



Ръководство на ЕОБХ за извършване на пълен геномен секвентен анализ на микроорганизми, влагани в храни

Научна информация

Микроорганизми, генетично модифицирани или не, могат да се използват в хранителната верига като такива или като производствени организми от значение. Поставянето на такива микроорганизми или производни вещества/продукти на европейския пазар може да бъде предмет на процес на издаване на разрешение преди пускането на пазара. Процесът на издаване на разрешение определя необходимостта от извършване на оценка на риска, за да се установи безопасността и/или ефикасността на микроорганизмите, когато се използват в хранителната верига като такива или като производствени щамове на вещества, представляващи интерес. За да се извърши оценка на риска, трябва да се характеризира микроорганизмът/те, предмет на заявлението за разрешение. В тази връзка данните, получени от целия анализ на геномната последователност, могат да предоставят информация за недвусмислената таксономична идентификация на щамовете и за характеризирането на техните потенциални функционални характеристики, които могат да включват фактори на вирулентност, резистентност към антимикробни средства от клинично значение за хората и животните, производството на известни токсични метаболити. Всъщност в някои области на регулираните продукти използването на пълен геномен секвентен анализ и биоинформатичен анализ след това е установено като изискване за оценката на риска.

ЕОБХ публикува след публична консултация през 2020 г. ръководство за това как да се извърши целогеномно секвениране на микроорганизмите, влагани в хранителната верига. Настоящият документ предоставя препоръки на заявителите за това как да опишат процеса и резултатите, които следва да бъдат предоставени на оценителя на риска в контекста на заявление за разрешение на пазара на регулиран продукт. Дадени са указания за това как да се изпълняват WGS и критериите за качество, които следва да бъдат достигнати, както и данните и съответната информация, които трябва да бъдат изпратени заедно, когато се изискват такъв вид данни.

За да бъдат пуснати такива микроорганизми на пазара и да бъдат вложени в храни е необходимо да бъде спазена съответната регулаторна рамка, включително:

- Генетично модифицирани микроорганизми за преднамерено освобождаване в околната среда, обхванати от компетентността на ЕОБХ съгласно Директива 2001/18/ЕО,

- Генетично модифицирани храни и фуражи, Регламент (ЕО) № 1829/2003 на Европейския парламент и на Съвета от 22 септември 2003 г. относно генетично модифицираните храни и фуражи,
- Фуражни добавки, Регламент (ЕО) № 1831/2003 на Европейския парламент и на Съвета от 22 септември 2003 г. относно добавките за употреба при храненето на животните,
- Храни, за които се подават хранителни или здравни претенции, при спазване на Регламент (ЕО) № 1924/2006 на Европейския парламент и на Съвета от 20 декември 2006 г. относно хранителните и здравни претенции за храните,
- Ензими в храните, Регламент (ЕО) № 1332/2008 на Европейския парламент и на Съвета от 16 декември 2008 г. относно ензимите в храните,
- Добавки в храните, Регламент (ЕО) № 1333/2008 на Европейския парламент и на Съвета от 16 декември 2008 г. относно добавките в храните,
- Ароматизанти в храните, Регламент (ЕО) № 1334/2008 на Европейския парламент и на Съвета от 16 декември 2008 г. относно ароматизантите в храните и някои хранителни съставки с ароматни свойства,
- Микроорганизми, използвани като продукти за растителна защита, Регламент (ЕО) № 1107/2009 на Европейския парламент и на Съвета от 21 октомври 2009 г. относно пускането на пазара на продукти за растителна защита,
- Нови храни, предмет на Регламент (ЕС) 2015/2283 на Европейския парламент и на Съвета относно новите храни.

Процесът на издаване на разрешение определя необходимостта от извършване на оценка на риска, за да се установи безопасността и/или ефикасността на микроорганизмите, когато се използват в хранителната верига като такива или като производствени щамове. Поради това се налага да се характеризират микроорганизмите и са разработени следните документи в подкрепа на заявителите при изготвянето и предоставянето на необходимите данни:

- Насоки, разработени в рамките на Постоянния комитет по хранителната верига и здравето на животните относно таксономичното определяне на микроорганизмите, които следва да бъдат включени в приложение I към Директива 91/414/ЕИО (SANCO/10754/2005 rev.5, 15 април 2005г.),
- Насоки на експертната група за ГМО относно оценката на риска от генетично модифицирани микроорганизми и техните продукти, предназначени за употреба в храни и фуражи (ЕОБХ, 2011г.),
- Ръководство за оценка на еквивалентността на активните съставки с техническо качество за идентични микробни щамове или изолати, одобрени съгласно Регламент (ЕО) № 1107/2009 (SANCO/12823/2012-rev. 4, 12 декември 2014г.),
- Общи научни насоки за заинтересованите страни относно заявленията за здравни претенции (Panel NDA, 2016а),
- Насоки относно препаратите и представянето на уведомлението и заявлението за разрешаване на традиционни храни от трети държави в контекста на Регламент (ЕС) 2015/2283 (CANANDA Panel, 2016b),

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136
<http://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg
 тел. 02/4273056



- Насоки за приготвянето и представянето на заявление за разрешаване на нова храна в контекста на Регламент (ЕС) 2015/2283 (Panel, 2016с),
- Насоки на експертната група FEEDAP относно характеризирането на микроорганизмите, използвани като фуражни добавки или като производствени организми (Panel на FEEDAP, 2018 г.),
- Декларация относно характеризирането на микроорганизмите, използвани за производството на ензими в храните (ECSA CEP Panel, 2019 г.),

Ръководният документ на FEEDAP (EFSA FEEDAP Panel, 2018г.) и декларацията относно характеризирането на микроорганизмите в производството на ензими, влагани в храните (EFSA CEP Panel, 2019 г.) определят пълния геномен секвентен анализ (WGS) и WGS-базираните методи като изискване за характеризиране на бактериални и дрождеви щамове, предназначени за употреба като продукти или като производствени щамове. Този подход се препоръчва и за гъбички. По същия начин, Ръководството на панела NDA (EFSA NDA Panel, 2016а) предлага възможност да се използват данните от WGS за идентифициране/характеризиране на бактериите и дрождите. В областта на продуктите за растителна защита Регламент (ЕС) № 283/2013 на Комисията също така препоръчва най-добрата налична технология (WGS), която да се използва за характеризиране на микроорганизмите.

Анализът на данните, базиран на WGS, може да предостави информация за определяне на таксономичните щамове, както и за характеризирането на техните потенциални функционални характеристики, пораждащи безпокойство (напр. фактори на вирулентност, резистентност към антимикробни средства от клинично значение за хората и животните, производството на известни токсични метаболити).

Минималният набор от информация, която трябва да се представи за оценката на риска за анализа на данните, основаващи се на WGS и WGS-базирани методи, може да бъде намерен на горепосочените документи. Понастоящем отговорността на оценителя на риска (ЕОБХ и/или държавите членки) е да оценява работата, свършена от заявителите, и да оцени подадените данни. Отговорност на заявителя е да извърши пълния геномен секвентен анализ и биоинформатичния анализ след това на оценявания микроорганизъм и цялата тази налична информация се преразглежда от органа за оценка на риска. Така организирани отговорностите би следвало да позволят извършването на оценка на риска по научно обоснован и хармонизиран начин, и да може да се направят изводи за идентифицирането и характеризирането на микроорганизмите, влагани в храните.

Едно от изискванията към заявителите е да изготвят технически досиета за оценката на риска в съответствие с изискванията, определени в приложимата регулаторна рамка и/или съответните ръководни документи. Посочените по-долу изисквания се прилагат само за случаите, в които е необходимо да се представи анализ на данните от WGS за оценката на риска, както е установено в приложимата регулаторна рамка и/или ръководните документи.

Включените в документа микроорганизми включват бактерии, дрожди и нишковидни гъби. За заявления за други таксономични групи (напр. вируси, фаги, микроводорасли и др.) се прилагат същите принципи за всеки отделен случай.

Микроорганизмът/изпитаните/анализ следва да бъдат обект на заявлението за издаване на разрешение. Пробите, използвани за извличане на ДНК, секвениране, анализ на данни въз основа на WGS и докладваните резултати следва да съответстват на оценявания микроорганизъм/и и това трябва да бъде ясно посочено.

Всеки микроорганизъм трябва да бъде култивиран преди извличането на ДНК като чиста култура (за гъбички, където е възможно, следва да се използват моноспорови култури). Трябва да се приложи адекватен протокол/метод за екстракция на ДНК. Общата ДНК следва да бъде извлечена и подложена на анализ.

Следва да се докладва методът на изграждане на ДНК библиотеки, включително метод на фрагментиране на ДНК и подбор на фрагменти. Всеки подбор на фрагменти по размер следва да гарантира, че малките плазмиди не се губят. Следва да бъдат предоставени инструкции на производителя, включително номер на версията, както и всякакви отклонения от този метод.

Заявителят следва да опише стратегията за секвениране, използваните инструменти и всеки прилаган метод, когато е приложимо.

За технологиите за кратко четене (*short-read sequencing technologies*) е препоръчително да се отрежат последователностите, за да се избегне сглобяването/асемблирането на последователностите или така наречените *read mapping artifacts*, освен ако софтуерът за асемблиране не го предотвратява. Прилаганите критерии за отстраняване на адапторите, включително софтуера, версията и параметрите, следва да бъдат отчетени. Трябва да се определи референтен праг PHRED от най-малко 20 за подобряване на качеството, а броят на прочитите и общите последователности на базовите двойки преди и след рязането трябва да се докладват. Постигнатата средна дълбочина на четене трябва да бъде най-малко 30 пъти с препоръчителна цел 100 пъти.

Контаминацията на прочетените последователности трябва да бъде изследвана. Въмъкването на неочаквана секвенция трябва да бъде по-малко от 5%. Следва да бъдат предоставени използваният инструмент, софтуерната версия и всички параметри, използвани за откриване на контаминация и придружаващи резултати. Необходимо е да бъдат посочени базата данни, нейната версия (когато е налична) и/или дата на публикуване на секвенираните последователности.

Последователностите могат да бъдат сглобени *de novo* (*De novo assembly: to join sequencing reads into contigs without a reference sequence*) (и анотирани), сравнени с референтен геном/база данни, или двата подхода могат да се използват в комбинация. За бактериите трябва да се цели пълна геномна последователност, но може да бъде приета проектна последователност от генома.

Ако е възприет подход, базиран на *de novo* сглобяване, тогава се изискват следните данни:

- *De novo* сглобяването на генома, включително софтуер за асемблиране, версия и параметри. Ако се извършва обработка на секвенциите след асемблиране, следва да се докладва и подходът, софтуерът, версията и параметрите.
- Контиг последователности (*Contigs: Assembly of overlapping sequencing reads that make a contiguous consensus region of DNA*):
 - За секвенираните геноми, общ брой на контиг последователностите, произведени от асемблера: За бактерии, общо тези *contig* последователности трябва да бъдат < 500 и за дрожди и нишкови гъби < 1,000. Ако се създаде по-голям брой *contigs*, заявителят следва да представи обосновка.
 - Обща дължина на *contigs*: Заявителите следва да представят обосновка, ако техният размер на сглобяването не е в рамките на $\pm 20\%$ от очаквания размер на генома за видовете,
 - N50 метричност.
- За геноми на дрожди и нишкови гъби следва да се отчита броят на силно консервативните гени, като например BUSCO гени, присъстващи в сглобяването на генома, тъй като този параметър показва пълнотата и качеството на сглобяване на последователностите (<https://busco.ezlab.org/>). В идеалния случай > 90% пълно съвпадение на генен набор BUSCO от най-тясно свързаната група от дрожди/филаментозни гъбички трябва да присъстват в сглобяването на генома.

Ако се извърши анотация на генома, за да се предостави някоя от изискваната информация, следва да се докладват използваните софтуерни продукти, версия и параметри. Следва да бъдат посочени базата данни, версията (когато има такава) и/или дата на публикуване.

Съществува възможност да се използва четене на база референтен геном като алтернатива на *de novo* подхода или в комбинация с него, за характеризирание на микроорганизма. В този случай секвенцията трябва да бъде сравнена с референтен(и) геном/и от база данни.

Използване на данни за цялата геномна последователност за характеризирание на микроорганизма

Идентификация на микроорганизма

Следва да се предостави потвърждение за идентичността на оценявания микроорганизъм. Всеки оценяван микроорганизъм следва да бъде недвусмислено идентифициран, когато е възможно, на ниво видове.

- По отношение на бактериите идентичността на оценявания организъм следва да бъде установена чрез дигитална ДНК-ДНК хибридизация (*ddH; Auch et al., 2010a и b*), средна нуклеотидна идентичност (*ANI; Goris et al, 2007*) или

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136
<http://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg
 тел. 02/4273056



филогенетични анализи. Данните от оценявания микроорганизъм следва да се сравняват с референтния геном за очакваните видове. В случай че геномът на типовия щам не е наличен, като референция могат да се използват геномни последователности на друг добре идентифициран и охарактеризиран щам. За идентифициране на ниво видове *dDDH* следва да достигне > 70% идентичност, а ANI следва да достигне > 95% (*Chun et. al., 2018*).

- За дрожди и нишкови гъби, потвърдението на идентичността трябва да се извършва чрез филогенетичен анализ (напр. използването на конкатенация на няколко консервативни последователности (напр. *AFToL* гени, включително 18S *rDNA/ITS*), за да се създаде филогения спрямо наличните свързани геноми) или чрез приравняване към пълен референтен геном от същия вид микроорганизъм.

Следва да се посочи обобщение на метода и последователността, използвани за сравнение, както и резултатите от сравнението, включително идентичността на последователността (процент на идентичност със сравнения референтен геном). Препоръчва се филогенетично дърво, по-специално за таксони, където съществува високо ниво на идентичност между свързаните видове.

Ако за идентифициране се използва *de novo* подход, секвенциите следва да бъдат сравнени с подходящ(и) референтен(и) геном(и). Изборът на референтния(те) геном(и) трябва да бъде добре обмислен, обоснован и докладван. Използваният софтуер следва да бъде докладван, включително версията, както и всички параметри (ако се използват параметрите по подразбиране, това следва да бъде посочено).

Генетични модификации

Характеризирането на генетичните модификации може да бъде направено чрез сравняване на данните от WGS за генетично модифицирания микроорганизъм (*GMM*) с тази на негенетично модифицирания референтен геном (родителски или реципиентен щам). *De novo* асемблирането или други стратегии за четене могат да бъдат използвани. За изтривания и малки модификации (напр. регулаторни елементи) за други генетични модификации може да се използва подход за асемблиране *de novo* или комбинация от двете стратегии.

Последователностите и методологията, използвани за анализи и сравнение, следва да бъдат подробно описани. Въз основа на сравняването между ГМО и референтния геном следва да се характеризира действителната генетична модификация. Тези подравнения следва да бъдат предоставени. На карта или графично представяне следва да се предоставят всички инсерции, делеции и замествания, открити в генетично модифицирания щам, включително кодиращите и не кодиращите последователности (напр. промотори, терминатори), заедно с тяхното описание.

Някои заявления за ГМО микроорганизми, които предстои преднамерено да бъдат освобождавани в околната среда, са обхванати от Директива 2001/18/ЕО. За този вид микроорганизми са необходими данни за стабилност на генетичната модификация. В тези случаи заявителите следва да предоставят данни.

Идентифициране на гените, които пораждат потенциален проблем

Данните от WGS могат да бъдат анализирани за наличие на гени, пораждащи потенциална загриженост, които могат да включват гени, кодиращи резистентност към антимикробни средства (предназначени за употреба във ветеринарната и хуманната медицина), както и други гени, кодиращи вирулентност, патогенност и/или токсигенност.

Сглобената последователност *de novo* може да бъде анализирана с подход, базиран на търсене/сравняване спрямо поддържаните бази данни и резултатите следва да бъдат представени в таблица. За всеки отчетен резултат следва да се предоставят подравнената последователност (т.е. последователността в базата данни) име и номер на публикуване, функция на кодиращия протеин, идентичност на последователността и процентната дължина на секвенцията, която е обхваната.

Ако се използва референтен подход за картографиране, секвенционните последователности следва да се сравняват с поддържаната референтна база данни. Следните статистически данни следва да бъдат докладвани заедно с наименованието на секвенцията и публикуването и функцията на кодиращия протеин: последователност идентичност, средната дълбочина на четене и процентната дължина на последователността, която е обхваната от рамката на четене. Като референтен праг трябва да се използва минимална 5x средна дълбочина на четене по цялата последователност.

Следва да се отчитат стратегията, софтуера и всички съответни параметри (включително алгоритъмът, ако е посочен в софтуера), използван за идентифициране на гените, които са обект на интерес. Следва да бъдат предоставени базата данни, версията (когато е налична) и/или датата на публикуване на получената секвенция в базата данни.

Антимикробна резистентност

Когато се изисква търсене на гени за антимикробна резистентност (AMR), се препоръчва то да бъде проведено спрямо поне две референтни общопризнати бази данни. Търсенето следва да се извърши при прилагане на минималния праг в базата данни за дължината на секвенциите. В допълнение, в случай на микроорганизми, за които липсват или има малко AMR гени в базите данни, се препоръчва търсене с инструментите от модел *Hidden-Markov*.

Като цяло следва да се отчитат последователностите с най-малко 80% идентичност (на ниво на протеин или нуклеотид, както е докладвано в базата данни) и 70% дължина на анализирания секвенция. В случай, че се открият два или повече фрагмента, обхващащи по-малко от 70% дължина от анализирания последователност с най-малко 80 % идентичност на един и същ AMR ген, те следва да бъдат докладвани и следва да се провери дали е налице пълната гена последователност.

Токсигенност и патогенност

В зависимост от таксона, оценката може да изисква търсене на гени, кодиращи известни фактори на вирулентност (напр. токсини, инвазивност и фактори на адхезия) или за идентифициране на наличието/отсъствието на известни метаболитни пътища, участващи в токсигенността. Търсенето следва да се извърши при прилагане на минималния праг в базата данни за дължината на покритието.

Като цяло следва да се отчитат секвентни последователности в списъка от секвенции за сравняване с най-малко 80% идентичност (на ниво на протеин или нуклеотид, както е предвидено в базата данни) и 70% от дължината на секвенираната изследвана последователност.

В случай, че се открият два или повече фрагмента, покриващи по-малко от 70% дължината на анализирания последователност с най-малко 80% идентичност на един и същ ген, те следва да бъдат докладвани и следва да се провери дали е налице пълната генна последователност.

Предоставяне на необработени данни и стандартни формати на данни:

Необработените данни от WGS следва да се представят в съответните стандартни формати, както е посочено по-долу.

- Секвенираните последователности и подравнените прочити, когато е приложимо, следва да се представят във формат *FASTQ* или еквивалентни формати, компресирани или не (напр. *gzip*), сдвоени или единични краища,
- Сглобените последователности могат да бъдат представени във формат *FASTA* (напр., **.fasta*),
- Поддържаните формати за анотации са формат *GFF (*.gff)*, *GenBank* формат (**.gbff*, **.gbk* и **.gbb*), *Tabular* формат (**.csv*) и *Sequin ASN.1* на *NCBI (*.sqn)*,
- За характеризиране на генетичната модификация, подравняването следва да бъде представено във формат *Sequence Alignment/Map (SAM)*, или *Binary Alignment/Map format (BAM)* (*Li et al., 2009*) или подобни файлови формати.

Списъкът на съответните данни и информацията, която следва да бъде докладвана в тези данни, могат да бъдат намерени в приложение А на документът на ЕОБХ „*EFSA statement on the requirements for whole genome sequence analysis of microorganisms intentionally used in the food chain*“.

Други референтни документи, свързани с пълния геномен секвентен анализ:

- Окончателен доклад на ENGAGE – Внедряване на секвенирането от ново поколение за геномен анализ в Европа (*Hendriksen et al., 2018*),
- Научен колоквиум на ЕОБХ 24 – Омикс технологиите в оценката на риска: настоящо положение и следващи стъпки (*EFSA, 2018*),

- Окончателен доклад на INNUENDO: Междусекторна платформа за интегриране на геномиката в наблюдението на патогените, предавани от храни (*Llarena et al., 2018*),
- Технически доклад за предоставяне на техническа подкрепа при събирането и анализа на данни за пълно геномно секвениране в съвместната база данни за молекулярно типизиране на *ECDC-EFSA (ECDC и EFSA, 2019)*,
- Технически спецификации за хармонизиран мониторинг на антимикробната резистентност при зоонозни и индикаторни бактерии от продуктивни животни и храни (*EFSA, 2019*),
- Самостоятелно целогеномно секвениране и метагеномен секвентен анализ за проучване на огнища, определяне на източника и оценка на риска от микроорганизми, предавани от храни (*EFSA BIOHAZ Panel, 2019*)

Заявителите могат също да се консултират и с *EURL-JRC* за представяне на ДНК последователностите, получени от генетично модифицирани организми, и свързаните с тях анотации в рамките на Директива 2001/18/ЕО и Регламент (ЕО) № 1829/2003 на ЕС, 2016.

Освен това през 2018 г. експертният съвет на ГМО панела публикува технически насоки относно качеството на ДНК последователностите за молекулярна характеристика на генетично модифицираните растения (*GMO Panel, 2018*).

Заклучение:

Пълния геномен секвентен анализ на микроорганизмите (WGS) е сравнително нов молекулярен метод за таксономична идентификация на микроорганизми (бактерии, гъби и дрожди) и техните производни вещества както и за охарактеризиране на техните потенциални функции. ЕОБХ е уведомен, че секвенирането на целия геном е нов инструмент и представлява предизвикателство за ДЧ по отношение на липсата на установени стандартни оперативни процедури и добри лабораторни практики при прилагането на този метод и липсват насоки за приложението и употребата на данните получени от WGS в оценката на микробиологичния риск и охарактеризирането на микроорганизмите, вложени в хранителната верига. Поради това ЕОБХ изготви такова ръководство след проведеното през 2020г. обществено обсъждане със заинтересованите страни и бизнес операторите, които желаят да извършват този анализ. Публичното обсъждане получи подкрепа от 37 международни организации, сред които Международната асоциация за пробиотици (*International Probiotics Association*), *IPA Europe*, европейска асоциация на биоиндустрията (*EuropaBio –the European Association for Bioindustries*), международна асоциация за контрол на производителите (*IBMA - International Biocontrol Manufacturers Association*) и международната асоциация на производителите.

Изготвеният ръководен документ съдържа насоки за екстракция на микроорганизми, секвентен анализ, контрол на качеството на данните, изграждане на

библиотеки, биоинформатичен анализ, асемблиране на геноми, идентифициране на микроорганизми и докладване на обработените данни.

George Paraskevacos, изпълнителен директор на международната асоциация по пробиотици (IPA), изказва мнение, че „тези насоки са модерен подход в изготвяне на оценка на безопасността и оценка на риска и трябва да реши проблемите с идентифицирането на микроорганизмите веднъж завинаги“. В интервю за „*Nutraingredients*“ *George Paraskevacos* изказва мнение, че инициативи като тази са само в полза на всички заинтересовани страни, включително потребителите, регулаторните органи и индустрията.

„Единственото притеснение може да бъде изискването за предоставяне на акуратни и точни данни за геномните последователности, които в случая за повечето сегашни пробиотични щамове са вече секвенирани и публикувани, но могат да бъдат различни, когато става въпрос за следваща генерация пробиотици или в случаите, когато микроорганизмите се използват като производствени организми.“

"The only apprehension can be the requirement to provide the actual sequence data, which in the case for most current probiotic strains have had their genomes already sequenced and published but may be different when it comes to next gen probiotics or in cases where microbes are utilised as production organisms."

Antonio del Casale, главен изпълнителен директор и съосновател на италианската биотехнологична фирма Microbion заяви че този документ на ЕОБХ е от решаващо значение за качеството на WGS и употребата на този метод в оценката на безопасността на микроорганизмите.

„В наши дни секвенирането на генома може да бъде много евтино, но нискокачествените входни данни могат да доведат до безсмислени или подвеждащи резултати. Биоинформатичният анализ е много важна стъпка. Изборът на еталонните ДНК последователности и референтните геноми както и строгостта на параметрите на заявката могат да повлияят на крайните резултати с фалшиво положителни или неверни отрицателни резултати. Биоинформатиката може да бъде трудна, особено ако някой има за цел да скрие нежелани гени като вирусни гени или такива, кодиращи антибиотична резистентност и ниското качество на секвениране може да не ги открие. Нашият стандарт за качество е да достигнем напълно сглобена геномна последователност (или много близка до нея), дори ако това не е изрично изискване на ЕОБХ. Пълният секвениран геном може да предостави информация за неговата структура, а не само за наличието или липсата на конкретни гени. Това може да бъде използвано за сравнение между различни щамове, може да бъде средство за оценка на стабилността на генома и може да детектира събития на хоризонтален генен трансфер. По мое мнение следващото предизвикателство е да се определят по-високи стандарти в контрола на качеството на продукта като се изисква от производителя да развие щамово специфична количествена диагностика.“

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136
<http://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg
тел. 02/4273056



"Nowadays genome sequencing can be very cheap but low quality input data can result in meaningless or misleading results. Bioinformatic analysis is a very important step. The choice of the reference DNA sequences and reference genomes as well as the stringency of the query parameters can affect the final results with false positive or false negative results. Bioinformatics can be tricky especially if someone aims to hide unwanted genes, such as viruses or antibiotic-resistance genes, and low quality sequencing may not detect them.

"Our quality standard is to reach the completely assembled genome sequence (or very close to it) even if this is not an explicit EFSA requirement. The complete assembled genome can provide information also of its structure, not only the presence or absence of single genes. This can then be employed for a robust comparison with other strains, can be a means for genome stability assessment, and can spot events of horizontal gene transfer.

"In my opinion the next challenge is to set higher standards in the product quality control, requesting manufactures to develop strain specific quantitative diagnostics."

Използвана литература:

- EFSA statement on the requirements for whole genome sequence analysis of microorganisms intentionally used in the food chain - European Food Safety Authority (EFSA)
- <https://www.nutraingredients.com/Article/2021/03/19/EFSA-guidelines-solve-identification-issues-in-whole-genome-sequencing>
- INNUENDO: A cross-sectoral platform for the integration of genomics in the surveillance of food-borne pathogens - Ann-Katrin Llarena et al.
- Global monitoring of antimicrobial resistance based on metagenomics analyses of urban sewage - Rene S. Hendriksen et al.
- <http://microbion.it/en/service-2/>
- <https://internationalprobiotics.org/infographics/>

Изготвил:

Красимира Захариева

Главен експерт в дирекция ОРХВ, ЦОРХВ

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136
<http://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg
тел. 02/4273056

гр. София, 1618, бул. "Цар Борис III" № 136
<http://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg
тел. 02/4273056

Ф-НК-7.6-5/0

