



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

ОБНОВЕНА ВЕРСИЯ НА НАСОКИ

„Характеризиране на микроорганизми за употреба като фуражни добавки или като продуциращи ги организми“

РЕЗЮМЕ

Обновената версия на *Насоки за характеризирание на микроорганизми за употреба като фуражни добавки или като продуциращи добавки микроорганизми* е изготвена на база на действащия към момента документ¹, като измененията са направени с цел да бъдат включени най-новите научни постижения, както и придобитите в хода на прилагането на действащото досега ръководство практически познания.

Техническият доклад², на базата на който е подготвена новата версия на документа, е приет от Панел по добавки и продукти или субстанции за употреба при хранене на животни (*FEEDAP*), като водещ по отношение на обхвата на документа в рамките на ЕОБХ³. Раздел 3.1 („Неналичие на продуциращия щам“) и 3.2 („Наличие на ДНК от продуциращия щам“), са били приети и от:

1. Панел за генетично модифицирани организми (*GMO*);
2. Панел за материали и предмети, предназначени да влизат в контакт с храни, ензими, ароматизанти и спомагателни средства, както и
3. Панел по хранителни добавки и нутритивни източници, прибавяни към храни.

Цел на насоките е да бъдат подпомогнати заявителите при подготвяне и представяне на заявление, предвидено в чл. 7.6 от Регламент (ЕК) № 1831/2003 за одобряване на фуражни добавки. При изготвяне на заявлението, следва да бъде взет предвид

¹ (EFSA FEEDAP Panel, [2016](#))

² <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1389>

³ Европейски орган по безопасност на храните

Регламент (ЕО) № 429/2008⁴, тъй като в него са детайлизирани правилата за прилагане на Регламент (ЕО) № 1831/2003^{5,6}.

При съставяне на обновената версия на насоките, ЕОБХ е взел предвид резултатите от консултация, проведена наскоро със заинтересованите страни, от които са получени 15 мнения с 258 коментара. Тези от тях, които отговарят на предварително зададените критерии и допринасят за яснота в текстовете, са били включени в новата версия.

Насоките влизат в сила от 01.09.2018 г.

ОБХВАТ

Документът обхваща:

➤ фуражни добавки, които съдържат микроорганизми или са продуцирани от микроорганизми в резултат на **ферментационен процес**, както е предвидено в чл. 7.6 от Регламент (ЕК) № 1831/2003, в Раздел 2 на Приложение II и съответния раздел от приложение III към Регламент (ЕК) № 429/2008;

➤ фуражни добавки, произведени от **генетично модифицирани микроорганизми (GMMs)**, за които се изисква разрешение съгласно Регламент (ЕК) № 1829/2003⁷.

Обхванати са бактерии, дрожди и ресничести гъбички.

Обновената версия включва подобрени текстове на предходната версия⁸ на документа, свързани с:

➤ най-актуалните научни постижения и натрупания практически опит в областта на оценка на фуражни добавки;

⁴ Commission Regulation (EC) No 429/2008 of 25 April 2008 on detailed rules for the implementation of Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council as regards the preparation and the presentation of applications and the assessment and the authorisation of feed additives. OJ L 133, 22.5.2008, p. 1–65.

⁵ Регламент (ЕК) № 1831/2003, Раздел 2, приложение II).

⁶ Приложение III към Регламент (ЕК) № 429/2008.

⁷ Регламент (ЕО) № 1829/2003 на Европейския парламент и на Съвета от 22 септември 2003 година относно генетично модифицираните храни и фуражи.

⁸ Guidance on the characterisation of microorganisms used as feed additives or as production organisms, достъпна на адрес: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2018.5206#efs25206-bib-0501>

➤ новости при оценка на риска на добавки, продуцирани от генетично модифицирани микроорганизми (*GMMs*), за които се изисква разрешение съгласно Регламент (ЕО) № 1829/2003;

➤ продукти, получени в резултат на ферментация, за които са включени само аспекти, свързани с продуциращи организми и безопасност на генетични модификации, когато това е приложимо;

➤ микроорганизми, като: бактерии, дрожди и ресничести гъбички; основните принципи при характеризиране се прилагат и при останалите таксономични групи (като фаги, *Archaea* и микроводорасли), но когато става дума за представители на тези групи, всеки случай се разглежда сам за себе си;

➤ заявления, които се отнасят до фуражни суровини (биомаса), произведени от *GMMs*, се прилагат базовите принципи, описани в документа и отнасящи се до характеризиране на микроорганизъм/ми;

Фуражни добавки, в които са налични жизнеспособни *GMMs*, независимо дали са въведени умишлено или не, излизат извън обхвата на ръководството.

В това ръководство се включва характеризиране на микробни щамове, които са обект на разрешаване като фуражни добавки и са произведени от микроорганизми или ги съдържат.

Принципите за извършване на други елементи на оценката са уредени в други документи на *FEEDAP*⁹.

1. ОЦЕНКА

Като е взета предвид природата на продуктите и приложимите регулаторни изисквания, в ръководството са разгледани два типа фуражни добавки:

➤ фуражни добавки, които съдържат жизнеспособни микроорганизми (активни агенти);

➤ фуражни добавки, произведени от *GM* или не*GM* микроорганизми (като продуциращи щамове).

В Таблица 1, на стр. 4 от настоящия документ, са посочени изискванията към научната информация, която се изисква според вида на фуражната добавка, като са

⁹ [Guidance on the identity, characterisation and conditions of use of feed additives](#) (EFSA FEEDAP Panel, 2017a), [Guidance on the assessment of the safety of feed additives for the target species](#) (EFSA FEEDAP Panel, 2017b) and [Guidance on the assessment of the safety of feed additives for the consumer](#) (EFSA FEEDAP Panel, 2017c).³

конкретизирани съответно, в кой раздел (втората колонка) и по кои показатели (първа колонка) следва да бъде изложена необходимата информация.

	Section	Feed additives containing viable microorganisms		Fermentation products	
		Bacteria	Fungi – yeasts	Bacteria	Fungi – yeasts
Identification	2.1	✓	✓	✓	✓
Antimicrobial susceptibility	2.2	✓		✓	
Antimicrobial production	2.3	✓	✓	✓	✓
Toxigenicity and pathogenicity	2.4	✓	✓	✓	✓
Genetic modification	2.5			For GMMs only	For GMMs only
Absence of the production strain	3.1			✓	✓
Presence of DNA from the production strain	3.2			Where relevant	Where relevant
Compatibility with other authorised additives	4.2	Where relevant	Where relevant		

Към оценката за безопасност на определена група микроорганизми се прилага специфичен подход: „квалифицирана презумпция за безопасност“ (*QPS*)¹⁰. Такива микроорганизми са изброени в отделен списък. *QPS* е общ подход към оценката на безопасността на микроорганизми, когато са въведени умишлено в хранителната и във фуражната верига. За да бъде третиран определен микроорганизъм като подходящ за прилагане на подхода *QPS*, неговият таксономичен статус следва да е установен недвусмислено, да принадлежи към вид, включен в най-новия вариант на списъка за прилагане на подхода *QPS*. Когато определен щам отговаря на изискванията за прилагане на *QPS*, той се приема за безопасен за целевите видове животни (видовете животни, за които е предназначена фуражната добавка), за потребителите и за околната среда, без да са необходими специални проучвания.

¹⁰ (EFSA, 2007). The list of QPS status recommended biological agents for safety risk assessments carried out by EFSA is regularly updated and published at: [http://efsa.onlinelibrary.wiley.com/hub/issue/10.1002/\(ISSN\)1831-4732.QPS/](http://efsa.onlinelibrary.wiley.com/hub/issue/10.1002/(ISSN)1831-4732.QPS/)

Посоченият подход може да се прилага и към двете категории, посочени по-горе.

Когато се касае за добавки, произведени от *GMMs*, за които родителският/реципиентният щам е приет от ЕОБХ за подходящ за прилагане на подхода *QPS* при оценка на безопасността му и когато молекулярна характеристика не предполага опасения, концепцията *QPS* може да бъде разширена и към генетично модифициран продуциращ щам. Независимо от това, присъствието на ДНК от продуциращия щам трябва да бъде оценено във всички продукти, произведени с *GMMs* (Раздел 3.2).

2. ХАРАКТЕРИЗИРАНЕ НА МИКРООРГАНИЗМИ

2.1 Идентификация

За микроорганизми трябва да бъде предоставена информация относно **род, вид или щам**¹¹, съответно – **наименование и код**.

Оценяваният микроорганизъм трябва да бъде депозиран в международно призната **банка за култури**, придобила статут на Международен депозитарен орган, съгласно Договора от Будапеща и поддържана през време на периода, за който добавката е разрешена. В документацията се прилага валиден сертификат, удостоверяващ факта на депозиране в колекцията, в който е посочен номер, под който се съхранява конкретният щам.

Оценяваният микроорганизъм трябва да бъде идентифициран недвусмислено на ниво биологичен вид, въз основа на съвременни методологии и като се вземат предвид най-съвременните разбирания и познания в областта.

Бактерии:

За характеризирание на бактериите се изисква анализ на пълната геномна последователност (*WGS – whole genome sequence*) (Раздел 2.1.1). Следователно, данните от *WGS* служат за идентифициране на микроорганизма. Това може да бъде постигнато чрез изчислителен подход при таксономични задачи (например филогеномикс, средна нуклеотидна идентичност (*ANI*)) или чрез сравняване на секвенциите, които обикновено се използват за таксономично идентифициране (например *16S rRNA* ген)

¹¹ За бактерии, таксономията и номенклатурата, се поддържа в Международния комитет за систематика на прокариотите (<http://www.the-icsp.org>) и са обхванати от Международния кодекс за номенклатура на прокариотите (Parker et al., 2015). Номенклатурата и таксономията на гъбите са обхванати от Международния кодекс за номенклатура на водорасли, гъбички и растения (ICN) (McNeill et al., 2012). Последно одобрената номенклатура за гъби може да бъде намерена в базата данни MycoBank. <http://www.mycobank.org>

или други характерни гени (напр. *housekeeping genes*), налични в съответните бази данни.

Дрожди:

Както при бактериите, *WGS* се изисква и при характеризиране на дрожди (Раздел 2.1.1). Следователно, данните от *WGS* анализа е приложим за идентифициране на всеки микроорганизъм, който принадлежи към тази категория. Идентифициране се извършва чрез филогенетичен анализ.

Ресничести гъбички:

Когато е налице *WGS*, идентификацията трябва да бъде направена чрез филогенетичен анализ, който сравнява генома с наличните сродни геноми. Ако не е налице *WGS*, идентификацията трябва да бъде направена чрез сравняване на *18S rRNA* ген и / или *ITS* региони и други характерни гени (например, тубулин) със секвенции, депозиранни в базите данни.

В случай че данните не позволяват причисляването на изследвания щам към известен вид микроорганизми, трябва да бъде установена филогенетична връзка с близкородствени микроорганизми.

Посочва се произходът на организма и цялата история на модификациите, включително етапите на мутагенеза, през които е преминал щамът по време на неговото разработване. Всяка генетична модификация се характеризира съгласно раздел 2.5.

2.1.1 Пълно геномно секвениране при характеризиране на микроорганизми

За щамове бактерии и дрожди, предназначени за употреба като продукти или като продуциращи щамове, е необходим пълен геномен секвенционен анализ (включително хромозома/и и извънхромозомни генетични елементи, примерно плазмиди).

WGS-анализ се препоръчва и за ресничести гъбички. Данните от *WGS* дават информация за категорично определяне на таксономична принадлежност на щама, както и за характеризирането му по отношение на потенциални функционални характеристики, които са от значение (напр., фактори на вирулентност, потенциал за възникване на резистентност или резистентност към антимикробни средства с клинично значение, продуциране на познати токсични метаболити).

Минимален набор от информация:

- метод на извличане на ДНК;
- стратегия за секвениране и използвано оборудване;
- приложен метод на съединяване (например, биоинформация, *de novo* или *re-seq*);
- статистическо обработване за определяне на качеството на секвениране;
- FASTA-файла (овете) за WGS;
- общата дължина на контигите спрямо очаквания размер на генома;
- използвания протокол;
- за гъбички: информация за качеството на коментарите, получени от съответните бази данни (например BUSCO)¹².

2.2 АНТИМИКРОБНА ЧУВСТВИТЕЛНОСТ

Този раздел е приложим за бактерии, предназначени за употреба като жизнеспособни клетки във фуражни добавки и като продуциращи организми.

Не е допустимо, фуражните добавки, които подадат в обхвата на насоките да допринасят за увеличаване броя гени кодиращи антимикробна резистентност, които вече съществуват сред популацията чревни бактерии или по друг начин да увеличават разпространението на AMR. Антимикробни средства, които се имат предвид в случая са тези от значение при хора и животни („критично важни“ антимикробни средства (CIA) или такива, определени като „много важни“ представители на групата от антимикробни средства (HIAs), (последно преразглеждане на WHO¹³, 2016).

Когато бактериалният вид е устойчив към антимикробни средства и тази особеност е типична за всички щамове в рамките на вида, се говори за "вродена резистентност". **Не се приема, че вродената AMR има отношение към безопасността.** Обратното, когато типично чувствителен вид е устойчив към дадена антимикробна субстанция, се приема че става дума за "*придобита резистентност*", което задължително изисква по-нататъшно проучване.

За тази цел трябва да бъдат предоставени две групи данни, относно:

- **Фенотипно тестване**, основано на определяне на минимална инхибираща концентрация (MIC) за избрана група антимикробни средства;

¹² <http://busco.ezlab.org>

¹³ WHO – Световна здравна организация

- „Проверка“ на WGS за наличие на познати AMR-гени.

2.2.1 ИЗСЛЕДВАНЕ НА ФЕНОТИПА

От съществено значение е тези тестове да бъдат проведени по международно признати и стандартизирани методи. Основно изискване е MIC (изразени в mg / L или µg / mL), да бъдат определени по отношение на антимикробните вещества, посочени в таблица 2¹⁴. Посочените в табл. 2 антимикробни средства са подбрани така че да бъде установен широк спектър фактори за резистентност. **Записаните пределни стойности би трябвало да се разглеждат като прагматичен инструмент, предназначен да разграничи щамовете с придобита резистентност от чувствителните щамове.** Пределно допустимите стойности, посочени в таблица 2, са взети от приложение Б (*Annex B*). Срещу бактериите, които не са посочени в таблица 2, се тестват антимикробни средства, които се прилагат срещу *Corynebacterium* и други грамположителни (за *Gram*-положителни) или *Enterobacteriaceae* за (*Gram*-отрицателни), според таблица 2. Получените в резултат на изследване стойности на MIC се сравняват с публикувани стойности за тези видове микроорганизми или сродни видове и / или тези, получени в резултат на прилагане на вътрешнолабораторен метод.

Минималните инхибиращи концентрации трябва да се определят чрез серийно двукратно разреждане в агар или бульон, което се отнася и за щамовете, използвани за контрол на качеството. Изпитванията се провеждат в съответствие с международно признати стандарти, като например този на Европейския комитет за тестване на чувствителност към антимикробни средства (*EUCAST*²), Институт за клинични и лабораторни стандарти (*CLSI*¹⁰), стандартът *ISO* или еквивалентен на него. След култивиране, се извършва определянето на MIC, което представлява най-ниската концентрация на антимикробния агент, който потиска бактериалния растеж. Не е приемливо прилагането на индиректни (качествени или полуколичествени методи) методи при определяне на MIC, като например дифузионни методи, освен ако за това няма изрична причина, която трябва да бъде обоснована обективно: например, когато антимикробният агент не е достъпен по друг начин.

¹⁴ Тук, таблицата не е представена във формат, който да бъде пренесен в настоящия текст. Поради това, тя може да бъде разгледана само в оригиналния документ на ЕОБХ, на линк:

<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2018.5206>

В таблица 2, посочените антибактериални субстанции са, както следва: *Ampicillin*, *Vancomycin*, *Gentamicin*, *Kanamycin*, *Streptomycin*, *Erythromycin*, *Clindamycin*, *Tetracycline*, *Chloramphenicol*, *Tylosin*, *Ciprofloxacin*, *Colistin*, *Fosfomycin*.

Хранителната среда трябва да позволява растеж на изследвания щам. Когато е възможно, трябва да се използват специализирани хранителни среди за изследване на профилите на антимикробната резистентност / чувствителност (например *Muelle-Hinton* или *IsoSensitest*). Въпреки това, при определени бактериални видове или щамове, може да се наложи употреба на други формулации (като тест за чувствителност *LAB* - при някои видове млечнокисели и бифидобактерии (*Klare et al.*, [2005](#))). Винаги трябва да бъдат взети под внимание потенциалните влияния на компонентите на хранителната среда (напр. *P*-аминобензоена киселина, тимидин, глицин, двувалентни катиони), вида на теста (микроразреждане на бульон и разреждане на агар) и условията на култивиране (*pH*, температура, времетраене на култивиране) върху степента на чувствителност на микроорганизма към определени антимикробни средства.

С цел разграничаване на резистентни от чувствителни щамове, панелът *FEEDAP* дефинира **пределно допустими стойности** за микробиологични изпитвания, въз основа на публикувани данни. На тази база, конкретен щам може да бъде категоризиран като:

➤ **чувствителен**, когато растежът му се инхибира от концентрация на определен антимикробен агент, равна или по-ниска от определената гранична стойност ($S \leq x \text{ mg / L}$).

➤ **устойчив**, когато е в състояние да расте при концентрация на определен антимикробен продукт, по-висока от установената гранична стойност ($R > \times \text{ mg / L}$).

2.2.2 WGS за откриване на гени за резистентност (*AMR genes*)

Генетичният анализ има за цел да открие евентуално гените, които кодират резистентност или допринасят за резистентност към антимикробни средства при хора или животни (*CIAs* или *HIAs*). За тази цел, получените от експеримента резултати следва да бъдат сравнявани с последно обновените бази данни (e.g. *CARD*,¹¹ *ARG-ANNOT*,¹² *ResFinder*¹³). Резултатът от анализа следва да бъде представен в табличен вид, с акцент върху кодиращите гени за резистентност към антимикробни средства.

2.2.3 Интерпретиране на резултатите от 2.2.1 и 2.2.2

Когато за едно или повече антимикробни субстанции бъдат установени по-високи от граничните стойности за *MIC*, определени от *FEEDAP*, се изисква допълнително проучване, чрез използване на генетични данни за определяне естеството на резистентността:

➤ когато не е бил установен познат ген за *AMR*, който може да е свързан с фенотипа, не се изискват допълнителни проучвания;

➤ когато фенотипната резистентност има вероятност да е пряко свързана с наличие на вече познат *AMR* ген, това се приема за **рисков фактор**.

Винаги, когато генетичният анализ покаже гени за резистентност към определени антимикробни средства, прилагани при животни или при хора (WHO, 2016), трябва да бъдат определени стойностите на *MIC*, като след това те се сравняват със стойностите, посочени в литературата:

➤ когато $MIC \leq$ (референтни стойности), вероятността за активиране на *AMR* гена се оценява (например, сравнение на секвенцията с активните гени);

➤ когато $MIC >$ (референтни стойности), това се приема за **опасност**.

2.3 Продуциране на антимикробни субстанции

С изключение на случаите когато към щама може да се приложи подхода *QPS* или той принадлежи към таксономична единица, за която е известно, че не се използва за производство на антимикробни средства (за хора или за животни), следва да бъдат проведени тестове за оценка на инхибиращата активност на супернатантите на културата срещу **референтни щамове** (напр. *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 и *Bacillus subtilis* ATCC 6633 или други референтни щамове *EUCAST*, 2015; *FAO*, 2006), за които е известно, че са чувствителни към определени групи антибиотици. При положителен резултат за един или повече видове микроорганизми, трябва да бъде идентифицирана инхибиращата субстанция.

За продуциращите щамове, при които е установена антимикробна активност, трябва да се докаже липса на пренос към крайния продукт. Задължително трябва точно да бъде посочена фазата от производствения процес, по време на провеждането на която трябва да бъдат взети пробите. Пробите трябва да се вземат по време на производство – в промишлен мащаб. Проби, взети по време на предпроизводствения етап може да послужат, при условие че проби от производствения процес в промишлен мащаб, все още не са налични.

Що се отнася до **йонофорни кокцидиостатици**, продуцирани от видове микроорганизми, за които е известно, че продуцират и други клинично значими антимикробни средства (WHO, 2016), трябва да се изследва наличие на антимикробна

активност, която не се свързва с йонофора във ферментационния/крайния продукт, напр. чрез сравняване на спектъра на инхибиране на чистия йонофор с този на добавката. Описаните по-горе щамове може да се използват с такава цел.

Кандидатите трябва да декларират дали при производството на продукта са използвани антимикробни средства, които имат значение за клиничната практика.

2.4 Токсичност и патогенност

Трябва да се предостави информация за токсичност и вирулентност на активните агенти и продуциращите щамове при хора и целеви видове, включително предисторията на употребата на щама или негови сродни микроорганизми. Информацията следва да е базирана на актуални литературни източници (както е посочено в разпоредбите на Ръководството за оценка на безопасността на фуражните добавки за целевите видове¹⁵).

Всяка стъпка на разработване на щама (включително мутагенеза и / или генетични модификации), насочени към намаляване на генотоксичността и / или патогенността му, задължително се документира.

2.4.1 Бактерии

За бактериални щамове от вид извън списъка *QPS*, се използва *WGS* анализ за идентифициране на гени, кодиращи вече познати фактори за вирулентност. За тази цел се прави сравнение със съответните съвременни бази данни ((e.g. *VFDB*,¹⁴ *PAI DB*,¹⁵ *MvirDB*,¹⁶ *CGE*¹⁷). Резултатът от анализа се представя в табличен вид, с фокус върху напълно генно кодирани, разпознаваеми фактори на вирулентност (токсини, инвазионни и адхезионни фактори), за които е известно, че съществуват във вида към който принадлежи микроорганизмът или в сродни нему видове. Таблицата трябва да включва най-малко генна идентификация, функция на кодиращия протеин, процентът на идентичност и *e*-стойността. Наличието на гени, кодиращи вирулентни фактори, може да изисква по-нататъшно фенотипно тестване, като например тестове за цитотоксичност).

При жизнеспособни микроорганизми, за които не може да бъде изключена патогенност според литературните данни и след разглеждане на *WGS*, е възможно да се наложат допълнителни изследвания (като проучвания за поносимост, съгласно

¹⁵ [Guidance on the assessment of the safety of feed additives for the target species](#)

Ръководство за оценка на безопасността на фуражните добавки за целеви видове, както и токсикологични изследвания, съгласно Ръководство за оценка на безопасността на фуражните добавки за потребителите¹⁶).

Изключения от горните изисквания правят:

➤ шамове, които отговарят на изискванията за подхода QPS към оценката на безопасността;

➤ други шамове, за които безопасността може да бъде установена чрез специфични тестове (напр. *Enterococcus faecium* и *Bacillus species*, раздел [2.4.1.1](#) и [2.4.1.2](#)).

2.4.1.1 *Enterococcus faecium*

Enterococcus faecium се състои от две различни субпопулации или подвидове. Едната субпопулация се състои предимно от изолати от фекалии на здрави индивиди и се характеризира с **чувствителност към ампицилин**. Другата субпопулация, която се съдържа в по-голяма степен в клинични изолати, показва **устойчивост към ампицилин**. Факторите на вирулентност и маркерите *IS16*, *hylEfm* и *esp*, също са от практическо значение при оценката за безопасност.

MIC за ампицилин би трябвало да бъде определена, когато:

➤ MIC > 2 mg / L: шамът не се смята за безопасен;

➤ MIC ≤ 2 mg / L, липсата на генетични елементи *IS16*, *hylEfm* и *esp* трябва да се изследва чрез разглеждане на геномната секвенция.

Когато не бъде открит нито един от трите генетични елемента, шамът се приема за безопасен.

Когато бъде намерен един или повече от трите генетични елемента, шамът се приема за опасен.

2.4.1.2 *Bacillus spp.*

За видове, които принадлежат към *Bacillus*, различни от групата на *Bacillus cereus*, се прави тест за цитотоксичност, за да се определи дали шамът произвежда високи нива на нерибозомно синтезирани пептиди, като една от квалификациите на подхода QPS. При липса на модели с животни, за които има доказателства, че може да разграничат опасни от безопасни шамове, FEEDAP разчита на *in vitro* методи с

¹⁶ [Guidance on the assessment of the safety of feed additives for the consumer](#)

клетъчни култури с цел търсене на доказателства за цитотоксичен ефект (вж. Приложение А). Такива тестове се правят с културални супернатанти, тъй като концентрацията на клетки, получени в бульонни култури, винаги надвишава концентрацията им в хранителни продукти, добити от животни. В допълнение, те трябва да се правят за предпочитане с *Vero*-клетки или други епителни клетъчни линии, при използване на културален супернатант, като при това се следва протоколът, описан от Lindbäck и Granum (2005). Описано е откриване на базата на поглъщане на ¹⁴C-левцин, но и други методи като тези, базирани на освобождаване на лактатдеhidрогеназа или поемане на пропидиев йодид, може да бъдат използвани алтернативно (Fagerlund et al., 2008).

Изборът на щамове, които принадлежат към таксономичната група *B. cereus*, за директна употреба или като продуциращи щамове, не е за препоръчване. В случай че са предложени за употреба, трябва да се проведе биоинформационен анализ на WGS за гени, кодиращи ентеротоксини (*nhe*, *hbl* и *cytK*) и на *cereulide synthase*¹⁷ (*ces*). Ако е налично доказателство за подобие, трябва да се докаже, че гените са нефункционални. Щамовете с токсичен потенциал, не се приемат за безопасни.

2.4.2 Еукариотни микроорганизми

При еукариотни микроорганизми се оценява потенциална патогенност или способност да произвеждат метаболити, които е възможно да окажат вредно въздействие при хора и/или животни. Задължителната литературна справка има за цел да установи капацитетът на видовете или на техни близкородствени видове да продуцират познати токсични съединения (съблюдават се принципите в раздел 3 от Ръководство за оценка на безопасността на фуражните добавки за целеви видове). Допълнителна информация за познати токсични вторични метаболити, потенциално продуцирани от някои микробни видове, може да бъде намерена в научни публикации като *AINIA Technology Center* (2017). Когато е налична WGS, може да бъдат извършени целенасочени проучвания за установяване на наличие / отсъствие на известни метаболитни пътища, които се свързват с токсичност.

Когато бъдат установени познати съединения, се провеждат анализи с цел да бъде изключено наличието им или да е налично доказателство, че концентрацията им в крайния продукт/добавката не е от значение за безопасността на крайния продукт.

¹⁷ Ензим, който катализира свързването между две молекули, без директно участие на АТФ.

2.5 Генетични модификации

Ако шамът е генетично модифициран съгласно определението в Директива 2001/18 / ЕО¹⁸, следва генетичната модификация да бъде описана.

2.4.1 Цел на генетичната модификация

Целта на генетичната модификация се описва. Необходимо е да се опишат характеристиките и промените във фенотипа и метаболизма на микроорганизма, които са резултат от генетичната модификация.

2.5.2 Характеристики на модифицираните секвенции

Вмъкнати последователности

Секвенции, вмъкнати в генома на *GMM*, може да бъдат получени от определени организми или да са изкуствено създадени. Когато вмъкнатата ДНК е комбинация от секвенции с различен произход, се предоставя информация за всяка една от секвенциите.

Информация, която следва да бъде предоставена:

ДНК от конкретни донорни организми

Посочва се таксономична принадлежност (род и вид) на донорния (ите) организъм (и). В случай на последователности, с произход от околната среда, се посочва най-близкият ортоложен ген (и)¹⁹. Описанието на вмъкнатата последователност (и) трябва да **включва**:

➤ нуклеотидна последователност на всички вмъкнати елементи, като включва функционален коментар и физическа карта на всички функционални елементи;

➤ структурата и функцията на вмъкнатите елементи, включително кодиращи и не кодиращи области;

¹⁸ Article 2(2) of Directive 2001/18/EC on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms defines ‘**genetically modified organism**’ as an organism, with the exception of human beings, in which the genetic material has been altered in a way that does not occur naturally by mating and/or natural recombination.

¹⁹ По дефиниция, **ортоложни** са гени, които се предават вертикално – от общ предшественик и кодират протеини с едно и също действие при различни видове живи организми. Обратното, **параложни** са гени, които произлизат от хомоложни гени и които поради еволюция при удвояване, кодират протеини с подобна, но не и същата функция.

➤ наименование, производна аминокиселинна последователност (и) и функция (и) на кодиращия протеин (и). Когато е налице, ЕО номер на кодиращите ензими.

Изкуствено създадени (конструирани) секвенции

Конструираните секвенции са тези, за които не е известно да се срещат в природата (например кодон-оптимизирани гени, химерни / синтетични гени или гени, съдържащи химерни секвенции). В такива случаи се предоставя информацията относно:

- обосновка и стратегия за разработването;
- ДНК секвенция и физическа карта на функционалните елементи;
- получена аминокиселинна последователност/и и функция/и на кодиращия протеин/и;
- подобие с последователности в съвременни бази данни (например ENA, 19 NCBI, 20 UniProt21). То следва да идентифицира функционалните области на новоекспресиращия протеин; най-добрите съвпадения трябва да бъдат докладвани и описани.

Делеции

Предоставя се описание на умишлено изрязаната секвенция/и, както и пояснения за планирания ефект.

Замяна на базовата двойка и мутации за преместване на рамките за четене

Умишлено въведени замествания на двойки бази и / или мутации за преместване на рамките за четене трябва да бъдат посочени, като бъдат придружени от пояснения за очаквания ефект.

2.5.3 Структура на генетичната модификация

Охарактеризирането на структурата на генетичната модификация се използват WGS данни, когато се касае за бактерии и дрожди, и е препоръчително за ресничести гъбички.

2.5.3.1 Структура на генетичната модификация, използваща данни от WGS

Трябва да се предостави подробна информация, включваща карта или графично представяне на всички геномни области (хромозоми, контиги или плазмиди), съдържащи генетични модификации, което показва:

➤ отворените рамки за четене (*ORF*) действително вмъкнати, модифицирани или изрязани. За всеки *ORF* генните продукти трябва да бъдат описани подробно (поне аминокиселинната последователност, функцията, метаболитната роля). Обръща се специално внимание на въведени гени, когато за тях съществуват причини за притеснения. Такива гени са тези, за които е известно че допринасят за продуциране на токсични метаболити и антимикробни средства с клинично значение или се свързват с *AMR*;

➤ не кодирана (и) секвенция (и), въведена / изрязана / модифицирана. Трябва да се посочи ролята и функцията на тези секвенции (например промотори, терминатори).

Това може да бъде направено за предпочитане чрез сравняване на *WGS* на *GMM* с този на немодифицирания родителски или реципиентен щам.

Секвенциите / базите данни и методологията, използвана за анализи и сравнения, трябва да бъдат подробно описани.

2.5.3.2 Структура на генетичната модификация без *WGS* данни

За ресничести гъбички, за които не съществува налична *WGS*, трябва да бъдат описани всички извършени стъпки при получаване на генетичната модификация. Предоставената информация трябва да позволява идентифициране на всички генетични материали, потенциално въведени в реципиента / родителския микроорганизъм.

Характеристики на вектора

Описанието на вектора или векторите, използвани за разработването на *GMM*, следва да включва:

➤ източника и типа (плазмид, фаг, вирус, транспозон) на вектора. Когато се използват помощни плаزمиди, те също трябва да бъдат описани;

➤ карта, която подробно представя позицията на всички функционални елементи и други векторни компоненти;

➤ картата се придружава от таблица, в която са идентифицирани всички компоненти поотделно, да бъде старателно и точно описана, като например, да включва кодиращи и не кодиращи секвенции, произход на репликация и трансфер, регулаторни елементи, *AMR* гени, техния размер, произход и роля.

Информация, свързана с процеса на генетична модификация

Процесът на генетична модификация трябва да бъде описан подробно. Това трябва да включва:

➤ методи, използвани за въвеждане, делеция, замяна или модификация на ДНК в реципиентния / родителския организъм и методи за селекция на *GMM*;

➤ трябва да се посочи дали въведената ДНК остава във вектора или се вмъква в хромозомата и / или за еукариотните микроорганизми в ДНК на органели (например митохондрии), ако е приложимо.

Структура на всеки вектор и / или донорна нуклеинова киселина, останала в *GMM*

➤ карта, която подробно посочва позицията на секвенциите, действително вмъкнати, заменени или модифицирани;

➤ в случай на изрязване, трябва да бъде посочен размерът и функцията на изрязаната част (и) област (и).

Гени, чието наличие е от специално значение

Всички гени, посочени в раздел 2.5.3.1 (като гени, кодиращи *AMR*, токсини и фактори на вирулентност), вмъкнати в *GMM*, трябва да бъдат ясно посочени.

Липсата на подобна секвенция (като *AMR* ген), чието наличие не е очаквано в *GMM*, трябва да бъде доказано експериментално. Това включва:

➤ преходни секвенции, използвани в процеса на генетична модификация, включително вектори и помощни плазмиди;

➤ секвенции в плазмиди / репликони, от които се извлича фрагмент и които се използват за трансформация.

При това, анализът следва да бъде извършен чрез подходящи методи, като например *Southern*-анализ или *PCR*²⁰.

➤ *Southern blots* включва подходяща положителна и отрицателна контрола. Трябва да се посочи дължината и местоположението на използваната проба (и). Трябва да се подсили необходимото количество ДНК в агарозния гел, както и изображение на гела, преди извършване на реакцията. Положителната контрола се зарежда в концентрация, съответстваща на 1-10 копия на целевия фрагмент за геном на

²⁰ *PCR* – полимеразна верижна реакция.

производствения щам. Ако се използват няколко проби, те се изпитват в отделни експерименти.

➤ *PCR* експериментите включват положителна контрола, съдържаща същия ген като този, използван по време на разработването на щама, както и подходящи положителни контроли за да се изключи *PCR* инхибирането и да се осигури достатъчна чувствителност. Трябва да се включи и отрицателна контрола.

3 Продукти, получени в резултат на ферментационен процес

Този раздел се отнася до характеризирането на фуражните добавки, получени чрез ферментация на продуциращ щам и обхваща аспектите на безопасността, пряко свързани с него. Когато става дума за продукти, при които се касае за повече от един продуциращ щам, се предоставят данни за всеки един от тях. За други аспекти, свързани с характеризирането на продукта, заявителят трябва да следва Ръководство за идентичност, характеризиране и условия за употреба на фуражни добавки²¹.

3.1 Неналичие на продуциращия щам

Описват се подробно техниките за отстраняване / инактивиране на микробни клетки, които са приложени в хода на обработката през целия производствен процес. Отсъствието на жизнеспособни клетки от продуциращия щам се доказва, като за целта се прилага добре описан метод за определяне:

➤ метод за насочено откриване на жизнеспособни клетки в клетъчна култура. Недопустимо е прилагане на методи, които са предназначени за друга цел, но не и за клетъчни култури;

➤ процедурата трябва да позволи възстановяването на въпросните клетки чрез култивиране в или върху среда с минимален селекционен натиск и / или чрез осигуряване на по-продължително (поне два пъти) време за култивиране, в сравнение с нормално необходимото;

➤ определянето трябва също така да вземе предвид особеностите и замърсяването на микробиота, което е вероятно да се наблюдава в пробата, в случай че то пречи на откриването на продуциращия щам;

➤ когато щамът образува ендоспори, вероятното им наличие трябва да бъде анализирано чрез използване на адаптирани към микроорганизмите процедури за култивиране (каквото е загряването при бактерии) и съответно, да бъдат култивирани;

²¹ [Guidance on the identity, characterisation and conditions of use of feed additives.](#)

➤ отсъствието трябва да бъде демонстрирано в обем, съответстващ най-малко на 1 g или mL от продукта, получен от проба от най-малко 10 g или mL от продукта (например 10 g продукт, разреден в 90 mL, анализирани 10 mL);

➤ следва да се анализират най-малко девет проби, получени от най-малко три отделни партии от продукта. Трябва да се посочи точната фаза от производствения процес, по време на която следва се бъдат взети пробите. Пробите трябва да са взети от процес в промишлен мащаб. Проби, които са взети по време на предпроизводствени етапи са приемливи, само когато има доказателство, че все още не са налични проби от процеса в промишлен мащаб. В такъв случай, трябва да се представи доказателство, че предпроизводственият процес (ферментация и напред по производствената верига) е представителен за процеса в промишлен мащаб;

➤ трябва да се включи положителна контрола с високо разреждане – проби с малък брой жизнеспособни клетки от продуциращия щам (например 10-1 000 клетки на плака), за да се докаже, че хранителната среда и условията на култивиране позволяват растеж на всички жизнеспособни клетки, които остават в крайния продукт;

➤ когато добавката се предлага в няколко формулации (различен състав на продукта), получени при една и съща производствена схема, се изисква поне анализ на междинен продукт, получен в хода на процеса. Когато се касае за различни производствени схеми, всеки различен състав / краен продукт на добавката трябва да бъде тестван.

3.2 Наличие на ДНК от продуциращия щам

Този раздел се отнася за продукти, получени при използване на:

➤ генетично модифицирани продуциращи щамове. Възможното наличие на ДНК от продуциращия щам в продукта трябва да бъде определено в съответствие с изискванията;

➤ негенетично модифицирани продуциращи щамове, когато носят придобити *AMR* гени.

Наличието на ДНК от продуциращия щам трябва да бъде тествано в продукта чрез *PCR* и да е насочено към специфичен за този щам фрагмент. Трябва да се предостави подробна информация за специфичната секвенция, използваните праймери и полимераза, и за условията за размножаване:

➤ В случай, че продуциращият щам съдържа *AMR* гени, независимо дали е *GMM* или не, праймерите трябва да бъдат проектирани да увеличат фрагмент, който не надвишава размера на най-малкия ген, който определя антимикробна резистентност. Когато продуциращият щам е *GMM*, който не съдържа *AMR* гени, целевата секвенция трябва да покрие максимум 1 *Kb*.

➤ ДНК се извлича най-малко от 1 *g* или 1 *mL* продукт. Междинните продукти може да бъдат използвани, доколкото те са с еднаква или с по-висока концентрация в сравнение с крайния продукт. **За продукти с различен състав, се тества най-концентрираният.** Когато има различни производствени схеми, всяка отделна формулация (състав) / продукт, следва да бъде тествана.

Вземат се проби най-малко от три отделни партии от продукта, като всяка от тях се анализира трикратно. Посочва се точна фаза от производствения процес, по време на която следва се бъдат взети пробите. Пробите трябва да са взети от процес в промишлен мащаб. Проби, които са взети по време на предпроизводствен етап са приемливи, само когато има доказателство, че все още не са налични проби от същия процес в промишлен мащаб. В такъв случай, трябва да се представи доказателство, че предпроизводственият процес (ферментация и последващ процес по веригата) е представителен за процеса в промишлен мащаб;

➤ За възстановяване на ДНК от нежизнеспособни клетки потенциално останали в продукта, ДНК трябва да бъде екстрахирана с помощта на метод, подходящ за всички форми на продуциращия щам (вегетативни клетки, спори).

➤ Трябва да бъдат включени контроли и тестове за чувствителност, както следва:

a. обща ДНК от продуциращия щам, като положителна контрола за *PCR*;

b. обща ДНК от продуциращия щам, добавена към пробата от продукта преди процеса на екстракция на ДНК, като се започне с познато количество в различни разреждания до „изчезване“ на ДНК, с оглед изчисляване на границата на откриване;

c. положителна контрола с обща ДНК от продуциращия щам, добавена към ДНК, която е извлечена от всяка от трите партии на тествания продукт, за да се проверят всички фактори, които е възможно да водят до неуспех при провеждането на изпитване чрез *PCR*-метод;

d. отрицателна контрола, без проба.

Когато се наблюдава неуспешно провеждане на *PCR*, се изследват причините за това (например *PCR* инхибиране, наличие на нуклеази).

За целите на тази оценка, заявителят трябва да проучи дали целевата ДНК е открита при анализ с праг на откриване 10 ng ДНК / g или mL продукт, или прагът е по-нисък.

4 *In vivo* микробиологични изпитвания

За целите на насоките се оценява въздействието на фуражната добавка върху чревните микробиом²² по отношение на това, дали употребата ѝ повлиява положително или отрицателно върху размножаването на потенциално патогенни микроорганизми. Това се изисква в случай че добавките:

- при провеждане на тест за поносимост, показват нежелан ефект по отношение на храносмилателния тракт;
- при които се очаква нежелан ефект върху чревния микробиом;
- принадлежат към групата на йонофорните кокцидиостатици;
- се причисляват към групата микроорганизми, които са предназначени да намаляват броя на ентеропатогените, които имат потенциал да замърсят каркаси/продукти от животински произход.

Влиянието на добавката върху причинители на зоонози може да бъде изследвано при целеви животни, като те може да бъдат естествено заразени с ентеропатогените, които се изследват или върху специално заразени животни.

4.2 Съвместимост с други добавки, които показват антимикробна активност

Комбинирането на една микробиална добавка с друга, не трябва да влияе неблагоприятно върху жизнеспособността на микробните клетки.

В сухи фуражи²³, трябва да е сигурно, че липсва взаимодействие между двете добавки и следователно, не се очаква нежелан ефект върху съвместимостта им.

Когато взаимодействие не може да бъде изключено (напр. двете добавки се прилагат във водата за пиене, при овлажняване или при хранене с течни фуражи),

²² Терминът „микробиом“ и „микробиота“ се употребяват като синоними. Дефиницията на термина е: „екологично „общество“ от коменсални, симбиотични и патогенни микроорганизми“.

²³ Фуражи със съдържание на сухо вещество, не по-малко от 88%.

трябва да се изследва жизнеспособността (т.е. броят на микробните клетки в началото на контакта им и след изтичане на очакваното времетраене на контакта между тях), като се симулират условията на употреба в практиката, продължителността на контакт между добавките. За повече информация относно условията на употреба, вижте Ръководство за идентичност, характеристики и условия за употреба на фуражни добавки²⁴.

За да бъде демонстрирана съвместимост при подобни обстоятелства, трябва да се изследва поведението на микробната добавка и на добавката, към която е прибавен продуктът с антимикробна активност – извършва се чрез преброяване на микробните клетки. Изследванията трябва да включват най-ниската предложена доза от микробната добавка и максималната предложена доза от продукта с антимикробна активност.

За продукти, съдържащи повече от един микробен щам, жизнеспособността се оценява поотделно за всеки от тях.

In vitro проучвания

Целта на *in vitro* изследванията е чрез тях да бъде установено дали жизнеспособността на микробната добавка е вероятно да бъде повлияна при предполагаемата концентрация на антимикробната добавка в храносмилателния тракт и оттам, дали са необходими *in vivo* изследвания. Това се прави чрез определяне на *MIC* на антимикробната добавка.

Минималната инхибираща концентрация трябва да бъде определена съгласно раздел [2.2.1](#). Когато се касае за спорообразуващи микроорганизми, *MIC* се изчислява на база вегетативни клетки.

За продукти, съставени от повече от един микробен щам, *MIC* се определя за всеки щам поотделно и резултатите се интерпретират спрямо най-чувствителния компонент.

Когато *MIC* е повече от четири пъти стойността на максималната концентрация на антимикробното средство във фураж / вода, се приема, че е налице съвместимост и не се изисква тестване *in vivo*.

²⁴ [Guidance on the identity, characterisation and conditions of use of feed additives.](#)

Когато MIC е равна или по-ниска от четири пъти максималната концентрация на антимикробното средство във фураж / вода, несъвместимост не може да бъде изключена: изисква се и тестване *in vivo*.

Изследвания за съвместимост *in vivo* при целеви видове

С цел демонстриране на съвместимост *in vivo*, се извършва един краткосрочен експеримент²², сравняващ поведението на микробните клетки (микробна добавка и микробна добавка с прибавен продукт с антимикробна активност). Изследванията се разработват, като се използва най-ниската предложена доза от микробната добавка и максималната предполагаема доза от продукта, който показва антимикробна активност. Проучванията трябва се провеждат така, че да се постигне гаранция, че здравето на животните и условията на отглеждане (напр. при намеса на ветеринарен лекар) няма да окажат ефект при тълкуване на резултатите. Трябва да се положат усилия с цел да се избегне кръстосано замърсяване на фуражи, за което трябва да бъдат представени доказателства, получени експериментално. Експериментите се моделират така, че да се постигне адекватна статистическа значимост.

Съвместимостта се определя чрез анализиране броя на жизнеспособни клетки от изследваните щамове в стомашно-чревния тракт (във фекални маси, в съдържимото в илеума или в цекума). Не е приемливо при това да се използват методи за броене, които не са приложими за клетъчни култури. За да се избегне възможното повлияване от страна на микробиома на животните при преброяване на микроорганизмите, трябва да се познава поведението на активния агент на ниво щам. За продукти, съставени от повече от един микробен щам, всеки щам трябва да бъде изброен поотделно.

Когато се касае за представители на *Bacillus* и други спорообразуващи микроорганизми, се преброяват и вегетативните форми, и спорите.

Сходство между двете групи може да се демонстрира, когато броят на вегетативни клетки в стомашно-чревния тракт (и спорите, когато са налични) е в рамките на един и същ порядък от 0.5 log. При това, трябва да се има предвид, че експерименталната постановка може да се различава.

При отсъствие на оценка за броя микробни клетки, сами по себе си, данните за ефективност не се приемат за достатъчни като доказателство за сходство.

5 Резултати

Разделите, които следват, се отнасят до резултата от оценката на тези елементи, които се отнасят само за микроорганизма (активен агент или продуциращ щам). Други аспекти на безопасност на продукта за целевите видове, потребители, ползватели и за околната среда, следва да се разглеждат поотделно, според случая.

5.1 Фуражни добавки, които съдържат жизнеспособни микроорганизми

За щамове, които отговарят на критериите за *QPS* при оценка за безопасност, не са идентифицирани опасности, следователно, не са установени рискове за целеви видове, потребители и за околната среда. Безопасността за потребителите трябва да бъде оценена във всеки отделен случай и съгласно съответните насоки.

За други микробни щамове:

➤ бактериални щамове, които носят придобити гени, придаващи устойчивост към съответни антимикробни средства, се считат за рискови за целеви видове и за тези, които са изложени на действието на добавката (хранителна и нехранителна експозиция);

➤ патогенни, вирулентни или генотоксични щамове и тези, способни да произвеждат антимикробни средства, съгласно раздел [2.3](#), се считат за представляващи риск за чувствителни целеви видове и / или тези, които са изложени на въздействие от добавката.

➤ за бактериални щамове, които не притежават придобити резистентни фактори срещу антибиотици и за които е доказано, че не продуцират антимикробни вещества (съгласно раздел 2.3) и не са патогенни / токсични, не са идентифицирани опасности, следователно не са установени рискове за целеви видове, потребители и за околната среда. Безопасността на потребителите трябва да бъде оценена съгласно съответните указания.

➤ за дрожди и щамове ресничести гъбички, които са доказано непатогенни / негенотоксични, няма опасности и следователно не са установени рискове за целеви видове, потребители и за околната среда. Безопасността за потребителите трябва да бъде оценена съгласно съответните указания.

5.2 Фуражни добавки, продуцирани от негенетично модифицирани микроорганизми

За щамове:

➤ които отговарят на изискванията за прилагане на подхода *QPS* към оценката на безопасността или

➤ които не притежават фактори, определящи резистентност към антибиотици, не произвеждат съответни антимикробни вещества съгласно раздел 2.3 и не са патогенни / токсични,

не се очаква да са рискови като резултат от метаболизма на продуциращия щам. Допълнителни аспекти на безопасността на продукта за целеви видове, потребители, потребители и околната среда, следва да се разглеждат поотделно.

За други микробни щамове:

➤ бактериални щамове, носещи гени, които придават устойчивост към съответни антимикробни средства, се считат **опасни**. Когато продуциращият щам носи придобити *AMR* гени и в продукта са установени достатъчно дълги ДНК фрагменти, така че да покрият съответните пълни гени последователности, се счита, че продуктът представлява риск за целеви видове и за тези, които са изложени на действието на добавката. Въпреки това, в случаите, когато е доказано отсъствието на ДНК от продуциращия щам, това не се приема за рисков фактор.

➤ продуктите, получени чрез ферментация, чрез използване на щамове, които са генотоксични и / или способни да произвеждат антимикробни средства с клинично значение, се считат за **рискови** при чувствителни целеви видове и / или тези, които са изложени на добавката, освен когато има доказателство, че съответните токсини и / или антимикробни средства липсват в крайния продукт/добавката.

Допълнителни аспекти на безопасността на продукта за целеви видове, консуматори, потребители и за околната среда се разглеждат поотделно, според изискванията на съответните ръководства.

5.3 Фуражни добавки, произведени от ГМ микроорганизми

За генетично модифицирани щамове се прилагат резултатите, посочени в раздел 5.2.

В допълнение към това, за такива ГМ-щамове:

➤ за които реципиентът попада в квалификацията за прилагане на подхода *QPS* към оценката на безопасността или

➤ които са свободни от придобити *AMR* определящи фактори и е налице доказателство, че са непатогенни / токсични, и чиято генетична модификация не въвежда гени / промени от значение, няма опасности и следователно не се очаква да възникнат рискове в резултат от метаболизма на производствения щам. Допълнителни аспекти на безопасност на продукта за целеви видове, консуматори, потребители или за околната среда, следва да бъдат разглеждани поотделно.

ИЗГОТВИЛ: Д-Р МАРИНА ЗАГОРОВА

ГЛАВЕН ЕКСПЕРТ

ДИРЕКЦИЯ „ОЦЕНКА НА РИСКА ПО ХРАНИТЕЛНАТА ВЕРИГА“ – ЦОРХВ

Дата: 28.05.2018 г.