

Partea A

1. Tehnicile de modificare genetică prevăzute în art. 2 pct. 17 lit. a) din ordonanța de urgență sunt, *inter alia*:

- a) tehnicile de recombinare a acidului nucleic care conduc la formarea de noi combinații de material genetic prin inserția moleculelor de acid nucleic, obținute prin orice mijloace în afara unui organism, în orice virus, plasmidă bacteriană sau alt sistem vectorial și inserarea acestora într-un organism gazdă, în care nu apar în mod natural, dar în care sunt capabile de multiplicare continuă;
- b) tehnicile care implică introducerea directă într-un microorganism a unui material genetic obținut în exteriorul acestuia și care includ microinjectarea, macroinjectarea și microîncapsularea;
- c) tehnicile de fuziune sau de hibridare celulară, în cadrul cărora celulele vii cu noi combinații de material genetic ereditar sunt formate prin fuziunea a două sau mai multe celule, prin intermediul proceselor care nu au loc în mod natural.

Partea B

1. Tehnicile la care se referă art. 2 pct. 17 lit. b) din ordonanța de urgență care se consideră că nu produc modificări genetice, cu condiția să nu implice utilizarea moleculelor de acid nucleic recombinant sau a microorganismelor modificate genetic obținute prin alte tehnici/metode decât tehnicile/metodele excluse din anexa nr. 2 partea A:

- a) fertilizarea *in vitro*;
- b) procese naturale cum sunt: conjugarea, transducția, transformarea;
- c) inducția poliploidiei.

Partea A

1. Tehnicile sau metodele de modificare genetică la care se referă art. 4 alin. (1) lit. a) și b), din ordonanța de urgență și care nu intră sub incidența prevederilor acesteia, cu condiția ca acestea să nu implice utilizarea moleculelor de acid nucleic recombinant sau a microorganismelor modificate genetic, altele decât cele obținute prin una sau mai multe tehnici/metode prezentate mai jos:

- a) mutageneza;
- b) fuziunea celulară a speciilor procariote și eucariote (fuziunea protoplaștilor) care schimbă material genetic prin procese fiziologice cunoscute;
- c) fuziune celulară (inclusiv fuziunea protoplaștilor) a celulelor oricărei specii eucariote, inclusiv obținerea de celule hibridoma și fuziunea celulelor vegetale;
- d) autoclonarea, proces care constă din îndepărtarea secvențelor de acid nucleic dintr-o celulă a unui organism care poate să fie urmată sau nu de reinserarea în întregime sau parțial a acelui acid nucleic (sau un echivalent sintetic), cu sau fără intervenții prealabile enzimatică sau mecanică, în celulele ale acelorași specii sau în celulele speciilor strâns înrudite filogenetic, care pot schimba material genetic prin procese fiziologice naturale, atunci când este puțin probabil ca organismul rezultat să provoace maladii la om, animale sau plante. Autoclonarea poate include și utilizarea vectorilor de recombinare, cu un istoric îndelungat de utilizare în condiții de siguranță, pentru anumite organisme.

Partea B

Criterii privind condițiile de utilizare a microorganismelor modificate genetic pentru a se asigura sănătatea umană și a mediului.

Anexa descrie în termeni generali criteriile pe care trebuie să le îndeplinească utilizarea în condiții de izolare a microorganismelor modificate genetic utilizate în condiții de izolare, pentru a asigura sănătatea umană și a mediului înconjurător și pentru includerea în partea C. Această anexă va fi suplimentată de note explicative pentru o mai ușoară aplicare a acestor criterii.

Criterii generale

1. Certificarea identității tulpinii.

Identitatea tulpinii microorganismului modificat genetic trebuie stabilită cu exactitate, iar modificarea genetică trebuie cunoscută și verificată.

2. Fundamentarea documentată a condițiilor de biosecuritate.

Condițiile de biosecuritate pentru utilizarea unui organism modificat genetic se demonstrează pe baza unei documentații de specialitate.

3. Stabilitatea modificării genetice.

Se impune demonstrarea stabilității modificării genetice, în cazul în care există riscul ca instabilitatea modificării genetice să afecteze condițiile de biosecuritate.

Criterii specifice

1. Caracterul nepatogen

Microorganismul modificat genetic nu trebuie să aibă efecte adverse asupra sănătății umane și animale și a mediului înconjurător. Întrucât caracterul patogen include atât genotoxicitatea, cât și alergenicitatea, organismul modificat genetic trebuie să prezinte următoarele caracteristici:

a) Absența genotoxicității

Microorganismul modificat genetic nu trebuie să prezinte o creștere a genotoxicității, ca rezultat al modificării genetice, și să nu aibă caracteristici recunoscute ca fiind genotoxice.

b) Absența alergenicității

Microorganismul modificat genetic nu trebuie să prezinte o creștere a alergenicității, ca rezultat al modificării genetice, și să nu fie cunoscut ca alergen; alergenicitatea sa trebuie să fie comparabilă cu cea a microorganismelor modificate genetic identificate în Directiva Consiliului nr. 93/88/CEE care amendează Directiva 90/679/CEE privind protecția lucrătorilor față de riscurile legate de expunerea la agenții biologici, la locul de muncă.

2. Absența unor agenți patogeni asociați, care ar putea să apară accidental

Microorganismul modificat genetic nu trebuie să conțină agenți patogeni cunoscuți, dobândiți accidental, cum ar fi alte organisme active sau latente, prezente în afara sau în interiorul organismului modificat genetic, susceptibile de a avea efecte adverse asupra sănătății umane și a mediului înconjurător.

3. Transferul de material genetic

Materialul modificat genetic nu trebuie să producă efecte adverse în cazul transferului; el nu trebuie să fie autotransmisibil sau transferabil cu o frecvență mai ridicată decât cea a genelor microorganismului receptor sau parental.

4. Condițiile de biosecuritate specifice unei introduceri semnificative și neintenționate în mediu.

Microorganismul modificat genetic nu trebuie să aibă efecte adverse, imediate sau întârziate asupra mediului, în cazul unei eliberări semnificative și neintenționate în mediu. Microorganismele modificate genetic care nu îndeplinesc criteriile de mai sus nu vor fi incluse în partea C.

Note explicative

(completează partea B a anexei II la Directiva 90/219/CEE)

Introducere

1. Se consideră corespunzătoare pentru includere în partea C doar tipurile de microorganisme modificate genetic care îndeplinesc atât criteriile generale, cât și cele specifice stabilite în partea B.
2. Toate microorganismele modificate genetic incluse în partea C se vor publica în Jurnalul Oficial alături de caracteristicile lor de identificare sau sursele lor de referință corespunzătoare. Pentru a determina dacă un tip de microorganism modificat genetic se poate înscrie în partea C, este necesar să se ia în considerare toate elementele componente și, după caz, procedul utilizat pentru obținerea unui microorganism modificat genetic. Se subliniază că, deși toate aspectele trebuie luate în considerare, doar proprietățile microorganismului modificat genetic se vor examina pe baza criteriilor enunțate în partea B. Dacă toate elementele componente ale unui microorganism modificat genetic sunt examinate individual și pot fi considerate inofensive, este probabil ca microorganismul modificat genetic să îndeplinească criteriile de biosecuritate, dar vor fi riguros verificate.
3. Dacă se produc microorganisme modificate genetic intermediare necesare pentru a obține un organism modificat genetic final, acești intermediari ar trebui, de asemenea, să fie examinați în baza criteriilor din partea B, pentru ca fiecare tip să fie exclus, pentru a permite scutirea utilizării în condiții de izolare. Autoritatea competentă asigură aplicarea următoarelor orientări de către utilizatori, pentru a facilita îndeplinirea criteriilor respective în pregătirea dosarelor de notificare prin care se stabilește siguranța, pentru sănătatea oamenilor și pentru mediu, a tipurilor de microorganisme modificate genetic ce urmează să fie incluse în partea C, precum și de către autoritățile implicate pentru a evalua respectarea reglementărilor.
4. Dosarele de notificare trebuie să includă dovezi detaliate și concrete pentru a permite autorității competente și autorităților implicate, după caz, verificarea declarațiilor privind siguranța utilizării microorganismelor modificate genetic, în ceea ce privește criteriile prevăzute. Se adoptă principiul precauției în caz de incertitudine științifică și în acest context excluderea unui microorganism modificat genetic se realizează numai în cazul existenței unor dovezi concrete care să demonstreze neîndeplinirea criteriilor enumerate în partea B.
5. Autoritatea competentă precum și celelalte autorități implicate, evaluează dosarele privind îndeplinirea criteriilor prevăzute mai sus, iar în cazul unei evaluări pozitive, le transmite Comisiei Europene, în termenele prestabilite de aceasta, prin procedura de comunicare dintre Comisia Europeană și autoritatea competentă. La rândul său, Comisia Europeană va consulta comitetul instituit în conformitate cu art. 21 al Directivei

90/219/CEE cu privire la includerea microorganismelor modificate genetic în cauză în partea C. Definițiile termenilor utilizați sunt prevăzute în apendicele nr. 1.

Criterii generale

1. Verificarea/autentificarea tulpinii microbiene

a) Trebuie stabilită și autentificată identitatea tulpinii microbiene și trebuie caracterizat corect vectorul/insertul în ceea ce privește structura și funcția în forma în care apare în microorganismul modificat genetic final. Un istoric detaliat al tulpinii (inclusiv istoricul modificărilor genetice) oferă informații utile pentru evaluarea siguranței. Trebuie studiată relația taxonomică cu microorganismele înrudite, cunoscute și dăunătoare, pentru furnizarea de informații relevante privind eventuale caracteristici dăunătoare ce nu se exprimă în mod normal, dar care s-ar putea exprima 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 Celulare ATCC (American Type Culture Collection).

b) Se studiază bibliografia relevantă pentru informații istorice, rapoarte privind siguranța utilizării, detalii taxonomice, date cu privire la markeri fenotipici și genotipici, de exemplu Manualul Bergey - determinant pentru bacterii (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology), articole și reviste științifice de specialitate, informații de la societăți comerciale care furnizează ADN. Se vor obține, de asemenea, informații utile de la colecțiile de culturi și de la organizațiile de colecții de culturi, ca de exemplu: Federația mondială a colecțiilor de culturi WFCC (World Federation of Culture Collections), care publică Repertoarul mondial al colecțiilor de culturi de microorganisme (World Directory of Collections of Cultures of Microorganisms) și Organizația europeană a colecțiilor de culturi ECCO (European Culture Collection Organization). Se vor consulta marile colecții europene de culturi care păstrează vaste grupe de microorganisme. În cazul unui nou microorganism izolat sau al unei noi tulpini ce nu a fost studiat(ă) în profunzime, se impune efectuarea testelor complete necesare confirmării identității microorganismului modificat genetic. Acest caz ar putea surveni dacă tulpina microorganismului modificat genetic diferă apreciabil de tulpina/tulpinile parentală/parentale, de exemplu situația în care microorganismul modificat genetic provine în urma unei fuziuni celulare sau rezultă în urma a multiple modificări genetice.

c) În cazul în care sunt necesare teste pentru a confirma identitatea tulpinii, acestea pot cuprinde teste de morfologie, colorare specifică, microscopie electronică, serologie, profiluri nutriționale bazate pe utilizare și/sau degradare, analiza izoenzimelor, profilul proteinelor și al acizilor grași, proporția (%) bazelor G + C % (G-guanină, C- citozină), amprente ADN/ARN, amplificarea secvențelor ADN/ARN specifice, analiza prin sonde genetice, hibridizare cu sonde ADN specifice ARNr și secvențializare a ADN/ARN, iar rezultatele acestor teste se documentează corespunzător.

d) Situația optimă pentru identificarea genelor prezente în microorganismul modificat genetic este aceea în care se cunoaște secvența completă de nucleotide a vectorului sau insertului, astfel încât, funcția fiecărei unități genetice să poate fi explicată. Dimensiunea vectorului și insertului trebuie limitate pe cât posibil la secvențele genice necesare pentru a îndeplini funcția dorită. Această cerință reduce probabilitatea introducerii și exprimării unor funcții criptice (silențiate sau silențioase) sau a dobândirii unor trăsături genetice nedorite.

2. Fundamentarea documentată a condițiilor de biosecuritate

a) Se prezintă dovada siguranței utilizării microorganismului modificat genetic. Dovada include rezultatele unor teste anterioare, date extrase din literatură sau rapoarte ce atestă siguranța organismului. Un istoric al utilizării în condiții de siguranță al microorganismului modificat genetic nu fundamentează neapărat o siguranță completă, mai ales atunci când au fost impuse măsuri înalte de biosecuritate pentru utilizarea acestora.

b) Atestarea stabilită corespunzător siguranței de utilizare a tulpinii/organismului receptoare/receptor sau parentale/parental, constituie un element cheie pentru a decide dacă microorganismul modificat genetic îndeplinește acest criteriu. Cu toate acestea, microorganismul modificat genetic poate diferi considerabil de ascendentul său (ascendenții săi), ceea ce ar putea afecta siguranța iar aceste diferențe se impune a fi investigate. În special, se ține seama dacă modificarea genetică a avut ca scop eliminarea unei caracteristici dăunătoare sau patogene din tulpina/organismul receptoare/receptor sau parentale/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 date cu privire la tulpina/organismul receptoare/receptor sau parentale/parental considerată/considerat, se folosesc date colectate pentru specie. Aceste date, sprijinite de o cercetare a literaturii de specialitate cu recunoaștere științifică la nivel mondial și o investigare taxonomică a variației tulpinii în interiorul speciei, pot dovedi siguranța tulpinii/organismului receptoare/receptor sau parentale/parental, în cauză.

c) În absența unor informații în sprijinul atestării siguranței, se efectuează teste adecvate, recunoscute în literatura științifică de specialitate, pentru a stabili siguranța microorganismului modificat genetic.

3. Stabilitate genetică

a) Nu este indicat ca modificarea genetică să crească stabilitatea organismului modificat genetic față de cea a organismului nemodificat din mediu, dacă acest lucru ar avea efecte dăunătoare.

b) Deoarece orice instabilitate a modificării genetice ar putea compromite siguranța, trebuie să se dovedească stabilitatea genetică. Acest fapt se confirmă în special în cazul în care în microorganismul modificat genetic s-a introdus o mutație, care atenuează proprietățile dăunătoare.

Criterii specifice

1. Absența patogenității

- a) Nu este indicat ca microorganismul modificat genetic 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. În cazul în care este tot mai probabil ca indivizi imunodepresivi să fie expuși prezenței microorganismelor modificate genetic, de exemplu dacă microorganismul modificat genetic trebuie să se utilizeze într-un mediu clinic, posibilele efecte ale acestei expunerii ar trebui să se ia în considerare pentru a evalua siguranța generală a microorganismului modificat genetic.
- b) Cercetările pe bază de bibliografie și informațiile de bază colectate pentru examinarea criteriilor generale furnizează marea parte a informațiilor necesare pentru evaluarea riscului. În plus, se studiază datele referitoare la manipularea și siguranța speciei în cauză și a tulpinilor microorganismelor înrudite. Se impune, de asemenea, consultarea listelor de organisme patogene pentru om, animale sau plante, prezentate în Hotărârea Guvernului nr. 1092/2006 privind protecția lucrătorilor împotriva riscurilor legate de expunerea la agenți biologici în muncă.
- c) Vectorii virali eucarioti, ce urmează să se includă în partea C nu ar trebui să producă efecte dăunătoare asupra sănătății oamenilor și mediului. Se impune cunoașterea originii lor, precum și mecanismul atenuării și stabilitatea caracteristicilor în cauză. Este obligatorie confirmarea, pe cât posibil, a prezenței acestor caracteristici în virus, înainte de modificare și după realizarea acesteia. În cazul în care se utilizează asemenea vectori, este preferabil să se recurgă doar la mutații prin deleții genică. Se pot lua în considerare, de asemenea, construcțiile care utilizează vectori virali, ADN sau ARN, proveniți din celule-gazdă de cultură în care nu s-a utilizat nici un virus infecțios sau nu există suspiciunea de a fi produs un astfel de virus.
- d) Se poate considera că tulpinile nevirulente, ale unei specii patogene recunoscute, precum vaccinurile vii pentru oameni și animale, nu prezintă riscuri sanitare și îndeplinesc astfel criteriile din partea B, cu condiția ca:
- siguranța tulpinii nevirulente să fie stabilită și absența unor efecte dăunătoare asupra sănătății oamenilor, animalelor sau plantelor să fie atestată (de exemplu, de date din literatura de specialitate) sau
 - tulpina prezintă o deleție stabilă de material genetic ce determină virulența sau prezintă mutații stabile recunoscute că reduc suficient virulența (de exemplu, demonstrată prin teste de patogenitate, analiză genetică, sonde genetice, detecția fagilor și plasmidelor, cartografierea cu enzime de restricție, secvențializare, sonde proteice) și a cărei siguranță de utilizare să fie suficient atestată. Se consideră riscul de reversie al unei deleții genice sau al unei mutații genice pentru orice eveniment de transformare ulterior.

e) Dacă un studiu bibliografic și taxonomic nu furnizează informațiile dorite, este obligatorie efectuarea de teste de patogenitate adecvate asupra microorganismului în cauză. Aceste teste se realizează asupra microorganismelor modificate genetic, deși în unele cazuri, este indicat ca aceste teste să se aplice și tulpinii receptoare sau parentale. Cu toate acestea, în cazul în care microorganismul modificat genetic este foarte diferit de microorganismul (microorganismele) parental(e), se evită tragerea unor concluzii pripite cu privire la absența patogenității.

f) Exemplele de tulpini receptoare sau parentale de microorganisme, utilizate pentru producerea microorganismelor modificate genetic, ce pot fi considerate corespunzătoare pentru includerea în partea C, cuprind:

- derivate de tulpini bacteriene suficient inactivate („incapacitate”), ca *Escherichia coli* K12 și *Staphylococcus aureus* 83254, a căror creștere și supraviețuire depinde de aportul de nutrienți care nu sunt prezenți la om sau în mediul exterior mediului de cultură, de exemplu culturi auxotrofe pentru acidul diaminopimelic, timină;

- culturile de celule și țesuturi eucariote (vegetale sau animale, inclusiv de mamifere) pot fi considerate, de asemenea, gazde inactivate (incapacitate) corespunzător. Microorganismele modificate genetic derivate din aceste celule trebuie să îndeplinească celelalte criterii enumerate în prezentul document (de exemplu, absența agenților adventivi dăunători și vectori netransferabili);

- tulpini de microorganisme gazde, tipuri 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, bacterii lactice, rizobacterii, extremo-termofile, bacterii sau fungi producătoare de antibiotice. Microorganismele menționate anterior trebuie să prezinte caracteristici genetice și moleculare bine studiate și caracterizate.

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

h) Se recomandă să se evite utilizarea unui vector/insert ce conține secvențe codificatoare pentru caractere dăunătoare în anumite microorganisme, chiar dacă nu conferă microorganismului modificat genetic final un fenotip susceptibil a genera maladii la oameni, animale și plante sau să cauzeze efecte negative mediului. Trebuie, de asemenea, să se verifice ca materialul genetic inserat să nu codifice factori ai patogenității capabili să se substituie unei mutații silențioase prezente în organismul parental.

i) Fenotipul exprimat după inserția unui vector poate depinde de organismul receptor sau parental; ceea ce este valabil pentru un organism gazdă nu se poate aplica automat și altor gazde. De exemplu, un retrovirus inactivat utilizat ca vector este incapabil să

producă particule virale infecțioase în bacterii sau în majoritatea liniilor celulare. Cu toate acestea, același vector într-o altă linie celulară ar putea produce particule virale infecțioase și, în funcție de natura inactivării și a secvențelor inserate, ar putea conferi microorganismelor modificate genetic obținute un fenotip susceptibil să provoace o maladie.

2. Absența genotoxicității

a) Se recomandă ca microorganismul modificat genetic să nu producă toxine nedorite sau să nu prezinte o genotoxicitate crescută în urma modificării genetice. Exotoxinele, endotoxinele și micotoxinele sunt toxine bacteriene și fungice. Analiza tulpinii receptoare sau parentale poate furniza informații utile în acest sens.

b) În cazul în care tulpina receptoare sau parentală nu produce toxine, trebuie să se verifice vectorul/insertul pentru a nu introduce toxine sau pentru a nu stimula/derepresa producerea toxinelor. Se impune ca prezența toxinelor să se examineze cu atenție, deși rezultatele nu conduc neapărat la excluderea microorganismului modificat genetic din partea C.

3. Absența alergenității

a) Într-o anumită măsură toate microorganismele sunt potențial alergene, dar anumite specii sunt alergeni recunoscuți, acestea din urmă putând fi găsite în Directiva 93/88/CEE a Consiliului și Directiva 95/30/CE a Comisiei și în versiunile lor modificate.

b) Este necesar să se verifice dacă microorganismul modificat genetic aparține acestui grup de alergeni. Componentele alergene ale acestor microorganisme pot fi pereți celulari, spori, metaboliți naturali (de exemplu: enzime proteolitice) și anumite antibiotice. Dacă vectorul și insertul se exprimă în microorganismul modificat genetic final obținut, produsul genetic nu trebuie să aibă activitate biologică care să poată produce alergeni semnificativi. Este de notat că acest criteriu nu se poate aplica în mod absolut.

4. Absența agenților patogeni adventivi

a) Se recomandă ca microorganismul modificat genetic să nu conțină agenți adventivi cunoscuți, precum micoplasme, virusuri, bacterii, fungi, alte celule vegetale sau animale, simbionți care pot produce efecte dăunătoare. O metodă de a evita acest risc este utilizarea unei tulpini receptoare sau parentale lipsite de agenți adventivi patogeni în construcția unui microorganism modificat genetic. Cu toate acestea, nu trebuie să se pornească de la principiul că microorganismul modificat genetic va fi lipsit de agenți adventivi chiar dacă organismul (organismele) parental(e) erau. În acest caz se consideră că este posibil să se fi introdus noi agenți adventivi în decursul obținerii microorganismului modificat genetic.

b) Se impune verificare, cu atenție, a prezenței agenților adventivi potențial patogeni, de tipul virusului coriomeningitei limfocitare sau al micoplasmei *Mycoplasma pneumoniae*, prezenți în mod obișnuit în culturile de celule animale. Agenții adventivi pot fi greu de detectat. Trebuie să se ia în considerare orice elemente ce ar reduce eficiența depistării.

5. Transfer de material genetic

- a) Se recomandă ca materialul genetic inserat în microorganismul modificat genetic să nu fie transmisibil sau transferabil, dacă ar fi să exprime un fenotip dăunător într-un organism receptor.
- b) Se recomandă ca vectorul și insertul să nu transfere nici un marker de rezistență al microorganismului modificat genetic, în cazul în care rezistența ar putea compromite tratamentul terapeutic. Prezența unor astfel de markeri nu ar exclude a priori înscrierea microorganismului modificat genetic în partea C dar ar sublinia, în plus, necesitatea supravegherii ca aceste gene să nu fie transferate.
- c) Dacă vectorul este un virus, cosmidă sau orice alt tip de vector derivat dintr-un virus, se recomandă ca acesta să nu devină lizogen când se folosește ca vector de clonare (de exemplu, lipsit de represorul *cI-lambda*). Insertul nu ar trebui să fie mobilizabil, datorită, de exemplu, prezenței secvențelor de provirus transferabile, sau a altor secvențe funcționale de transpoziție.
- d) Unii vectori care sunt integrați în cromozomul gazdă pot, de asemenea, să fie considerați nemobilizabili, dar se recomandă a fi studiați de la caz la caz, în special, în ceea ce privește mecanismele ce pot facilita mobilitatea cromozomilor (de exemplu, prezența unui factor sexual cromozomial) sau transpoziția în cadrul altor repliconi ce pot fi prezenți în gazdă.

6. Siguranța mediului în cazul diseminării în afara incintei

În mod normal, asupra mediului se produc prejudicii doar dacă un microorganism modificat genetic poate supraviețui și poate prezenta caracteristici periculoase. În momentul evaluării prejudiciilor asupra mediului, trebuie să se ia în considerare condițiile de mediu diferite din statele membre și, după caz, să se preconizeze scenarii extreme. Se recomandă, după caz, furnizarea unor asemenea informații privind diseminările anterioare (deliberate sau nu), precum și impactul asupra mediului.

7. Supraviețuirea organismelor

a) Pentru a determina dacă un microorganism modificat genetic este susceptibil de a cauza efecte dăunătoare asupra mediului sau de a provoca boli plantelor și animalelor, ar trebui să se cerceteze dacă aceste caracteristici biologice vor stimula, vor menține sau vor atenua capacitatea microorganismului modificat genetic de a supraviețui în mediu. Dacă microorganismele modificate genetic nu sunt capabile din punct de vedere biologic de a supraviețui în mediu, aceste organisme nu vor supraviețui în afara recipientului din incinta autorizată, pentru mult timp, astfel încât probabilitatea de interacțiune cu mediul să fie limitată.

b) În studiul eventualelor efecte dăunătoare asupra mediului, ar trebui să se ia în seamă, de asemenea, posibila evoluție a microorganismelor modificate genetic care se diseminează din recipient/instalație și interacțiune lor cu rețelele trofice.

8. Dispersare

Pentru a se putea integra într-un mediu, un microorganism modificat genetic ar trebui să supraviețuiască dispersării într-o nișă corespunzătoare în care să se instaleze. Se recomandă utilizarea metodei de dispersare și probabilitatea de supraviețuire în timpul

răspândirii. Numeroase microorganisme supraviețuiesc, de exemplu, când sunt răspândite prin aerosoli și picături, precum și via insecte și viermi.

9. Integrarea organismelor în mediu

Integrarea microorganismului modificat genetic într-un anumit mediu depinde de natura mediului în care acesta se răspândește și de capacitatea lui de a supraviețui transferului. Potențialul de integrare într-o nișă adecvată variază în funcție de mărimea populației viabile, mărimea nișei și frecvența nișelor adaptate speciei. Probabilitatea este diferită de la o specie la alta. În plus, rezistența sau sensibilitatea la factori de stres, biotici sau abiotici, va avea o mare influență asupra integrării unui microorganism modificat genetic în mediu. Persistența unui microorganism modificat genetic în mediu pentru o perioadă destul de lungă este legată de capacitatea sa de a supraviețui și de a se adapta condițiilor de mediu sau de a exprima o rată de creștere competitivă. Acești factori ar putea fi influențați de modificarea genetică și de situl integrării. În anumite cazuri, este puțin probabil ca modificarea genetică să producă acest efect, mai ales când un anumit produs genic, participant în biosinteza unui metabolit secundar format la încetarea creșterii celulare, nu inițiază procesul de creștere celulară.

10. Transferul de material genetic

a) Tot mai multe informații sunt disponibile privind transferul de material genetic între microorganisme. Chiar dacă microorganismul modificat genetic are o capacitate foarte limitată de a supraviețui, se recomandă determinarea capacității materialului genetic introdus de a persista în mediu sau de a fi transferat la alte organisme și potențialul de a cauza prejudicii. De exemplu, s-a demonstrat că transferul de material genetic survine în condiții experimentale în sol (include rizosfera), în aparatul digestiv al animalelor și în apă, prin conjugare, transducție sau transformare.

b) Riscul de transfer de material genetic de la un microorganism modificat genetic, care are o probabilitate redusă de creștere și șanse de supraviețuire limitate, este foarte scăzut. Dacă microorganismul modificat genetic nu conține plasmide autotransferabile sau fagi lizogeni, transferul activ este practic exclus. Riscul ar fi foarte redus dacă vectorul/insertul nu este autotransferabil și este slab mobilizabil.

Definiții și termeni

Definițiile termenilor utilizați în prezentul document:

1. agent adventiv – alt organism, în formă activă sau latentă, ce coexistă alături de microorganismul în cauză sau este prezent în interiorul acestuia;
2. alergen – un antigen ce poate sensibiliza un organism și poate provoca o reacție de hipersensibilitate la o expunere ulterioară la acest alergen;
3. 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 inflamatorie acută cu simptome de tipul astmului, eczemelor sau rinitelor;
4. 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 adaptative ale sistemului imunitar, adică de limfocitele B sau T ori ambele;
5. conjugare – transferul activ de ADN de la o celulă gazdă la alta;
6. cosmidă – tip de vector de clonare ce conține o plasmidă în care au fost inserate secvențele *cos* ale unui bacteriofag lambda (λ);
7. expresie genetică – procesul de sinteză a transcriptelor ARN, proteinelor și polipeptidelor folosind informațiile conținute în genele unui organism. În prezentul document, corespunde de asemenea nivelului de expresie anticipat sau cunoscut al materialului genetic inserat;
8. insert – secvența de ADN/ARN introdusă în materialul genetic al organismului receptor;
9. maladie – orice perturbare structurală sau funcțională ce produce o afecțiune sau o tulburare la un om, un animal sau o plantă imunocompetent(ă) ;
10. mobilizare – transferul pasiv de la o gazdă la alta;
11. organism donor - organismul utilizat pentru extragere de material genetic cu scopul de a fi inserat în materialul genetic al organismului receptor;
12. organism parental - organismul din care provine microorganismul modificat genetic;
13. organism receptor - organism în al cărui material genetic s-a introdus prin modificare genetică un material genetic străin;
14. patogenitate – capacitatea unui organism de a cauza o maladie prin infecție, toxicitate sau alergenicitate. Patogenitatea este un atribut taxonomic important propriu fiecărei specii;
15. plasmidă – determinant extracromozomial de ADN capabil de replicare independentă, descoperit la multe microorganisme, care conferă celulei gazdă un anumit avantaj evolutiv;

16. poliploidie – condiție ca un organism unicelular sau pluricelular să aibă mai mult decât două seturi de cromozomi;
17. rizobacterii – bacterii care trăiesc în rizosferă, adică în solul care aderă la rădăcinile plantelor, și care eventual penetrează rădăcinile la nivel intracelular sau intercelular. Rizobacteriile se utilizează deseori în agricultură ca inoculi microbieni/germinali;
18. transducție – încorporarea ADN-ului bacterian în bacteriofagi și transferul acestora la bacterii receptoare;
19. transformare genetică – preluarea și intergrarea de ADN/ARN străin pur în molecula ADN/ARN a organismului gazdă;
20. vector – structură biologică transportoare de ADN sau ARN, de exemplu plasmide, bacteriofagi, în care se poate insera o secvență de material genetic care urmează a fi inserată în ADN/ARN gazdă, în care va fi replicată și, în anumite cazuri, exprimată;
21. vector mobilizabil defectiv – 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;
22. virulență – 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 gază la alta.

Partea C

Tipurile de microorganisme modificate genetic care îndeplinesc criteriile enumerate în partea B se aprobă prin ordin al conducătorului autorității publice centrale pentru protecția mediului.

Principiile evaluării riscului

În prezenta anexă sunt descrise elementele importante a fi considerate și procedura de urmat pentru realizarea evaluării prevăzute la art. 7 alin. (2) din ordonanța de urgență. Aceasta va fi completată, în special pentru secțiunea B, cu notele orientative elaborate de Comisia Europeană.

3.1. Elementele evaluării riscului

(1) Următoarele elemente se consideră a avea efecte potențial nocive:

- a) maladiile umane, inclusiv efectele alergenice sau toxice,
- b) maladiile animale sau ale plantelor,
- c) efectele nocive provocate de imposibilitatea tratării unei maladii sau a asigurării unei profilaxii adecvate,
- d) efecte nocive datorate stabilirii sau diseminării în mediu,
- e) efecte nocive datorate transferului natural de material genetic inserat în alt organism.

(2) Se recomandă ca evaluarea prevăzută la art. 7 din ordonanța de urgență să se bazeze pe următoarele:

- a) identificarea oricăror potențiale efecte nocive, inclusiv a celor asociate cu:
 - organismul receptor;
 - materialul genetic inserat (provenind de la organismul donator);
 - vectorul;
 - organismul donator (dacă organismul donator este folosit în cadrul acestei operațiuni);
 - microorganismul modificat genetic rezultat;
- b) caracteristicile activității în condiții de izolare;
- c) gravitatea efectelor potențial nocive;
- d) probabilitatea producerii efectelor potențial nocive.

3.2. Procedură

(1) Prima etapă a procesului de evaluare constă în identificarea proprietăților nocive ale receptorului și, dacă este cazul, ale microorganismului donator, a oricăror proprietăți nocive asociate vectorului sau materialului inserat, inclusiv oricărei modificări privind proprietățile existente ale receptorului.

(2) În general, numai microorganismele modificate genetic care prezintă următoarele caracteristici sunt considerate corespunzătoare pentru a fi incluse în clasa 1 definită în art. 7 alin (4) lit. a) din ordonanța de urgență:

- a) microorganismul receptor sau parental nu ar putea provoca maladii umane, animale sau ale plantelor (este valabil numai pentru plantele și animalele din mediu care ar putea fi expuse);

b) natura vectorului și a insertului nu conferă microorganismului modificat genetic un fenotip care ar putea să provoace maladii umane, animale sau ale plantelor sau care ar putea provoca efecte nocive în mediu;

c) este improbabil ca microorganismul modificat genetic să provoace maladii umane, animale sau ale plantelor sau să producă efecte nocive asupra mediului.

(3) Pentru a obține informațiile necesare punerii în aplicare a acestui proces, utilizatorul poate mai întâi să țină cont de legislația comunitară relevantă (în special de Directiva Consiliului 90/679/CEE). Se pot avea în vedere și schemele internaționale sau naționale de clasificare (de exemplu, ale Organizației Mondiale a Sănătății, NIH etc.) și versiunile revizuite pe baza noilor cunoștințe științifice și a progresului tehnic.

a) Aceste scheme se referă la microorganisme naturale și de aceea se bazează de obicei pe abilitatea unui microorganism de a provoca maladii umane, animale sau ale plantelor și pe gravitatea și transmisibilitatea bolilor care ar putea fi provocate. Directiva 90/679/CEE clasifică microorganisme, ca agenți biologici, în 4 clase de risc pe baza potențialelor efecte asupra unui om adult sănătos. Clasele de risc pot fi folosite orientativ pentru clasificarea pe categorii a activităților de utilizare controlată în cele patru clase de risc prevăzute în art. 7 alin. (4) din ordonanța de urgență. Utilizatorul poate să aibă, de asemenea, în vedere schemele de clasificare referitoare la agenți patogeni pentru plante și animale (scheme stabilite de obicei la nivel național). Schemele de clasificare menționate anterior oferă numai indicații temporare asupra claselor de risc ale activității și setului corespunzător de măsuri de limitare și control.

(4) Parcurgerea procedurii de identificare a pericolelor realizat conform alin. (1)-(3) trebuie să conducă la identificarea nivelului de risc asociat microorganismului modificat genetic.

(5) Selectarea măsurilor de control și a celorlalte măsuri de protecție trebuie să se realizeze în continuare pe baza nivelului de risc asociat microorganismului modificat genetic și pe următoarele:

a) caracteristicile mediului care ar putea fi expus (de exemplu, dacă în mediul care ar putea fi expus la microorganismul modificat genetic există organisme care ar putea fi afectate în mod negativ de microorganisme folosite în activitățile de utilizare controlată);

b) caracteristicile activității (de exemplu, amploarea, natura);

c) orice operațiuni care nu sunt standard (de exemplu, inocularea animalelor cu microorganisme modificate genetic; echipament care ar putea genera aerosoli).

d) Luarea în considerare a elementelor de la lit. a)–c) în cazul unei anumite activități poate mări, reduce sau lăsa neschimbat nivelul de risc asociat microorganismului modificat genetic identificat conform alin. (4) din ordonanța de urgență.

(6) Analiza realizată conform procedurii de mai sus conduce în final la încadrarea activității în una dintre clasele descrise în art. 7 alin. (4) din ordonanța de urgență.

(7) Clasificarea finală a utilizării în condiții de izolare trebuie confirmată prin revizuirea evaluării complete prevăzute la art. 7 alin. (2) din ordonanța de urgență.

Măsuri de izolare și alte măsuri de protecție

Principii generale

1. În tabelele de mai jos sunt prezentate cerințele și măsurile normale minime necesare pentru fiecare nivel de control. Menținerea sub control a activităților se realizează prin aplicarea bunelor practici, a instruirii, prin echipamentul de control și prin planurile speciale ale incintelor. Pentru toate activitățile care implică microorganisme modificate genetic se aplică principiile bunelor practici de microbiologie și următoarele principii de bună securitate și igienă a muncii:

- a) expunerea la microorganismul modificat genetic a locului de muncă și a mediului să fie la cel mai redus nivel posibil;
- b) exercitarea măsurilor de control privind ingineria genetică, la sursă și suplimentarea acestora cu îmbrăcăminte personală de protecție și cu echipamente când este necesar;
- c) testarea adecvată și menținerea măsurilor de control și a echipamentelor;
- d) testarea, când este necesar, a prezenței microorganismelor viabile rezultate din proces în afara zonei fizice primare de control;
- e) furnizarea unei instruirii adecvate personalului;
- f) instituirea unui comitet și a responsabilului de biosecuritate;
- g) formularea și punerea în aplicare a unor coduri locale de practici pentru siguranța personalului, dacă este cazul;
- h) afișarea simbolului de pericol biologic, pe ușă, echipamente de protecție utilizate și alte echipamente, în cazurile în care este necesar;
- i) punerea la dispoziția personalului a unor instalații pentru spălare și decontaminare;
- j) arhivarea datelor în Registrul utilizatorului pentru o perioadă de 10 ani;
- k) interzicerea consumului de alimente, lichide, a fumatului, a aplicării de produse cosmetice sau a depozitării de alimente pentru consum uman în zonele de muncă;
- l) interzicerea pipetării cu ajutorul gurii;
- m) furnizarea de proceduri standard de operare în scris acolo unde este adecvat pentru asigurarea securității;
- n) existența unor dezinfectanți și a unor proceduri specifice de dezinfectare disponibile în cazul răspândirii accidentale de microorganisme modificate genetic;
- o) asigurarea depozitării sigure a echipamentului și a materialelor de laborator contaminate, când este cazul.

2. Titlurile din tabel sunt orientative:

- a) Tabelul nr. 1 A conține cerințele minime pentru activitățile de laborator;
- b) Tabelul nr. 1 B conține completările și modificările tabelului nr. 1 A, privind activitățile din sere/camere de cultură și care implică microorganisme modificate genetic, dar și organisme modificate genetic;

- c) Tabelul nr. 1 C conține completările și modificările tabelului nr. 1 A privind activitățile cu animale care implică microorganisme modificate genetic.
- d) Tabelul nr. 2 conține cerințele minime pentru alte activități decât cele de laborator.
- e) În anumite cazuri particulare, poate fi necesar să se aplice o combinație de măsuri din tabelul nr. 1 A și din tabelul nr. 2, de la același nivel.
- f) În anumite cazuri, utilizatorii pot, cu acordul autorității competente, să nu aplice o specificație pentru un anumit nivel de control sau să combine specificații din două niveluri diferite.
- g) În aceste tabele termenul „opțional” semnifică faptul că utilizatorul poate aplica aceste măsuri pentru fiecare caz în parte, conform evaluării prevăzute în art. 7 alin. (2) din ordonanța de urgență.

Tabelul nr. 1 A Măsuri de laborator privind utilizarea în condiții de izolare a microorganismelor modificate genetic

Specificații		Nivele de control			
		1	2	3	4
1	Suita de echipamente de laborator: izolare ¹⁾ .	Nu se solicită	Nu se solicită	Obligativ	Obligativ
2	Laboratorul: poate fi sigilat pentru fumizare.	Nu se solicită	Nu se solicită	Obligativ	Obligativ
Măsuri privind echipamentele					
3	Suprafețe rezistente la apă, acizi, substanțe alcaline, solvenți, dezinfectanți, agenți de decontaminare și ușor de curățat.	Obligativ (banc de lucru)	Obligativ (banc de lucru)	Obligativ (banc de lucru, podea)	Obligativ (banc de lucru, podea, plafoane, pereți)
4	Intrare cu închidere ermetică în laborator ²⁾ .	Nu se solicită	Nu se solicită	Opțional	Obligativ

5	Presiune negativă față de presiunea mediului din imediata apropiere.	Nu se solicită	Nu se solicită	Obligativ cu excepția ³⁾	Obligativ
6	Aerul introdus în și extras din laborator trebuie să treacă prin filtru HEPA.	Nu se solicită	Nu se solicită	Obligativ (HEPA) ⁴⁾ – aer extras cu excepția ³⁾	Obligativ (HEPA) ⁵⁾ – aer introdus și extras
7	Post de securitate microbiologică	Nu se solicită	Opțional	Obligativ	Obligativ
8	Autoclav	La locul respectiv	În clădire	În cadrul izolat al suitei de echipamente al laboratorului ⁶⁾	În laborator = cu două intrări

Măsurile privind sistemul de lucru

9	Acces restricționat	Nu se solicită	Obligativ	Obligativ	Obligativ
10	Simbol de pericol biologic pe ușă	Nu se solicită	Obligativ	Obligativ	Obligativ
11	Măsurile specifice de control al diseminării aerosolilor	Nu se solicită	Obligativ reducerea la minimum	Obligativ prevenirea	Obligativ prevenirea
12	Duș	Nu se solicită	Nu se solicită	Opțional	Obligativ
13	Îmbrăcăminte de protecție	Îmbrăcăminte de protecție adecvată	Îmbrăcăminte de protecție și (opțional) încălțăminte adecvată	Îmbrăcăminte de protecție adecvată	Schimbare completă a îmbrăcăminte și încălțăminte înainte de a intra sau de a ieși
14	Mănuși	Nu se solicită	Opționale	Obligativ	Obligativ
15	Control eficient al vectorilor de tipul rozătoarelor și insectelor.	Opțional	Obligativ	Obligativ	Obligativ

Măsurile privind managementul deșeurilor

1 6	Inactivarea microorganismelor modificate genetic din efluenții provenind din chiuvetele pentru spălarea mâinilor sau din canalizare și de la dușuri și din efluenții similari	Nu se solicită	Nu se solicită	Opțional	Obligativ
1 7	Inactivarea microorganismelor modificate genetic din materialele și deșeurile contaminate	Opțional	Obligativ	Obligativ	Obligativ

Alte măsuri

1 8	Laboratorul deține echipament propriu	Nu se solicită	Nu se solicită	Opțional	Obligativ
1 9	Să existe o fereastră sau un alt mijloc de observație astfel încât persoanele din interior să poată fi vizionate	Opțional	Opțional	Opțional	Obligativ

¹ Izolare - laboratorul este separat de celelalte încăperi din aceeași clădire sau se află într-o clădire separată.

² Intrare ermetică - intrarea trebuie să se facă printr-o zonă ermetică, adică printr-o cameră izolată de laborator. Partea curată a acesteia trebuie separată de zona restricționată prin vestiare sau cabine de duș și este preferabil să fie prevăzută cu uși cu blocare.

³ Activități în care transmiterea nu se produce prin aeropurtare.

⁴ HEPA - particule din aer filtrate cu eficiență ridicată.

⁵ În cazurile în care se folosesc virusuri care nu sunt reținute de filtrele HEPA, vor fi necesare cerințe suplimentare pentru aerul extras.

⁶ Cu proceduri validate, care permit transferul materialului în condiții de securitate într-o autoclavă din exteriorul laboratorului și care oferă un nivel echivalent de protecție.

Tabelul nr. 1 B - Măsurile de control și alte măsuri de protecție pentru sere și spații de cultură

Termenii seră¹⁾ și spațiu de cultură se referă la o structură cu pereți, acoperiș și podea proiectată și utilizată în principal pentru cultivarea plantelor într-un mediu controlat și protejat. Toate prevederile din tabelul nr. 1 A se aplică cu următoarele completări/modificări:

Specificații		Nivele de izolare			
		1	2	3	4
Măsuri privind echipamentele					
1	Intrare printr-o încăpere separată cu două uși cu blocare	Nu se solicită	Opțional	Opțional	Se solicită
2	Controlul scurgerilor de apă contaminată	Opțional	Reducerea ²⁾ la minimum a scurgerilor	Prevenirea scurgerilor de apă contaminată	Prevenirea scurgerilor de apă contaminată
Măsuri privind sistemul de lucru					
3	Măsuri pentru controlul speciilor nedorite cum ar fi insectele, rozătoarele, artropodele.	Obligativ	Obligativ	Obligativ	Obligativ
4	Procedurile pentru transferul materialului biologic viu între seră/spațiul de cultură, structura de protecție și laborator trebuie să controleze diseminarea organismelor modificate genetic	Reducerea diseminării la minimum	Reducerea diseminării la minimum	Prevenirea diseminării	Prevenirea diseminării

¹⁾ Sera este o structură permanentă cu un acoperiș continuu, etanș la apă, amplasată într-un loc amenajat în vederea prevenirii scurgerii apelor de suprafață și prevăzută cu uși automate care pot fi blocate

²⁾ Unde transmiterea se poate produce prin pământ.

Tabelul nr. 1 C - Măsurile de control și alte măsuri de protecție privind activitățile din unitățile pentru animale

Toate prevederile din tabelul I A se aplică cu următoarele completări/modificări

Specificații		Nivele de izolare			
		1	2	3	4
Măsuri generale					
1	Izolarea unității pentru animale ¹⁾	Opțional	Obligativ	Obligativ	Obligativ
2	Spații speciale pentru animale ²⁾ separate prin uși care pot fi blocate	Opțional	Obligativ	Obligativ	Obligativ
3	Spații speciale pentru animale, proiectate pentru a facilita decontaminarea (materiale etanșe la apă și ușor lavabile-cuști, etc.)	Opțional	Opțional	Obligativ	Obligativ
4	Podea și/sau pereți ușor lavabili	Opțional	Obligativ (podea)	Obligativ (podea și pereți)	Obligativ (podea și pereți)
5	Animalele se mențin în spații special dedicate animalelor, cum sunt cuștile, țarcurile sau acvariile	Opțional	Opțional	Opțional	Opțional
6	Filtre la compartimentele de izolare sau la încăperile izolate ³⁾	Nu se solicită	Opțional	Obligativ	Obligativ

¹⁾ Unitate pentru animale: vivariu, o clădire, o zonă separată în cadrul unei clădiri care conține spații speciale și alte zone cum ar fi vestiare, dușuri, autoclave, zone de depozitare a alimentelor etc.

²⁾ Spații speciale pentru animale: o dotare utilizată în mod normal pentru adăpostirea unor animale de rentă, reproducere sau de laborator sau o dotare utilizată pentru realizarea unor proceduri chirurgicale simple.

³⁾ Compartimente de izolare: cutii transparente folosite pentru păstrarea animalelor mici în interiorul sau în exteriorul unei cuști; pentru animale mai mari sunt mai adecvate încăperile izolate.

Tabelul nr. 2 - Măsurile de control și alte măsuri de protecție pentru alte activități

Specificații		Nivele de izolare			
		1	2	3	4
Măsuri generale					
1	Organismele viabile trebuie păstrate într-un sistem care separă procesul de mediu (sistem închis)	Opțional	Obligativ	Obligativ	Obligativ
2	Controlul gazelor evacuate din cadrul sistemului închis	Nu se solicită	Obligativ, cu reducerea diseminării la minimum	Obligativ, cu prevenirea diseminării	Obligativ, cu prevenirea diseminării
3	Controlul aerosolilor în timpul recoltării probelor, adausului de materiale într-un sistem închis sau în timpul transferului unui material într-un alt sistem închis	Opțional	Obligativ, cu reducerea diseminării la minimum	Obligativ, cu prevenirea diseminării	Obligativ, cu prevenirea diseminării
4	Inactivarea integrală a culturilor lichide înainte de îndepărtarea dintr-un sistem închis	Opțional	Obligativ, cu realizarea prin mijloace validate	Obligativ, cu realizarea prin mijloace validate	Obligativ, cu realizarea prin mijloace validate

5	Dispozitivele de etanșare trebuie proiectate pentru a reduce la minimum sau a preveni diseminarea	Nu există cerințe specifice	Reducerea diseminării la minimum	Prevenirea diseminării	Prevenirea diseminării
6	Zona controlată trebuie proiectată pentru a reține scurgerea întregului conținut al sistemului închis	Opțional	Opțional	Obligatori	Obligatori
7	Zona controlată trebuie să poată fi etanșată pentru a permite fumizarea	Nu se solicită	Opțional	Opțional	Obligatori

Măsuri privind echipamentele

8	Intrare cu închidere ermetică	Nu se solicită	Nu se solicită	Opțional	Obligatori
9	Suprafețe rezistente la apă, acizi, substanțe alcaline, solvenți, dezinfectanți, agenți de decontaminare și ușor de curățat	Obligatori (la bancurile de lucru, dacă există)	Obligatori (la bancurile de lucru, dacă există)	Obligatori (la bancurile de lucru, dacă există, podea)	Obligatori (bancuri de lucru, podea, plafoane, pereți)
10	Măsuri specifice pentru ventilarea adecvată a zonei controlate pentru a reduce la minimum contaminarea aerului	Opțional	Opțional	Opțional	Obligatori
11	În zona controlată trebuie menținută o presiune negativă față de presiunea mediului din imediata apropiere	Nu se solicită	Nu se solicită	Opțional	Obligatori
12	Aerul introdus în și extras din zona controlată trebuie să treacă prin filtru HEPA	Nu se solicită	Nu se solicită	Obligatori (pentru aerul extras, opțional pentru aerul introdus)	Obligatori (pentru aerul introdus și extras)

Măsuri privind Sistemul de lucru

13	Sistemele închise trebuie să se afle într-o zonă controlată	Nu se solicită	Opțional	Obligatori	Obligatori
----	---	----------------	----------	------------	------------

14	Accesul trebuie limitat și permis numai personalului numit în acest sens	Nu se solicită	Obligativ	Obligativ	Obligativ
15	Trebuie aplicate simbolurile de pericol biologic	Nu se solicită	Obligativ	Obligativ	Obligativ
16	Personalul trebuie să facă duș înainte de a părăsi zona controlată	Nu se solicită	Nu se solicită	Opțional	Obligativ
17	Personalul trebuie să poarte echipament de protecție	Obligativ (echipament de muncă)	Obligativ (echipament de muncă)	Obligativ	Schimbare completă înainte de a intra sau de a ieși

Măsuri privind gestiunea deșeurilor

18	Inactivarea microorganismelor modificate genetic din efluenții proveniți de la chiuvetele pentru spălarea mâinilor, de la dușuri și din efluenți similari	Nu se solicită	Nu se solicită	Opțional	Obligativ
19	Inactivarea microorganismelor modificate genetic din materialul contaminat și deșeuri, inclusiv a celor din efluenții rezultați din procese înainte de evacuarea finală	Opțional	Obligativ, cu efectuare prin mijloace validate	Obligativ, cu efectuare prin mijloace validate	Obligativ, cu efectuare prin mijloace validate

Partea A

1. Informațiile solicitate pentru notificarea prevăzută în art. 10 din ordonanța de urgență:

- a) numele utilizatorului (utilizatorilor), inclusiv al persoanelor responsabile pentru supraveghere și biosecuritate;
- b) informații asupra instruirii și calificărilor persoanelor care răspund de supraveghere și biosecuritate;
- c) detalii asupra comitetului și responsabilului de biosecuritate;
- d) adresa și descrierea generală a sediului, planul cadastral cu evidențierea distanțelor față de ariile naturale protejate legal constituite;
- e) o descriere a naturii muncii care urmează să fie efectuată ce include măsurile de protecție a muncii ce sunt obligatorii a fi aplicate;
- f) clasa de utilizare supusă activității de inspecție și control;
- g) numai pentru utilizările controlate din clasa 1, o sinteză a evaluării prevăzute în art. 7 alin. (2) din ordonanța de urgență și informații asupra gestionării deșeurilor la care se completează date specifice din partea E;

2. Notificările trebuie să mai cuprindă:

- a) cererea de autorizare privind utilizarea în condiții de izolare clasa 1, 2, 3 sau 4;
- b) copie după avizul de mediu privind planul incintei în care se desfășoară activități cu microorganisme modificate genetic
- c) copie după autorizația de mediu, privind utilizarea reactivilor necesari pentru activitățile prevăzute în notificare;
- d) dovada plății tarifului de evaluare a dosarului de notificare;
- e) dovada de asigurare a incintei și sănătății umane în caz de accident;
- f) dovada plății compensatorii în caz de accident, în valoare de 25.000 lei pentru clasa 3 și de 50.000 lei pentru clasa 4, urmând ca toate cheltuielile aferente în caz de accident să fie suportate de utilizator.

Partea B

Informațiile solicitate pentru notificarea prevăzută în art. 10 alin. (6) din ordonanța de urgență:

- 1. data la care s-a înaintat notificarea prevăzută în art. 10 alin. (1) din ordonanța de urgență;
- 2. numele și datele de contact ale persoanelor care răspund de biosecuritate și informații asupra instruirii și calificărilor;
- 3. receptorul, donatorul și/sau organismele utilizate și, unde este cazul, sistemele gazdă-vector folosite;
- 4. sursele și funcțiile preconizate ale materialelor genetice implicate în modificări;
- 5. identitatea și caracteristicile microorganismului modificat genetic la care se completează date specifice din partea E;

6. scopul utilizării controlate, inclusiv rezultatele anticipate;
7. volumele aproximative de cultură care vor fi folosite;
8. descrierea măsurilor de control și a celorlalte măsuri de protecție care vor fi aplicate, inclusiv informațiile asupra gestionării deșeurilor care vor fi generate, tratarea acestora, forma lor finală și destinația;
9. adresa și descrierea generală a sediului, planul cadastral cu evidențierea distanțelor față de ariile naturale protejate legal constituite;
10. o analiză a evaluării prevăzute în art. 7 alin. (2) din ordonanța de urgență;
11. informațiile necesare autorității competente pentru a evalua orice plan de acțiune în caz de urgență și măsuri de remediere în caz de accident dacă acesta este solicitat în temeiul art. 23 din ordonanța de urgență.

Partea C

Informațiile solicitate pentru notificarea prevăzută în art. 10 din ordonanța de urgență:

- a) data la care s-a înaintat notificarea prevăzută în art. 10 alin. (7) din ordonanța de urgență;
 - numele și datele de contact ale persoanelor care răspund de supraveghere, securitate și informații asupra instruirii și calificărilor;
 - dovada existenței asigurării în caz de accident a incintei, echipamentelor și lucrătorilor.
- b) receptorul sau microorganismul parental care va fi folosit
 - sistemele gazdă-vector care vor fi folosite (dacă este cazul);
 - sursele și funcțiile preconizate ale materialelor genetice utilizate în tehnicile de modificare genetică;
 - identitatea și caracteristicile microorganismului modificat genetic;
 - volumele de cultură care vor fi folosite la care se completează date specifice din partea E.
- c) descrierea măsurilor de control și a celorlalte măsuri de protecție care vor fi aplicate, inclusiv informațiile asupra gestionării deșeurilor care vor fi generate, tratarea acestora, forma lor finală și destinația;
 - scopul utilizării controlate, inclusiv rezultatele anticipate;
 - descrierea echipamentelor/instalației și părților incintei;
- d) informații asupra planurilor de prevenire a accidentelor și de reacție în caz de urgență, dacă există:
 - orice pericole specifice provenind din zona incintei;
 - măsurile de prevenire aplicate, cum ar fi echipamente de siguranță, sistemele de alarmă și metodele de control;
 - procedurile și planurile pentru verificarea eficienței permanente a măsurilor de control;
 - o descriere a informațiilor oferite lucrătorilor;
 - informațiile necesare autorității competente pentru a evalua orice plan de reacție în caz de urgență, dacă acesta este solicitat în temeiul art. 23 din ordonanța de urgență.
- e) un exemplar al evaluării prevăzute în art. 7 alin. (2) din ordonanța de urgență.

Partea D

Informațiile solicitate pentru notificarea prevăzută în art. 17 din ordonanța de urgență:

- a) numele și adresa notificatorului (companie sau instituție);
- b) numele, calificarea și experiența persoanei/persoanelor responsabile de transport dacă este cazul;
- c) denumirea microorganismului modificat genetic la care se completează date specifice din partea E;
- d) destinația utilizării;
- e) traseul, modul de transport și siguranța transportului, măsuri de biosecuritate și planuri de urgență în caz de accident;
- f) copie după avizul de mediu la destinatar și la expeditor pentru activități cu microorganisme modificate genetic;
- g) copie după autorizația de mediu, privind utilizarea reactivilor necesari pentru activitățile specifice manipulării microorganismului modificat genetic;
- h) dovada plății tarifului de evaluare a dosarului de notificare;
- i) dovada de asigurare a incintei și sănătății umane în caz de accident pentru partea română;
- j) dovada plății compensatorii în caz de accident, în valoare de 25.000 lei pentru clasa 3 și de 50.000 lei pentru clasa 4, urmând ca toate cheltuielile aferente în caz de accident să fie suportate de utilizator pentru partea română.

Partea E

A. Informații referitoare la microorganismul modificat genetic:

- 1. denumire științifică;
- 2. încadrare taxonomică;
- 3. alte denumiri (denumire comună, denumirea tulpinii etc.);
- 4. markeri fenotipici și genotipici;
- 5. gradul de înrudire între organismul donor și organismul receptor sau între organismele parentale, unde este cazul;
- 6. descrierea tehnicilor de identificare și de detecție;
- 7. sensibilitatea, fiabilitatea (în termeni cantitativi) și specificitatea tehnicilor de detecție și identificare;
- 8. descrierea condițiilor de menținere în cultură a microorganismului;
- 9. microorganisme cu care se știe că transferul materialului genetic se face în condiții naturale;
- 10. verificarea stabilității genetice a microorganismelor și factori care afectează această stabilitate;
- 11. caracteristicile patologice, ecologice și fiziologice ale microorganismelor:
 - a) încadrarea în clase de pericol biologic privind protecția sănătății umane și/sau a mediului;

- b) timpul de multiplicare în mediul natural unde este cazul, ciclul de reproducere sexuată/asexuată;
- c) informații privind supraviețuirea, inclusiv caracterul sezonier și capacitatea de a genera forme de supraviețuire;
- d) patogenitate: infecțiozitate, toxicitate, virulență, alergenicitate, purtător (vector) de agenți patogeni, posibili vectori, spectrul organismelor-gazdă, inclusiv organisme non-țintă; activarea posibilă a virusurilor latente (provirusuri); capacitatea de a coloniza alte organisme;
- e) rezistența la antibiotice;

12. Natura vectorilor utilizați:

- a) secvența;
- b) frecvența mobilizării;
- c) specificitatea;
- d) prezența genelor care conferă anumite tipuri de rezistență.

13. Istoricul modificărilor genetice anterioare.

B. Caracteristicile vectorului inserat sau utilizat

1. natura și sursa vectorului;
2. secvența transpozonilor, a vectorilor și a altor segmente genetice necodificatoare utilizate pentru a construi organismul modificat genetic, precum și vectorul introdus, și pentru a se realiza expresia insertului în organismul modificat genetic;
3. frecvența mobilizării vectorului inserat și/sau capacitatea de transfer genetic și metodele de determinare;
4. informații privind gradul de limitare al vectorul utilizat față de ADN -ul necesar pentru a exprima funcția preconizată și, unde este cazul, a ARN-ului.

C. Caracteristicile microorganismului modificat genetic

1. Informații privind modificarea genetică:
 - a) metode utilizate pentru transformarea genetică;
 - b) metode utilizate la formarea și introducerea insertului (inserturilor) în organismul receptor sau la eliminarea unei secvențe;
 - c) descrierea construcției insertului și/sau a vectorului;
 - d) gradul de puritate al insertului în raport cu orice secvență genică necunoscută și informații privind gradul de limitare al secvenței inserate față de ADN-ul necesar pentru a-și exercita funcția preconizată;
 - e) metode și criterii folosite pentru realizarea selecției;
 - f) secvența, identitatea funcțională și localizarea segmentului (segmentelor) de acid nucleic în cauză, modificat, inserat sau eliminat, cu referire specială la orice secvență nocivă cunoscută.

2. Informații privind microorganismul modificat genetic obținut:

- a) descrierea trăsăturii (trăsăturilor) genetice sau a caracteristicilor fenotipice și, mai ales, a oricăror trăsături și caracteristici noi, care pot fi exprimate, sau nu mai sunt exprimate;
- b) structura și cantitatea oricărui vector și/sau acid nucleic donor, rămas în construcția genetică finală a organismului modificat;
- c) stabilitatea organismului în ceea ce privește trăsăturile sale genetice;
- d) gradul și nivelul de expresie a noului material genetic; metoda și sensibilitatea măsurătorii;
- e) activitatea proteinei (proteinelor) exprimate;
- f) descrierea tehnicilor de identificare și de detecție, inclusiv tehnici pentru identificarea și detecția secvenței și a vectorului inserate;
- g) sensibilitatea, fiabilitatea (în termeni cantitativi) și specificitatea tehnicilor de detecție și identificare;
- h) istoricul introducerilor sau utilizărilor anterioare ale microorganismului modificat genetic;
- i) considerații privind sănătatea umană și animală, precum și sănătatea plantelor:
 - (i) efecte toxice sau alergenice ale microorganismelor modificate genetic și/sau ale produselor lor metabolice;
 - (ii) compararea microorganismului modificat cu organismul donor, cu organismul receptor sau (când este cazul) cu organismul parental, în ceea ce privește patogenitatea;
 - (iii) capacitatea de colonizare;
 - (iv) dacă organismul este patogen pentru oamenii cu imunitate normală: bolile cauzate și mecanismele patogenității, inclusiv capacitatea de invazie și virulența; modul de transmitere, doza infectantă, spectrul organismelor gazdă, posibilitatea de afectare, posibilitatea de supraviețuire în afara organismului gazdă, uman, prezența vectorilor sau a căilor de răspândire, stabilitatea biologică, spectrul de rezistență la antibiotice, caracterul alergen, disponibilitatea unor terapii adecvate.
 - (v) alte pericole prezentate de produs.

Planul de Urgență pentru utilizarea în condiții de izolare a microorganismelor modificate genetic

1) Descrierea riscurilor în caz de accident cuprinde:

- a) principalele proprietăți ale microorganismelor modificate genetic;
- b) fenomenele fizice legate de multiplicarea microorganismelor modificate genetic;
- c) posibila extindere a zonelor de risc în ordinea descrescătoare a riscului;
- d) localități, județe, regiuni sau state membre, susceptibile de a fi afectate de accident.

2) Măsurile legate de exploatare:

- a) măsuri de alertă imediată a autorității competente și a autorității administrative publice locale;
- b) măsuri de informare realizate de autoritatea competentă care analizează accidentul și urmărește evoluția acestuia;
- c) punerea la dispoziția autorităților publice locale a unui post de supraveghere care se impune a fi situat fie la locul accidentului fie în vecinătatea acestuia.

3) Măsuri de securitate pentru protecția populației:

- a) măsuri de urgență care trebuie luate înaintea intervenției autorităților publice;
- b) alertarea populației umane învecinate;
- c) întreruperea circulației pe infrastructurile de transport;
- d) îndepărtarea populației din vecinătatea locului accidentului;
- e) întreruperea rețelei de canalizare publică în vecinătatea locului accidentului.

Informații furnizate în mod obligatoriu autorității competente, în caz de accident

(1) Informațiile ce trebuie furnizate imediat în caz de accident autorității competente:

- a) date generale;
- b) data și ora la care a avut loc accidentul;
- c) adresa incintei unde a avut loc accidentul;
- d) referințe privind construcțiile și locațiile atinse de accident, la care se adaugă un plan;
- e) numele, adresa, numărul de telefon ale responsabilului de biosecuritate;
- f) numele, adresa, numărul de telefon al utilizatorului;
- g) principala activitate a incintei;
- h) clasa de risc biologic a microorganismelor implicate în accident;
- i) natura accidentului: incendiu, explozie etc;
- j) starea de deteriorare/funcționare a echipamentului (cauză umană/mecanică: ruptură, scurgere, etc.);
- k) altele (de specificat);
- l) microorganisme diseminate la locul accidentului;
- m) identitatea și cantitatea microorganismelor diseminate;
- n) formele și/sau concentrațiile microorganismelor diseminate;
- o) descrierea circumstanțelor accidentului;
- p) era prevăzut un plan de urgență? Dacă nu, de ce? Dacă da, cine l-a elaborat și cine l-a avizat favorabil?
- q) măsurile de urgență care au fost luate în interiorul și în afara incintei;
- r) cauzele accidentului (dacă ele nu sunt încă cunoscute, informația va fi furnizată funcționarului tehnic imediat ce cauzele vor fi stabilite);
- s) natura și extinderea expunerii microorganismelor în interiorul incintei;
- ș) identitatea persoanelor expuse la accident;
- t) identitatea morților și/sau răniților;
- ț) daune previzibile pentru sănătatea oamenilor și a mediului;
- u) dacă mai este încă pericol, specificați-l;
- v) date privind persistența pericolului;
- x) materialul afectat;
- y) pagubele care afectează măsurile de utilizare în condiții de izolare la exteriorul instalației;
- z) pagubele care afectează măsurile de utilizare în condiții de izolare la nivel secundar și terțiar, alte state membre sau țări terțe care ar putea fi afectate de accident.

(2) Informații de furnizat ulterior:

- a) analiza finală a cauzelor accidentului;
- b) analiza eficacității planurilor de urgență și expunerea punctelor tari și slabe ale acestuia;

- c) experiența acumulată – recomandări;
- d) rezultatele tuturor investigațiilor formale privind accidentul;
- e) propuneri de măsuri de medie și lungă durată, în mod special cele vizând prevenirea unor astfel de accidente;
- f) acțiunile întreprinse pentru informarea comunității locale despre accident;
- g) măsurile de supraveghere a microorganismelor accidental diseminate în interiorul și în afara incintei după accident;
- h) evaluarea generală și finală asupra pagubelor cauzate asupra sănătății umane și a mediului;
- i) recomandări finale pentru evitarea în viitor a unui accident similar.

Sistemul intern de biosecuritate

1, Fiecare utilizator are obligația să asigure un sistem intern de biosecuritate reprezentat de responsabilul și comitetul de biosecuritate.

2. Responsabilul de biosecuritate este desemnat de către utilizator și este obligat:

- a) să participe la evaluarea riscurilor;
- b) să coordoneze elaborarea notificărilor pentru obținerea autorizației;
- c) să se asigure că utilizarea microorganismelor modificate genetic în condiții de izolare este realizată prin aplicarea celor mai bune practici de laborator, numai după instruirea personalului specializat ca utilizator direct;
- d) să se asigure că personalul tehnic, care nu utilizează microorganisme modificate genetic, dar execută lucrări în incinta prevăzută cu semnul „pericol biologic”, este instruit corespunzător;
- e) să vegheze, în mod deosebit, la asigurarea siguranței incintei prin etichetarea cu semnul de „pericol biologic” al accesului în incinta unde se utilizează microorganisme modificate genetic, precum și a aparatelor și echipamentului de protecție;
- f) să asigure la vedere disponibilitatea protocolului de lucru, în incintele unde se derulează activități de manipulare a microorganismelor modificate genetic;
- g) să verifice condițiile de depozitare, transport intern și decontaminare a incintelor și echipamentelor de protecție;
- h) să asigure managementul deșeurilor;
- i) să vegheze la menținerea și controlul aparaturii utilizate;
- j) să elaboreze planurile de urgență și să se asigure că sunt luate măsurile adecvate în caz de accident;
- k) să elaboreze și să gestioneze Registrul utilizatorului așa cum este definit în art. 9 alin. (3) lit. a) din ordonanța de urgență;
- l) să organizeze și să participe la inspecții/controale interne și organizate de autoritățile prevăzute în art. 6 alin (1) din ordonanța de urgență și să elaboreze procese verbale care includ obligatoriu recomandări și măsuri arhivate în Registrul utilizatorului;
- m) să impună utilizatorilor respectarea regulilor de utilizare;
- n) să depună planul de urgență la autoritatea administrativă publică locală, după solicitarea expresă din partea autorității competente;
- o) să informeze de urgență autoritatea competentă și autoritatea administrativă publică locală în caz de accident;
- p) să asigure secretariatul tehnic al întrunirilor comitetului de biosecuritate.

3. Comitetul de biosecuritate este constituit de către utilizator în termen de o lună de la emiterea autorizației privind utilizarea în condiții de izolare a microorganismelor modificate genetic și este alcătuit din:

- a) conducătorul instituției;
 - b) reprezentanți ai personalului, utilizatori direcți;
 - c) responsabil de biosecuritate;
 - d) membrii solicitați pentru pregătirea profesională de specialitate – opțional;
 - e) conducătorul instituției și responsabilul de biosecuritate în cazul utilizării de tip A, așa cum este definită în art. 7 alin.(11) din ordonanța de urgență.
4. Utilizatorul comunică autorității competente în scris, în termen de 30 de zile după prima autorizare, componența comitetului de biosecuritate.
5. Comitetul de biosecuritate are următoarele responsabilități:
- a) încadrează în mod corect utilizările în condiții de izolare;
 - b) supraveghează întocmirea notificărilor;
 - c) identifică, în cazul utilizării aceleași incinte autorizate pentru proiecte diferite, compatibilitatea dintre microorganismele modificate genetic utilizate concomitent;
 - d) garantează biosecuritatea în cazul utilizării, în aceleași incinte autorizate, a diferite tipuri de microorganisme modificate genetic;
 - e) obligă utilizatorii să respecte regulile de biosecuritate;
 - f) supraveghează siguranța utilizărilor în condiții de izolare a microorganismelor modificate genetic, în interiorul incintei;
 - g) conducătorul incintei autorizate răspunde de nerespectarea măsurilor de biosecuritate.