

Esempio di valutazione del rischio: impiego confinato di MOGM di classe 1

Descrizione del MOGM

Clonaggio di geni strutturali e non strutturali di *Pseudomonas aeruginosa* in *E. coli* XL-1-blue usando tecniche standard di biologia molecolare.

Scopo dell'uso confinato

Valutare la patogenicità di *Pseudomonas aeruginosa*.

Limitare e/o eliminare eventuali effetti dannosi per la salute dell'uomo degli animali e danni ambientali.

Suggerimento della Dott.ssa T.Cacciamani

PROCEDURA 1

Identificazione dei pericoli potenziali derivanti dall'impiego del MOGM

Organismo ricevente

L'organismo ricevente è *E. coli* XL-1-blue, disponibile in commercio, derivante da *E. coli* K12, che è usato ampiamente in molti laboratori di biologia molecolare. I ceppi derivati da K12 sono avirulenti e possono essere considerati equivalenti agli agenti biologici di gruppo 1 secondo la Direttiva 2000/54/CE in quanto sicuri per la salute umana e l'ambiente. Inoltre *E. coli* XL-1-blue non è in grado di sopravvivere fuori dalle condizioni di laboratorio.

Organismo donatore (dell'inserito)

L'organismo donatore è *Pseudomonas aeruginosa*, un agente opportunistico asporigeno, ubiquitario molto diffuso in natura e presente nella flora intestinale umana. Provoca frequentemente infezioni nosocomiali in soggetti debilitati o immunocompromessi. Secondo la Direttiva 2000/54/CE è classificato come appartenente al gruppo di rischio 2.

Inserito

L'inserito è costituito da sequenze di geni strutturali che non codificano per recettori transmembrana, proteine di membrana e proteine di legame. Le proteine codificate dall'inserito non sono coinvolte nella patogenicità ma hanno un ruolo nella fisiologia cellulare. Tali proteine saranno espresse ad alti livelli in *E. coli* per di permettere un'analisi funzionale.

Il vettore

I vettori usati sono commerciali, come il plasmide pUC derivato; non sono in grado di trasferire caratteristiche patogeniche in quanto non mobilizzabili poiché difettivi dei geni *bom*, *mob* e *tra*.

Il MOGM

L'organismo ospite appartiene alla classe 1. L'inserito e i geni espressi non sono in grado di alterare la patogenicità, la sopravvivenza, la fitness dell'organismo ricevente. Su queste basi il MOGM sembra incapace di causare malattie nell'uomo, piante, animali o effetti avversi nell'ambiente.

Il MOGM derivante presenta le seguenti caratteristiche:

- organismo ospite appartiene alla classe 1;
- inserito e geni espressi non sono considerati capaci di alterare la patogenicità, la sopravvivenza, la fitness dell'organismo ricevente.

Da tali presupposti il MOGM sembra incapace di causare malattie nell'uomo, piante, animali o di determinare effetti avversi nell'ambiente, infatti:

- **considerazioni sulla salute umana**

- *E. coli XL-1-blue (ricevente) non è in grado di causare malattie nell'uomo, piante, animali o determinare effetti avversi nell'ambiente.*
- *La modificazione genetica non incrementa la possibilità del MOGM di causare malattie.*
- *Non ci si aspetta nessun aumento né di patogenicità né di virulenza.*

- **considerazioni ambientali**

- *Il ricombinante E. coli sarà coltivato a volumi non superiori a 50 ml per volta.*
- *Precauzioni saranno prese per evitare la formazione di aerosol ed eventuali perdite accidentali saranno trattate con l'uso di battericidi.*
- *I rifiuti solidi contaminati (materiale plastico, carta bibula, piastre, etc), saranno raccolti ed autoclavati a 124°C per 35min.*
- *L'autoclave è localizzata nell'edificio ed è sottoposta a controllo di validazione annuale.*
- *I rifiuti liquidi (ad es. medium di coltura) saranno trattati con l'aggiunta di disinfettanti ad una concentrazione finale pari al 10% e dopo una incubazione overnight saranno smaltiti.*

Poiché il MOGM risulta incapace di causare malattie nell'uomo, piante, animali o di determinare effetti avversi nell'ambiente, appartiene alla classe di impiego 1, per cui un livello di contenimento 1 è appropriato a proteggere la salute umana e l'ambiente.

Valutazione della possibilità che si verifichino effetti pericolosi

- **Natura delle attività**

La modificazione genica si realizza attraverso tecniche standard di biologia molecolare che non comportano particolari rischi e che inoltre sono condotte in accordo con le procedure operative standard di sicurezza.

Concentrazione e scala

E. coli XL-1-blue è coltivato in medium LB solido (10 capsule Petri alla volta) o in brodo LB al tipico volume di 50 ml o meno.

- **Condizioni di coltura**

Il MOGM è incubato a 37°C per 24 ore, secondo i volumi sopra citati.

- **Ambiente potenzialmente esposto**

Solo l'ambiente "laboratorio" è esposto e una particolare attenzione è rivolta ad assicurare che il MOGM sia contenuto e che le aree esterne al laboratorio non siano esposte. Inoltre il MOGM non sopravvive per un periodo significativo al di fuori delle opportune condizioni di laboratorio.

- **Presenza di specie suscettibili**

Né uomo, né animali, né piante sono suscettibili a *E. coli* XL-1-blue e l'insero e i prodotti genici non sono considerati pericolosi o capaci di alterare patogenicità, sopravvivenza e fitness del ricevente.

L'uomo, gli animali o le piante non sono suscettibili a *E. coli* XL-1-blue e l'insero e i prodotti genici non sono considerati pericolosi o capaci di alterare patogenicità, sopravvivenza e fitness del ricevente.

- **Se l'ambiente può favorire la sopravvivenza del MOGM**

E. coli XL-1-blue è un ceppo difettivo e l'organismo non sopravvive nell'ambiente

- **Effetti sull'ambiente fisico**

Poiché il MOGM è incapace di sopravvivere nessun effetto è atteso.

PROCEDURA 2

Determinazione della classificazione finale e delle misure di contenimento

E. coli XL-1-blue (ricevente) non è patogeno, ha una storia di sicurezza d'uso nei laboratori ed è classificato come appartenente alla classe 1. L'insero, il vettore ed i prodotti genici non sono dannosi o in grado di alterare la patogenicità, la sopravvivenza e la fitness del ricevente.

Sulla base di questo il MOGM non presenta rischi per la salute dell'uomo, per le piante, per gli animali o determina effetti avversi nell'ambiente.

Quindi il livello di contenimento che deve essere applicato per controllare il rischio è il livello 1, lo stesso che viene applicato per *E. coli* XL-1-blue (non modificato).

L'impiego di tale MOGM è quindi classificato come Classe d'impiego 1

Estratto da: <http://WWW.BIOTECNOLOGIESICUREZZA.IT>