

Biozagrożenia i biobezpieczeństwo

Aleksander Chmiel
Samodzielna Pracownia
Biosyntezy Środków Leczniczych
Akademia Medyczna
Łódź

1. Zarys problemu

Problem biologicznego zagrożenia w mikrobiologii i biotechnologii wynika z pracy z drobnoustrojami oraz różnymi formami materiału genetycznego. Zagrożenie istnieje przede wszystkim w pracy z zarazkami chorobotwórczymi. Również wyizolowany DNA, a także syntetyczne polinukleotydy mogą stanowić duże zagrożenie po wprowadzeniu/wniknięciu do komórek, jeżeli kodują cechę chorobotwórczości, np. onkogenność. Zagrożeniem są także produkty metabolizmu drobnoustrojów — toksyny, alergeny, niektóre enzymy. Problematyka bezpieczeństwa w biotechnologii obejmuje laboratoria i zakłady przemysłowe, pracowników i osoby postronne, procesy i produkty, a także środowisko naturalne.

W krajach o wysoko rozwiniętej biotechnologii oraz w organizacjach międzynarodowych stworzono specjalistyczne zespoły i komitety analizujące zagrożenia oraz warunki bezpiecznej pracy w biotechnologii. Opracowano szereg dokumentów: zaleceń, rozporządzeń, norm i aktów prawnych, regulujących sprawy biobezpieczeństwa. Były one cytowane we wcześniejszych pracach autora (1 – 3) i w innych materiałach publikowanych na łamach „Biotechnologii” (4 – 10). Najnowsze szczegółowe regulacje można znaleźć m.in. w uaktualnionych przepisach amerykańskich *NIH rDNA guidelines* (11), brytyjskim dokumencie *Environmental Protection Act* (12) oraz w wytycznych *OECD Directives on the Contained use and Deliberate Release of Genetically Modified Organisms* (13). W roku 1992 ukazała się również pozycja książkowa *Safety in Industrial Microbiology and Biotechnology* (14). Redakcja przewiduje opublikowanie niektórych materiałów (zaleceń, norm) na łamach „Biotechnologii” w roku 1994.

Niniejsze opracowanie, przygotowane zostało w celu przedstawienia na konferencji: „Biotechnologia — inne oblicze”, i ma charakter prezentacji poglądów autora, opartych głównie na pracach *EFB Working Party on Safety in Biotechnology* (zest. 1). Przedmiotem opracowania jest dyskusja zagrożeń i biobezpieczeństwa w biotechnologiach opartych na wykorzystaniu drobnoustrojów. Analizując zagadnienie biobezpieczeństwa należy jednak uwzględnić również manipulacje genetyczne na organizmach wyższych, zmierzające do ulepszenia cech użytkowych roślin i zwierząt.

ZESTAWIENIE 1

KIERUNKI DZIAŁAŃ EFB (WORKING PARTY ON SAFETY IN BIOTECHNOLOGY)
(DISKUSJA PROBLEMÓW I STYMULACJA DZIAŁAŃ)

- * monitorowanie i analiza biozagrożeń
- * kategoryzacja biozagrożeń i zabezpieczeń
- * ocena i doskonalenie zabezpieczeń
- * unifikacja przepisów i standardów
- * program informacyjno-edukacyjny

Wydaje się, że prace z roślinami mogą być kontrolowane w znacznym stopniu, nawet po wprowadzeniu nowych genotypów do upraw polowych. Rośliny doskonalone pod względem ich cech użytkowych, niezależnie od stosowanych metod (klasyczne krzyżowanie i selekcja, czy manipulacje genetyczne), wymagają zazwyczaj znacznej pomocy człowieka w utrzymaniu genotypu i przetrwaniu w środowisku naturalnym, ponieważ w porównaniu z roślinami dziko rosnącymi są one najczęściej biologicznie upośledzone. Presja środowiska stanowi poważną barierę w rozprzestrzenianiu się doskonalonych roślin.

Osobnym zagadnieniem jest ingerencja w genom ludzki. Z pewnością słuszne są dążenia do zastosowania nowoczesnych technik molekularnych dla ratowania życia chorego, bądź poprawy jakości życia na drodze eliminacji wad genetycznych. Zabiegi genetyczne, które można uznać za dopuszczalne na organizmie ludzkim oraz prace nad doskonaleniem zwierząt powinny być prowadzone z zachowaniem najwyższego stopnia kontroli i z uwzględnieniem norm etycznych. W zdecydowanej większości wypadków dotyczą one indywidualnych organizmów, a nie populacji, jak to ma miejsce w odniesieniu do drobnoustrojów.

2. Biotechnologia drobnoustrojowa

Duża część biotechnologii tradycyjnych, związana z przetwarzaniem lub wytwarzaniem żywności, uznawana jest powszechnie za bezpieczną, co wynika z wielowiekowej często praktyki. Dotyczy to zarówno procesów, jak i produktów. Warunkiem bezpieczeństwa jest jednak stosowanie odpowiedniej jakości surowców, prawidłowej technologii wytwarzania, właściwych warunków przechowywania i transportu. W przeciwnym razie istnieje zagrożenie, np. salmonellozą (drób, produkty mleczne), czy alfatoksynami (produkty roślinne skażone grzybami pleśniowymi).

Zagrożenie o różnym stopniu niebezpieczeństwa i zasięgu stwarzają natomiast niektóre nowe biotechnologie opracowane w XX w. Mogą to być np. infekcje u pracowników wytwórni szczepionek, gdzie namnażane są zarazki chorobotwórcze, czy alergie na spory grzybów i bakterii lub produkty ich metabolizmu (15) w warunkach masowej hodowli drobnoustrojów. Przykłady

pozainfekcyjnego zagrożenia ze strony wybranych procesów biotechnologicznych przedstawiono w tab. 1. W pracy z drobnoustrojami stosowanymi w tego typu biotechnologiach obowiązuje przestrzeganie prawidłowych technik mikrobiologicznych (*Good Microbiological Techniques — GMT*).

TABELA 1
CHOROBY NIEINFEKCYJNE, KTÓRE MOGĄ WYSTĄPIĆ W POWIĄZANIU
Z WYBRANYMI PROCESAMI BIOTECHNOLOGICZNYMI (WG 15)

| Produkt/proces | Choroba |
|-------------------------------|--|
| antybiotyki | choroby krążenia, krwotoczne zapalenie nosa |
| białko jednokomórkowców (SCP) | alergie, astma, zapalenie skóry |
| endotoksyny | symptomy grypowe |
| enzymy | astma, zapalenie spojówek, zapalenie skóry |
| fermentacje grzybowe | astma, bronchit |
| produkcja piwa | „gorączka słodowa”, zapalenie skóry |
| steroidy | nadciśnienie, przyrost masy ciała, pojawianie się cech kobiecych (u mężczyzn) |

Bardzo duże potencjalne zagrożenie noszą niektóre technnologie wytwarzania szczepionek. Dla zapewnienia bezpiecznych warunków pracy opracowano dla nich instrukcje i normy technologiczne oraz stworzono specjalne techniczne środki bezpieczeństwa, co jest szczególnie ważne w pracy laboratoryjnej i w procesach technologicznych z zarazkami chorobotwórczymi. Obowiązuje stosowanie bezpiecznych technik mikrobiologicznych (*Safe Microbiological Techniques — SMT*).

Oceniając zagrożenia ze strony drobnoustrojów należy uwzględnić zarówno ich potencjał chorobotwórczy (3,8,14), jak i dostępność zabezpieczeń technicznych i środków profilaktycznych (zest. 2).

ZESTAWIENIE 2
SYSTEM BARIER UMOŻLIWIAJĄCYCH BEZPIECZNĄ PRACĘ Z DROBNUSTROJAMI (8,14)

Bariery 1. rzędu — wokół drobnoustroju

- * prawidłowe techniki mikrobiologiczne (GMT)
- * zamknięte urządzenia (np. bioreaktory, wirówki, itp.)
- * szafki z laminarnym nawiewem

Bariery 2. rzędu — wokół pracowników

- * ubrania ochronne (jednorazowe)
- * opieka medyczna, szczepienia ochronne
- * wysoki poziom higieny osobistej

Bariery 3. rzędu — wokół pomieszczeń

- * pomieszczenia izolowane
- * śluzy
- * filtry HEPA (pory 0,4 μm , sprawność 99,998%)
- * sterylizacja odpadów „na miejscu”
- * ograniczony wstęp

Drobnoustroje od wieków stosowane w przetwórstwie żywności (np. drożdże *Saccharomyces cerevisiae*, czy bakterie kwasu mlekowego), a także populacje biorące udział w unieczynnianiu ścieków, mogą być używane w tzw. otwartych fermentacjach nie stwarzając zagrożenia dla ludzi i środowiska, na co wskazuje dotychczasowa długa praktyka.

Szczepy używane w nowych biotechnologiach wytwarzania klasycznych bioproduktów (antybiotyków, enzymów, aminokwasów itd.) są drobnoustrojami saprofitycznymi, w zasadzie bezpiecznymi dla człowieka i środowiska. Zagrożenie może w tym wypadku wynikać z namnażania ich w dużej masie i przy „sprzyjających” warunkach może prowadzić do stanów chorobowych (efekty toksyczne, alergie, a nawet infekcje). Procesy technologiczne z ich użyciem wymagają spełnienia określonych warunków prawidłowej praktyki przemysłowej (*Good Industrial Large-Scale Practice* — GILSP).

Doskonalone do celów technologicznych szczepy (mutanty, rekombinanty), selekcionowane w hodowli na sztucznych pożywkach utraciły albo mają w mniejszym lub większym stopniu ograniczoną zdolność do namnażania się i rozprzestrzeniania w środowisku naturalnym, ponieważ stały się biologicznie upośledzone (np. auksotrofy). Szczepy nowo izolowane oraz proponowane do opracowania nowych technologii muszą być poddane wnikliwej ocenie w zakresie biobezpieczeństwa, m.in. dlatego że nie można wykluczyć przypadkowej izolacji ze środowiska również zarazków chorobotwórczych.

3. Czy inżynieria genetyczna jest bezpieczna?

Dyskusja problemu zagrożeń i bezpieczeństwa w biotechnologii trwa od początku lat siedemdziesiątych, w związku z rozwojem manipulacji genetycznych *in vitro*. Sam problem jest jednak znacznie szerszy i starszy, a jego punkt ciężkości, w świetle znanych (publikowanych) danych, leży poza technikami inżynierii genetycznej. Związany jest on z rodzajem materiału biologicznego używanego w laboratoriach i przemyśle. Wysoki lub bardzo wysoki stopień zagrożenia w pracy technikami inżynierii genetycznej występuje na etapie pozyskiwania materiału genetycznego z zarazków chorobotwórczych. Wymaga to bowiem ich izolacji i namnażania. Stosuje się bezpieczne techniki mikrobiologiczne (SMT).

Na podstawie dwudziestoletnich doświadczeń z prowadzonych niezwykle intensywnie prac w zakresie inżynierii genetycznej nie wydaje się aby istniało obecnie podwyższone zagrożenie ze strony konstruowanych drobnoustrojów. Dotychczas, nie zarejestrowano ani jednego nieszczęśliwego wypadku spowodowanego przez stosowanie nowoczesnych technik inżynierii genetycznej. Drobnoustroje zawierające rDNA winny być — i zazwyczaj są — gruntownie badane przed i po manipulacjach genetycznych. Do procesów technologicznych trafiają szczepy dobrze scharakteryzowane, w wyniku długoletnich badań określone jako bezpieczne. Szczególnie dobrze opisany jest mutant *E. coli* K12. Utracił on wiele cech decydujących o chorobotwórczości szczepów dzikich tego gatunku. Są to: czynnik przyczepności (adhezyzna) i zdolność do

adhezji na powierzchni komórek gospodarza, antygen K, wytwarzanie enterotoksyny, odporność na lizę w osoczu krwi, i odporność na fagocytozę; ponadto, lipopolisacharyd (endotoksyna) jego błony komórkowej jest niekompletny. *E. coli* K12 ma poza tym swoiste wymagania pokarmowe. Szczep ten nie może zasiedlić jelit, które są naturalnym środowiskiem bytowania *E. coli*. Stwierdzono, że jego zrekombinowane odmiany giną po około 4–5 dniach od wprowadzenia do przewodu pokarmowego (14).

Pogląd o bezpieczeństwie inżynierii genetycznej, jak się wydaje, jest słuszny jedynie przy ograniczeniu rozważań do ujawnionych i kontrolowanych programów badawczych, mających na celu zaspokojenie potrzeb ludzi. Poza obszarem kontrolowanym pozostają jednak prace z materiałem biologicznym, pomyślanym jako czynnik militarny. Zagrożeniem jest tutaj jednak nie postęp nauki i stosowanie nowych technik biologii molekularnej (czego nie da się powstrzymać), ale intencje ich wykorzystania.

Otwartym zagadnieniem jest celowe wprowadzanie drobnoustrojów modyfikowanych genetycznie do środowiska naturalnego. Nie można wykluczyć, że nowy czynnik biologiczny może wywołać niekorzystne efekty naruszając równowagę ekologiczną, jak to było wielokrotnie stwierdzane po wprowadzeniu nowych gatunków zwierząt i roślin na obszary, na których one wcześniej nie występowały. Czy istnieją wystarczająco skuteczne środki i działania zaradcze? W jakim stopniu manipulacje genetyczne i operowanie organizmami modyfikowanymi jest i może być kontrolowane? Czy może nastąpić transfer zrekombinowanej informacji genetycznej z komórek wybranego biorcy do innych organizmów? Nie wszystkie te problemy mogą być dzisiaj w pełni wyjaśnione.

Wektory niosące zrekombinowaną informację genetyczną są konstruowane w oparciu o plazmidy i bakteriofagi. W naturze obydwa te nośniki są zdolne do tzw. horyzontalnego przenoszenia genów w procesie koniugacji (plazmidy) i transdukcji (fagi). Konstruowane do manipulacji genetycznych specjalne wektory plazmidowe pozbawione są zdolności do udziału w koniugacji. Wektory fagowe nie wywołują lizogenii (po namnożeniu nie mogą się uwolnić z komórki), bądź też nie mogą integrować z genomem bakteryjnym.

Badania *in vitro* i *in vivo* nad horyzontalnym przenoszeniem rDNA (w odpowiednio skonstruowanym do celów biotechnologicznych systemie gospodarz — wektor) z komórek zrekombinowanych szczepów do innych potencjalnych biorców nie dały pozytywnych wyników. Teoretycznie, nie można jednak wykluczyć takiej możliwości w specjalnie korzystnych warunkach. Jednakże praktyczne tego efekty, w postaci wystąpienia przeniesionej cechy w populacji nowego gospodarza, wymagałyby działania określonych czynników selekcyjnych (14).

4. Szczepionki i inne biopreparaty stanowiące zagrożenie

Klasyczne szczepionki wirusowe i bakteryjne są wytwarzane z użyciem drobnoustrojów w pełni chorobotwórczych, bądź zarazków atenuowanych (odjadliwionych). Stopień atenuacji zarazka oraz podatność osobnicza makro-

organizmu na potencjalny rozwój choroby mogą być różne i nie można mieć pewności, że dla każdego szczepionego osobnika preparat taki jest bezpieczny. Nie można wykluczyć również rewersji cech odpowiedzialnych za chorobotwórczość. Znane są wypadki zachorowań, a nawet zgonów, po szczepieniach atenuowanymi wirusami (16).

Duża część szczepionek jest produkowana przy użyciu zarazków w pełni patogennych. Wprawdzie po namnożeniu zarazki są inaktywowane (zabijane), to jednak w procesie ich namnażania istnieje potencjalne zagrożenie dla personelu laboratorium i wytwórni szczepionek, a nawet dla otoczenia, jeżeli zarazki wydostaną się z zakładu. Również proces inaktywacji może być niewystarczająco skuteczny, a wówczas szczepionka zawiera pewną liczbę zarazków żywych, stanowiąc duże zagrożenie dla osób lub zwierząt nią szczepionych.

Poza zagrożeniem wynikającym z chorobotwórczości zarazków używanych do produkcji szczepionek, istnieje dodatkowy problem wynikający z konieczności namnażania wirusów w zwierzętach lub hodowlach komórkowych. Również one stanowią potencjalne zagrożenie, mogąc być źródłem dodatkowych infekcji.

Niektóre bioprodukty (np. aprotymina, heparyna, insulina, oksytocyna) są pozyskiwane bezpośrednio z organów i tkanek zwierzęcych. Istnieje zatem potencjalne zagrożenie skażenia tych preparatów zarazkami chorobotwórczymi pochodzącymi z zainfekowanego materiału wyjściowego.

W takim samym stopniu dotyczy to biopreparatów pozyskiwanych z krwi. Zarówno sama krew, jak i produkty krwiopochodne (osocze, albumina, fibrynogen, fibrynolizyna, gonadotropina i in.) mogą być zainfekowane wirusami, np. zapalenia wątroby typu B, czy HIV. Stanowi to duże zagrożenie dla pracowników wytwórni, personelu medycznego i pacjentów leczonych takimi preparatami.

Osocze jest ważnym składnikiem pożywek do hodowli komórek ludzkich i zwierzęcych *in vitro* w wielu biotechnologiach wytwarzania ważnych produktów dla lecznictwa. Przy pozyskiwaniu surowca z różnych źródeł może dojść do użycia materiału zakażonego wirusami, czy mykoplazmami.

5. Technologia rDNA eliminuje zagrożenia

Nowe biotechnologie, oparte na stosowaniu organizmów modyfikowanych genetycznie pozwalają na wyeliminowanie większości przytoczonych typów zagrożenia. Do największych osiągnięć należy zaliczyć nowe technologie produkcji insuliny i innych hormonów peptydowych, interferonów oraz bezpiecznych szczepionek. Szczególnie te ostatnie zasługują na szersze omówienie.

Postępy biologii molekularnej umożliwiły identyfikację czynników antygenowych, zlokalizowanych na powierzchni komórek bakteryjnych i kapsydów wirusowych. Izolacja lub chemiczna synteza fragmentów DNA kodujących polipeptydowe sekwencje antygenowe pozwalają na klonowanie pożądanego informacji genetycznej w komórkach odpowiednio dobranego, bezpiecznego i łatwo namnażającego się gospodarza, np. bakterii *Escherichia coli* lub drożdży

Saccharomyces cerevisiae. Te ostatnie wykorzystywane są bezpiecznie przez człowieka od tysięcy lat w procesach fermentacyjnych. W wypadku bakterii natomiast, najczęściej używane są szczepy wywodzące się od niechorobotwórczego mutantu *E. coli* K12. W procesie technologicznym nie występuje zatem zarazek chorobotwórczy, a produktem końcowym jest jedynie cząsteczka antygenowa. Dzięki temu technologia i szczepionka są absolutnie bezpieczne.

Szczepionki tego typu, podobnie jak naturalne subkomórkowe frakcje antygenowe (np. przeciw zapaleniu płuc, czy opon mózgowych), frakcje wirionów (np. przeciw zapaleniu wątroby typu B), czy nawet całe, ale zabite zarazki (np. przeciw krztuścowi), mogą być mniej skuteczne aniżeli żywe zarazki namnażające się w uodpornianym organizmie. Inżynieria genetyczna pozwala na stosowanie nowych rozwiązań w tym zakresie. Jednym z nich jest wytworzenie hybrydowych szczepionek wirusowych. Do genomu bezpiecznego wirusa wprowadzany jest fragment DNA wirusa chorobotwórczego, kodujący pożądaną antygen. Zrekombinowany wirus może zawierać więcej niż jeden fragment antygenowy, co umożliwia wytwarzanie hybrydowych szczepionek poliwalentnych. Wobec likwidacji zagrożenia ospą i zaprzestania szczepień ochronnych przeciw tej chorobie, jako wirusowy wektor do produkcji zrekombinowanych szczepionek proponowany jest wirus krowianki (17,18). Rozważa się również możliwość użycia zrekombinowanych adenowirusów (19). Jako wektory do wytwarzania zrekombinowanych żywych szczepionek bakteryjnych proponowane są niechorobotwórcze szczepy *Salmonella* (18).

Możliwe jest wytworzenie szczepionek odzjadliwiających na drodze genetycznej. Szczepionki przeciw krztuścowi zawierają całe zabite komórki bakterii *Bordetella pertussis*. Proponuje się również użycie chemicznie odtoksyczonej egzotoksyny *B. pertussis*, która odgrywa główną rolę zarówno w patogenie choroby, jak i uruchamianiu mechanizmów odpornościowych. Produkcja obydwu typów szczepionek stwarza duże zagrożenie dla pracowników, a ponadto okazało się, że chemicznie inaktywowana toksyna może rewertować z przywróceniem cechy chorobotwórczości. Toksyna *B. pertussis* jest multimerem białkowym, zawierającym m.in. toksyczną podjednostkę S1 (domena A), która jest enzymem (rybozylotransferazą) powodującym rybozylację niektórych białek w komórkach eukariotycznych. Pozostałe 4 podjednostki tworzą nietoksyczną domenę B. Stosując techniki inżynierii genetycznej uzyskano rekombinanty wytwarzające enzymatycznie nieaktywną podjednostkę S1 na skutek substytucji określonych aminokwasów w jej łańcuchu polipeptydowym. Jeden z wariantów zrekombinowanej toksyny, pozbawiony toksyczności, wykazał wysoką aktywność immunogenną w testach na zwierzętach oraz w badaniach klinicznych (20).

6. Procesy technologiczne oraz produkty odpadowe

Potencjalne zagrożenia dla pracowników zakładów biotechnologicznych mogą występować na różnych etapach procesu technologicznego. Są to przede wszystkim: namnażanie drobnoustrojów, pobieranie prób, wirowanie, dezyn-

tegracja komórek (w celu wydobycia produktu), izolacja i oczyszczanie produktu, pakowanie. Zagrożenia, jakie mogą wystąpić podczas różnych operacji technologicznych, wynikają najczęściej z użycia niewłaściwej lub niesprawnej aparatury, zaniedbań personelu i awarii.

Największe, trudne do wykrycia i likwidacji, zagrożenia związane są z aerozolami (kropelki cieczy o wymiarach rzędu kilku μm zawieszane w powietrzu). Mogą one powstawać podczas mieszania i napowietrzania cieczy, zawiesin hodowlanych, wirowania w otwartych naczyniach, obróbki ultradźwiękami, pobierania prób, a także podczas spadania kropel na powierzchnie i pęknięcia pęcherzyków piany. Stan powietrza w pomieszczeniach technologicznych stanowi o stopniu zagrożenia dla pracowników, a także dla otoczenia. Ocenę tego stanu określa się jako jedną z najważniejszych w monitorowaniu biobezpieczeństwa w zakładach biotechnologicznych. Opracowano wiele urządzeń i metod badania stopnia skażenia powietrza czynnikami biologicznymi i chemicznymi w formie aerozolu (15).

Generalnie można uznać, że odpady i ścieki przemysłu mikrobiologicznego stwarzają znacznie mniejsze zagrożenie dla ludzi i środowiska naturalnego, aniżeli w wielu innych przemysłach, zwłaszcza chemicznym i energetycznym. W odniesieniu do tradycyjnych biotechnologii, np. przemysłu spożywczego, musi być jednakże spełniony istotny warunek: materiały odpadowe powinny być zagospodarowane lub unieczynnione. Zagrożenie dla środowiska wynika tu nie z toksycznego charakteru tych odpadów, lecz z ich ilości. Odpady te są jednak biodegradowalne, a to sprawia, że ich unieczynnianie nie stanowi zasadniczego problemu technologicznego z uwagi na już istniejące klasyczne rozwiązania. Problemem może być natomiast koszt utylizacji odpadów.

Odmienne przedstawia się sytuacja w wielu biotechnologiach wdrożonych w ostatnim pięćdziesięcioleciu. Użyte drobnoustroje (np. do produkcji szczepionek) lub produkty ich metabolizmu (np. toksyny, antybiotyki), w przypadku niekontrolowanej „ucieczki” z laboratorium lub zakładu przemysłowego drogą powietrzną lub z materiałami odpadowymi, mogą stanowić zagrożenie biologiczne. Przy dużych ilościach takich odpadów problem ich unieczynniania może okazać się poważny.

Proces technologiczny powinien być prowadzony w układzie zamkniętym, a materiał biologiczny przed opuszczeniem linii technologicznej musi być inaktywowany skutecznymi metodami fizycznymi lub chemicznymi. Najbardziej zalecana jest sterylizacja termiczna. W określonych przypadkach niezbędne może być spalanie odpadów. Powietrze wyprowadzane z urządzeń i pomieszczeń technologicznych musi być oczyszczane przy użyciu pojedynczych lub podwójnych wysokosprawnych filtrów HEPA (*high efficiency particulate air filter*). Dla biotechnologii z użyciem zarazków o bardzo wysokim stopniu zagrożenia należy stosować technikę spalania.

7. Uwagi końcowe

Niezależnie od występowania rzeczywistych, potencjalnych lub domniemych zagrożeń ze strony biotechnologii i inżynierii genetycznej, konieczne jest spełnienie określonych warunków prowadzenia prac badawczych, wdrożeniowych oraz procesów przemysłowych, a w szczególności wprowadzania do środowiska naturalnego nowych, genetycznie modyfikowanych organizmów. Należy tu wymienić:

- * właściwą ocenę merytoryczną stopnia zagrożenia;
- * tworzenie i kontrolę technicznych zabezpieczeń odpowiednich do stopnia zagrożenia;
- * opracowanie i kontrolę przestrzegania odpowiednich zaleceń, instrukcji, przepisów BHP, dokumentów prawnych;
- * teoretyczne i praktyczne przeszkolenie pracowników;
- * stworzenie krajowych grup ekspertów i organów państwowych, zajmujących się sprawami bezpieczeństwa w biotechnologii;
- * współpraca z ekspertami i organizacjami zagranicznymi;
- * prowadzenie akcji informacyjnej i edukacyjnej.

ZESTAWIENIE 3

OBSZARY BIOTECHNOLOGII OBJĘTE PRACAMI EUROPEJSKIEGO KOMITETU NORMALIZACYJNEGO (21)

* **Drobnoustroje:**

klasyfikacja drobnoustrojów pod względem biozagrożenia, ocena zagrożenia ze strony używanych w biotechnologii drobnoustrojów, a także wektorów wykorzystywanych do manipulacji genetycznych

* **Organizmy modyfikowane w rolnictwie i środowisku:**

metody wykrywania, identyfikacji i oceny organizmów modyfikowanych genetycznie, sekwencji insercyjnych oraz wolnego DNA

* **Laboratoria badawcze, rozwojowe i analityczne:**

kategoryzacja laboratoriów, zabezpieczenia techniczne i wymagania stawiane wyposażeniu, postępowanie z odpadami i ściekami, prawidłową praktyką laboratoryjną

* **Procesy w dużej skali oraz produkcja:**

projektowanie i budowa zakładów, operacje technologiczne, ścieki i odpady, prawidłowa praktyka przemysłowa

* **Aparatura:**

projektowanie, kryteria pracy oraz procedura testowania aparatury pod kątem bezpieczeństwa jej użytkowania

* **Kontrola jakości:**

metody prawidłowej oceny przebiegu procesów i jakości produktów

Wszystkie działania powinny być prowadzone w ścisłej korelacji z opracowaniami istniejącymi i przygotowywanymi w krajach przodujących w tym zakresie, a w szczególności z dokumentami opracowywanymi przez instytucje międzynarodowe. Zunifikowane materiały są obecnie przygotowywane przez Europejski Komitet Normalizacyjny (*Comité Européen de Normalisation* —

CEN) w ramach *A Biotechnology Standards Programme* (21, zest. 3). W programie uczestniczą specjaliści m.in. z przodujących firm biotechnologicznych, projektowych i produkujących aparaturę biotechnologiczną. Chociaż dokumenty opracowywane w ramach tego programu nie będą miały charakteru obligatoryjnego, na nich powinny się opierać opracowania krajowe, a w tym również prace legislacyjne. Potrzeba ujednoczenia przepisów, przynajmniej w obrębie krajów europejskich nie budzi żadnych wątpliwości. Spełnienie międzynarodowych wymogów w zakresie biobezpieczeństwa, a także prawidłowej praktyki produkcyjnej i kontroli jakości bioproduktów jest jednym z warunków rozwoju biotechnologii.

Literatura

1. Chmiel A., (1988), *Post. Mikrobiol.*, 27, 127 – 135.
2. Chmiel A., (1989), *Biotechnologia PI.*, 3 – 4 (5 – 6), 86 – 89.
3. Chmiel A., (1990), *Biotechnologia PI.*, 4 (10), 77 – 81.
4. Chmiel A., (1992), *Biotechnologia PI.*, 3 (18), 65 – 67.
5. Twardowski T., (1989), *Biotechnologia PI.*, 2(4), 22 – 34.
6. Kelman A., Anderson W., Falkow N. V., Levin S., (1989), *Biotechnologia PI.*, 3 – 4 (5 – 6), 90 – 104.
7. Houwink E. H., (1990), *Biotechnologia PI.*, 2 – 3 (8 – 9), 5 – 16.
8. Collins C. H., (1990), *Biotechnologia PI.*, 4 (10), 18 – 27.
9. Schofield G. M., (1992), *Biotechnologia PI.*, 2 (17), 5 – 11.
10. Górski J., (1992), *Biotechnologia PI.*, 3 (18), 57 – 64.
11. 55 Fed. Reg. 7438, (1990).
12. Environmental Protection Bill, (1991), HMSO Publ. Centre, London.
13. Commission of the European Community, Brussels, (1990), 90/219 and 90/220/EEC, (OJ 8.05.90).
14. Collins C. H., Beale A. J., (1992), *Safety in Industrial Microbiology and Biotechnology*, Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford.
15. Hambleton P., Bennett A. M., Leaver G., (1992) *TIBTECH*, 10, 192 – 199.
16. Appelhans B., (1992), *EFB Newsletter*, No. 28, BFE, 9, No.11/12, 764 – 765.
17. Smith G. L., (1991), *Current Opinion in Biotechnology*, 2, 713 – 717.
18. Burnette W. N., (1991), *Current Opinion in Biotechnology*, 2, 882 – 892.
19. Graham F. L., (1990), *TIBTECH*, 8, 85 – 87.
20. Pizza M., Covacci A., Bartoloni A., Perugini M., Nencioni L., Manetti R., Bugnoli M., Ruggiero P., Olivieri R., De Magistris T., Rappuoli R., (1990), *BFE*, 7, 385 – 386.
21. Materiały EFB Working Party on Safety in Biotechnology.

Biohazard and biosafety

Summary

The development of techniques of DNA recombination *in vitro* is a basis for the discussion on biohazard and biosafety in laboratory experiments, technological processes and for the environment. After twenty years of experience in this field no hazardous incident was published and therefore we claim that genetic engineering is safe. However, there are different degrees of biohazard in biotechnology depending on the biological agents used, and therefore safety pre-

cautions for handling them were developed. The majority of microorganisms used in biotechnology, especially for food production, is harmless. For laboratory work with pathogenes or for their technological applications (e.g. in vaccine production) the techniques of containment are developed and introduced into the praxis. In some cases new technologies eliminate the biorisk in vaccine production: safe genetically engineered organisms instead of pathogenes are utilized. It is necessary to state, that the biosafety problem is discussed mainly from the point of view of human needs. However, the most important question is genetic engineering and biotechnology applications for the millitary sector.

Key words:

bioproducts, bioprocesses, microorganisms, vaccines, genetic engineering.

Adres do korespondencji:

Aleksander Chmiel, Samodzielna Pracownia Biosyntezy Środków Leczniczych, Akademia Medyczna, ul. Muszyńskiego 1, 90 - 151 Łódź.