



МИНИСТЕРСТВО НА ЗЕМЕДЕЛИЕТО, ХРАНИТЕ И ГОРИТЕ ЦЕНТЪР ЗА ОЦЕНКА НА РИСКА ПО ХРАНИТЕЛНАТА ВЕРИГА

АКТУАЛИЗИРАНЕ НА СПИСЪКА С БИОЛОГИЧНИ АГЕНТИ, препоръчани за прилагане на подхода QPS¹, при влагането им в храни или фуражи към септември, 2020 г.

РЕЗЮМЕ

Подходът „квалифицирана презумпция за безопасност“ (QPS) е създаден като механизъм, който се прилага при актуализиране на общата предварителна оценка за безопасност на биологични агенти, предназначени за добавяне към храни или фуражи.

Оценката е приложима към работата на научните панели на Европейския орган по безопасност на храните (European Food Safety Authority - EFSA) и се основава на периодично (през 6 месеца) разглеждане на новопубликувани данни за всеки агент, когато те касаят таксономична идентичност, придобити нови знания за агента, установени нови проблеми с безопасността и с антимикробната резистентност.

Наличие на проблеми с безопасността, идентифицирани за определена таксономична единица (TU – Taxonomic Unit), следва да се потвърждават, когато това е възможно, **на ниво щам или продукт**. Когато е приложимо, промените се отразяват чрез съответстваща „квалификация“. Квалификацията за определена TU остава същата при текущото оценяване, при условие, че не е установено наличие на нова информация, която налага промени.

От **36** микроорганизми, за които EFSA е била уведомена, за периода от април до септември 2020 г., **33** са отхвърлени; **7** нишковидни гъби (включително *Aureobasidium pullulans*) са преразгледани въз основа на промяна в разбирането за таксономичната им принадлежност, **1** *Clostridium butyricum*, **1** *Enterococcus faecium*, **3** *Escherichia coli*, един *Streptomyces spp.* и **20** TU, са оценени на предварителен етап за обновяване на списъка QPS.

В рамките на последната актуализация са оценени:

Methylobacterium extorquens и *Mycobacterium aurum* са оценени за пръв път, а за *Bacillus circulans* е направена преоценка. *M. extorquens* и *M. aurum* не се препоръчват за статут на QPS поради липса на достатъчен набор от знания във връзка с употребата в хранителната или фуражната верига и *M. aurum*, поради висока несигурност по отношение на патогенен потенциал.

B. Circulans е препоръчан за придобиване на QPS статут с квалификация „само за производствени цели“ и „липса на цитотоксична активност“.

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Европейският орган за безопасност на храните е поискал от Панела по биологични опасности (BIOHAZ) на EFSA, да представи научно становище относно поддържане на списъка „квалифицирана презумпция за безопасност“ (QPS). Списъкът съдържа биологични агенти, добавяни към храни и фуражи, които имат QPS статут. Искането включва **три конкретни задачи**, както е посочено в техническото задание (ToR – terms of reference).

¹ QPS (qualified presumption of safety – квалифицирана презумпция за безопасност).

Първото задание към Панела BIOHAZ изисква актуализация на списъка на биологичните агенти, които са обект на техническо досие за оценка на безопасността, получени от EFSA.

Преди настоящата актуализация, списъкът² е актуализиран към март, 2020 г. От тогава, EFSA е получил:

- 36 уведомления, от които 22 са предложени за оценка във фуражи;
- 4 за използване като хранителни ензими, хранителни добавки и ароматизанти;
- 7 като нови храни;
- 2 като продукти за растителна защита;
- 1 като генетично модифициран организъм.

Новите уведомления, (април - септември 2020 г.), фигурират в Приложение [F](#).

Второто задание се отнася до преразглеждане на TUs, препоръчани преди това за вписване в QPS списъка с техните квалификации. За тази цел са оценени статии, публикувани от януари до юни 2020 г. (за протисти (първаци) / водорасли от януари 2019 г. до юни 2020 г.). Статиите са намерени и оценени при съблюдаване на **обширен протокол за търсене на литература (ELS)**³ и **стратегии за търсене** в Приложение [C](#)⁴. Панелът BIOHAZ прави заключение, че липсва открита нова информация, която да повлияе на QPS статута на тези TUs или тяхната квалификация.

Третото задание изисква (пре) оценка на новите TUs, за които EFSA е уведомена, за оценка за евентуално включване в актуалния списък на QPS – Knowledge Junction в Zenodo⁵.

Три от получените 36 уведомления, съответстващи на три TUs, са оценени за възможен QPS статут; две от тях (*Methylobacterium extorquens* (известни и нотифицирани като *Methylobacterium extorquens* и *Mycobacterium aurum*) са разгледани за пръв път. *Bacillus circulans* е оценен отново.

Methylobacterium extorquens не се препоръчва за статут QPS поради липса на знания във връзка с употребата му в хранителната или фуражната верига;

Mycobacterium aurum не се препоръчва за QPS списъка поради липса на знания и несигурност относно патогенния му потенциал;

Bacillus circulans се препоръчва за QPS статут с квалификация „само за производствени цели“ и „отсъствие на цитотоксична активност“.

Останалите 33 уведомления са изключени от оценката за QPS статут по следните причини: 13 уведомления са свързани с микроорганизми, които обикновено са били изключвани от оценка за QPS статут (седем – за нишковидни гъби (включително *Aureobasidium pullulans*); едно от *Clostridium butyricum*, едно от *Enterococcus faecium*, три от *Escherichia coli*, една от *Streptomyces spp.*) и 20 са свързани с таксономични единици, които вече са имали QPS статут и не изискват допълнителна оценка.

² (<https://doi.org/10.5281/zenodo.3607184>)

³ (прил. В – <https://doi.org/10.5281/zenodo.4428668>)

⁴ (вж. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4428691>)

⁵ (<https://doi.org/10.5281/zenodo.4428353>, приложение E)

ВЪВЕДЕНИЕ

Как се тълкува заданието (ToR – Terms of Reference) според секторите и звената на EFSA, които засяга оценката:

ToR 1: Редовно актуализиране на списъка с биологични агенти, които са обявени за оценка на безопасната им употреба в рамките на подадените технически досиета в отделите на EFSA, като отделите по фуражи, пестициди, хранене и хранителни съставки и опаковки, и които са предназначени за директна употреба или като източници на добавки в хрании фураж, на хранителни ензими и на продукти за растителна защита.

ToR 2: Преглед на TU, вече препоръчани за включване в QPS списъка, преглед на квалификациите им, при налична нова информация.

ToR 3: (Пре) оценка на пригодността на нови таксономични единици, за които EFSA е уведомен, за включването им в QPS списъка. Искането за включване в QPS списъка е направено от отделите на EFSA по фуражи, пестициди, хранене и хранителни съставки и опаковки.

ДАНИ И МЕТОДОЛОГИЯ

Данни

Литературният преглед, който обхваща идентификация, потенциални съмнения за безопасност и за придобита антимикробна резистентност (AMR) се извършва чрез преглед на бази данни, като: PubMed, Web of Science, CAB Abstracts или Food Science Technology Abstracts (FSTA) и Scopus. Подробности за стратегията за търсене, ключовете за търсене и подхода са описани в Приложение [А](#).

Методология

Методологията е свързана с търсене на изчерпателна информация за агентите.

Мониторинг на агенти с QPS статут, проблеми с безопасността

Въпросът касае преразглеждане на TUs, които са били препоръчани за QPS статут. Проведено е литературно проучване, което е описано в раздела „Обобщена информация“.

Предварителен скрининг на проучванията е проведен, като са използвани функционалните възможности на изкуствен интелект – *Artificial Intelligence (AI)*, при *Bifidobacterium* spp., *Carnobacterium divergens*, *Lactobacilli*, *Lactococcus lactis*.

Търсена допълнителна важна информация и данни:

- установени негативни въздействия при засегнати лица с имуен дефицит, който благоприятства инфекции с условно патогенни микроорганизми;
- данни за предаването чрез храна или по други пътища, когато такива са описани (напр. чрез медицински изделия);
- наличие на фактори на вирулентността (токсини и ензими, които може да окажат патогенен потенциал) в TUs.

Някои от QPS-TU са докладвани рядко като причиняващи инфекции при лица с установено предразположение към опортюнистични инфекции, например сърдечно-съдови състояния, благоприятстващи ендокардити; малки деца или възрастни хора или други състояния, които имат потенциал да повлияят негативно на имунната система, като пациенти, подложени на трансплантация или на онкологично лечение, страдащи

от физически травми или увреждане на тъканите или HIV-позитивни пациенти), както и състояния на стомашно-чревния тракт, съпроводени с увреждане на лигавицата. При много от тези случаи, за оценяваните микроорганизми се съобщава за предишната им употреба като хранителни добавки за хора. Жизнеспособен микроорганизъм, използван като хранителна добавка, не попада в обхвата на оценката на QPS. Въпреки това, при QPS оценката се вземат предвид тези доклади, като се използва полезната информация, при необходимост.

След премахване на повтарящите се заглавия, на първоначален преглед са подложени общо 1 723 публикации, от които 1 609 са изключени. Останалите 114 записа са признати за допустими като заглавия, но след преглед на резюметата са изключени още 57. От останалите 57 статии, които преминават етапа на оценка на пълния текст на публикацията, само за 21 се приема, че докладват за възможни проблеми относно безопасността и са допълнително анализирани .

ОЦЕНКА

Стратегията за търсене (ключови думи, литературни бази данни, брой намерени статии), следвана за оценка на годността на ТУ, нотифицирани на EFSA за включването им в актуализирания списък на QPS (отговор на ToR 3), е описана в приложение [А](#).

Таксономични единици, подложени на повторна QPS оценка в настоящия документ на EFSA

БАКТЕРИИ

Bacillus circulans

Идентичност

Bacillus circulans е валидно видово наименование със статут в номенклатурата (Skerman et al., 1980), принадлежащо към рода *Bacillus*. Това е факултативна анаеробна, подвижна, грам-положителна, образуваща ендоспора бактерия с форма на пръчица.

Общи познания

По-голямата част от публикациите се отнасят до ензими за производство или модифициране на полизахариди, използвани в храни, като гликозидаза, галактозидаза, маназа и хитиназа (Walia et al., 2017; Tanaka et al., 2018, Itoh and Kimoto, 2019; Yano et al., 2019). Една публикация съобщава за използването на щамове *B. circulans* като пробиотик при риби (Singh et al., 2019) и две статии съобщават за използването на спори за контрол на стомашно-чревни нематоди при овце и говеда (Sinott et al., 2016; Pinto et al., 2017).

Съмнения за безопасността

Alebovych и сътр. (2011) съобщават за случай на **фатален сепсис**, причинен от щам *B. circulans* при имунокомпрометиран мъж с анамнеза за инфекции на пикочните пътища. Sanyal и сътр. (2015) описва недиабетна инфекция на стъпалото при 60-годишен мъж с недохранване, причинена от хемолитично-позитивен щам *B. circulans*. Таксономичната идентификация на изолатите и в двата документа е

направена с помощта на фенотипни тестове и анализ на 16S rRNA генната последователност.

Заклучение относно препоръка за QPS списъка

V. circulans е широко проучен като продуцент на ензими с потенциално приложение за добавки в храните се препоръчва за включване в QPS списъка с квалификацията „само за производствени цели“ и „липса на цитотоксична активност“.

ДРОЖДИ

Aureobasidium pullulans

Aureobasidium pullulans е оценен за QPS статут (като дрожди) през 2009 г. и е снетен за неподходящ за включване в списъка на QPS. Този вид е изключен от по-нататъшна оценка на QPS въз основа на съвременното разбиране за таксономия (вижте подробности в раздел [3.4](#)).

ТАКСОНОМИЧНИ ЕДИНИЦИ, ОЦЕНЯВАНИ ЗА ПРЪВ ПЪТ

БАКТЕРИИ

Methylobacterium extorquens

Идентичност

Methylobacterium extorquens е TU с определен статут в номенклатура. Щамовете, които принадлежат към род *Methylobacterium*, имат грам-отрицателна клетъчна стена и образуват наситено розови/червено-оранжеви колонии (благодарение на пигмента **оксокаротеноид**), върху среда с метанол като единствен въглерод и енергиен източник. Съдържанието на G + C в ДНК е 65,8–71,8 mol%. Родът *Methylobacterium* споделя много общи черти с рода *Methylobacterium*.

Познания

M. extorquens е изолиран от околната среда (почва, вода и др.) Произвежда разнообразни продукти с различни характеристики от метанол и е добре проучен като микроорганизъм с приложение в биотехнологията; има ограничена информация за употребата му в хранителната и във фуражната верига (прегледано от Ochsner et al., [2015](#)). Проучените изследвания съобщават за производството на химикали в насипно състояние, като полихидроксил-каноати и аминокиселини, фини химикали⁶ като киселини, получени посредством етилмалонил-КоА и протеини като едноклетъчни протеини (биомаса), инсектициди, **бактериоцини** и зелен флуоресцентен протеин.

Проблеми с безопасността

Съобщени са **случаи на инфекции** с *M. extorquens* при имунокомпрометирани пациенти (Kaye et al., 1992; Engler and Norton, 2001; Kovaleva et al., 2014). Вътреболничните инфекции се благоприятстват от способността му да образува биофилми и колонии върху медицински изделия (Kovaleva et al., 2014).

Аспекти на антимикробната резистентност

⁶ Фини химикали – единични, чисти и сложни химикали, които се произвеждат само в малки количества от многофункционални предприятия. Повечето фирми произвеждат химикали на едро, използвайки стандартизирани реакции. Фините химикали, от друга страна, се произвеждат от ограничен брой компании. Те са разделени на три основни форми: биоциди, активни фармацевтични съставки и специални химикали. Химикалите никога не се продават в естественото им състояние. Преди това са добавени вещества като нетворни пигменти, помощни вещества и разтворители.

Съобщава се, че щамовете на *M. extorquens* са устойчиви на хинолони (Kim et al., 2005).

Заключение относно препоръка за QPS списъка

M. extorquens не се препоръчва за QPS статут поради липса на данни във връзка с употребата му в хранителни или фуражни вериги.

Mycobacterium aurum

Идентичност

Mycobacterium aurum е установено таксономично наименование в номенклатурата (Nouioui et al., 2018): разред Actinomycetales, подразред Corynebacterineae и семейство Mycobacteriaceae. Видът има валиден синоним *Mycolicibacterium aurum* (Gupta et al., 2018).

Познания

Наличната информация касае използването на този вид като неинфекциозен сурогатен модел на *Mycobacterium tuberculosis*. Налична е ограничена информация за екологичните аспекти на този вид и няма данни за присъствието на този организъм в хранителната верига. Поради своята свързаност с *Mycobacterium tuberculosis* и побързия растеж, този вид е бил използван за скрининг на ефектите на новите противотуберкулозни съединения.

Проблеми с безопасността

Видът е свързан с инфекции при имунокомпрометирани пациенти (Esteban et al., 1998; Koranyi and Ranalli, 2003; Martín-Aspas et al., 2008) и с кератити (Honarvar et al., 2012), цитирано в доклади, при които за идентичност са използвани бактериални методи, които се разпознават като такива, при които видовете *Mycobacterium* може да бъдат идентифицирани неправилно (Tortoli, 2014).

Няма доказателства да произхожда от храна.

Заключение относно препоръка за включване в QPS списъка

Mycobacterium aurum не може да бъде препоръчан за QPS списъка, поради липса на знания и поради несигурност по отношение на патогенния му потенциал.

Мониторинг при новооткрити проблеми с безопасността, свързани с организмите, включен в QPS списъка

Тук са представени обобщения от оценката на възможните проблеми относно безопасността за хора, животни или околна среда, описани и публикувани след предходната литературна справка (т.е. статии, публикувани между януари и юни 2020 г. и за протиста – първаци/водорасли от януари 2019 г. до юни 2020 г.), както е описано в Приложения [В](#) и [С](#) с позоваване на статиите, избрани като потенциално подходящи за QPS (Приложение [D](#)) за всеки от TU или групите TU, които са част от QPS списъка (Приложение [E](#)).

ГРАМ-ПОЛОЖИТЕЛНИ НЕСПОРООБРАЗУВАЩИ БАКТЕРИИ

Bifidobacterium spp.

*В резултат от търсене на подходящи статии, като потенциално съответни за *Bifidobacterium spp.* са намерени общо 199 препратки. При спазване на протокола за търсене, на последна стъпка е идентифицирана само **една статия** (Sirichoat et*

al., [2020](#)), която е свързана с проблеми по отношение на безопасността, но и тя не е приета като подходяща, тъй като описва антимикробната резистентност на *Bifidobacterium* сред други млечнокисели бактерии от човешката вагина, характеристика, обхваната от общите квалификации за бактериите „отсъствие на антимикробна активност“.

Въз основа на наличните доказателства, QPS състоянието на *Bifidobacterium spp.* не се променя.

Carnobacterium divergens

Търсенето на статии, потенциално подходящи за *Carnobacterium divergens*, е открило 14 препратки. Нито една статия не е приета като подходяща на нивото на скрининг на заглавието за този ТУ.

Следователно, QPS състоянието на *C. divergens* не се променя.

Corynebacterium glutamicum

В резултат от търсенето на статии, потенциално свързани с оценката на QPS на *Corynebacterium glutamicum*, са намерени 23 препратки. Една статия е достигнала ниво „заглавие и резюме“, но не е достигнала пълна оценка на текста.

Следователно не са установени нови проблеми с безопасността, поради което QPS състоянието на *C. glutamicum* не се променя.

Лактобацили

Родът *Lactobacillus* наскоро е разделен на 25 рода (Zheng et al., [2020](#)); 37-те вида, които имат QPS статут, са разпределени в 13 от тези родове. Търсенето на документи, които биха могли да повдигнат въпроси по отношение на безопасността, е извършено, при използване както на предишните, така и новите имена: намерени са общо **566 препратки**. Пълният преглед идентифицира **три** статии с надеждни процедури за идентификация на микроорганизми. Два от докладите описват случаи на **бактериемия** (Chiang et al., [2020](#); Sendil et al., [2020](#)), докато третият е на **ендокардит** (Campragne et al., [2020](#)). И в трите случая са регистрирани предразполагащи условия за инфекции, причинени от условно патогенни агенти. Chiang et al. ([2020](#)) описва случая на недоносено момиче (родено чрез цезарово сечение на 26 седмица от бременността), на което е поставен централен катетър и е бил приложен *L. rhamnosus* GG (5×10^8 cfu / ден) за профилактика на некротизиращ ентероколит (**кръвни култури са възпроизвели щам, идентичен на пробиотика**). Sendil et al. ([2020](#)) описва бактериемия при 75-годишен мъж, получил бъбречна трансплантация няколко години преди това, която показва признаци на отхвърляне въпреки обширната имуносупресивна терапия. Свързаните съпътстващи заболявания включват диабет тип 2, хипертония, инсулт и коронарна недостатъчност. И накрая, Campragne et al. ([2020](#)) описва ендокардит при мъж на средна възраст, който е претърпял предишна операция на вътрепредсърдна комуникация и има обширен зъбен кариес.

Въз основа на наличните нови доказателства, QPS състоянието на видовете, включени преди това в рода *Lactobacillus spp.* и сега принадлежащи към някой от продуциращи родове, не се променя.

Lactococcus lactis

При търсенето на документи, потенциално свързани с QPS статута на *Lactococcus lactis*, са намерени 146 препратки. Скринингът на заглавия и резюмета е намалил броят им на 2, които се отнасят до вероятни съмнения за безопасността. И двете са изключени, тъй като процедурите за идентификация не са били определени като надеждни.

Въз основа на наличните доказателства, както е описано по-горе, QPS статутът на *Lactococcus lactis* не се променя.

Leuconostoc spp.

При търсенето на документи, потенциално подходящи за QPS оценката са намерени 53 препратки, но нито една от тях не се отнася за проблеми с безопасността.

Следователно, QPS състоянието на *Leuconostoc spp.* не се променя.

Microbacterium imperiale

При търсенето документи, потенциално подходящи за QPS оценката на QPS *Microbacterium imperiale*, не са били намерени резултати.

Следователно, QPS статутът на *M. imperiale* не се променя.

Oenococcus oeni

При търсенето на статии, потенциално подходящи за оценката на QPS на *Oenococcus oeni*, са намерени 34 препратки. Анализът на заглавията е оставил една статия, която обаче не е разгледана допълнително, поради неприложимост към безопасността.

Следователно, QPS статутът на *O. oeni* не се променя.

Pediococcus spp.

Търсенето на статии, потенциално подходящи за QPS оценката на *Pediococcus spp.* е дало резултат за 164 препратки. Нито една статия не е достигнала етапа на оценка на пълния текст.

Следователно, QPS статутът на *Pediococcus spp.* не се променя.

Propionibacterium

Търсенето на статии, потенциално подходящи за QPS оценката на *Propionibacterium spp.* е дало резултат за 22 препратки. След анализ на заглавията, не са избрани статии за скрининг на заглавие / резюме или фаза на пълна оценка на статията; не са установени нови опасения за безопасността.

Следователно, QPS статутът на *Propionibacterium spp.* не се променя.

Streptococcus thermophiles

Търсенето на документи, потенциално подходящи за QPS оценката на *Streptococcus thermophilus*, открива 50 препратки. Анализът им показва, че нито една не се отнася до проблеми с безопасността.

Следователно, QPS статутът на *S. thermophilus* не се променя.

ГРАМ-ПОЛОЖИТЕЛНИ СПОРООБРАЗУВАЩИ БАКТЕРИИ

Бацили

В резултат от търсенето на статии, потенциално подходящи за бацили, са получени 739 препратки. Анализът на заглавията е оставил **18 статии**, от тях

девет статии са предложени за преглед на пълния текст и допълнителен анализ. **Шест** статии не разглеждат проблемите на безопасността.

Проучване на Vog et al. (2020) описва резултатите от *in vitro* тест за патогенност на щам *B. licheniformis*. Намерени са методологични проблеми по отношение на идентифицирането на щама, използван е невалидиран *in vitro* тест за патогенност с много висока бактериална плътност. Статия на Farhan et al. (2020) съобщава за изолирането на щам *B. subtilis* във връзка с мастит. Тук също са намерени методологични проблеми по отношение на идентифицирането на щама. Изследване на Mohkam et al. (2020) има допуснати методологични несъответствия и стига до слаби и невъзпроизводими PCR резултати. Съобщава се за слаба хемолиза и цитотоксичен ефект на щам *B. subtilis*, възможни са проблеми, което е отразено в QPS квалификацията за бацили, като е посочено: „липсата на цитотоксична активност“.

Преледът на EFSA на наличната научна литература не идентифицира информация, която би променила статута на бацилите, включени в QPS списъка, и потвърждава квалификацията „отсъствие на цитотоксичност“.

Geobacillus stearothermophilus

Търсенето на статии, потенциално подходящи за *Geobacillus stearothermophilus*, показва **407 препратки**. Нито една не касае въпросния вид.

Следователно, QPS статутът на *G. stearothermophilus* не се променя.

Pasteuria nishizawae

Търсенето на статии, потенциално подходящи за QPS оценката на *Pasteuria nishizawae*, не отчита нито една **референция**.

Следователно, QPS статутът на *P. nishizawae* не се променя.

ГРАМ-ОТРИЦАТЕЛНИ БАКТЕРИИ

Gluconobacter oxydans

Търсенето на документи, потенциално свързани с QPS оценката на *Gluconobacter oxydans* и *Xanthomonas campestris*, е показало **144 препратки**.

Нито един документ не достигна до последната фаза на подбор за тази таксономична единица.

Следователно, QPS статутът на *G. oxydans* не се променя.

Xanthomonas campestris

Както бе споменато по-горе, търсенето на документи, потенциално подходящи за QPS оценката на *Gluconobacter oxydans* и *Xanthomonas campestris*, е показало **144 препратки**. Нито един документ не е достигнал до фазата на оценяване за този TU.

Следователно, QPS статутът на *X. campestris* не се променя.

ДРОЖДИ

Намерени са **1015 препратки**. Едва **14** са от значение за QPS оценката, а в **10** са намерени съобщения за вероятни проблеми с безопасността.

Четири от проучванията не докладват пряко проблеми с безопасността. В две от тях са разгледани потенциалните фактори за вирулентност при дрожди

(Alves et al., 2020; Chakraborty et al., 2020), но не и връзката между тези фактори и действителната вирулентност. Zhai et al. (2020) включва QPS видовете *D. hansenii*, *K. marxianus* и *Y. lipolytica* след изчисляване на относителното многобройно потенциално патогенни гъби от данните за стомашно-чревна метагеномика, но не се съобщава информация дали тези видове са допринесли за инфекциите. Stavrou et al. (2020) съобщават нови данни за минимални инхибиторни концентрации на противогъбични лекарства за условно патогенни дрожди, сред които QPS видове са *D. hansenii*, *K. marxianus*, *W. anomalus* и *Y. lipolytica*. Тези данни може да послужат за тестване на квалификацията „отсъствие на антимикотична резистентност“ на QPS видове дрожди, използвани като жизнеспособни клетки.

За видовете *Candida cylindracea*, *Hanseniaspora uvarum*, *Kluveromyces lactis*, *Komagataella pastoris*, *Komagataella phaffii*, *Cyberlindnera jadinii*, *Ogataea angusta*, *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces pastorianus*, безопасност на *shizosaccharomyces dego*, не са докладвани проблеми с безопасността. Следователно, QPS-статутът им не се променя.

Следователно QPS статутът за тези видове не се променя.

Debaryomyces hansenii

Анаморфното име на *D. hansenii* е *Candida famata*.

Esteves и съпр. (2020) са получили 75 изолата дрожди от устната кухина на пациенти с диагноза хранителни разстройства в клиника в Сао Пауло, Бразилия. От общия брой изолати, 43 са идентифицирани чрез конвенционални микологични методи и MALDI-TOF. Два са идентифицирани като *C. famata*. Източникът в статията не е документиран коректно и идентификацията от MALDI-TOF не е допълнително потвърдена чрез молекулярни методи.

В заключение, актуализацията на литературата не показва информация, която да води до промени на QPS статута на *D. hansenii*.

Kluveromyces marxianus

Анаморфното име на *K. marxianus* е *Candida kefyr*.

Aboualigalehdari et al. (2020) характеризират изолати от дрожди, взети от орофарингеалния тракт на 201 заразени с ХИВ пациенти в Иран. От 127 изолати, получени от 88 от пациентите, три са идентифицирани като *K. marxianus*. Не е ясно обаче дали пациентите са били диагностицирани с кандидоза. В друго проучване (*Kord et al.*, 2020) са изследвани ретроспективно общо 137 кръвни изолати от 107 пациенти в две болници в Техеран. Пациентите са имали основни заболявания (белодробни заболявания, твърди/solid тумори или диабет). Два щамса са идентифицирани като *K. marxianus*. *Mirhendi et al.* (2020) са получили общо 235 щамса дрожди от различни телесни течности на деца, приети в педиатрично отделение за интензивно лечение в болница в Иран, с подозрение или документирана инвазивна кандидоза. Всички деца са били преждевременно родени и/или са имали основни заболявания. Три изолата са идентифицирани като *K. marxianus*. Определена е чувствителността към амфотерицин В, флуконазол, вориконазол, микафунгин и анидулафунгин. И накрая, *Pote et al.* (2020) съобщават, че три от 176 клинични изолати от дрожди от болниците в Индия са *K. marxianus*. Изследването обаче не съдържа клинична информация за изолатите. В проучването са сравнени ДНК

секвенирането на гена 28S rRNA с растеж върху хромогенна среда и MALDI-TOF с цел идентификация на дрожди. Използвайки секвенцията като отправна, MALDI-TOF се е оказала способна да идентифицира изолатите на *K. marxianus*, докато растежът върху хромогенна среда – не.

В заключение, в актуалната литература се споменава само изолирането на *K. marxianus* от пациенти, които са имунокомпрометирани и/или имат основно заболяване. Също така, са отбелязани методологични проблеми, свързани с идентифициране и приписване на източника.

Като извод, документите не идентифицират информация, която да промени QPS статута на *K. marxianus*.

Saccharomyces cerevisiae

Анаморфната форма на *S. cerevisiae* не е описана. Синоним на този вид е *Saccharomyces boulardii*.

Три препратки съобщават за опасения за безопасността на хората. Pote и сътр. (2020) сравнява три метода за идентификация на дрожди, растеж върху хромогенна среда, ДНК секвениране на 26S rRNA гена и протеинови профили, използвайки MALDI-TOF. Изводът е, че MALDI-TOF е в състояние да идентифицира често срещани видове, но ефективността му е ограничена за необичайни видове *Candida* или членове на необичайни родове. Предпочитаната методология е ДНК секвениране. Другите две статии, които описват клинични случаи на *S. cerevisiae*, се отнасят до 4-годишно момче с остра лимфобластна левкемия, проявяващо се с хепатоспленична инфекция с *S. cerevisiae* (Davies et al., 2020) и *S. cerevisiae* fungaemia при пациент с *Clostridium difficile* Асоциирана диария (Landaburu et al., 2020). Последният подчертава, че пробиотичното лечение на пациенти със сериозни стомашно-чревни разстройства трябва да бъде внимателно обмислено и проследено.

Тези нови доклади за *S. cerevisiae* не добавят нова информация, която би променила QPS статута на този вид.

Wickerhamomyces anomalus

Анаморфното име на *W. anomalus* е *Candida pelliculosa*.

Идентифицирани са две препратки, свързани с възможни опасения за безопасността на хората.

Vhaskaran и сътр. (2020) характеризира 80 клинични щама, от пациенти с диагностицирана *Candida* инфекция, от третична болница в Индия. Идентифицирането става чрез традиционни тестове за растеж и мултиплекс PCR, което не е обичайната техника, използвана за идентификация на дрожди, а четири от изолатите са докладвани като *W. anomalus*. В доклад за клиничен случай инфекцията с *W. anomalus* е отговорна за гъбичния артрит и е довела до необратимо унищожаване на ставите поради забавено диагностициране и лечение. Случаят не е свързан с храната; пациентът е била 75-годишна жена с 3-годишна анамнеза за проблеми с коляното и операция 32 месеца по-рано без противогъбично лечение (Song et al., 2020).

Актуализацията на литературата не идентифицира информация, която би променила QPS статута на *W. anomalus*.

Протисти/водорасли

Aurantiochytrium limacinum

Aurantiochytrium limacinum е член на Thraustochytriacea и се счита за протест.

Търсенето на документи, потенциално подходящи за QPS оценката на протестиводорасли, дава 202 препратки. Нито една статия не идентифицира възможни опасения за безопасността.

Следователно, QPS статута на *A. limacinum* не се променя.

Euglena gracilis

Търсенето на документи, потенциално подходящи за QPS оценката на протести/водорасли, дава 202 препратки. Нито една статия не идентифицира възможни опасения за безопасността.

Следователно, QPS статута на *E. gracilis* не се променя.

Tetraselmis chuii

Търсенето на документи, потенциално подходящи за QPS оценката на протести/водорасли, дава 202 препратки. Нито една статия не идентифицира възможни опасения за безопасността.

Следователно, QPS статута на *T. chuii* не се променя.

ВИРУСИ, ИЗПОЛЗВАНИ ЗА РАСТИТЕЛНА ЗАЩИТА

Alphaflexiviridae* и *Potyviridae

Търсенето на документи, потенциално подходящи за QPS оценката на вирусите на *Alphaflexiviridae* и *Potyviridae*, дава 24 препратки. Нито един документ не е достигнал до финалната фаза на подбор, поради което не е са намерени проблеми с безопасността.

Следователно текущият QPS статут остава непроменен.

Baculoviridae

Търсенето на статии, потенциално подходящи за оценката на QPS на *Baculoviridae*, дава 43 препратки. Нито една статия, занимаваща се с *Baculoviridae*, не е преминала скрининга на заглавието, поради което не е установено ново безпокойство за безопасността.

Следователно текущият QPS статут остава непроменен.

РАЗГРАНИЧЕНИЕ МЕЖДУ ДРОЖДИ И НИШКОВИДНИ ГЪБИ

Понякога липсва ясно разграничение между нишковидни гъби и дрожди. Това затруднява решението, дали даден организъм да бъде включен в списъка на тези, които отговарят на условията за QPS оценка и състояние (дрожди), или да остане извън него (нишковидни гъби).

В своето таксономично проучване Kurtzman et al. (2011) дефинират дрождите, така: „В обобщение, дрождите, независимо дали са аскомицети или базидиомицети, обикновено се характеризират с пъпкуване или делене като основно средство за безполово размножаване и имат състояния, при които се размножават полово чрез образувания, които не са затворени в плодни тела“. Това определение предполага, че не се очаква дрождите да принадлежат към друг гъбичен тип освен аскомицетите и базидиомицетите. Авторите обаче смятат, че от трите линии в

Ascomycota, само две съдържат дрожди, докато третата (*Pezizomycotina*), не съдържа.

Решението дали даден вид трябва да се счита за дрожди или нишковидна гъба за целите на QPS се взема за всеки отделен случай, но като се прилагат следните общи правила и ограничения: Гъбата може да бъде предмет на оценка, ако:

(i) принадлежи към тип *Ascomycota* (с изключение на *Pezizomycotina*) или *Basidiomycota* и

(ii) се третира като дрожди от таксономичната литература. Като подкрепяща информация се разглежда таксономията, прилагана от международно признати колекции за микробни култури (напр. Център за биологично разнообразие на гъбичките (CBS) - Гъбични щамове⁷).

Aureobasidium pullulans е сравнително добре проучен гъбичен вид, тъй като представлява интерес в биотехнологиите и биологичния контрол на болести по растителнията. Той е диморфен и принадлежи към линията *Pezizomycotina* (и от порядъка *Dothidiales*) на аскомицетите и понякога се нарича дрожди или „дрождеподобни“. Kurtzman et al. (2011) не разглеждат рода *Aureobasidium* като дрожди и в тяхната таксономия няма раздел за род.

В съответствие с изключването на *Aureobasidium*, направено от Kurtzman et al. (2011), неотдавнашен преглед (Naranjo-Ortiz и Gabaldón, 2019) съобщава, че: „Основният план на тялото на този подфилум (*Pezizomycotina*) е нишковиден и анастомозиран“ и тези автори не наричат гъби в *Pezizomycotina* „дрожди“ или „като дрожди“. Те също така отбелязват, че обикновено членовете на *Pezizomycotina* съдържат голямо изобилие от ензими за вторичен метаболизъм, което обикновено ги разичава от дрождите и ги прави подробни нишковидни гъби.

ИЗВОДИ – Панелът ВІОНАЗ препоръчва:

ToR 1: да продължи актуализирането на списъка на биологичните агенти, за които постъпват технически досиета за оценка на безопасността към отделите на EFSA (като отделите за фуражи, FIP, хранене, пестициди, генетично модифицирани микроорганизми) и които са предназначени за влагане във фуражи и/или храни или като източници на храни и добавки във фуражи, ензими, продукти за растителна защита:

ToR 2: да се извършва преглед на ТУ, препоръчани преди това за QPS списъка и техните квалификации, когато е налице нова информация: във връзка с резултатите от мониторинга на възможни нови проблеми с безопасността, свързани със списъка на QPS, няма резултати, които да оправдаят премахването на ТУ от списъка на QPS или промени в съответните им квалификации.

ToR 3: да се (пре)оцени пригодността на таксономични единици, нотифицирани на EFSA, които не присъстват в настоящия QPS списък, за включването им в този списък: От получените 36 уведомления 20 са свързани с ТУ, които вече са имали QPS статут и не изискват допълнителна оценка.

⁷ https://wi.knaw.nl/page/fungal_table на страницата, на която може да бъдат намерени гъбички: <https://theyeasts.org/>

От останалите 16 уведомления, 13 са свързани с ТУ, изключени от QPS оценката: седем са уведомления за нишковидни гъби (включително *Aureobasidium pullulans* въз основа на скорошни таксономични прозрения); един от *Clostridium butyricum*, един от *Enterococcus faecium*, три от *Escherichia coli*, един от *Streptomyces spp.*

Три уведомления, съответстващи на три ТУ, са оценени за възможен QPS статут, две от тях (*Methylobacterium extorquens* (известен преди като *Methylobacterium extorquens*) и *Mycobacterium aurum*) за първи път. *Bacillus circulans* е оценен повторно, тъй като е поискана актуализация във връзка с текущия мандат.

- *Methylobacterium extorquens* не се препоръчва за QPS статут, поради липса на знания във връзка с употребата му в хранителната или фуражната верига;

- *Mycobacterium aurum* не се препоръчва за QPS списъка, поради липса на знания и несигурност относно патогенния му потенциал;

- *Bacillus circulans* се препоръчва за QPS статут с квалификациите: „само за производствени цели“ и „отсъствие на цитотоксична активност“.

Източник:

<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2021.6377>

<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6377>

Изготвил:

Д-р Марина Загорова

Център за оценка на риска по хранителната верига

Други материали, които касаят безопасност по хранителната верига, са достъпни на електронен адрес: <http://corhv.government.bg>