

Inperking quarantaine-organismen: Zo geregeld!

Nicolette Klijn, Hans Derks en Jan Heres

Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen



Naast het toezicht op het voorkomen van de verspreiding van gereguleerde plantenziekten (quarantaineorganismen) middels de internationale handel in plantaardige producten is de Plantenziektenkundige Dienst (PD) ook belast met het toezicht op het voorkomen van verspreiding van quarantaineorganismen door doelgericht gebruik bij onderzoek en activiteiten. Daar-

naast heeft de PD als fytosanitaire autoriteit qua inperking van fytosanitaire risico's een voorbeeldfunctie naar de onderzoek/veredelingsector toe. De randvoorwaarden om te mogen werken met quarantaineorganismen staan beschreven in EU-richtlijn 95/44. In EPPO-verband is een aanbevelende richtlijn: PM3/-- *Guidelines for intentional import of live organisms that are plant pests or potential plant pests in voorbereiding.*

Nieuw quarantaine-concept PD

In 2002 is de PD begonnen om een nieuwe werkwijze op te stellen voor het werken met quarantaineorganismen. Door onvoorziene omgevingsrisico's waarbij herhaaldelijk wateroverlast optrad in een deel van de PD laboratoria werd het uit oogpunt van inperking van fytosanitaire risico's noodzakelijk om een deel van de laboratoria te verplaatsen en nieuw te bouwen. Daarnaast vormde ook de introductie van moleculaire diagnostiek een aanleiding om de bestaande huisvesting te herzien. Bovendien heeft de PD, mede gezien haar voorbeeldfunctie, ervoor geko-

zen om ook vanuit ARBO-aspecten een betere scheiding aan te brengen tussen laboratoriumwerk en administratief werk.

Om tot dit nieuwe concept te komen is op basis van verscheidene overwegingen, die in dit artikel nader toegelicht zullen worden, voor een nieuwe indeling van de laboratoria gekozen. Uitgangspunt hierbij waren de criteria uit EU-richtlijn 95/44/EG met daarbij als insteek om het laboratorium zoveel mogelijk vanuit de functionaliteit in te delen, tenzij er biologische redenen waren om hier vanaf te wijken. Bovendien is ernaar gestreefd om ook zoveel mogelijk de inrichting- en werkvoorschriften voor het

werken met Genetisch Gemodificeerde Organismen (GGO's) te combineren met andere gespecialiseerde voorschriften voor het werken met chemicaliën en plantpathogene organismen (quarantaine- en quarantainewaardige organismen).

Risicobeoordeling 95/44/EG PD

Beoordeling verspreidingsrisico's plantenziekten en plagen biologisch bepaald

Binnen de aantasters van planten kunnen grofweg vijf groepen organismen onderscheiden worden, te weten:

- 1) insecten en mijten,
- 2) schimmels, 3) oömyceten en nematoden (de eukaryoten), 4) bacteriën en aanverwanten zoals mycoplasma's en 5) virussen en aanverwanten zoals viroïden (de prokaryoten). Al deze organismegroepen hebben, wanneer ze levend toegepast worden, door hun specifieke biologische kenmerken vaak een verschillende route van verspreiding en overleving. Soms kunnen er bij experimenten ook niet levende of -infectieuze stadia optreden, die minder of geen inperking behoeven. Het is bij de risicobeoordeling van belang dit te onderkennen.

Er zijn organismen waarbij de belangrijkste verspreiding via de lucht plaatsvindt (bijvoorbeeld insecten en schimmels),

via water (bijvoorbeeld nematoden en bacteriën) of via contact (bijvoorbeeld bacteriën en virussen). Bovendien is ook de wijze waarop de organismen verspreid worden van belang voor hun uiteindelijke overleving in het milieu. Het maakt bijvoorbeeld voor bacteriën soms uit of ze via water of grond verspreid worden, omdat ze in grond vrij snel afsterven maar in water heel lang infectieus kunnen blijven. Het is dus belangrijk dat op basis van specifieke biologische kenmerken een analyse gemaakt wordt van de risico's voor overleving- en verspreiding naar het milieu. Deze risicoanalyse dient als basis voor het bepalen van de benodigde inperkingmaatregelen.

Verspreidingsrisico's bepaald door toepassing/ gebruik

Naast de biologische kenmerken van de plantenziekte of

-aantaster zijn ook een aantal andere aspecten voor de beoordeling van fytosanitaire risico's en inperking ervan belangrijk.

De aard van de werkzaamheden

Bij de risicobeoordeling is ook van belang welk type werkzaamheden hiermee uitgevoerd worden. Sommige activiteiten, zoals *in-vitro* technieken, zijn op zichzelf al een waarborg voor inperking. Andere activiteiten, bijvoorbeeld veldexperimenten, kunnen juist extra risico's met zich meebrengen.

Daarnaast is van belang om te onderkennen of het risicodragend materiaal bestemd is voor een destructief proces, uitgekweekt moet worden of in stand gehouden wordt om elders te gebruiken.

De schaal van activiteiten

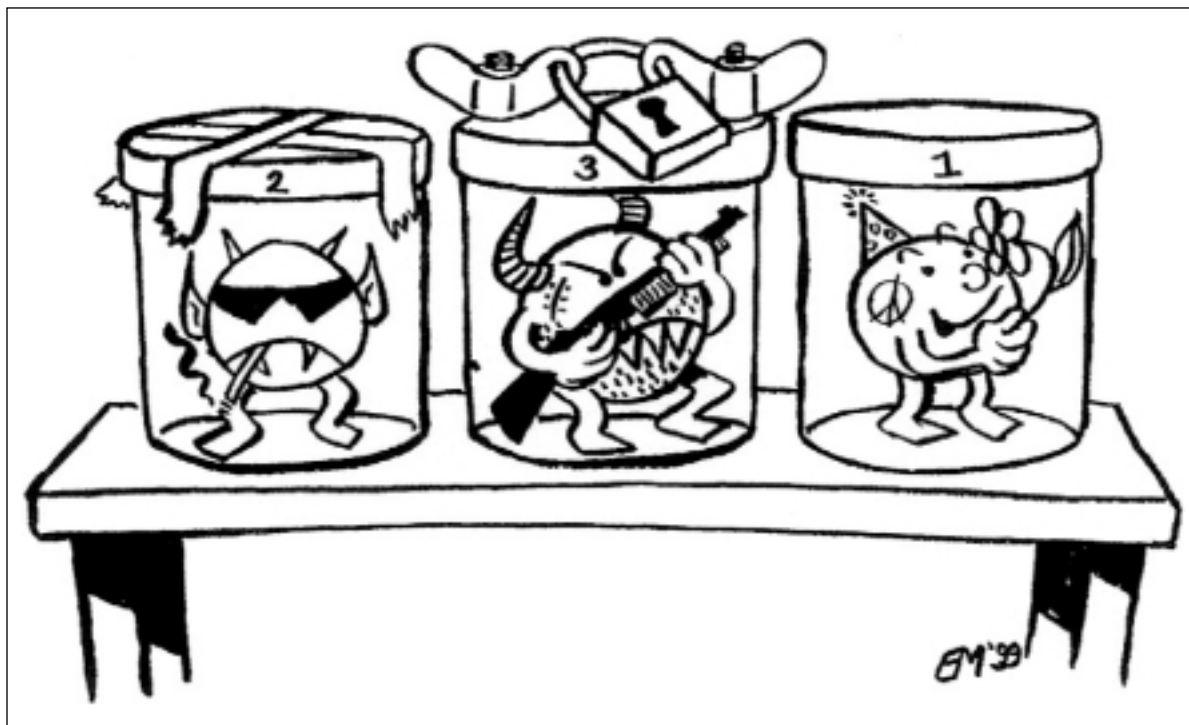
Ook de schaal waarop activiteiten uitgevoerd worden kan in relatie tot de faciliteiten en de

capaciteit van belang zijn voor de risicobeoordeling. Groot-schalige experimenten met infectieuze populaties (bijvoorbeeld resistentieproeven in kassen) maken andere inperkingsmaatregelen noodzakelijk dan kleinschalige experimenten in een laboratorium aan een beperkte hoeveelheid materiaal (bijvoorbeeld kleine monsters die slechts ter identificatie worden aangeboden).

De omgeving

Ook de omgeving van de experimenten wordt meegenomen in risicoanalyse. Afhankelijk van de omgeving van experimenten kunnen de potentiële risico's meer of minder groot zijn. Hierbij worden de risico's voortkomend uit de interne bedrijfsomgeving en de externe omgeving onderscheiden.

[ARTIKEL



Uit: "Veilig werken met micro-organismen, parasieten en cellen in laboratorium en andere werkkruimten", red. dr. H. Schellekens, Nederlandse Vereniging voor Microbiologie (2002).

Directe (bedrijfs)omgeving van experimenten

Voor de beoordeling van risico's van experimenten is de directe bedrijfsomgeving van belang. Ingeval de experimenten in afzondering van andere bedrijfsactiviteiten plaatsvinden en destructief van aard zijn (bijvoorbeeld destructieve diagnose) dan zijn de risico's zeer beperkt. Wanneer er binnen het bedrijf kwetsbare andere activiteiten met waardplanten of vectoren plaatsvinden die met elkaar (kunnen) conflicteren, dan zijn de risico's groter. Zeker wanneer er gebruik gemaakt wordt van gemeenschappelijke voorzieningen, dan kunnen hieruit potentieel risico's ontstaan voor andere bedrijfsonderdelen. Via uitwisseling van personeel en materiaal kan verspreiding zelfs optreden naar andere bedrijfsvestigingen. Dit speelt met name binnen veredelingsbedrijven, waar binnen dezelfde gewasgroep zowel resistentietoetsingen met quarantaineorganismen uitgevoerd worden en tegelijkertijd ook uitgangsmateriaal geproduceerd wordt en er tussen afdelingen en (buitenlandse) vesti-

gingen soms ook plantmateriaal en personeel wordt uitgewisseld.

Externe omgeving van experimenten

Bij experimenten met quarantaineorganismen die plaatsvinden midden in een gebied met (teelt van) waardplanten, is de potentiële schade ten gevolge van het ontsnappen van zo'n organisme doorgaans veel groter dan wanneer de experimenten in een gebied zonder waardplanten uitgevoerd worden. In de regel zijn de risico's in een stedelijk gebied daarom geringer dan daarbuiten. Vectoren kunnen een rol spelen bij de mate van verspreiding van schadelijke organismen.

Inperkingsmaatregelen PD

Algemeen

Quarantainefaciliteiten koppelen twee doelstellingen. Enerzijds optimale inperking van de activiteiten met (mogelijk) aanwezige schadelijke organismen en anderzijds het creëren van omstandigheden waar met zo weinig mogelijk beperkin-

gen experimenten en onderzoek kunnen worden uitgevoerd. Bij de keuze voor de inperkingmaatregelen is het biologisch gedrag van het (te verwachten) organisme leidend.

Bij de inrichting van PD-laboratoria en kassen ligt het accent op:

- **Fysieke inperking door bouwtechnische maatregelen:**

Hierbij wordt gebruik gemaakt van speciale voorzieningen in werkruimten, installaties en apparatuur (sluizen, onderdruk, afzuijing) gericht op het vermijden van ontsnapping van schadelijke organismen naar het milieu. Deze voorzieningen leiden tot passieve inperking.

Met bouwtechnische maatregelen kan passief bijvoorbeeld de verspreiding van organismen via lucht en water erg goed tegengegaan worden. In het nieuwe laboratorium van de PD zijn de laboratoria met het hoogste inperkingniveau (ML-II+) voorzien van sluizen en onderdruk waardoor de ver-

ARTIKEL



spreading van onder andere sporen van schimmels en oömyceten wordt voorkomen. Bovendien heeft het laboratorium een gesloten klimaatcontrole waarbij uitgaande lucht via HEPA-filters wordt afgevoerd. De ramen in het laboratorium kunnen niet geopend worden. Dezelfde maatregelen zijn ook genomen in de quarantainekassen die vergelijkbaar zijn ingericht op PKM-II en PKM-II+ niveau, waarbij PKM-II+ is voorzien van een extra sluis en onderdruk/HEPA-filtering. Mogelijke verspreiding via afvalwater wordt voorkomen door al het afvalwater van de laboratoria en quarantainekassen waar met levende quarantaineorganismen wordt gewerkt, centraal op te vangen en te verhitten voordat het op het openbaar riool wordt geloosd.

- **Actieve inperking door middel van veilige werkwijze:** De werkwijze is vastgelegd in procedures en werkinstructies. Procedures en werkinstructies bestaan onder andere uit toegangsvor-

schriften (inclusief voor-schriften voor kledingwisseling en werken met handschoenen), specifieke procedures voor de verwerking van biologisch afval, desinfectie van de werkplek en beheer van apparatuur (zie tabel 1). Bovendien streeft de PD ernaar om het materiaal zo snel mogelijk zodanig te behandelen dat de risico's van verspreiding worden geminimaliseerd (bijvoorbeeld door toevoeging van fenol/chloroform aan plantensap met virussen of het fixeren van insecten in alcohol).

Ook de routing van het materiaal naar en tussen laboratoria is belangrijk. In het nieuwe laboratoriumgebouw komt al het monstermateriaal centraal binnen in een ruimte met de strengste inperkingmaatregelen. De diagnostisch specialisten bepalen vervolgens hoe het materiaal veilig verwerkt en eventueel getransporteerd kan worden naar een ruimte met minder inperkingsmaatregelen. Hiervoor kan het nodig zijn om het materiaal eerst te behandelen, bijvoorbeeld door

het in te sluiten in specifiek verpakkingsmateriaal of te inactiveren door behandeling met organische oplosmiddelen.

Naast de inperking voor het minimaliseren van de risico's op verspreiding naar het milieu, zijn er ook inperkingsmaatregelen van kracht om de kwaliteit van het werk met plantpathogenen te bewaken. Zo moet het uitkweken van schimmels en oömyceten en het uitkweken van bacteriën strikt gescheiden gehouden worden, zeker als er met reïncultures wordt gewerkt. Ook vraagt de moleculaire diagnostiek om een strikte scheiding van onder andere de monsteropwerking en het analyseren van PCR-producten in verband met contaminatieproblematiek.

Verwerking van biologisch afval

Een belangrijk element van het inperken van risico's bij het werken met quarantaineorganismen is het verwerken van het afval. Het is belangrijk dat dit afval effectief behandeld wordt voordat het in het milieu

ARTIKEL

Tabel 1

Verspreidingsrisico	Wijze van overleving	Inperkingsverspreiding/	Fysieke niveau	Procedurale inperkingsmaatregelen	Afvoer biologisch afval
Hoog	Via de lucht, vegetatieve voortplanting, sporevorming	ML-II+	Onderdruk/gefilterde luchtafvoer Sluizen	Alle apparatuur en materiaal desinfecteren voor verwijdering uit lab Desinfecteren werkruimte	Alles via de destructie autoclaaf/gecontroleerde afvoer
Gemiddeld	Via water, grond, sexuele voortplanting, overlevingsvormen zoals bijv. cysten	ML-II	Veiligheidskabinetten Functioneel ingerichte (deel-)ruimtes	Speciale lab-jassen/ handschoenen/ overschoenen Steriel werken/ contactbesmetting vermijden	Biologisch afval via de destructie-autoclaaf/ chemisch afval gescheiden afvoeren
Laag	Via contact besmetting, snelle afdoding bij droogte en UV	ML-I	Opvang en verhitting afval water Gesloten ramen Geen permanente administratieve werkplekken	Lab-jassen/geen overdadige sierraden Handen desinfecteren bij verlaten laboratorium Niet eten en drinken	Glaswerk via specifiek wasprogramma reinigen en desinfecteren

terecht komt. Zo'n behandeling moet voorkomen dat quarantaineorganismen via bijvoorbeeld compostering en oppervlaktewater verspreid worden. In het nieuwe laboratorium is een specifieke voorziening opgenomen om al het biologisch afval via een destructieautoclaaf onschadelijk te maken en vervolgens als afgedood materiaal af te voeren.

Hoewel voor de meeste quarantaineorganismen de standaardverhitting van tien minuten 121°C voldoende is om het materiaal te inactiveren, zijn er organismen (stadia), zoals de wintersporen van *Synchytrium endobioticum*, die een hogere hittebehandeling nodig hebben om voldoende garanties te geven voor volledige inactivatie. De PD past nu voor de inactivatie van wintersporen vijftien minuten 133°C toe. Dit geeft opnieuw aan hoe belangrijk het is om op basis van de biologie van het organisme de juiste risicoafweging te maken over de wijze van afvoer van het biologisch afval. Wanneer de PD gebruik maakt van afvoer van biologisch afval door gespecialiseerde bedrijven beoordelen we vóóraf de procescondities en vragen we van het afvalverwerkend bedrijf garanties over de juiste verwerking van het materiaal (veilig transport, inzichtelijke administratie over verwerkte partijen).

Kwaliteitsmanagementsysteem

Gezien het feit dat het handhaven van inperkingsmaatregelen een zeer zorgvuldig werkproces vereist, heeft de PD een kwaliteitsmanagementsysteem opgezet met procedures en werkinstructies. Dit om te waarborgen dat iedereen bekend is met de risico's en de

hierop gerichte inperkingsmaatregelen, en deze inperkingsmaatregelen ook toepast. Het toezicht hierop vindt plaats door de voor dit doel aangestelde biologische veiligheidsfunctionaris, die verantwoordelijk medewerkers en locatiebeheerders een inzichtelijke administratie laat bijhouden over de biologische veiligheid. Bovendien besteedt de PD aandacht aan de opleiding en de bevoegdheden van het personeel. Voordat betreffende medewerkers in laboratoria met inperkingsniveaus mogen werken, krijgt men een introductie cursus biologische veiligheid en worden hun competenties getoetst en vastgelegd in een bevoegdhedenmatrix.

Door gebruik te maken van een kwaliteitsmanagementsysteem kunnen maatregelen waaraan een laboratorium moet voldoen voor de verschillende vergunningen (bijvoorbeeld de Regeling GGO van VROM/CO-GEM en milieuvergunningen) geïntegreerd worden. Hierdoor kan een optimale combinatie gemaakt worden van maatregelen en verantwoording, die naar verschillende instanties gebruikt kan worden. Denk hierbij aan een kwaliteitssysteem op basis van ISO 9001 of ISO 17025 (waarbij het laatste ook direct een accreditatie inhoudt voor de uitgevoerde analyses). Bij de PD wordt op dit moment gewerkt aan een systeem op basis van ISO 9001 en wellicht dat in de toekomst een accreditatie op basis van ISO 17025 volgt.

Situationele inperking

Het nieuwe laboratorium van de PD is dus gebaseerd op situationele inperking waarbij de

biologie van het organismen het uitgangspunt is. Hierbij is zoveel mogelijk gebruik gemaakt van de synergie tussen de verschillende wet- en regelgeving (EU-richtlijn 95/44, Regeling GGO van VROM/CO-GEM, ARBO- en milieuriichtlijnen) om tot een zo efficiënt mogelijke inrichting van werkprocessen en laboratoria te komen. Op deze wijze is de flexibiliteit van het werkproces behouden, maar zijn meer dan voldoende waarborgen aangebracht waardoor de risico's met betrekking tot schadelijke organismen (met name quarantaine- en quarantainewaardige organismen), GGO's, en chemische reagentia goed zijn afgedekt. Het laboratorium is op deze wijze overzichtelijk ingericht en maakt het werkproces gemakkelijk waardoor de handhaving van procedures eenvoudig en transparant is.

Ontwikkelingen met betrekking tot toepassing van 95/44/EG

Heroverweging inperking

De PD wil het zicht op fyto-sanitair risicovolle activiteiten en de hieraan gerelateerde import- en verkeersstromen vergroten, de risicocommunicatie met het onderzoekswerkveld verbeteren en mogelijkheden voor verbetering van de 95/44/EG-dienstverlening onderzoeken. Uitgangspunt hiervoor blijven de in EU-richtlijn 95/44/EG gestelde criteria gericht op inperking van fyto-sanitaire risico's. Met de ervaringen en inzichten die de PD opdoet bij de nieuwe huisvesting van de laboratoria en kassen als basis, zal de PD in de toekomst nieuwe standaarden ontwikkelen voor het veilig

werken met schadelijke organismen. Hierbij zal zoveel mogelijk aansluiting gezocht worden bij, uit oogpunt van inperking van fyto-sanitaire risico's, bruikbare bestaande bedrijfsinrichting. Daarnaast zullen relevante ontwikkelingen in (de toepassing van) inperkings-systematiek worden meegenomen gericht op verantwoorde, efficiënte implementatie van de richtlijn en passend toezicht hierop.

Dialog met onderzoeks/veredelingssector

Voor de ontwikkeling van nieuwe arrangementen voor inperking wil de PD dit najaar een dialoog opstarten met een nog in te stellen klankbordgroep met spelers uit de fyto-sanitaire onderzoekswereld, diagnostische centra en de plantenveredeling (keuringsdiensten, WUR, researchafdelingen van veredelingsbedrijven en bedrijfslaboratoria).

Benutting GGO-infrastructuur

Met name de op veel bedrijven bestaande GGO-infrastructuur met geclassificeerde werkruimten, werkprocedures en het bijbehorende kwaliteitsmanagementsysteem biedt mogelijkheden voor verbetering van de efficiency. Door bij toekomstige behandeling en risicobeoordeling 95/44/EG hiervan zoveel mogelijk gebruik te maken kan de communicatie over inperking efficiënter gevoerd worden door GGO-erkende bedrijven te verwijzen naar geclassificeerde inperkende faciliteiten. Hierdoor kunnen de administratieve lasten en kosten met betrekking tot Richtlijn 95/44/EG voor veredelingsbedrijven en onderzoekinstellingen en -laboratoria teruggedrongen worden.

Benutting ontwikkelingen inperkings-systematiek risico-communicatie

De huidige 95/44/EG-procedure is zodanig ingericht dat pas nadat formeel een aanvraag is ingediend, steeds on-the-case, de benodigde inperking wordt bepaald. Nadeel van deze werkwijze is dat de vereiste inperking voor dergelijke activiteiten alleen voor de aanvrager inzichtelijk is. Door een systeem te gebruiken waarin (groepen van) organismen die qua biologische karakteristieken overeenkomen gekoppeld worden aan inperkingsniveau's en dit voor iedereen toegankelijk te maken kan iedereen die activiteiten overweegt in een vroeg stadium kennisnemen van de risico's en consequenties voor inperking. De in ontwikkeling zijnde EPPO-richtlijnen voor beoogde import van organismen (PM3/ – Guidelines for intentional import of live organisms that are plant pests or potential plant pests) kennen een dergelijk systeem dat als kapstok kan dienen voor inperking van (groepen) organismen.

ARTIKEL