig. 1.6. Bariere primare și secundare de izolare

Barierele primare de izolare includ proceduri și practici de laborator (elemente de bază) și echipament utilizat în scopul de a preveni diseminarea materialului de cercetare în afara laboratorului. Selectarea barierele primare este în funcție de potențialul pericol al sistemului de cercetare.

Echipamentul destinat asigurării diferitor niveluri

de siguranță include: *cabine de siguranță biologică, omogenizatoare, centrifugi și o varietate de recipiente cu capac*. Aceste unități de echipament, utilizate în combinație cu tehnicile adecvate pot reține/ limita prezența probelor experimentale numai în zona de lucru – spații izolate, prevenind astfel răspândirea sub formă de aerosoli din/ în laborator sau mediul extern, fig. 1.7.

Aproape toate procedurile de rutină în laborator – fărâmițare, scuturare, agitare, sonicare, centrifugare a probelor biologice – determină formarea de aerosoli. În urma monitorizării spațiilor aferente celor în care se efectuează tehnici de laborator prin pipetare, transfer, omogenizare etc. cu suspensii bacteriene concentrate, s-a constatat că factorul de stropire „spray factor” (numărul de organisme eliberate în mediu în urma experiențelor raportat la concentrația inițială a microorganismelor) utilizat pentru a caracteriza capacitatea de producere a aerosolilor, este mare⁷. De ex., la omogenizarea unei probe cu concentrația de 10^8 microorganisme per mililitru se va elibera 1.5×10^3 , factorul de pulverizare constituind 1.5×10^{-5} . Astfel, cu cât este mai mare numărul de organisme pătrunse în mediu sub formă de aerosoli, cu atât este mai mare factorul de pulverizare. Acest indice poate fi utilizat pentru a caracteriza biohazardul potențial asociat cu tehnicile de laborator standard. În funcție de metodele utilizate, aerosolii formați conțin un număr diferit de particule vii pe o unitate de suprafață de lucru, tab. 1.5.



Fig. 1.7. Diseminarea aerosolilor

Tabelul 1.5. Concentrația și mărimea particulelor de aerosoli generate în timpul activității de laborator (suprafață de lucru 2 x 30,48 cm)

TEHNICI	NUMĂRUL DE COLONII VIABILE	MĂRIMEA PARTICULELOR (μM)
Omogenizarea culturii prin aspirații repetate cu pipeta	6,0	6,0
Transferul conținutului din omogenizator	9,4	4,8
Malaxorul – acoperit în timpul operațiunii	119,0	1,9
Malaxorul – neacoperit în timpul operațiunii	1500,0	1,7
Utilizarea sonicatorului	6,0	4,8
Tuburi cu culturi liofilizate: deschise atent	134,0	10,0
scăpate și împrăștiate	4838,0	10,0

Prezența microorganismelor în aer este insuficientă pentru a cauza anumite maladii. O infecție respiratorie se va produce atunci când aerosolii cu agenții infecțioși pătrund și sunt reținuți în căile respiratorii. S-a determinat că particulele mai mari de $5 \mu\text{m}$

⁷ http://www.lbl.gov/ehs/biosafety/Biosafety_Manual/biosafety_manual.shtml

sunt reținute în căile respiratorii superioare în timp ce cele mai mici de 5 μm se depozitează atât în căile inferioare, cât și cele superioare ale aparatului respirator. Aerosolii cu dimensiuni mai mici de 5 μm nimerind în aer rămân suspendați un timp îndelungat, reprezentând astfel o sursă ușoară de contaminare prin intermediul curenților de aer și sistemelor de ventilație a clădirii. Deoarece particulele de aerosoli și picăturile mai mici de 5 μm , și respectiv de 5-100 μm în diametru, nu sunt vizibile cu ochiul neînarmat, operatorul nu realizează generarea lor și astfel pot fi inhalați sau pot să contamineze suprafața de lucru. Chiar și atunci când echipamentul este utilizat adecvat ar fi de dorit ca aceste operații de lucru să fie efectuate într-o cabină de siguranță biologică (CSB) aprobată.

Pentru obținerea unui nivel înalt de siguranță a laboratorului, dotarea cu echipamentul corespunzător nu este suficientă, tab. 1.6. Nivelul de bază al izolării primare este atins doar atunci când utilizatorul este instruit privind procedurile și tehnicile de laborator, iar eficiența echipamentului de siguranță este testată anual de către instituțiile autorizate.

Tabelul 1.6. Echipament de siguranță destinat eliminării/reducerii hazardului

ECHIPAMENT	REDUCEREA HAZARDULUI DETERMINAT DE:	CARACTERISTICI DE SIGURANȚĂ
Cabine de siguranță: Clasa I Clasa II Clasa III	<i>Aerosoli și stropi</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Velocitate frontală minimă; filtrarea aerului exhaustat, nu asigură protecția produsului • Velocitate frontală minimă; filtrarea aerului evacuat, asigură protecția produsului • Izolare maximă asigură protecția produsului dacă este inclus fluxul de aer laminar
Izolatoare cu presiune negativă	<i>Aerosoli și stropi</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Izolare maximă
Ecran de protecție	<i>Stropi de reagenți</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Formează un ecran de protecție între operator și suprafața de lucru
Mijloace de pipetare	<i>Hazard din pipetarea folosind gura, ingestia patogenicilor, inhalarea aerosolilor produși prin sucțiune cu pipeta, picurarea lichidelor din pipetă</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Ușor de utilizat • Reducerea contaminării pipetelor • Protecția pipetelor • Pot fi sterilizate • Evitarea pierderilor prin scurgere din tip-uri
Recipiente destinate colectării și transportului probelor în cadrul laboratorului (sterilizare)	<i>Aerosoli, împrăștiere și pierderi prin dispersie</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Proiectate cu capac de acoperire • Durabile • Autoclavabile
Recipiente pentru obiecte ascuțite	<i>Leziuni prin înțepare</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Autoclavabile • Rezistente
Recipiente destinate transportului probelor între instituții/ laboratoare	<i>Diseminarea agenților biologici</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Etanșate • Durabile • Cu material absorbant

Cabinele (boxe, cabinete) de siguranță biologică (CSB) reprezintă principalele componente ale echipamentului de izolare, construite pentru a permite manipularea diferitor agenți biologici și substanțe periculoase într-un mediu steril.

O CSB nu este o nișă chimică întâlnită în toate laboratoarele chimice și biologice – proiectată pentru a proteja doar personalul prin înlăturarea vaporilor compușilor chimici și aerosolilor de pe suprafața de lucru. Grație sistemului de asigurare a unui flux laminar vertical și de recirculare a aerului, CSB oferă o siguranță totală, prin protecția produsului (culturi de microorganisme și diferite fluide), operatorului și a mediului ambiant de contaminarea cu aerosoli și stropi infecțioși generați în timpul prelevării probelor, transferului de material în/ din sistemul închis/ deschis, fig. 1.8.

Hotă de laborator cu flux laminar vertical, Model Streamline, ESCO, Singapore: protecție clasa 4 ISO; filtru HEPA 0,3 microni; prefiltru din poliuretan; lămpi fluorescente și UV; panou frontal de comenzi cu afișaj digital.



Fig. 1.8. Exemplu de hotă de laborator cu flux laminar vertical

În decursul anilor aceste boxe au suportat diverse modificări, cea mai esențială fiind echiparea acestora cu filtre tip HEPA (high-efficiency particulate air, HEPA) – sistem de filtrare a aerului cu eficacitate mare. Filtrele HEPA sunt construite folosind un mediu filtrant din hârtie de microfibră de sticlă, tratată cu fungicide și bactericide. Sunt utilizate pentru filtrarea particulelor extrem de fine – submicronice. Reține 99,97% din particulele cu 0,12 – 0,3 μm în diametru prezente sub formă de suspensie în aer, asigurând astfel o puritate foarte înaltă aerului evacuat în laborator. Aceste filtre înlătură particulele dar nu și fumigațiile substanțelor chimice. CSB clasa II tipul B2 reprezintă singura excepție care combină caracteristicile ambelor echipamente – CSB și nișă, astfel acest tip de boxe fiind clasificate și ca nișe de înlăturare a fumigațiilor.

O altă optimizare de design a reprezentat direcționarea aerului filtrat în zona de lucru minimalizând posibilitățile de contaminare a probei experimentale de pe suprafața de lucru. Aceste principii generale au stat la baza evoluării a trei clase de CSB.

Cabinele de siguranță biologică clasa I sunt caracterizate printr-o viteză (viteză) frontală a aerului de minimum 0,38 m/s și exhaustor pentru evacuarea aerului din zona controlată. Fluxul direcționat de aer antrenează particulele de aerosoli care pot fi generate pe suprafața de lucru, înlăturându-le de la cercetător spre canalul de exhaustare exterior. Ecranul frontal și panourile laterale Plexiglas transparente permite operatorului să-și monitorizeze activitatea de pe suprafața de lucru din interiorul boxei, fig.1.9.

Aerul din cabină este evacuat prin filtre HEPA: (a) în laborator și apoi spre exterior prin sistemul de exhaustare al clădirii; (b) în mediu extern prin sistemul de exhaustare al clădirii; sau (c) direct în mediu, fig. 1.10.



Fig. 1.9. Operatorul își monitorizează activitatea prin ecranul frontal transparent

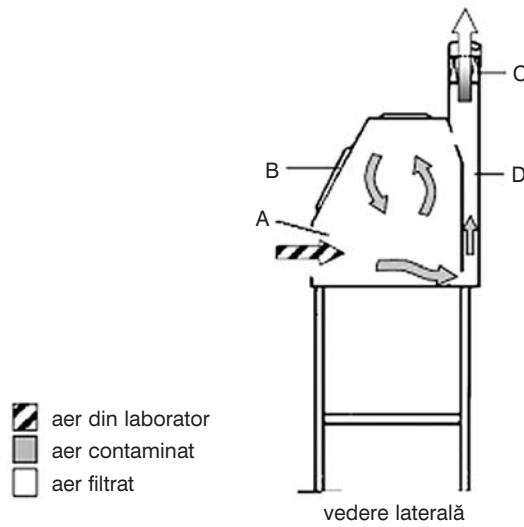


Figura 1.10. Diagramă schematică a cabinetului de securitate biologică de clasă I.
A – deschidere frontală; B – ecran; C – filtru HEPA exhaust; D – canalul de exhaustare.

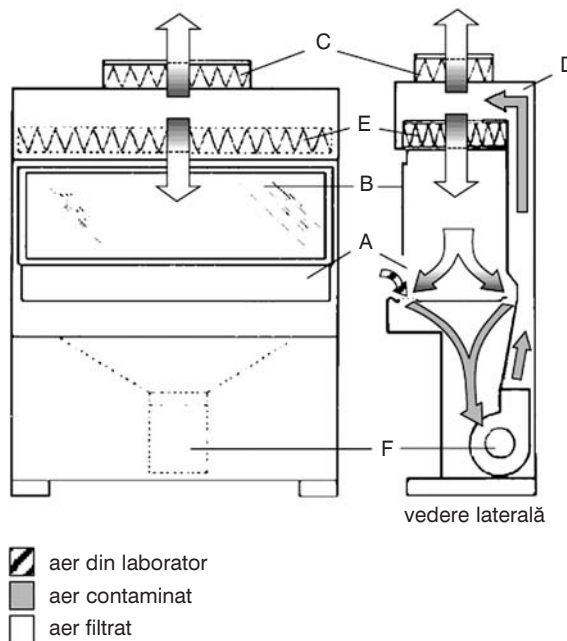


Fig. 1.11. Reprezentare schematică a cabinetului de securitate biologică de clasă IIA1
A – deschidere frontală; B – ecran; C – filtru exhaust HEPA; D – grila exhaust posterioară; E – filtru HEPA de admisie; F – ventilator.

Unele CSB de clasă I sunt prevăzute cu exhaustor integral în timp ce altele sunt incluse la sistemul de evacuare a aerului centralizat al clădirii. CSB de clasă I sunt pe larg utilizate datorită designului simplu și posibilității de protecție a operatorului și a mediului înconjurător în activitățile cu agenți biologici, substanțe toxice volatile și radioactive. Însă atunci când se operează cu culturi de țesuturi *in vitro* și transformări genetice etc., aceste cabine nu asigură o protecție totală a probei datorită deschiderii frontale care permite aerului nesteril (contaminat) din laborator să pătrundă în zona de lucru.

Cabinetele de siguranță biologică de clasă II au fost proiectate pentru protecția nu numai a personalului, ci și a probelor de pe suprafața de lucru față de aerul contaminat din laborator. Se disting patru tipuri de CSB de clasă II (A1, A2, B1 și B2) care diferă de clasă I prin faptul că admisia aerului din laborator în zona de lucru se realizează prin filtrul HEPA. CSB de clasă II sunt utilizate în activitățile cu agenți infecțioși încadrați în clasele 2 și 3 de risc și cu cei din clasă 4 atunci când se asigură suplimentar o presiune negativă.

CSB de clasă II tipul A1 (fig. 1.11.) asigură admisia aerului prin deschiderea frontală care este aspirat de pe suprafața de lucru cu o velo-

citare de cel puțin 0,38 m/s și filtrat prin filtru HEPA care după decontaminare pătrunde în zona de lucru. Întrucât fluxul de aer este vertical, el „despică” aproximativ 6-18 cm de pe suprafața de lucru, jumătate din fluxul de aer trecând prin grila exhaust frontală iar jumătate prin cea posterioară (din interiorul cabinei). Particulele de aerosoli generate pe suprafața de lucru sunt imediat captate de acest flux de aer asigurând un nivel înalt de protecție a probei.

Fluxul de aer contaminat pătruns în canalul exhaust HEPA este ulterior purificat prin filtru care se află în partea superioară a cabinei. Aproximativ 70% din volumul de aer recirculă prin filtru HEPA înapoi, spre interiorul cabinei, iar restul 30% din canalul de evacuare al filtrului este eliminat în laborator sau în mediul extern, atunci când este conectat la sistemul de ventilație al clădirii (condiție importantă pentru substanțe chimice volatile și radioactive).

CSB de tipul IIB1 și IIB2 sunt variații ale tipului IIA1 și sunt utilizate în funcție de scopul activității. CSB diferă una de alta după mai multe aspecte: viteza fluxului de aer prin deschidere frontală; volumul de aer recirculat în zona de lucru și exhaustat în exterior; sistem de exhaustare direct în laborator sau în mediul extern, printr-un sistem de evacuare separat sau unit la sistemul general al clădirii; cu facilități de menținere a presiunii negative.

Cabinetele de siguranță biologică tip Clasa III asigură cel mai înalt nivel de protecție a personalului. Sunt utilizate în activitățile cu agenți biohazard încadrați în grupul 3 și 4 de risc. Toate penetrările sunt etanșate. Aerul de admisie și cel de evacuare este filtrat prin filtre HEPA. Sistemul de evacuare a aerului menține o presiune negativă în interiorul cabinei (cca 124,5 Pa). Accesul în zona de lucru se realizează prin mănuși din cauciuc atașate la boxă. Se recomandă ca CSB clasa III să dispună de o anexă de intrare în boxă care să poată fi sterilizată și echipată cu exhaust cu filtru HEPA, fig. 1.14. Aceste cabinete sunt proiectate frecvent ca sisteme de module interconectate. Fiecare modul conține o unitate de echipament în conformitate cu programul de lucru: incubatoare, frigider, centrifugi. De asemenea, cabinetele de clasa III pot fi conectate la o autoclavă cu ușă dublă

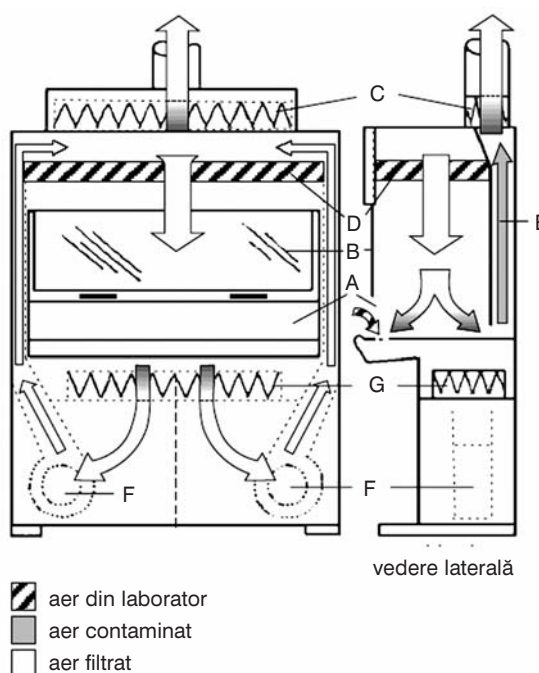


Fig. 1.13. Diagrama schematică a unui cabinet de siguranță biologică clasa IIB1

A – deschidere frontală; B – ecran; C – filtru exhaust HEPA;

D – filtru HEPA de admisie; E – canal de exhaustare cu presiune negativă; F – ventilator; G – filtru HEPA pentru aerul de admisie.

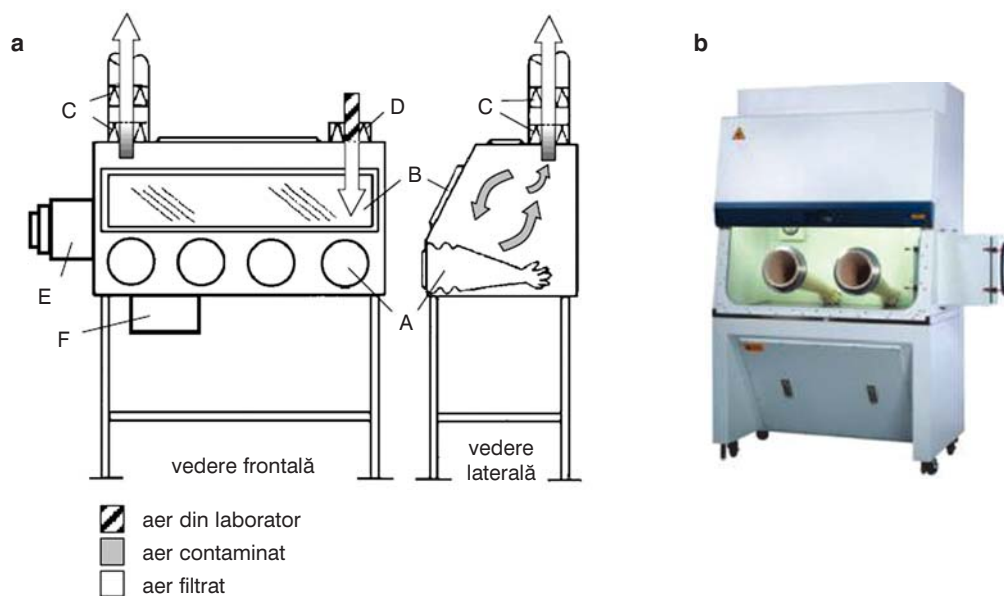


Fig. 1.14. Reprezentarea schematică a CSB Clasa III (boxa pentru mănuși)
 A – boxe pentru mănuși de lungimea mânecii; B – ecran; C – filtre HEPA pentru exhaustare dublă; D – filtru HEPA de admisie; E – autoclavă cu ușă dublă sau boxă intermediară; F – rezervor de chimicale. Este necesară conectarea exhaustorului cabinetului la un sistem separat de evacuare a aerului.

utilizată pentru decontaminarea tuturor materialelor care pătrund sau sunt scoase din cabinet. Pentru a extinde suprafața de lucru se atașează mai multe boxe pentru mănuși.

În tabelul 1.7. sunt însumate unele caracteristici tehnice ale CSB care se deosebesc în funcție de clasă și de tip.

Tabelul 1.7. Diferențele dintre CSB clasa I, II și III

CSB	VELOCITATE FRONTALĂ (M/S)	FLUX DE AER (%)	
		recirculat	exhaustat
Clasa I ^a	0,36	0	100
Clasa IIA1	0,38 - 0,51	70	30
Clasa IIA2	0,51	70	30
Clasa IIB1	0,51	30	70
Clasa IIB2	0,51	0	100
Clasa III	—	0	100

O descriere completă a caracteristicilor tehnice precum: structură și dimensiuni ale suprafeței de lucru (oțel inoxidabil), grade duritate, prefiltre (poliuretan), panouri plexi-glas transparente (lămpi fluorescente și UV), panou comenzi, reglaj turație ventilator, prize electrice, conexiune gaz, apă etc. sunt obținute de la producător.

Selectarea CSB se face în acord cu tipul de protecție necesară, tab. 1.8:

- protecția probei și a personalului față de agenții încadrați în clasa de risc 1-4;
- protecția personalului față de expunerea la substanțe chimice volatile și radioactive; sau
- combinate.

În activitățile cu substanțe volatile, nu se recomandă utilizarea CSB care recirculă aerul exhaustat în laborator, precum CSB clasa I, neconectate la sistemul de exhaustare al clădirii sau cabinele de clasa II A1 și II A2.

CBS de clasa II B1 sunt prevăzute pentru activitățile care implică substanțe chimice volatile și radioactive în volume mici (volum/ minut) spre deosebire de cele de tip II B2, dotate cu exhaust total, recomandate activităților cu acești compuși în cantități semnificative.

Tabelul 1.8. Selectarea cabinetului de siguranță biologică (CSB), în funcție de tipul de protecție necesară

TIPUL DE PROTECȚIE, AGENTUL BIOPLOGIC	SELECTAREA CSB
Protecția personalului, microorganismele cu clasa de risc 1-3	Clasa I, Clasa II, Clasa III
Protecția personalului, microorganismele cu clasa de risc 4,	Clasa III, laborator dotat cu boxe cu mănuși
Protecția produsului	Clasa II, Clasa III cu fluxul laminar inclus
Protecție de radionucleoizi/ substanțe chimice volatile – cantități mici	Clasa IIB1, Clasa IIB2 cu evacuare în exterior
Protecție de radionucleoizi/ substanțe chimice volatile	Clasa I, Clasa IIB2, Clasa III

Hotele cu flux laminar orizontal sau vertical (*clean-air work stations*) nu trebuie confundate cu CSB, deoarece asigură un flux de aer filtrat în interior și sunt proiectate doar pentru protecția probei. Aceste cabine pot fi utilizate în activitățile cu agenți biologici fără hazard, care trebuie să fie sterili, la prepararea mediilor de cultură etc.

Amplasarea CSB în laborator. Velocitatea fluxului de aer prin deschiderea frontală în boxă este de cca 0,45 m/s. La această viteză, integritatea fluxului direcționat de aer admis poate fi ușor întrerupt de curenții de aer generați prin mișcarea lucrătorilor din apropierea cabinei, ferestre deschise, închiderea/ deschiderea ușilor. Se recomandă ca CSB să fie amplasate în spații bine izolate de trafic și de potențialii curenți de aer. Un spațiu de 30 cm în jurul cabinei este suficient pentru a asigura accesul și menținerea condițiilor unei bune funcționări. Distanța de 30–35 cm dintre tavan și cabină este importantă pentru asigurarea vitezei de aer evacuat și pentru înlocuirea filtrelor.

Operatorii trebuie să mențină cu acuratețe integritatea fluxului frontal atunci când își mișcă brațele în exteriorul și interiorul cabinei (vezi cap. 2). Se recomandă mișcarea lentă a brațelor perpendicular la deschiderea frontală. Manipulările asupra probei din interiorul CSB trebuie să înceapă cu 1 minut mai târziu după fixarea mâinii pe suprafața de lucru pentru a permite cabinei să ajusteze și să „înlătore“ aerul de pe suprafața mâinilor. Numărul de mișcări trebuie redus prin plasarea instrumentelor necesare în interiorul cabinei anterior manipulărilor.

Este foarte importantă calitatea întreținerii acestui echipament într-un mod regulat de către persoane competente. Pentru fiecare tip sunt recomandate deferite intervale de timp pentru testarea eficienței de lucru a CSB, tab. 1.9.

Tabloul 1.9. Intervale de timp recomandate pentru testarea CSB

CARACTERISTICI TEHNICE		FRECVENȚA
Fluxul de aer		6 luni/ lunar
Integritatea filtrului		6 luni
Funcționarea mecanică și electrică		6 luni
Integritatea mecanică a elementelor sistemului de evacuare		anual
Protecția operatorului	Nivelul 3	6 luni

Izolatoarele flexibile cu presiune negativă reprezintă o barieră de izolare primară pentru activitățile cu agenți biologici cu risc înalt (clasele 3 sau 4) în condiții de câmp. Ele pot fi montate pe un suport mobil. Suprafața de lucru este izolată total printr-un înveliș de polivinilclorid (PVC) transparent îmbrăcat pe o ramă de oțel prevăzută cu intrări prin mânuși. Izolatorul este menținut la o presiune internă inferioară celei atmosferice, care este monitorizată cu un manometru. Canalul prin care intră aerul este echipat cu un filtru HEPA, iar cel de evacuare cu două filtre, îndeplinind funcția unui sistem de exhaustare. Izolatorul poate fi echipat cu un incubator, microscop și alte unități: centrifugi, carcase pentru animale, blocuri pentru încălzire etc. Probele sunt introduse și transferate în/ din izolator prin ieșiri fără o compromitere a siguranței biologice.



Fig. 1.15. Micropipetele, centrifugile și alt echipament utilizat în activități cu materiale periculoase se păstrează în CSB sau nișe chimice

Pipetele și micropipetele automate. Majoritatea hazardurilor asociate procedurilor de pipetare sunt rezultatul sucțiunii folosind gura. Aspirarea și ingestia materialelor periculoase sunt principalele cauze ale infecțiilor asociate activităților în laborator. Infectarea cu patogeni decurge foarte ușor atunci când degetele contaminate ating capătul proximal al pipetei sau prin inhalarea cu aerosoli, chiar și lichid în cazul unei aspirații mai puternice. Aerosolii pot fi formați și în urma picurării lichidului din pipetă pe suprafața de lucru.

Hazardul determinat de utilizarea pipetelor clasice poate fi redus prin utilizarea micropipetelor automate care sunt comode în utilizare, pot fi curățate și sterilizate. Nu se recomandă utilizarea pipetelor care au capătul proximal crăpat ori așchiat, deoarece nu asigură etanșarea pipetei, creând astfel un hazard suplimentar.

Omogenizatoare, agitatoare, mijloace de sonicare. Nu se recomandă utilizarea omogenizatoarele de uz casnic, deoarece nu sunt etanșate, producând astfel cantități mari de aerosoli. Aceste piese de echipament, utilizate pentru

activitățile cu microorganismele asociate clasei de risc 3, trebuie întotdeauna utilizate în cabinete de siguranță, fig. 1.15. Se recomandă decontaminarea lor.

Microincineratoarele încălzite cu gaz sau electrice trebuie să conțină un scut de sticlă silicat ori din ceramică pentru a minimiza stropirea și dispersia material infectat. Deoarece pot întrerupe fluxul de aer, microincineratoarele trebuie să fie amplasate într-un colț, în spatele cabinei de siguranță.

Echipamentul și vestimentația de protecție personală (EPP) reprezintă elemente ale izolării primare, destinate pentru a minimiza riscul expunerii la aerosoli, picături și inoculări accidentale. Selecția elementelor de vestimentație este în funcție de tipul laboratorului. Tabelul 1.10. însumează unele elemente de EPP utilizat în laboratoare și gradul de protecție atins.

Tabelul 1.10. Echipament de protecție personală

ECHIPAMENT	HAZARDUL PREVENIT	CARACTERISTICI DE SIGURANȚĂ
Halate, capoate de laborator	Contaminarea îmbrăcăminteii	Deschidere la spate Protejează îmbrăcăminteaa de zi
Șoșuri de plastic	Contaminarea îmbrăcăminteii	Impermeabile, protejează îmbrăcăminteaa de zi
Încălțăminte de cauciuc	Situații de accident	Protecția picioarelor
Ochelari de protecție	Situații de accident și infectare	Lentile rezistente la impact (optic corecte sau purtate deasupra ochelarilor de corecție a ochilor), ecrane laterale
Ecrane faciale	Situații de accident și infectare	Protecția feței, ușor de înlăturat în caz de accident
Respiratoare	Inhalare de aerosoli	Modelele disponibile includ măști de unică folosință; mască completă sau semimască cu filtre pentru particule; dispozitive electrice de respirație cu purificarea aerului; și măști cu admisia aerului.
Mănuși	Contact direct cu microorganisme, tăieturi	Mănuși din latex, vinil sau nitril; protecția mâinii. Plasă.

Capoatele de laborator cu mâneci lungi, care se încheie la spate prin butoane/ nasturi, asigură o mai bună protecție comparativ cu halatele de laborator și sunt recomandate în toate laboratoarele biologice, fig. 1.16. Șoșul impermeabil și boneta pot fi purtate peste halate atunci când este necesară o protecție ulterioară față de stropii de substanțe chimice sau materialele biologice (fluide de sânge sau de microorganisme). Blocul sanitar și serviciile de dezinfecție a EPP trebuie să se afle în laborator sau în apropierea imediată a acestuia. Îmbrăcăminteaa de laborator nu poate fi purtată în afara laboratorului, iar după ce este înlăturată, mâinile se spală.



Fig. 1.16. *Capote de laborator*



Fig. 1.17. Ochelari și ecrane faciale de protecție

vapori, particule de praf și microorganisme. Se recomandă selectarea unor măști care se potrivesc bine, ceea ce poate fi verificat printr-un test al etanșeității (*fit check*), care trebuie făcut de fiecare dată când este purtată o mască. Sunt disponibile mai multe tipuri de măști și dispozitive pentru respirație care oferă și niveluri diferite de protecție respiratorie: măști chirurgicale, măștile de unică folosință pentru particule, semimască sau mască completă cu filtre pentru particule etc.

Măștile chirurgicale sunt proiectate pentru siguranța pacienților și nu a lucrătorilor. Măștile de unică folosință pentru particule, deși similare în aparență cu măștile chirurgicale, diferă semnificativ de acestea prin asigurarea unei etanșeități faciale și filtrarea particulelor infecțioase din aer. Acest tip protejează purtătorul împotriva expunerii la boli infecțioase aerogene. Măștile pentru particule sunt ușoare și confortabil de purtat. Totuși este imposibil să se evite total intrarea de aer contaminat pe lângă mască.



Fig. 1.18. Echipament de protecție personală complet: costum, încălțăminte și respirator cu filtre prevăzută pentru activități cu clasa 4 de risc

Ochelarii și ecranele faciale de protecție fac parte din combinațiile de precauții privind posibilitățile de infecțare pe cale oculară (infecțarea conjunctivei, canalul lacrimal) și nazofaringe, fig. 1.17. Ochelarii pentru siguranță sunt prevăzuți cu rame speciale cu lentile mari, însă nu asigură protecția totală față de stropi sau de un potențial impact, de aceea ei pot fi purtați peste ochelarii obișnuiți și lentilele de contact.

Ecranele faciale sunt confecționate din plastic fixate prin curele care se îmbracă pe cap. Capotele, halatele, bonetele și șorțurile sunt, de asemenea, de uz intern.

Protecția respiratorie este necesară în activitățile cu hazard înalt (de exemplu, curățarea suprafețelor contaminate cu material infecțios). Respiratoarele sunt echipate cu succesiuni de filtre pentru protecția față de gaze, vapori, particule de praf și microorganisme. Se recomandă selectarea unor măști care se potrivesc bine, ceea ce poate fi verificat printr-un test al etanșeității (*fit check*), care trebuie făcut de fiecare dată când este purtată o mască. Sunt disponibile mai multe tipuri de măști și dispozitive pentru respirație care oferă și niveluri diferite de protecție respiratorie: măști chirurgicale, măștile de unică folosință pentru particule, semimască sau mască completă cu filtre pentru particule etc.

Un alt tip de mască este semimasca sau mască completă cu filtre pentru particule ce pot fi înlocuite. Acestea sunt dispozitive respiratorii ușoare, cu filtre simple sau duble, destinate substanțelor chimice specifice sau filtrelor HEPA. Sunt puțin confortabile de purtat în cazul unor perioade lungi de timp, comunicarea poate fi dificilă.

Dispozitive electrice de respirație cu purificarea aerului (powered air-purifying respirator – PAPR). PAPR protejează mai bine decât semimăștile, iar dificultatea respirației este mai scăzută, însă au alte dezavantaje, de exemplu, bateriile trebuie reîncărcate și menținute pentru a asigura fluxul aerian corespunzător în mască.

Mănușile microbiologice de latex, chirurgicale de vinil ori nitril sunt utilizate pe larg în activitățile standard din laborator și manipularile cu agenți infecțioși, sânge și alte fluide, fig. 1.8. Se acceptă folosirea mănușilor reutilizabile

în cazul unei spălări și dezinfectări corecte. Măinile se spală minuțios după înlăturarea mănușilor la sfârșitul lucrului sau înainte de a părăsi laboratorul.

Mănușile se depozitează împreună cu deșeurile de laborator, apoi sunt înlăturate. În cazul unor alergii determinate de mănușile de latex, în special de pudra cu care sunt prelucrate, manifestate prin dermatite sau hipersensibilitate, se selectează alt tip de mănuși. Se recurge la mănuși prevăzute cu o plasă de oțel inoxidabil în cazul expunerii la instrumentele ascuțite în decursul unor examinări post-mortem.

Alte elemente ale EPP sunt cizmele de cauciuc impermeabile ușor de curățat.

Recipiente. Instrumentele și materialele contaminate în urma activității de laborator se supun sterilizării, care poate fi realizată la instalațiile din același laborator, sau sunt scoase pentru sterilizare în alt edificiu. În funcție de acest obiectiv, sunt utilizate diferite recipiente, fig.1.19. Recipientele rezistente, care pot fi introduse în alt recipient secundar, sunt utilizate pentru materialele destinate sterilizării în altă încăpere decât cea a laboratorului.

Este foarte important de evitat leziunile accidentale cauzate de seringi, bisturiuri sau alte instrumente de laborator utilizate în activitatea experimentală sau în cadrul procedurilor de curățare, sterilizare, depozitare. Pentru acest tip de instrumente se utilizează recipiente-biohazard rezistente la înțepături. Recipientele trebuie amplasate în zona de lucru a laboratorului.



Fig. 1.19. Mănuși utilizate în activitățile de laborator



Fig. 1.20. Recipiente utilizate în activitățile de laborator

1.5. Caracteristici tehnice ale laboratorului – bariere secundare de izolare

Izolarea secundară este determinată de proiectarea clădirii și a laboratorului – spațiu izolat în care se intenționează a realiza activități cu agenți biologici și chimici cu hazard. Bariere secundare de izolare sunt considerate instalațiile care înconjoară barierele primare, de exemplu, pereți, pardoseli, plafoane, uși cu modul automat de închidere, presiune diferențiată pozitivă/ negativă, evacuarea aerului prin filtre, instalații de decontaminare a aerului, lichidelor și materialelor solide etc., toate aceste elemente fiind destinate pentru a preveni eliberarea accidentală în mediu a materialului de cercetare.



Fig. 1.20. Semne de avertisment pentru biohazard

Aceste caracteristici fizice determină diferite niveluri de izolare între laborator și spațiul extern, precum și de alte spații aferente ale aceleiași clădiri asigurând un mediu sigur pentru desfășurarea eficientă a experimentelor.

În proiectarea laboratoarelor generale (de bază) încadrate în clasa I și II de biosiguranță se iau în considerație anumite principii fundamentale de organizare, care se completează cu unele modificări în cazul celor incluse în clasele III și IV, prevăzute pentru activitățile cu un biohazard mai mare. Semnul internațional de avertisment pentru biohazard trebuie să fie afișat pe ușile laboratoarelor unde se realizează activități care implică agenți biologici din clasa 2 de risc și mai mare, fig. 1.20.

În proiectarea laboratoarelor cu nivelurile I și II de biosiguranță (fig. 1.21., fig. 1.22.) și în specificarea activităților, se pune accentul pe înlăturarea factorilor care creează probleme de siguranță:

1. Formarea aerosolilor.
2. Activități cu volume mari și/ sau concentrații înalte de microorganisme.
3. Aglomerare de echipament.
4. Infestări cu rozătoare și artropode.
5. Intrări neautorizate.
6. Utilizarea probelor și reagenților specifici.

Laboratoarele biologice cu nivelurile I și II de biosiguranță sunt adecvate activităților cu:

- microorganisme fără risc sau un risc minim;
- ADN recombinat care necesită nivelurile 1 și 2 de izolare;
- culturi de celule sau țesuturi care nu implică agenți infecțioși;
- sisteme oncogene virale încadrate în clasa I de risc etc.

Caracteristici de design:

1. Spațiu de lucru corespunzător (mare), favorabil desfășurării activității de laborator și a celei de curățare și întreținere în siguranță.
2. Spațiul laboratorului trebuie să fie aerisit corespunzător, prin sistem de ventilație mecanică ce asigură fluxul de aer în interior, cu respectarea condițiilor pentru reducerea riscului de contaminare (în lipsa posibilităților de ventilație mecanică, se recomandă ca ferestrele să poată fi deschise, dar să fie suplimentate cu ecran de protecție față de artropode).
3. Podelele, pereții, tavanele și suprafețele de lucru trebuie să aibă suprafață netedă, lavabilă, neabsorbantă, rezistentă la acțiunea reagenților chimici și agenților dezinfectanți, ușor de curățat și de dezinfectat; unghiurile dintre pereți și podea trebuie să fie concave (rotunjite).
4. Mese de lucru impermeabile, rezistente la apă, acizi, baze, solvenți organici, dezinfectanți, agenți de decontaminare și încălzire moderată, ridicate de la podea.

5. Lumină adecvată pentru toate activitățile. Se recomandă evitarea intensității mari a luminii și reflecțiilor.
6. Spațiul și mobilierul laboratorului trebuie astfel concepute încât să nu permită contaminarea mediului și a personalului; spații deschise între mese, cabine și echipament făcând accesibilă manipularea cu acestea; scaune cu înălțime reglabilă.
7. Zona de birou separată de laborator; computerul poate fi prezent numai pentru operarea echipamentelor sau colectarea datelor; tastatura, materialele de referință, cărțile – protejate.
8. Spațiu-anexă pentru depozitarea materialelor de uz imediat cu evitarea aglomerărilor; pentru o depozitare de lungă durată se recomandă un spațiu adițional în afara zonei de lucru din laborator; articolele și echipamentele specifice activității de laborator trebuie depozitate în dulapuri suspendate, fără a se folosi lemn neșlefuit, astfel încât să permită curățarea cu ușurință.
9. Spațiu și facilități necesare pentru păstrarea în siguranță a solvenților, materialelor radioactive și a gazelor sub presiune și lichefiate; etichetarea corespunzătoare a substanțelor chimice, soluțiile de lucru și stoc cu numele substanței, data etc.
10. Spațiu pentru depozitarea materialelor sanitare; vestiar și sală pentru personal în afara zonei de lucru a laboratorului.
11. Vestiar și chiuvete cu apă curgătoare, dacă este posibil, amplasate în apropierea ușii.
12. Sunt esențiale instalații care să asigure o calitate bună a apei; evitarea contaminării dintre sursele de apă din laborator și cele de apă potabilă, mecanism pentru protecția sistemului acvatic.
13. Uși prevăzute cu ferestre de monitorizare a personalului.
14. La nivelul 2 de siguranță, spațiul destinat sterilizării trebuie să conțină minimum o autoclavă sau alte mijloace de decontaminare; afișarea și însușirea de către personal a etapelor și procedurilor de sterilizare.
15. Recipiente corespunzătoare, cu capac, pentru depozitarea deșeurilor cu risc biologic, citotoxice, în vederea sterilizării și apoi, după caz, a incinerării; recipiente din materiale care să permită spălarea și decontaminarea lor, în vederea colectării, depozitării intermediare și transportării deșeurilor menajere; recipiente acoperite, rezistente, pentru depozitarea exterioară a deșeurilor menajere până la evacuare. Colectarea separată a deșeurilor chimice și a celor din sticlă.
16. Zonă și echipament de urgență: trusă de prim-ajutor, sifon în pardoseală etc., set de materiale în caz de împrăștiere accidentală; dușuri cu jet de apă, stație pentru spălarea ochilor în caz de accident etc.
17. Sistem de alimentare cu energie electrică adecvat și unul adițional în caz de accident pentru a asigura o evacuare în siguranță. Este recomandată prezența unui generator pentru funcționarea echipamentului esențial precum incubatoare, CSB, frigidere etc.
18. Instalații de gaz corespunzătoare și o întreținere bună a lor. Măsuri pentru controlul speciilor nedorite, cum ar fi insecte, rozătoare, artropode.
19. Laboratoarele și izolatoarele pentru animale pot fi ținte ale acțiunilor de vandalism; securitatea fizică și incendiară sunt esențiale.
20. Uși puternice, ferestre cu gratii (ecran) și accesul restricționat sunt măsuri forțate. Se recomandă alte măsuri pentru a asigura securitatea laboratorului de clasele I și II.

Selectarea echipamentului de laborator în acord cu cerințele privind siguranța se va face în conformitate cu câteva principii generale:

- proiectarea se face astfel încât să prevină contactul dintre operator și agenții infecțioși;
- materialele din care este fabricat echipamentul trebuie să fie impermeabile pentru lichide, rezistent la coroziuni și să corespundă cerințelor de structură;
- echipament proiectat, construit și instalat astfel încât să faciliteze un mod simplu și eficient de utilizare și întreținere, curățare, decontaminare, testare, certificare; piesele din sticlă și din alte materiale casabile trebuie evitate oricând este posibil.

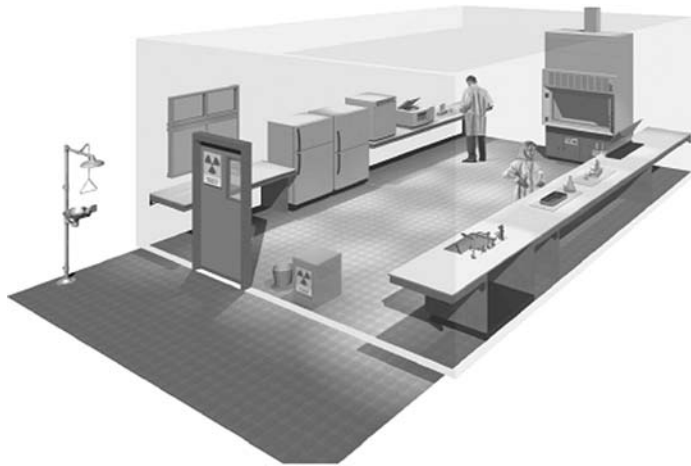


Fig. 1.21. Laborator tipic pentru nivelul I de biosiguranță

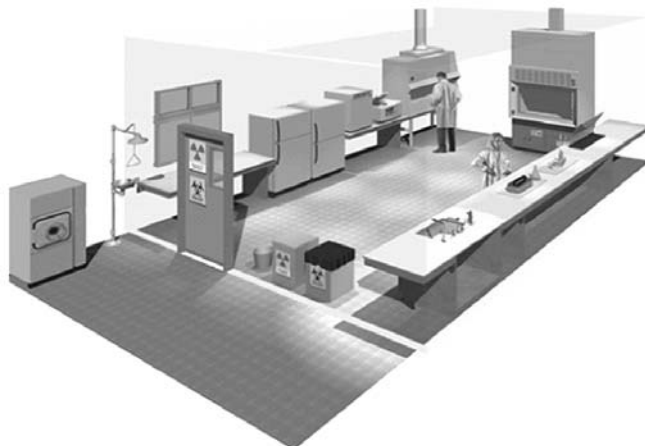


Fig.1.22. Laborator tipic pentru nivelul II de biosiguranță

Procedurile cu potențial de a genera aerosoli sunt realizate în cadrul cabinetului de siguranță biologică. Ușile sunt menținute închise și pe ele sunt afișate semne de avertisment pentru biohazard corespunzătoare. Deșeurile potențial contaminate sunt depozitate separat

Echipment de bază prezent în laborator:

- pipete automate;
- CSB și autoclave testate regulat și validate în acord cu instrucțiunile propuse de către producător;
- tuburi și sticle cu capac care se înșurubează;
- pipete Pasteur de plastic pentru a le înlocui pe cele din sticlă oricând este posibil.

Scăderea eficienței de izolare a organismelor patogene poate fi rezultatul indirect al accidentelor chimice, de incendiere, electrice ori radioactive. Este foarte important de menținut standarde înalte ale siguranței în oricare laborator. Se recomandă întreținerea acestor servicii conform normelor reglementate de lege (vezi § 1.6.).

Laboratoarelor cu nivelul III de biosiguranță sunt proiectate pentru activitățile cu: agenții din clasa 3 de risc; volume mari/ concentrații înalte de microorganisme din clasa 2 de risc; un risc crescut de împrăștiere și generare de aerosoli, fig. 1.23. Cerințele și programele operaționale de siguranță pentru nivelul III sunt mai stringente comparativ cu cele pentru laboratoare de bază – nivelurile I și II. Detalii suplimentare privind principiile de organizare specifice nivelului III de siguranță includ momentele ce se referă la:

1. Codul de practici.
2. Design-ul laboratorului și instalațiilor.
3. Controlul medical.

Caracteristici de design:

1. Laborator separat de alte zone din aceeași clădire sau se află într-o clădire separată. O posibilitate de izolare a laboratorului se poate face și prin proiectarea și construcția unei anticamere (intrarea printr-o cameră separată cu două uși sau incinta unui laborator cu nivelul II de izolare), dacă laboratorul este localizat la capătul unui coridor. Anticamera trebuie să fie amenajată cu dulapuri separate pentru îmbrăcămintea de protecție curată și utilizată. Este recomandată și prezența dușurilor cu jet de apă.
2. Ușile de la anticameră cu deschidere exterioară, mod automat de închidere și acces cu cartele magnetice.
3. Suprafețe: pardoseli, plafon, ziduri rezistente la apă și ușor de curățat.
4. Zona controlată va fi etanșeizată pentru a permite fumigații, iar sistemul de aerisire trebuie să fie astfel proiectat încât să permită neutralizarea gazelor.
5. Ferestre închise, sigilate, rezistente la spargere, capabile să reziste la mase de aer cu presiune negativă.
6. Facilități pentru spălarea mâinilor amplasate lângă ușa de la ieșire.
7. Sistem de ventilație controlat care menține un flux direcționat de aer în incinta laboratorului și cu monitorizare vizuală cu sau fără alarmă a fluxului de aer.
8. Sistemul de ventilație al clădirii trebuie să fie construit astfel încât aerul din laboratorul cu nivelul III de izolare să nu fie recirculat spre alte zone din aceeași clădire. Se recomandă filtrele tip HEPA pentru filtrarea aerului de evacuare. Toate filtrele HEPA trebuie să fie instalate astfel încât să permită testarea și decontaminarea gazelor.

8. Un sistem de control sonor/ vizual al regimului de încălzire, ventilație și condiționare a aerului trebuie să fie instalat pentru a preveni dezvoltarea unei presiuni pozitive în laborator.
9. CSB amplasate într-o zonă fără curenți de aer formați în urma închiderii/deschiderii ușilor sau a funcționării sistemului de ventilație.
10. Aerul exhaustat de CSB clasa I sau clasa II filtrat prin HEPA filtre trebuie să fie evacuat astfel încât să se evite interferența cu aerul exhaustat în sistemul clădirii.
11. Prezența unei autoclave pentru decontaminarea deșeurilor contaminate direct în incinta laboratorului. Transferarea deșeurilor infecțioase din laborator în scop de decontaminare se efectuează în recipiente sigilate, rezistente la lovituri în conformitate cu reglementările naționale și internaționale adecvate.
12. Facilități pentru controlul apelor de scurgere contaminate.
13. Se recomandă documentarea procedurilor de proiectare și celor operaționale privind facilitățile de izolare a laboratorului.

Selectarea echipamentului de laborator se realizează conform principiilor descrise pentru laboratoarele de nivelul II de biosiguranță. Se recomandă efectuarea tuturor operațiilor cu agenții potențial infecțioși în cabina de siguranță (centrifugare, izolare, transfer etc.).

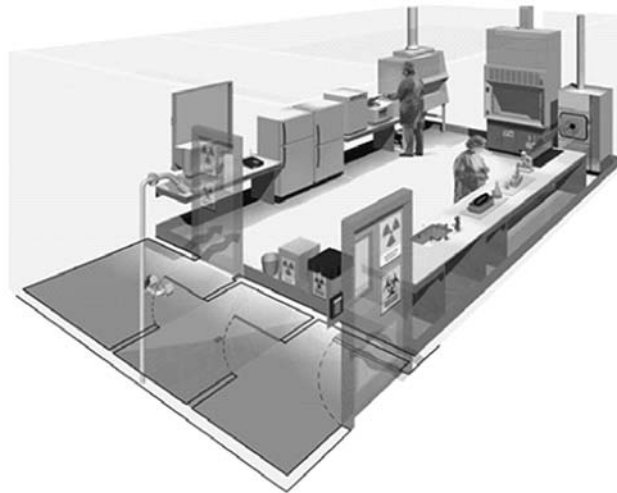


Fig. 1.23. Laborator tipic pentru nivelul III de biosiguranță

Laboratorul izolat de alte spații este accesat printr-o anticameră (intrare cu două uși sau laborator cu nivelul de biosiguranță II). Se caracterizează prin prezența unei autoclave pentru decontaminarea deșeurilor înainte de aruncare, a unei chiuvete cu jet de apă, flux direcționat de aer în incinta laboratorului și CSB

Laboratorul cu nivelul IV de biosiguranță reprezintă un laborator cu izolare maximă, fiind destinat pentru activitățile cu agenți biologici încadrați în clasa 4 de risc. Izolarea fizică operațională și funcțională a acestui tip de laboratoare trebuie să fie în acord cu reglementările în vigoare și sub controlul autorităților naționale de sănătate.

Elemente de proiectare și facilități ale laboratorului. Se aplică caracteristicile descrise pentru laboratorul cu nivelul III de biosiguranță cu suplimentarea următoarelor măsuri de izolare:

- CSB clasa III amplasat într-o cameră separată de celelalte zone de lucru, prin minimum două uși, care va asigura izolarea primară;

- dușuri cu jet de apă pentru personal și alte facilități de spălare și de schimbare a îmbrăcăminte. Materialele aduse în camera CSB sunt preliminar prelucrate în autoclava din camera separată cu uși duble și camera de fumigație;

- ușile camerei cu autoclavă și cele de fumigație trebuie să se închidă astfel încât cea externă să nu poată fi deschisă până când nu s-a terminat ciclul de sterilizare a autoclavei sau până când camera de fumigație nu a fost decontaminată;

- intrarea în spațiul unde se manipulează cu agenții cu biohazard se va efectua printr-o cameră-filtru cu aer sub presiune negativă, etanșată astfel încât să permită fumigația. Zona curată a camerei-filtru trebuie să fie separată de zona rezervată facilităților de spălare și de schimbare a îmbrăcăminte și este de preferat ca separarea să fie făcută prin uși în interiorul camerei-filtru;

- este obligatorie prezența dușului cu jet de apă care va fi utilizat de către personal la ieșirea din laborator și al altuia separat în spațiile prevăzute pentru schimbul îmbrăcăminte;

- se recomandă prezența unui sistem de alarmă corespunzător în zona de lucru a laboratorului în caz de disfuncție a sistemului de aprovizionare cu aer;

- sistem de ventilație controlat. Aprovizionarea și evacuarea aerului se face prin instalații cu filtre HEPA. Se menține presiunea negativă în toate compartimentele izolate ale laboratorului. Există deosebiri relevante în sistemul de ventilație a camerei CSB clasa III și zona de lucru a laboratorului. Aprovizionarea CSB clasa III cu aer se poate realiza prin filtru HEPA montat pe cabină sau direct la sistemul de aprovizionare cu aer. Evacuarea aerului în exterior se va realiza după exhaustarea aerului din cabină prin două filtre HEPA și o serie de prefiltre dispuse înaintea filtrelor HEPA. Se recomandă dotarea camerei CSB cu un sistem de ventilare cu aer necirculant propriu.

Zona de lucru, de asemenea, necesită un sistem de aprovizionare și exhaustare separat cu componentele funcționale, astfel repartizate încât să se asigure direcționarea fluxului de aer de la zona cu un hazard mai mic spre zona cu cel mai mare hazard eventual. Se recomandă instalații suplimentare pentru evacuarea aerului în scopul asigurării unei presiuni negative constante. Diferența de presiune dintre zona de lucru și spațiile adiacente acesteia trebuie monitorizate, precum și debitul de aer în instalațiile de aprovizionare și exhaustare a sistemului de ventilație, în scopul prevenirii presurizării zonei de lucru. Filtrele HEPA trebuie să fie instalate în toate zonele funcționale, inclusiv camera de duș pentru decontaminare, și în spațiile-conexiuni dintre zone. În cazul în care se lucrează cu virusuri care nu sunt reținute cu filtrele HEPA duble, vor fi necesare cerințe suplimentare pentru scoaterea aerului din laborator. În anumite situații, se admite circulația aerului în cadrul zonei de lucru, însă trebuie luat în considerație tipul cercetării, echipamentul, compușii chimici și alte materiale utilizate, precum și speciile de animale implicate în cercetare. Toate filtrele HEPA trebuie să fie testate și certificate anual. Spațiul destinat păstrării filtrelor trebuie să fie proiectat astfel încât să fie posibilă decontaminarea lor înainte de a fi transferate. De asemenea, acestea pot fi transferate într-o formă sigilată în recipiente corespunzătoare cu scopul decontaminării ulterioare sau distrugerii prin incinerare.

- Controlul apelor de scurgere contaminate. Toți efluenții din zona de lucru a spațiului de decontaminare, a camerei de duș și a celei CSB sunt decontaminați înainte de eva-

cuare finală. Se recomandă tratamentul la temperaturi ridicate și ajustarea pH-ului spre o valoare neutră, în funcție de caz. Apa din blocurile sanitare poate fi evacuată direct în rețeaua de canalizare fără un tratament prealabil.

– Sterilizarea materialelor și deșeurilor. Spațiul destinat sterilizării trebuie să conțină minim o autoclavă și să aibă o suprafață care să permită circulația materialului. Se recomandă utilizarea a două autoclave, una destinată materialelor infecte și alta destinată produselor sterile, utilizarea lămpilor cu raze ultraviolete pentru sterilizare între activități. De asemenea, sunt recomandate și alte modalități de decontaminare în cazul echipamentului care nu se supune sterilizării prin autoclavare.

– Intrări cu închidere automată pentru anumite materiale și animale.

– Instalații pentru energie electrică și urgențe proprii laboratorului, inclusiv anumite zone unde este cazul.

– Instalarea unui drenaj de izolare.

Din cauza proiectării și construcției complexe a laboratorului cu nivelul IV de biosiguranță fiecare zonă/ cabinet/ boxă izolată spațial trebuie să dispună de o schemă grafică a acestora. De asemenea, din cauza practicilor și procedurilor complicate, este recomandată elaborarea unui ghid/ manual de lucru cu detalii privind etapele de lucru preliminar, testate practic. Suplimentar, se elaborează un program de urgență în caz de accidente – incendiu, electrocutare, spitalizări de urgență în colaborare cu autoritățile naționale locale respective –, fixat la ușa de la intrare. Tot pe ușa de la intrare se afișează și listele cu numele persoanelor responsabile, orele de lucru și numerele de telefon ale acestora pentru contactare în caz de urgență fig. 1.3.

Capitolul 2.

UTILIZAREA ORGANISMELOR MODIFICATE GENETIC ÎN CONDIȚII DE LABORATOR

2.1. Tehnici și cod de practici pentru activitățile cu clasa de risc 1-4

În conformitate cu art. 3 al Legii privind securitatea biologică (755-XV, 21.12.2002, M.O. al R. Moldova nr. 75, 13.06.2002) au fost stabilite patru clase de risc pentru activitățile cu microorganisme/ organisme modificate genetic în sisteme izolate în funcție de nivelul pericolului potențial pentru sănătatea umană și mediu:

- **clasa I:** activități cu risc neglijabil, comparabil cu riscul de utilizare a microorganismelor nepatogene, sau fără risc;
- **clasa II:** activități cu risc scăzut, comparabil cu riscul de utilizare a microorganismelor convențional patogene;
- **clasa III:** activități cu risc moderat, comparabil cu riscul de utilizare a microorganismelor potențial capabile să transmită infecții;
- **clasa IV:** activități cu risc agravat, comparabil cu riscul de utilizare a microorganismelor capabile să propage infecții foarte periculoase.

Activitățile desfășurate cu microorganisme în sisteme izolate, dar care depășesc lucrările de laborator, precum și cele desfășurate în sisteme neizolate sunt clasificate în clasele 3 și 4 de risc.

Izolarea este asigurată atât prin echipamentul de izolare, proiectarea instalațiilor speciale (vezi cap. 1.), cât și prin respectarea principiilor de bază ale practicii de lucru, igienă și securitate la locul de muncă. Erorile umane, tehnicile de laborator neadecvate și utilizarea

necorespunzătoare a echipamentului reprezintă cauzele primare de apariție a leziunilor și infecțiilor la locul de muncă. Stabilirea măsurilor de precauție și cerințele minime necesare pentru fiecare nivel de izolare au ca primă etapă încadrarea agenților biologici cu potențial hazard în una din clasele de risc. Însă, pentru siguranța investigațiilor, doar asocierea clasei de risc agentului biologic este insuficientă, necesitând informații suplimentare, cum ar fi:

- patogenitatea agentului și doza minimă la care se produce limita de apariție a infecției;
- consecințele potențiale ale expunerii;
- calea de infecție care are loc în condițiile mediului natural;
- alte trasee de infecție care rezultă din manipulările de laborator (parenterale, aeriene, ingestie);
- stabilitatea agentului în mediul înconjurător;
- concentrația agentului infecțios și volumul materialului care urmează să fie utilizat;
- prezența unei gazde adecvate (umană sau animală);
- studii epidemiologie și rapoarte de infecții dobândite în laborator;
- tehnicile de laborator planificate (sonicare, generare de aerosoli, centrifugare etc.);
- orice manipulare genetică a organismului care poate extinde gama de gazde a agentului sau modifica sensibilitatea agentului la regimuri de tratament eficiente cunoscute;
- disponibilitatea unei profilaxii sau intervenții terapeutice urgente în caz de accident.

În situațiile în care nu pot fi obținute date suficiente pentru a efectua o evaluare corespunzătoare a riscurilor, cum ar fi activitățile de urgență care implică probe clinice sau epidemiologice colectate în teren, se recomandă o abordare precaută la manipularea acestor agenți biologici care să includă:

- precauții standard cu aplicarea barierelor de protecție (mănuși, halate, ochelari de protecție);
- practici și proceduri cu nivelul 2 al biosiguranței;
- transportul agenților în conformitate cu reglementările în vigoare la nivel național și/sau internațional.

Sunt rare situațiile în care infecțiile dobândite au caracter profesional. Riscul de infectare sau declanșare a unei boli este determinat de pătrunderea în organism a unui număr de agenți infecțioși corespunzător (doză de infectare). Informațiile privind modul de transmitere a organismelor patogene, inclusiv doza de infectare, sunt utile în evaluarea riscurilor și a măsurilor de precauție. Agenții patogeni pot pătrunde în organismul uman prin:

– **Inhalarea aerosolilor** (calea respiratorie); particule solide sau lichide microscopice destul de mici, în jur de 5 μm , sunt produse la manevrarea lichidelor, deschiderea fără precauție a flacoanelor vidate, împrôșcări etc., rămânând dispersate și suspendate în aer pentru perioade lungi.

– **Ingerare** datorită nerespectării regulilor de igienă; una din căile de contaminare pe cale digestivă în laboratoare este pipetarea utilizând gura.

– **Expunere parenterală** determinată de pătrunderea accidentală (răni, înțepături, mușcături) a microorganismelor prin piele; apare destul de frecvent în cursul diferitelor activități de laborator.

– **Țesut conjunctiv** (inclusiv ochii, interiorul gurii și nasului etc.); fiind foarte vascularizat, ochiul reprezintă o cale importantă de contaminare.

Principiile securității muncii în laborator sunt elaborate pentru a evita/ reduce cele mai frecvente probleme de contaminare chimică sau biologică.

Măsuri de precauție privind evitarea contaminării directe prin piele, ochi sau ingestie:

– Utilizarea echipamentului personal de protecție (EPP) blochează căile potențiale de expunere. Particulele și picăturile mari ($> 5 \mu\text{m}$ în diametru) emise în timpul manipularilor microbiologice se depun rapid pe suprafețele de lucru și pe mâinile operatorului. Mănușile de unică folosință sunt recomandate.

– Consumul de alimente, băuturi, fumatul, aplicarea produselor cosmetice (machiaj) sau depozitarea produselor alimentare în laboratoare este **strict interzisă**. Măinile potențial contaminate trebuie să fie ținute departe de față, gură, ochi etc. Nu se recomandă ca stilouri, creioane, gumă de mestecat sau alt obiect prezent în laborator să fie introdus în gură.

– Măinile trebuie să fie spălate minuțios cu apă și săpun timp de 30 de secunde cât mai frecvent posibil, inclusiv după dezbrăcarea mănușilor. Se usucă cu șervețele de unică folosință sau cu aer cald, fig. 2.1.

Condiții de utilizare a pipetelor și mijloacelor de pipetare:

– Pipetarea utilizând gura este interzisă, fig. 2.2. a.

– Toate pipetele ar trebui să conțină un tampon de bumbac pentru a reduce contaminarea lor.

– Materialele infecțioase nu se omogenizează prin aspirare și expulzare alternativă. Transferul de lichide se face prin contactul *tip*-ului (vârfului) pe suprafața pereților interni ai eprubetei, fig. 2.2. b.

– Lichidul nu se elimină forțat din pipete, picăturile rămase se înlătură odată cu *tip*-urile care nu se reutilizează.

– Pipetele se decontaminează prin imersie completă într-un dezinfectant corespunzător.

– Containerul prevăzut pentru eliminarea vârfulor de la pipete trebuie să fie amplasat în cabina de siguranță biologică și nu în afara acesteia, fig. 2.2. c.



Fig. 2.2. Măsuri de precauție privind igiena mâinilor în laborator

– Prezența pe suprafața de lucru a unui material absorbant poate evita dispersia materialului infecțios în timpul pipetării; acesta va fi eliminat ca deșeu cu hazard după utilizare.

– Se lucrează atent în cabina de siguranță, fără a bloca grila pentru aer, fig. 2.2. c.



Fig. 2.2. Măsuri de precauție privind pipetarea lichidelor și suspensiilor de microorganisme

Măsuri de precauție privind evitarea dispersiei (diseminării) materialului cu bio-hazard.

– Ansele microbiologice de transfer trebui să aibă un diametru 2-3 mm, iar brațul nu mai mult de 6 cm în lungime, pentru a minimiza vibrațiile.

– Utilizarea microincineratoarelor electrice pentru a steriliza bucele de transfer micșorează riscul de stropire a materialului infecțios spre deosebire de utilizarea incineratoarelor cu flacără deschisă. Sunt recomandate ansele de transfer de unică folosință, care nu trebuie să fie sterilizate, fig. 2.3.

– Reziduurile cu culturile de microorganisme care urmează să fie distruse prin autoclavare sunt introduse în containere impermeabile, de exemplu, saci de evacuare de laborator marcați cu bandă de control privind eficiența autoclavării.

– Zonele de lucru trebuie să fie decontaminate cu un dezinfectant adecvat la sfârșitul fiecărei etape de muncă.

Reguli de utilizare a cabinelor biologice de siguranță:

– Se recomandă cunoașterea de către potențialii utilizatori a avantajelor și dezavantajelor utilizării cabinelor biologice de siguranță, a modului lor de funcționare și întreținere în conformitate cu standardele prevăzute. Se impune prezența în laborator a unor protocoalele scrise sau manuale operaționale pentru uzul utilizatorilor. Se atenționează asupra

faptului că CSB nu oferă protecție în cazul unor accidente: stropiri, împrăstieri, spargeri etc.

– Panoul de sticlă frontal nu trebuie să fie deschis în timpul efectuării experiențelor fig. 2.4. a.

– Numărul aparatelor și materialelor aflate în interiorul CSB trebuie să fie minim. Grila din spate prevăzută pentru exhaustarea aerului nu trebuie să fie blocată, fig. 2.5. b.

– Nu se recomandă utilizarea arzătoarelor Bunsen. Căldura produsă va deforma curentul de aer și poate deteriora filtrele. Varianta optimă reprezintă folosirea unui microincinerator electric și/sau anse microbiologice de transfer de o singură folosință.



Fig. 2.3. Microincinerator electric

– Operațiile se efectuează la mijlocul suprafeței de lucru a CSB pentru monitorizare prin panoul frontal.

– Alte activități în apropierea imediată a CSB trebuie reduse la minimum.

– Operatorul efectuează un număr cât mai mic posibil de mișcări, de exemplu, scoaterea brațelor sale din CSB și reintroducerea repetată pentru a nu perturba curentul de aer.

– Grilele de aer nu trebuie să fie blocate cu carnet de notițe, pipete sau alte materiale, deoarece acest lucru va afecta curentul de aer cauzând contaminarea potențială a materialului și expunerea operatorului, fig. 2.4. b.

– Suprafața de lucru a CBS se dezinfectează, folosind un dezinfectant adecvat după finisarea lucrului, fig. 2.4. c și d.

– Ventilatorul trebuie să funcționeze timp de 5-10 min., înainte de începerea activității și după finisarea acesteia.

Sucesiunea evenimentelor privind utilizarea CSB

• Pregătirea cabinei

- Se deconectează lumina ultravioletă (dacă este prezentă în laborator), îndată ce intrați în laborator.
- Se conectează ventilatoarele și lămpile CSB.
- Ventilatorul trebuie să funcționeze timp de 5 min. cel puțin, înainte de începerea activității. Se verifică sistemul de alarmă vizual și audio prevăzut pentru controlul ieșirii din funcție a cabinei.
- Se decontaminează suprafața de lucru, pereții interni și obiectele ușor accesibile cu un dezinfectant corespunzător pentru agenții suspecți a fi prezenți. Activitatea se va începe peste 10 min. cel puțin.

• În proces de lucru

- CSB se încarcă cu materialele necesare, fig. 2.5.a.
- Se separă zona sterilă de cea unde se va depozita temporar reziduurile formate.
- Se lucrează în centrul zonei de lucru.
- Se minimizează perturbarea curentului de aer, fig. 2.5. b.
- Este necesară prezența recipientului pentru deșeurile în interiorul cabinei.

• Finalizarea activității

- Se eliberează suprafața de lucru.
- Se decontaminează suprafețele din interior ușor accesibile cu un dezinfectant adecvat, fig. 2.5. c.



a



b



c



d

Fig. 2.4. Principii de utilizare a cabinelor biologice de siguranță

- Se conectează lumina ultravioletă (dacă CSB este dotată cu lampa UV).
- CBS va funcționa încă cel puțin 10 minute după finisarea lucrului.
- Se deconectează ventilatorul CSB.



Fig. 2.5. Succesiunea evenimentelor privind utilizarea CSB

2

Capitolul

! Precauții

– NU utilizați arzătoare Bunsen cu flacără deschisă. Pericol de incendiu. Focul deschis reacționează cu dezinfectanții (inflamabili). Poate deteriora filtrul HEPA. Interferează cu fluxul de aer.

– În cazul unei diseminări în laborator a agenților biologici cu hazard sub formă de aerosoli, toate persoanele trebuie să elibereze imediat zona afectată, iar cele expuse să fie consultate de către medic. Șeful laboratorului și responsabilul pe probleme de biosiguranță trebuie să fie informați. Accesul în laborator este interzis pentru cca o oră. În cazul în care laboratorul nu are un sistem central de evacuare a aerului, accesul este interzis pe o perioadă de timp de 24 ore. Decontaminarea zonei este supravegheată de către responsabilul cu biosiguranța. Se respectă cerințele privind EPP.

Reguli privind utilizarea centrifugilor

- Starea fizică satisfăcătoare este o condiție obligatorie pentru siguranța microbiologică.
- Centrifugile sunt exploatate în conformitate cu instrucțiunile producătorului.
- Eprubetele de centrifugare trebuie să fie din sticlă cu pereți groși sau de preferință din material plastic; se recomandă verificarea acestora înainte de utilizare.
- Eprubetele de centrifugare trebuie să fie întotdeauna bine acoperite cu dopuri-șurub în timpul centrifugării. Nu utilizați folie de aluminiu pentru a acoperi eprubetele de centrifugare.
- Eprubetele trebuie să fie umplute, respectând cerințele de echilibrare, închise și deschise într-un cabinet de siguranță biologică. Nu supraîncărcați eprubetele de centrifugare.



Fig. 2.6. Decontaminarea centrifugilor după utilizarea lor

– Apa distilată sau alcoolul (propanol, 70%) trebuie să fie folosite pentru echilibrarea eprubetelor goale. Soluțiile saline sau de hipoclorit nu se utilizează, deoarece sunt corozive pentru metale.

– Eprubetele de centrifugare închise etanșat trebuie să fie folosite pentru microorganismele din clasa de risc 3 și 4.

– Rotorul de centrifugare și eprubetele trebuie să fie inspectate zilnic pentru a evita posibilitățile de coroziune și depistarea crăpăturilor fine.

– Rotoarele și alte accesorii de centrifugare trebuie să fie decontaminate după fiecare utilizare (fig. 2.6).

– Se recomandă o perioadă de repaus de 5 sau 30 min. pentru centrifuga de mare viteză înainte de a fi deschisă.

– Particulele infecțioase pot fi diseminate în mediu în timpul centrifugării, deoarece la aceste viteze nu pot fi reținute de către fluxul de aer din CSB deschis frontal de clasa I sau clasa II. Amplasarea centrifugelor în cabinete de siguranță clasa III împiedică dispersarea la scară largă a aerosolilor formați. Se consideră că tehnica de centrifugare bună și tuburile acoperite oferă protecție adecvată împotriva aerosolilor infecțioși și particulelor dispersate. Centrifugile cu viteză mică pot fi plasate într-un CSB.

– Dacă este suspectată o spargere a eprubetei în timpul centrifugării, se oprește centrifuga și se anunță responsabilul cu biosecuritatea din laborator. Mănuși rezistente (cauciuc), acoperite dacă este necesar cu mănuși de unică folosință corespunzătoare, ar trebui să fie purtate pentru toate operațiunile ulterioare. Se recuperează rămășițele de sticlă, se curăță și se dezinfectează rotorul și pereții interni ai aparatului. Toate materialele utilizate la curățare ar trebui să fie tratate ca deșeuri infecțioase.

Utilizarea omogenizatoarelor, agitatoarelor și sonicatoarelor

– Omogenizatoarele de uz casnic nu trebuie să fie utilizate în laboratoare, deoarece nu oferă protecție privind generarea sau eliberarea aerosolilor.

– Vesela de masă plastică, în special de politetrafluoroetilenă (PTFE), este recomandată în defavoarea sticlei care se poate sparge, eliberând materiale infecțioase și, posibil, rănirea operatorului.

– Se recomandă ca omogenizatoarele, agitatoarele și sonicatoarele să fie acoperite de o carcasă din plastic transparent, detașabilă pentru dezinfectare. Dacă este posibil, operațiile la aceste aparate trebuie să fie efectuate în CSB sau cel puțin să fie deschise în CSB.

– Protecția auditivă trebuie să fie prevăzută pentru persoanele care utilizează sonicatoare.

– Evitați folosirea recipientelor de sticlă pentru malaxor, cu excepția cazului în care sunt acoperite cu recipiente de polipropilenă.

– Se recomandă acoperirea malaxorului în timpul utilizării cu un prosop umezit în dezinfectant

– Recipientul malaxorului se va deschide în CSB, peste 1 min. cel puțin pentru a se așeza aerosolii.

– Râșnițele din material plastic sunt mai sigure și se recomandă utilizarea lor în CSB. Se supun decontaminării, după utilizare.

Măsuri de îngrijire și utilizare a frigiderelor și congelatoarelor

– Frigiderele, congelatoarele și lăzile de bioxid de carbon solid (gheață uscată) trebuie să fie decongelate și curățate periodic. Ecran facial și mănuși de cauciuc trebui purtate în timpul curățării.

– Toate recipientele depozitate în frigider etc. trebuie să fie etichetate cu denumirea științifică a conținutului, data depozitării și numele persoanei care le-a stocat. Materialele neetichetate și învechite trebuie autoclavate și eliminate.

– Un inventar al conținutului congelatorului trebuie să fie menținut.

– Soluțiile inflamabile nu trebuie să fie stocate în frigider cu excepția cazului în care este rezistent la explozii. Notificări în acest sens ar trebui să fie introduse pe ușile frigiderului.

Stocarea fiolelor care conțin materiale infecțioase

– Fiolele ce conțin materiale infecțioase nu trebuie niciodată să fie scufundate în azot lichid, deoarece fiolele crăpate sau imperfect sigilate pot să se spargă sau să explodeze la scoatere. Dacă temperaturi foarte mici sunt necesare, fiolele ar trebui să fie depozitate numai în faza gazoasă deasupra azotului lichid. Altfel, materialele infecțioase trebuie să fie stocate în cabine de congelare pe gheață uscată. Lucrătorii laboratorului trebuie să poarte mijloace de protecție a ochilor și mâinilor, atunci când fiolele sunt transferate de la rece.

– Suprafețele externe ale fiolelor depozitate pe aceste căi trebuie să fie dezinfectate în momentul în care fiolele sunt evacuate de la depozitare.

– E nevoie de precauție în momentul în care fiolele cu material congelat-uscat sunt deschise, așa cum conținutul poate fi sub presiune redusă și pătrunderea neașteptată de aer poate dispersa unele dintre materiale în atmosferă. Fiolele trebuie întotdeauna să fie deschise într-o cabină de siguranță biologică.

– Mai întâi se decontaminează suprafața externă a fiolei.

– Se trasează un semn pe tub pentru a localiza poziția tamponului de bumbac sau de celuloză, dacă este prezent.

– Fiolele sunt menținute în timpul operării lor în bumbac îmbibat cu alcool pentru a proteja mâinile în caz de spargere a eprubetei.

– În cazul în care tamponul este mai sus de conținutul fiolei, eliminați-l cu un forceps steril.

– Se adaugă atent lichid pentru resuspendare la fiolă pentru a evita formarea spumei.

Utilizarea acelor, seringilor și altor obiecte ascuțite

– Acele și seringile pot fi utilizate numai atunci când nu există o alternativă rezonabilă.

– După utilizare acele nu se înlătură de la seringi. Dacă un ac contaminat trebuie eliminat sau transferat la o altă seringă, se utilizează un dispozitiv mecanic sau un forceps, fig. 2.7.a, b.

– Un tampon umezit cu dezinfectant trebuie să fie plasat pe vârful de ac, atunci când este înlăturat aerul. Lucrul trebuie să fie efectuat într-o cabină de biosecuritate ori de câte ori este posibil.

– Un recipient pentru obiecte ascuțite trebuie să fie amplasat aproape de zona de lucru, fig. 2.7.c.

– Leziunile rezultate din înțepăturile de ac pot fi reduse prin: reducerea utilizării de ace și seringi (de exemplu, dispozitive simple sunt disponibile pentru deschiderea sticlelor astfel că pipetele devin accesibile pentru aspirarea lichidelor; utilizarea dispozitivelor de siguranță pentru obiectele ascuțite, atunci când acele și seringile sunt necesare.

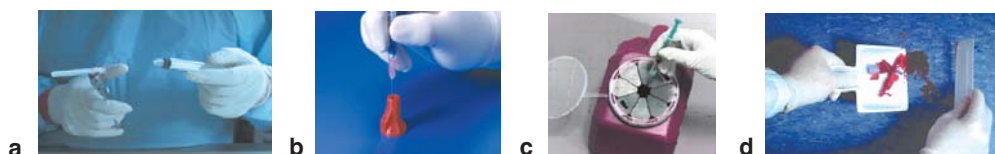


Fig. 2.7. Precauții de utilizare a acelor și seringilor

– Acele nu se reutilizează și sunt eliminate ca deșeuri în recipiente impermeabile și rezistente la înțepături, fig. 2.7.c, b.

– Se recomandă utilizarea pipetelor Pasteur din masă plastică în locul celor din sticlă.

CODUL DE PRACTICI include tehnicile și procedurile de bază utilizate în laborator. Fiecare laborator trebuie să dispună sau să elaboreze un manual de securitate care să includă principiile și modalitățile de identificare a riscurilor cunoscute și potențiale, precum și procedurile pentru eliminarea sau reducerea unor astfel de riscuri. Tehnicile de microbiologie sunt fundamentale pentru asigurarea securității oricărui laborator biologic (descrise mai sus). Pentru fiecare **nivel de siguranță biologică** se respectă tehnicile microbiologice și adițional sunt stabilite anumite criterii care trebuie îndeplinite.

Laboratorul cu nivelul 1 și 2 de biosiguranță

Accesul

Simbolul și semnul internațional de avertizare al biohazardului trebuie să fie afișate pe ușile laboratoarelor unde se operează cu agenții biologici încadrați în clasa de risc 2 și mai mare. Semnele de culoare roșie indică biohazarduri pentru sănătatea umană, cele de culoare galbenă pentru animale și respectiv verzi pentru hazardul asociat plantelor. Afișele biohazard trebuie să fie plasate pe recipientele și unitățile de stocare (frigidere, congela-toare, incubatoare, recipiente de deșeuri etc.) utilizate pentru microorganisme sau toxine biologice ce provoacă boli la om, animale și plante. Echipamentul contaminat și deșeurile periculoase trebuie să fie etichetate în același mod.

În cazul în care sunt prezente mai multe biohazarduri, la alegerea semnului, riscul pentru om are prioritate față de pericolele pentru animale și plante. Alte cerințe obligatorii sunt:

- acces limitat;
- ușile laboratorului trebuie să fie închise;
- acces interzis pentru copii;
- accesul autorizat al animalelor și doar al celor implicate în activitatea de laborator.

Protecția personală

– Capotele, halatele sau uniformele de laborator sunt obligatorii.

– Mănuși corespunzătoare trebuie să fie purtate pentru toate procedurile care implică direct sau accidental contactul cu sânge, fluide și cu alte materiale potențial infecțioase. După utilizare, mănușile sunt înlăturate și depozitate ca deșeu iar mâinile spălate minuțios. De asemenea, personalul laboratorului trebuie să se spele pe mâini înainte de a părăsi zonele de lucru ale laboratorului.

– Ochelarii de siguranță, ecranele faciale sau alte materiale de protecție trebuie să fie purtate atunci când este necesar pentru a proteja ochii și fața de stropiri și de sursele de radiații artificiale ultraviolete.

– Este interzis a purta EPP în afara laboratorului, de exemplu, în cantine, cafenele, birouri, biblioteci, toalete. Îmbrăcămintea EPP nu se păstrează împreună cu îmbrăcăminte de stradă în aceleași dulapuri.

– Încălțăminte în care degetele nu sunt acoperite nu trebuie purtată în laboratoare.

– Alimentația, fumatul, aplicarea cosmeticilor și a lentilelor de contact este interzisă în zonele de lucru ale laboratorului.

– Stocarea alimentelor este interzisă.

Proceduri

- Utilizarea pipetelor mecanice.
- Toate procedurile tehnice se efectuează cu minimalizarea generării de picături și aerosoli.
- Utilizare limitată a seringilor. Ele nu trebuie să fie utilizate în pipetare sau pentru orice alt scop decât pentru injectarea sau aspirația de fluide parenterală de la animalele de laborator.
- Toate accidentele cu expuneri la materiale potențiale infecțioase trebuie să fie raportate responsabilului de laborator. O evidență scrisă a unor astfel de accidente și incidente trebuie să fie menținută.
- O procedură scrisă pentru înlăturarea consecințelor accidentelor de laborator trebuie să fie elaborată și respectată.

– Lichidele contaminate trebuie să fie decontaminate (chimic sau fizic), înainte de evacuare în sistemul de canalizare. Un sistem de tratare a apelor reziduale poate fi solicitat, în funcție de evaluarea riscurilor pentru agentul care este manipulat.

- Documentele, cărțile prezente în laborator trebuie să fie protejate de contaminare.

Zonele de lucru ale laboratorului

- Laboratorul trebuie să fie îngrijit, curat și lipsit de materiale care nu sunt oportune pentru locul de muncă.
- Suprafețele de lucru trebuie să fie decontaminate după orice contaminare cu material potențial periculos și la sfârșitul zilei de lucru.
- Toate materialele contaminate și culturile de microorganisme trebuie să fie decontaminate înainte de eliminare în calitate de deșeuri.
- Ambalarea și transportul materialelor trebuie să se facă conform regulamentelor naționale și/sau internaționale.
- Atunci când ferestrele pot fi deschise, acestea trebuie să fie dotate cu ecrane de protecție contra artropodelor.

Gestionarea biosecurității

- Este responsabilitatea directă a directorului de institut/ laborator de a asigura elaborarea și adoptarea unui plan de gestionare a biosecurității și a unui manual de securitate sau de operațiuni.
- Responsabilul cu activitatea laboratorului trebuie să se asigure de realizarea instruirii regulate a personalului în domeniul siguranței. O copie a manualului de securitate sau de operațiuni trebuie să fie disponibilă în laborator.
- Personalul este consultat și testat privind practicile și procedurile standard și riscurile asociate acestora.
- Adoptarea și realizarea unui program de control al rozătoarelor și artropodelor.
- Asigurarea unei supravegheri și tratament medical corespunzător pentru întreg personalul în caz de necesitate. Obiectivul supravegherii medicale este monitorizarea bolilor profesionale dobândite. Activitățile corespunzătoare pentru atingerea acestor obiective sunt:
 - imunizări active sau pasive în cazul în care este indicat; depistarea precoce a infecțiilor dobândite în laborator;
 - excluderea persoanelor sensibile din activitatea laboratorului (de exemplu, femeile gravide sau persoane fizice cu deficiență imunitară).

Instruirea cu privire la măsurile de siguranță ar trebui să fie o parte integrantă a procesului de inițiere a noilor angajați în activitatea laboratorului. Angajaților trebuie să li se aducă la cunoștință codul de practici, precum și instrucțiunile locale, inclusiv manualul de securitate sau de operațiuni. Măsuri pentru a asigura că angajații au citit și au înțeles instrucțiunile, cum ar fi semnătura paginii, ar trebui să fie adoptate. Laboratorul de supraveghere joacă un rol-cheie în formarea personalului din subordine cu bune tehnici de laborator. Instruirea personalului trebuie întotdeauna să includă informații cu privire la metodele de siguranță pentru procedurile extrem de periculoase care sunt frecvent întâlnite de către întreg personalul laboratorului și care implică:

- Riscuri de inhalare (producerea de aerosoli) în timpul folosirii anselor, înclinării plăcilor de agar, pipetării, deschiderii culturilor, prelevării mostrelor de sânge/ ser, centrifugării etc.
- Riscuri de ingestie, atunci când sunt manipulate speciile și culturile.
- Riscuri de expuneri percutanate, atunci când sunt folosite ace și seringi.
- Mușcături și zgârieturi, în timpul manipulării animalelor.
- Manipularea sângelui și altor materiale patologice potențial periculoase.
- Decontaminarea și eliminarea materialului infecțios.

Laboratorul cu nivelul 3 de biosiguranță. Codul de practici pentru laboratoarele de bază – nivelurile de biosiguranță 1 și 2 – se aplică laboratoarelor cu nivelul 3 de biosiguranță cu excepția cazurilor în care sunt modificări, după cum urmează:

– Simbolul și semnul internațional de avertizare al biohazardului (fig. 1.3.) afișate pe ușile de acces în laborator trebuie să indice nivelul de biosiguranță și numele supraveghetorului de laborator care controlează accesul, precum și condiții speciale pentru accesul în zonă, de exemplu, imunizarea.

– EPP trebuie să fie complet – halate de jur-împrejur, încheiate la spate, piese de acoperire a capului și, dacă este cazul, huse pentru încălțăminte sau pantofi speciali. Halatele de laborator standard cu nasturi în față nu sunt recomandate. Îmbrăcămintea de protecție de laborator trebuie să fie decontaminată înainte de a fi spălată.

– Echipamentele de protecție respiratorii pot fi necesare pentru unele proceduri de laborator sau în timpul lucrului cu animale infectate cu agenți patogeni.

– Se recomandă examinarea medicală (istoricul medical detaliat și o examinare fizică orientată în funcție de ocupație) obligatorie a întregului personal de laborator. După o evaluare clinică satisfăcătoare, examinatului i se oferă un card de confirmare că persoana respectivă este angajată într-o instituție/ laborator cu nivelul 3 de biosiguranță. Acest card include o fotografie a titularului și după ce este confirmat de responsabilul cu biosiguranța și directorul de instituție va servi ca permis de acces în laborator.

Laboratorul cu nivelul 4 de biosiguranță. Codul de practici pentru prevenirea riscurilor biotehnologice de clasa 3 se aplică cu anumite specificări după cum urmează:

– Este strict obligatorie prezența în laborator a două persoane minimum. Această condiție este deosebit de importantă în cazul în care se lucrează într-un cabinet de biosiguranță de nivel 4.

– O schimbare completă a îmbrăcămintei și încălțăminte este necesară, înainte de intrarea și la ieșirea din laborator.

– Angajații trebuie să fie instruiți privind procedurile de evacuare urgentă în cazurile de vătămare sau boală a personalului.

– O metodă de comunicare pentru contactele de rutină și de urgență trebuie să fie stabilită între personalul care lucrează în laborator și personalul asistent din afara laboratorului.

– Personalul care primește și despachetează probele trebuie să fie conștient de riscurile de sănătate potențiale implicate, pentru a reacționa adecvat în situații de urgență.

2.2. Măsurile de izolare privind activitățile cu organisme modificate genetic în laborator

Obținerea organismelor modificate genetic prin tehnologia ADN-lui recombinat, cultivarea, multiplicarea, stocarea, transportul și anihilarea acestora se efectuează în spații/medii închise sub un control riguros, fiind utilizate în acest scop măsuri specifice de izolare pentru a limita/ evita contactul lor cu oamenii și cu mediul, asigurându-se astfel un grad înalt de siguranță.

Tehnicile de recombinare a acidului nucleic¹ presupune formarea de noi combinații de material genetic prin inserția moleculelor de acid nucleic, obținute prin orice mijloace în afara unui organism, în vectori (virus, plasmidă bacteriană sau alt sistem vectorial) și inserarea prin metode directe/ indirecte a acestora într-un organism-gază, în care nu apar în mod natural, dar în care sunt capabile de multiplicare. Astfel pot fi obținute organisme modificate genetic cu caractere noi care să nu fi existat niciodată în natură. Odată cu amploarea cercetărilor în acest domeniu au apărut și primele semne de îngrijorare printre biologii moleculari referitoare la posibilele efecte nedorite, imprevizibile asociate eliberării în mediu a OMG-urilor. Această preocupare a devenit subiectul principal al unei conferințe științifice ce a avut loc la Asilomar, CA, SUA în 1975², fiind propuse primele principii de reglementare a cercetărilor ingineriei genetice în contextul securității biologice.

Conform definiției, moleculele de ADN recombinat reprezintă molecule obținute *in vitro* prin atașarea fragmentelor de ADN naturale sau de sinteză chimică la molecule de ADN capabile de autoreplicare (vectori de clonare). Fragmentele ADN de sinteză chimică produc o polinucleotidă sau polipeptidă potențial dăunătoare, de exemplu, o toxină sau un agent farmacologic activ sunt considerate ca secvențe ADN echivalente celui natural (de referință). În cazul în care secvența sintetică de ADN nu este expresată *in vivo*, rezultând un produs de expresie biologic activ, nu va prezenta obiectul reglementărilor privind materialul modificat genetic prin utilizarea tehnicilor de recombinare genetică.

În conformitate cu capitolul III al Legii naționale privind securitatea biologică pentru obținerea autorizației de desfășurare a activității de utilizare în condiții izolate a organismelor modificate genetic, utilizatorul trebuie să facă o evaluare a acestor activități sub aspectul riscurilor pentru sănătatea umană și mediu, clasificându-le în una din clasele enumerate la art.3 alin.(1), (vezi § 2.1.) și să înainteze Comisiei naționale o notificare.³ Procedura de evaluare a riscurilor trebuie să corespundă atât prevederilor Legii privind

¹ Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules (NIH Guidelines), 1998.

² http://www.lbl.gov/ehs/biosafety/Biosafety_Manual/biosafety_manual.shtml

³ Anexa nr. 1 la Regulamentul privind autorizarea activităților legate de obținerea, testarea, utilizarea și comercializarea organismelor modificate genetic.

securitatea biologică, Regulamentului privind autorizarea activităților legate de obținerea, testarea, utilizarea și comercializarea organismelor modificate genetic, cât și prevederilor din legislația comunitară care actualizează procedurile în funcție de progresele tehnice și științifice.

Notificarea trebuie să includă informații referitoare la:

- a) caracteristicile generale ale organismelor modificate genetic: sursa ADN-ului; natura secvențelor de ADN inserate; gazda și vectorul care vor fi utilizați; dacă se intenționează obținerea expresiei unei gene străine și, dacă este cazul, se indică proteina care va fi produsă;
- b) clasa de risc în care este încadrată utilizarea în condiții izolate și măsurile de izolare;
- c) concluziile studiilor de evaluare a riscurilor pentru sănătatea umană și mediu;
- d) metodele și planurile de monitorizare, precum și măsurile care pot fi luate în caz de accident.

Inițierea experimentelor va avea loc doar în cazul avizului pozitiv al Comisiei naționale.

Elementul de bază în procesul de identificare a riscurilor privind activitățile cu organisme recombinante este caracteristica donatorului, receptorului/ organismelor-gazdă și a mediului în care va fi introdus. Rezultatele evaluării trebuie să conducă la identificarea nivelului de risc asociat cu microorganismul modificat genetic și selecția măsurilor de izolare biologică și fizică. În activitățile cu OMG-uri se urmărește potențialul pericol asociat cu:

Gena inserată (organismul donator). Evaluarea este necesară în situațiile în care produsul genei inserate are proprietăți biologice sau farmacologice active cunoscute, potențiale de a provoca daune, de exemplu:

1. *Toxine*
2. *Citokinine*
3. *Hormoni*
4. *Reglatori ai expresiei genelor*
5. *Factori de virulență sau enhanseri*
6. *Secvențe de gene oncogene*
7. *Rezistența la antibiotice*
8. *Alergeni.*

Considerarea unor astfel de cazuri ar trebui să includă o estimare a nivelului de expresie suficientă pentru realizarea activității farmacologice sau biologice.

Receptorul/ gazda

1. *Susceptibilitatea gazdei*
2. *Patogenitatea gazdei, virulența și producția de toxine*
3. *Modificarea sușei-gazdă*
4. *Statutul imun al receptorului*
5. *Consecințele expunerii.*

Modificarea caracterelor patogene existente. Obiectivele transformării genetice nu prevăd implicarea genelor ale căror produse sunt în mod inerent dăunătoare. Efecte adverse pot apărea ca urmare a modificării caracterelor nepatogene. În încercarea de a identifica astfel de pericole potențiale, se va atenționa asupra următoarelor momente (lista nu este exhaustivă):

1. Există o creștere a capacității de infectare sau a patogenității?
2. Poate o acțiune de silențiere în recipient să fie anulată ca urmare a inserării genei străine?
3. Codifică gena străină un determinant patogen de la un alt organism?
4. În cazul în care ADN-ul străin include un determinant patogen, este previzibil că această genă ar putea contribui la patogenitatea OMG-ului?
5. Este disponibil un tratament?
6. Va fi afectată sensibilitatea OMG-ului la antibiotice sau alte forme de terapie ca urmare a modificării genetice?
7. Este posibilă eradicarea organismelor modificate genetic?

În multe cazuri, evaluarea riscului va arăta că organismul recombinat poate fi manipulat la un nivel de biosiguranță similar recipientului de tip sălbatic. Totuși, în unele cazuri, va fi necesar un nivel de biosiguranță mai mare. De exemplu, atunci când constructul genetic va include astfel de secvențe de ADN care, fiind transferate de la donator, ar putea crește virulența organismului receptor. Evaluarea riscului este deosebit de importantă în experiențele de obținere a OMG-urilor care codifică proteine cu activități farmacologice, cum ar fi toxinele. Este evident că astfel de organisme trebuie să fie manipulate cu precauție. Unele proteine farmacologic active sunt toxice doar atunci când sunt expresate la niveluri ridicate. În acest caz, evaluarea riscurilor este extrem de importantă, necesitând o estimare a nivelului de expresie prevăzut în organismul recombinat și cel la care devine toxică proteina respectivă pentru un organism expus accidental la ea. Evaluarea riscului este astfel un proces dinamic care trebuie realizat în contextul noilor realizări ale științei. Este responsabilitatea oamenilor de știință implicați în cercetările de inginerie genetică de a gestiona informațiile noi în conformitate cu actele legislative.

Condițiile de utilizare a microorganismelor modificate genetic (MMG) fără daune pentru sănătatea umană și mediu trebuie să îndeplinească mai multe criterii dintre care:

Certificarea identității microorganismelor. Se caracterizează corect vectorul/ insertul în ceea ce privește structura și funcția în forma în care apare în MMG-ul final. Se studiază relația taxonomică cu microorganismele înrudite, cunoscute și dăunătoare, pentru obținerea informațiilor relevante privind eventuale caracteristici dăunătoare ce nu apar în mod normal, dar care ar putea fi generate ca urmare a modificării genetice. Se verifică și se stabilește identitatea culturilor de celule și țesuturi eucariote în conformitate cu clasificări internaționale recunoscute, ca de exemplu Colecția Americană de Tipuri Celulare⁴ (ATCC, American Type Culture Collection). Se studiază bibliografia relevantă, rapoarte privind siguranța utilizării, detalii taxonomice, date cu privire la markeri fenotipici și genetici, articole și reviste științifice de specialitate. Este necesar de informat referitor la colecțiile de culturi utilizând baza de date ale organizațiilor ca de exemplu: Federația mondială a colecțiilor de culturi⁵ (WFCC, World Federation of Culture Collections), care publică Registrul mondial al colecțiilor de culturi de microorganisme⁶ (World Directory of Collections of Cultures of Microorganisms) și Organizația europeană a colecțiilor de culturi⁷ (ECCO, European Culture Collection Organization). În cazul unui nou microor-

⁴ <http://www.atcc.org/>

⁵ www.wfcc.nig.ac.jp/wfcc.html

⁶ wdcm.nig.ac.jp/hpcc.html

⁷ <http://www.eccosite.org/>

ganism izolat sau al unei noi tulpini ce nu a fost studiat(ă) în profunzime, se impune efectuarea testelor complete necesare confirmării identității MMG-urilor. Acest caz ar putea surveni dacă sușa microorganismului modificat genetic diferă considerabil de tulpina parentală, de exemplu, situația în care microorganismul modificat genetic provine ca rezultat al unei fuziuni celulare sau rezultă în urma a multiple modificări genetice. În cazul în care sunt necesare teste pentru a confirma identitatea tulpinii, pot fi utilizate teste fenotipice de colorare specifice, microscopie electronică, serologie, profiluri nutriționale bazate pe utilizare și/sau degradare, analiza izoenzimelor, profilul proteinelor, raportul bazelor G și C (%), amprente ADN/ARN, amplificarea secvențelor ADN/ARN specifice, hibridizare cu sonde ADN/ARN specifice și secvențializare a ADN/ARN.

Situația optimă pentru identificarea genelor prezente în MMG este aceea în care se cunoaște secvența completă de nucleotizi a vectorului sau insertului. Dimensiunea vectorului și insertului trebuie limitată pe cât posibil la secvențele genice necesare pentru a îndeplini funcția dorită. Această cerință reduce probabilitatea introducerii și exprimării unor funcții criptice (silenzioase) sau a dobândirii unor trăsături genetice nedorite.

Fundamentarea documentată a condițiilor de biosecuritate. Se prezintă dovada siguranței utilizării microorganismului modificat genetic în baza unor teste anterioare, date extrase din literatură sau rapoarte ce atestă siguranța organismului. Un istoric al utilizării în condiții de siguranță al MMG-ului nu indică neapărat o siguranță completă, mai ales atunci când au fost impuse măsuri înalte de biosecuritate pentru utilizarea acestora. Atestarea siguranței de utilizare a tulpinii/ organismului receptor sau parental constituie un element-cheie pentru a decide dacă MMG-ul îndeplinește acest criteriu. Cu toate acestea, MMG-ul poate să difere considerabil de ascendentele sale, ceea ce ar putea afecta siguranța. În special se ține seama dacă modificarea genetică a avut ca scop eliminarea unei caracteristici dăunătoare sau patogene din organismul receptor sau parental. În asemenea situații, pentru a atesta siguranța, ar trebui să se furnizeze documente justificative clare cu privire la eliminarea efectivă a caracteristicilor dăunătoare sau potențial dăunătoare. Dacă nu există informații cu privire la organismul receptor sau parental considerat, se folosesc date colectate pentru specia dată din literatura de specialitate cu recunoaștere științifică la nivel mondial.

Nu este indicat ca modificarea genetică să crească stabilitatea OMG-ului față de cea a organismului nemodificat din mediu. Însă dacă instabilitatea modificării genetice ar putea compromite siguranța, așa cum este cazul în care MMG-ul conține o mutație, cu scop de a atenua proprietățile dăunătoare, trebuie să se dovedească stabilitatea genetică.

Demonstrarea caracterului nepatogen. MMG-ul nu trebuie să provoace maladii sau efecte dăunătoare asupra oamenilor sănătoși, animalelor sau plantelor sănătoase, în condiții normale de utilizare sau ca urmare a unui incident relativ previzibil, precum înțeparea cu un ac, ingestie accidentală, expunerea la aerosoli, diseminarea ce ar duce la expunerea mediului. Se studiază datele referitoare la manipularea și siguranța speciei în cauză și a microorganismelor înrudite. Se impune, de asemenea, consultarea listelor de organisme patogene pentru om, animale sau plante.

Se consideră că tulpinile nevirulente ale unei specii patogene recunoscute, precum vaccinurile vii pentru oameni și animale, nu prezintă riscuri sanitare și astfel corespund rigorilor înaintate cu condiția ca:

- să fie stabilită siguranța tulpinii nevirulente;

- să fie atestată absența unor efecte dăunătoare asupra sănătății oamenilor, animalelor sau plantelor (de exemplu, de date din literatura de specialitate);
- să prezinte o deleție stabilă ce determină virulența;
- să prezinte mutații stabile recunoscute că reduc suficient virulența, fapt demonstrat prin teste de patogenitate, analiză genetică, sonde genetice, detecția fagilor și plasmidelor, cartografierea cu enzime de restricție, secvențializare, sonde proteice).

Se recomandă ca vectorul și insertul, așa cum apar în MMG-ul final obținut, să nu conțină gene care să codifice o proteină activă sau un transcript (factori de virulență, toxine etc.) și care să confere microorganismului modificat un fenotip susceptibil a provoca maladii la oameni, animale și plante sau să cauzeze efecte dăunătoare mediului.

Este binevenită evitarea utilizării unui vector/ insert ce conține secvențe codificatoare pentru caractere dăunătoare în anumite microorganisme, chiar dacă nu conferă microorganismului modificat final un fenotip susceptibil a genera maladii la oameni, animale și plante sau efecte negative mediului. Fenotipul obținut după inserția unui vector depinde de organismul receptor sau parental; ceea ce este valabil pentru un organism-gazdă nu se poate aplica în mod automat și altor gazde.

Materialul modificat genetic nu trebuie să producă efecte adverse în cazul transferului; să fie autotransmisibil sau transferabil cu o frecvență mai ridicată decât cea a genelor microorganismului receptor sau parental. În cazul unei eliberări semnificative și neintenționate în mediu, MMG-ul nu trebuie să aibă efecte adverse, imediate sau întârziate asupra mediului. În calitate de tulpini receptoare sau parentale de microorganisme, utilizate în obținerea MMG-urilor, sunt utilizate:

- derivate de tulpini bacteriene suficient inactivate („în stare de incapacitate“), a căror creștere și supraviețuire depinde de aportul de nutrienți doar în mediul de cultură și care nu sunt prezenți la om sau în mediul extern;
- tulpini sălbatice nepatogene, ce pot avea nișe ecologice extrem de specializate, a căror diseminare accidentală ar avea un impact minim asupra mediului, sau foarte răspândite, dar inofensive, astfel încât o diseminare accidentală ar avea consecințe minime pentru om, animale și plante (de exemplu, bacteriile lactice, rizobacterii, termofile, bacterii sau fungi producători de antibiotice). Important este ca microorganismele utilizate să prezinte caracteristici genetice și moleculare bine studiate și caracterizate.

Plasmida pUC18 este folosită frecvent ca vector de clonare în combinație cu celule de *Escherichia coli* K12. Plasmida pUC18 și derivatele sale sunt secvențiate integral. *E. coli* K12 este lipsită de genele care conferă patogenitate, nu poate coloniza intestinul oamenilor sau al animalelor. Experimentele de inginerie genetică cu *E. coli* K12/pUC18 pot fi efectuate la nivelul 1 de biosecuritate cu condiția că produsele de expresie a ADN-ului străin inserat nu necesită niveluri de biosecuritate mai ridicate.

La evaluarea riscurilor se ia în considerație nu numai vectorul/ sistemul-gazdă utilizat, dar și proprietățile ADN-ului ce urmează a fi clonat. În cele mai multe cazuri se va demonstra că expresia ADN-lui alogen nu va modifica proprietățile biologice ale organismului-gazdă. Însă există posibilitatea ca atunci când alogenele sunt derivate dintr-un organism patogen să existe un anumit risc, cu toate că nu toate genele determină virulența agentului. Niveluri superioare de biosecuritate pot fi necesare atunci când:

- expresia ADN-lui derivat de la organisme patogene poate crește virulența OMG-ului;
- secvențele de ADN inserate nu sunt bine caracterizate;
- produsele genice au activitate farmacologică potențială;
- produsele de expresie reprezintă toxine.

Pentru transferul genelor sunt utilizați vectorii virali (de exemplu, adenovirusurile) cărora le lipsesc genele implicate în replicarea virusului. Ei sunt propagați în liniile de celule care completează acest defect. Însă stocurile unor astfel de vectori pot fi contaminate cu virusuri capabile de replicare generate prin evenimente de recombinare spontane, sau pot fi rezultatul purificării insuficiente. Se recomandă pentru acești vectori un nivel de biosecuritate similar celui atribuit adenovirusului din care sunt derivați.

Animalele transgenice trebuie să fie manipulate în condiții de izolare la un nivel caracteristic produselor de expresie a alogenelor. În linii generale, animalele modificate genetic prin inactivarea unor gene specifice (*knock-out*), organismul fiind lipsit de produsul acestora, nu prezintă hazard biologic. Alte exemple de animale transgenice pot fi cele ale căror gene codifică receptori pentru virusuri care în mod normal nu infectează această specie. În cazul în care astfel de animale evadează din laborator, există posibilitatea unui transfer de gene în cadrul populației de animale sălbatice și astfel un grup de animale susceptibile la anumite virusuri ar putea, teoretic, să fie generat. Această posibilitate a fost discutată pentru poliovirus și este deosebit de relevantă în contextul eradicării poliomielitei. Șoarecii transgenici care au în genom gene ale receptorului poliovirusului uman au fost susceptibili la infecția cu poliovirus prin diverse trasee de inoculare, iar boala rezultată a fost din punct de vedere clinic și histopatologic similară poliomielitei umane. Cu toate acestea, modelul șoarecelui diferă de cel al omului prin faptul că replicarea poliovirusului administrat pe cale orală este inefficientă sau nu se produce. Prin urmare, este puțin probabil ca evadarea unor astfel de șoareci transgenici în natură să determine apariția unui nou rezervor de infecție cu poliovirus. Acest exemplu demonstrează necesitatea studiilor detaliate pentru fiecare linie nouă de animale transgenice, pentru a stabili căile de infectare, doza de infecție, modul de transmitere a virusului de către animalele infectate etc. (vezi § 2.3.).

Plantele transgenice care exprimă gene ce conferă toleranță la erbicide sau rezistență la insecte sunt în prezent un subiect de controversă considerabilă în multe părți ale lumii. Discuțiile sunt axate pe siguranța alimentară și consecințele ecologice pe termen lung ale cultivării lor. Plantele MG care exprimă gene de origine umană sau animală sunt utilizate pentru producerea de produse medicamentoase și nutriționale. Evaluarea riscurilor trebuie să stabilească nivelul corespunzător de biosecuritate pentru producția unor astfel de plante transgenice (vezi cap. 3).

Pentru cercetările care implică ADN-ul recombinat, spre deosebire de alți agenți biologici cu potențial pericol, se impune un al treilea mecanism de izolare – bariere biologice foarte specifice. Bariere naturale pot fi cele care limitează prin gradul de infectare de către vector (plasmidă sau virus) a unor gazde specifice, sau diseminarea și supraviețuirea acestora în mediul înconjurător. Vectorii utilizați în obținerea ADN-ului recombinat pot fi proiectați astfel ca să scadă probabilitatea diseminării ADN-ului recombinat în afara laboratorului. Astfel, pentru asigurarea biosecurității utilizării OMG-ului se stabilesc diferite

combinații ale barierelor fizice și biologice, de izolare corelate cu utilizarea practicilor standard.

Niveluri de izolare biologică. În contextul izolării biologice, vectorul (plasmidă, organit sau virus) care conține ADN-ul recombinat și gazda în care este propagat (celule bacteriene, vegetale sau animale) în condiții de laborator vor fi considerate ca un tot întreg. Combinația vector-gazdă se construiește astfel încât următoarele posibilități de „evadare” să fie minime:

- supraviețuirea vectorului în gazda sa în afara condițiilor de laborator;
- transferul vectorului din gazda unde se multiplică la alte gazde prezente în mediul extern.

Pentru procariote sunt stabilite următoarele niveluri de izolare biologică (sisteme gazdă-vector):

Sistemele Gazdă-Vector de tip 1 asigură un nivel mediu de izolare. Astfel de sisteme sunt: *Escherichia coli* K-12 (EK1) sau un derivat al acesteia în calitate de gazdă în combinație cu vectori-plasmide non conjugante, de exemplu, pSC101, Co1E1 sau derivate ale acestora, precum și variante de bacteriofagi, cum ar fi fagul lambda. Alte sisteme certificate de Gazdă-Vector 1 sunt cele formate din *Bacillus subtilis* (sușele RUB 331 și BGSC 1S53) cu următoarele vectori-plasmide: pUB110, pC194, pS194, pSA2100, pE194, pT127, pUB112, pC221, pC223 și pAB124. Tulpinile *B. subtilis* 331 RUB și BGSC 1S53 au fost certificate ca fiind componenta gazdă a sistemelor Gazdă-Vector 1 bazate pe aceste plasmide.

Sistemele Gazdă-Vector de tip 2 asigură un nivel ridicat de izolare biologică demonstrat prin teste de laborator. Eliberarea neintenționată a ADN-ului recombinat determinată de supraviețuirea organismelor sau de transferul acestuia la alte organisme trebuie să fie nu mai mult de 1 la 108 celule-gazdă sau particule fagice în anumite condiții. Sistemele specifice Gazdă-Vector de tip 2 sunt: *Escherichia coli* K-12 (EK 2) la care vectorul este o plasmidă, și tot acest tip de gazde la care vectorul este un fag.

Proiectarea altor sisteme gazdă-vector necesită analiza și înregistrarea următoarelor informații:

- descrierea etapelor de obținere a constructului genetic, indicarea sursei, proprietăților și metodei de transformare;
- cuantificarea stabilității caracterului genetic prevăzut pentru izolarea biologică a sistemului (supraviețuirea sistemului gazdă-vector în afara laboratorului, posibilitatea de transfer al vectorului și/sau al unui fragment de ADN clonat atât în condiții recomandate, cât și nerecomandate);
- date privind alte proprietăți ale sistemului care afectează izolarea și utilitatea, inclusiv informații privind conținutul de molecule fagice sau plasmide, modul de izolare a ADN-ului și cel de transfecție sau transformare.

O importanță deosebită trebuie acordată activităților de manipulare cu agenți din clasa de risc mai mare. De exemplu, virusurile din clasa 2 de risc pot fi cultivate în conformitate cu nivelul 2 de biosecuritate. Totuși, atunci când astfel de agenți sunt utilizați pentru studiile de inoculare sau transmitere la animale, este recomandat un nivel de izolare mai înalt. În mod similar, activitățile cu agenții clasei 3 de risc, de exemplu, virusul encefalomielitei venezueliene și febra galbenă trebuie să fie realizate la nivelul 4 de izolare în cazul experimentelor de inoculare și modul de transmitere la animale.

Criteriile și nivelurile de biosiguranță asociate cercetărilor de transformare genetică a plantelor și animalelor vor fi descrise în capitolul 3 și respectiv în paragraful 2.3. al acestui capitol.

Există și cercetări de manipulare cu molecule de ADN recombinat care sunt înregistrate și monitorizate, dar care nu cad sub incidența unor reglementări internaționale stricte, de exemplu, cele care constau integral din secvențe de ADN de la:

- o singură sursă chiar dacă una sau mai multe dintre acestea pot fi echivalente de sinteză chimică;
- o gazdă de origine procariotă, inclusiv plasmidele sau virusurile indigene ale acesteia, atunci când sunt multiplicare în gazda dată (sau o tulpină foarte apropiată a aceleiași specii), sau atunci când sunt transferate la o altă gazdă prin căi fiziologice bine stabilite;
- o gazdă eucariotă, inclusiv cloroplaste, mitocondrii sau plasmide (cu excepția virusurilor), atunci când sunt multiplicare doar în această gazdă (sau o varietate foarte apropiată a aceleiași specii);
- diferite specii care realizează schimb de ADN prin procese fiziologice cunoscute.

Izolarea fizică asigurată în laborator ar putea să nu fie întotdeauna adecvată pentru toate organismele din cauza dimensiunilor lor, a numărului de organisme experimentale necesare sau a particularităților de creștere a organismului. De asemenea, izolarea biologică adecvată microorganismelor ar putea să nu fie potrivită pentru toate organismele, în special pentru eucariotele superioare. Cu toate acestea, există informații suficiente privind proiectarea instituțiilor de cercetare și a procedurilor experimentale aplicabile organismelor ce conțin ADN recombinat integrat direct în genom sau în microorganisme asociate în calitate de simbioți, agenți patogeni sau alt tip de interrelație, care să asigure un mod sigur de activitate.

Obiectivul izolării fizice este de a reduce potențialul de expunere a lucrătorului din laborator, persoanelor din afara laboratorului și a mediului la OMG și include bariere primare și secundare de izolare generale, descrise pentru agenții biologici cu nivelurile de biosiguranță 1-4 (vezi § 2.1.) în asociere cu unele particularități specifice ale sistemului gazdă-vector (izolare biologică) folosit în experiment:

Practici specifice pentru nivelul de biosiguranță 1 (NB-1) al utilizării OMG-urilor în condiții de izolare:

- *Materialele contaminate prevăzute pentru decontaminare într-un spațiu separat de laborator sunt plasate în recipiente impermeabile și rezistente care sunt închise etanș înainte de a fi scoase din laborator;*
- *Un program de control eficient al insectelor și rozătoarelor.*

Practici specifice pentru nivelul de biosiguranță (NB-2) suplimentar celor prevăzute în cazul NB-1:

- *Toate deșeurile din laborator sunt decontaminate înainte de eliminare sau transferate în alte spații.*
- *Pentru injectarea parenterală de la animalele de laborator sau aspirația lichidelor ce conțin organisme care conțin molecule de ADN recombinat se utilizează seringile cu ace nedetașabile (acul este parte integrantă a seringii) de unică folosință. Măsuri*

deosebite de precauție trebuie să fie luate atunci când sunt manipulate acele și seringile pentru a evita autoinocularea și generarea de aerosoli în timpul utilizării și eliminării deșeurilor. Acele nu trebuie să fie îndoite, tăiate, înlocuite sau eliminate din seringă în urma utilizării.

- Accidentele de laborator asociate expunerilor directe la organisme ce conțin molecule de ADN recombinat sunt raportate Comisiei naționale privind securitatea biologică.
- Atunci când este cazul, având în vedere agentul(ții) manipulat(ți), mostre de ser pentru personalul de laborator și alți angajați expuși riscului sunt colectate și stocate.

Practici speciale pentru nivelul de biosiguranță (NB-3) suplimentar celor prevăzute în cazul NB-3:

- Persoanele cu vârsta sub 16 ani nu vor intra în laborator.
- Toate activitățile cu material MG se desfășoară în cabinete biologice de siguranță. Nu este recomandată realizarea în spații deschise (mese de lucru, vase neastupate) a procedurilor de laborator.
- Măști chirurgicale sau respiratoare sunt purtate în camerele cu animale experimentale.
- Animalele de laborator ținute într-o zonă NB-3 sunt păstrate în sisteme de cuști cu control parțial, cum ar fi cuștile deschise plasate în spații ventilate echipate cu filtre de înaltă eficiență a particulelor de aer/HEPA și capcane cu lichid dezinfectant, cuști cu pereți și pardosele solide acoperite cu capote-filtru sau plasate pe rafturi echipate cu lămpi UV.

Procedurile cu sisteme gazdă-vector, care asigură un nivel de izolare biologică mai mare cu un nivel decât cel specificat, pot fi efectuate în laboratorul cu NB-3, utilizându-se echipamentul de izolare specific pentru izolarea fizică NB-2 și viceversa dacă sistemul gazdă-vector asigură un nivel de izolare biologică mai mic cu un nivel decât cel specificat, pot fi efectuate în laboratorul cu NB-3, folosind echipamentul de izolare de tip NB-IV.

Practici specifice pentru nivelul de biosiguranță 4 (NB-4):

- Materialele biologice ce urmează a fi eliminate din cabinetele clasa III sau dintr-un laborator cu control maxim sunt transferate în stare intactă sau viabilă într-un recipient primar sigilat și apoi închis într-un recipient secundar necasant care este eliminat din instalație printr-un rezervor cu dezinfectant sau cameră de fumigație.
- Consumabilele și materialele necesare sunt introduse în laborator prin intermediul unei autoclave cu ușă dublă sau camere de fumigație.
- Accesul este gestionat de către investigatorul principal, ofițerul de siguranță biologică sau alte persoane responsabile cu securitatea fizică a facilității. Un jurnal, semnat de către întreg personalul, indică data și ora fiecărei intrări și ieșiri precum și un raport privind accidentele de laborator, expuneri, indiferența angajaților, supravegherea medicală a maladiilor potențiale asociate de laborator etc. Un ajutor esențial pentru un astfel de sistem de raportare-supraveghere este disponibilitatea unei facilități pentru carantină, izolare și îngrijire medicală a personalului cu boli asociate activității de laborator potențiale sau cunoscute. Protocoale practice și eficiente pentru situații de urgență sunt stabilite.

Experimentele în care ADN-ul de la agenții cu clasa de risc 2 sau 3 este transferat la procariote nepatogene sau eucariote inferioare pot fi efectuate în condiții de izolare NB-II. Cele care implică crearea ADN-ului recombinat pentru anumite gene codificatoare de

molecule toxice pentru vertebrate necesită reglementări foarte stricte. La nivel național astfel de cercetări sunt interzise.

Principiile de evaluare a riscurilor potențiale asociate ADN-ului recombinat au un caracter general. Nu este real de a defini în prealabil toate OMG-urile care ar putea fi create sau utilizate în laborator. Marea majoritate a cercetărilor se realizează în conformitate cu cerințele de biosecuritate utilizând surse de ADN pentru transfer, vectori și gazde cu inofensivitate demonstrată. Fiecare experiment trebuie să fie evaluat de la caz la caz. Investigatorii trebuie să respecte reglementările naționale privind restricțiile și cerințele de realizare a activităților cu OMG-uri. Selectarea nivelului de biosecuritate poate varia în diferite țări sau în funcție de apariția noilor informații despre un anumit sistem gazdă-vector. Evaluarea riscurilor este un proces dinamic care ia în considerație noile realizări și progrese ale științei.

2.3. Izolare și alte precauții pentru activitățile în unități cu animale

Utilizarea animalelor experimentale care deseori sunt șobolanii (fig. 2.8.) și a insectelor implică probleme speciale. Animalele pot fi purtători de agenți infecțioși dobândiți în mod natural (de ex., virusul herpesului B). Acești purtători pot fi cronici, agentul persistând într-o formă neinfecțioasă latentă, care poate fi reactivată periodic sau ca urmare a unor stimuli, cum ar fi stresul. Deoarece nu poate fi exclusă posibilitatea ca un agent să fie prezent în organism și excretat în timpul experimentului, toate animalele trebuie izolate la un nivel adecvat riscului. În cazul în care animalele sunt inoculate cu agenți din cele patru clase de risc, acestea trebuie să fie menținute în condiții de izolare similare agentului respectiv cu toate că, în unele cazuri, infectarea organismului animal poate spori biohazardul.

Experimentatorii care utilizează animale în scopuri experimentale și de diagnostic au o obligație morală de a evita posibilitățile de a le provoca dureri sau suferințe inutile. Acestea trebuie să fie menținute în condiții igienice și confortabile (produse alimentare adecvate și apă).

Unitățile de lucru cu animale sunt încadrate în clasele de risc și izolare 1, 2, 3 sau 4 în baza rezultatelor evaluării riscurilor. În funcție de agenții și animalele care urmează a fi studiate, se iau în considerație factorii:

- calea de transmitere;
- volumul și concentrațiile care urmează să fie utilizate;
- modul de inoculare;
- dacă și pe ce cale acești agenți pot fi eliminați în mediu;
- agresivitatea animalelor, tendința de a mușca și zgâria;
- ecto- și endoparaziții lor naturali;
- diseminarea posibilă a alergenilor.



Fig.2.8. Șobolanii albi sunt cele mai des utilizate animale de laborator

Ca și în cazul laboratoarelor biologice, cerințele pentru proiectare, echipament și măsurile de precauție a unităților cu animale sporesc în rigurozitate în funcție de nivelul de biosiguranță al animalelor. O atenție specială trebuie acordată evaluării condițiilor de izolare pentru experimentele cu animale transgenice care implică crearea de noi mecanisme de transmitere sporită a unui agent patogen recombinat sau producerea de trăsături nedorite în gazda-animal.

Facilități pentru animale – nivelul de biosiguranță 1 este adecvat pentru animalele inoculate deliberat cu agenți din clasa de risc 1 și experimentele cu animale care implică microorganisme modificate fără posibilitate de transmitere sexuală a acestora. Procedurile, practicile, precum și unitățile de lucru urmăresc metodele standard în activitățile cu agenți cu biohazard (vezi § 2.1.):

- acces restricționat atunci când sunt prezente animale experimentale;
- zona de control va fi patrulată și supravegheată în conformitate cu legislația națională și cerințele de îngrijire a animalelor pentru a evita posibilitatea furtului sau eliberării neintenționate;
- toți nou-născuții modificați genetic vor fi marcați timp de 72 de ore după naștere, dacă dimensiunea lor o permite sau se marchează containerele lor;
- animalele de sex masculin și cele de sex feminin se separă printr-o barieră dublă cu excepția cazului în care sunt realizate studii de reproducere. Pot fi luate alte măsuri de împiedicarea reproducerea;
- atunci când un animal care conține ADN recombinat este eutanasiat sau moare, cadavrul trebuie să fie eliminat prin incinerare, pentru a evita utilizarea sa ca aliment pentru ființele umane sau animale, cu excepția cazului în care utilizarea alimentară este specific autorizată de către o agenție de stat corespunzătoare. O evidență permanentă a utilizării experimentale și a eliminării fiecărui animal sau grup de animale trebuie să fie menținută.

Facilități pentru animale – nivelul de biosiguranță 2 (NB2-A) se atribuie activităților cu animale inoculate deliberat cu agenți din clasa de risc 2, animale transgenice la care a fost exclusă posibilitatea de transmitere verticală sau orizontală a materialului genetic. Semnul de avertizare afișat pe toate ușile de acces la zona de lucru cu animale trebuie să indice: agentul, speciile de animale, numele și numărul de telefon al directorului unității de lucru cu animale sau altă persoană responsabilă și cerințele speciale pentru intrarea în laborator. Următoarele măsuri de precauție se aplică:

- toate cerințele prevăzute pentru nivelul de biosiguranță 1;
- ușile trebuie să se deschidă în interior și să se închidă în mod automat;
- instalațiile de încălzire, ventilație (curentul de aer trebuie să fie direcționat spre interior, iar cel exhaustat este evacuat la exterior fără posibilitate de recirculare) și iluminare adecvate;
- un program de control al rozătoarelor și artropodelor. Ferestrele, dacă sunt prezente, trebuie să fie sigure, rezistente la spargere și în cazul în care pot fi deschise, să fie dotate cu plase împotriva artropodelor;
- în apropierea unității de lucru cu animale trebuie să fie disponibilă o autoclavă;
- materialele așternutului pentru animale trebuie să fie eliminate astfel încât să reducă generarea de aerosoli și praf. Toate deșeurile și așternuturile trebuie să fie decontaminate înainte de eliminare;

- utilizarea instrumentelor ascuțite trebuie să fie limitată ori de câte ori este posibil. Obiectele ascuțite trebuie întotdeauna să fie colectate în recipiente rezistente la înțepături și să fie tratate ca material infecțios;
- materialele pentru autoclavare sau incinerare trebuie să fie transportate în condiții de siguranță, în containere închise;
- toate rănilor, oricât de mici, trebuie să fie tratate în mod corespunzător, raportate și înregistrate.

Măsuri de precauție corespunzătoare trebuie luate pentru a preveni expunerea personalului și transmiterea orizontală, de exemplu, prin intermediul artropodelor, așternuturilor contaminate sau deșeurilor animaliere etc. Toate conexiunile dintre diferite materiale și spații trebuie să fie sigilate și utilizate mecanisme de control suplimentare contra artropodelor pentru a minimiza pătrunderea și înmulțirea acestora.

Facilități pentru animale – nivelul de biosiguranță 3 (NB3-A) sunt recomandate activităților cu animale inoculate deliberat cu agenți din clasa de risc 3 sau atunci când se indică drept rezultat al evaluării riscurilor. Toate sistemele, practicile și procedurile trebuie să fie revăzute și recertificate anual. Se aplică:

- toate cerințele pentru unitățile de animale cu nivelurile de biosiguranță 1 și 2;
- personalul trebuie să fie bine instruit și să corespundă unui înalt nivel de performanță în domeniul microbiologiei, să cunoască riscurile implicate în activitate și măsurile de precauție necesare; un incinerator ar trebui să fie ușor disponibil pe loc sau aranjamente alternative ar trebui să se facă cu autoritățile vizate;
- ferestrele trebuie să fie închise și sigilate;
 - reziduurile lichide de la echipamentele de control, chiuvete, cabinete de siguranță biologică, încăperi pentru animale, bariere primare, canalele de scurgere și sterilizatoarele trebuie să fie decontaminate prin tratament termic înainte de a fi eliberate în sistemul de canalizare. Procedura folosită pentru decontaminarea prin căldură a deșeurilor lichide trebuie să fie monitorizată cu un termometru. Eficiența sistemului de decontaminare prin căldură trebuie să fie revalidată la fiecare 30 de zile, în baza unui organism indicator;
 - amenajările pentru animale sunt curățate cel puțin o dată pe zi și decontaminate imediat după orice accident cu materiale viabile (fig. 2.9, fig. 2.10);
 - la construcția sau renovarea unității de animale trebuie să se ia în considerație necesitatea menținerii unei presiuni negative;
 - supraveghere medicală regulată a întregului personal. Mostre de ser sunt colectate periodic, în funcție de agentul manipulat sau funcția unității de lucru.

Facilități pentru animale – nivelul de biosiguranță 4 (NB4-A) includ activitățile în cabinete de siguranță corelate cu practici și proceduri suplimentare unităților pentru animale cu nivelurile de biosiguranță 1, 2 și 3:



Fig.2.9. Instalație pentru curățarea carcaselor de la animale



Fig.2.10. Instalație cu răcire pentru păstrarea carcaselor de la animale

- Amenajările pentru animalele infectate cu agenți din clasa de risc 4 trebuie să mențină criteriile de control descrise și aplicate pentru laboratoarele cu nivelul de biosiguranță 4 (vezi §1.5.).
- Zona de intrare/ ieșire a personalului care lucrează cu animale va fi dotată cu un duș de dezinfectant chimic pentru a decontamina suprafața EPP, înainte de a părăsi zona. Un dispozitiv de neutralizare/ diluare a apei trebuie să fie integrat cu conductele de evacuare a dezinfectantului chimic, înainte de a intra în sistemul de sterilizare prin căldură.
- Sistemul de aprovizionare cu apă trebuie să fie dotat cu dispozitive automate de izolare și de prevenire a fluxului invers al apei.
- Aerul evacuat din zona de control va fi purificat prin filtre HEPA asociat cu un incinerator aerian. Cerința minimă reprezintă 1×10 organisme la un volum de $30,5 \text{ cm}^3$ al fluxului de aer prin incinerator. Este recomandat ca spori bacterieni să fie utilizați în testarea eficienței echipamentului. Pentru astfel de teste sunt utilizați sporii de *Bacillus subtilis* var. niger sau *Bacillus stearothermophilis*. Temperatura de operare a incineratorului trebuie monitorizată regulat.
- Dispozitive de reținere pentru animale pot fi necesare pentru a evita deteriorarea integrității unității de izolare a animalelor.
- Testare a siguranței, proceduri de decontaminare și aprobarea Comisiei naționale privind securitatea biologică vor fi necesare pentru transferul agenților sau speciilor de țesut/ organ de la o unitate de animale NB4-N la alta cu un nivel mai mic al izolării.

Nivelul de biosiguranță al unității pentru **nevertebrate**, similar celor pentru vertebrate, va fi determinat de către clasa de risc asociată agenților investigați. Sunt necesare precauții suplimentare cu anumite artropode, în special cu insectele zburătoare:

- Încăperi separate închise etanș pentru fumigație.
- Utilizare după necesitate a spray-urilor insecticide.
- Unități cu „răcire“ trebuie să fie prezente pentru a reduce, în funcție de caz, activitatea nevertebratelor.



Fig. 2.11. Măsuri de precauție privind izolarea păsărilor, insectelor prin dotarea spațiilor cu cuști, capcane și carcase

- Accesul se efectuează printr-o anticameră dotată cu capace pentru insecte și plase împotriva artropodelor amplasate pe uși.
- Toate conductele de ventilație și ferestrele care se deschid ar trebui să fie dotate cu plase de protecție. Toate deșeurile trebuie să fie decontaminate prin autoclavare, deoarece unele nevertebrate nu sunt distruse de către dezinfectante. Monitorizarea numărului de larve și forme adulte de artropode zburătoare și târătoare este obligatorie.
- Containerele pentru căpușe trebuie menținute în tăvi cu ulei.
- Insectele zburătoare infectate sau potențial infectate trebuie să fie izolate în cuști cu plasă dublă și manipulate în cabinete de siguranță biologică pe suprafețe cu răcire sau în izolatoare.

Cercetările cu animale care nu pot îndeplini criteriile menționate pot fi efectuate în condiții de siguranță prin aplicarea practicilor standard folosite pentru cultivarea controlată a acestora. În sistemele acvatice, de exemplu,

condițiile echivalente NB-1 pot fi îndeplinite prin utilizarea rezervoarelor de creștere care să ofere mijloace fizice adecvate pentru a evita evadarea speciilor acvatice și diseminarea gameților. Barierele de izolare includ filtrarea, iradierea, tratamentul termic și chimic. În cazul spargerii rezervorului și revărsării, barierele secundare de izolare (încăperea) trebuie să prevină pătrunderea organismelor și gameților în canalele de scurgere ale clădirii înainte ca aceștia să fie inactivați.

Pentru activitățile cu animalele transgenice sau alte organisme modificate genetic se admit:

- persoane fizice a căror stare a sănătății și pregătire profesională corespunde cerințelor de asigurare a securității legate de activitatea în domeniu;
- persoane juridice care dispun de încăperi, utilaj, echipament și lucrători capabili să asigure activitatea în condiții de securitate pentru sănătatea umană și mediu.

Persoanele juridice care practică activitățile clasificate în clasele 3 și 4 de risc vor obține autorizarea activităților numai în cazul în care ele dispun de licența eliberată conform legislației.

2.4. Proceduri de sterilizare

Cunoștințele de bază privind procedurile de dezinfectie și sterilizare reprezintă elemente decisive pentru biosiguranța în laborator. Cerințele specifice de decontaminare depind de tipul activității experimentale și de natura agentului infecțios utilizat. Timpul de acțiune pentru dezinfectant este specific pentru fiecare material și agent chimic, de aceea trebuie să se respecte toate recomandările propuse de producător.

Curățarea reprezintă îndepărtarea materiei organice/ anorganice și a petelor de diferită natură prin periere, aspirare, înlăturarea uscată a prafului, spălarea/ ștergerea umedă cu apă și săpun sau detergent. Prezența gunoiului, petelor și materiei organice poate face ineficientă acțiunea decontaminantelor (antiseptice, germicide chimice și dezinfectante) utilizate în distrugerea microorganismelor. Multe produse germicide acționează doar pe obiectele preliminar curățate cu atenție pentru a evita expunerea materialului la agenții infecțioși. Pentru etapele preliminare și ulterioare de curățare și dezinfectie se selectează substanțe compatibile chimic. Se obișnuiește ca unul și același germicid chimic să fie folosit pentru curățare preliminară și dezinfectie.

La alegerea unui dezinfectant chimic, personalul trebuie să țină cont de următoarele aspecte:

- Ce tip de organism este supus inactivării? Agenții microbieni pot fi clasificați în conformitate cu rezistența sporită față de dezinfectante și căldură, tab. 2.1.
- Care este concentrația patogenilor? Cu cât mai multe organisme sunt prezente, cu atât mai mult dezinfectant este necesar și/sau timpul de aplicare va fi mai îndelungat.
- Cât de eficient este dezinfectantul într-o singură aplicație?
- Durata expunerii și temperatura – timpul de expunere mai mare crește eficiența dezinfectanților. Temperaturile joase pot diminua activitatea necesitând un timp de expunere mai îndelungat.

- Materialul care necesită decontaminare? Dezinfectantul trebuie să fie compatibil cu obiectul ce urmează a fi decontaminat.
- Natura suprafeței care este dezinfectată – poroasă sau netedă; cu cât suprafața este mai poroasă și zgrunțuroasă, cu atât mai mult dezinfectant va fi necesar pentru a fi eficient.
- Este dezinfectantul coroziv pentru echipament sau suprafețele de lucru: metal, ceramică, plastic, lemn, beton? Formează dezinfectantul reziduuri?
- Dezinfectantul ales poate fi inactivat de materia organică? Proteinele în materiale organice precum sânge, fluide corporale și țesuturi pot inactiva sau diminua activitatea unor dezinfectante, de exemplu, înălbitorul.
- Care este durata de păstrare a acțiunii dezinfectantului?
- Care este hazardul dezinfectantului? Este toxic prin absorbție cutanată, ingestie sau inhalare?

Selecția dezinfectantului lichid este opțiunea pentru suprafețele solide și echipamente, bazându-se pe evaluarea biohazardului și pe tipul de material ce urmează a fi decontaminat.

Tabelul 2.1. Eficiența unor dezinfectanți chimici

COMPUSUL	BACTERII VEGETATIVE	SPORI BACTERIENI	FUNGI	VIRUSURI ÎNCAPSULATE	VIRUSURI	MICOBACTERII
Fenoli		ineficienți	eficienți	eficienți	depinde de virus	eficienți
Hipocloriți	eficienți	eficienți	activitate limitată	eficienți	eficienți	activitate limitată
Alcooli		ineficienți	ineficienți	eficienți	eficienți	eficienți
Aldehide		eficienți	eficienți	eficienți	eficienți	eficienți
Agenți activi de suprafață		ineficienți	activitate limitată	depinde de virus	depinde de virus	ineficienți
Compuși peroxidici		eficienți	eficienți	eficienți	eficienți	eficienți

Germicidele chimice își manifestă activitatea rapid și eficient la temperaturi înalte. În același timp temperaturile mari pot accelera evaporarea și, de asemenea, degradarea lor. Multe germicide sunt dăunătoare pentru sănătatea oamenilor și mediului. Acest tip de substanțe trebuie selectate cu atenție, manipulate, depozitate și eliminate corect, urmând instrucțiunile producătorilor. Pentru siguranța proprie, sunt recomandate mănuși, șorțuri și protecție pentru ochi în timpul preparării diluțiilor. Germicidele nu reprezintă dezinfectante de uz general pentru curățarea pardoselilor, pereților, echipamentului și mobilierului. Se apelează la acestea în caz de contaminare puternică asociată cu răspândirea patogenilor. Se recomandă limitarea utilizării chimicalelor germicide din considerente economice și de poluare a mediului. Clasele de germicide pe larg utilizate sunt rezumate în tab. 2.2.

Hipocloritul de sodiu conține clor – un oxidant cu acțiune germicidă cu un spectru larg. Este comercializat ca înălbitor – soluție apoasă de hipoclorit de sodiu (NaOCl), care

Tabelul 2.2. Diluții recomandate pentru compușii cu clor

SUBSTANȚA CHIMICĂ	SUPRAFEȚE	
	contaminate	puternic contaminate
Concentrația clorului recomandată	0,1% (1 g/l)	0,5% (5 g/l)
Soluție de hipoclorit de sodiu (concentrația clorului 5%)	20 ml/l	100 ml/l
Hipoclorit de calciu (concentrația clorului 70%)	1,4 g/l	7,0 g/l
Praf de dicloroizocianurat de sodiu (concentrația clorului 60%)	1,7 g/l	8,5 g/l
Cloramină (concentrația clorului 25%)	20 g/l	20 g/l

poate fi diluată cu apă pentru a obține concentrațiile dorite. Activitatea sa este redusă considerabil de către materia organică (proteine). Această soluție este foarte alcalină și poate fi corozivă pentru metale. Păstrarea în recipiente deschise a soluțiilor de lucru de înălbitor, în special la temperaturi înalte, determină scăderea efectului de germicid datorită eliminării clorului. Soluțiile frecvent utilizate pentru decontaminarea materialelor contaminate puternic cu reziduuri organice trebuie reînnoite zilnic, iar în cazul unei frecvențe de utilizare reduse își pot păstra efectul timp de o săptămână.

Soluția clorurată în calitate de dezinfectant de laborator universal trebuie să aibă o concentrație a clorului de 1 g/l. O soluție mai concentrată, de 5 g/l, este recomandată pentru îndepărtarea cantităților mari de materie organică și a împrăștiilor de agenți periculoși. Soluțiile de hipoclorit de sodiu, în calitate de înălbitor casnic, conțin 50 g/l de clor și prin urmare trebuie să fie diluate în raport de 1:50 sau 1:10 pentru a obține concentrațiile finale de 1 g/l și 5 g/l, respectiv. Soluțiile industriale de înălbitor au o concentrație a hipocloritului de sodiu de aproape 120 g/l și trebuie să fie diluate corespunzător pentru a obține nivelurile indicate mai sus. Înălbitorul nu este recomandat ca antiseptic. În cazuri de urgență, poate fi folosit în concentrație finală de 1-2 mg/l clor la dezinfectarea apei potabile.

Clorul este foarte toxic. De aceea înălbitorul trebuie să fie depozitat și folosit doar în spații bine aerisite. Se interzice amestecul soluției clorurate cu acizi pentru a preveni evaporarea gazului de clor. Mulți produși secundari ai clorului prezintă hazard pentru sănătate și mediu, de aceea utilizarea la întâmplare a dezinfectanților pe bază de clor trebuie să fie evitată.

Dicloroizocianuratul de sodiu (NaDCC) se comercializează sub formă de praf și conține 60% de clor. Soluțiile preparate din praful de NaDCC la 1,7 g/l și 8,5 g/l vor conține 1 g/l sau 5 g/l clor, respectiv. NaDCC solid poate fi aplicat pe împrăștiile de sânge sau alte lichide cu potențial hazard pentru cel puțin 10 minute.

Cloraminele sunt disponibile sub formă de praf conținând aproape 25% clor. Cloraminele elimină clor la o rată mai mică decât hipocloriții. Soluțiile de cloramină nu sunt inactivate de către materia organică în aceeași măsură ca soluțiile de hipoclorit, iar concentrațiile de 20 g/l sunt recomandate atât pentru suprafețele puțin contaminate, cât și pentru cele puternic contaminate. Soluțiile de acest compus sunt fără miros. Totuși obiectele înmuiate în ele trebuie să fie bine clătite pentru a înlătura orice reziduu al agenților (tosilcloramidă de sodiu) adăugați la prafurile de cloramină.

Dioxidul de clor (ClO_2) este un germicid puternic cu acțiune rapidă, agent dezinfectant și oxidant, adesea fiind activ la concentrații mai mici decât cele necesare în soluțiile de înăl-

bitor. Dioxidul de clor este instabil ca gaz și se va descompune în clor (Cl_2), și oxigen (O_2), degajând căldură. Este solubil în apă și stabil în soluții apoase. Poate fi obținut prin amestecul a două componente separate: acid clorhidric (HCl) și clorură de sodiu (NaClO_2).

Dioxidul de clor este unul din cel mai selectiv oxidanți. Ozonul și clorul sunt mai reactivi decât dioxidul de clor și astfel vor fi consumați de către majoritatea substanțelor organice. Acest compus reacționează cu compușii de sulf reduși, aminele secundare și terțiare etc. Dioxidul de clor poate fi utilizat mai eficient ca ozonul sau clorul în cazurile de contaminare organică puternică în urma selectivității sale.

Formaldehida (HCHO) este un gaz care distruge toate microorganismele și sporii la temperaturi mai mari de 20°C . Totuși nu este activă împotriva prionilor. Se caracterizează prin reactivitate relativ joasă și necesită o umiditate de cca 70%. Este comercializată ca polimer solid – paraformaldehida sau ca formalina, soluție de gaz în apă de aproape 370 g/l (37%), conținând metanol (100 ml/l) ca stabilizator. Ambele forme sunt încălzite pentru a elibera gazul care este utilizat pentru decontaminarea și dezinfectia spațiilor închise, de exemplu CSB și încăperi. Formaldehida (5% formalină în apă) poate fi utilizată ca dezinfectant lichid.

Formaldehida este suspectată a fi carcinogen. Este un gaz iritant cu miros respingător, iar fumigațiile pot irita ochii și membranele mucoase, de aceea trebuie depozitată și utilizată sub nișă într-un spațiu bine ventilat.

Oxidul de etilenă – gaz, fiind aplicat în sisteme închise – sterilizatoare cu gaz în condiții controlate (de exemplu, umiditate) asigură sterilizarea materialelor, fig. 2.9. Datorită punctului său scăzut de fierbere de $10,4^\circ\text{C}$ la presiunea atmosferică, oxidul de etilenă se comportă ca gaz la temperatura camerei. Reacționează chimic cu aminoacizii, proteinele și ADN-ul pentru a preveni reproducerea microbiană. Procesul de sterilizare este realizat într-o cameră de gaz specializată. După sterilizare, produșii sunt transferați într-o celulă de aerisire, unde rămân până gazul se dispersează și produșii pot fi manipulați în siguranță. Oxidul de etilenă poate fi folosit cu o serie largă de materiale plastice (de exemplu, cești Petri, pipete, seringi, instrumente medicale etc.) și alte materiale fără a afecta integritatea lor.

Oxidul de etilenă este, de asemenea, un carcinogen uman și în timpul utilizării sale este necesară monitorizarea personalului.

Glutaraldehida similar formaldehidei este activă împotriva bacteriilor vegetative, sporilor, ciupercilor și virusurilor. Este noncorozivă și manifestă acțiune mai rapidă ca formaldehida. Totuși sunt necesare câteva ore pentru distrugerea sporilor bacterieni. Se



Fig. 2.12. Un sterilizator cu gaz pentru sterilizarea cu oxid de etilenă

comercializează sub formă de soluție cu o concentrație de cca 20 g/l (2%), iar unii produși pot necesita „activarea” (alcalinizare) înainte de utilizare prin adăugarea unui compus bicarbonat furnizat concomitent cu produsul. Soluția activată poate fi reutilizată timp de 1-4 săptămâni în funcție de compoziție și frecvența utilizării sale și este eliminată când devine tulbure. Glutaraldehida este toxică, iritantă pentru piele și membranele mucoase. Trebuie folosită sub nișă sau în spații bine ventilate. Regulamentele naționale de siguranță chimică trebuie să fie respectate.

Compușii fenolici – un grup larg de agenți utilizați printre primele substanțe germicide. Actualmente utilizarea lor este restricționată. Sunt activi împotriva bacteriilor vegetative, virusurilor lipidice, iar atunci când este stabilită corect formula de utilizare, manifestă activitate și împotriva micobacteriilor. Nu sunt activi împotriva sporilor. Mulți compuși fenolici sunt utilizați la decontaminarea suprafețelor, iar unii, de exemplu, triclosan și cloroxilenol, sunt dintre cei mai utilizați antiseptici.

Triclosanul este de obicei prezent în produsele de spălare a mâinilor. Este activ în mare parte împotriva bacteriilor vegetative și corespunde criteriilor de siguranță pentru piele și membranele mucoase. Totuși s-a demonstrat în studiile de laborator că bacteriile ce au devenit rezistente la concentrații mici de triclosan manifestă rezistență și la anumite tipuri de antibiotice. Semnificația acestui fapt rămâne a fi necunoscută.

Unii compuși fenolici pot fi inactivați în funcție de duritatea apei și trebuie să fie diluați cu apă distilată/ deionizată. Compușii fenolici nu sunt recomandați pentru sterilizarea suprafețelor de contact cu alimentele și în zonele cu copii mici. Pot fi absorbiți de către cauciuc și pătrund prin piele. Regulamentele naționale de siguranță chimică trebuie să fie respectate.

Compușii de amoniu cuaternari sunt folosiți sub formă de amestecuri și deseori în combinație cu alți germicizi, precum alcoolii. Manifestă activitate înaltă împotriva unor bacterii vegetative (bacteriile gram-pozitive) și a virusurilor lipidice. Sunt mai puțin activi împotriva bacteriilor gram-negative și nu sunt eficienți împotriva virusurilor nelipidice și a sporilor bacterieni. Activitatea germicidă a unor tipuri de compuși amoniacali cuaternari este redusă considerabil de către materia organică, duritatea apei, detergenții anionici și săpun. Bacteriile potențial periculoase pot crește în unele soluții de compuși amoniacali cuaternari. Când sunt amestecați cu fenoli devin dezinfectante foarte eficiente. De asemenea, efectul este atins preponderent în soluții alcaline decât în soluții acide. Prezintă toxicitate minimă și pot fi utilizați la decontaminarea echipamentului alimentar. Diluția pentru utilizare nu este iritantă pentru piele dar expunerea prelungită trebuie să fie evitată. Din cauza capacității scăzute de degradare biologică, acești compuși pot să se acumuleze în mediu.

Etanolul (C_2H_5OH) și **alcoolul izopropilic** ($(CH_3)_2CHOH$) au proprietăți dezinfectante similare. Sunt activi împotriva bacteriilor vegetative, fungilor și virusurilor lipidice, dar nu și împotriva sporilor. Acțiunea lor asupra virusurilor non-lipidici este variabilă. Pentru o eficiență mai mare, trebuie folosiți în concentrații de aproximativ 70% (v/v) în apă, concentrațiile mai mari/ mici pot să nu fie atât de germicide. Un avantaj major al soluțiilor apoase de alcoolii îl constituie faptul că ele nu lasă urme reziduale pe obiectele prelucrate. În amestec cu alți agenți este mai eficient: de exemplu, alcool 70% (v/v) cu 100 g/l formaldehidă; alcool ce conține 2 g/l clor; 60% etanol cu 0,01N HCl (pH 4). O soluție apoasă 70% (v/v) etanol poate fi folosită pentru dezinfectarea mâinilor, suprafețelor de lucru în laborator, CSB și instrumentelor chirurgicale mici. Deoarece etanolul usucă pielea, este adesea amestecat cu emolienți.

Alcoolii sunt volatili și inflamabili și nu trebuie să fie folosiți în apropierea flăcărilor deschise. Soluțiile de lucru trebuie să fie depozitate în recipiente adecvate pentru a evita evaporarea lor. Alcoolii pot întări cauciucul și dizolva anumite tipuri de clei. Sticlele cu soluțiile de alcool trebuie să fie etichetate clar pentru a evita autoclavarea.

Iodul și compușii iodați manifestă efect dezinfectant ca cel al clorului. Însă deoarece iodul lasă pete pe țesături și suprafețe, este nepotrivit pentru utilizarea în calitate de dezinfectant. Pe de altă parte, tincturile de iod sunt buni antiseptici în special în situații chirurgicale. Iodul nu trebuie să fie folosit pe obiectele din aluminiu sau cupru. Sunt relativ netoxici pentru oameni. Alte caracteristici ale compușilor iodați sunt:

- acțiune biocidă rapidă;
- eficient împotriva organismelor gram-pozitive, gram-negative și bacililor;
- este mai eficient în soluții acide;
- se evaporă la temperatura de 49°C - 52°C; nu trebuie folosit în apă fierbinte;
- eficiența este redusă de către materia organică (dar nu atât de mult ca în cazul hipocloriților);
- stabil la depozitare dacă este păstrat la rece și este bine acoperit;
- compușii iodați pot fi inactivați rapid, iar petele pot fi înlăturate cu soluții de tiosulfat de sodiu.

Peroxidul de hidrogen și acizii peroxidici sunt oxidanți puternici și pot fi germicizi potențiali cu spectru larg. Peroxidul de hidrogen este comercializat sub formă de soluție apoasă de 3% sau de 30% care urmează a fi diluată de 5-10 ori cu apă autoclavată. Peroxidul de hidrogen poate fi folosit la decontaminarea suprafețelor de lucru, CSB, iar soluțiile mai concentrate – pentru dezinfectarea dispozitivelor medicale/ dentare sensibile la căldură. Peroxidul de hidrogen și peracizii pot fi corozivi pentru metale precum aluminiu, cupru, zinc și poate, de asemenea, decolora țesăturile, părul, pielea și membranele mucoase. Trebuie să fie depozitați departe de căldură și protejați de lumină.

Oricând este posibil, mănuși potrivite trebuie să fie purtate la manipularea materialelor periculoase. Totuși acestea nu înlocuiesc necesitatea spălării regulate și adecvate a mâinilor de către personalul laboratorului. În majoritatea situațiilor, spălarea minuțioasă a mâinilor cu săpun obișnuit și apă este suficientă pentru a le decontamina, dar utilizarea săpunurilor germicide este recomandată în situațiile de risc înalt. Robinetele care pot fi operate utilizând piciorul sau cotul mâinii sunt recomandate.

Decontaminarea spațiului laboratorului, mobilierului și echipamentului necesită o combinație de dezinfectante lichide și gazoase. Suprafețele pot fi decontaminate cu o soluție de hipoclorit de sodiu (NaOCl) conținând 1 g/l clor pentru igiena generală a mediului. Soluțiile mai concentrate (5 g/l) sunt recomandate în situațiile cu risc înalt. Pentru decontaminarea suprafețelor de lucru soluțiile ce conțin 3% peroxid de hidrogen (H₂O₂) pot substitui soluțiile de înălbitor. Încăperile și echipamentele pot fi decontaminate prin fumigație cu gaz de formaldehidă generat prin încălzirea paraformaldehydei sau fierberea formalinei. Acest proces este periculos și necesită personal instruit. Pentru etanșare, ferestrele, ușile etc. trebuie sigilate cu bandă adezivă sau cu ceva similar înainte de generarea gazului. Fumigația se efectuează la o temperatură a mediului de cel puțin 21°C și o umiditate relativă de 70%. După fumigație, spațiul trebuie bine ventilat înainte ca accesul personalului să fie admis. Bicarbonatul de amoniu (gazos) poate fi folosit pentru a neutraliza formaldehida. Fumigația spațiilor mici cu abur de peroxid de hidrogen este de asemenea eficientă, însă necesită echipament specializat pentru generarea de abur.

Proceduri de curățare a pardoselilor care să minimizeze generarea de aerosoli trebuie să fie folosite. Ștergerea umedă sau aspirarea umedă este recomandată. În cazurile în care

procedurile umede nu sunt practice, se recomandă aspirarea uscată cu aparat prevăzut cu un filtru HEPA.

Decontaminarea cabinetelor de siguranță biologică clasa I și II necesită echipament care să genereze și să neutralizeze gazul de formaldehidă. Alternativ, cantitatea adecvată de paraformaldehidă (concentrația finală de paraformaldehidă 0,8% în aer) trebuie să fie încălzită la un dispozitiv electric. Concomitent se încălzește cu 10% mai mult bicarbonat de amoniu decât paraformaldehidă. Dispozitivele de încălzire trebuie să fie astfel conectate ca să permită operarea controlată a acestora în afara cabinetului. Dacă umiditatea relativă este sub 70%, un recipient deschis cu apă fierbinte ar trebui, de asemenea, să fie plasat în interiorul CSB care se închide etanș. CSB nu se utilizează cel puțin 6 ore după ce a fost supus decontaminării. Suprafețele cabinetului trebuie să fie șterse pentru a înlătura reziduurile, înainte de utilizare.

Metode de sterilizare

Căldura este cel mai general dintre agenții fizici utilizați pentru decontaminarea patogenilor. Căldura „uscată”, noncorozivă este utilizată pentru procesarea multor obiecte de laborator care pot suporta temperaturi de 160 °C sau mai mult, timp de 2-4 ore.

Pentru sterilizare trebuie luat în considerație timpul de aplicare și temperatura care să asigure distrugerea tuturor microorganismelor. Endosporii bacteriilor sunt considerați a fi cei mai termorezistenți dintre toate celulele, distrugerea lor garantează un nivel înalt de sterilitate.

Razele gama și X sunt două tipuri principale de radiație ionizantă folosite în activități de sterilizare, în special a instrumentelor medicale. Razele γ sunt similare după modul de acțiune cu microundele și razele X – ionizează și rup legăturile chimice din compuși.

Radiația ultravioletă (UV) este o utilizată pentru inactivarea virusurilor, micoplasmelor, bacteriilor și fungilor. Lumina UV la lungimile de undă germicide (două maxime, 185 nm și 265 nm) cauzează dimerizarea moleculelor de timină din ADN, astfel inhibând replicarea lui (chiar dacă organismul nu poate fi distrus, el nu se va reproduce). Posibilitățile de sterilizare a luminii UV sunt limitate din cauza penetrării reduse pe anumite suprafețe și de aceea lămpile UV ar trebui să fie folosite doar ca supliment la alte tehnici de sterilizare.

Arderea sau incinerarea reprezintă, de asemenea, o formă de căldură uscată, fiind utilizată pentru ace, obiecte de sticlă etc. care nu sunt distruse în procesul de incinerare.

Fierberea nu înseamnă în mod necesar uciderea tuturor microorganismelor și/sau patogenilor, dar poate fi folosită ca prelucrare minimă pentru dezinfecție atunci când alte metode ca: dezinfecție chimică sau autoclavare nu este aplicabilă sau disponibilă. Fierberea la 100°C timp de 30 minute distruge totul cu excepția unor endospori care necesită o fierbere foarte îndelungată (>6 ore). Obiectele sterilizate trebuie să fie manipulate și depozitate astfel încât ele să rămână necontaminate până la utilizare.



Fig. 2.13. Dispozitiv de sterilizare cu radiație ultravioletă

Autoclavarea (vapori de aburi saturați sub presiune) este cel mai eficient mijloc de sterilizare. Toate autoclavele operează în baza unui raport durată de timp - temperatură. Aceste două variabile sunt extrem de importante. Temperatura standard utilizată în mod obișnuit este 121°C timp de 15 minute. Temperaturile înalte asigură o distrugere mai rapidă, iar perioade de timp mai îndelungate sunt necesare pentru volume mari de lichid și materiale. Autoclavarea este ideală pentru sterilizarea deșeurilor periculoase, vestimentației chirurgicale și de laborator, obiectelor de sticlă, mediilor microbiologice, lichidelor etc. Totuși anumite obiecte, precum cele de plastic și anumite instrumente medicale, de exemplu, endoscoape de fibră optică, nu suportă autoclavarea și sunt sterilizate cu substanțe chimice.

În funcție de materiale sunt recomandate următoarele programe:

- vestimentație: 121°C pentru minim 30 minute;
- deșeuri: 121°C pentru cel puțin 45 minute per sac. Mărimea autoclavei și a sacilor determină timpul de sterilizare. Sacii mari într-o autoclavă mică pot necesita 90 de minute sau mai mult;
- vase de sticlă: 121°C pentru minim 25 de minute;
- lichide: 121°C pentru 15 minute.

Pentru a obține o balanță perfectă între temperatura de sterilizare și presiunea aburului saturat, aerul trebuie evacuat din camera autoclavei. În funcție de model, aerul este evacuat prin:

- schimbarea gravității determinată de acumularea aburului saturat;
- aerul este eliminat cu o pompă vacuum și apoi camera umplută cu abur până se ajunge la o temperatură optimă.

Autoclavele prevacuum permit înlăturarea aerului din cameră înainte ca aburii să fie admiși. Aerul de exhaustare este evacuat printr-o valvă dotată cu un filtru HEPA. La sfârșitul ciclului, aburii sunt automat evacuați. Aceste autoclave pot opera la 134 °C și ciclul de sterilizare poate fi redus la 3 minute. Ele sunt ideale pentru încărcăturile poroase, dar nu pot fi utilizate la procesarea lichidelor din cauza vacuumului.

Încărcarea autoclavelor se efectuează astfel ca să permită penetrarea aburului și înlăturarea aerului. Pungile ar trebui să permită aburului să ajungă la conținutul lor.

Indicatori. Indicatorii-bandă indică dacă autoclava a atins temperatura de operare pentru decontaminare. Majoritatea indicatorilor chimici își schimbă culoarea după ce sunt expuși la 121°C, dar nu indică durata timpului la 121°C. Indicatorii biologici – fășii sau suspensii de spori de *Geobacillus stearothermophilus* și anumiți indicatori chimici pot indica dacă autoclava a atins temperatura adecvată un timp suficient de îndelungat pentru a distruge microorganismele. Se folosește bandă de autoclavare pe toate pungile cu deșeuri periculoase pentru a indica dacă mediile sau echipamentul au fost autoclavate. O dată pe lună, trebuie utilizat un indicator biologic.

Măsuri de precauție privind utilizarea autoclavelor în scopul minimizării riscurilor posibile în timpul funcționării:

- responsabilitatea pentru operarea și supravegherea de rutină trebuie să revină persoanelor instruite în acest domeniu;

– întreținerea adecvată a echipamentului, în special inspectarea camerei, a etanșării ușilor de către personal calificat. Controlul componentelor autoclavei în mod regulat. Toate autoclavele trebuie să fie certificate pentru eficiența de operare prin utilizarea periodică a controalelor cu indicatori biologici, iar înregistrările să fie păstrate timp de trei ani;

– aburii trebuie să fie saturați și fără chimicale (de exemplu, inhibitori ai coroziunii) care ar putea contamina obiectele ce sunt sterilizate;

– toate materialele ce urmează a fi autoclavate trebuie să se afle în containere care permit înlăturarea promptă a aerului și buna penetrare a căldurii;

– pentru autoclavele fără un dispozitiv de siguranță privind închiderea automată a ușii când camera este în curs de presurizare, valva de aburi principală ar trebui să fie închisă și temperatura lăsată să scadă mai jos de 80°C. Arsurile provocate de aburi și vasele de sticlă sparte pot fi prevenite prin asigurarea că presiunea în camera autoclavei este nulă înainte de a deschide ușa la sfârșitul unui ciclu. Ușa autoclavei se deschide pentru a lăsa aburii reziduali să iasă treptat;

– operatorii trebuie să poarte mănuși rezistente la căldură și măști de protecție când deschid autoclava, chiar dacă temperatura a scăzut sub 80°C, fig. 2.14;

– măsuri de precauție speciale trebuie să fie luate pentru a preveni îndepărtarea accidentală a materialului dintr-o autoclavă înainte ca acesta să fi fost sterilizat sau deschiderea simultană a ambelor uși la o autoclavă cu ușă dublă;

– filtrul de drenaj (în cazul în care este disponibil) trebuie curățat zilnic;

– vasele de sticlă fără borosilicat sunt amplasate pe o tavă cu apă pentru a preveni șocul termic.

– în autoclavă, pungile de plastic sunt plasate în interiorul unui container secundar de plastic sau oțel inoxidabil în cazul în care este riscul ca lichidele să curgă. Asigurați-vă că pungile de plastic sunt autoclavabile, pentru a evita curățarea plasticului topit;

– niciodată nu puneți containerele sigilate într-o autoclavă. Ele pot exploda;

– materialele periculoase nu ar trebui să fie plasate în autoclave peste noapte în anticiparea autoclavării în ziua următoare;

– hipocloriții sau alți compuși oxidanți nu trebuie să fie autoclavați cu materiale organice precum hârtia, stofa sau uleiul:

OXIDIANT + MATERIAL ORGANIC + CĂLDURĂ = POSIBIL EXPLOZIE

– toate încăperile laboratorului ce conțin materiale periculoase trebuie să izoleze două spații sau containere etichetate astfel :

PERICULOS PENTRU A FI AUTOCLAVAT!



Fig. 2.14. Măsuri de precauție privind utilizarea prin autoclavare

sau

NEINFECȚIOS PENTRU A FI CURĂȚATI

! Niciodată nu puneți solvenți, chimicale volatile sau corosive: fenoli, cloroform, înălbitor, formalină, țesuturile fixate etc., sau materiale radioactive într-o autoclavă. Se recomandă de afișat pe ușa autoclavei semnul de avertizare prezentat mai jos:

**Autoclava a terminat lucrul?
Temperatura este sub 100°C?
Presiunea este 0?**



Filtrarea implică îndepărtarea fizică a tuturor celulelor dintr-un lichid sau gaz. Acest procedeu este deosebit de important pentru sterilizarea soluțiilor care sunt denaturate la acțiunea temperaturilor înalte (de exemplu, antibiotice, medicamente injectabile, aminoacizi, vitamine etc.). Soluțiile sunt trecute printr-un filtru cu un diametru al porilor de 0,22 micrometri suficient pentru a îndepărta cele mai mici celule bacteriene cunoscute, fig. 2.15.



Fig. 2.15. *Filtre utilizate în filtrarea lichidelor*

Incinerarea. Incinerarea este utilă pentru distrugerea cadavrelor de animale precum și a deșeurilor anatomice și altor deșeuri de laborator, cu sau fără decontaminare anterioară. Incinerarea materialelor infecțioase reprezintă o alternativă pentru autoclavare doar dacă incineratorul este sub controlul laboratorului. Incinerarea adecvată necesită un mijloc eficient de control al temperaturii și o cameră secundară de ardere. Multe incineratoare, în special cele cu o singură cameră de combustie, sunt nesatisfăcătoare pentru distrugerea materialelor infecțioase, cadavrelor de animale și maselor plastice. Astfel de materiale nu pot fi complet distruse, iar efluentul de la coș poate polua atmosfera cu microorganisme, substanțe toxice și fum. Totuși există multe configurații satisfăcătoare pentru camerele de combustie. În mod ideal, temperatura în camera primară ar trebui să fie de cel puțin 800°C și în camera secundară de cel puțin 1000°C. Materialele pentru incinerare, chiar dacă au fost preliminar decontaminate, trebuie să fie transportate spre incinerator în pungi, preferabil din plastic. Supraveghetorii incineratorului trebuie să fie instruiți adecvat privind încărcarea și controlul temperaturii.

Transportul și eliminarea deșeurilor de laborator periculoase se supun diverselor regulamente naționale și internaționale (vezi cap. 5).

Capitolul 3.

PRECAUȚII PRIVIND CULTIVAREA PLANTELOR MODIFICATE GENETIC ÎN CONDIȚII DE SERĂ

3.1. Niveluri de biosiguranță pentru plante modificate genetic

Utilizarea tehnicilor de inginerie genetică în obținerea PMG-urilor devine din ce în ce mai mult o practică obișnuită în realizarea cercetărilor aplicative și fundamentale în agricultură. Însă, spre deosebire de obiectul de studiu convențional, materialul modificat genetic este supus unor reglementări naționale și internaționale începând cu crearea lui în laborator, testarea în sere și în câmp până la autorizarea acestuia în scopuri multiple de utilizare. Una din etapele intermediare ale acestui șir de evenimente o reprezintă testarea PMG-urilor după markeri genetici și fenotipici în condiții de securitate care poate fi asigurată în spații izolate cu posibilități de control și monitorizare cum sunt laboratoarele, serele, camerele de creștere etc.

Măsurile de izolare și protecție privind serele și camerele de creștere sunt în funcție directă de nivelul de biosiguranță care la rândul său este determinat de nivelul de risc al plantei transgenice și a organismelor asociate acestora. Este de datoria responsabilului pe probleme de biosecuritate și a investigatorului principal de a determina nivelul de biosiguranță adecvat plantelor studiate în baza mai multor criterii privind elementele constructului genetic (vezi § 2.2.), metodele de transformare genetică și caracteristici morfofiziologice și de cultivare ale plantei mature (vezi cap. 4), printre care:

- sursa ADN-ului alogen;
- natura produsului de expresie (este o toxină pentru vertebrate/ nevertebrate sau un potențial/ cunoscut alergen etc.).
- organismul receptor (modul și facilitatea răspândirii; invazivitate; potențialul hazard asupra ecosistemelor naturale sau controlate etc.).
- procedurile experimentale (transferul în/din seră și precauțiile necesare) etc.

¹ NIH Guidelines for Research Involving Recombinant DNA Molecules MSU/1998.

Pentru activitățile experimentale cu plante se recomandă ca în stabilirea condițiilor de izolare fizică să se ia în considerare planta împreună cu microorganismele asociate acesteia sau cu animale mici. **Microorganisme asociate plantelor** includ fitopatogenii care cauzează boli precum virusuri, bacterii, fungi, protozoare și microorganisme simbiotice, de exemplu, unele specii de *Rhizobium*. **Animale mici** asociate plantelor includ artropode care pot fi paraziți ai plantelor; polinizatori, agenți transmisibili de diferite boli la plante, precum și nematode.

Principiile de izolare au la bază recunoașterea faptului că organismele studiate nu reprezintă un hazard potențial pentru sănătatea oamenilor sau animalelor superioare (cu excepția celor create cu acest scop) și că condițiile de izolare reduc posibilitatea de apariție a efectelor negative neanticipate asupra ecosistemelor din exteriorul spațiilor experimentale, de exemplu, o diseminare/ răspândire accidentală a agenților biologici din seră în plantațiile de culturi agricole locale.

Sunt stabilite patru niveluri de biosiguranță (NB) pentru plante (P): NB1-P, NB2-P, NB3-P, NB4-P pentru diferențierea nivelurilor de siguranță a plantelor în absența/ prezența altor organisme experimentale care conțin ADN recombinat. Exigența privind securitatea cercetărilor crește odată cu riscul potențial pentru mediu și poate fi atinsă prin izolarea fizică în conjuncție cu cea biologică atunci când este posibil. Experimentele care nu reprezintă un risc cert pentru sănătate sau mediu nu necesită aprobarea Comitetului de biosecuritate local. Astfel de cercetări sunt cele care implică molecule sintetice de ADN fără omologie cu secvențele genomice ale altor organisme sau experimentele în care secvențele nucleotidice sunt izolate (din cloroplaste, mitocondrii sau plasmide), modificate și reintroduse tot în aceeași specie fără inserția altor elemente genetice (promotori, enhanseri etc.).

NB1-P este acordat pentru experiențele cu PMG-uri la care nu există informații care ar dovedi că organismul modificat poate supraviețui și se răspândește în mediu sau existența vreunui risc în cazul eliberării neintenționate din spațiile izolate. Un exemplu de acest fel reprezintă investigațiile pe cartofi MG cu gene care conferă rezistență la insecte izolate de la varietăți endogene de cartofi. De asemenea, NB1-P se aplică MMG-urilor care nu se răspândesc rapid și pentru care nu se cunoaște că ar avea un efect negativ asupra ecosistemelor naturale/ controlate precum *Rhizobium* și *Agrobacterium*.

NB2-P este atribuit cercetărilor cu plante transgenice și organisme asociate, care, dacă sunt eliberate în afara serei, sunt viabile în mediul înconjurător, însă impactul ar fi neglijabil. Astfel de PMG-uri sunt cele care manifestă trăsături noi de persistență sau care se pot încrucișa cu buruieni sau specii înrudite ce cresc în vecinătate. De exemplu, pentru regiunile de nord ale Americii testele în seră a florii-soarelui transgenice care conține gene de la grâu ce conferă rezistență la ciuperca *Sclerotinia* ar fi asociate cu NB2-P, deoarece floarea-soarelui se poate încrucișa cu speciile sălbatice înrudite, sau poate deveni o componentă din vegetația spontană. Acest nivel de izolare este recomandat și experimentelor de transgeneză care utilizează întregul genom al unui agent infecțios indigen sau patogen, sau celor care utilizează insecte/ animale transgenice mici asociate cu plantele atâta timp cât acestea nu prezintă pericol pentru ecosistemele naturale și cele dirijate.

NB3-P presupune spații izolate prevăzute pentru a preveni eliberarea accidentală a plantelor transgenice, patogenilor sau altor organisme care au un potențial recunoscut de impact negativ semnificativ asupra mediului. Acest nivel se aplică cercetării plantelor con-

venționale asociate agenților infecțioși sau dăunătorilor insectelor și animalelor mici, capabili să provoace daune serioase mediului. În aceste cazuri, patogenii trebuie să fie izolați, planta ca atare nu prezintă nici un pericol. Este, de asemenea, recomandat pentru plantele transgenice ce conțin gene izolate de la un agent infecțios, sau care codifică toxine pentru vertebrate. Alte exemple de cercetări care necesită încăperi cu NB3-P sunt:

- testarea varietăților de citrice proiectate pentru a fi rezistente la infecția bacteriană asiatică provocată de *Xanthomonas campestris pv.* prin infectarea lor cu agentul patogen care, dacă este eliberat în statul Florida, ar devasta culturile de citrice;
- testarea rezistenței la fungi a plantelor transgenice de arahide prin inocularea cu *Aspergillus flavus*, producător de o potențială micotoxină pentru vertebrate.

NB4-P este recomandat pentru experiențele asupra unor agenți infecțioși – potențiali patogeni ai principalelor culturi, care se răspândesc ușor, și a altor virusuri în prezența vectorilor lor (artropodele). Astfel de experiențe includ diferite testări ale eficienței rezistenței față de un anumit patogen pentru care în regiunea dată există virusul sau vectorii care participă la transmiterea acestuia.

3.2. Elemente de izolare și alte măsuri de protecție pentru sere și camere de creștere

Izolarea este asigurată prin combinarea practicilor de management, bariere fizice și metode biologice care au drept scop prevenirea transmiterii sau supraviețuirea OMG-urilor în afara spațiului monitorizat. Cerințele izolării devin mult mai stringente dacă în experiment sunt incluse organisme asociate plantelor. Cercetările ce implică plante transgenice la nivelurile de izolare NB1-P și NB2-P necesită mai mult decât resurse de bază, echipament și protocoale comune pentru majoritatea serelor² de cercetare. Cele care ar asigura niveluri înalte de izolare NB3-P și NB4-P sunt costisitoare atât pentru construcția lor, cât și în administrare, ceea ce reprezintă un deziderat greu de atins pentru multe instituții. Alte mijloace care ar asigura un nivel înalt de izolare sunt camerele de creștere care în funcție de scopul cercetării și obiectul de studiu pot constitui o alternativă adecvată cu resurse financiare mai mici. Pentru obținerea și pregătirea materialului vegetal pentru cercetări în seră sau testări în câmp sunt necesare toate elementele de bază ale unui laborator destinat pentru astfel de cercetări: CSB, incubatoare, autoclave, camere de cultivare *in vitro*, diferite instalații de creștere a plantelor etc.

Practici standarde și alte măsuri de protecție pentru sere și camere de creștere sunt stipulate în actele legislative naționale și internaționale privind biosecuritatea cu mici variații în funcție de regiune. De asemenea, multe din cerințele prevăzute pentru laboratoarele cu diferite nivele de biosiguranță sunt impuse și pentru aceste structuri izolate. Procedurile de bază pentru fiecare nivel sunt rezumate în plan comparativ în tab. 3.1.

² „Seră“ și „cameră de creștere“ se referă la structuri cu pereți, acoperiș și pardoseli, localizate pe o suprafață plană/ nivelată pentru a preveni infiltrarea scurgerilor din apele de suprafață, care sunt destinate și utilizate pentru creșterea plantelor într-un mediu controlat și protejat.

Tabelul 3.1. Compararea practicilor standard pentru activitatea în seră

NB1-P	NB2-P
Acces limitat.	Acces monitorizat, sunt admise doar persoanele implicate în experimente. Personalul trebuie să cunoască și să respecte codul de practici și securitate la locul de muncă.
Respectarea măsurilor de precauție adecvate pentru organismele cercetate.	Înregistrarea și raportarea situațiilor accidentare și elaborarea unor scheme și măsuri de acțiune în situații de urgență.
Înregistrarea experiențelor.	Înregistrarea experiențelor și a transferurilor din/în seră a materialelor în condiții de izolare adecvate.
Inactivarea organismelor la sfârșitul experimentului.	Inactivarea organismelor la sfârșitul experimentului, decontaminarea periodică a nisipului. Program de control al paraziților. Izolarea adecvată și măsuri de precauție privind organismelor mobile. Afișarea semnelor de avertizare privind biohazardul.

NB3-P	NB4-P
Acces autorizat.	Acces interzis; uși cu închidere automată securizate; înregistrarea intrărilor/ ieșirilor; cameră de schimb al hainelor/ duș, anticameră filtru la intrare/ ieșire. Informarea personalului despre biohazardul posibil și precauțiile necesare. Respectarea tuturor normelor de securitate stabilite în manualul instituției.
Înregistrarea experiențelor și a transferurilor din/în seră a materialelor în condiții de izolare adecvate, proceduri de decontaminare externă.	Izolarea materialelor în containere primare și secundare; recepția instrumentelor/ materialelor prin camere speciale; autoclavarea preliminară a deșeurilor din seră care urmează a fi distruse. Decontaminarea chimică sau fizică a lichidelor contaminate înainte de evacuare în sistemul de canalizare. Tratarea apelor reziduale. Măsuri pentru controlul speciilor nedorite, cum ar fi insecte, rozătoare, artropode. Izolarea adecvată și măsuri de precauție pentru evadarea organismelor modificate genetic. Proceduri microbiologice standarde de minimalizare a aerosolilor și pentru decontaminarea echipamentelor.
EPP și spălarea mâinilor înainte de a părăsi încăperea.	Schimbarea completă a vestimentației cu îmbrăcămintea de protecție de laborator care sunt autoclavate înainte de a fi spălate. Raportarea și înregistrarea accidentelor.

IZOLAREA FIZICĂ este realizată prin proiectarea încăperii și echipament. Selectarea tipului de sticlă, sigilare, ecranizare, sistemului de ventilație și alte caracteristici tehnice determină nivelul la care sera ca structură fizică poate asigura izolarea plantelor transgenice și a organismelor asociate față de mediul înconjurător. Eficiența barierelor primare și secundare

de izolare este importantă și pentru menținerea dăunătorilor externi în afara serei.

Sera nu întotdeauna poate fi un mediu benefic pentru oameni și echipament din cauza umidității și temperaturii înalte, luminii, prezenței substanțelor chimice și solului. O seră pentru plante non-transgenice poate fi modificată și reconstituită cu facilitățile necesare pentru izolarea materialelor transgenice, însă desfășurarea procesului ca atare și măsurile de securitate trebuie să fie bine analizate pentru a determina dacă amplasarea construcției corespunde cerințelor, fig. 3.1. Configurația spațială trebuie optimizată pentru asigurarea diferitor niveluri de izolare, condițiilor de creștere, controlului accesului și deplasării libere.



Fig.3.1. Configurația spațială a unei sere standard

În cazul în care sera reprezintă un spațiu suficient de mare unde se desfășoară experimente cu NB1-P și NB2-P, toate practicile și măsurile de precauții trebuie să se conformeze standardului pentru NB2-P. De aceea este esențial un aranjament compartimentat al unor spații izolate mai mici în interiorul serei pentru a asigura o varietate de niveluri de izolare, precum și a condițiilor de creștere. În numeroase sere standarde, spațiul intern este divizat în camere relativ mari cu un coridor central comun între ele. Această aranjare impune personalul să treacă prin fiecare cameră pentru a ajunge la cea solicitată, făcând foarte dificilă, dacă nu chiar imposibilă restricția accesului într-o anumită cameră. Modificările majore ale amplasării pot implica transformări structurale ulterioare, cum ar fi adăugarea pereților despărțitori sau/și coridoarelor în interiorul serei nedivizate. Aceste modificări pot la rândul lor să necesite restructurarea schemelor de control ale condițiilor de mediu, utilajului, ventilatoarelor precum și a componentelor structurale primare.

Carcasele din aluminiu sau oțel galvanizat sunt recomandate în defavoarea celor din lemn sau țevi de metal prezente încă la multe construcții vechi, fig. 3.2. O ramă bine consolidată poate asigura o structură calitativă, cu un termen mare de întreținere. Reușita obținerii nivelurilor de izolare dorite depinde de selectarea corectă a combinațiilor de materialele de construcție după caracteristicile lor tehnice.

Plăcile de sticlă ori din alt material transparent (similar sticlei) prevăzute pentru a închide ramele de la ferestre pot asigura o barieră de izolare adecvată dacă sunt instalate și întreținute corespunzător. Sticla standard asigură cea mai mare cantitate de lumină naturală, ceea ce satisface cerințele pentru NB1-P și NB2-P. De asemenea, în funcție de codurile de construcție se vor utiliza și alte tipuri de sticlă ca cea laminată și călită la temperaturi ridicate. Sticla călită standard este mai casantă, poate fi spartă spontan, și astfel se întrerupe izolarea. Plăcile de sticlă poate fi de lungimi variate, care se întind de la streășină până la creasta acoperișului, deși dimensiunea în lungime de peste 2,5 m este considerată nepractică.

Foile de policarbonat sau acrilice sunt, de asemenea, utilizate pentru sere. Policarbonatul este mai rezistent la foc comparativ cu materialul acrilic, însă acesta din urmă are o durată de utilizare mai mare și permite o mai bună transmitere a luminii. Nu sunt recomandate pentru serele cu un nivel înalt de izolare peliculele din poliester, polietilenă, polivinil de clor etc. care se întâlnesc deseori la cele stan-



Fig.3.2. Un model de carcasă de aluminiu în construcție

darde, deoarece au un termen de întrebuințare scurt (cca patru ani), devin fărâncioase în timp și pot fi penetrate ușor, accidental sau intenționat.

Standardele pentru NB3-P și NB4-P necesită ca ferestrele să fie închise, sigilate și rezistente la spargere. Această cerință poate fi satisfăcută prin utilizarea geamurilor de sticlă duble sau panourilor din plastic sigilate, care impune renovări structurale pentru a suporta greutatea adițională.

Ușile de la intrările din exterior și coridor pot fi fixate în balamale prevăzute cu lacăte standard. Ușile glisante sunt acceptabile în cazul NB1-P și NB2-P, dar nu se închid etanș pentru o izolare de nivel mai înalt. Ambele tipuri de uși pot fi dotate cu lacăte automate pentru limitarea accesului. Din motive de securitate, distribuirea cheilor de la seră trebuie monitorizată. Se recomandă schimbarea multiplă și într-un număr limitat de copii a cheilor de la spațiile serei destinate cercetărilor transgenice pentru a se asigura că accesul este permis numai personalului autorizat. În cazul sistemelor electronice sunt înregistrate toate intrările și ieșirile. Cardurile-chei sunt programate să permită accesul în zonele selectate cu un singur exemplar. Utilizând acest sistem, sunt eliberate mai puține chei, pierderea cheilor este minimizată și codurile pot fi modificate repede și ușor. Un sistem de intrare cu uși duble, cu un antreu întunecos, asigură o izolare efectivă contra insectelor. Antreul poate fi dotat cu lumină UV și ventilatoare pentru direcționarea fluxului de aer spre interior și odată cu el insectele care pot evada din seră.

Ușile trebuie să fie bine fixate, iar pragul să fie acoperit cu neopren, cauciuc sau o perie scurtă de plastic atașată la un suport de aluminiu. Astfel de „covașe” nu pot împiedica insectele mici să intre sau să părăsească spațiul, dar pot exclude ușor rozătoarele, păsările și insectele zburătoare mai mari.

Ecranele și plasele de protecție sunt necesare pentru a evita pătrunderea dăunătorilor și a insectelor polenizatoare din exterior sau în interiorul serei cu NB1-P și NB2-P. Eficiența elementelor de izolare este determinată de câțiva factori: tipul materialului, densitatea plaselor, forma și dimensiunea găurilor la plase, presiunea aerului de ambele părți ale ecranului de protecție etc. În funcție de speciile de insecte care trebuie izolate, densitatea plaselor poate varia, de exemplu, în cazul musculiței albe dimensiunea satisfăcătoare a orificiilor trebuie să fie de 0,045 cm, iar în cazul afidiilor pepenului galben este necesară plasa cu dimensiunea orificiilor de 0,033 cm. Rețelele relativ rigide din oțel inoxidabil au o serie de priorități față de o rețea fină cu orificii de dimensiune similară, în special ceea ce ține de curățire și decontaminare.

Ecranele trebuie să fie instalate cu grijă pe instalațiile de aspirare ale sistemului de ventilație, ținând cont de dimensiune pentru a nu afecta curentul de aer, eficiența răcirii, reținerea CO₂, gradul de umiditate etc. O soluție la problemele ce țin de circulația curenților de aer este construirea unei „boxe-ecran” adiacent la instalația de răcire spre

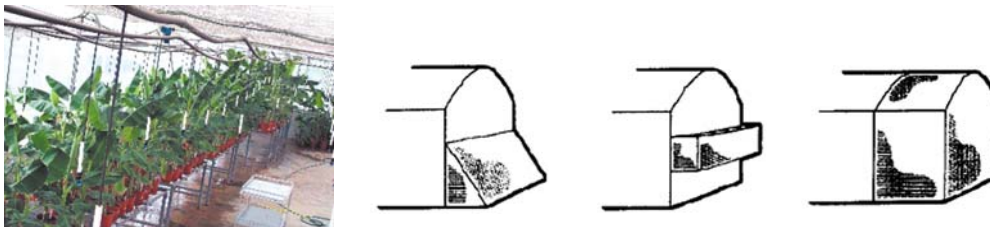


Fig. 3.3. Posibilități de instalare a ecranelor de protecție față de insecte

exteriorul serei pentru a asigura o suprafață suficientă pentru fluxul de aer prin instalația de răcire, fig. 3.3.

Izolarea polenului, sporilor, insectelor purtate de aer este o adevărată provocare și poate fi asigurată prin crearea presiunii negative în interiorul încăperii. În anumite cazuri se poate de asigurat presiunea negativă doar în izolatoare de dimensiuni mici echipate cu un sistem de ventilare și filtrare a aerului admis și de evacuare, fig. 3.4. a. Alt tip de izolatoare pentru insecte poate fi confecționat din plasă de o densitate mare îmbrăcată pe o carcasă de metal sau plastic, fig. 3.4. b. Astfel de izolatoare, corect utilizate, pot mări nivelul de izolare a unui experiment particular, cu respectarea tuturor caracteristicilor fizice prevăzute pentru ecranele și plasele de protecție ale serei. Deși sunt disponibile modele comerciale, cercetătorii pot meșteri singuri izolatoare din metal, lemn, sticlă sau plasă.

Sistemele de ventilație și răcire localizate pe creasta acoperișului și/sau perete sunt caracteristici generale pentru majoritatea serelor. Ventilarea pasivă determinată de vânt poate fi optimizată prin adăugarea unui sistem de exhaustare. Sistemele de răcire a vaporilor trebuie utilizate în conjunctură cu un bun control al sistemului de ventilație, pentru a asigura măsurarea exactă a umidității relative. Alte elemente ale ventilării sunt obloanele monitorizate care trebuie să se închidă și deschidă odată cu pornirea și oprirea ventilatorului și să fie dotate cu bariere flexibile pentru a preveni pătrunderea în seră a rozătoarelor sau a altor paraziți mari. Ventilatoarele cu recirculare a aerului sunt utilizate pentru a contribui la controlul temperaturii. Aceste caracteristici pot corespunde doar pentru NB1-P. Pentru nivelurile înalte de izolare utilizarea sistemelor de ventilație dotate cu filtre HEPA a aerului exhaustat, a răcirii mecanice etc. reprezintă cerințele de bază.

Instalațiile tipice în sere care includ încălzirea apei, producerea de vapori, electrice, de lumină infraroșie, solară etc. sunt adecvate pentru oricare nivel de izolare.

Sigilarea geamurilor de sticlă, a pragurilor și a orificiilor mici din interiorul/ exteriorul structurilor serei se face cu scop de termoizolare și control al pătrunderii insectelor. Sigilarea nu reprezintă o procedură de substituție a ajustării corecte a componentelor structurale. Prin sigilare se îmbunătățesc condițiile de izolare ale construcției pentru a corespunde standardelor unei încăperi izolate. Situațiile tipice în care adăugarea sigiliilor asigură o măsură bună de izolare sunt redată în fig. 3.5.

Mesele de lucru din oțel galvanizat sau aluminiu sunt cele mai adecvate pentru majoritatea proiectelor de cercetare a OMG-urilor deoarece aceste materiale sunt rezistente la apă și la majoritatea substanțelor chimice. Astfel de mese corespund standardelor izolării superioare, deoarece permit curățirea minuțioasă și decontaminarea, fapt ce contribuie pozitiv la programele de control al dăunătorilor, indiferent de protocolul de cercetare. De asemenea, sunt recomandate suprafețele care permit colecția apei reziduale într-un rezervoar de colectare pentru decontaminare chimică sau prin temperatură înainte de a fi eliberată în canalul colector al sistemului de canalizare.



a



b

Fig.3.4. Izolator cu presiune negativă pentru plante (a) și din plasă pentru a asigura protecția față de insecte (b)



Fig. 3.5. Izolare prin sigilarea fisurilor din interiorul și exteriorul serei

Pardoselele și canalele de scurgere sunt confecționate din materiale variate în corespundere cu nivelul de biosecuritate indicat. Prezența straturilor de nisip și pământ sub mese în serele NB1-P este acceptată numai dacă agenții cercetați nu se pot deplasa astfel părăsind sera. Pentru o seră NB2-P este recomandată o suprafață impermeabilă a podelei cum ar fi cea din beton acoperită cu alte materiale pentru a le face mai ușor de curățat și dezinfectat. Aspectul important al acestor structuri este cel al instalațiilor de drenaj proiectate pentru colectarea deșeurilor cu biohazard.

Sistemele de control ale serelor de tip standard, pneumatic, mecanic sau digital sunt acceptate pentru cercetările OMG-urilor la NB1-P și NB2-P. Pentru cele cu NB3-P și NB4-P sunt necesare sisteme computerizate cu sonorizare a situațiilor de urgență sau de nefuncționare a diferitor instalații (ventilație, diferență de presiune, încălzire/ răcire etc.) conectate la sistemul centralizat de securitate al instituției.

Tehnologia de sisteme de control al serelor pe bază de senzori a devenit foarte avansată și trebuie să fie utilizată în orice seră de cercetare modernă. Este recomandat ca orice sistem de control utilizat să fie proiectat exclusiv pentru sere, și nu alt tip de construcție care nu corespunde cerințelor tehnice.

Amplasarea geografică a serei reprezintă un element de izolare fizică. De exemplu, cercetările unor dăunători ai culturilor sau unor plante invazive va prezenta un risc mai mare în cazul în care construcția va fi localizată într-o zonă adiacentă suprafețelor ocupate de culturi susceptibile față de acești dăunători. Se recomandă ca atunci când se planifică construcția unei sere de informat asupra destinației terenurilor adiacente. Cu toate acestea, dacă sunt respectate cerințele de izolare fizică în corespundere cu niveluri de biosecuritate a investigațiilor cu OMG-uri, problema spațiilor vecine instituției devine mai puțin importantă.

IZOLAREA BIOLOGICĂ reprezintă un mijloc efectiv în prevenirea transferului de material genetic. Metodele de izolare biologică includ izolarea reproductivă, spațială și temporală, fig. 3.6.

Diseminarea materialului genetic prin polen sau semințe poate fi prevenită prin una sau mai multe proceduri:

- acoperirea sau ruperea florii sau capsulelor cu semințe pentru a preveni dispersarea polenului/semințelor;
- recoltarea materialului vegetal până la maturitatea sexuală sau utilizarea liniilor androsterile;
- controlul perioadei de înflorire astfel ca diseminarea polenului să nu corespundă cu perioada receptivă a plantelor sexual compatibile cultivate în apropiere;
- de asigurat că plantele fertile cu polenizare încrucișată nu se află în zona de împrăștiere a polenului plantelor experimentale.

Acoperirea florilor cu izolatoare, cel mai frecvent de hârtie, este o practică standard utilizată de amelioratori pentru prevenirea contaminării plantelor cu polenul plantelor vecine. De asemenea, florile pot fi înlăturate înaintea producerii polenului sau semințelor în cazurile în care în protocolul de cercetare nu necesită colectarea semințelor.

Există numeroase culturi sexual compatibile cu specii sălbatice înrudite sau cu buruieni. Alegerea anotimpului în care se desfășoară experimentul în funcție de zona geografică a facilității izolate poate constitui o metodă de izolare biologică adecvată pentru plante. De exemplu, în SUA cultivarea florii-soarelui transgenice numai în timpul iernii, în zonele nordice, nu va avea vreun impact negativ asupra plantelor locale sau buruienilor în cazul unei potențiale diseminări a polenului.



Fig. 3.6. Modalități de izolare a florilor și polenului

Elemente de izolare și alte măsuri de protecție pentru sere și camere de creștere

2

Paragraful

Pentru Republica Moldova restricții exigente privind izolarea spațială fizică sau biologică trebuie să fie impuse în cazul cultivării rapiței transgenice, deoarece această specie are rude sălbatice cu care s-ar putea încrucișa.

Izolarea fizică eficientă a bacteriilor, virusurilor și altor microorganisme asociate plantelor poate fi extrem de dificilă, deoarece ele nu sunt vizibile și odată diseminate nu pot fi recuperate. Totuși multe dintre acestea nu vor supraviețui și nu vor persista în caz de eliberare în mediu. Prevenirea diseminării necontrolate a microorganismelor modificate genetic poate avea loc prin:

- evitarea producerii de aerosoli în procesul inoculării plantelor cu patogeni transgenici;
- asigurarea unei distanțe de izolare adecvate dintre planta infectată și o plantă-gazdă susceptibilă, în special dacă microorganismul poate fi diseminat prin aer sau prin contactul cu frunza;
- creșterea plantelor experimentale și a microorganismelor în acea perioadă a anului când plantele susceptibile nu cresc;
- eliminarea vectorilor de transmitere a agenților patogeni;
- modificarea genetică a microorganismelor pentru minimalizarea ratei de supraviețuire și reproducere;
- decontaminarea și evaporarea apei reziduale.

Este dificil de obținut izolarea insectelor și a căpușelor în diferite compartimente ale serei. Entomologii care cresc insecte pe plantele din sere au un program exigent de prevenire a evadării lor și controlul maladiilor provocate de paraziți. Pentru prevenirea diseminării artropodelor și altor animale mici pot fi utilizate următoarele proceduri:

- selectarea sau crearea speciilor nezburătoare, cu aripi impare sau sterile;
- efectuarea experimentelor în perioada anului când supraviețuirea organismelor evadate este imposibilă;

3.3. Practici de management

Strategiile de izolare sunt eficiente doar atunci când personalul serei este bine instruit și respectă procedurile stabilite pentru manipularea materialului transgenic. Toți cei care vor fi implicați în activități cu organisme transgenice înainte de a începe lucrul asupra unui proiect de cercetare trebuie să fie informați privind măsurile de izolare și precauțiile corespunzătoare.

Accesul în zonele de depozitare a materialelor de cercetare transgenice este interzis, indiferent de nivelul de biosecuritate. Astfel de restricții sunt impuse pentru a evita situații de răspândire a polenului transgenic, semințelor sau altui material de înmulțire vegetativă, care ar putea fi transmis de oamenii care se deplasează prin încăperi. În sera cu NB1-P, managerul serei sau investigatorul principal poate impune acces limitat pentru perioada de derulare a experimentului, iar la NB2-P accesul este liber doar pentru persoanele implicate direct în proiectul de cercetare. Accesul autorizat este recomandat pentru NB3-P și această restricție se referă în special la personalul tehnic, sanitar și vizitatori care au un interes deosebit în cercetare.

Dacă sera nu este compartimentată, atunci accesul trebuie să fie restricționat indiferent de nivelul de siguranță biologică. Alte elemente obligatorii privind accesul în seră includ semnul de avertizare a biohazardului, semne cu instrucțiuni în caz de urgență sau de acces interzis în timpul desfășurării experiențelor etc., un registru de evidență la intrare și ieșire a personalului.



Fig. 3.7. Marcarea plantelor transgenice

- decontaminarea sau evaporarea apelor reziduale pentru eliminarea larvelor și ouălor viabile;
- distrugerea insectelor polenizatoare după transferul polenului în scopul eliminării posibilei diseminări a polenului transgenic în mediu.

Utilizarea combinată a **barierelor biologice și fizice de izolare** oferă mai multe avantaje prin reducerea nivelului de biosecuritate la un nivel mai jos decât cel solicitat. De exemplu, dacă într-un protocol experimental nu se urmărește colectarea semințelor pentru probele ulterioare, decizia de înlăturare a florilor înaintea diseminării polenului (izolare biologică) va asigura realizarea experimentului la nivelul de biosiguranță cel mai mic – NB1-P.

Vestimentația personalului din zonele cu NB1-P și NB2-P constă din halate și șorțuri de laborator. Pentru încăperile NB3-P și NB4-P trebuie să fie respectate protocoale stricte de vestimentație și igienă (vezi § 1.4.). Toți utilizatorii trebuie să poarte EPP corespunzător și să facă duș înainte de a părăsi încăperea. Dușul la intrare este necesar numai în cazul în care anumite organisme pot fi aduse în zona de izolare din exterior. Vestimentația contaminată se autoclavează înainte de a fi transferată pentru a fi spălată.

Marcarea materialului transgenic se face în scopul distingerii PMG-urilor de plantele netransgenice – control experimental sau de cele care nu sunt implicate în experiment, fig. 3.7. Vasele de vegetație individuale, mesele de

lucru trebuie, de asemenea, marcate cu semne care să indice plantele prevăzute pentru modificarea genetică.

Depozitarea semințelor transgenice trebuie să se efectueze în spații închise în interiorul serei în recipiente speciale. Personalul trebuie să fie prudent pentru a preveni germinarea semințelor în locurile nedorite.

Transferul materialului (plante în vase de vegetație, semințe, răsad, microorganisme etc.) din/în seră sau între diferite compartimente se efectuează în corespundere cu nivelul de biosiguranță al materialului, cele mai exigente precauții fiind la cele cu NB3-P și NB-4. La aceste niveluri de securitate, pentru izolare sunt necesare containere sigilate care se supun decontaminării prin mijloace chimice sau într-o cameră de fumigație, dacă aceleași plante, gazde/ vectori sunt prezenți în aria de transfer a organismului experimental.

Eliminarea și distrugerea deșeurilor cu pericol biologic pentru a preveni supraviețuirea neintenționată a OMG-urilor în afara mediului izolat al serelor reprezintă un obiectiv important al fiecărui proiect de cercetare. Decontaminarea materialului vegetal și a solului se efectuează înainte ca acestea să fie evacuate din seră sau laborator și a ajunge în câmp. Plantele și organismele asociate pot fi inactivate prin proceduri de sterilizare chimică/cu vapori sau prin incinerare. Incinerarea trebuie utilizată cu precauție, deoarece nu toate semințele ard ușor, de exemplu, semințele de bumbac. În cazul semințelor transgenice de dimensiuni foarte mici sunt necesare precauții deosebite, cum ar fi acoperirea florilor înainte de a le înlătura cu saci de o densitate mare. Nisipul de sub mesele de lucru în încăperile NB2-P trebuie să fie decontaminate prin tratament cu soluție de hipoclorit de sodiu.

Controlul dăunătorilor (rozătoare și păsări care pot transporta semințele transgenice în afara încăperii, insecte și alte organisme care pot transfera polenul la plantele receptive din interiorul sau exteriorul zonei de izolare) se realizează prin măsuri fizice, chimice și biologice. Procedurile aplicate includ instalarea ecranelor și plaselor de protecție, sigilarea tuturor conexiunilor dintre diferite materiale ale construcției, fumigații, tratarea chimică a apelor reziduale etc.

Măsurile de control biologic pot implica introducerea paraziților pentru a controla unii dăunători care nu mai sunt utili. Testele de seră privind susceptibilitatea sau rezistența la insecte a plantelor utilizează această clasă de nevertebrate ca parte a protocolului experimentului după care sunt introduși paraziți ai acestor insecte care trebuie distruse după finalizarea experienței. Astfel de proceduri fac parte dintr-un program de control de eliminare selectivă a dăunătorului inutil fără a distruge patogenul necesar. Un alt exemplu de acest fel poate fi experimentul în care insectele sunt utilizate ca vectori pentru transmiterea virusurilor modificate genetic, care odată cu transmiterea virusului trebuie eliminate.

Organismele evadate pot fi detectate prin prezența unor plante bioindicatoare (gazde susceptibile) utilizate pentru detectarea transmiterii neintenționate a virusurilor, migrării insectelor, răspândirea polenului sau a sporilor. Capcanele de lumină amplasate în coridoare și activate noaptea sunt utile pentru indicarea prezenței insectelor care au evadat din camerele serei.

Erori umane, ca de exemplu ușa lăsată deschisă sau eliminarea materialului transgenic nemarcat sunt cazuri de ineficiență a izolării mult mai frecvente comparativ cu situații de ieșire din funcție a unui sau altui echipament sau cu distrugerea unor bariere secundare de izolare. Persoanele desemnate trebuie să fie alertate prompt dacă apar probleme pentru a lua decizii oportune în scopul înlăturării consecințelor negative.

Ghidul de instruire și referință local este o componentă de bază a unor practici bune de management nu numai în laborator, ci și în orice spațiu izolat ca seră ori cameră de creștere a plantelor. Un manual de referință trebuie să conțină directive privind securitatea cercetărilor de transgeneză, planuri de urgență în caz de accident și alte operații de rutină. Instruirea personalului este realizată prin ședințe interactive care includ IP, managerul serei și alt personal responsabil de securitate.

Inspectarea periodică a serelor este obligatorie pentru a se asigura că măsurile de izolare adecvate pentru plantele transgenice sau alte organisme asociate sunt respectate cu rigurozitate. Inspecțiile includ managerul serei, reprezentanți ai comitetelor de biosecuritate sau oficiali de stat responsabili pe probleme agricole. Lista de verificare a parametrilor fizici, biologici și manageriali este stabilită pentru fiecare nivel de biosecuritate și poate să includă o serie de întrebări precum:

- Cine este persoana responsabilă? Informația de contact a acesteia este afișată pe ușă?
- Care este tipul de OMG și cum este identificat acesta?
- Care este nivelul de izolare fixat? Încăperile corespund acestui nivel?
- Ce măsuri fizice și biologice sunt întreprinse pentru a atinge acest nivel de izolare?
- Există dovezi de erori în izolare?
- Cum este păzită zona? Ce tip de securitate e necesară?
- Există un plan scris pentru înlăturarea consecințelor în caz de pierdere a izolării?
- Care este cea mai probabilă breșă a izolării?

Vandalismul reprezintă o îngrijorare crescândă pentru managerii serelor. Unii indivizi și organizații care se opun cercetărilor ce implică ADN-ul recombinat au ca țintă serele și proiectele de testare în câmp, provocând daune substanțiale. Anumiți indivizi intră în sere utilizând forța sau distrugând hardware-ul de securitate. Dacă actul de vandalism este motivat politic, are drept scop atragerea atenției pentru o anumită cauză prin știrile difuzate în mass-media. Este important ca instituția să fie pregătită de a răspunde prompt la amenințări și la acte de vandalism.

Capitolul 4.

SECURITATEA BIOLOGICĂ ASOCIATĂ CU INTRODUCEREA PLANTELOR MODIFICATE GENETIC ÎN MEDIU

4.1. Testarea în câmp a plantelor modificate genetic și biosecuritatea

O condiție esențială în dezvoltarea cadrului național de biosecuritate este trasabilitatea sau urmărirea traseului unui organism modificat genetic din laborator în mediul înconjurător pentru testare în câmp, producție, import/ export etc. Introducerea deliberată în mediu a PMG-urilor pentru testare în câmp se realizează în scopul evaluării performanțelor agronomice și fenotipice, ratei de supraviețuire sau diseminare, efectelor asupra organismelor vizate și nevizate. Dacă scopul testelor este de a înregistra varietățile MG în Registrul soiurilor de plante agricole, se urmărește și obținerea unor informații suplimentare privind compatibilitatea evenimentului de transformare cu condițiile geoclimatice din țara/ regiunea respectivă.

Soiurile MG sunt admise pentru testare în câmp numai după obținerea de către solicitant a autorizației pentru introducere deliberată în mediu, în conformitate cu *Regulamentul privind autorizarea activităților legate de obținerea, testarea, utilizarea și comercializarea organismelor modificate genetic*, anexa nr. 3. Dosarul de notificare necesar a fi prezentat autorității naționale competente trebuie să conțină o serie de informații privind (rezumat al subanexei 3B):

I. Numele și adresa notificatorului (societate/ institut); calificarea și experiența cercetătorului.

II. Receptorul sau plantele-mamă (*familie, gen, specie, subspecie, soi*).

- Biologia reproducerii (*modul de reproducere, factorii specifici care afectează reproducerea, durata unei generații, compatibilitatea sexuală cu alte soiuri sau specii de plante sălbatice*).

- Supraviețuire (*abilitatea de a forma structuri pentru supraviețuire sau repaus vegetativ; factorii specifici care afectează supraviețuirea*).
- Diseminarea (*căile și gradul diseminării, factorii care afectează diseminarea*).
- Distribuția geografică (*în cazul speciilor de plante care nu sînt cultivate în mod normal în Europa este necesară descrierea habitatului natural al plantei, incluzând informații despre dăunătorii naturali, paraziți, competitori și simbionți*).
- Interacțiuni semnificative potențiale ale plantei cu alte plante din același habitat, incluzând informații despre efectele toxice asupra oamenilor, animalelor sau altor organisme.

III. Descrierea metodelor utilizate pentru modificarea genetică (natura și sursa vectorului).

IV. Planta modificată genetic.

- Descrierea caracterelor care au fost introduse sau modificate.
- Secvențele inserate/ eliminate (*mărimea și structura insertului și metodele utilizate pentru caracterizarea lui, în caz de eliminare, mărimea și funcția regiunii eliminate, localizarea insertului în celulele plantei (integrat în cromozom, cloroplaste, mitocondrii), numărul de copii ale insertului*).
- Expresia insertului (*informații privind exprimarea insertului și metodele utilizate pentru caracterizarea lui*).
- Modul în care planta modificată genetic diferă de planta receptoare (*modul și/sau rata reproducerii, diseminare, supraviețuire*).
- Stabilitatea genetică a insertului.
- Potențialul pentru transferul materialului genetic de la plante MG la alte organisme.

V. Efecte toxice/ dăunătoare asupra sănătății oamenilor și a mediului.

- Mecanismul interacțiuni dintre planta modificată genetic și organismele-țintă.
- Interacțiunile semnificative potențiale cu organismele care nu sunt țintă.

VI. Descrierea tehnicilor de detecție și identificare a PMG-urilor.

VII. Informații despre introduceri prelabile ale PMG-urilor.

VIII. Informații privind locul introducerii deliberate în mediu.

- Localizarea și mărimea terenului de cultivare.
- Descrierea ecosistemului (*climatul, flora și fauna de care aparține terenul în care se intenționează introducerea*).
- Prezentarea rudelor sălbatice sau a speciilor de plante cultivate înrudite sexual.

IX. Informații privind introducerea deliberată.

- Scopul, data și durata introducerii.
- Numărul aproximativ de plante (sau plante/m²).
- Metoda de pregătire și monitorizare a terenului de introducere, înainte de/în timpul și post-introducere, incluzând practicile și metodele de cultivare.

X. Informații privind planurile de control, monitorizare și tratare a deșeurilor.

- Descrierea metodelor de prevenire a diseminării (*distanța față de speciile de plante compatibile sexual; orice măsuri pentru a minimiza/ preveni dispersia polenului sau a semințelor*).

- Descrierea metodelor pentru tratamentul terenului după introducerea, a masei vegetale produse de PMG-uri, incluzând deșeurile.
- Descrierea planurilor și tehnicilor de monitorizare și a planurilor de urgență.

O deosebită importanță prezintă acumularea și verificarea informației cu privire la evaluarea riscului unui potențial impact ecologic al introducerii PMG-urilor. Se analizează orice avantaj selectiv sau dezavantaj pe care îl prezintă OMG-urile și frecvența apariției acestui fenomen în condițiile stabilite pentru desfășurarea activității propuse. De exemplu, sensibilitatea la înghețurile timpurii și târzii (brume) și competiția cu plantele perene. Se estimează posibilitatea producerii transferului de gene la alte specii, în condițiile stabilite. Identificarea elementelor relevante pentru monitorizare se va face de la caz la caz, ținând cont de caracteristicile conferite de transgene:

- apariția rezistenței la rudele sălbatice sau la organismele dăunătoare, schimbarea spectrului de gazde sau modificarea răspândirii organismelor dăunătoare și virusurilor, apariția de noi virusuri;
- răspândirea, fixarea și persistența OMG-urilor în medii nevizate sau ecosisteme;
- fecundarea liberă/ încrucișarea plantelor transgenice cu speciile cu care sunt compatibile din populațiile naturale;
- modificări neintenționate în comportamentul organismului care a făcut obiectul modificării genetice, de exemplu, schimbări în privința reproducerii, a numărului de descendenți, a creșterii și a capacității de supraviețuire a semințelor;
- schimbări ale biodiversității (atât de ordin numeric, cât și în privința compoziției).

În cazul în care este un pericol iminent de răspândire a organismelor dăunătoare sau pentru sănătatea umană/ mediu, interzicerea unui soi poate fi impusă imediat ce cererea lui a fost înregistrată, până când se ia o decizie finală. Măsuri de interzicere a cultivării unui soi MG înregistrat vizează condițiile în care:

- din punctul de vedere al sănătății plantelor poate dăuna culturii altor soiuri sau specii;
- testările oficiale arată că soiul, în oricare parte a țării, nu dă rezultate similare celor obținute de la un soi comparabil înregistrat în Registrul oficial al soiurilor;
- aparține unei clase de maturitate necorespunzătoare.

4.2. Zone-tampon și alte măsuri de precauție privind testarea plantelor în câmp

Pentru a obține Certificatul de siguranță pentru producerea sau importul semințelor MG pentru cultivare, un solicitant trebuie să urmeze un program de testare care să includă:

- cercetarea experimentală (de laborator);
- un test „de mediu” (la scară mică într-un mediu controlat);
- testarea eliberării în mediu (testare în câmp de proporție medie cu precauții adecvate);
- testarea producerii (testare de preproducere în câmp de proporții mari);
- solicitarea Certificatului de siguranță, care necesită rapoarte privind testările stabilite.

Este important de menționat faptul că testările în câmp sunt introduceri în mediu la scară mică și au drept scop obținerea de:

- informații referitoare la biologia și comportarea plantei în condiții agronomice standard;
- material vegetal de la panta modificată și convențional necesar efectuării analizei semințelor și furajelor.

Pe durata testării PMG-urilor vor fi aplicate practicile adecvate acestui gen de activitate și anume:

- Amplasarea loturilor experimentale cu PMG-uri în zone în care specia dată nu este cultivată pentru producerea seminței hibride comerciale și separarea lor de alte câmpuri de aceleași culturi printr-o distanță de izolare de cel puțin 300 m.
- Utilizarea unei zone-tampon de minimum patru rânduri de plante convenționale în calitate de capcană pentru polen; plantele din **zona-tampon** (rânduri bandă) nu vor fi folosite ca aliment sau furaj.
- Semănatul și recoltarea vor fi executate de personal instruit în privința măsurilor de precauție.
- Efectuarea unor vizite regulate în câmp pentru efectuarea observațiilor și verificarea aplicării corecte a măsurilor de combatere a dăunătorilor și bolilor.
- Recoltarea producției și distrugerea ei după prelevarea probelor necesare efectuării analizelor; boabele provenite de la plantele MG nu vor fi folosite ca aliment sau furaj.
- Incorporarea resturilor vegetale în sol la sfârșitul perioadei de vegetație, atunci când condițiile de mediu și cele agronomice vor permite acest lucru.
- Aplicarea rotației culturilor pentru facilitarea identificării și distrugerii PMG-urilor răsărite din semințele căzute, în mod accidental, pe sol în timpul recoltării.

În sezonul următor, locațiile testelor de câmp vor fi monitorizate pentru a depista și distruge plantele de PMG-uri răsărite din semințele căzute, în mod accidental, pe sol. În acest scop, vor fi inspectate periodic loturile pe care au fost amplasate experimentele. Plantele transgenice răsărite în culturile postmergătoare vor fi distruse înainte de înflorire prin utilizarea erbicidelor convenționale care nu sunt pe bază de glifosat sau cu mijloace mecanice. În anul următor, pe terenul unde au fost amplasate loturile experimentale nu va fi cultivată această cultură în scop comercial.

Aceste măsuri de precauții trebuie să fie stipulate detaliat în orice dosar de notificare care urmărește introducerea în mediu a plantelor transgenice pentru testare în câmp cu plasarea ulterioară a culturii pe piață în diferite scopuri. Un exemplu de dosar de notificare privind aprobarea importului și introducerii deliberate în mediu pentru testare în câmp a unei varietăți de porumb modificat genetic deus de compania SYNGENTA AGRO SRL, România – țară în care sunt aprobate pentru cultivare un șir de culturi agricole –, este prezentat sub formă de rezumat cu accentul pe evaluarea riscurilor asociate introducerii în mediu a PMG-urilor:

DOSAR DE NOTIFICARE

privind aprobarea importului și introducerii deliberate în mediu pentru testare în câmp a porumbului GA21 tolerant la glifosat *depus de compania SYNGENTA AGRO SRL (România), anul 2006*

Proveniența materialului — Syngenta Seeds, Inc., USA ,
exportator — Syngenta Seeds S.A.S., Franța

REZUMAT

Syngenta solicită aprobare pentru a testa în câmp, la scară redusă, porumbul modificat genetic (MG) GA21. Acest eveniment de transformare conține o transgenă care determină sintetiza enzimei 5-enolpiruvatșikimat-3-fosfat sintaza (EPSPSm) insensibilă la acțiunea inhibitoare a glifosatului. EPSPS este o enzimă-cheie în calea acidului șikimic de biosinteză a aminoacizilor aromatici (fenilalanină, tirozină, triptofan) la plante și microorganisme. Cale care nu este prezentă la mamifere. Plantele de porumb transformate cu transgena în cauză, gena *epsps* modificată (*epspsm*), precum și cele derivate din ele, sintetizează proteina EPSPSm care, practic, le conferă toleranță la glifosat (N-fosforometil-glicina). Erbicid neselectiv, cu aplicare foliară, cu spectru larg și postemergent este folosit eficient în combaterea majorității buruienilor cu frunza îngustă, anuale și perene. Erbicidele pe bază de glifosat acționează doar asupra plantelor, nu și a mamiferelor. Pe lângă inocuitatea pentru om și animale, glifosatul mai prezintă însă și alte avantaje. De exemplu, este rapid legat în sol, fapt ce-i împiedică migrarea și, implicit, pătrunderea în apele freatice. Este biodegradabil și, din această cauză, este puțin persistent în mediu. De asemenea, este extrem de puțin toxic nu doar pentru mamifere, ci și pentru păsări și pești.

Modificarea genei care codifică enzima EPSPS de la porumb a avut drept scop obținerea rezistenței la erbicide care conțin glifosat. Modificarea secvenței codonilor a avut ca rezultat și modificarea secvenței aminoacizilor proteinei EPSPS de la porumbul convențional.

Evaluarea riscurilor are ca obiectiv identificarea efectelor potențial negative asupra mediului și sănătății omului asociate introducerii porumbului modificat genetic în cultură. Pentru evaluarea riscurilor au fost folosite datele științifice disponibile până în prezent.

Pe durata testării porumbului modificat genetic vor fi aplicate următoarele practici:

- *amplasarea loturilor experimentale în zone în care porumbul nu este cultivat pentru producerea de sămânță și separarea lor de alte câmpuri de porumb printr-o distanță de cel puțin 300 m;*
- *utilizarea zonei-tampon de minimum opt rânduri de porumb convențional ca o capcană pentru polen;*
- *plantele din zona-tampon vor fi semănate în câmp și nu vor fi folosite ca aliment sau furaj;*
- *după prelevarea probelor producția (boabe sau părți vegetale) vă fi distrusă prin încorporarea resturilor vegetale în sol, la sfârșitul perioadei de vegetație, atunci când condițiile de mediu și cele agronomice vor permite acest lucru;*
- *rotația culturilor pentru facilitarea identificării și distrugerii plantelor de porumb răsărite din semințele căzute, în mod accidental, pe sol în timpul recoltării.*

Apariția samulastrei în cursul următorului sezon agricol este puțin probabilă deoarece plantele de porumb răsărite în asemenea condiții sunt distruse de geruri sau sunt eliminate prin practicile agronomice cunoscute, care includ lucrările solului sau aplicarea tratamentelor cu erbicide selective în cultura următoare.

Frecvența cazurilor în care OMG-ul a devenit persistent și a invadat habitatele naturale și condițiile în care s-a produs acest lucru. Experiența acumulată în cei peste 500 de ani de cultură a porumbului tradițional în Europa ne permite să apreciem faptul că această specie nu are potențialul necesar pentru a deveni invazivă în habitatele naturale sau pentru a persista în agroecosisteme. Porumbul este o plantă anuală care nu poate supraviețui neasistat de om și nu este capabil să existe ca buruiiană din cauza selecției practice de-a lungul secolelor de evoluție.

Semințele sunt singurele structuri de supraviețuire a porumbului; nu se cunosc cazuri de regenerare (*in vivo*) din țesuturi vegetative. Porumbul are o inflorescență femelă polistihă (știulete), cu un ax central rigid, înconjurată de pănușe (frunze modificate). Această structură nu predispune semințele la diseminarea naturală. Fără îndoială, semințele pot fi diseminate în timpul recotării culturilor comerciale, pot supraviețui unei ierni mai blânde și pot germina în anul următor. În condițiile din Europa este extrem de rară apariția de plante de porumb dezvoltate din semințele rămase pe câmp după recoltare, sau apariția porumbului în culturile care îi urmează în rotație. Cauzele: plantele de porumb răsărite în asemenea condiții sunt distruse de geruri sau eliminate prin practicile agronomice cunoscute, care includ lucrările solului sau aplicarea tratamentelor cu erbicide selective în cultura următoare. Este de așteptat că proteina codificată de gena *epspsm* să nu afecteze caracteristicile agronomice ale evenimentului de transformare GA21. Toleranța la erbicid este improbabil să ducă la o creștere a persistenței, având în vedere sensibilitatea la înghețurile timpurii și târzii (brume) și competiția cu plantele perene. Evenimentul de transformare GA21 a fost utilizat pentru obținerea cultivarelor aflate în culturi comerciale în Statele Unite ale Americi și Canada, începând din anul 2000. Rezultatele observațiilor efectuate în plantațiile comerciale au demonstrat că acestui porumb nu i-au fost modificate prin transgeneză caracteristicile fenotipice, agronomice, reproductive, de supraviețuire și diseminare, comparativ cu linia originală și cu alte varietăți convenționale. Dat fiind faptul că modificarea genetică nu a dus la apariția unor diferențe fenotipice biologice semnificative, care ar fi putut altera fitness-ul biologic al acestui porumb comparativ cu echivalenții lui convenționali, este foarte improbabil ca porumbul GA21 să fie mai persistent în câmp sau mai invaziv în medii naturale decât porumbul tradițional.

În concluzie, este neglijabilă probabilitatea ca, prin testarea lor în câmp, plantele de porumb modificat genetic pentru toleranță la glifosat să devină componente ale agroecosistemelor mai persistente decât plantele parentale sau să invadeze habitatele naturale.

Orice avantaj selectiv sau dezavantaj pe care îl prezintă OMG-ul și frecvența apariției acestui fenomen, în condițiile stabilite pentru desfășurarea activității propuse. Porumbul a fost modificat pentru a exprima o genă ce-i conferă toleranță la produse erbicide ce conțin glifosat. Este probabil ca exprimarea genei *epspsm* să asigure plantelor GA21 un avantaj în privința capacității de supraviețuire, pe parcursul perioadei de testare în câmp, dacă se aplică tratamente cu produse erbicide care conțin glifosat. De altfel, acesta este și efectul specific și intenționat al modificării genetice realizate. Deoarece materialul biologic rezultat (semințe, resturi vegetale, samulastră) va fi recoltat sau distrus prin încorporare în sol, în condițiile testării în câmp acest avantaj de ordin selectiv va fi relevant însă numai în cultură, fiind limitat în timp la intervalul dintre semănat și recoltare.

Posibilitatea producerii transferului de gene la alte specii în condițiile stabilite pentru desfășurarea activității propuse și orice avantaj sau dezavantaj selectiv pe care îl poate conferi acestor specii. Porumbul (*Zea mays*) se reproduce sexuat. Este o specie monoică, polenizată prin vânt, cu flori cu stamine și flori cu pistile, ceea ce favorizează fecundarea încrucișată. Ca orice plantă cu polenizare eoliană, produce o mare cantitate de polen a cărui dispersare poate duce la diseminarea materialului genetic. Dispersarea polenului de porumb este influențată de dimensiunile relativ mari (0,1mm), ca și de viteza și turbulența curenților atmosferici. Dintre toate plantele de talia sa cu polenizare eoliană, porumbul are polenul cel mai mare. Fapt deosebit de important, deoarece distanța la care polenul de porumb poate fi purtat de curenții atmosferici este limitată de această mărime și, implicit, de depunerea rapidă. Diseminarea materialului genetic pe această cale este redusă, de asemenea, de viabilitatea polenului. Durata de viață a unui grăuncior de polen este relativ scurtă.

În Europa, porumbul nu are rude sălbatice. Prin urmare, aici nu se poate vorbi de posibilitatea unui transfer de gene de la porumbul GA21 la specii de plante sălbatice. Această concluzie aparține Agenției Europene de Mediu (EEA, 2002). În raportul acestei agenții asupra fluxului de gene, se menționează faptul că numai 2 procente din cantitatea de polen produsă de porumb se depun la mai mult de 25 m de marginea culturii. Condițiile în care va fi realizată testarea vor limita drastic posibilitatea transferului de gene de la porumbul GA21 la porumbul convențional, prin dispersarea polenului. Câmpul de testare va fi amplasat la cel puțin 300 m distanță (distanța de izolare a câmpurilor de producere a seminței hibride comerciale) față de alte culturi de porumb. De asemenea, va fi înconjurat de cel puțin opt rânduri de plante de porumb tampon. În total, în fiecare dintre cele 3 locații stabilite, suprafața pe care va fi cultivat porumbul GA21 nu va depăși 1188 m². Suprafața totală pe care se va realiza experiența/ locație nu va depăși 2600 m² (inclusiv porumbul nemodificat genetic de pe rândurile-tampon).

Locațiile testelor de câmp vor fi monitorizate timp de un an după recoltare. Plantele de porumb răsărite în culturile postmergătoare vor fi distruse înainte de înflorire prin utilizarea erbicidelor convenționale sau cu mijloace mecanice. Plantele de porumb tolerante la glifosat ce ar apărea în câmpurile învecinate în cazurile, puțin probabile, ale producerii unei polenizării încrucișate, ar putea fi eliminate fie de acțiunea factorilor de mediu, fie prin practici agricole, cum sunt lucrările solului sau folosirea erbicidelor alternative neselective.

Posibilul impact asupra mediului ce poate apărea imediat și/sau cu întârziere ca urmare a interacțiunilor directe și indirecte dintre OMG și organismele non-țintă, incluzând impactul asupra relațiilor complexe ce se stabilesc la nivel de biocenoză (competitori, prădători, gazde, simbionți, paraziți și patogeni). Porumbul derivat din evenimentul de transformare GA21 sintetizează proteina EPSPSm care conferă toleranță la produsele erbicide ce conțin glifosat. Porumbul, organismul receptor, are o istorie îndelungată de utilizare sigură. Nici secvențele introduse în evenimentul de transformare GA21 și nici organismele donore nu sunt patogene pentru om. Proteina EPSPSm a fost obținută prin modificarea genei *epsps* de la *Zea mays*, are secvența aminoacizilor omoloagă în proporție de 99,3% cu secvența aminoacizilor proteinei EPSPS de la porumbul nemodificat genetic și se exprimă în plantă la niveluri foarte scăzute. Proteinele EPSPS sunt omniprezente în natură, ca și în alimentele de origine vegetală sau în a căror preparare se folosesc microorganisme. Deoarece, așa cum s-a arătat, porumbul GA21 este echivalent cu porumbul tradițional, cu excepția caracterului introdus, de toleranță la glifosat, interacțiunile lui cu alte organisme din mediu sunt echivalente cu interacțiunile porumbului convențional, netransgenic. Organismele nevizate care ar putea interacționa direct cu PMG-urile și care ar putea intra în contact cu proteina EPSPSm sunt dăunătorii fitofagi ai porumbului sau insecte erbivore. Prin transferul trofic și procesele de descompunere, alte organisme cum sunt prădătorii și paraziții dăunătorilor porumbului, ar putea fi, la rândul lor, expuși la nivelurile foarte scăzute ale acestei proteine.

Prezenta notificare se referă la intenția de a testa în câmp în scop experimental, la scară redusă, porumbul GA21. Ca urmare, expunerea organismelor nevizate ar fi redusă și temporară. În plus, produsele rezultate nu ar fi utilizate în alimentația omului sau pentru furajarea animalelor, ci ar fi distruse. În urma numeroaselor studii întreprinse nu s-a raportat transferul de gene intacte de la plantele transgenice la microorganisme în sisteme naturale. Este deci puțin probabil să aibă loc un transfer de gene de la porumbul GA21 la microorganisme ca urmare a realizării acestor teste în câmp la scară redusă.

Din cele prezentate mai sus reiese faptul că efectele potențial negative ale plantelor de porumb derivate din evenimentul de transformare GA21 asupra organismelor nevizate sunt neglijabile.

În concluzie, nu se anticipează nici un impact imediat și/sau întârziat asupra mediului ca rezultat al interacțiunilor directe sau indirecte ale plantelor modificate genetic GA21 cu organismele nevizate în contextul acestor testări în câmp.

Posibilele efecte negative asupra sănătății umane, ce pot apărea imediat și/sau cu întârziere, ca urmare a posibilelor interacțiuni directe și indirecte dintre OMG și persoanele care lucrează, vin în contact sau se află în apropierea site-ului de introducere a acestuia. Prin prezenta notificare se solicită aprobare pentru realizarea unor teste în câmp în scop strict științific la scară mică, iar materialul vegetal rezultat nu va fi folosit în alimentația omului sau pentru furajarea animalelor. Prin urmare, nu sunt așteptate efecte directe asupra sănătății omului. Literatura de specialitate și rezultatele studiilor de siguranță a utilizării acestei PMG furnizează o serie de argumente în sprijinul acestei afirmații:

- Porumbul, organismul receptor, are o istorie îndelungată de utilizare sigură;
- Nici una dintre secvențele genice sau dintre organismele donore ale acestora nu este cunoscută a fi patogenă la om;
- Proteina EPSPSm, obținută prin modificarea genei *epsps* de la *Zea mays*, are secvența aminoacizilor omoloagă în proporție de 99,3% cu secvența aminoacizilor proteinei EPSPS de la porumbul nemodificat genetic. Proteinele EPSPS sunt omniprezente în natură, ca și în alimentele de origine vegetală sau în a căror preparare se folosesc microorganisme;
- Proteina EPSPSm este sintetizată de către plante MG la niveluri foarte scăzute;
- Rezultatele studiului de toxicitate orală acută la șoarecii cărora le-a fost administrată proteina EPSPSm purificată în doză de 2000mg/kg corp nu au evidențiat nici un efect;

- Proteina EPSPSm nu prezintă omologie de secvență a aminoacizilor cu proteinele toxice sau alergene cunoscute și este degradată rapid în cazul digestiei simulate *in vitro*.

Au fost efectuate ample cercetări analitice comparative privind compoziția boabelor și furajului produse de porumbul GA21 și de martorul netransgenic. Nivelurile componentelor evaluate s-au încadrat în limitele valorilor raportate în literatura de specialitate. Excepție a făcut inozitolul, care a depășit cu puțin valorile maxime din literatură. În concluzie, rezultatele analizelor demonstrează faptul că porumbul GA21 este echivalent din punct de vedere compozițional cu varietățile tradiționale de porumb, netransgenice. Au fost studiate, comparativ, caracteristicile agronomice ale plantelor de porumb derivate din evenimentul de transformare GA21 și ale plantelor nemodificate genetic. Datele științifice obținute la diverși hibrizi, în locații diferite, nu au evidențiat diferențe determinate de modificarea genetică. În concluzie, porumbul GA21 este echivalent cu porumbul convențional cu excepția caracterului conferit prin modificare genetică.

În concluzie, efectele imediate și/sau întârziate asupra sănătății omului rezultând din interacțiunile potențiale directe și indirecte ale porumbului GA21, care face obiectul notificării, cu persoanele care vin în contact direct cu el sau care se află în imediata vecinătate a zonelor de introducere deliberată a lui în mediu, pot fi considerate neglijabile.

Posibilele efecte negative asupra sănătății animalelor, ce pot apărea imediat și/sau cu întârziere ca urmare a consumului de furaje care constau din OMG sau conțin asemenea organisme; consecințele acestui consum asupra lanțului furajer alimentar. Prin prezenta notificare se solicită aprobare pentru realizarea unor teste în câmp în scop strict științific, la scară mică, iar materialul vegetal rezultat nu va fi folosit în alimentația omului sau pentru furajarea animalelor.

Posibilele efecte negative asupra proceselor biogeochimice, ce pot apărea imediat și/sau cu întârziere, ca urmare a posibilelor interacțiuni directe și indirecte dintre PSMG și speciile țintă și non-țintă aflate în vecinătatea site-ului în care sunt introduse acestea. Este foarte puțin probabil să existe diferențe între GA21 și porumbul tradițional în ceea ce privește influența directă asupra nivelurilor de nutrienți din sol. De asemenea, este foarte puțin probabil ca interacțiunea directă sau indirectă dintre porumbul GA21 care sintetizează EPSPSm și descompunătorii din mediul primitiv să determine efecte dăunătoare imediate ori întârziate asupra descompunerii și funcțiilor de reciclare a nutrienților din sol. Faptul că potențialul de a determina efecte dăunătoare asupra organismelor nevizate, implicate în procese biogeochimice, este neglijabil este confirmat și de date obținute în câmp, GA21 fiind în culturi comerciale din anul 2000. De altfel, plantele tolerante la glifosat au fost create pentru a oferi fermierilor un mijloc de a produce folosind un erbicid selectiv pentru a combate eficient buruienile. Adoptarea pe scară mare a sistemului cu lucrări minime ale solului va duce la reducerea eroziunii solului, la diminuarea cantităților de nutrienți spălate în apele de suprafață și va genera beneficii importante pentru mediu, mai ales în privința proceselor biogeochimice.

Posibilul impact asupra mediului, ce poate apărea imediat și/sau cu întârziere, produs în mod direct sau indirect, ca urmare a tehnicilor utilizate pentru cultivarea, managementul și recoltarea acestor plante modificate genetic, dacă acestea sunt diferite față de cele utilizate pentru plantele superioare nemodificate genetic. Porumbul GA21 este echivalent cu porumbul netransgenic (excepția caracterului introdus, de toleranță la glifosat). Prin urmare, toate practicile agronomice curente folosite pentru cultura porumbului tradițional rămân aplicabile și la GA21 nefiind necesare tehnici specifice pentru cultivare, management și recoltare.

Numele, identitatea și clasificarea, dacă există, ale nivelului de securitate biologică a organismului viu modificat în statul de export sau de origine.

Porumbul GA21, modificat genetic pentru toleranță la glifosat. Codul unic de identificare pentru evenimentul de transformare GA21 este MON-00021-9.

Poziția taxonomică, numele comun, punctul de colectare sau de achiziție și caracteristicile organismului receptor sau ale organismelor parentale din punctul de vedere al securității biologice

Familia: *Poaceae* cunoscut și sub denumirea de *Gramineae*

Genul: *Zea*

Specia: *mays* L.

Subspecia: *mays*

Cultivar/linia: variate

Numele comun: Porumb

Centrul de origine și centrele de diversitate genetică, dacă sunt cunoscute, ale organismului receptor și/sau ale organismelor parentale și o descriere a habitatelor în care organismul (viu) modificat genetic poate persista sau prolifera. Porumbul are, ca origine probabilă, America Centrală cu cel puțin 5000 de ani în urmă. Porumbul se cultivă pe aproximativ 147 milioane de hectare, în întreaga lume (FAO, 2005), în condiții climatice foarte variate, de la 30ș latitudine nordică la 55ș latitudine sudică. Sub nivelul mării, în câmpiile Mării Caspice, și la altitudinea de 3000m, în munții Anzi. În regiuni semiaride și în regiuni foarte aride. Majoritatea culturilor se realizează însă până la latitudinea de 47⁰. Singurele specii sălbatice (buruiană) compatibile sexual aparțin genului *Tripsacum* și *Euchlaena* (teosinte). Teosintul crește numai în Mexic și Guatemala; speciile aparținând genului *Tripsacum* se găsesc din zona Mexicului până în Brazilia și părțile vestice și estice ale Statelor Unite ale Americii. Porumbul nu poate supraviețui fără ajutorul omului și ca buruiană datorită selecției suferite în cursul evoluției.

Poziția taxonomică, numele comun, punctul de colectare sau de achiziție și caracteristicile organismului (organismelor) donor din punctul de vedere al securității biologice.

Oryza sativa L.: donatorul promotorului provenit de la gena actinei 1, a primului exon și intron.

Zea mays L.: donator al unei regiuni din peptida tranzit și a genei *epsps* modificate.

Helianthus annuus: donator al unei regiuni din peptida tranzit.

Agrobacterium tumefaciens: donatorul secvenței de terminare *nos 3'*.

Descrierea acidului nucleic sau a modificării introduse, tehnica utilizată și caracteristicile obținute de organismul (viu) modificat genetic Evenimentul de transformare GA21 este un porumb modificat genetic (MG) care sintetizează o enzimă 5-enolpiruvatșikimat-3-fosfat sintaza mutantă (EPSPSm). Proteina EPSPS este o enzimă-cheie în calea biochimică a acidului șikimic, de biosinteză a aminoacizilor aromatici (fenilalanină, tirozină, triptofan), și se găsește în mod natural în toate plantele, în fungi și în bacterii, dar este absentă la animale. Proteina EPSPS este foarte sensibilă la acțiunea produselor erbicide ce conțin glifosat. Plantele de porumb transformate cu gena *epsps* mutantă (*epspsm*), precum cele derivate din evenimentul de transformare GA21, sintetizează proteina EPSPSm care le conferă toleranță la produsele erbicide ce conțin glifosat. Modificările făcute la nivelul genei *epsps* izolată de la porumbul de tip sălbatic au avut drept scop sinteza unei proteinei EPSPS care să confere plantelor modificate genetic rezistență la produsele erbicide ce conțin glifosat. Evenimentul de transformare GA21 a fost obținut prin bombardarea culturilor de celule de porumb în suspensie cu microproiectile. Metoda este descrisă în Patentul Internațional nr. PCT/US98/

Utilizarea propusă a organismului (viu) modificat genetic sau a produselor rezultate din acesta, adică produsele procesate care sunt obținute din OMG, care conțin combinații noi detectabile de material genetic replicabil, obținute prin utilizarea tehnicilor biotehnologiei moderne. Testarea în câmp a porumbului GA21, modificat genetic pentru toleranță la glifosat, în vederea obținerii unor informații suplimentare cu privire la performanțele și compatibilitatea acestui eveniment cu mediul, în condițiile din Europa, și pentru a produce material biologic necesar efectuării unor analize comparative în laborator. Testarea va permite, de asemenea, evaluarea în timp a comportării evenimentului de transformare GA21 în mediu și condițiile geoclimatice din regiunea respectivă.

Alte informații fac referire la:

- Cantitatea sau volumul de organisme modificate genetic ce urmează să fie importate/exportate.
- Metode recomandate de manipulare, depozitare, transport și utilizare în siguranță, incluzând ambalarea, etichetarea, documentația, eliminarea și proceduri alternative, după caz.
- Regimul juridic al organismului (viu) modificat genetic în regimul de export (de exemplu: dacă este interzis în regimul de export, dacă există alte restricții sau dacă acel organism are aprobare pentru introducere generală în mediu) și dacă organismul modificat genetic este interzis în regimul de export, motivul sau motivele pentru această interdicție etc.

4.3. Coexistența OMG-urilor cu non-OMG-urile în agricultură

Conceptul de coexistență se referă la consecințele economice determinate de contaminarea unei culturi cu material de la o altă cultură și la libertatea de alegere de către fermieri privind cultivarea culturilor agricole: transgenice, convenționale sau ecologice în conformitate cu legislația relevantă a UE privind etichetarea și/sau standardele de puritate. Prevederile UE prevăd etichetarea pentru 0,9% prezență a materialului GM în produsele non-MG. Deoarece practicile agricole nu se desfășoară într-un mediu închis, măsuri tehnice și de organizare adecvate din timpul cultivării, recoltării, transportului și depozitării sunt necesare pentru a asigura coexistența.

Conform documentului Comisiei Europene 2003/556/CE¹, nici o formă de agricultură, fie ea convențională, ecologică sau transgenică, nu trebuie să fie exclusă din Uniunea Europeană, iar măsurile de coexistență trebuie să fie dezvoltate de statele membre. Ghidul precizează că acei fermieri care vor utiliza un tip nou de producție trebuie să fie responsabili de implementarea măsurilor necesare de management agricol pentru a limita răspândirea genelor. Mai mult ca atât, deoarece semințele pot fi o sursă de prezență accidentală a OMG-urilor în agricultură, Comisia Europeană recomandă micșorarea valorii-limită pentru prezența accidentală a semințelor MG în loturile de semințe convenționale până la 0,6%. De aceea producerea de semințe trebuie să fie realizată conform cerințelor de coexistență diferite de cele ale producerii culturilor.

În condițiile legislației internaționale actuale, măsurile privind coexistența mai multor culturi se bazează pe experiența statelor membre ale UE, pe teritoriile proprii, reieșind din condițiile geografice, ecologice și climaterice unde polenizarea încrucișată este o problemă-cheie doar pentru speciile originare zonei de cultură. Comisiile de specialitate (UE) evaluează dacă măsurile privind coexistența, propuse la nivel național de o anumită țară, sunt în concordanță cu legislația UE în vigoare, indicând asupra acelor măsuri care pot/nu pot fi legal acceptate.

Coexistența diferitor metode de cultură nu este un concept nou pentru comunitatea din agricultură. ISF² (International Seed Federation) consideră cultura plantelor modificate genetic ca făcând parte din agricultura convențională, așa cum de fapt este recunoscută în țările unde agricultura transgenică reprezintă o pondere importantă: Canada, SUA, China, Argentina etc. Luând în considerare aceste abordări, un consorțiu nou JRC/IPTS-ESTO³ a fost format în 2003 cu scopul de a efectua noi studii de caz privind posibilitatea de coexistență a sistemelor de producție OMG și non-OMG în aceeași regiune cu o probabilitate minimă de contaminare accidentală prin adaptarea practicilor agricole, în funcție de caz.

Principalele prerogative au fost:

- Identificarea măsurilor agronomice care să asigure coexistența, pentru a putea fi implementate de fermierii ce cultivă OMG-uri și evaluarea aspectelor tehnico-economice ale aplicării acestora.

¹ „Guidelines for the development of national strategies and improved practices to guarantee coexistence between conventional agriculture, agriculture using biological methods and genetically modified cultures“.

² www.worldseed.org/

³ Joint Research Centre (DG JRC) Institute for Prospective Technological Studies. <http://www.jrc.es>, Technical Report EUR 22102 EN.

– Estimarea dimensiunilor suprafeței utilizate în analiza răspândirii genelor și nivelurile de prezență accidentală a culturilor MG în cele non-MG. De asemenea, simularea în terenuri agricole reale cu scopul de a determina eficiența aplicării măsurilor de coexistență.

– Investigarea privind corelația dintre gradul de puritate a semințelor inițiale și nivelul final al prezenței întâmplătoare a materialului MG în recoltele obținute.

– Studiul menținerii prezenței întâmplătoare a culturilor MG în perioade mari de timp. Acest fapt este relevant pentru culturile ce produc semințe cu o longevitate și perioadă de latență mare.

Studii de caz privind coexistența mai multor tipuri de culturi au vizat producerea de semințe și obținerea de recolte a porumbului MG, sfecla-de-zahăr MG și bumbacul MG – specii solicitate pentru cultivare în UE și mai multe modele experimentale ale fluxului de gene, în special două modele: **MAPOD** și **GeneSys**⁴. Studiile au avut la bază două scheme de analiză a prezenței de 10% și 50% OMG-uri în cultura convențională, trei sisteme agricole de producere bazat pe OMG-uri, convențional și organic, precum și diverse niveluri de prezență întâmplătoare a OMG-urilor: 0,1% și 0,9% pentru obținerea de recolte agricole și 0,1%, 0,3% și 0,5% pentru producția de semințe. Prezența întâmplătoare este cuantificată prin procentul de semințe sau rădăcini ale PMG-urilor în recoltele finale de culturi non-MG. Au fost testați mai mulți factori cu incidență privind coexistența: izolarea spațială și temporală, caracteristici ale terenurilor de cultivare cu plante convenționale și transgenice.

- **Izolarea spațială** dintre culturile MG și non-MG trebuie să se realizeze pe anumite distanțe suficient de mari pentru a evita contaminarea prin polenizare încrucișată. Distanțele de izolare variază de la caz la caz, în funcție de caracteristicile parcelei (suprafața, perimetrul etc.) și de terenurile agricole care înconjoară câmpul experimental, fig. 4.1.

- **Izolarea temporală** poate fi realizată prin cultivarea culturilor cu diferite perioade de vegetație, una înflorind mai devreme decât cealaltă. Este mai ușor de a respecta această cerință printr-un sortiment de varietăți decât prin semănatul în perioade de timp diferite. Caracteristicile de climă ar putea limita această practică prin numărul de zile favorabile pentru semănat sau sincronizarea perioadei de înflorire (alternarea temperaturilor înalte cu cele scăzute). Se consideră că această practică agricolă poate fi mai ușor de implementat în Europa de Sud.

- **Forma și distribuția spațială** a suprafețelor pentru cultivare cu plante MG și non-MG se determină în perioada semănatului. Pentru limitarea fluxului de gene (prin polen) din câmpul MG în cel convențional se procedează la delimitarea unei zone de dimensiuni variabile în jurul câmpului cu PMG-uri de pe care nu va fi strânsă

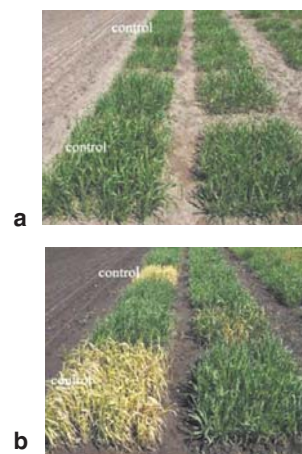


Fig. 4.1. Izolarea spațială – criteriu obligatoriu privind coexistența culturilor nontransgenice (a) și transgenice (b)

⁴ Messean A., Angevin F., Gymez-Barbero M., Menrad K. and E. Rodryguez-Cerezo. New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture. Joint Research Centre (JRC), European Commission, January 2006.

recolta. Această separare în recoltarea plantelor netransgenice, inclusiv a celor din zonele-tampon non-MG, trebuie să fie luată în considerare atunci când e vorba de costul acestor practici. Recolta de pe zona-tampon și cele de la periferia câmpului cu plante convenționale vor fi comercializate tot ca și culturi MG. De asemenea, fenomenul de sterilitate citoplasmatică ar putea fi practicat în asigurarea coexistenței culturilor MG și non-MG. În consecință, costul acestor practici va depinde de diferența dintre costul de comercializare a plantei MG și non-MG.

O situație simplă a prezenței unui câmp MG lângă câmp non-MG care poate îndeplini cerințele privind coexistența (limita de contaminare să fie inclusă între 0,1 % - 0,9%) este prezentată în fig. 4.2.

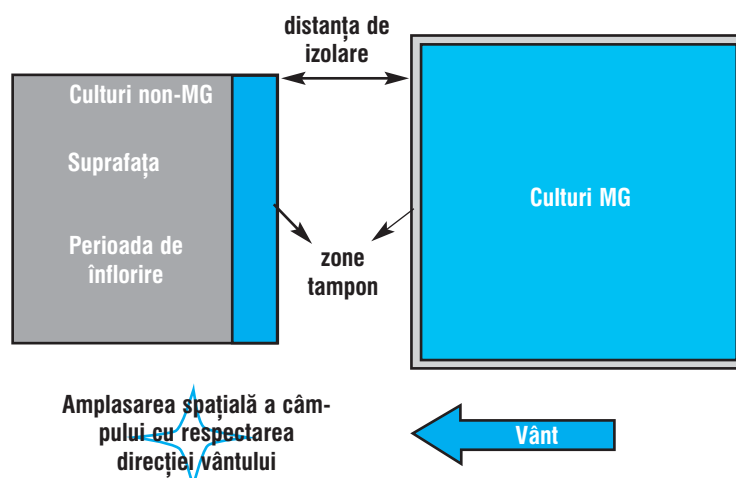


Fig. 4.2. Prezentare a unei corelații dintre factorii care pot asigura coexistența dintre culturile modificate genetic și convenționale

În urma unei analize a combinației de factori: amplasarea câmpului în raport cu direcția vântului, dimensiunea relativă a câmpului, perioada de înflorire diferită, zonă-tampon non-MG și distanța de izolare în cazul coexistenței culturilor de porumb transgenic și netransgenic, s-a constatat că vântul este factorul principal în polenizarea încrucișată a acestei culturi. Posibilitatea de a întârzia procesele de înflorire este al doilea factor esențial, pe când distanțele de izolare și zonele-tampon non-GM au un impact mai mult sau mai puțin asemănător. Astfel, pot fi experimentate diferite situații pentru a selecta combinația de practici agricole cea mai favorabilă. De exemplu, dacă câmpul cu plante transgenice este amplasat strict în direcția vântului, o distanță de izolare de 20 m va fi suficientă pentru a menține un nivel de contaminare cu MG mai mic de 0,9% a câmpului cu non-GM cu o suprafață mai mare de 5 ha. Un alt exemplu: dacă o parcelă de 15 ha cu PMG amplasată în amonte față de câmpul non-MG de 4 ha, o distanță de izolare de 50 m ar fi suficientă pentru a asigura un nivel de contaminare nu mai mare de 0,9%, chiar dacă varietățile înfloresc în aceeași perioadă. Datorită variabilității interregionale (condiții climaterice, dimensiunile terenurilor de cultivare și amplasarea lor în contextul altor terenuri agricole), combinația de factori ai coexistenței se va modifica de la o regiune la alta.

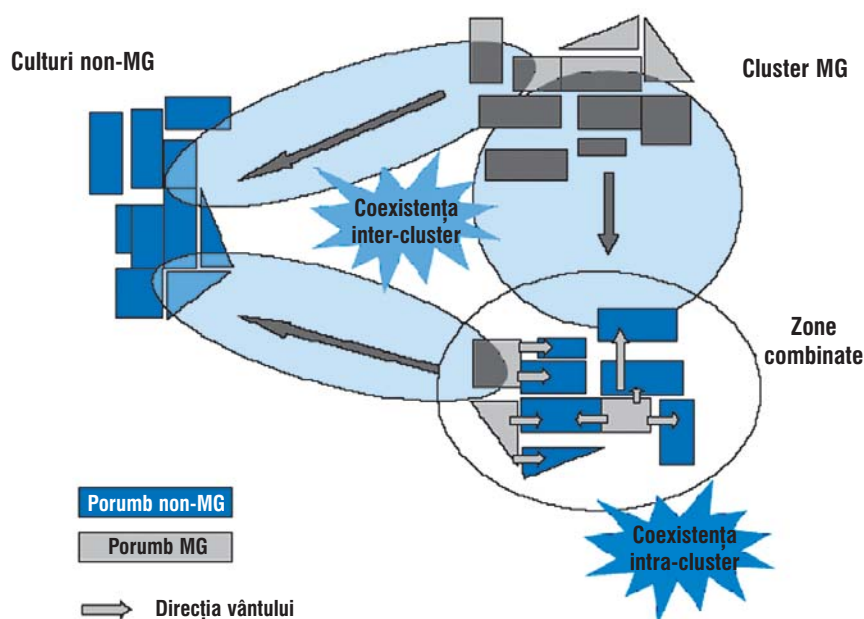


Fig. 4.3. Coexistența culturilor MG în cadrul clusterelor

O altă situație a coexistenței care trebuie luată în considerare este atunci când sunt mai multe terenuri cu PMG-uri formând clustere de dimensiuni și forme variate în funcție de tipul de sol, strategiile de irigare, particularitățile landşaftului geografic, fig.4.2.

Coexistența culturilor în cadrul clusterelor este în funcție de asociere și activitatea coordonată a lucrărilor agrotehnice de către fermierii care dețin aceste suprafețe. Pot fi cel puțin două cazuri: coexistență inter-cluster, atunci când fermierii se asociază între ei și seamănă aceeași cultură MG sau non-MG, și coexistență intra-cluster, atunci când în cadrul aceluiași cluster sunt semănate culturi convenționale și MG. În cazul inter-cluster, distanțele de izolare dintre clustere sunt destul de mari pentru a menține polenizarea încrucișată la un nivel scăzut.

Un studiu al acestor interrelații în contextul factorilor de coexistență importanți (direcția și intensitatea vântului în perioada de înflorire) efectuat timp de zece ani a demonstrat că pentru cazurile „inter-cluster“ în care câmpurile MG și non-MG se află în clustere separate (fig. 4.3.), limita de contaminare întâmplătoare de 0,9% este menținută în situațiile în care tehnica agricolă (mașini, tractoare, combine) a corespuns standardelor și a fost curățată după fiecare utilizare.

La situațiile intra-cluster cu un număr mare de câmpuri adiacente, valoarea de 0,9% nu poate fi menținută, nici chiar în cazul terenurilor agricole unde se folosesc camioane diferite. S-a constatat că coexistența este posibilă și mult mai ușor de administrat doar atunci când mai multe terenuri cu PMG-uri sunt grupate în clustere izolate (50% din total și nu dispersate a câte 10% - situație intra-cluster), iar fermierii colaborează între ei și activează coordonat.

Efectul zonelor tampon non-MG în câmpurile MG este esențial numai atunci când câmpurile MG sunt localizate unul în apropierea celuilalt în cadrul aceluiași cluster. Zonă tampon în anumite cazuri poate reduce prezența MG în câmpuri non-MG, fiind menți-

nută limita de 0,9% în cadrul clusterelor. În situația în care vântul bate dinspre câmpul MG spre cel non-MG și nu există o izolare temporală asigurată de întârzierea perioadei de înflorire, o zonă-tampon non-MG de 18 m nu va fi eficientă.

Efectele economice depind de lățimea zonei-tampon non-MG, dimensiunea relativă a câmpurilor MG și non-MG și diferența de preț dintre planta MG și non-MG. Pierderea unei fâșii mari de la margine (asociată cu pierdere de recoltă) ar putea fi redusă esențial dacă câmpurile ar fi aranjate în cluster, existând astfel doar o zonă-tampon non-MG în jurul clusterului și nu în jurul fiecărui teren cultivat.

Conceptul de coexistență este cu siguranță același pentru statele Uniunii Europene. Cu toate acestea, există diferențe importante la nivel național, în special în ceea ce privește distanțele dintre culturi. Distanțele de izolare dintre cultura modificată genetic și cea convențională, propuse de statele Uniunii Europene, diferă foarte mult, de la 1,5 m (Olanda) la 2000 m (Luxemburg) pentru sfecla-de-zahar sau de la 25 m (Olanda, Suedia) la 800m (Ungaria, Luxemburg) pentru porumb.

În linii generale, se consideră că asigurarea coexistenței între culturile MG și cele convenționale poate fi obținută prin respectarea unui set de măsuri care pot fi aplicate cu succes de fermieri, fig. 4.4.

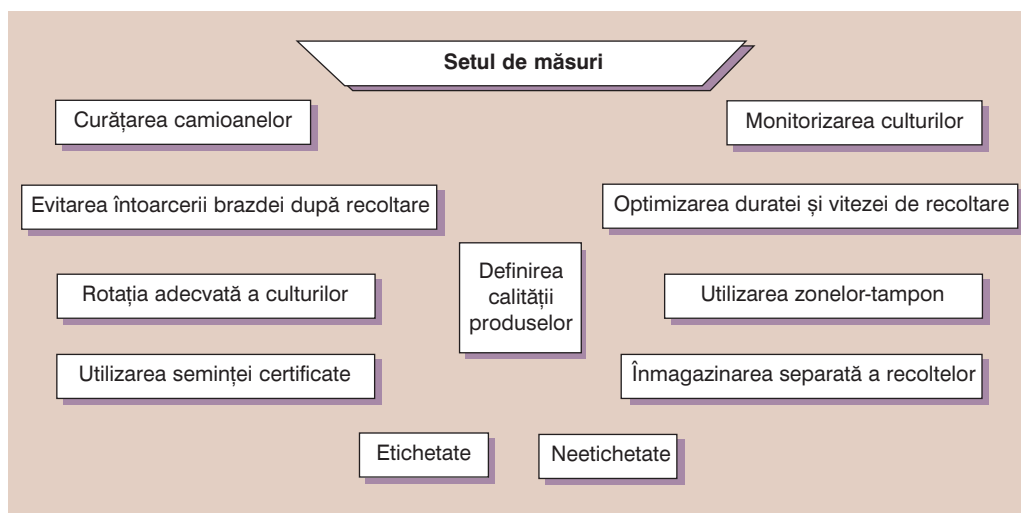


Fig. 4.4. Asigurarea coexistenței între culturile MG și cele convenționale

Elucidarea posibilităților și condițiilor de coexistență a culturilor de plante modificate genetic cu culturile convenționale și cele ecologice în vederea constituirii de agrosisteme complexe, excluzând riscurile de flux genetic rămâne a fi un subiect fierbinte al tuturor factorilor de decizie privind securitatea biologică.

Capitolul 5.

MANAGEMENTUL SUBSTANȚELOR CHIMICE ȘI AL DEȘEURILOR CU PERICOL BIOLOGIC

5.1. Hazardul chimic asociat cu activități de laborator

În laboratoarele biologice, lucrătorii sunt expuși atât hazardului biologic, cât și celui chimic. Este important ca ei să posede cunoștințe adecvate privind efectele toxice ale substanțelor chimice, căile de expunere și pericolele care pot fi asociate utilizării și stocării acestora (Anexa 2). Date privind siguranța materialelor sunt disponibile de la producătorii și/sau furnizorii de substanțe chimice. Acestea ar trebui să fie accesibile în laboratoarele unde sunt folosite, ca parte a unui manual de siguranță sau cod de practici. Expunerea la substanțele chimice poate avea loc prin:

- inhalare;
- contact direct;
- ingestie;
- înțepături de ac;
- leziuni cutanate.

Toate activitățile omului își au gradul lor de risc, inclusiv cele ce presupun expoziția omului la diverse substanțe chimice. Riscul poate fi exprimat în termeni cantitativi, începând cu zero (certitudinea absenței a orice fel de injurii) și terminând cu unu (certitudinea existenței a unei astfel de probabilități), însă estimarea valorii acestuia nu e un lucru ușor. În majoritatea cazurilor riscul poate fi estimat doar în mod calitativ, ca risc de nivel „major“, „minimal“ sau „neglijabil“.

Noțiunea de risc presupune probabilitatea unor afecțiuni, boli sau decese în circumstanțe speciale. Informația despre proprietățile toxice ale substanțelor chimice survine din experiențe cu animale, din investigații epidemiologice analitice și descriptive ale populației și din studiile clinice cu cazuri concrete în acest sens. Informația suplimentară despre toxicitatea chimică poate fi obținută apelându-se la modele experimentale cu sisteme biologice studiate în afara organismului (cu organe izolate, celule sau alte componente celulare) și prin analiza structurii moleculare a substanțelor respective.

Principalul procedeu de elucidare a relațiilor cauzale între expozițiile specifice la factorii chimici și efectele nocive asupra sănătății omului îl constituie studiile epidemiologice analitice care sunt aplicate pentru a verifica anumite ipoteze, apelându-se la metodele de monitorizare. Studiile de monitorizare sunt inevitabile, dat fiind că metodele experimentale la om sunt impracticabile sau neetice în ceea ce privește evaluarea agenților sau a expoziției cu efecte potențial adverse. Acestea includ examinarea cazurilor de boală a persoanelor expuse selectiv sau accidental la anumiți agenți biologici sau chimici în comparație cu starea persoanelor similare care nu sunt expuse factorilor examinați. Un alt procedeu este studiul comparativ al persoanelor afectate de o anumită maladie cu persoane similare fără această maladie pentru a elucidă efectul unei expoziții din trecut la factorii de mediu suspectați (studiile caz-control). O metodă suplimentară este studiul în secțiune transversală, în care persoanele sunt selectate indiferent de valoarea expoziției sau de starea sănătății.

Un factor determinant al toxicității este modul de pătrundere și de metabolizare a substanței chimice în organism. Substanța chimică poate pătrunde prin ingestie cu alimentele sau apa, nimerind în tractul gastrointestinal. Atunci când e prezentă în aer sub formă de gaz, aerosol, particule, praf, abur etc., ea pătrunde în căile respiratorii superioare, iar apoi în plămâni. Substanța chimică poate intra în contact cu învelișul cutanat sau cu mucoasele organismului atât în mod direct, cât și printr-o varietate de stări fizice (lichide, solide). Unii agenți chimici pot cauza leziuni toxice în punctul de contact inițial (piele, tractul gastrointestinal, căile respiratorii superioare, plămâni, ochi). În concentrații mari, majoritatea substanțelor chimice produc cel puțin iritații în punctele de contact. Multe însă, își manifestă toxicitatea după ce au traversat anumite bariere biologice (de exemplu, peretele tractului gastrointestinal, învelișul cutanat) pătrunzând în sânge sau în limfă și ajungând la diverse organe sau sisteme ale organismului. Figura 5.1. prezintă o diagramă a celor mai importante căi de absorbție. Distribuția substanțelor chimice poate fi diferită ca și excreția lor (deși unele substanțe chimice, de regulă, cele solubile în grăsimi, se pot depozita pe timp îndelungat mai ales în țesutul adipos, evitând în mare măsură excreția).

Cunoașterea cât mai profundă a fenomenului toxicității chimice necesită o cercetare minuțioasă a metabolismului agenților suspectați. Caracteristicile toxice ale acestora se clasifică, de obicei, conform organelor sau sistemelor pe care le afectează (de exemplu, ficatul, rinichii, sistemul nervos), sau conform tipului de toxicitate pe care îl provoacă (cancer, defecte congenitale). De menționat că substanțele chimice deseori afectează câteva organe și pot cauza diferite tipuri de toxicitate în unul și același organ. Natura și nivelul efectului toxic sunt rezultante ale concentrației substanței chimice, duratei expoziției și modalității expoziției.

Transformarea biochimică a unei substanțe în alta în scopuri de nutriție, depozitare, detoxicare sau excreție se realizează în ficat. Ficatul dispune de mecanisme multiple pentru fiecare din aceste procese, or, afectarea unuia dintre ele se poate solda cu efect toxic. Substanțele chimice care afectează ficatul se numesc hepatotoxice. Punctele finale toxice în ficat pot fi acumularea de lipide, instalarea icterului, necroza, ciroza și cancerul. De asemenea, substanțele chimice pot spori activitatea enzimelor metabolice, afectând astfel metabolismul altor compuși care ar putea genera intermediari toxici. Câteva exemple clasice de agenți hepatotoxici sunt tetraclorura de carbon, cloroformul, tricloretilena, alfatoxina etc.

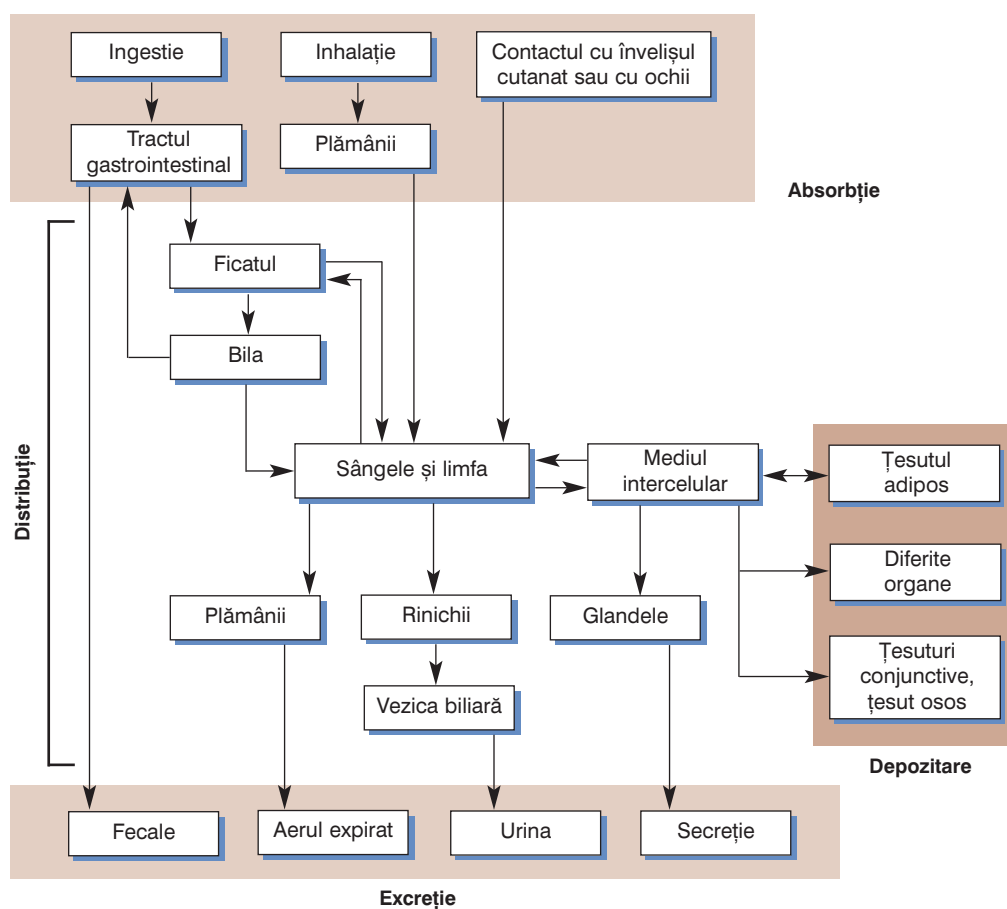


Fig. 5.1. Absorbția, distribuția, metabolismul și excreția substanțelor

Rinichii, în calitate de organ cu funcția centrală de eliminare a substanțelor toxice și a altor deșeururi, pot fi comparați cu un filtru complex și sofisticat. Aceste organe similare ficatului pot metaboliza și detoxifica unele substanțe chimice, deși rata metabolismului lor este mai mică. Substanțele chimice care afectează rinichii (de exemplu, cadmiul, mercurul, tetraclorura de carbon, cloroformul) se numesc substanțe toxice renale. Unele dintre ele pot provoca moartea celulelor (necroza) sau cancer. Deoarece rinichii prelucrează un volum mare de sânge, primul nivel al susceptibilității lor ține de afecțiunile curentului de sânge și urină datorate formării calculilor renali. Aceste formațiuni apar sub influența directă a unor substanțe chimice sau prin modificări histologice provocate de factorii nocivi soldate cu dilatarea sau contractarea canaliculelor renale.

Plămâni asigură schimbul de oxigen și bioxid de carbon între sânge și aer, facilitând pătrunderea și eliminarea din organism a altor substanțe. Afecțiunile pulmonare includ iritarea și contractarea căilor respiratorii, necroza celulelor, edemul (acumularea excesivă a lichidului), fibroza și cancerul. Expoziția la substanțe chimice iritante pentru plămâni ca, de exemplu, la amoniac și clor se poate solda cu disconfort respirator. Deși efectele expoziției la iritanți sunt, de obicei, reversibile, expoziția cronică poate provoca modificarea persistentă a celulelor.

Efectele toxice asupra sistemului reproductiv se manifestă prin scăderea capacității de concepție (fertilitatea redusă), incapacitatea de supraviețuire a embrionului sau fătului și nașterea unor urmași cu anomalii (efecte teratogene). Moartea organismului conceput, indiferent dacă s-a produs la etapa timpurie de embrion sau la o etapă mai târzie de făt, poate fi cauzată de un șir de factori, inclusiv de anumite substanțe chimice, denumite respectiv embriotoxice sau fetotoxice.

Pielea (învelișul cutanat) e o barieră biologică între organism și mediul extern. Totodată, pielea poate servi și drept poartă de acces pentru unele substanțe toxice. Cele mai răspândite reacții prin expoziția pielii la factorii chimici sunt iritarea, erupțiile, foliculita (inflamarea foliculilor piloși) și acneea. O formă deosebită a acneei este cloracneea, deseori provocată de expoziția la unele hidrocarburi cu clor. Unele substanțe pot modifica pigmentarea pielii. Alte reacții toxice ar fi cheratoza (durificarea sau formarea de crustă) sau ulcerările și cancerul dermal. Cea mai răspândită cauză a cancerului dermal e radiația ultravioletă excesivă (razele de soare).

Anumite substanțe chimice toxice, numite neurotoxine (alcoolul, acrilamida, compuși ai mercurului etc.) pot deregla controlul reflexelor, obținerea informației senzoriale etc. Afecțiunea se poate produce la nivelul celulelor creierului sau al altor celule nervoase (neuropatii), prezente în întreg organismul și în punctele de contact neuron-neuron și neuron-mușchi. Deși e recunoscut că la acțiunea substanțelor chimice pot apărea dureri de cap, oboseală sau iritabilitate, e greu de determinat dacă aceste simptome sunt într-adevăr cauzate de expoziția la agenți chimici sau că apar din cauza lipsei de somn, depresia sau altor factori. Totuși aceste simptome pot servi deseori drept un prim semnal privind nocivitatea expoziției la o anumită substanță chimică.

Expoziția la un agent toxic din mediu poate stimula sau suprima sistemul imun. Substanțele chimice pot stimula reacții imunologice prin mai multe moduri ca, de exemplu, prin declanșarea de reacții alergice, sau prin stimularea producerii unor substanțe chimice precum interferonul. Alte substanțe toxice pot suprima reacția imună, soldându-se cu o susceptibilitate sporită la infecții și la unele forme de cancer.

Condiția esențială pentru metabolismul biochimic la toate nivelurile de organizare a materiei vii – celule, țesut, organ, sistem de organe și organism – reprezintă integritatea materialului genetic care de asemenea poate fi afectată de agenți toxici. Toxicitatea genetică se prezintă ca punct final important al controlului toxicității. Afecțiunile pot surveni în diverse forme, spre exemplu, prin modificarea compoziției chimice, structurii fizice a ADN-ului precum și prin adăugarea sau pierderea unor fragmente sau cromozomi întregi (mutații, afecțiuni clastogene și aneuploidie). Substanțele chimice de toxicitate genetică pot provoca mai multe efecte având drept consecință funcționarea neadecvată a celulelor ce se poate solda cu moartea, sau transformarea ei canceroasă. Toxicitatea genetică provocată de o substanță chimică nu se manifestă neapărat printr-un evident efect genetic, deoarece o mare parte de ADN din diferite tipuri de celule se află în stare inactivă. De exemplu, celulele pielii, deși dispun de informație pentru sinteza hemoglobinei, nu o sintetizează și dacă aceste gene vor fi afectate, în celulele pielii efectul nu se va manifesta. Asemenea evenimente se numesc mutații „ascunse”. În ultimii ani s-au făcut multe experiențe de toxicologie genetică. Acestea în majoritatea cazurilor se efectuează *in vitro* prin cultivarea celulelor în mediul nutritiv lichid. Aceste teste își găsesc deseori aplicarea în calitate de analiză de control de scurtă durată pentru cancerogeneză pe baza corelației observate între cancerogeneză și mutageneză. Testele de scurtă durată cer mai puțin timp și

sunt mai puțin costisitoare, decât testele tradiționale de cancerogeneză în experiențele cu animale. De obicei, testele de scurtă durată necesită de la câteva zile până la câteva luni, spre deosebire de testele cancerigene tradiționale cu durata de câțiva ani. În prezent însă, nici unul din aceste teste nu e considerat suficient de concludent pentru cancerogeneză sau toxicitate reproductivă din partea unui anumit agent sau pentru capacitatea acestuia de a produce efecte adverse asupra generațiilor următoare, constituind doar instrumente utile de cercetare și de control general.

Estimarea (evaluarea impactului, determinarea dozei-efect, caracteristici) și gestionarea riscului includ metodele economice de apreciere a eficienței măsurilor de reducere a hazardului, informarea și instruirea persoanelor cu funcții de răspundere, a populației și acordarea asistenței juridice tuturor categoriilor sociale privind asigurarea dreptului lor la un mediu de muncă și de trai favorabil.

5.2. Principii de stocare a deșeurilor

Deșeuri de laborator sunt considerate produsele unei activități de cercetare care nu mai sunt utile în continuare. Potențiali generatori de reziduuri cu hazard sunt persoanele care lucrează cu reagenți chimici și agenți biologici, tab. 5.1.

Tabelul 5.1. Reziduuri de natură chimică, fizică și biologică

DEȘEURI REZULTATE DIN ACTIVITĂȚI CU AGENȚI BIOLOGICI	REZIDUURI DE NATURĂ CHIMICĂ ȘI FIZICĂ
Organisme cu ADN recombinat (bacterii, plante, animale).	Material radioactiv.
Medii de cultură cu agenți infecțioși (bacterii, virusuri, funghi, prioni).	Lichide inflamabile, precum solvenții nehalogenați.
Material biologic care poate conține agenți potențiali infecțioși.	Lichide corozive, acizii și bazele tari.
Sol, plante și patogeni care fac parte din clasele 2, 3 și 4 de risc.	Oxidanți solizi.
	Metale grele și substanțe organice halogenate.
	Grăsimi și uleiuri.
	Veselă de laborator și alte materiale și instrumente contaminate (pipete din masă plastică, tipuri de pipete, cești Petri, tuburi de centrifugare, tuburi eppendorf, mănuși de unică folosință).

Fiecare angajat al laboratorului de cercetare sau diagnostic trebuie să cunoască substanțele cu hazard și clasa de risc a acestora. De asemenea, este important de știut care sunt reacțiile chimice ale substanțelor și materialelor implicate în activitate, producții de reacție, precum și potențialele reacții de obținere a componentelor intermediare cu alte caracteristici. O sursă de informații care ne poate ajuta în identificarea hazardului chimic reprezintă caracteristica reagentului din *Fișa de siguranță a materialului* (Material Safety Data Sheet). De regulă, persoanele care nu au o pregătire specială (cursuri de specialitate, stagieri) nu sunt admise în activitățile cu agenți biologici/ chimici cu hazard sau care pot genera deșeuri periculoase. Odată ce un produs secundar al activității este format, acesta trebuie să fie declarat ca deșeu și să fie posibil de reciclat sau reutilizat în baza unor proce-

duri stabilite anterior. Cerințele de reciclare și reutilizare pot fi foarte dificile și trebuie să fie elaborate înainte de generarea deșeurilor, altfel s-ar putea întâmpla că deșeurile vor fi stocate în mod ilegal sau în condiții inadmisibile.

Gestionarea deșeurilor periculoase are la bază două criterii generale: caracterizarea deșeurilor și monitorizarea acestora prin înregistrarea lor într-un registru special. Personalul implicat în gestionarea deșeurilor utilizează aceste criterii pentru stabilirea stocării, tratării și eliminării reziduurilor periculoase. Containerul cu reziduuri trebuie să fie etichetat ca „Deșeuri Periculoase” și să fie gestionat corespunzător. În cazul în care nu se știe sigur dacă deșeurile sunt periculoase, trebuie etichetate deșeurile și anunțată persoana responsabilă.



Fig.5.2. Semnul de avertizare:
Inflamabil



Fig. 5.3. Semnul de avertizare: **Coroziv**



Fig. 5.4. Semnul de avertizare: **Reactivitate înaltă**



Fig.5.5. Semnul de avertizare:
Toxic

Caracteristica deșeurilor chimice și semnele utilizate. Deșeurile se consideră periculoase în baza proprietăților specifice ale materialului. Cele patru proprietăți de bază care pot defini un deșeu caracteristic sunt inflamabilitatea, corozivitatea, reactivitatea și toxicitatea.

■ **Inflamabile, fig. 5.2.**

- lichid cu un punct de aprindere mai mic de 60°C;
- gaz comprimat inflamabil;
- oxidant;
- nu este un lichid și poate produce incendiu prin fricțiune sau modificări chimice spontane.

Exemple:

- *lichide inflamabile:* acetonă, acetonitril, benzen, hexan, metanol, etanol, izopropanol, toluen, xilen;
- *gaze comprimate inflamabile:* hidrogen, metan, acetilenă, propan, butan, cutii de vopsea spray;
- *oxidanți:* persulfat de amoniu, nitrat de sodiu, permanganat de potasiu, perclorat de sodiu, peroxid de hidrogen (soluție apoasă mai mare sau egală cu 8%), peroxid de potasiu.

■ **Corozie, fig. 5.3.** Un deșeu este corosiv dacă:

- este o soluție apoasă și are un pH ≤ 2 sau $\geq 12,5$;
- este lichid și ruginește oțelul la o rată mai mare de 2,5 cm pe an într-un test standard de corosivitate;
- nu este o soluție apoasă, dar atunci când este amestecat cu o masă echivalentă de apă formează o soluție cu pH ≤ 2 sau $\geq 12,5$.

Exemple:

- Acid clorhidric, acid sulfuric, acid nitric, acid percloric, acid acetic, soluție de hidroxid de sodiu, soluție de hidroxid de potasiu.

■ **Reactivitate înaltă**, fig. 5.4. Un deșeu este înalt reactiv în cazul în care:

- este instabil și suferă rapid o schimbare violentă fără a detona;
- reacționează violent cu apa;
- formează cu apa amestecuri potențial explozive;
- generează gaze toxice, vapori sau miros în amestec cu apa;
- conține cianuri sau sulfuri și poate genera gaze toxice atunci când este expus la condiții pH între 2 și 12,5;
- este exploziv în condiții de temperatură și presiune standard sau poate exploda dacă este expus la o sursă de inițiere puternică sau dacă este încălzit în condiții izolante.

Exemple:

- sodiu metallic, potasiu metallic, litiu metal, acid sulfuric concentrat, trinitrobenzen, azide metalice, amide.

■ **Toxicitate**, fig. 5.5. Un deșeu este toxic dacă:

- elimină suficiente cantități de metale sau substanțe organice toxice specifice în teste standard;
- are LD_{50} (ingestie) la mai puțin de 2500 miligrame pe kilogram;
- are LD_{50} (dermică) la mai puțin de 4300 miligrame pe kilogram;
- are LC_{50} (inhalare) la mai puțin de 10 000 părți pe milion de gaz sau vapori;
- are LC_{50} (acvatic) timp de 96 de ore la mai puțin de 500 miligrame pe litru într-un test standard de toxicitate;
- conține substanțe cancerigene specifice cunoscute omului, într-o cantitate egală sau mai mare de 0,001% din greutate;
- s-a dovedit experimental pericolul pentru sănătatea umană sau mediu, din cauza carcinogenității, toxicității acute sau cronice, proprietăților bioacumulative sau persistenței în mediu înconjurător.

Exemple de deșeuri toxice:

- deșeuri care conțin următoarele metale sau substanțe anorganice mai sus de limitele specifice: arseniu, bariu, beriliu, cadmiu, crom, cobalt, cupru, plumb, mercur, molibden, nichel, seleniu, argint, talii, vanadiu, zinc, azbest, fluoruri;
- deșeuri care conțin următorii constituenți organici mai sus de limitele specifice: benzen, tetraclorură de carbon, clorură de benzen, cloroform, 1,2-diclorețan, nitrobenzen, piridină, tetracloretilen, triclorețilen.

Deșeurile periculoase rezultate din activități cu agenți biologici reprezintă toate deșeurile ce pot conține patogeni (sau toxinele lor) în concentrație suficientă pentru a cauza boli. Exemple de deșeuri infecțioase includ diferite materiale



a



b

Fig. 5.6. Obiecte ascuțite utilizate în activitatea laboratorului (a) și recipiente speciale, rezistente la astfel de instrumente (b)

ca tampoane, sânge, țesuturi animale, culturi de celule, medii de cultură etc. Seringile și diferite obiecte ascuțite, indiferent dacă sunt infectate sau nu, reprezintă instrumente periculoase și deșeuri potențiali infecțioase, fig. 5.6. Ele trebuie separate, împachetate și operate în mod specific în cadrul laboratorului pentru a asigura siguranța personalului.

Acumularea și depozitarea deșeurilor. Unul din principiile activității de management al deșeurilor chimice presupune reducerea cantității lor. Sugestii de reducere a cantității de deșeuri ar putea fi:

- depozitarea separată a materialelor radioactive și a celor neradioactive, acestea la rândul lor urmând să fie depozitate separat de deșeurile ce prezintă hazard și cele fără hazard;
- fiolele de scintilație care nu prezintă activitate pot fi depozitate separat și prelucrate ca deșeuri neradioactive;
- izolarea solvenților halogenați de cei nehalogenați;
- acumularea cantităților mici de deșeuri cu transferul frecvent al lor din laborator. Aceasta va evita o potențială scurgere/ împrăștiere în laborator;
- cantități minime necesare de produse chimice pentru uz zilnic ar trebui să fie stocate în laborator. Stocurile în masă ar trebui să fie ținute în încăperi sau clădiri special amenajate;
- toate recipientele și containerele prevăzute pentru depozitare trebuie să fie etichetate cu semnul biohazard în scopul evitării generării deșeurilor mixte necunoscute. De asemenea, toate operațiile asupra deșeurilor se efectuează în mănuși, fig. 5.7;
- reciclarea și reutilizarea soluțiilor de colorare/ decolorare și altele utilizate în operații postelectroforetice etc.;



Fig. 5.7. Precauții privind marcarea recipientelor și manipularea deșeurilor

- substituția materialelor cu hazard cu reagenții fără hazard acolo unde este posibil;
- substituția termometrelor cu mercur prin cele cu lichid roșu (alcool) sau digitale când este posibil;
- substituția solvenților de curățare cu detergenți netoxici biodegradabili;
- substituția izotopilor radioactivi prin substanțe fluorescente sau alți compuși neradioactivi;
- proiectarea experimentelor cu utilizarea cantităților minime de materiale radioactive sau periculoase;
- gestionarea centralizată a reagenților și materialelor în laborator, pentru a reduce comenzile duble.

Depozitarea, evacuarea și neutralizarea deșeurilor rezultate în urma desfășurării activității de diagnostic, cercetare sau instruire se fac conform legislației mediului în vigoare. Instituția trebuie să fie racordată la rețeaua de canalizare a orașului sau să dețină instalații proprii de colectare, tratare și evacuare a apelor uzate fără a se produce poluarea solului, apei și aerului. De asemenea, laboratorul trebuie să fie dotat cu o mare varietate de recipiente corespunzătoare cu capac, de metal, polietilenă sau plastic

pentru o bună gestionare a deșeurilor periculoase de natură chimică, biologică sau radioactivă în vederea păstrării, anihilării și transportării acestora, fig. 5.8.

Pungile din polietilenă și diferite boxe speciale sunt elemente necesare în activitatea oricărui laborator.



Fig. 5.8. Exemple de recipiente din polietilenă, polieten, metal, sticlă în funcție de deșeurile acumulate

Deșeurile solide (sticlă, hârtie, plastic) sau cele chimice (reagenți) incompatibile nu trebuie să fie amestecate împreună, tab. 5.2. și fig. 5.9. Reacții chimice necontrolate pot periclita siguranța utilizatorului și a celor din jurul său. Amestecul diferitor tipuri de deșeuri poate, de asemenea, determina o încălcare de regulament.

Tabelul 5.2. Exemple de substanțe chimice incompatibile

TIPUL SUBSTANȚEI	SUBSTANȚE INCOMPATIBILE
Metale alcaline, sodiu, potasiu, cesiu litiu etc. Halogeni Acid acetic, sulfură de hidrogen, hidrocarburi, acid sulfuric	Bioxid de carbon, hidrocarburi clorurate, apă Amoniu, acetilenă, hidrocarburi Agenți oxidanți, acid cromic, acid nitric, peroxizi, permanganati

Azidele, utilizate adesea în soluții bactericide, nu trebuie să vină în contact cu cupru sau plumb (de exemplu, în conductele de deșeuri și instalație), deoarece ele pot exploda violent chiar și atunci când sunt supuse unui impact mic. Eterii care s-au învechit și s-au deshidratat până la cristale sunt extrem de instabili și potențial explozivi. Reziduuri de acid percloric sub formă uscată pe obiectele din lemn, zidărie sau țesătură pot exploda în unele situații, provocând incendiu.

În calitate de generatori de deșeuri periculoase, angajații laboratorului trebuie să înțeleagă măsurile necesare pentru acumularea în condiții de siguranță a deșeurilor. Starea fizică a deșeurilor (solide, lichide, gaze) este esențială pentru caracterizarea și acceptarea deșeurilor pentru tratare și eliminare acestora. De exemplu, dacă un container de deșeuri conține atât substanțe solide, cât și o cantitate de lichid (lichid nelegat de către absorbant), atunci acesta este considerat ca reziduu „lichid“. Este permis de a marca recipientul cu deșeuri atât ca „solid“, cât și ca „lichid“. În primul rând, trebuie să se asigure că containerul și capacul sunt corespunzătoare cu deșeurile introduse. De asemenea, trebuie



Fig. 5.9. Depozitare separată a deșeurilor solide

să se asigure că recipientul este continuu ținut închis, exceptând cazul în care sunt adăugate deșeuri. Acumularea și depozitarea ulterioară a deșeurilor periculoase într-un recipient deschis reprezintă o încălcare de regulament.

Deșeurile lichide corozive trebuie să fie acumulate în recipiente de polietilenă sau de plastic care sunt cunoscute a fi compatibile cu acizi sau baze. În cazul unor cantități mici de deșeuri inflamabile, pot fi folosite recipiente de sticlă. În general, ar trebui să fie prezente containere separate pentru fiecare flux de deșeuri compatibile. Acizi vor fi acumulați cu acizi, bazele cu baze etc.

Unde pot fi păstrate deșeurile?

Deșeurile trebuie să fie depozitate într-un un spațiu din laborator specificat de către generator pentru acumularea deșeurilor periculoase – regiune de acumulare a deșeurilor (RAD). Chiar și o singură sticlă mică de deșeuri periculoase necesită instituirea unei RAD în laborator sau în zona de lucru. Generatorul de deșeuri este responsabil pentru ca recipientele să fie etichetate corespunzător și menținute închise. RAD trebuie să fie aproape de locul unde sunt generate deșeurile astfel încât să poată fi controlată de către personal în timp ce acesta lucrează. Această cerință este necesară pentru asigurarea posibilității de monitorizare a acestei regiuni de către generatorii de deșeuri. Regulamentele și cele mai bune practici de gestionare solicită ca RAD să fie departe de ușa de la ieșire sau în zonele în care s-ar putea împiedica evacuarea în caz de incendiu sau accident. RAD trebuie să fie marcat în mod clar, folosind semnul hazard de culoare galbenă, fig. 5.10.



Fig. 5.10. Exemplu de regiune de acumulare a deșeurilor periculoase

Recipientul poate fi deschis timp de maximum 15 minute în timp ce sunt adăugate deșeurile. Mijloacele de închidere a containerului trebuie să fie securizate. Nu sunt permise dopuri de plută, cauciuc sau sticlă roasă, folie de aluminiu și peliculă de polietilenă sau parafilm. Pungile de plastic utilizate ca recipiente trebuie să fie închise prin răsucire/ legare, de tip fermoar sau cu bandă.

Izolarea secundară este necesară pentru toate deșeurile periculoase lichide și pentru toate cele acumulate în recipiente de sticlă, fig. 5.11. Cerința pentru izolarea secundară a containerelor de deșeuri într-o RAD reprezintă o practică

bună de gestionare. Capacitatea izolării secundare trebuie să fie de 110% a celui mai mare recipient stocat. De exemplu, în RAD se conțin trei sticle de deșeuri a câte 1 litru. Izolarea secundară ar trebui să aibă o capacitate de 110% dintr-un litru sau 1,1 L.

Depozitarea deșeurilor trebuie să fie însoțită de înregistrarea fiecărui reziduu, inclusiv data și compoziția amestecului, de exemplu, acid clorhidric 1 M; acetonă utilizată; solvenți, hexan, metanol etc.

În Republica Moldova administrarea deșeurilor este reglementată de câteva acte de reglementare printre care *Legea cu privire la producerea și consumul deșeurilor n r. 1347-XIII din 09.09.1987, decizia guvernamentală nr. 606 de la 28.06.2000 cu privire la adoptarea Programului Național în ceea ce privește întrebuințarea deșeurilor de producere și consum, Legea cu privire la protecția sanitară și epidemiologică a populației nr. 1513-XII din 16.06.1993,*

decizia ministerială nr. 05-00 din 14.12.2001 de adoptare a Regulilor în ceea ce privește administrarea deșeurilor de ocrotire a sănătății și altele. Aceste acte legislative includ norme și reguli privind neutralizarea corectă și îndepărtarea deșeurilor periculoase, cerințe de minimalizare a acestora, criterii de administrare a deșeurilor în conformitate cu normele interne și activitatea profesională. Normele includ, de asemenea, directive tehnice pentru materialele folosite mai des, codare color, împachetarea și transportul deșeurilor.



Fig. 5.11. Recipiente secundare pentru cele primare din sticlă

5.3. Cerințe privind transportarea OMG-urilor, substanțelor chimice și deșeurilor cu pericol biologic

Transportul și distrugerea deșeurilor rezultate din utilizarea tehnicilor biotehnologiei moderne, inclusiv a substanțelor chimice cu hazard, sunt supuse unui regim special de reglementare, autorizare și administrare, în conformitate cu prevederile și actele juridice naționale și internaționale la care Republica Moldova este parte, astfel încât aceste activități să se desfășoare în deplină siguranță pentru sănătatea umană și pentru protecția mediului.

La nivel internațional, regulamentele pentru transportul materialelor infecțioase (oricare mod de transport) sunt bazate pe recomandările elaborate de către experții Consiliului Națiunilor Unite pentru transportul încărcăturilor periculoase (*Regulations on the Transport of Dangerous Goods*). Pentru a deveni obligatorii din punct de vedere legal, regulamentele Națiunilor Unite trebuie să fie transpuse în regulamentele naționale și internaționale de către autoritățile competente, (de exemplu, *Instrucțiuni tehnice pentru transportul în siguranță a mărfurilor periculoase pe cale aeriană*¹ a Organizației Internaționale de Aviație Civilă (ICAO, International Civil Aviation Organization) pentru transportul pe cale aeriană și *Acordul European referitor la Transportul Rutier Internațional al Mărfurilor Periculoase (ADR, European Agreement concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road)*. Asociația Internațională de Transport Aerian (IATA, International Air Transport Association) publică în fiecare an reguli de transport al substanțelor infecțioase.

Regulamentele internaționale nu au drept scop înlocuirea anumitor cerințe locale sau naționale. Totuși în situațiile în care nu există acte legislative naționale, acestea trebuie să fie respectate. Este important de menționat că transportul internațional de substanțe infecțioase cade, de asemenea, sub incidența regulamentelor naționale de import/ export.

La nivel național, transportul deșeurilor (încărcăturilor) periculoase pe întreg teritoriul republicii este reglementat prin *Hotărârea Guvernului Republicii Moldova cu privire la reglementarea transportării încărcăturilor periculoase pe teritoriul Republicii Moldova și lichidarea*

¹ Technical Instructions for the Safe Transport of Dangerous Goods by Air.

darea consecințelor eventualelor avarii, nr.45 din 24.01.94, Monitor nr.1 din 30.01.1994. În contextul acestui act juridic, încărcături periculoase sunt substanțele, materialele și deșeurile care, în virtutea proprietăților fizice, chimice și biologice sau altor proprietăți specifice, pot crea în procesul de transportare un pericol pentru viața și sănătatea oamenilor, mediului ambiant și deteriorarea mijloacelor de transport și altor bunuri materiale.

OMG-urile pot fi considerate „mărfuri periculoase” numai dacă afectează animalele, plantele, microorganismele sau ecosistemele într-un mod care nu poate surveni pe calea reproducerii naturale. Producătorul acestor mărfuri are obligația legală de a le clasifica și încadra în această categorie, în funcție de caz. Dacă pentru un transport rutier de astfel de mărfuri autoritățile din țările de proveniență, tranzit și destinație nu au emis autorizații speciale de utilizare, atunci acel transport se va desfășura în conformitate cu prevederile Acordului European referitor la Transportul Rutier Internațional al Mărfurilor Periculoase (ADR). Dacă OMG-urile sunt clasificate de ADR ca fiind mărfuri periculoase, atunci ele au numărul de identificare ONU 3245. Prevederile ADR se aplică în aceeași măsură atât la transportul internațional, cât și la transportul intern.

Procesul de transport al încărcăturilor periculoase include totalitatea operațiilor: pregătirea mijloacelor de transport, recepționarea încărcăturilor pentru transportare, încărcarea lor în mijloacele de transport, transportarea încărcăturilor de la punctul de încărcare la punctul de destinație, transportarea încărcăturilor dintr-un mijloc de transport în altul la transportarea mixtă, depozitarea tranzitară și păstrarea temporară, descărcarea, transmiterea încărcăturii destinatarului etc.

Sistemul de clasificare și marcare a încărcăturilor periculoase, precum și de aplicare a semnelor de avertizare pe mijloacele de transport se determină conform standardelor de stat, elaborate în baza recomandărilor Consiliului Organizațiilor Națiunilor Unite pentru transportarea încărcăturilor periculoase. În conformitate cu aceste recomandări, organul competent de stat alcătuiește și aprobă o listă a încărcăturilor periculoase, iar datele despre materialul periculos se indică în documentele de însoțire, inclusiv utilizarea ambalajului și a schemei de încărcare-descărcare. Expeditorul încărcăturii este responsabil de autenticitatea înscrierii și clasificării încărcăturilor periculoase și de compatibilitatea containerelor cu prevederile standardelor și condițiilor tehnice. La documentele de însoțire ale încărcăturilor periculoase se anexează obligatoriu certificatul care confirmă respectarea prevederilor documentației tehnico-normative pentru aceste tipuri de încărcături. De asemenea, acest pachet de documente trebuie să conțină actele normative tehnice pentru tipul de încărcătură periculoasă în conformitate cu măsurile de securitate națională prevăzute în *Regulamentul cu privire la transportarea încărcăturilor periculoase pe teritoriul Republicii Moldova și lichidarea consecințelor eventualelor avarii (anexa nr.1 la Hotărârea Guvernului Republicii Moldova nr.45 din 24 ianuarie 1994)*, iar în cazul transportului (import/ export) OMG-urilor se aplică condițiile stipulate în *Legea privind Securitatea Biologică, art. 28 - Importul/ exportul organismelor modificate genetic și/sau al produselor rezultate din astfel de organisme*.

Sistemul triplu de împachetare este recomandat pentru transportul de substanțe infecțioase și potențial infecțioase, figura 5.12. Acest sistem de împachetare constă din trei componente: recipientul primar, ambalajul secundar și ambalajul exterior. Recipientul primar ce conține deșeurile trebuie să fie etanș pentru apă, rezistent la scurgeri și etichetat corespunzător conținutului. Recipientul primar este împachetat în material absorbant suficient pentru a absorbi tot fluidul în caz de spargere sau scurgere. Un ambalaj secundar etanș pen-

tru apă și rezistent la scurgeri este folosit pentru a izola și proteja recipientul primar. Câteva recipiente primare împachetate pot fi plasate într-un singur ambalaj secundar. A treia componentă protejează ambalajul secundar de daune fizice în timpul tranzitului.

Angajații laboratorului pot transporta cantități mici de materiale periculoase la distanțe mici în cadrul clădirii sau între clădiri adiacente, cu condiția că aceasta se poate face în siguranță. Se folosesc cărucioare și containere care să nu permită scurgerea lichidelor. Atunci când containerul cu deșeuri uscate este plin, punga se răsuțește și se leagă la capete cu bandă adezivă, fig. 5.13. Se marchează cu semnul hazard și se indică tipul de conținut: hârtie, plastic, sticlă etc.

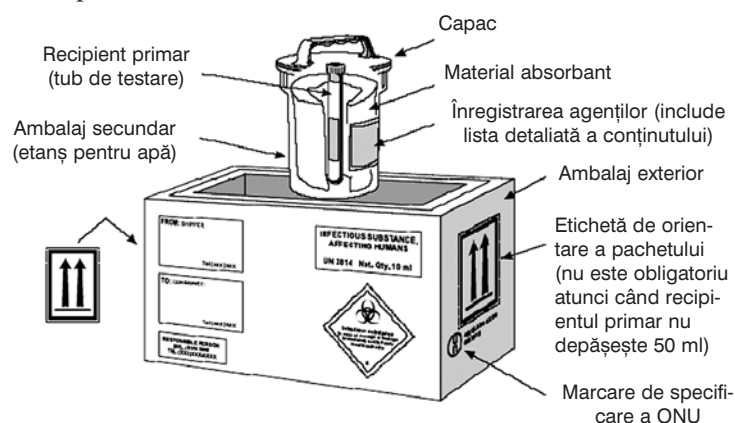


Fig. 5.12. Exemplu de sistem triplu de împachetare

Ambalajul golit de reziduurile periculoase este transportat în condiții obișnuite, documentele de însoțire a încărcăturii trebuie să conțină semnul: „AMBALAJ PURIFICAT, INOFENSIV“, executat de către persoana responsabilă a destinatarului după ce ambalajul a fost curățat și dezinfectat. Dacă mențiunea respectivă lipsește, ambalajul golit se transportă cu respectarea condițiilor similare a încărcăturii inițiale.

În caz de avarie la transportarea încărcăturilor periculoase, măsurile de lichidare a consecințelor se efectuează reieșind din situația concretă creată, ținându-se cont de proprietățile acestor încărcături și de apariția pericolului pentru oameni și mediul ambiant. Lucrările de lichidare trebuie să fie efectuate exact și rapid cu respectarea strictă a recomandărilor și măsurilor de securitate, indicate în fișele de avarie ce însoțesc încărcăturile transportate. La însoțirea încărcăturii periculoase de către însoțitori sau specialiști, reprezentanți ai expeditorului, măsurile necesare de lichidare a situației de avarie provocată de încărcăturile periculoase se întreprind conform indicațiilor respective ale acestora.



Fig. 5.13. Pungă cu deșeuri uscate închisă, pregătită pentru transferul lor

5.4. Măsuri de precauție și lichidare a consecințelor unor accidente de contaminare chimică și biologică în laborator

Contaminarea chimică se poate produce atât în cadrul laboratorului, întreprinderii, depozitului, cât și în timpul transportului de substanțe toxice ca rezultat al:

- scurgerii de substanțe toxice în procesul de producție, prelucrare, păstrare;
- scurgerii de substanțe toxice în procesul transportării lor;
- formării și răspândirii substanțelor toxice în procesul reacțiilor chimice declanșate de accidente.

De cele mai multe ori, acest tip de accidente este asociat situațiilor excepționale cu caracter natural și tehnogen, constituind un pericol grav pentru mediul ambiant și populație. Măsuri de precauție și lichidare a consecințelor unor eventuale contaminări cu agenți cu biohazard sunt stabilite în funcție de mediul contaminat care deseori sunt cabinele de siguranță, dar poate fi și orice regiune de lucru al laboratorului.

Accidentele soldate cu împrăștierea agenților cu pericol biologic în CSB sunt anihilate prin proceduri de decontaminare chimică ce trebuie să se desfășoare în cabina în funcționare. Aceste proceduri includ:

- Curățarea pereților, suprafețelor de lucru și echipamentelor prezente în CSB prin pulverizare cu un decontaminant împotriva agentului respectiv. O soluție de decontaminant care conține iod de 1% este eficient împotriva celor mai multe virusuri, ciuperci, bacterii vegetative. Operatorul trebuie să poarte mănuși și halat de laborator în timpul acestei proceduri.
- Decontaminarea cu un detergent timp de 10-15 minute a vaselor/ bazinelor de scurgere și de captare amplasate mai jos de suprafața de lucru, precum și grilelor de exautare a aerului.
- Soluțiile de decontaminant folosite sunt recolectate (aspirate) cu un burete care împreună cu mănușile și pânza utilizată în decontaminare se supun autoclavării conform cerințelor privind deșeurile periculoase.

În cazul accidentelor soldate cu împrăștierea agenților cu biohazard în exteriorul CSB trebuie respectate următoarele reguli:

- Dacă contaminarea a fost provocată de un agent din clasa de risc 1 sau o cantitate mică (neconcentrată) de un agent cu clasa de risc 2, se înlătură îmbrăcămintea de laborator; se utilizează compuși care conțin iod de 1% sau hipoclorit de 10% sau alt decontaminant care se aplică prin tamponarea locului contaminat. Se interzice de șters, astfel se mărește suprafața afectată și nu se pulverizează pentru a nu forma aerosoli.
- Deșeurile lichide formate se dezinfectează cu hipoclorit de sodiu de 10%, fig. 5.14.
- În cazul agenților biologici din clasa de risc 3 sau 2 în volume mai mult de 100 ml se va reține respirația; se vor aplica măsurile de protecție individuală (respiratoare, mască de tifon-vată, prosoape) și se va părăsi imediat încăperea lăsând ușa laboratorului închisă.
- Interzicerea accesului pentru angajați prin semnele de avertizare afișate pe ușa laboratorului.
- Vestimentația contaminată se va pune într-un recipient pentru autoclavare și cu rigurozitate se va spăla pe mâini și pe față.

- Accesul pentru decontaminarea zonelor afectate va fi permis peste 30 de minute, timp necesar pentru disiparea aerosolilor creați. Se va utiliza EPP.
- Decontaminarea suprafețelor cu hipoclorit de 10% sau compuși care conțin iod 1% cu timp de contact de 20 de minute.
- Cu ajutorul unui fâraș autoclavabil și o mătură de cauciuc se vor transfera toate materiale contaminate (prosoape de hârtie, sticlă, lichid, mănuși etc.) într-un vas pentru autoclavare. Se va evita contactul obiectelor reutilizabile cu pungile de plastic care nu pot fi autoclavate.



Fig. 5.14. Dezinfectarea deșeurii lichide cu hipoclorit de sodiu de 10%

Contaminarea cu amestec de substanțe biohazard și material radioactiv necesită măsuri de precauție deosebite în ce privește procedura de decontaminare, de exemplu, inactivarea preliminară a agenților biologici și apoi eliminarea deșeurilor radioactive. În aceste situații se respectă cerințele de decontaminare prevăzute pentru contaminări cu agenți biohazard cu clasa de risc 1, 2 și 3 asociată procedurilor repetate de monitorizare a contaminării/ decontaminării radioactive cu un dispozitiv special (vezi cap. 6). Deșeurile contaminate radioactiv sunt eliminate de servicii autorizate. În cazul în care accidentul se produce în jumătatea a doua a zilei sau în weekend-uri, se apelează la servicii de urgență.

În situații de **contaminare chimică asociată agenților biologici cu hazard** se determină decontaminantul chimic compatibil cu substanța chimică contaminată biologic și dacă acest complex: decontaminant - contaminant chimic poate fi autoclavat. După concretizarea acestui fapt, este urmată procedura de decontaminare cu respectarea cerințelor descrise anterior.

În caz de intoxicare a personalului cu substanțe chimice, trebuie acordat primul ajutor medical în funcție de gradul de intoxicare și de agentul chimic care a determinat intoxicația. De exemplu, cele mai dese intoxicații în laboratoarele de cercetare/ instruire sunt cele provocate de acizi, în special acidul clorhidric care este periculos la inhalare, ingestie, contactul cu pielea și mucoasele. În caz de intoxicare, apare excitarea mucoasei ochilor, nasului, senzația de usturime în gât, respirația îngreunată, tusea seacă, arsura buzelor, mucoasei cavității bucale, esofagului, voma chinuitoare cu sânge, vocea răgușită. În cazuri grave este posibil spasm și edem ale laringelui.

În calitate de prim-ajutor medical se recomandă de scos intoxicatul din zona infectată la aer curat, înlăturarea hainelor contaminate, se spală ochii, cavitatea bucală, nasul, pielea cu apă caldă cu adaos de bicarbonat de sodiu (sol. 2-5%); băuturi în abundență – apă caldă, ceai, cafea, spitalizarea urgentă.

În fiecare laborator unde sunt activități cu **microorganisme infecțioase** trebuie să existe un manual cu măsuri de siguranță adecvate posibilului hazard asociat organismelor și animalelor utilizate. Un plan scris al măsurilor de urgență în situațiile neprevăzute (excepționale) în laborator sau în unitățile cu animale cu NB-3 și NB-4 trebuie adus la cunoștință tuturor celor implicați în activitate. Aceste măsuri includ procedurile operaționale pentru:

- accidente provocate de incendii, inundații, cutremur și explozii;
- evaluarea riscurilor de pericol biologic;

- managementul incidentelor-expunerilor și al decontaminării;
- evacuarea de urgență a persoanelor și a animalelor din clădire;
- asistența și supravegherea medicală de urgență a persoanelor expuse și rănite;
- investigații epidemiologice;
- continuarea operațiunilor postincident.

Principalele elemente care trebuie să fie luate în considerare la elaborarea acestui plan de măsuri sunt:

- localizarea zonelor cu risc sporit: laboratoare, zone de depozitare, unități de animale;
- identificarea personalului expus riscului;
- informații de contact ale personalului responsabil și atribuțiilor lor, de exemplu, responsabilul pe probleme de biosecuritate, autoritatea locală de sănătate, microbiologi, medici veterinari, epidemiologi, serviciul de pompieri și poliție;
- liste ale unităților de tratament și de izolare, care pot primi persoanele expuse sau infectate;
- transportul persoanelor infectate sau expuse;
- liste de surse de ser imun, vaccinuri, medicamente, echipamente și rechizite speciale;
- furnizarea de echipament de urgență, de exemplu, îmbrăcăminte de protecție, dezinfectante, kit-uri și echipamente de decontaminare și rechizite.

Pompieri și alți funcționari autorizați trebuie să participe la elaborarea planurilor de instruire în caz de urgență. Este benefică efectuarea aranjamentelor pentru ca aceste servicii să viziteze laboratorul pentru a se familiariza cu aspectul și conținutul său. Majoritatea companiilor de reagenți comercializează kit-uri de decontaminare chimică. În fiecare laborator trebuie să fie accesibile următoarele componente de menținere a siguranței la locul de muncă:

- kit-uri de decontaminare chimică;
- EPP complet (capote, mănuși, huse pentru pantofi/ cizme de cauciuc, respiratoare etc.;
- găleți, fărăș autoclavabil, măhuri, cârpe și prosoape de hârtie, forceps pentru colectarea sticlei sparte;
- carbonat de sodiu sau bicarbonat de sodiu pentru neutralizarea acizilor și substanțelor chimice corozive;
- nisip (pentru a acoperi scurgeri cu alcalii);
- detergent neinflamabil;
- echipament și avize de delimitarea a zonei de risc.

Pentru a apela în caz de urgență, în laborator trebuie să fie afișate numărul de telefon și adresa următoarelor persoane și servicii:

- instituția sau laboratorul (adresa ar putea să nu fie cunoscută în detaliu de apelant sau de serviciile de telefoane);
- directorul instituției sau laboratorului;
- laborantul superior;
- responsabilul pe biosecuritate;
- serviciul de pompieri;
- spitale/ serviciu de ambulanță/ personal medical;
- poliția;
- tehnicianul responsabil;
- serviciul de apă, gaz și electricitate.

Capitolul 6.

ACCIDENTE ȘI MĂSURI DE PROTECȚIE

6.1. Incendii, pericol de explozie, măsuri de precauție

Utilizarea necorespunzătoare a echipamentului conjugat cu responsabilitatea neadecvată a personalului în realizarea procedurilor și tehnicilor de laborator pot determina apariția unor accidente similare celor de tip industrial. Activitățile care pot genera un hazard sau diverse expuneri față de agenți biologici și chimici pot fi clasificate în două categorii:

- accidente apărute în timpul lucrului prin expuneri la material periculos rezultând în leziuni fizice, tăieturi, arsuri, fracturi;
- alte evenimente care au loc în timpul manipulării cu agenți cu biohazard, mostre infecțioase, animale care pot prezenta o cale de transmitere a agenților în mediu extern sau infectare a angajaților și contaminarea altor animale și materiale de cercetare.

În primul caz prin leziuni se poate realiza contaminarea cu agenții periculoși cu care se operează. În al doilea caz maladiile și contaminările nedorite nu sunt rezultatul obligatoriu al unor leziuni fizice. Infectarea se poate datora ingerării fluidelor contaminate, expunerii la aerosoli și penetrării agenților prin tegumente. În scopul evitării și al controlului unui posibil hazard utilizatorul este obligat să informeze autoritatea competentă privind toate accidentele, expunerile cunoscute și eventualele pericole și să comunice datele necesare pentru evaluarea efectelor respectivului accident și pentru întreprinderea măsurilor corespunzătoare.

Incendiile și pericolul de explozie în spațiul laboratorului reprezintă unele din cele mai eventuale evenimente. Accidentele cauzate de incendii similare hazardului chimic pot determina o posibilă diseminare a agenților patogeni, de aceea anume acest fapt trebuie să fie luat în considerare în luarea unor decizii privind modul de intervenție în situații de incendiu (de stins sau de izolat focarul).

Instruirea echipei de lucru a laboratorului privind cauzele apariției incendiilor, exploziilor, pericolul de explozie, măsurile de precauție în caz de accident, modul de intervenție și utilizarea echipamentului de stingere a incendiului este strict necesară. Angajații laboratorului, ca și orice cetățean sunt obligați atât să cunoască și să îndeplinească regle-

mentările de apărare împotriva incendiilor la locul de muncă, cât și să acorde ajutorul posibil la prevenirea și stingerea incendiilor în conformitate cu reglementările stabilite de *Legea Republicii Moldova privind apărarea împotriva incendiilor Nr.267-XIII din 09.11.94 (Monitorul Oficial nr. 15-16 din 17.03.1995)*.

Cazurile frecvente de izbucnire a unui incendiu în laborator sunt:

- supraîncărcarea circuitului electric;
- întreținerea nesatisfăcătoare a instalațiilor electrice, de exemplu, deteriorarea izolării firelor electrice, conducte de gaz cu dimensiuni inadecvate;
- menținerea echipamentului care nu este utilizat, conectat la sursa de energie;
- utilizarea echipamentului care nu este proiectat pentru activitățile de laborator;
- prezența flăcărilor deschise;
- deteriorarea conductei de gaz;
- operarea și depozitarea necorespunzătoare a substanțelor inflamabile;
- accidente de contaminare chimică cu formare de amestec de substanțe incompatibile – explozibile;
- amplasarea echipamentului care generează scântee alături de substanțe și vapori inflamabili;
- ventilație inadecvată.

Ca măsură de precauție se impune de afișat în fiecare laborator sau culoar semne de avertizare privind incendiul și calea de evacuare în caz de accident. Facilitățile și echipamentul destinat stingerii incendiului: furtun, găleți (pentru apă sau nisip), nisip, EPP; stingătorul trebuie să fie amplasat lângă ușă, într-o zonă strategică în coridor sau hol. Stingătorul trebuie testat cu regularitate și întreținut în siguranță. Exemple de mijloace și materiale care pot fi utilizate în stingerea incendiilor sunt prezentate în tab. 6.1.

Tabel 6.1. Modalități de mijloace de stingere a incendiului. Precauții

TIP	UTILIZAT PENTRU:	NU SE UTILIZEAZĂ PENTRU:
Apă	Hârtie, lemn, țesături	Fire electrice, lichide inflamabile, metale care ard.
Dioxid de carbon	Lichide și gaze inflamabile, fire electrice	Metale alcaline, hârtie
Pudră antiincendiară	Lichide și gaze inflamabile, metale alcaline, fire electrice	Echipament și instrumente reutilizabile, ca reziduuri sunt foarte dificil de îndepărtat
Spumă antiincendiară	Lichide inflamabile	Fire electrice

În caz de incendiu:

- Anunțați serviciul **901**. Indicați calm strada, numărul blocului, scara, etajul.
- Nu faceți panică! Întrerupeți alimentația cu electricitate și gaze.
- Prin toate mijloacele disponibile încercați să stingeți focul.
- Aparatele electrice arzând nu se sting cu apă – se poate produce o explozie.

- Protejați-vă de temperaturi înalte, fum dens, explozii ale aparatelor, utilajului, de surparea clădirilor.
- Fumatul este foarte periculos la etajele superioare și în subsoluri.
- Nu deschideți geamurile și ușile. Curentul de aer poate provoca răspândirea focului.
- În clădirea arzând mișcați-vă târâș (jos la podea temperatura este mai mică, mai puțin fum) protejând căile respiratorii cu o pânză umedă. Se interzice folosirea ascensorului (în blocurile înalte).
- Dacă a luat foc haina, nu alergați, scoateți haina sau lipiți-vă de perete, rostogoliți-vă pe pământ să stingeți flacăra.
- Persoanele afectate trebuie scoase din focar, acordat primul ajutor medical, pe arsuri aplicați un pansament steril. Solicitați serviciul **903**.

Prin **combustie** se subînțelege lezarea țesuturilor sub acțiunea temperaturii înalte: flacăra, lichid fierbinte, vapori, iradierea de la explozia nucleară, acțiunea razelor solare, agenții chimici. Severitatea combustiei depinde de suprafața afectată. După profunzimea arsurile se diferențiază de la gradul I până la IV:

- *Gr. I* – afectarea stratului superficial al pielii, apar hiperemia și edemul pielii;
- *Gr. II* – pe pielea hiperemiată și edemată apar vezicule;
- *Gr. III* – necrotizarea stratului tegumentar în întregime, se formează o crustă de culoare sură sau neagră;
- *Gr. IV* – are loc necrotizarea nu numai a pielii, ci și a straturilor subiacente (tendoane, mușchi, oase etc.). Șocul se asociază frecvent la arsuri mai mari de 10-15% din suprafața corporală.

Primul ajutor medical în caz de combustii constă în efectuarea celor mai simple măsuri de urgență la locul de afectare cu scopul de a micșora/ înlătura cauzele care pun în pericol sau pot duce la înrăutățirea stării accidentatului și constă în:

- Întreruperea imediată a acțiunii factorului provocator (scoaterea accidentatului din zona de pericol, dacă hainele ard în flăcări, focul se stinge prin învelire strâns cu plapumă, palton, altă haină, cu jet de apă).
- Hainele ce continuă să mocnească ori sînt îmbibate cu lichid fierbinte se scot cu multă precauție pentru a nu cauza noi dureri, mai bine este a le tăia sau rupe pe linia cusăturii.
- În cazul arsurilor de gradul I este suficient să se trateze pielea cu alcool. La fel se va proceda cu arsurile de gradul II, dar se va mai pune și un pansament steril. Veziculele nu se sparg. La arsuri de gradul III - IV se va aplica un pansament aseptice. Dacă cuprinde o suprafață mare, bolnavul trebuie învelit într-un cearșaf, sau prosop curat. Resturile de haine lipite de plagă și alte obiecte nu se scot din plagă, pansamentul se pune deasupra lor.
- Accidentatul cu arsuri trebuie transportat de urgență pe brancarde la spital. Dacă apar semne de șoc, persoana trebuie culcată, învelită bine, se creează repaus fizic și psihic (este sensibil la frig și zgomot), se administrează un analgetic, se dă de băut cafea, ceai tare, dulce și cald, alcool și băutură care conține ½ linguriță de bicarbonat de sodiu și o linguriță de sare la un litru de apă. În cazul arsurilor chimice plaga (rana) trebuie spălată cu apă.

6.2. Accidente ale sistemelor electroenergetice

Întreținerea și utilizarea echipamentului electric trebuie să se facă în conformitate cu codurile și standardele naționale privind siguranța electrică. Este important ca toate instalațiile și echipamentul electric să fie controlat cu regularitate, inclusiv conexiunea cu pământul prevăzută pentru protecția oamenilor de electrocutare. O măsură de precauție reprezintă și instalarea panourilor de comutatoare/ întrerupătoare pentru a proteja rețeaua electrică de supraîncărcare.

Electrocutarea cauzează dereglări funcționale severe ale sistemului nervos central, cardiovascular și respirator și se asociază cu lezarea locală a țesuturilor. Cu cât este mai lung contactul cu obiectul care posedă curent electric, mai mare suprafața de contact, cu atât consecințele sînt mai grave. Dacă tensiunea curentului este mai mare de 65 V, se va dezvolta o fibrilație cardiacă, la tensiune mai mare – asistolie și stop respirator prin spasmul muscular și al coardelor vocale. O însemnătate mare are calea de trecere a curentului, cea mai periculoasă este cea prin „mîna stîngă – piciorul stîng”; „mîna - mîna” și „cap - picioare”, adică atunci cînd curentul trece prin inimă, plămîni și alte organe cu rezistență joasă.

Primul ajutor medical în caz de electrocutare:

- Se deconectează sursa de curent electric, dacă este posibil, se taie firele electrice cu un instrument cu mâner de lemn (topor) în câteva locuri pentru a preveni un scurtcircuit, sau se înlătură firele de pe corpul accidentatului cu un obiect de lemn uscat sau cu mîna în mănuși de cauciuc sau învelită cu o cârpă uscată. Accidentatul poate fi de scos de pe sectorul dat fiind tras de haine, dar în nici un caz de locurile deschise ale corpului.
- Trebuie memorizat că la căderea pe pămînt a unui fir de tensiune înaltă, curentul electric se scurge pe un sector limitat de pămînt. Poate apărea așa-numita *tensiune de pas* la mișcarea spre locul de cădere a firului. Zona periculoasă este în raza de 10 pași. De aceea trebuie să ne apropiem de locul accidentului cu pași mărunți, tîrînd picioarele de pămînt. Cînd lucrăm cu accidentatul cel mai bine este să ne izolăm, punînd sub picioare o scîndură uscată, o bucată de cauciuc sau sticlă.
- Se acordă ajutor în funcție de starea persoanei afectate: dacă este fără cunoștință, trebuie scoasă la aer liber, culcată pe spate, capul și cutia toracică trebuie să fie puțin ridicate, se deschid nasturii, se scoate cravata. Se poate stropi cu apă rece fața, se dă de mirosit soluția de 10% de amoniac, dacă e stop respirator, se efectuează respirația artificială, în caz de stop cardiac – masaj indirect al cordului.

6.3. Accidente cu surse de radiație ionizată

Măsurile de precauție vizînd substanțele radioactive au ca scop protecția oamenilor față de efectele radiației ionizante, care includ:

– efecte somatice, de exemplu, cancerul indus de radiație: leucemia, cancerul plămînilor și al pielii, care poate să evolueze mulți ani mai tîrziu după iradiere. Efecte mai puțin severe reprezintă afecțiuni ale tegumentelor, pierderea părului, afecțiuni ale sistemului sanguin, gastrointestinale și formarea cataractei;

– efecte ereditare, de exemplu, mutații genice și cromozomiale, afecțiuni ale sistemului reproductiv (infertilitate, dereglări ale ciclului menstrual etc.).

Pentru a limita efectele dăunătoare ale radiației ionizante, activitățile care implică utilizarea radioizotopilor trebuie să fie controlate în acord cu standardele naționale. Criteriile vizând protecția populației în cazuri de poluare cu substanțe radioactive, se determină în baza identificării dozelor prognozate pentru nivelurile inferioare și superioare ale acțiunii radioactive, aprobate de Ministerul Sănătății (nr. 06-5/3-243 din 20.06.1990).

În linii generale, măsurile de protecție se axează pe patru principii de bază:

1. Micșorarea timpului de expunere la radiație.
2. Mărirea distanței de la sursa de radiație.
3. Ecranarea sursei de radiație.
4. Substituirea utilizării substanțelor radioactive cu tehnici neradiometrice.

Timpul expunerii în cursul manipulărilor cu materialul radioactiv poate fi redus prin:

- practicarea tehnicilor noi, necunoscute, fără substanțe radioactive, până când sunt bine puse la punct și însușite;
- activitatea cu izotopi se realizează în mod precaut, în timpul stabilit, fără grabă;
- de asigurat că toate reziduurile radioactive sunt depozitate corect și imediat după folosire;
- micșorarea timpului de aflare în zona radiației sau laborator;
- practicarea unui management efectiv al timpului și al manipulărilor de laborator care implică material radioactiv.

Distanța. Rata dozei pentru majoritatea radiației γ și X variază invers proporțional cu pătratul distanței de la punctul sursă. Dublarea distanței de la sursa de radiație va rezulta în reducerea expunerii cu o pătrime în aceeași perioadă de timp. Diferite dispozitive și mijloace mecanice sunt utilizate pentru a majora distanța dintre operator și sursa de radiație, de exemplu, clește cu mânere lungi, pensete etc. De menționat că o mărire nesemnificativă a distanței poate micșora semnificativ rata dozei.

Ecranarea. Dacă ecranele care absorb sau atenuează radiația sunt amplasate între sursă și operator sau alți angajați ai laboratorului, aceasta va permite limitarea expunerii acestora. Tipul și grosimea oricărui material de protecție depinde de capacitatea de penetrare a radiației. O barieră din acril, lemn sau metal ușor cu grosimea de 1,3-1,5 cm va proteja împotriva particulelor β cu energie înaltă, în timp ce în cazul particulelor γ și radiațiilor X este nevoie de un ecran cu o densitate mai mare a materialului.

Substituția. Materialele bazate pe substanțe radioactive nu trebuie să fie folosite când sunt disponibile alte tehnici. Dacă substituția nu este posibilă, atunci trebuie să fie folosite substanțe radioactive cu putere de penetrare sau energie minimală.

Precauțiile privind activitatea cu substanțele radioactive trebuie să ia în considerare:

Zona de radiație:

- utilizarea substanțelor radioactive numai în zonele specificate;
- accesul limitat, doar al personalului instruit în acest domeniu;



Fig. 6.1. Semnul de avertizare

- utilizarea EPP (halate de laborator, ochelari de protecție, mănuși);
- monitorizarea expunerilor personale la radiație.

Laboratoarele unde se utilizează substanțe radioactive ar trebui să fie proiectate astfel încât să fie simplu de izolat, curățat și decontaminat. Zona de lucru cu substanțe radioactive ar trebui să fie amplasată într-o cameră mică adiacentă laboratorului principal sau într-o zonă specială din laborator izolată de alte activități. Semnele care indică simbolul hazardului radiației trebuie să fie amplasat la intrarea în zona de radiație, fig. 6.1.

Zona meselor de lucru

- utilizarea cuvelor acoperite, căptușite cu materiale absorbante disponibile;
- limitarea cantităților de substanțe radioactive;
- acoperirea surselor de radiație în zonele meselor de lucru și ale deșeurilor radioactive;
- marcarea containerelor cu materiale radioactive cu simbolul radiației, incluzând

tipul substanței radioactive, activitatea și data analizei;

- utilizarea aparatelor de măsurare a radiației pentru monitorizarea zonelor de lucru, hainelor de protecție și mâinilor după îndeplinirea lucrului.

Zona deșeurilor radioactive

- îndepărtarea frecventă a deșeurile radioactive din zona de lucru;
- înregistrarea informației exacte privind utilizarea și depozitarea materialelor radioactive;
- stabilirea planurilor de acțiune în caz de urgență și exersarea lor cu regularitate;
- decontaminarea minuțioasă a zonelor contaminate radioactiv;
- înregistrarea incidentelor.

REȚINEȚI! Radiația este fără miros, fără culoare, poate fi depistată numai de aparate speciale și specialiști competenți.

6.4. Echipament și activități care pot genera un hazard

Majoritatea activităților din laborator și a echipamentului dacă nu este utilizat corespunzător pot genera un hazard biologic, chimic sau fizic. Echipamentul utilizat mai frecvent și hazardul asociat precum și unele sugestii de eliminare sau reducere a acestora sunt rezumate în tab. 6.1.

Spre deosebire de hazardul microbiologic, cel asociat activității cu echipamentul trebuie să fie anticipat și prevenit. Cele mai frecvente situații de accident asociate utilizării și întreținerii necorespunzătoare sunt prezentate în tab. 6.2.

În caz de urgență

1. ALERTEAZĂ pe ceilalți.
2. LIMITEAZĂ problema (dacă este posibil fără un risc exagerat).
3. EVACUARE dacă este necesar.
4. ÎNCHIDE ușile.
5. CHEAMĂ ajutor.
6. ANUNȚĂ numele, numărul de telefon, locația, tipul urgenței.
7. RĂMÂI lângă telefon pentru a colabora cu persoanele responsabile.

Tabelul 6.1. Precauții privind utilizarea unor echipamente/ operații care pot genera un hazard

ECHIPAMENT	HAZARD	MODUL DE A REDUCE SAU DE A ELIMINA HAZARDUL
Seringi	Inoculări accidentale, aerosoli, stropiri.	<i>Utilizarea</i> mijloacelor mecanice de separare a acului de la seringă sau seringi cu ace nedetașabile; nu se reutilizează acele. <i>Umplerea</i> atentă a seringii cu evitarea formării bulelor de aer. <i>Evitarea</i> utilizării seringilor în mixarea lichidelor infecțioase; dar dacă este cazul, acul seringii trebuie întotdeauna să fie submersat în lichid. <i>Decontaminarea</i> acelor și seringilor înainte de reciclare. <i>Eliminarea</i> excesului de lichid sau a bulelor de aer într-un tampon de bumbac îmbibat cu dezinfectant, ținând seringă în poziție verticală. <i>Utilizarea</i> CBS pentru toate operațiile cu suspensiile infecțioase.
Omogenizator și agitatoare	Stropiri, aerosoli.	<i>Utilizarea</i> CBS sau a spațiului proiectat pentru izolarea primară. <i>Utilizarea</i> retortelor sau altor recipiente bine acoperite cu capace prevăzute cu filtre.
Liofilizatoare	Aerosoli, contaminare prin contact direct.	<i>Utilizarea</i> filtrelor pentru a proteja liniile de vacuum. <i>Examinarea</i> atentă a vasele de vid din sticlă, utilizarea numai a veselei din sticlă destinată pentru acest scop. <i>Decontaminarea</i> chimică adecvată.
Băi de apă	Azidele sodiului formează amestecuri explozive cu unele metale.	<i>Curățarea</i> și dezinfecția cu regularitate. Evitarea utilizării azidelor de sodiu pentru inhibarea creșterii organismelor.

Echipament și activități care pot genera un hazard

4

Paragraful

Tabelul 6.2. Unele exemple de accidente asociate echipamentului

ACCIDENT	CAUZA ACCIDENTULUI	REDUCEREA SAU ELIMINAREA HAZARDULUI
Proiectare sau construcție defectuoasă Scurt circuit în incubatoare Șoc electric	Neîntreruperea funcționării la o temperatură înaltă. Lipsa conexiunilor cu pământul	Respectarea standardelor naționale.
Utilizare inadecvată Accident provocat de centrifugă Explozie în incubatorul anaerob	Balansarea incorectă a rotorului cu eprubetele de centrifugare Utilizarea incorectă a gazelor	Antrenarea și supravegherea personalului.
Adaptare inadecvată Explozii ale unor recipiente Explozie în frigider obișnuite	Transportarea inadecvată a azotului lichid. Substanțe chimice depozitate incorect, de exemplu, eterul dietilic în vas cu capac cu filet.	Utilizarea echipamentului corespunzător. Depozitarea solvenților și extractelor ușor inflamabile numai în recipiente și frigider speciale cu protecție față de explozii.

Toate accidentele, expunerile și potențialele pericole trebuie să fie raportate în scris sub formă de formular sau comunicate prin telefon pentru a asigura îngrijirea medicală, procedurile de decontaminare sau reparație a echipamentului. Responsabilul de biosiguranță în cooperare cu investigatorul principal și personalul de laborator trebuie să investigheze orice incident de laborator în baza registrului de monitorizare a acestora cu scopul de a preveni accidente similare în viitor. Evaluarea circumstanțelor de apariție a accidentelor și a diferitor situații excepționale, precum și elaborarea unor planuri și măsuri de precauție în caz de accident se face în colaborare cu autoritățile cu funcții de control în cadrul unor programe de instruire în conformitate cu regulamentele stipulate în *Hotărârea Guvernului Republicii Moldova cu privire la modul de acumulare și schimb de informații în domeniul protecției populației și a teritoriului în condiții de situații excepționale* Nr.347 din 25.03.2003 (*Monitorul Oficial al R. Moldova nr.62-66/380 din 04.04.2003*).

SURSE WEB UTILE

<http://www.biosecuritycodes.org/gloss.htm>
<http://www.engl.jrc.it/designated.htm>
<http://www.gmo-compass.org/eng/gmo/db/>,
<http://www.agbios.com/dbase.php>.
<http://www.olis.oecd.org/bioprod.nsf>)
<http://www.aphis.usda.gov/>).
<http://www.iaaas.org/>
<http://www.biodiv.org/biosafety>
<http://bch.biodiv.org>
<http://www.unep.org>
<http://www.unep.ch/biosafety>
<http://www.bsbanet.org>
<http://www.pubresreg.org>
<http://www.twinside.org.sg>
<http://www.biosafety-info.net>
<http://www.who.int/en/>
<http://biosafety.ihe.be/>
http://europa.eu.int/comm/environment/biotechnology/index_en.htm
<http://gmoinfo.jrc.it/default.asp>
http://www.efsa.eu.int/index_en.html
<http://www.wto.org/>
<http://www.bsbanet.org>
<http://www.biosafety.ro>
<http://www.mmediu.ro>
http://www.lbl.gov/ehs/biosafety/Biosafety_Manual/
<http://www.atcc.org/>
<http://www.wfcc.nig.ac.jp/wfcc.html>
<http://wcdm.nig.ac.jp/hpcc.html>
<http://www.eccosite.org/>
<http://www.worldseed.org/>
<http://www.opbw.org>
http://www.who.int/gb/e/e_wha55.html#Resolutions).
http://www.unece.org/trans/danger/publi/unrec/rev14/14files_e.html).

Adrese de Internet din sud-estul Europei

Albania: <http://biosafety.moe.gov.al>
 Armenia: <http://www.mnpiac.am/biosafety>
 Belarus: <http://biosafety.bas-net.by> or <http://biosafety.org.by>
 Croația: <http://www.gmo.hr>
 Estonia: <http://eelis.ic.envir.ee/w1/>
 Letonia: <http://www.biosafety.lv>
 Lituania: <http://gmo.am.lt>
 Republica Moldova <http://www.biosafety.md>
 Slovacia: <http://www.gmo.sk>
 Ucraina: <http://www.biosafety.kiev.ua>

MATERIALE PERICULOASE

SUBSTANȚA	PRECAUȚII
Acid acetic (concentrat), CH₃COOH	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Folosiți nișa chimică.
Acetonitril	Este foarte volatil și inflamabil. Este un iritant și asfixiant chimic care își poate exercita efectele prin inhalare, ingestie și absorbție cutanată. Cazurile de expunere acută trebuie tratate ca otrăvire cu cianuri. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. De utilizat doar sub nișa chimică. Se păstrează la rece, ferit de căldură, scânteii și flacără deschisă.
Acrilamidă (nepolimerizată)	Se absoarbe prin piele (efectele sunt cumulative). Se manifestă ca o neurotoxină. Evitați inhalarea. Purtați mănuși corespunzătoare și respirator în timp ce cântăriți acrilamida și metilenbisacrilamida. Folosiți nișa. Poliacrilamida este considerată netoxică, dar trebuie să fie manipulată cu atenție, deoarece poate conține cantități mici de acrilamidă nepolimerizată.
Actinomicină D, C₆₂H₈₆N₁₂O₁₆	Este foarte toxică, teratogen și carcinogen și poate fi fatală în cazul inhalării, ingestiei sau absorbției prin piele. Evitați inhalarea prafului. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Întotdeauna folosiți nișa. Soluțiile de actinomicină D sunt sensibile la lumină.
α-Amanitină	Este foarte toxică și poate fi fatală în cazul inhalării, ingestiei sau absorbției prin piele. Simptomele se manifestă timp de 6-24 ore. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Întotdeauna folosiți nișa chimică.
Acid aminobenzoic, C₇H₇NO₂	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Acetat de amoniu, H₃CCOONH₄	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișa.
Clorură de amoniu, NH₄Cl	Este dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișa.
Hidroxid de amoniu, NH₄OH	Este caustic și trebuie să fie manipulat cu deosebită atenție. Odată ce vaporii de amoniu sunt eliberați din soluție, ei sunt corozivi, toxici și pot fi explozivi. Folosiți doar cu exhaustare mecanică. Purtați mănuși corespunzătoare. Folosiți-l doar sub nișa.
Molibdat de amoniu, (NH₄)₆Mo₇O₂₄ x 4H₂	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișa.

Persulfat de amoniu, (NH ₄) ₂ S ₂ O ₅	Este extrem de distructiv pentru țesutul mucos al membranelor și canalul superior respirator, ochi și piele. Inhalarea poate fi fatală. Purtați mănuși, ochelari de siguranță și îmbrăcăminte de protecție corespunzătoare. Întotdeauna folosiți nișa. Spălați bine după manipulare.
Sulfat de amoniu, (NH ₄) ₂ SO ₄	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Ampicilină	Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișa.
Aprotinină	Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. De asemenea, poate provoca reacții alergice. Expunerea poate cauza afecțiuni gastrointestinale, dureri musculare, schimbări ale tensiunii arteriale sau spasm bronhic. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Nu respirați praful. Folosiți întotdeauna nișa.
Acid aspartic, C ₄ H ₇ NO ₄	Este un posibil mutagen și manifestă un risc cu efecte irreversible. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișa.
Colonii bacteriene	Bacteriile pot fi clasificate în diferite categorii privind cerințele de transportare: Coloniile nepatogene de <i>Escherichia coli</i> (K-12) și <i>Bacillus subtilis</i> fac parte din Clasa I și se consideră că nu prezintă hazard sau prezintă un hazard minimal în condiții normale de transportare. <i>Salmonella</i> , <i>Haemophilis</i> și anumite colonii de <i>Streptomyces</i> și <i>Pseudomonas</i> fac parte din Clasa 2, fiind considerate agenți cu potențial hazard, care provoacă boli cu diferit grad de gravitate. Sunt manipulați prin tehnicile obișnuite de laborator.
5-Bromo-4-cloro-3-indolil-1-D-galactopiranozidă (BOG; X-gal)	Este toxică pentru ochi și piele și poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători.
Biotină	Este dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișa.
Bisacrilamidă	Este o neurotoxină potențială și este absorbită prin piele (efectele sunt cumulative). Evitați inhalarea prafului. Purtați mănuși corespunzătoare și o mască facială în timp ce cântăriți praful de acrilamidă și metilen-bisacrilamidă.
Sânge (uman), produse sangvine	Sângele uman, produsele sangvine și țesuturile pot conține materiale infecțioase ascunse precum virusul hepatitei B și HIV, care pot rezulta în infecții obținute în laborator. Sângele uman, produse sangvine sau țesuturi trebuie să fie considerate

	un biohazard și să fie manipulate corespunzător. Purtați mănuși de unică folosință adecvate, folosiți procedee mecanice de pipetare, lucrați într-un cabinet de siguranță biologică, asigurați lipsa generării de aerosoli și dezinfectați toate deșeurile înainte de eliminare. Autoclavați vasele din plastic contaminate înainte de aruncare; autoclavați lichidele contaminate sau tratați cu înălbitor (concentrația finală 10%) cel puțin timp de 30 de minute înainte de eliminare.
Acid boric, H₃BO₃	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători.
Albastru de bromfenol	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișa.
n-Butanol	Este iritant pentru membranele mucoase, canalul respirator superior, piele și în special ochi. Evitați inhalarea vaporilor. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți sub nișa. d-Butanolul este, de asemenea, foarte inflamabil. Se păstrează la rece, ferit de scânteii și flacără deschisă.
Carbencilină	Poate cauza sensibilizare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Dioxid de carbon, CO₂	Poate fi fatal prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. În concentrații mari, poate paraliza centrul respirator și provoca sufocare. Folosiți doar în spații bine ventilate. În formă de gheață uscată, contactul cu dioxidul de carbon poate cauza și degerătură. Nu plasați cantități mari de gheață uscată în spații închise precum camerele reci. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători.
Clorură de cesiu, CsCl	Este dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători.
Bromură de cetilpiridiniu (CPB)	Cauzează iritații grave ale ochilor, pielii și canalului respirator. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Folosiți nișa.
Bromură de cetiltrimetilamoniu (CTAB)	Este toxică și iritantă, poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Nu respirați praful.
Cloramfenicol	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată și este un carcinogen. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișa.
Cloroform, CHCl₃	Este iritant pentru piele, ochi, membranele mucoase și canalul respirator. Este un carcinogen și poate afecta ficatul și rinichii. De asemenea, este volatil. Evitați respirarea vaporilor. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Întotdeauna folosiți nișa.

Acid citric, C₆H₈O₇	Este iritant și poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Prezintă risc de afectare serioasă a ochilor. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Nu respirați praful.
Clorură de cobalt, CoCl₂	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Albastru de Brilliant Coomassie	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Sulfat de cupru, CuSO₄	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
m-Cresol	Poate fi fatal prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Poate cauza arsuri și este extrem de distructiv pentru ochi, piele, membranele mucoase și canalul respirator superior. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți întotdeauna nișa.
Cisteină	Este iritant pentru ochi, piele și canalul respirator. Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Nu respirați praful.
Diclorosilan	Este foarte inflamabil și toxic și poate fi fatal în cazul inhalării. Este dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Folosiți întotdeauna nișa. Reacționează violent cu apa. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacără deschisă. Luați măsuri de precauție împotriva descărcărilor statice.
Dietilamină, NH(C₂H₅)₂	Este corozivă, toxică și extrem de inflamabilă. Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți doar sub nișă. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacără deschisă.
Dietilaminoetanol (DEAE)	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișă.
Eter dietilic, (C₂H₅)₂O	Este extrem de volatil și inflamabil. Este iritant pentru ochi, membranele mucoase și piele, depresant al SNC cu efecte anestezice. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Evitați respirația vaporilor. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Întotdeauna folosiți sub nișă. În timpul stocării sau expunerii la aer, lumină solară directă pot fi formați peroxizi explozivi. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacără deschisă.
Dietil pirocarbonat (DEPC)	Este un potențial denaturant proteic și un carcinogen suspectat. Deschideți atent, presiunea internă poate conduce la împărțire. Purtați mănuși și halat de laborator adecvate. Folosiți sub nișă.

Dietilsulfat (DES), (C ₂ H ₅) ₂ SO ₄	Este un mutagen și un carcinogen suspectat. Este volatil. Evitați respirarea vaporilor. Purtați mănuși corespunzătoare. Folosiți nișa. Folosiți tuburi cu capac cu filet pentru toate culturile tratate cu DES și pipete mecanice pentru manipularea soluțiilor DES. Tratați toate culturile tratate cu DES în înălbitor.
N,N-Dimetilformamidă (DMF), HCON(CH ₃) ₂	Este iritantă pentru ochi, piele și membranele mucoase. Poate să-și exercite efectele toxice prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Inhalarea cronică poate cauza afecțiuni ale ficatului și rinichilor. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți sub nișa.
Dimetilsulfat (CMS), (CH ₃) ₂ SO ₄	Este extrem de toxic și carcinogen. Evitați inhalarea vaporilor. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți doar sub nișa. Aruncați soluțiile ce conțin dimetilsulfat turnându-le încet într-o soluție de hidroxid de sodiu sau hidroxid de amoniu și lăsând să stea peste noapte sub nișa.
Dimetilsulfoxid (DMSO)	Poate fi dăunător prin inhalare sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișa. Stocați într-un container bine închis la rece, ferit de scântei și flacără deschisă.
Dinitrofenol (DNP)	Poate fi fatal prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți întotdeauna nișa.
Ditiotreititol (DTT)	Este un agent reducător puternic care emite un miros urât. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. În timpul lucrului cu forma solidă sau cu stocurile foarte concentrate, purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișa.
Etanol, CH ₃ CH ₂ OH	Poate fi dăunător prin inhalare sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Etanolamină, HOCH ₂ CH ₂ NH ₂	Este toxică și dăunătoare prin inhalare sau absorbție cutanată. Manipulați cu atenție și evitați orice contact cu pielea. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Folosiți nișa. Etanolamina este foarte corozivă și reacționează violent cu acizii.
Bromură de etidiu	Este toxică și un mutagen puternic. Evitați respirarea prafului. Purtați mănuși când lucrați cu soluții care conțin acest reagent.
Etil acetat CH ₃ COOC ₂ H ₅	Poate fi fatal prin ingestie și dăunător prin inhalare sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Nu respirați praful. Folosiți-l într-un spațiu bine ventilat.
Etil metan sulfonat (EMS)	Este un solvent organic volatil, mutagen și carcinogen. Este dăunător în cazul inhalării, ingestiei sau absorbției cutanate. Aruncați supernatantul și soluțiile ce conțin EMS într-un pahar cu 50% tiosulfat de sodiu. Decontaminați tot materialul care a venit în contact cu EMS prin tratarea cu un volum mare de 10% (m/v) tiosulfat de sodiu. La folosirea EMS nediluat, pur-

	<p>tați mănuși de protecție corespunzătoare și folosiți sub nișă. Stocați EMS la rece. Nu pipetați EMS cu gura. Pipetele utilizate cu EMS nediluat nu trebuie să fie prea calde; răciți-le în frigider înainte de utilizare pentru a minimaliza volatilizarea EMS. Toate vasele de sticlă ce vin în contact cu EMS trebuie să fie imersate într-un pahar mare cu NaOH 1N sau înălbitor înainte de reciclare sau aruncare.</p>
Clorură ferică, FeCl₃	<p>Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți întotdeauna nișă.</p>
Formaldehidă, HCOH	<p>Este foarte toxică și volatilă, carcinogenă. Este absorbită repede prin piele. Este iritantă sau distructivă pentru piele, ochi, membranele mucoase și canalul respirator superior. Evitați inhalarea vaporilor. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Întotdeauna folosiți nișă. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacără deschisă.</p>
Formamidă	<p>Este teratogenă. Vaporii sunt iritanți pentru ochi, piele, membranele mucoase și canalul respirator superior. Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie și absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Întotdeauna folosiți sub nișă când lucrați cu soluții concentrate de formamidă. Păstrați soluțiile de lucru acoperite.</p>
Acid formic, HCOOH	<p>Este foarte toxic și extrem de distructiv pentru membrane, canalul respirator superior, ochi și piele. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători (sau ecran facial) și folosiți nișă.</p>
β-Galactozidază	<p>Este un iritant și poate provoca reacții alergice. Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.</p>
Vată de sticlă	<p>Poate fi dăunătoare prin inhalare și poate provoca iritația pielii. Purtați mănuși și mască corespunzătoare.</p>
Glutaraldehidă	<p>Este toxică. Se absoarbe rapid prin piele și este iritantă sau distructivă pentru piele, ochi, membranele mucoase și canalul respirator superior. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Întotdeauna folosiți nișă.</p>
Glicină	<p>Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Evitați inhalarea prafului.</p>
Hidroclorură de guanidină	<p>Este iritantă pentru membranele mucoase, canalul respirator superior, piele și ochi. Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Evitați respirarea prafului.</p>
Tiocianat de guanidină	<p>Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.</p>

Heptan, $C_7H_{16}/ CH_3(CH_2)_5CH_3$	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Este extrem de inflamabil. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacără deschisă.
Hidrazină, N_2H_4	Este foarte toxică și explozivă în stare anhidră. Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși, ochelari și îmbrăcăminte de protecție corespunzătoare. Folosiți doar sub nișă. Se păstrează la rece. Îndepărtați de scânteii și flacără deschisă.
Acid hidrocloric, HCl	Este volatil și poate fi fatal în cazul inhalării, ingestiei sau absorbției prin piele. Este extrem de distructiv pentru membranele mucoase, canalul respirator, ochi și piele. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți cu deosebită atenție sub nișă. Purtați ochelari de protecție când manipulați cantități mari.
Peroxid de hidrogen, H_2O_2	Este coroziv, toxic și extrem de dăunător pielii. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți doar sub nișă.
Sulfură de hidrogen, H_2S	Este un gaz extrem de toxic care provoacă paralizia centrului respirator. Nu vă bazați pe miros pentru a-i detecta prezența. Fiți foarte atenți în timpul manipulării. Păstrați rezervoarele de H_2S sub nișă sau într-o cameră cu ventilare adecvată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Este foarte inflamabilă. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacără deschisă.
Higromicină B	Este foarte toxică și poate fi fatală în cazul inhalării, ingestiei sau absorbției cutanate. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Folosiți doar sub nișă. Nu respirați praful.
Inozitol	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Alcool izoamilic, $(CH_3)_2CHCH_2CH_2OH$	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată și prezintă risc de afectare gravă pentru ochi. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacără deschisă.
Alcool izobutanic (izobutanol), $C_4H_{10}O$ / $(CH_3)_2CHCH_2OH$	Este extrem de inflamabil și poate fi dăunător prin inhalare sau ingestie. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacără deschisă.
Izopropanol, $(CH_3)_2CHOH$	Este iritant și poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Nu respirați praful. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacără deschisă.
Radiație laser	Poate fi foarte dăunătoare pentru ochi și piele și pot genera contaminanți aerogeni, în funcție de clasa laserului utilizat.

	<p>Laserii de mare putere produc afecțiuni permanente ale ochilor, pot arde pielea expusă, aprind materialele inflamabile și activează substanțele chimice toxice care eliberează coproduși ce prezintă hazard. Evitați expunerea ochilor sau a pielii la radiația directă sau difuză. Nu priviți laserul și nu orientați laserul spre altă persoană. Purtați mijloace de protecție pentru ochi adecvate și folosiți ecrane potrivite care sunt proiectate pentru a oferi protecție pentru tipul specific de lungime de undă, modul de operare (undă continuă sau pulsatilă) și puterea laserului folosit. Evitați purtarea bijuteriilor sau altor obiecte care pot să reflecte sau să împrăștie raza. Intrarea în spațiul în care este folosit laserul trebuie să fie controlată și să afișate semne de avertizare care indică momentul în care laserul este în funcțiune. Întotdeauna urmați îndrumările de siguranță sugerate care însoțesc echipamentul și contactați oficiul local de siguranță pentru informații detaliate.</p>
Azot lichid	<p>Poate cauza afecțiuni grave din cauza temperaturii extreme. Manipulați probele înghețate cu deosebită atenție. Nu respirați vaporii. Scurgerea de azot lichid în fiolele înghețate poate conduce la explozarea tubului la înlăturarea din azotul lichid. Purtați mănuși împotriva înghețului și o mască facială.</p>
Clorură de litiu, LiCl	<p>Este un iritant pentru ochi, piele, membranele mucoasei și canalul respirator superior. Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Folosiți sub nișă.</p>
Lizozimă	<p>Este caustică pentru membranele mucoasei. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.</p>
Clorură de magneziu, MgCl₂	<p>Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișă.</p>
Sulfat de magneziu, MgSO₄	<p>Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișă.</p>
Clorură de mangan, MnCl₂	<p>Este dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișă.</p>
β-Mercaptoetanol, HOCH₂CH₂SH	<p>Poate fi fatal dacă este inhalat sau absorbit prin piele și este dăunător în cazul ingestiei. Concentrațiile mari sunt extrem de distructive pentru membranele mucoase, canalul respirator superior, piele și ochi. β-Mercaptoetanolul are un miros foarte urât. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Întotdeauna folosiți nișă.</p>
Metanol, H₃COH	<p>Este otrăvitor și poate cauza orbire. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Este necesară o ven-</p>

	tilare adecvată pentru a limita expunerea la vapori. Evitați inhalarea acestor vapori. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Folosiți-l doar sub nișă.
Metotrexat (MTX)	Este un carcinogen și un teratogen. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Expunerea poate cauza afecțiuni gastrointestinale, reprimarea măduvei oaselor, afecțiuni ale ficatului sau rinichilor. Poate provoca și iritație. Evitați respirarea vaporilor. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Întotdeauna folosiți nișă.
Albastru de metilen	Este iritant pentru ochi și piele. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Acid 2-(N-morfolino)-etansulfonic (MES)	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Acid 3-(N-Morfolino)-propansulfonic (MOPS)	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Este iritant pentru membranele mucoase și canalul respirator superior. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți nișă.
Sulfat de nichel, NiSO₄	Este un carcinogen și poate cauza afecțiuni ereditare genetice. Este un iritant al pielii și poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți sub nișă. Nu respirați praful.
Acidul azotic, HNO₃	Este volatil și trebuie manipulat cu deosebită atenție. Este toxic prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți sub nișă. Nu respirați vaporii. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacără deschisă.
Acid percloric, HClO₄	Poate fi fatal prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți doar sub nișă.
Fenol, C₆H₆O/C₆H₅OH	Este extrem de toxic, foarte coroziv și poate provoca arsuri grave. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși, ochelari și îmbrăcăminte de protecție. Întotdeauna folosiți sub nișă. Clătiți orice suprafață a pielii care vine în contact cu fenol cu un volum mare de apă și spălați cu săpun și apă; nu folosiți etanol!
Fluorid de fenilmetilsulfonil (PMSF), C₇H₇FO₂S sau C₆H₃CH₂SO₂F	Este un inhibitor colinesterazic foarte toxic. Este extrem de distructiv pentru membranele mucoase ale canalului respirator, ochi și piele. Poate fi fatal prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Întotdeauna folosiți sub nișă. În caz de contact, clătiți imediat ochii sau pielea cu cantități mari de apă și scoateți îmbrăcăminte contaminată.

Acid fosforic, H₃PO₄	Este foarte coroziv și poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Piperidină	Este foarte toxică pentru ochi, piele, canalul respirator și tractul gastrointestinal. Reacționează violent cu acizii și agenții oxidanți și poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Nu respirați vaporii. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacăra deschisă. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți sub nișă.
Polietileneglicol (PEG)	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Evitați inhalarea prafului. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Polivinilpirolidonă	Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți sub nișă.
Clorură de potasiu, KCl	Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Ferocianură de potasiu, K₄Fe(CN)₆·3H₂O	Poate fi fatală prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Întotdeauna folosiți cu deosebită atenție sub nișă. Îndepărtați de acizii puternici.
Hidroxid de potasiu, KOH și KOH/metanol	Poate fi foarte toxic prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Soluțiile sunt caustice și trebuie manipulate cu deosebită atenție. Purtați mănuși corespunzătoare.
Permanganat de potasiu, KMnO₄	Este un iritant și un oxidant puternic. Poate forma amestecuri explozive când este amestecat cu substanțe organice. Folosiți toate soluțiile sub nișă. Nu amestecați cu acid clorhidric.
Fosfat de potasiu, K₂HPO₄	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Proteinază K	Este un iritant și poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Putrescină	Este inflamabilă și corozivă și poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacăra deschisă.
Substanțe radioactive	Când planificați un experiment care implică utilizarea izotopilor radioactivi, luați în considerare proprietățile fizico-chimice ale izotopului (perioada de înjumătățire, tipul de emisie și energia), forma chimică de radioactivitate, concentrația sa radioactivă (activitate specifică), cantitatea totală și concentrație. Comandați și folosiți doar atât cât este necesar. Întotdeauna purtați mănuși corespunzătoare, halat de laborator și ochelari de protecție când manipulați materiale radioac-

	<p>tive. Razele-X și razele gama reprezintă unde electromagnetice cu lungimi de undă foarte scurte, generate fie prin mijloace tehnice, fie emise de materiale radioactive. Ele pot fi emise izotropice de la sursă sau pot fi focusate într-o rază. Pericolele lor potențiale depind de perioada de timp a expunerii, intensitate și lungimea undelor folosite. Întotdeauna controlați atent după ce ați utilizat radioizotopi.</p>
Siliciu	<p>Este un iritant și poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Nu respirați praful.</p>
Nitrat de argint, AgNO₃	<p>Este oxidant puternic și trebuie manipulat cu atenție. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Evitați contactul cu pielea. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Poate cauza explozii la contactul cu alte materiale.</p>
Azidă de sodiu, NaN₃	<p>Este foarte otrăvitoare. Blochează sistemul citocromic de transport al electronilor. Soluțiile ce conțin azidă de sodiu trebuie să fie clar marcate. Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători și manipulați cu deosebită atenție.</p>
Dodecil sulfat de sodiu (SDS)	<p>Este toxic, un iritant și manifestă un risc de afecțiune gravă pentru ochi. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Nu respirați praful.</p>
Fluorură de sodiu, NaF	<p>Este foarte toxică și provoacă iritații grave, poate fi fatală prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți doar sub nișă.</p>
Hidroxid de sodiu, NaOH	<p>Soluțiile ce conțin NaOH sunt foarte toxice și caustice și trebuie tratate cu deosebită atenție. Purtați mănuși corespunzătoare și o mască facială. Toate bazele concentrate trebuie manipulate într-un mod similar.</p>
Azotat de sodiu, NaNO₃	<p>Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți sub nișă.</p>
Pirofosfat de sodiu, Na₄O₇P₂	<p>Este un iritant și poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Nu respirați praful.</p>
Salicilat de sodiu, 2-HOC₆H₄COONa	<p>Este un iritant și poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Nu respirați praful.</p>
Spermidină	<p>Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți sub nișă.</p>

Streptomicină	Este toxică, un carcinogen și mutagen suspectat. Poate provoca reacții alergice. Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Acid sulfuric, H₂SO₄	Este foarte toxic și extrem de distructiv pentru țesutul membranelor mucoase și canalul respirator superior, ochi și piele. Provoacă arsuri și la contactul cu alte materiale (ex. hârtie), poate cauza incendiu. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători și halat de laborator. Folosiți sub nișă.
Tetraciclină	Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători și folosiți sub nișă. Soluțiile de tetraciclină sunt sensibile la lumină.
N,N,N',N'- Tetrametiletildiamină (TEMED)	Este extrem de distructivă pentru țesutul membranelor mucoase și canalul respirator superior, ochi și piele. Inhalarea poate fi fatală. Contactul prelungit poate cauza iritații grave sau arsuri. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători și altă îmbrăcăminte de protecție. Folosiți doar sub nișă. Spălați bine după manipulare. Inflamabilă. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacăra deschisă.
Tiouree	Poate fi carcinogenă și dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți sub nișă.
Acid tricloracetic (TCA)	Este foarte caustic. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători.
Triclorotrifluoretan	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători. Folosiți sub nișă. Îndepărtați de căldură, scânteii și flacăra deschisă.
Acid trifluoracetic (TFA) (concentrat)	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Acizii concentrați trebuie să fie manipulați cu deosebită atenție. Purtați mănuși corespunzătoare și o mască facială. Folosiți sub nișă.
Tris	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători.
TritonX-100	Provoacă iritație severă a ochilor și arsuri. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de protecție corespunzători.
Triptofan	Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.
Uree	Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători.

Radiație UV	Este periculoasă și poate afecta retina ochilor. Niciodată nu priviți o sursă de lumină UV neprotejată cu ochiul liber. Exemple de surse de lumină UV ce sunt întâlnite în mod obișnuit în laborator includ lămpi de mână și transiluminatoare. Priviți doar printr-un filtru sau ochelari de protecție care absorb lungimile de undă dăunătoare. Radiația UV este, de asemenea, mutagenă și carcinogenă. Pentru a minimaliza expunerea, asigurați-vă că sursa de lumină UV este adecvat protejată. Purtați mănuși de protecție corespunzătoare în timp ce țineți materiale sub sursa de lumină UV.
Xilen, C₈H₁₂N₂	Este inflamabil și poate fi narcotic la concentrații mari. Poate fi dăunător prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Folosiți doar sub nișă. Îndepărtați de căldură, scântei și flacăra deschisă.
Clorură de zinc, ZnCl₂	Poate fi dăunătoare prin inhalare, ingestie sau absorbție cutanată. Purtați mănuși și ochelari de siguranță corespunzători. Nu respirați praful.

GLOSAR

- Abuz** – utilizarea inadecvată și ilegală a materialelor biologice valoroase, în dezacord cu acordurile, tratatele și convențiile semnate.
- Accident de diseminare a OMG** – orice incident care implică o răspândire semnificativă și neintenționată de microorganisme modificate genetic în timpul utilizării lor în condiții de izolare, care ar putea prezenta un pericol imediat sau cu efect întârziat pentru sănătatea umană sau mediu.
- Agent biologic** – include bacterii, virusuri, fungi, paraziți, forme microscopice infecțioase ale paraziților mai mari (de exemplu, ovulul și larvele infective ale helminților), culturile de celule și endoparaziții umani cu caracteristici dăunătoare (infecție, alergii, toxicitate etc.).
- Alergen** – un antigen ce poate sensibiliza organismul și poate provoca o reacție de hipersensibilitate la o expunere ulterioară la acest alergen.
- Alergie** – reacție de hipersensibilitate imediată, ce apare în cazul în care imunoglobulina E (IgE) este produsă ca răspuns la un antigen inofensiv, precum o celulă bacteriană nepatogenă sau neviabilă. Eliberarea unor mediatori imunologici de către mastocitele sensibilizate de prezența IgE produce o reacție inflamatoare acută cu simptome de tipul astmului sau rinitelor.
- Antigen** – orice moleculă ce induce producerea de către limfocitele B a unui anticorp specific. O moleculă ce poate fi recunoscută în mod specific de către elementele sistemului imunitar, adică de limfocitele B sau T ori ambele.
- Antiseptic** – o substanță care inhibă creșterea și dezvoltarea microorganismelor, însă fără a le distruge.
- Autoritate competentă** – instituție publică cu personalitate juridică, aflată în subordinea autorității publice centrale.
- Aviz** (privind activitățile cu OMG-uri) – act tehnico-juridic emis de autoritățile implicate pentru a autoriza activitățile cu OMG în condiții de izolare.
- Biocid** – un termen general utilizat pentru orice agent care distruge organismele.
- Bioetică** – studiul implicărilor morale și etice ale descoperirilor biologice, progreselor biomedicale și aplicațiilor lor în domenii ca ingineria genetică și cercetări în domeniul medicamentelor. Bioetica este unul dintre cele trei componente care contribuie la un management de succes în domeniul bioriscului.
- Biorisc** – probabilitatea ca un eveniment particular nefavorabil, care posibil va provoca daune, va avea loc.
- Biosecuritate** – totalitatea măsurilor luate pentru a reduce sau a elimina riscurile potențiale asupra sănătății umane, conservării și utilizării durabile a diversității biologice, ce pot apărea în urma utilizării agenților biologici. Biosecuritatea laboratorului descrie protecția, controlul și responsabilitatea pentru materialele biologice valoroase cu scopul de a preveni accesul neautorizat, pierderea, furtul, întrebuințarea greșită, eliberarea intenționată.
- Boală contagioasă** – maladie infecțioasă a omului, cu capacitate de răspândire rapidă (epidemică) în mijlocul populației umane, care se manifestă prin stare clinică gravă, rată înaltă de mortalitate și invaliditate și care este reglementată de convenții interstatale și de Regulile Medico-Sanitare Internaționale (pestă, holeră, febre hemoragice și alte maladii specificate de Organizația Mondială a Sănătății).
- Certificare a produselor, mărfurilor, proceselor și serviciilor** – procedură de studiu, efectuată de servicii de stat, în baza căreia se stabilește corespunderea sistemelor de control cerințelor în vigoare, se permit producerea, importul, comercializarea produselor, mărfurilor, proceselor și serviciilor și se confirmă inofensivitatea lor pentru sănătatea populației.

- Cod unic de identificare (în cazul OMG)** – o înșiruire de cifre și/sau de litere care permite identificarea unui organism modificat genetic pe baza evenimentului de transformare autorizat, și care asigură accesul la informațiile specifice referitoare la acesta. Codul unic de identificare pentru organismele modificate genetic este publicat în *Revista oficială al Comunității Europene* (JOCE) nr. 10/2004 (Regulamentului Comisiei UE [CE] nr. 65/2004 din 14 ianuarie 2004).
- Container de deșuri** – bidoane, baloane de sticlă, canistre, sticle, cutii, pungi de plastic, containere metalice de transport sau orice alt recipient acceptat ca adecvat pentru păstrarea unui anumit tip de deșeu.
- Container de siguranță secundar** – un container proiectat pentru păstrarea unui sau mai multor containere pentru colectarea deșeurilor lichide într-un laborator sau zonă comercială. Exemple de containere de siguranță secundare sunt tuburi sau găleți de plastic, chiuvete, cuve.
- Decontaminare** – orice proces care implică eliminarea sau/și distrugerea microorganismelor. Același termen este utilizat și pentru eliminarea sau neutralizarea substanțelor chimice periculoase sau materialelor radioactive.
- Deșeu radioactiv** – deșeu care conține radioactivitate sau a fost indus să fie radioactiv. Deșeurile radioactive pot fi solide sau lichide.
- Deșuri toxice** – deșuri care prezintă un hazard pentru sănătatea omului sau mediului din cauza cancerigenității, toxicității cronice sau acute, proprietăți de bioacumulare sau persistență în mediu.
- Deșuri uscate** – deșeurile care nu conțin lichide cum ar fi sticla, hârtia, plasticul, metalul, lemnul sau cauciucul.
- Detergent** – produs al cărui compoziție chimică a fost special creată pentru a curăța în mediul apos, având constituenți principali agenții tensioactivi (surfactanți sau agenți activi de suprafață) și constituenți auxiliari, substanțe de condiționare și adjuvanți.
- Epidemie** – răspândirea masivă în progresie rapidă în timp și în spațiu a unei boli contagioase, care depășește considerabil nivelul morbidității înregistrate în mod curent în acest perimetru.
- Epifitotie** – răspândirea masivă a unei boli infecțioase la plante și în primul rând la culturile agricole pe un teritoriu imens pe parcursul unei anumite perioade de timp. Epifitotia în RM se caracterizează prin următoarele boli: rugina galbenă a grâului, molia cartofului, roua făinoasă a grâului, rugina paiului de seară, rugina brună a grâului și a secarei.
- Epizootie** – răspândirea concomitentă în masă a unei boli contagioase la una sau mai multe specii de animale, care depășește considerabil numărul îmbolnăvirilor înregistrate în mod obișnuit în perimetrul aceluși teritoriu. În RM se întâlnesc următoarele maladii infecțioase ale animalelor și păsărilor: antraxul, rabia, leucoza enzootică, bovină, tuberculoza, bruceleza, pesta porcină, salmoneloza.
- Etichetă** – orice material scris, imprimat, gravat sau ilustrat, care conține elemente de identificare a produsului și, după caz, instrucțiuni de utilizare care însoțesc produsul sau sunt aplicate pe ambalajul acestuia. Eticheta poate avea înscrise sau atașate suplimentar, sigle sau alte semne ecologice, precum și elemente de publicitate, cu respectarea prevederilor legale.
- Evaluarea riscurilor asociate cu OMG-uri** – estimarea efectelor, directe sau indirecte, imediate sau întârziate, ale introducerii în mediu a organismelor modificate genetic sau a părților componente ale acestora asupra sănătății umane și mediului.
- Expresie genetică** – procesul de sinteză a transcripților ARN, proteinelor și polipeptidelor în baza informației conținute în genele unui organism.

- Factori ai mediului de viață** – factori biologici (virusuri, bacterii, paraziți etc.), chimici/ fizici (zgomot, vibrații, ultrasunet, infrasonet, radiații ionizante, neionizante, termice și de altă natură), sociali (alimentare cu apă, alimentație, condiții de trai, muncă, instruire și odihnă), psihici și de altă natură ai mediului de viață, care au/pot avea influență asupra stării sănătății omului și a generațiilor viitoare.
- Filtru de aer de înaltă eficiență pentru particule (High efficiency particulate air [HEPA] filter)** – filtru care înlătură cel puțin 99,97% din particulele cu diametrul de 0,3 micrometri.
- Generator de deșeuri** – persoană responsabilă de generarea deșeurilor hazardate, radioactive sau eterogene. Fiecare cercetător, laborator sau depozit este un potențial punct de origine al deșeurilor.
- Hazard** – pericol sau sursă de pericol, potențialul de a provoca o vătămare.
- Insert** – secvență de ADN/ARN introdusă în materialul genetic al organismului receptor.
- Inspector de biosecuritate** – persoană instruită în domeniul activităților cu microorganisme modificate genetic sau alți agenți biologici cu potențial hazard, cu responsabilități în activitatea de inspecție și control.
- Laborator biologic** – o încăpere în care sunt colecționate și/sau păstrate microorganisme și componente ale derivatelor lor. Laboratoarele biologice includ laboratoare clinice, încăperi de diagnosticare, centre regionale și/sau naționale, laboratoare de sănătate publică, centre de cercetare (academică, farmaceutică, de mediu etc.) și încăperi de producție (manufactura vaccinurilor, medicamentelor, OMG-urilor etc.) pentru oameni, scopuri veterinare și pentru agricultură.
- Maladie** – orice perturbare structurală sau funcțională ce produce o afecțiune sau o tulburare la oameni, animale sau plante.
- Managementul riscurilor** – elaborarea și punerea în aplicare a unui ansamblu de măsuri de monitorizare a riscurilor și de intervenție în caz de accident.
- Materiale biologice valoroase** – materiale biologice care necesită supraveghere administrativă atentă, control, responsabilitate și măsuri de protecție și monitorizare specifice pentru protejarea valorii lor economice și istorice (de arhivă). Materiale biologice valoroase pot include patogeni și toxine, organisme nepatogene, vaccinuri, alimente, organisme modificate genetic, componente celulare, elemente genetice etc.
- Măsuri restrictive (carantină)** – măsuri excepționale administrative, medico-sanitare, veterinare și de altă natură orientate spre preîntâmpinarea răspândirii și localizarea bolilor contagioase și extrem de periculoase, care prevăd un regim special de activitate, izolare, limitare a circulației populației, mijloacelor de transport, mărfurilor și animalelor.
- Microorganisme nepatogene** – grup de microorganisme pentru care în mediul natural nu se înregistrează efecte dăunătoare ale sănătății. Termenul se referă la organismele care sunt o parte componentă a florei normale ce colonizează nișe biologice specifice și care îndeplinesc funcții benefice pentru gazda lor sau pentru mediu și nu provoacă maladii. Astfel de organisme pot dobândi trăsături patogene intenționat sau nu, sub influența mediului natural sau manipulat. Organismele nepatogene pot fi utilizate ca gazdă pentru transformările genetice. De aceea organismele nepatogene trebuie să fie protejate cu responsabilitate.
- Organism donator** (activități cu OMG-uri) – organismul utilizat pentru extragere de material genetic cu scopul de a fi inserat în materialul genetic al organismului receptor.
- Organism receptor** (activități cu OMG-uri) – organism în al cărui material genetic s-a introdus prin modificare genetică un material genetic străin.
- Organism/ microorganism modificat genetic** – orice organism/ microorganism cu excepția celui uman al cărui material genetic a fost modificat altfel decât prin încrucișare sau recombinare naturală prin utilizarea tehnicilor de inginerie genetică.

- Patogeni și toxine** – grup de agenți care necesită atenție și protecție în contextul biosecurității în laborator. Patogenii sunt agenți biologici naturali sau produși ai ingineriei genice care pot provoca epidemii sau pandemii. Toxinele sunt substanțe nocive produse de celule vii sau organisme. Patogenii și toxinele pot avea un impact moderat sau sever asupra sănătății publice și a serviciilor de sănătate publică și pot provoca daune economice sociale. Patogenii și toxinele au fost asociate și identificate ca arme biologice. Acești agenți se întâlnesc în mod firesc în focarele endemice din lumea întreagă și un număr necunoscut de laboratoare mențin patogeni în diferite forme colecționate sau produse în urma unor operații de rutină.
- Patogenitate** – capacitatea unui organism de a cauza o maladie prin infecție, toxicitate sau alergenitate. Patogenitatea este un atribut taxonomic important, propriu fiecărei specii.
- Plasmidă** – determinant extracromozomial de ADN capabil de replicare independentă, descoperit la multe microorganisme, care conferă celei-gazda un anumit avantaj evolutiv.
- Rizobacterii** – bacterii care habitează rizosfera și care eventual afectează rădăcinile la nivel intracelular sau intercelular. Rizobacteriile se utilizează deseori în agricultură ca inoculi microbieni/ germinali.
- Plan de urgență** – set de măsuri și activități care se aplică în caz de accident.
- Proba biologică** – eșantion prelevat în condiții speciale pentru a determina anumite caracteristici genetice și/ sau biochimice ale materialului analizat.
- Plante modificate genetic** – plante superioare, aparținând grupelor taxonomice gimnosperme și angiosperme, cărora, prin tehnici de inginerie genetică, li s-au transferat gene „de interes“, conferindu-le rezistență la anumiți dăunători sau anumite boli, toleranță la unele erbicide ori la factori nefavorabili de mediu, calității nutriționale superioare etc.
- Produs agricol modificat genetic** – orice produs obținut din plante modificate genetic, destinat procesării și/sau utilizării ca aliment ori hrană pentru animale.
- Reguli de transportare a încărcăturilor periculoase** – actele tehnico-normative care reglementează complexul măsurilor de asigurare a securității la transportarea încărcăturilor periculoase utilizând mijloacele de transport corespunzătoare.
- Reguli și normative sanitaro-epidemiologice de stat** – acte normative și directive care stabilesc condiții sanitaro-epidemiologice (inclusiv criteriile securității și/sau inofensivității factorilor mediului de viață al omului, normele igienice etc.), a căror nerespectare pune în pericol viața și sănătatea omului, creează pericolul apariției și răspândirii bolilor.
- Risc** – probabilitatea apariției unui efect nociv asupra sănătății și gravitatea acestui efect.
- Sănătate publică** – sistem de măsuri orientate spre prevenirea bolilor, promovarea sănătății, sporirea potențialului fizic și psihic al omului, educația pentru sănătate a fiecărui individ și promovarea modului de viață sănătos, organizarea asistenței medicale și de îngrijire, desăvârșirea mecanismului social de asigurare a accesului fiecărui om la un standard adecvat de viață.
- Situație excepțională cu caracter biologic-social** – situație în care, drept rezultat al apariției sursei de contaminare pe un anumit teritoriu, sunt afectate condițiile de viață și de activitate ale oamenilor, este pusă în primejdie existența animalelor și plantelor, apare pericolul de răspândire în masă a maladiilor contagioase, este periclitată viața și sănătatea oamenilor.
- Situație excepțională cu caracter tehnogen** – situație cauzată de avarii industriale, accidente în transport, incendii, explozii, accidente cu degajarea (cu pericol de degajare) substanțelor toxice, radioactive, ruperea digurilor, prăbușirea edificiilor etc., pe un anumit teritoriu, când sunt afectate condițiile normale de viață și de activitate a populației și sunt provocate daune materiale.

- Supraveghere epidemiologică** – sistem științifico-organizatoric de supraveghere a sănătății publice și a factorilor ce o determină, asigură diagnosticarea și pronosticarea oportună a stărilor nefavorabile, precum și elaborarea măsurilor adecvate de prevenire a îmbolnăvirilor, de diminuare a morbidității și de eradicare a unor boli.
- Test de potrivire a măștii (fit test)** – evaluarea etanșeității unei măști la o anumită persoană.
- Testare în câmp** – experiment constând în studierea organismelor modificate genetic în câmp, în condiții de mediu aflate sub control, avându-se certitudinea că aceste organisme nu vor persista în mediu după încheierea experimentului.
- Transportatori ai încărcăturilor periculoase** – expeditorii și destinatarii, întreprinderile și organizațiile care efectuează încărcarea, depozitarea tranzitarea și păstrarea temporară, transportarea, descărcarea, paza și însoțirea încărcăturilor periculoase.
- Transportul materialului biologic** – proceduri și practici de organizare corectă a clasificării, împachetării, documentării și transportului sigur al materialelor biologice valoroase dintr-o destinație în alta, respectând normele naționale și/sau internaționale adecvate.
- Tratamentul deșeurilor** – orice metodă, tehnică sau proces intenționat să modifice caracterul fizic, chimic sau biologic sau compoziția oricărui deșeu hazardat. Neutralizarea sau diluarea sunt exemple de procese de tratament.
- Utilizare în condiții de izolare** – orice operațiune prin care microorganismele sunt modificate genetic sau prin care acestea sunt multiplicat, cultivate, depozitate, transportate, distruse, eliminate ori utilizate în orice alt mod, în condiții controlate, în incinte/ medii închise. Pentru toate aceste operațiuni se iau măsuri speciale de izolare, pentru a se evita/ limita contactul lor cu oamenii și cu mediul, pentru a asigura un grad înalt de siguranță;
- Utilizator de OMG** – orice persoană juridică responsabilă pentru utilizarea în condiții de izolare a microorganismelor modificate genetic.
- Vector** – plasmide, bacteriofagi, în care se poate insera o secvență de material genetic care urmează a fi inserată în ADN/ARN gazdă, și care va fi replicată, iar în anumite cazuri, exprimată.
- Vector defectiv** (utilizare în transformare genetică) - vector căruia îi lipsesc una sau mai multe funcții de transfer și care nu este susceptibil de a fi mobilizat de alte elemente care suplinesc funcțiile absente.
- Virulentă** – capacitate a unui microorganism patogen de a se multiplica într-un organism viu și de a provoca manifestări morbide. Virulența poate varia considerabil de la o tulpină la alta a aceluiași microorganism, precum și de la o gazdă la alta.
- Zona materialului radioactiv** – zonă în care există posibilitatea de contaminare din cauza prezenței materialelor radioactive nesigilate sau o zonă expusă la raze sau alte surse de particule (neutroni, protoni etc.) capabili să provoace contaminare.
- Zonă tampon** – perdea de protecție cultivată cu plante nemodificate genetic, de regulă cu talie înaltă, în jurul unei parcele cultivate cu varietăți modificate genetic, cu scopul de a preveni transferul polenului la culturile și buruienile din apropiere;
- Zonă de acumulare a deșeurilor** – zonă specificată oficial pentru acumularea și păstrarea unor cantități mari de deșeurii hazardate. Există norme specifice care implică securitatea, marcarea, și elaborarea de planuri în caz de situații neprevăzute și echipament de urgență.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Adelaida Harries. Process management manual for release into the environment of genetically modified agricultural organisms Iowa State University, Ames, Iowa, 2005, <http://www.seeds.iastate.edu/publications/process%20mgmt/process%20management%20release.pdf>
2. Biological Agents, managing the risks in laboratories & healthcare premises. SE/ACDP/DH/ DEFRA, 2005, <http://www.hse.gov.uk/biosafety/biologagents.pdf>
3. Biorisk management. Laboratory biosecurity guidance, World Health Organization 2006, http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_EPR_2006_6.pdf
4. Biosafety manual. Environmental Health and Safety Iowa State University, 2005, USA, <http://www.ehs.iastate.edu/cms/>
5. Cadrul național în domeniul securității biologice. Chișinău, 2004, 47 p.
6. Deliberate use of biological and chemical agents to cause harm. World Health Assembly resolution WHA55.20, May 2002 (http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA55/ea5520.pdf)
7. Duca M., Lozan A., Port A., Glijin A., Lupașcu V. Aspecte metodologice în testarea plantelor modificate fenetic, Chișinău 2008, 168 p.
8. Duca M., Teleuță A., Port A. Plante modificate genetic. beneficii și riscuri, Chișinău 2003, 96 p.
9. Duca M., Teleuță A., Port A., Organismele modificate genetic. prezent și viitor, Chișinău, 2004, 31p.
10. European Council. Council Directive 98/81/EC of 26 October 1998 amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified microorganisms. Official Journal, 1998, L330:13-31. Contained use of genetically modified microorganisms. Official Journal, 1998, L330:13-31.
11. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Biosecurity for agriculture and food production. Introduction to biosecurity, 2003, <http://www.fao.org/biosecurity/>
12. Genetically Modified Organisms (Contained Use) (Amendment) Regulations 2005& guidance on this legislation from the HSE: <http://www.uk-legislation.hmso.gov.uk/si/si2005/20052466.htm>; <http://www.hse.gov.uk/biosafety/gmo/guidance/amendingregs.pdf>
13. Genetically Modified Organisms (Contained Use) Regulations 2000. (Statutory Instrument 2000 no 2831). <http://www.opsi.gov.uk/si/si2000/20002831.htm>
14. Global health security: epidemic alert and response. World Health Assembly resolution WHA54.14, May 2001, http://ftp.who.int/gb/pdf_files/WHA54/ea54r14.pdf
15. Global public health response to natural occurrence, accidental release or deliberate use of biological and chemical agents or radionuclear material that affect health. World Health Assembly resolution
16. GMCrops_coexistence.pdf <http://www.jrc.cec.eu.int/download/>
17. http://www.gmfrireland.org/downloads/gmcrops_coexistence.pdf
18. Guidance for Clinical Health Care Workers: Protection Against Infection with Blood-borne Viruses Department of Health 1998 available online at: www.advisorybodies.doh.gov.uk, <http://www.istge.it/library/libri/safeman/istpdfeng.pdf>.
19. Infection at work: controlling the risks Advisory Committee on Dangerous Pathogens 2003 available online at: www.hse.gov.uk/pubns/infection.pdf
20. Laboratory biosafety manual. - 3rd ed. World Health Organization. Geneva, 2004, <http://www.who.int/csr/>
21. Laboratory Biosafety Manual. WHO, 2004, <http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf>

22. Laboratory Bio-Security Manual WHO, 2006. http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_EPR_2006_6.pdf
23. Messean A., Angevin F., Gómez-Barbero M., Menrad K. and E. Rodríguez-Cerezo. New case studies on the coexistence of GM and non-GM crops in European agriculture. Joint Research Centre (JRC), European Commission, January 2006,
24. Niebur, W.S. (1993). Traditional Crop Breeding Practices: An Historical Review to Serve as a Baseline for Assessing the Role of Modern Biotechnology. OECD: 113-121.
25. Nielsen, K.M., Gebhard, F., Smalla, K., Bones, A. and vanElsas, J. (1997). Evaluation of Possible Horizontal Gene Transfer from Transgenic Plants to the Soil Bacterium *Acinetobacter Calcoaceticus* Bd413. Theoretical and Applied Genetics (95Oct)(N-5-6): 815-821.
26. Patricia L. Traynor Dann Adair Ruth Irwin. Greenhouse Research with Transgenic Plants and Microbes Information Systems for Biotechnology, Virginia Tech, 2001 (<http://www.isb.vt.edu>) www.isb.vt.edu/greenhouse/green_man.intro.cfm
27. Recommendations on the Transport of Dangerous Goods, Model Regulations. Fourteenth revised edition. United Nations, New York and Geneva, 2005 (<http://www.unece.org/trans/danger/publi/>)
28. Sambrook J., Russell D., Molecular cloning. A laboratory manual., Cold Spring Harbor laboratory press, New York, vol. I-III, 2001.
29. Sossai, D. Safety Manual for Researchers in Biotechnology Laboratories, 2001.
30. Sundelius B, Grönvall J. Strategic dilemmas of biosecurity in the European Union. Biosecurity and bioterrorism: biodefense strategy, practice, and science, 2004, 2(1):17-23.
31. United Nations Environment Programme. Convention on Biological Diversity. Cartagena Protocol on Biosafety (<http://www.biodiv.org/biosafety/default.asp>; WHA55.16, May 2002. http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA55/ewha5516.pdf
32. World Health Organization. Maintenance and distribution of transgenic mice susceptible to human viruses: memorandum from a WHO meeting. Bulletin of the World Health Organization, 1993, 71:497-502. www.inra.fr/content/download/8445/115518/version/1/file/eur22102en.pdf