



НАУЧНО СТАНОВИЩЕ НА  
ЕВРОПЕЙСКИЯ ОРГАН ПО БЕЗОПАСНОСТ НА ХРАНИТЕ (EFSA)

БЕЗОПАСНОСТ И ЕФИКАСНОСТ НА  
*BioWorma*<sup>®</sup> (*Duddingtonia flagrans* NCIMB 30336)  
КАТО ФУРАЖНА ДОБАВКА ЗА ЖИВОТНИ НА ПАША

**РЕЗЮМЕ**

След искане от Европейската комисия (ЕС), Панелът за добавки и продукти или вещества, предназначени за употреба при хранене на животни (FEEDAP), е представил научно становище за безопасност и ефикасност на **BioWorma**<sup>®</sup> (*Duddingtonia flagrans* NCIMB 30336), като зоотехническа фуражна добавка за животни, които излизат на паша.

*Duddingtonia flagrans* принадлежи към група гъбички, наречени нематофаги/такива, които „се хранят“ с нематоди<sup>1</sup>. Първоначално ги „улавят“ в лепкава мрежа от хифи, навлизат в тях и ги унищожават, тъй като ги използват като субстрат, върху който се размножават и развиват.

Добавката съдържа гъбички от посочения вид, под формата на **хламидоспори** и е предназначена за **контрол на патогенни нематоди на пасищата**, което намалява заразяването или реинфектирането на животните.

Панелът FEEDAP не е направил заключение относно безопасността за целевите видове, поради липса на данни. Тъй като не е възможно да се изключи наличието на вторични метаболити (различни от флагранони), получени по време на ферментацията, и потенциалното им пренасяне в животински продукти, безопасността за потребителите не може да бъде оценена. Панелът FEEDAP заключава, че добавката не е дразнеща за кожата и очите, но е дразнител за дихателните пътища и се приема за респираторен сенсibiliзатор. Не е възможен извод за потенциала на добавката да действа като сенсibiliзираща кожата.

Тъй като *D. Flagrans* е естествен обитател на почвата и е широко разпространен в световен мащаб, Панелът приема, че употребата на добавката не представлява риск за околната среда при предложените условия за употреба. Прилаганият щам намалява броя на паразитните нематоди на пасището, когато се прилага в препоръчаната норма от  $3 \times 10^4$  хламидоспори/kg телесна маса за ден.

**ВЪВЕДЕНИЕ**

**Обща информация и техническо задание**

Регламент (ЕО) № 1831/2003<sup>2</sup> установява правила при разрешаване за употреба на фуражни добавки в Общността. Член 4, пар. 1 от регламента предвижда подаване на

<sup>1</sup>В природата съществуват около 160 подобни видове гъбички.

<sup>2</sup>Регламент (ЕО) № 1831/2003 на Европейския парламент и на Съвета от 22 септември 2003 година относно добавки за използване при храненето на животните. OJ L 268, 18.10.2003, p. 29.

заявление съгласно чл. 7, когато се касае за разрешаване на нова или разширяване на обхвата на употреба на вече разрешена добавка.

**Заявление за разрешаване на BioWorma®** (*Duddingtonia flagrans* NCIMB 30336) като фуражна добавка за употреба при животни, отглеждани на паша, е постъпило от International Animal Health Product Pty Ltd<sup>3</sup>. Добавката е причислена към **категория: зоотехнически добавки; функционални групи: други зоотехнически добавки.**

Съгласно чл. 8 от Регламент (ЕО) № 1831/2003, EFSA, след верифициране и преглед на приложеното към заявлението техническо досие, следва да предостави на Европейската комисия научно становище за безопасност и ефикасност на въпросния продукт за целевите животни, консуматора, потребителите и околната среда, когато се прилага според предложените от заявителя условия за употреба.

#### **Допълнителна информация**

BioWorma® (*Duddingtonia flagrans* NCIMB 30336) понастоящем не е разрешен като фуражна добавка в Европейския съюз.

### **ДАННИ И МЕТОДОЛОГИЯ**

#### **Данни**

Настоящата оценка се основава на данни, предоставени от заявителя в техническо досие, в подкрепа на искането за разрешаване за употреба на BioWorma® (*Duddingtonia flagrans* NCIMB 30336) като фуражна добавка.

Референтната лаборатория на Европейския съюз (EURL) за фуражни добавки е оценила методите за контрол на добавката във фуражи. Докладът и заключенията, направени след оценката, са приложени към становището на EFSA - Annex **A**<sup>4</sup>.

#### **Методология**

Подходът, следван от панела FEEDAP за оценка на безопасност и ефикасност на BioWorma®, е в съответствие с принципите, установени в Регламент (ЕО) № 429/2008<sup>5</sup> и съответните ръководни документи:

- Ръководство за зоотехнически добавки (EFSA FEEDAP Panel, **2012a**);
- Технически насоки: Изследвания за поносимост и ефикасност при целеви животни (EFSA FEEDAP Panel, **2011**),
- Ръководство за установяване безопасност на добавки за потребителите (EFSA FEEDAP Panel, **2012b**) и
- Ръководство за проучвания относно безопасността на употребата на добавката за потребители / работници (EFSA FEEDAP Panel, **2012c**).

### **ОЦЕНКА**

BioWorma® (*D. flagrans* NCIMB 30336) е предназначен за употреба като фуражна добавка (категория: зоотехническа добавка; функционална група: други зоотехнически

<sup>3</sup>GAB Consulting GmbH on behalf of International Animal Health Product Pty Ltd 18 Healey Circuit Huntingwood NSW 2148, Australia.

<sup>4</sup>Пълен доклад на EURL е достъпен на website: <https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/finrep-fad-2016-0067-duddingtonia-flagrans.pdf>

<sup>5</sup>Регламент (ЕО) № 429/2008 на Комисията от 25 април 2008 година относно подробни правила за прилагане на Регламент (ЕО) № 1831/2003 на Европейския парламент и на Съвета по отношение на подготовката и представянето на заявления и оценката и разрешаването на фуражни добавки (OJ L 133/122.5.2008)

добавки) за контрол на патогенни нематоди в почвата, с последващи ползи за преживни животни, коне и други животни, които излизат на паша.

### Характеризиране

*Duddingtonia flagrans* (Dudd) Cooke принадлежи към група гъбички **нематофаги**. Видът е широко разпространен и е изолиран от пасищни почви в много страни по света (Ahren et al., **2004**). Размножават се вегетативно и чрез конидиоспори. При неблагоприятни условия и при липса на подходящ субстрат, гъбичките оцеляват във вид на спори – хламидоспори, които притежават дебели стени; в спорите не се наблюдават жизнени процеси. Те се активират, когато попаднат при благоприятни условия на средата.

### Характеризиране на активния агент

Използваният щам е изолиран от австралийски пасища и представлява част от колекция шамове *D. flagrans*, депозирани<sup>6</sup> от Организацията за научни и индустриални изследвания на Общността (CSIRO – Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation/Обединена организация за научни и индустриални проучвания) в Австралия.

Идентифицирането е извършено чрез генно секвенциране на ДНК. Показано е също, че полиморфизмът в последователността на ITS може да бъде използван за разграничаване на този изолат от всички други изолати на *D. Flagrans* (данните за секвентния анализ са депозирани в GenBank).

Показано е също, че хламидоспорите поставени *in vitro* при анаеробни условия и при 37° C, не се развиват.

Малко се знае за вторичните метаболити от *Duddingtonia*, различни от **флагранони**, съединения, структурно свързани с фарнезилираните<sup>7</sup> циклохексеноксици, изолирани от друга гъбичка, която паразитира по нематода *Arthrobotrys oligospora* (Anderson et al., **1999**).

### Производство и характеризирание на добавката

Активният агент се произвежда съгласно специфицирани процеси, разработени от заявителя.

Представени са данни за концентрацията на спори, за максимално приемливо ниво на някои микроорганизми, гъбички различни от *Duddingtonia*, бактерии *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, отсъстват в 1 g и *Salmonella* – в 10 g.

Представени са резултати от изследване на три партиди. Резултатите не са показали отклонения по специфицираните показатели.

Изследвано е наличие на тежки метали и арсен. Резултатите не поражда опасения за безопасността на продукта.

Проби са изследвани и за наличие на много от микотоксините, с които има вероятност продуктът да бъде замърсен. Нито един от търсените микотоксини не е бил намерен, с изключение на зеараленон (61 µg/kg), в една от пробите, като тази стойност не е причина за опасения за безопасността на продукта.

<sup>6</sup>Гъбичките, които са основа за разработване на добавката са депозирани в Националната колекция от индустриални, хранителни и морски бактерии с номер NCIMB 303366; не са генетично модифицирани организми.

<sup>7</sup>Фарнезилиране се нарича свързването на фарнезилова група към протеин.

Добавката представлява леснотечлив кафяв прах. Измерени са размерите на частиците при сухо пресяване: 90% от тях се задържат при преминаване през сито с диаметър на отворите 125-µ. Нито една частица не е преминала през сито с диаметър 50-µ. Проведени са и опити, които да докажат вероятно разпръскване на добавката. Изводът е, че тя „почти не се разпръсква“.

#### **Стабилност и хомогенност**

Продуктът представлява хламидоспори, които издържат на неблагоприятни условия и поради това не се очаква загуба на жизнеспособност при препоръчаните условия на съхранение на добавката – температура <30° С. Това е потвърдено от анализ на три партиди, съхранявани 24 месеца при температура от <8° С, 25° С, и 30° С. Резултатите показват, че макар и да се наблюдава вариабилност в броя на жизнеспособните спори, той варира в рамките на 0.5 log от първоначалните стойности, което показва устойчивост независимо от температурите.

Резултатите показват, че в премикси, при съхранение за период от 24 месеца, при температура от <8° С, 25° С, и 30° С, спорите се запазват в първоначалното им състояние, без да се повлияват от температурите на съхранение.

За добавката не са представени данни за стабилност във фуражи, както и не е изпитана способността ѝ да се смеси до постигане на хомогенност, но Панелът FEEDAP не е счел, че такива данни са необходими, тъй като добавката е предназначена за прилагане под форма на премикс или допълващ фураж.

#### **Условия за употреба**

Дневната доза от добавката на животно е 1.5g добавка на 25kg телесна маса за директно влагане във фуража или чрез премикс. Това приблизително означава  $3 \times 10^4$  хламидоспори/kg телесна маса (bw) за ден. **Не се предвижда карентен срок.**

## **БЕЗОПАСНОСТ**

#### **Токсикологични проучвания**

Острата токсична доза (OECD 423) е определена при еднократен прием и концентрация на спорите от  $3.8 \times 10^6$  спори/g, във формулировка с 1% метилцелулоза, при гранична доза от 5000 mg/kg телесна маса. Не е наблюдавана смъртност през време на опита. Приема се, че **добавката има ниска токсичност.**

*In silico* оценката за потенциална токсичност на флагранон А, направена със софтуер **Derek Nexus и Leadscape**, поставя това съединение в клас III на Крамер, но е посочено, че има много малка вероятност субстанцията да е мутаген, канцероген или да притежава репродуктивна токсичност. Очаква се, специфичната структура на съединението да пречатства отварянето на епоксидния пръстен, което би довело до алкилиране.

#### **Безопасност за прицелни животни**

Проучвания са направени при говеда, овце и коне. На животните са били давани количества, по-големи от препоръчаните в документацията на продукта. Въпреки това, не може да бъдат направени изводи за безопасност при тези животни, поради недостатъци в експерименталния дизайн (не е тествана концентрацията, препоръчана за употреба, опитите не са били повторени и пр.).

Поради това, Панелът FEEDAP не е направил изводи за безопасност на добавката при целевите животни.

### **Безопасност на консуматора**

Наличните проучвания не дават основание за заключения относно безопасността за консуматорите. Причина за това е, че не може да се изключи наличие на вторични метаболити, различни от флагранон А, субстанция продуцирана по време на растежа на гъбичките, а и не е известен потенциалът за преминаване в продукти от животински произход. Заключение относно безопасност на добавката за консуматори не е направено.

### **Безопасност за потребители**

Тествано е действието на продукта, смесен до получаване на премикс, което е приемливо от гледна точка на това, че продуктът най-вероятно ще се прилага по този начин. Опитите са показали, че BioWorma® в тази форма не дразни кожата и очите. Не са направени изводи за потенциала на добавката да предизвика кожна сенсибилизация. Физичните свойства на добавката правят експозицията по дихателен път малко вероятна. Потвърдено е, че споровите препарати на *D. flagrans* не предизвикват признаци на токсичност, инфекциозност или патогенност. Те обаче дразнят дихателните пътища. Поради протеиновия характер на активното вещество, добавката се счита за респираторен сенсибилизатор.

### **Безопасност за околната среда**

*D. flagrans* е организъм, който е широко разпространен като естествен обитател на почвата. Употребата на продукта е малко вероятно да увеличи естествения брой на гъбичките в почвите, в които така или иначе е разпространен. Панелът FEEDAP счита, че употребата на добавка на базата на хламидоспори от *D. Flagrans* не представлява риск за околната среда.

## **ЕФИКАСНОСТ**

Преднамерената употреба на гъбички на пасищата е един от известните начини за прилагането им срещу инвазии от паразитни кръгли червеи (нематоди). Проучванията са продължили години, като в началото култури от гъбички са били включвани в състава на фуражи и минерални блокчета за близане на животни. Погълнатите спори не се размножават в стомашно-чревния тракт на животните и в този вид попадат върху пасищата чрез екскрементите им. При това, там условията за активиране на хламидоспорите са подходящи и те се размножават, като образуват мицел. Той се оплита и така образува специфичните „капани“ за нематодите. Този механизъм намалява броя на нематодите, способни да мигрират в тревите и да инфектират или реинфектират животните, които са излезли на паша.

Заявителят е провел 8 остри и 4 хронични проучвания с добавката в New South Wales и Queensland, Australia. Посочени са още 41 *in vitro* опита и проучвания след преминаване през гастро-интестиналния тракт на животни, в подкрепа на ефикасността на продукта. Прилаганият щам е същият, който е предложен за разрешаване. Представени са и още 40 проучвания, проведени в ЕС, някои от които са проведени с различен от предложения в заявлението щам.

## ЗАКЛЮЧЕНИЯ ЗА ЕФИКАСНОСТ НА ДОБАВКАТА

Въз основа на предоставените данни, BioWorma® е в състояние да намали броя на паразитните нематоди на пасищата, което е от полза за здравето на животните. Когато е приложена в препоръчаната норма за употреба, добавката има потенциал да доведе до тези ефекти.

### Наблюдение след пускане на пазара

Панелът FEEDAP смята, че не е необходимо въвеждане на специфични мерки, извън предвидените като стандартни в плана за мониторинг след пускане на пазара, предвидени в Регламент (ЕО) № 183/2005 за хигиена на фуражи и спазване на Добра производствена практика.

## ЗАКЛЮЧЕНИЯ

При липса на данни, не може да бъдат направени изводи за безопасността на BioWorma® за целевите видове животни.

Има вероятност да са налични вторични метаболити, които се образуват по време на растежа на гъбичката. Не може да се изключи тяхното потенциално пренасяне в продукти от животински произход: безопасността на потребителя не може да бъде гарантирана.

Панелът FEEDAP заключава, че добавката не е дразнеща за кожата и очите, но е дразнеща за дихателните пътища и представлява респираторен сенсibiliзатор. Не може да се направи заключение относно потенциала на продукта да сенсibiliзира кожата.

*D. flagrans* е естествен обитател на почвата и е широко разпространен. Много малко е вероятно употребата на добавката да увеличи броя на гъбичките в почви, в които вече са разпространени. Следователно, употребата на добавката, произведена на базата хламидоспори от *D. Flagrans*, няма капацитет да причини риск за околната среда.

**Добавката може да намали броя на паразитните нематоди на пасищата, което е положителен ефект за животни, които излизат на паша, когато е употребена съгласно препоръчаната от заявителя норма  $3 \times 10^4$  хламидоспори/kg телесна маса на ден.**

### Източник:

<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2020.6208>  
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6208>

Изготвил: Д-р Марина Загорова

Център за оценка на риска по хранителната верига – МЗХГ  
31.07.2020 г.

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